

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE MICROGALGAS NATIVAS INMOVILIZADAS PARA  
LA REMOCIÓN DE NUTRIENTES DE UN AGUA RESIDUAL DE BAJA CARGA A ESCALA  
DE LABORATORIO**

**JESSICA CAMILA FLOREZ FUENTES  
BRAYAN ALCIDES VANEGAS CASTILLO**

**UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA  
INGENIERÍA AMBIENTAL  
BUCARAMANGA- SANTANDER  
2020**

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE MICROGALGAS NATIVAS INMOVILIZADAS PARA  
LA REMOCIÓN DE NUTRIENTES DE UN AGUA RESIDUAL DE BAJA CARGA A ESCALA  
DE LABORATORIO**

**JESSICA CAMILA FLOREZ FUENTES  
BRAYAN ALCIDES VANEGAS CASTILLO**

**Proyecto de grado presentado como requisito para optar el título de:  
INGENIERÍA AMBIENTAL**

**DIRECTORA  
PhD. ALEXANDRA CERÓN VIVAS**

**UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA  
INGENIERÍA AMBIENTAL  
BUCARAMANGA- SANTANDER**

**2020**

**Nota de aceptación**

---

---

---

---

---

---

Firma del presidente del jurado

---

Firma del Jurado

---

Firma del Jurado

Bucaramanga, Marzo de 2020

## **DEDICATORIAS**

Dedicado a Dios por darme la vida y la fortaleza necesaria para sacar adelante este proyecto, a mis padres Alicia y Fabián por haberme apoyado en esta etapa de mi vida y estar siempre ahí dándome palabras de aliento para continuar, a mi hermano Juan Camilo por su apoyo y compañía en tantas noches de desvelo.

Gracias a ustedes por ser un gran ejemplo y por enseñarme a luchar por lo que quiero, por su amor y apoyo incondicional.

***Jessica Camila Florez Fuentes***

Dedicado a mis padres Alcides Vanegas y Fabiola Castillo quienes fueron mis motores y mi ejemplo a seguir, quienes estuvieron conmigo en cada momento de este proceso dándome todo su apoyo agradeciendo todo su esfuerzo y paciencia. A mi tía Emilse Castillo por apoyarme en esta etapa de mi vida y estar conmigo día a día dándome palabras de ánimo y a mi hermano Javier Vanegas quien estuvo conmigo en la lucha día y noche para culminar mis estudios.

***Brayan Alcides Vanegas Castillo***

## AGRADECIMIENTOS

Le doy gracias a Dios por haberme dado la vida y por permitirme crecer en un entorno lleno de mucho amor y alegría, al lado de personas tan maravillosas. Por darme paciencia, fortaleza y por haberme iluminado durante toda mi carrera, porque aunque no fue un camino fácil, siempre hubo una salida.

A mis padres Fabian E. Florez y Alicia Fuentes, por darme la oportunidad de estudiar, por acompañarme durante todas las etapas de mi vida y en especial en este proceso, porque sin importar las cosas, siempre estuvieron ahí brindándome su apoyo, por el amor y la paciencia que me tuvieron para poder llegar hasta este punto, por los esfuerzos que hacen para sacarme adelante y por los valores inculcados que hicieron de mí una mejor persona.

A mi hermano Juan Camilo, por ser esa persona que me alegra la vida, por estar siempre a mi lado, por las risas, las peleas y todos los momentos compartidos, por acompañarme todo este tiempo y por sacarme siempre una sonrisa con sus ocurrencias. Por las noches de traspasado donde muchas veces estuve brindándome tu compañía, espero ser un gran ejemplo para ti.

A mis abuelos Beatriz y Alberto por sus consejos y palabras de aliento, por todo el apoyo y la ayuda que me brindaron durante este largo camino y a ti Chachi por ser como una mamá para mí. A mi familia en general, porque de una u otra forma siempre estuvieron pendiente de mí.

A Brayan Vanegas por haberme escogido para ser su compañera en este proyecto, por estar conmigo durante tanto tiempo de carrera y por ser un gran amigo, a la profesora Alexandra Cerón, por ser nuestra directora de tesis, por confiar en nosotros y permitirnos trabajar y ser parte de esta investigación.

A todo el personal del laboratorio por la ayuda en todo el proceso de pruebas, a Naydu por la paciencia que siempre nos tuvo y por la colaboración que nos brindó, por recibirnos siempre con una sonrisa y la mejor actitud.

Por último a mis compañeros que hicieron parte de este proceso y a los que en el camino fueron convirtiéndose en grandes amigos, a los profesores que hicieron parte en mi formación como ingeniera, gracias por su entrega y disposición en cada clase.

*Jessica Camila Florez Fuentes*

## AGRADECIMIENTOS

Me sobran las palabras de agradecimiento para poder explicar la felicidad de este nuevo logro en mi vida, le doy gracias a Dios por darme la vida y por ayudarme a superar cada obstáculo, enseñarme a confiar y creer en mí mismo y sobrepasar cada obstáculo que se presentó en este trayecto, por permitirme llegar a una familia llena de afecto y comprensión que supo aceptarme tal y como soy con mi errores y defectos, que pudieron brindarme lo mejor de cada uno de ellos apoyándome en todo este proceso.

Doy gracias a mis padres Alcides Vanegas y Fabiola Castillo que siempre estuvieron a mi lado sin importar la dificultad dando lo mejor de ellos con mucha paciencia y esfuerzo, por el cariño y amor brindado durante todo este largo camino para llegar a ser profesional, por cada enseñanza y valores aprendidos de la mano de ellos para ser una buena persona y un excelente profesional por guiarme por el camino correcto y gracias a ellos hoy ser el hombre que soy. Por ser siempre mis ejemplos de perseverancia por sus palabras de inspiración y en enseñarme a luchar por mis metas y cada uno de mis sueños.

A mis tías, Emilse Castillo quien ha sido un gran apoyo en este proceso, por impulsar este sueño y hacerlo realidad, aunque la distancia nos separe este logro no hubiese sido posible sin su infinita ayuda, a mi tía Yadira Castillo por la paciencia que ha tenido conmigo por ser mi segunda madre por su querer y enseñarme a ser una gran persona por cuidar de mí en todo momento.

A mi hermano menor Javier Steven Vanegas Castillo por su gran ayuda en tiempos difíciles, por esos momentos llenos de motivación y risas por compartir trasnochos conmigo en todos esos proyectos que debíamos realizar para lograr nuestros títulos como profesionales.

A Camila Florez por compartir junto a mí este proyecto de investigación por ser especial conmigo durante toda la carrera universitaria y por ser una excelente amiga. A la docente Yolanda gamarra por ofrecernos la idea de este proyecto por ser un ejemplo de profesionalismo, a la docente Alexandra Cerón por creer en nosotros guiarnos y dirigirnos en este proyecto de investigación.

A Robinson Paez por llegar y brindarme su gran ayuda, confiar en mí en cada momento sin dejarme desvanecer en momentos difíciles, estar a mi lado día a día dándome la mejor energía posible para culminar este proyecto, a todas aquellas personas que estuvieron conmigo en todo este proceso de mi vida por las experiencias y conocimientos adquiridos en esta gran universidad que siempre será caracterizada por su gran desempeño y su excelente calidad.

*Brayan Alcides Vanegas Castillo*

## TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	15
1. OBJETIVOS .....	16
1.1. OBJETIVO GENERAL .....	16
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
2. MARCO TEÓRICO.....	17
2.1. ANTECEDENTES.....	17
2.2. AGUAS RESIDUALES.....	18
2.2.1. Tratamiento del agua residual .....	19
2.3. MICROALGAS .....	22
2.3.1. Generalidades.....	22
2.4. FOTOSÍNTESIS .....	24
2.4.1. Reacciones de la fase lumínica .....	26
2.4.2. Reacciones de la fase oscura .....	26
2.5. INMOVILIZACIÓN DE MICROALGAS .....	27
2.5.1. Etapas de la formación de biopelículas en la inmovilización .....	27
2.6. TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL CON EL USO DE MICROALGAS.....	28
2.7. PARÁMETROS DE INFLUENCIA EN UN SISTEMA DE CULTIVO.....	29
2.7.1. Ph .....	29
2.7.2. Luz .....	29
2.7.3. Nutrientes .....	30
2.7.4. Temperatura .....	31
2.8. FOTOBIOREACTORES .....	31
2.8.1. Fotobiorreactores abiertos.....	31
2.8.2. Fotobiorreactores cerrados.....	31
3. METODOLOGÍA .....	33
3.1. SELECCIÓN DE MICROALGAS .....	33
3.1.1. Cultivo de microalgas nativas .....	33
3.1.2. Inmovilización de microalgas .....	37
3.2. REMOCIÓN DE NUTRIENTES DEL AGUA RESIDUAL.....	38
3.3. MÉTODOS ANALÍTICOS .....	40
3.3.1. Concentración de la biomasa en peso seco .....	40

3.3.2. Ortofosfatos ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) y Nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) .....	40
3.3.3. Nitrógeno ( $\text{NH}_4^+$ ) .....	41
3.3.4. Demanda química de oxígeno (DQO).....	41
4. RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	43
4.1. SELECCIÓN E INMOVILIZACIÓN DE MICROALGAS .....	43
4.1.1. Cultivo y aislamiento .....	43
4.2. CRECIMIENTO DE LA BIOMASA POR PESO SECO.....	45
4.3. INMOVILIZACIÓN DE LAS MICROALGAS .....	46
4.4. PARÁMETROS DE CONTROL.....	48
4.5. REMOCIÓN DE NITRÓGENO ( $\text{NH}_4^+$ ).....	50
4.6. REMOCIÓN DE ORTOFOSFATOS ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) .....	54
4.7. VARIACIÓN DE DQO .....	57
4.8. GENERACIÓN DE NITRATOS ( $\text{NO}_3^-$ ) .....	61
5. CONCLUSIONES .....	62
6. RECOMENDACIONES .....	64
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65



## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Tipos de aguas residuales.....	19
<b>Tabla 2.</b> Microalgas de agua dulce: apariencia microscópica .....	24
<b>Tabla 3.</b> Composición del medio de cultivo (bold basal).....	34
<b>Tabla 4.</b> Diseño experimental.....	38
<b>Tabla 5.</b> Composición del agua residual sintética utilizada.....	39
<b>Tabla 6.</b> Evolución de las microalgas en el proceso de cultivo.....	44
<b>Tabla 7.</b> Concentración inicial de Nitrógeno ( $\text{NH}_4^+$ ).....	50
<b>Tabla 8.</b> Parámetros de control en los dos tipos de agua.....	50
<b>Tabla 9.</b> Porcentaje de remoción de Nitrógeno ( $\text{NH}_4^+$ ) según los tipos de agua y sus concentraciones.....	52
<b>Tabla 10.</b> Concentraciones iniciales de Ortofosfatos ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) .....	54
<b>Tabla 11.</b> Porcentaje de remoción de Ortofosfatos ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) según los tipos de agua y sus concentraciones.....	56
<b>Tabla 12.</b> Concentraciones iniciales y finales de DQO en los diferentes tipos de agua .....	57
<b>Tabla 13.</b> Porcentaje de remoción de DQO en agua residual filtrada.....	58
<b>Tabla 14.</b> Porcentaje de remoción de DQO en agua residual sintética.....	60

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esquema conceptual de un sistema de tratamiento de agua residual .....	20
<b>Figura 2.</b> Clasificación esquemática de los procesos para el tratamiento de las aguas residuales .....	21
<b>Figura 3.</b> Esquema gráfico de la fotosíntesis.....	25
<b>Figura 4.</b> Ciclo de Calvin-Benson.....	27
<b>Figura 5.</b> Esquema del montaje experimental del cultivo de microalgas .....	33
<b>Figura 6.</b> Imagen de la rejilla de una cámara de Neubaber de 0.1 mm para conteo celular .....	35
<b>Figura 7.</b> Imagen de la rejilla de la cámara de Neubaber de 0.1mm, donde se señalan los cuadros grandes que se cuentan cuando la densidad celular es inferior a 100 células .....	37
<b>Figura 8.</b> Dimensiones del material de inmovilización.....	38
<b>Figura 9.</b> Registro fotográfico del proceso de inmovilización .....	47
<b>Figura 10.</b> Registro microscópico de las microalgas durante el proceso de inmovilización .....	48

## LISTA DE GRÁFICAS

<b>Gráfica 1.</b> Curva de correlación entre la concentración de biomasa y absorbancia .....	46
<b>Gráfica 2.</b> Parámetros de control durante la etapa de cultivo .....	49
<b>Gráfica 3.</b> Parámetros de control durante la etapa de inmovilización .....	49
<b>Gráfica 4.</b> Curva de remoción de ( $\text{NH}_4^+$ ) en agua residual real filtrada y sus blancos .....	51
<b>Gráfica 5.</b> Curva de remoción de ( $\text{NH}_4^+$ ) en agua residual sintética y sus blancos .....	51
<b>Gráfica 6.</b> Porcentaje de remoción de nitrógeno .....	52
<b>Gráfica 7.</b> Curva de remoción de ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) en agua residual real filtrada y sus blancos .....	55
<b>Gráfica 8.</b> Curva de remoción de ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) en agua residual sintética y sus blancos .....	55
<b>Gráfica 9.</b> Porcentaje de remoción de fosfato .....	56
<b>Gráfica 10.</b> Curva de remoción de (DQO) en agua residual real filtrada y sus blancos.....	59
<b>Gráfica 11.</b> Curva de remoción de (DQO) en agua residual sintética y sus blancos.....	60
<b>Gráfica 12.</b> Generación de ( $\text{NO}_3^-$ ) en agua residual real filtrada y sus blancos.....	61
<b>Gráfica 13.</b> Generación de ( $\text{NO}_3^-$ ) en agua residual sintética y sus blancos.....	62

## LISTA DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Ejemplo de conteo de microalgas por la cámara de Neubaber.....	72
<b>Anexo 2.</b> Registros microscópicos obtenidos en el proceso de cultivo .....	73
<b>Anexo 3.</b> Registro fotográfico del montaje de la inmovilización .....	75
<b>Anexo 4.</b> Parámetros de control en la etapa de cultivo .....	76
<b>Anexo 5.</b> Resultados del ANOVA en la remoción de ( $\text{NH}_4^+$ ) .....	77
<b>Anexo 6.</b> Concentraciones y porcentaje de remoción del ( $\text{NH}_4^+$ ) .....	78
<b>Anexo 7.</b> Resultados del ANOVA en la remoción de ( $\text{PO}_4^{-3}$ ).....	80
<b>Anexo 8.</b> Concentraciones y porcentaje de remoción del ( $\text{PO}_4^{-3}$ ).....	81
<b>Anexo 9.</b> Resultados del ANOVA en la remoción de (DQO).....	83
<b>Anexo 10.</b> Concentraciones y porcentaje de remoción de (DQO).....	84
<b>Anexo 11.</b> Resultados del ANOVA de la generación de ( $\text{NO}_3^-$ ).....	86

## RESUMEN GENERAL DE TRABAJO DE GRADO

**TITULO:** EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE MICROALGAS NATIVAS INMOVILIZADAS PARA LA REMOCIÓN DE NUTRIENTES DE UN AGUA RESIDUAL DE BAJA CARGA A ESCALA DE LABORATORIO

**AUTOR(ES):** BRAYAN ALCIDES VANEGAS CASTILLO  
JESSICA CAMILA FLOREZ FUENTES

**PROGRAMA:** Facultad de Ingeniería Ambiental

**DIRECTOR(A):** ALEXANDRA CERÓN VIVAS

### RESUMEN

La remediación de aguas residuales con microalgas inmovilizadas es una técnica que ha sido usada recientemente en varios países para la remoción de nutrientes del agua. El objetivo de esta investigación fue determinar la eficiencia de las microalgas nativas inmovilizadas en fotobioreactores, para remover nutrientes, como nitrógeno y fósforo, de un efluente anaerobio real y sintético, a escala de laboratorio. Inicialmente se tomaron muestras en la entrada de los canales de la planta de tratamiento de la Universidad Pontificia Bolivariana y se llevaron al laboratorio para ser cultivadas con medio de cultivo, hasta que la concentración de biomasa algal fuera la más óptima, tomándose parámetros como pH, oxígeno disuelto y peso seco a cada muestra; en la segunda etapa se pasó a la inmovilización del cultivo utilizando polietileno de baja densidad incrustado en mallas de acero colocadas al interior de los reactores durante 21 días. Para evaluar la remoción de nutrientes en el agua se realizó un diseño factorial de dos factores: concentración inicial de amonio en el agua residual y tipo de agua residual. Las concentraciones iniciales de amonio fueron 130 y 90mg/L; los tipos de agua residual fueron: agua residual real filtrada y agua residual sintética. En los resultados se pudo observar que en todos los experimentos el porcentaje de remoción fue alto para el  $\text{NH}_4^+$ , las dos muestras presentaron muy buenos resultados dando un porcentaje de 77%. Para el  $\text{PO}_4^{3-}$ , se registraron porcentaje de remoción de 78% dando eficientes resultados. En las dos muestras, la remoción de DQO fue óptima dando porcentajes hasta del 92%. Se puede concluir que las microalgas en gran concentración tienen un alto porcentaje de remoción de  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  y materia orgánica presente en el agua, considerando que factores externos como presencia de bacterias ayudan a la remoción de estos compuestos.

### PALABRAS CLAVE:

Cultivo e inmovilización de microalgas, remoción de nutrientes, *Chlorella vulgaris*.

### V° B° DIRECTOR DE TRABAJO DE GRADO

**GENERAL SUMMARY OF WORK OF GRADE**

**TITLE:** ASSESSMENT OF THE CAPACITY OF IMMOBILIZED NATIVE MICROALGAS FOR THE REMOVAL OF NUTRIENTS FROM A LOW- LOAD RESIDUAL WATER AT LABORATORY SCALE.

**AUTHOR(S):** BRAYAN ALCIDES VANEGAS CASTILLO  
JESSICA CAMILA FLOREZ FUENTES

**FACULTY:** Facultad de Ingeniería Ambiental

**DIRECTOR:** ALEXANDRA CERÓN VIVAS

**ABSTRACT**

Remediation of wastewater with immobilized microalgae is a technique that has recently been used in several countries for the removal of nutrients from water. The objective of this research was to determine the efficiency of native microalgae immobilized in photobioreactors, to remove nutrients, such as nitrogen and phosphorus, from a real and synthetic anaerobic effluent, at laboratory scale. Initially samples were taken at the entrance of the canals of the treatment plant of the Pontifical Bolivarian University and taken to the laboratory to be cultivated with culture medium, until the concentration of algal biomass was the most optimal, taking parameters such as pH, dissolved oxygen and dry weight to each sample; in the second stage it was moved to the immobilization of the crop using low-density polyethylene embedded in steel meshes placed inside the reactors for 21 days. To evaluate the removal of nutrients in the water, a factorial design of two factors was performed: initial concentration of ammonium in wastewater and type of waste water. Initial ammonium concentrations were 130 and 90mg/L; the types of waste water were: actual filtered wastewater and synthetic waste water. In the results it was observed that in all experiments the removal rate was high for NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, the two samples presented very good results giving a percentage of 77%. For PO<sub>4</sub>-3, 78% removal rate was recorded giving efficient results. In both samples, the removal of COD was optimal giving percentages up to 92%. It can be concluded that microalgae in high concentration have a high percentage of nh<sub>4</sub><sup>+</sup>, PO<sub>4</sub>-3 and organic matter removal present in water, considering that external factors such as the presence of bacteria help the removal of these compounds.

**KEYWORDS:**

Cultivation and immobilization of microalgae, removal of nutrients, Chlorella Vulgaris.

**V° B° DIRECTOR OF GRADUATE WORK**

## INTRODUCCIÓN

La generación de aguas residuales en gran magnitud es un resultado proveniente de las actividades básicas de los seres humanos, la composición de estas suele ser peligrosa para los seres vivos y el medio ambiente, por tal motivo, deben ser tratadas antes de ser vertidas a cuerpos de agua. Actualmente, existen varios tratamientos para aguas domésticas y agroindustriales. Sin embargo, estos todavía liberan grandes cantidades de nutrientes como fósforo y nitrógeno, convirtiéndose en la principal causa de eutrofización en ríos, mares y lagos (Lau, Tam, & Wong, 1997; Trepanier, Parente, Comeau, & Bouvrette, 2002).

En la naturaleza existen microorganismos que cuentan con la capacidad de captar nutrientes. Las microalgas son organismos fotosintéticos que se han destacado por sus capacidad de remover nutrientes como el fósforo y nitrógeno. Además, cuentan con la ventaja de crecer en medios contaminados, alta tasa de crecimiento y capacidad de realizar sus procesos metabólicos con una fuente de energía natural o artificial (Martínez & Navarrete, 2016).

Los procesos de tratamiento de agua residual emplean varios métodos para eliminar el fósforo y nitrógeno, ya sea a gran escala o a escala laboratorio. Uno de los métodos utilizados para este tipo de contaminantes es el cultivo de microalgas en estanques abiertos o en fotobiorreactores en suspensión, los cuales han demostrado ser potencialmente útiles como agentes para la remoción de nutrientes y otros contaminantes presentes.

La inmovilización de microalgas se ha convertido en uno de los métodos sugeridos para la solución de esta problemática, permitiendo además concentrar una elevada cantidad de biomasa, la cual es utilizada en la producción de alimentos, cosméticos, acuicultura, farmacéuticos, obtención de electricidad e hidrógeno y eliminación de metales (De Bashan & Bashan, 2010).

La Universidad Pontificia Bolivariana cuenta con un sistema de tratamiento de aguas residuales que en su etapa final posee un sistema de canales con macrófitas flotantes (*Eicchornia crassipes*) para la remoción de nutrientes, pero este presenta poca eficiencia. Por lo anterior, es importante evaluar otras alternativas que permitan la eliminación de nutrientes presentes en el agua residual. Este trabajo tiene como objetivo evaluar la capacidad de microalgas nativas inmovilizadas para la remoción de nutrientes de un agua residual de baja carga a escala de laboratorio.

## **1. OBJETIVOS**

### **1.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la capacidad de microalgas nativas inmovilizadas para la remoción de nutrientes de un agua residual de baja carga a escala de laboratorio.

### **1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Seleccionar las microalgas nativas que serán inmovilizadas en fotobiorreactores para la remoción de nutrientes.
- Analizar el efecto del tipo de agua residual sobre la capacidad de las microalgas para la remoción de nutrientes.
- Determinar la influencia de la concentración inicial de nitrógeno sobre la remoción de nutrientes.



## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 ANTECEDENTES

Las microalgas son una agrupación de microorganismos que presentan un alto índice de conversión de energía lumínica a biomasa, así como su uso de nutrientes inorgánicos, lo que les permite el incremento de sus poblaciones a una alta velocidad a la vez que oxigenan el medio en que se desarrollan y atraen el CO<sub>2</sub> atmosférico (de la Noüe, 1992; Benemann et al., 1987; Li et al., 2008). En general, las diferentes especies de algas, como las clorofitas, presentan rangos de eliminación de fósforo y nitrógeno que van de 8% hasta un 100%, y estas pueden clasificarse en heterotróficas o mixotróficas (Wang et al., 2010a).

El uso de estos microorganismos para eliminar nutrientes del agua es un método muy conocido, aunque no se usa con frecuencia. La importancia radica en que las microalgas son capaces de remover una alta cantidad del nitrógeno inorgánico y una gran parte del fósforo por absorción celular directa (Tam & Wong, 2000). Además, pueden eliminar algunos metales pesados del agua (Lebeau & Robert, 2006; Moreno & Garrido, 2008).

El nitrógeno (N) presente en el agua residual se deriva de los cambios metabólicos de los compuestos obtenidos de las deposiciones (urea y proteínas) y el 50% o más del fósforo (P) es obtenido de detergentes sintéticos. Los principales compuestos químicos en los que aparecen ambos elementos son amonio (NH<sup>4+</sup>), nitrito (NO<sub>2</sub>), nitrato (NO<sub>3</sub>) y ortofosfato (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) (Horan, 1990).

El uso de microalgas en procesos de tratamiento del agua residual data de los años 50, cuando una asociación de investigadores de la Universidad de California introdujo el concepto de Laguna Algal de Alta Tasa (HARP, por sus siglas en inglés) para el proceso de residuos orgánicos. En los años 70, dicha ideología fue expandida por diferentes regiones de Asia y en Estados Unidos de América (de la Noüe, 1992; Ferrera-Cerrato et al., 2006). Chung et al. (1974), fueron de los primeros en cultivar *Spirulina platensis* en aguas residuales de granjas de cerdos y, posteriormente, Mitchell y Richmond (1988) lograron mejorar el medio Zarrouk para dicho género con aguas residuales de ganado. Durante las próximas décadas, diferentes especies de microalgas clorofitas, como *Chlorella pyrenoidosa*, *Desmodesmus quadricaudatus* o *Chlamydomonas spp.*, empezaron a ser aprovechadas para remover nutrientes de efluentes de todo tipo y disminuir contaminantes como petróleo (Rawat et al., 2011).

Chevalier y de la Noüe (1985), fueron los pioneros en determinar la remoción de  $\text{N-NO}_3^-$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  en aguas residuales metropolitanas, por medio de microalgas clorofitas *Desmodesmus quadricaudatus* y *Acutodesmus obliquus* inmovilizadas en carragenina kappa. Sus rendimientos evidenciaron una capacidad de remoción casi total, llegando al 100%. En los siguientes periodos se realizaron estudios sobre la remoción de  $\text{N-NO}_3^-$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  en medios sintéticos por parte de microalgas inmovilizadas en alginato (Jeanfils y Thomas, 1986; Robinson et al., 1988; Robinson et al., 1989); Travieso et al. (1992), dispusieron esta misma matriz con *Chlorella vulgaris* para el tratamiento de aguas residuales. Los creadores obtuvieron un porcentaje de remoción entre 69% y 82% de P y N en condiciones de luz solar y fluidizado.

En Colombia, se han adoptado investigaciones a escala de laboratorio por instituciones de educación superior y profesional como la Universidad de Antioquia, Universidad Pontificia Javeriana y la Universidad Industrial de Santander, entre otras, y se han llevado a escala industrial en técnicas del sector hidrocarburos en compañías como Cementos Argos y el Instituto Colombiano de Petroleos, ICP, entre otras, (Corredor, 2008).

En Santander se han llevado a cabo diversos análisis enfocados a precisar las matrices más adecuadas para lograr la inmovilización. Romero & García (2010) señalan que el polietileno de baja densidad resulta ser el mejor co-inmovilizante para la creación de biomasa algal. De igual forma, Blanco & Villamizar (2014) coinciden que el mejor material de inmovilización es el polietileno de baja densidad, evaluando en este caso el efecto de glicerol residual en la deposición de lípidos y carbohidratos en *Chlorella vulgaris* utex 1803 como materia prima para la producción de combustible.

En la Universidad Pontificia Bolivariana Seccional Bucaramanga se realizaron pruebas con microalgas inmovilizadas para la remoción de nutrientes de un agua residual sintética, sin embargo, no se lograron resultados favorables debido a la ausencia de ciertos nutrientes, que pudieron afectar la remoción de fósforo (P) y nitrógeno (N) (Castro & Reyes, 2016).

## **2.2 AGUAS RESIDUALES**

Las aguas residuales son un producto de las actividades humanas. Para un buen tratamiento y disposición final de las aguas residuales, se deben conocer las propiedades biológicas, físicas y químicas de estas, así como los efectos que tienen sobre las fuentes que las reciben.

Según Romero (1999) “las aguas residuales son las aguas usadas y los sólidos que por uno u otro medio se introducen en las cloacas y son transportados mediante el sistema de alcantarillado”, las cuales surgen como

producto inevitable de las actividades humanas y sus características están ligadas a las actividades económicas que las producen.

Las aguas residuales se dividen en: aguas residuales domésticas, aguas residuales municipales y aguas residuales industriales como se muestra en la tabla 1.

**Tabla 1.** Tipos de aguas residuales

Tipo de agua	Proveniencia
Aguas residuales domésticas	Los líquidos provienen de las viviendas, edificios instituciones y comerciales.
Aguas residuales no domésticas	Los residuos líquidos pasan a través del alcantarillado municipal, para luego ser tratados en una plata de tratamiento.
Municipales	Son los residuos líquidos que provienen de las descargas de las industrias manufactureras.
Industriales	

**Fuente:** Romero Rojas (1999)

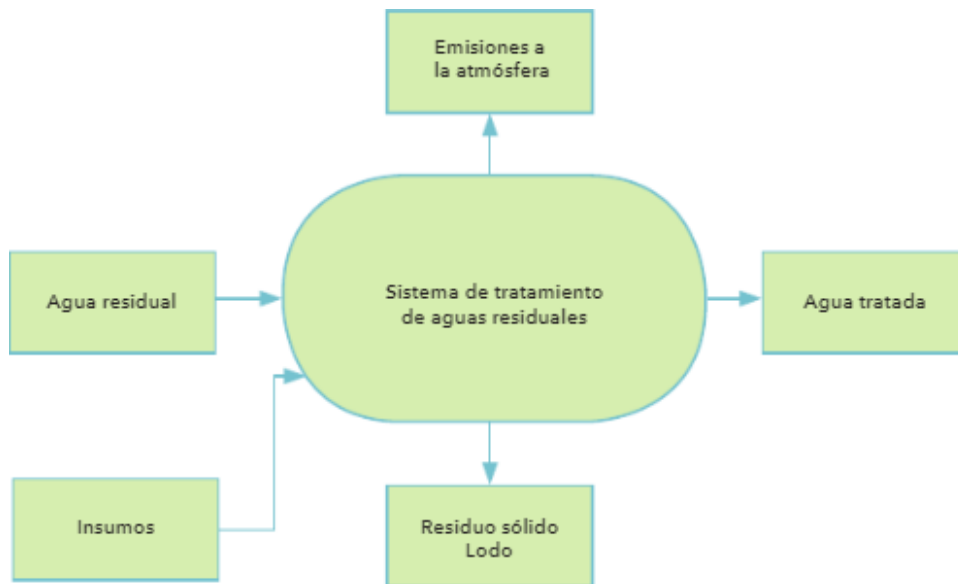
Las aguas residuales domésticas están constituida por agua (99.9%) y sólidos (0.1%), de este se tiene que el 70% son orgánicos y el 30% son inorgánicos como sales, metales y arena; siendo este 0.1 % el que debe ser sometido al proceso en las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR). La composición del agua residual está en función del uso, características sociales y económicas de la población, clima, cultura y uso del suelo, entre otras (Suarez M., 2010).

### 2.2.1 Tratamiento de las aguas residuales

La principal importancia del tratamiento del agua residual es remover mediante diversos métodos el material contaminante, orgánico e inorgánico, el cual se puede encontrar en forma de partículas en suspensión y/o disueltas, esto con el fin de obtener la calidad de agua que requiere la normativa de descarga o por el nuevo tipo de utilización al que será destinada.

En la figura 1, se presenta un esquema conceptual de un sistema de tratamiento de aguas residuales. Para el tratamiento del agua residual se tienen operaciones (físicas) y procesos (químicos y biológicos) unitarios,

los cuales se seleccionan teniendo en cuenta las características del agua residual a tratar y la calidad esperada del agua tratada. Además, es posible generar emisiones gaseosas a la atmósfera e, invariablemente, la producción de material de desecho, el cual puede ser un residuo sólido, como la materia retenida en los tamices o rejas (Noyola, Morgan, & Güereca, 2013).



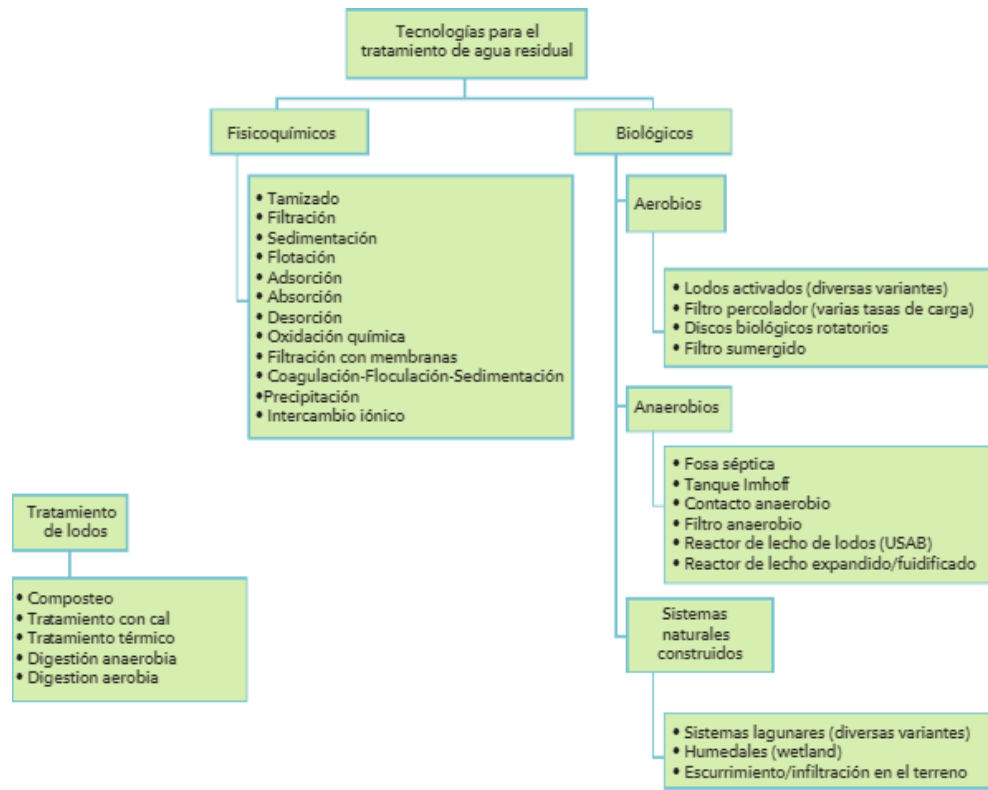
**Figura 1.** Esquema conceptual de un sistema de tratamiento de aguas residuales

**Fuente:** Noyola, Morgan & Güereca (2013).

En la figura 2 se observa un esquema de posibilidades tecnológicas para la composición de un tratamiento de aguas residuales. En esta figura sobresale la división de dos grupos, los tratamientos biológicos y los fisicoquímicos. Los tratamientos fisicoquímicos utilizan procesos físicos como la filtración por retención física, el uso de la gravedad, la atracción electrostática, entre otras; y procesos químicos, como la coagulación, oxidación, precipitación, absorción, etc. Los biológicos involucran la degradación del material orgánico mediante microorganismos. En cuanto a los sistemas biológicos, existen sistemas aerobios (actúan en presencia de oxígeno) y los anaerobios (funcionan sin oxígeno).

Una división aparte obtienen los sistemas naturales construidos, los cuales aprovechan las transformaciones que se llevan a cabo en el medio natural, tratando de incrementar la capacidad del tratamiento en unidades de proceso controlada. Como ejemplo de estos sistemas se tienen los humedales artificiales o el tratamiento mediante descargas directas al suelo.

Por otra parte, los sistemas biológicos anaerobios se pueden clasificar en tres generaciones que a su vez se pueden componer de acuerdo con el nivel de interacción que posee el microorganismo con el sustrato a degradar (facilidad de transferencia de masa) y la relación entre el tiempo de retención del microorganismo en el sistema (denominado tiempo de retención celular, TRC) y el tiempo de retención hidráulica del sistema (TRH) (Noyola, Morgan, & Gúereca, 2013).



**Figura 2.** Clasificación esquemática de los procesos para el tratamiento de las aguas residuales

**Fuente:** Noyola, Morgan & Gúereca (2013).

Para el tratamiento de las aguas residuales se han definido 4 niveles, (1) tratamiento preliminar, (2) tratamiento primario, (3) tratamiento secundario y en algunos casos (4) tratamiento terciario o avanzado.

El tratamiento preliminar comprende una serie de unidades o módulos que tienen por fin la eliminación de los constituyentes (materiales gruesos) de las aguas residuales, que pueden causar problemas en la conducción, mantenimiento u operación de una PTAR. Los principales sistemas que se utilizan en la etapa de pretratamiento son las rejillas y los desarenadores.

El tratamiento primario es aquel que se enfoca en la remoción parcial de sólidos suspendidos, materia orgánica u organismos patógenos que se encuentran en el agua residual. Esto se puede realizar mediante procesos fisicoquímicos como la sedimentación o sedimentación primaria avanzada, los cuales son métodos de preparación para el tratamiento secundario. Usualmente en este período del tratamiento, se logran remociones hasta del 60% de los sólidos suspendidos y de 35 a 40% de la DBO (Romero, 1999).

El tratamiento secundario comprende los tratamientos microbiológicos tanto aerobios como anaerobios, y en esencia es un proceso de oxidación biológica. Según Romero (1999) “es la conversión bacteriana de los elementos de su forma orgánica a su forma inorgánica mediante una oxidación fuerte en un proceso denominado mineralización”.

Para la eliminación de nutrientes se usan tradicionalmente procesos fisicoquímicos y biológicos, el más adoptado entre ellos es el proceso de nitrificación y desnitrificación (Fair, 1984), pues ha demostrado ser una técnica efectiva y económica (Brock, 1991). La nitrificación es un proceso aerobio que se pone en marcha a través de 2 etapas, la oxidación amonio-nitrito y la oxidación nitrito- nitrato, en las cuales intervienen microorganismos diferentes para cada fase, pero ambos pertenecientes a la familia Nitrobacteriaceae (Prosser, 1989). La desnitrificación biológica es un proceso anóxico en el cual se transforma el nitrato producido en la nitrificación a  $N_2$  por medio de la actividad de diferentes enzimas (Knowles, 1982).

## **2.3 MICROALGAS**

### **2.3.1. Generalidades**

Las microalgas son organismos unicelulares autótrofos (capacidad de sintetizar todas las sustancias esenciales para su metabolismo a partir del  $CO_2$ ) y fotosintéticos, que generan compuestos complejos como carbono a partir del dióxido de carbono y la energía lumínica (Pfandl, Chatzinotas, Dyal, & Boeningk, 2009).

Las algas no pertenecen a ningún grupo taxonómico definido, sin embargo poseen ciertas características generales y de organización que se encuentran abiertas a cambios conforme se acumula información. Estos organismos incluyen tanto procariotas (células que carecen de un núcleo unido a la membrana) y eucariotas (células con núcleo típico unido a la membrana) (Bellinger & Sigeo, 2010).

Las microalgas tienen una capacidad ficorremediadora, la cual se basa en la eliminación o biotransformación de contaminantes de un medio líquido o gaseoso. Estos compuestos contaminantes son captados por la biomasa algal y pueden ser recuperados mediante su cosecha. Esta capacidad se da mediante un sistema de cultivo con 2 propósitos: eliminación de contaminantes y producción de biomasa con fines comerciales. Los 2 objetivos dependen del sistema de cultivo, la o las especies cultivadas y los factores ambientales (Hernández & Labbé, 2014).

Típicamente, las microalgas son capaces de aprovechar la energía lumínica para su sustento, en dicho proceso su desarrollo depende de la materia inorgánica. Sin embargo, existen algas que pueden aprovechar la materia orgánica para lograr la síntesis de nutrientes. De esta forma las microalgas pueden clasificarse según su mecanismo de obtención de energía en:

- ❖ Fotoheterótrofas
- ❖ Fotoautótrofos
- ❖ Mixotróficas
- ❖ Heterótrofas

Las microalgas de agua dulce pueden ser agrupadas en diez grupos o phylum, en relación a su apariencia microscópica, como se registra en la tabla 2.

**Tabla 2.** Microalgas de agua dulce: apariencia microscópica

<b>Phylum</b>	<b>Color típico</b>	<b>Morfología típica</b>	<b>Motilidad (las células vegetativas / colonias)</b>	<b>Ejemplos</b>
<b>1.Algas verde azules</b> <i>Cyanophyta</i>	Azul-verde	Microscopia o visible -Usualmente colonial	Tiene regulación de flotabilidad. Algunos pueden deslizarse	<i>Synechocystis</i> <i>Microcystis</i>
<b>2.Algas verdes</b> <i>Chlorophyta</i>	Verde-hierba	Microscopia o visible -Unicelular o colonias filamentosas	Algunos organismos unicelulares y colonias con flagelos	<i>Chlamydomonas</i> <i>Claudophona</i>
<b>3.Euglenoides</b> <i>Euglenophyta</i>	Varios colores	Microscopia – Unicelular	Sobre todo con flagelos	<i>Euglena</i> <i>Colaction</i>
<b>4.Algas amarillas-verdes</b> <i>Xanthophyta</i>	Amarillo - verde	Microscopia – Unicelular	Zoosporas flageladas y gametos	<i>Ophiocytum</i> <i>Vaucheria</i>
<b>5.Dinoflagelados</b> <i>Dinophyta</i>	Rojo-pardo	Microscopia – Unicelular	Todos con flagelos	<i>Ceratium</i> <i>peridinium</i>
<b>6.Criptomonas</b> <i>Cryptophyta</i>	Varios colores	Microscopia – Unicelular	Sobre todo con los flagelos	<i>Rhodomonas</i> <i>Cryptomonas</i>
<b>7.Crisofitas</b> <i>Chrysophyta</i>	Marrón oro	Microscopia – Unicelular o colonial	Algunos con flagelos	<i>Mallomonas</i> <i>Dinobryon</i>
<b>8.Diatomeas</b> <i>Bavilatiphyta</i>	Marrón oro	Microscopia – Unicelular o colonias filamentosas	Movimiento deslizante sobre el sustrato	<i>Stephanodiscus</i> <i>Aulacoseria</i>
<b>9.Algas rojas</b> <i>Rhodophyta</i>	Rojo	Microscopia – Unicelular o colonial	No móviles	<i>Batrachospermum</i> <i>Bangia</i>
<b>10.Algas pardas</b> <i>Phaeophyta</i>	Pardas-marrón	Visible – Multicelular amortiguadores y talo	No móviles	<i>Pleurocladia</i> <i>Heribaudiella</i>

**Fuente:** John, Whitton, & Brook (2002).

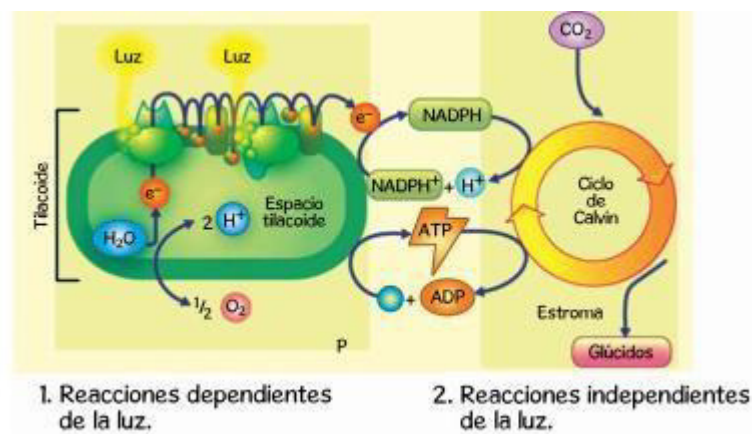
## 2.4. FOTOSÍNTESIS

La fotosíntesis es el método por el cual la energía entra a la biosfera, esta se da por diferentes factores ambientales como la calidad de la luz y la intensidad, humedad del aire, temperatura, disposición de agua, nutrientes y dióxidos de carbono. La fotosíntesis incluye reacciones de óxido-reducción. Durante el proceso



de fotosíntesis, las microalgas usan la energía proveniente del sol para generar un oxidante capaz de extraer el oxígeno del agua, al igual que electrones y protones, mientras que se reduce el dióxido de carbono para así formar carbohidratos (Salisbury & Ross, 1994).

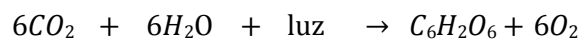
La fotosíntesis se da en 2 grupos de reacciones, las primeras reacciones dependientes de la luz, las cuales capturan energía lumínica y la transforman en energía química en forma de ATP y NADPH. El segundo grupo de reacciones reciben el nombre de reacciones independientes de la luz, y son una serie de reacciones usadas para convertir carbono inorgánico en triosafosfato, sustrato para el alga (Ver figura 3) (Barsanti, 2006).



**Figura 3.** Esquema gráfico de la fotosíntesis

**Fuente:** Adaptado de: Curtis et al, 2006

El proceso de fotosíntesis convierte un carbono en su máximo estado oxidativo ( $CO_2$ ) en carbohidratos como resultado de una reducción fuerte, a continuación se muestra la reacción establecida por Boussingault (1864).



En esta reacción la luz es un sustrato primario, la clorofila **a** es un catalizador necesario para la reacción, el  $C_6H_{12}O_6$  representa la materia orgánica reducida hasta carbohidratos.

### **2.4.1. Reacciones de la fase lumínica**

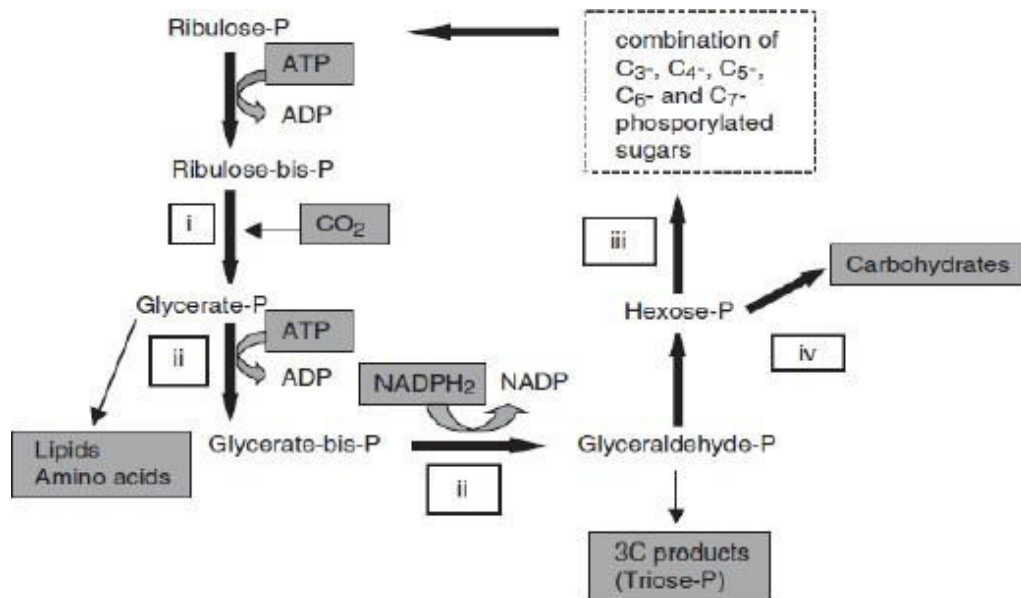
Es la fase inicial de la fotosíntesis y es la fuente de energía más significativa para todos los seres vivos, ya que comprende la luz solar. La energía lumínica es utilizada para la producción de compuestos orgánicos a partir del CO<sub>2</sub> y del agua. Las reacciones dependientes de la luz usan la energía lumínica para formar dos moléculas de almacenamiento de energía ATP y el portador de electrones reducido NADPH. En las plantas se lleva a cabo en las membranas tilacoides, cuya composición ha sido estimada en 50% lípidos y 50% proteínas y su espesor mide 7nm. (Barsanti, 2006).

Existen 2 tipos de fotosistemas, el primero es el (FSI), el cual es asociado con las moléculas de clorofila que absorben a longitudes de ondas largas (700) y se conoce como p700. El fotosistemas II (FSII), se asocia a moléculas de clorofila que absorben a 680nm, por eso es denominado P680. El fotosistema II se reduce al recibir electrones que provienen de una molécula de agua, el cual a la vez por la acción de la luz, se descompone en hidrógeno y oxígeno en el proceso de fotólisis del H<sub>2</sub>O. De este modo se puede mantener un flujo continuo de electrones desde el agua hacia el fotosistema II. Los dos fotosistemas pueden actuar simultáneamente, este proceso se conoce como esquema en Z, para producir la fotofosforilación (obtención de ATP) (Koolman & Röhm, 2003). Los principales pigmentos presentes en los tilacoides en el género *Chlorella* son las xantofilas y los B-carotenos que son las moléculas que absorben la luz en las regiones del espectro de luz verde y azul (Maris, 2012).

### **2.4.2 Reacciones de la fase oscura**

En esta etapa de la fotosíntesis, se genera la fijación del CO<sub>2</sub> y su reducción por los protones aportados por el NADPH<sub>2</sub>. Esta fase también es conocida como “reacciones termoquímicas de Calvin”, ya que fue él quien aclaró el complicado proceso entre los años de 1954 y 1960.

Calvin y Benson (1948) formularon los mecanismos de la fase oscura de la fotosíntesis, mecanismo por el cual se transforma el CO<sub>2</sub> en azúcares y otros compuestos en 4 fases principales, formando así el ciclo de Calvin-Benson (figura 6) como se muestra a continuación.



**Figura 4.** *Ciclo de Calvin- Benson*

**Fuente:** Richmond (2004)

## 2.5. INMOVILIZACIÓN DE MICROALGAS

El método de inmovilización tiene algunas ventajas principales: primero concentra alta cantidad de biomasa que puede ser utilizada como subproducto; segundo, evita la filtración de las aguas residuales tratadas; y por último, tiene una alta resistencia a compuestos tóxicos presentes en las aguas residuales tratadas (De Bashan & Bashan, 2010).

Una célula inmovilizada es una célula viva, que por medios naturales o artificiales, se evita que se mueva independientemente de su ubicación original a todas las partes de una fase acuosa de un sistema (Tampion & Tampion, 1987).

### 2.5.1. Etapas de la formación de biopelículas en la inmovilización

La formación de biopelículas en los materiales de inmovilización se da en cuatro pasos principalmente. En el primer paso, las células distinguen una superficie de adherencia formando uniones activas reversibles por medio de fimbrias, apéndices, pilis o proteínas extra celulares. En el segundo paso se provoca un aumento de la biomasa celular, evidenciándose en el aumento de la intensidad de color en los materiales de soporte y por consiguiente, la disminución del mismo en el medio líquido circundante, debido a que crea

microcolonias alrededor del área de adherencia, así como la formación de SPE (Sustancias poliméricas extracelulares), generando una unión irreversible. La composición del exopolisacarido puede variar de acuerdo con el tipo de microorganismos o las condiciones ambientales, los componentes principales son alginato, N-acetil-glucosamina, glucosa y lactosa (Garzón & Barragán, 2008). Y en la tercera fase, la biopelícula aumenta y madura, lo cual permite la adhesión de nuevas colonias, entre ellas bacterianas y finalmente, en el cuarto paso, las células individuales o conglomeradas se despegan de la biopelícula formada, ya sea por erosión, abrasión o separación para formar nuevas aglomeraciones generando una coloración verdosa en el medio líquido circundante (Nazar, 2007).

## **2.6. TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL CON MICROALGAS**

El uso de microalgas para la remoción de nutrientes en aguas residuales ha sido ampliamente estudiado gracias a su potencial para remover nitrógeno y fósforo, su capacidad de absorber bacterias patógenas, metales y residuos peligrosos, su posible uso como fuentes de alimentos, etc. Según Hoffman (1998), los tratamientos con microalgas logran las mismas eficiencias de remoción para fósforo que los tratamientos químicos convencionales, pero los tratamientos basados en microalgas presentan menores costos gracias al ahorro de los productos químicos y al aprovechamiento de los metabolitos resultantes y el uso de la biomasa como fertilizante.

El principal objetivo de la aplicación de microalgas en el tratamiento de aguas residuales es la utilización y transformación de los nutrientes a biomasa, con la consecuente producción de oxígeno para mejorar la calidad del efluente, así como la disponibilidad de este para la continua oxidación bacteriana de la materia orgánica en sistemas integrales, mediante el ciclo de oxigenación fotosintética de aguas residuales (Martínez & Navarrete, 2016).

El tratamiento de las aguas residuales con microalgas muestra grandes e importantes ventajas, ya que tienen como resultado la remoción de sales (amonio, nitritos, nitratos, ortofosfatos), el aumento del pH de los efluentes (proceso fotosintético) lo cual beneficia la precipitación de ortofosfatos, la remoción de nitrógeno amoniacal, por efecto de intercambio gaseoso, la disminución de la demanda biológica de oxígeno, la oxigenación del agua favoreciendo la oxidación continua de materia orgánica, la acción bactericida reduciendo la supervivencia de organismos patógenos y la recuperación de CO<sub>2</sub> liberado en los procesos mediante su empleo en el proceso (Abalde, 1995).

Los microorganismos fotosintéticos pueden remover otros compuestos del agua residual aparte de los nutrientes gracias a su habilidad para almacenar metales pesados mediante la adsorción química, el intercambio iónico, la quimisorción, reacciones redox o precipitación a la superficie de su pared celular (Barsanti, 2006), incluso se han reportado porcentajes de eliminación de iones metálicos como el hierro, aluminio, magnesio, manganeso y zinc entre el 56 y el 100% (Wang, 2009).

## **2.7. PARÁMETROS DE INFLUENCIA EN UN SISTEMA DE CULTIVO**

Existen diversas variables que afectan el crecimiento en un sistema de cultivo, entre las que se encuentran, el tipo y concentración de nutrientes, las condiciones óptimas de temperatura, pH, intensidad luminosa, ciclos de luz y oscuridad entre otras, las cuales son importantes para llevar un buen control de las condiciones de cultivo (Fábregas et al, 1996; Tan et al, 2016)

### **2.7.1. pH**

En las microalgas, varía el requerimiento de pH durante su crecimiento. Para valores de pH alcalinos, la disponibilidad de CO<sub>2</sub> puede ser limitante para el crecimiento y la fotosíntesis de microalgas (Martínez & Navarrete, 2016).

El pH en el cultivo está influenciado por varios factores como la alta capacidad de crecimiento, respiración, alcalinidad y composición iónica del medio de cultivo, actividad microbiana y eficiencia de la adición de CO<sub>2</sub> (Martínez, 2008). La respuesta de las microalgas al pH varía ampliamente, debido a que este factor determina la solubilidad del dióxido de carbono y de los minerales en los cultivos e influye directa o indirectamente en su metabolismo. (Ortega & Moronya, 2004).

### **2.7.2 Luz**

La luz es el nutriente que suministra la energía a las microalgas para que puedan llevar a cabo la generación de nueva biomasa y es por tanto el motor del crecimiento. El crecimiento de los microorganismos fotosintéticos es proporcional a la intensidad de luz que reciben siempre que esta se sitúe por debajo de un cierto valor máximo. La luz es el nutriente limitante en fotobiorreactor, teniendo en cuenta el valor máximo necesario, ya que los sistemas fotosintéticos receptores se ven dañados y la fotosíntesis por lo tanto, inhibida. Cabe destacar que las microalgas se adaptan a los cambios de luz variando el contenido de clorofila a de sus células (AST ingeniería S.L., 2013).

### 2.7.3 Nutrientes

El nutriente más utilizado en los cultivos de microalgas es el CO<sub>2</sub>. Al consumirse el carbono, el oxígeno es producido por fotólisis del agua y este es diluido en el medio de cultivo (Molina et. Al, 1999). Puesto que las microalgas pueden vivir bajo altas concentraciones de dióxido de carbono, los gases de invernadero, el dióxido de nitrógeno y contaminantes en la atmosfera (a partir de diversas fuentes) pueden ser nutrimentos suficientes para las microalgas (Van Beilen, 2009).

Las algas necesitan alrededor de 13 elementos para su crecimiento, entre ellos están:

- **Nitrógeno**

El nitrógeno es un elemento muy importante para el crecimiento de micro algas, el cuarto en su orden, ya que forma parte de las proteínas y nucleótidos de la biomasa, el cual puede variar de 1 a 10 por ciento. Se agrega principalmente en forma de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), en forma de amonio o se puede adicionar urea (Fernández Sevilla 2014).

- **Fosforo**

El fósforo surge en importantes intermedios metabólicos y en moléculas estructurales como los fosfolípidos. Es suministrado como fosfato o fosfatos ácidos (PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>, HPO<sub>4</sub><sup>-2</sup>) que a menudo son bastante insolubles en presencia de otros iones del medio (como el Ca<sup>+2</sup>), por lo cual es importante seguir las instrucciones de preparación del medio para que no precipite y se de en las mejores condiciones para el crecimiento de las microalgas (Fernández Sevilla 2014).

- **Carbono**

El carbono es aproximadamente un 50% de la biomasa en peso medido en base seca libre de cenizas, las microalgas foto autótrofas tienen como única fuente de carbono el CO<sub>2</sub> el cual puede ser agregado en forma de bicarbonato o carbonato (Fernández Sevilla 2014).

- **Oxígeno**

El oxígeno es suministrado tanto por el H<sub>2</sub>O como por el CO<sub>2</sub>, sin embargo, es solo el oxígeno del CO<sub>2</sub> el que se incorpora a la biomasa. El nivel de oxígeno disuelto debe ser controlado en los sistemas de cultivos de microalgas. El oxígeno es el resultado de la fotosíntesis y puede alcanzar grandes valores en sistemas de cultivos de alta densidad. (Ruiz Martínez, 2011).

- **Cloruro, sodio, potasio, calcio, magnesio, sulfato (azufre)**

Son iones que aparecen en los medios en grandes cantidades, aunque no siempre se consuman. Son de gran importancia a la hora de mantener la presión osmótica y el equilibrio iónico, aparecen en gran cantidad en el agua de microalgas marinas, ya sea natural o agua de mar sintética, algunos son, no obstante, importantes componentes de la biomasa. El magnesio es el ion central que aparece en el núcleo de porfirina de las clorofilas (Fernández Sevilla 2014).

#### **2.7.4 Temperatura**

La temperatura tiene efectos sobre la densidad del agua y sobre las reacciones bioquímicas, los requerimientos nutricionales y la composición de la biomasa. El rango óptimo para el crecimiento de la mayoría de las microalgas se sitúa entre 18 y 25°C, sin embargo, la tolerancia depende de cada especie (Gonzales A.M., 2000).

### **2.8. FOTOBIORREACTORES**

Los fotobiorreactores son usados para el crecimiento y cultivo masivo de microalgas. Los reactores deben mantener un medio estable y se debe proporcionar nutrientes necesarios, incluyendo la luz. Existen dos tipos de reactores: los abiertos, que no permiten un buen control sobre el entorno y los cerrados, en los cuales se tiene control total sobre las condiciones para que las microalgas crezcan a buena velocidad (Fernández Sevilla 2014).

### **2.8.1. Fotobioreactores abiertos**

En estos biorreactores el cultivo está en constante contacto con el entorno, tienen un bajo control de parámetros como la temperatura, conductividad, oxígeno disuelto y pH, al estar abiertos tienen una gran probabilidad de contaminarse con otros microorganismos como bacterias o incluyendo otro tipo de algas. A pesar de esto, la mayoría de cultivos de microalgas se producen por medio de estos sistemas, la ventaja de estos fotobioreactores es que son fáciles de construir y de bajo presupuesto (Fernández Sevilla 2014).

### **2.8.2. Fotobioreactores cerrados**

Estos fotobioreactores mantienen al cultivo de microalgas aislado del medio ambiente, estos sistemas tienen equipados sistemas de agitación, aireación, control de PH, estos dispositivos son muy especializados y son diseñados para una especie en general, estos fotobioreactores impiden la contaminación con otros microorganismos (Fernández Sevilla 2014).

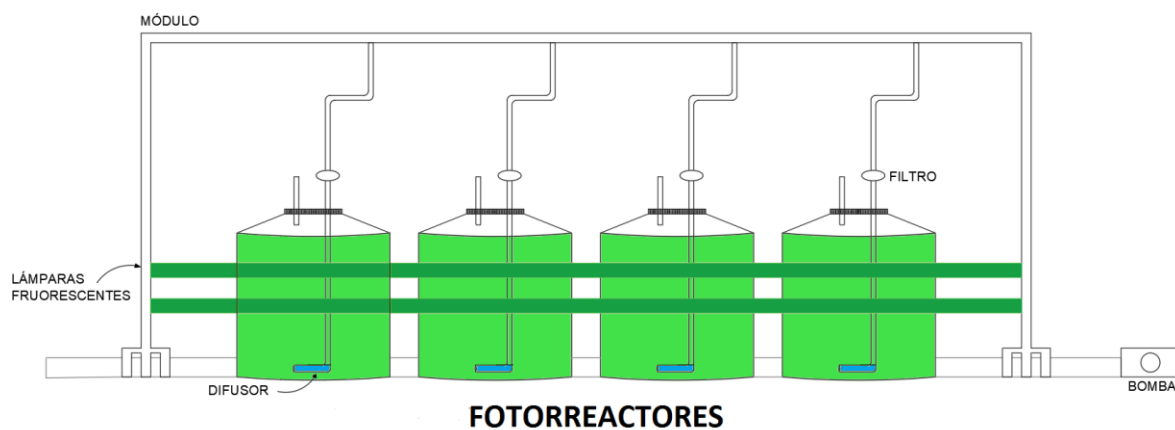


### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1 SELECCIÓN DE MICROALGAS

##### 3.1.1. Cultivo de microalgas nativas

Para el cultivo de las microalgas, se tomaron muestras de agua y raspado de las paredes de los canales que se encuentran como parte del tratamiento secundario (canales con macrófitas) de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad Pontificia Bolivariana, seccional Bucaramanga. Las muestras fueron llevadas al laboratorio de agua potable, donde se acondicionaron en relación 1:1 con medio de cultivo Bold Basal en 8 reactores con volumen útil de 2 litros, para iniciar el crecimiento de las microalgas. En la figura 7 se muestra el esquema del montaje experimental del cultivo de microalgas.



**Figura 5.** Esquema del montaje experimental del cultivo de microalgas.

**Fuente:** Autores

La tabla 3 muestra la composición del medio de cultivo Bold Basal utilizado. Todos los materiales y el medio de cultivo se esterilizaron previamente en una autoclave Gemini Sturdy SA- 300 VI.

**Tabla 3.** Composición del medio de cultivo (Bold Basal)

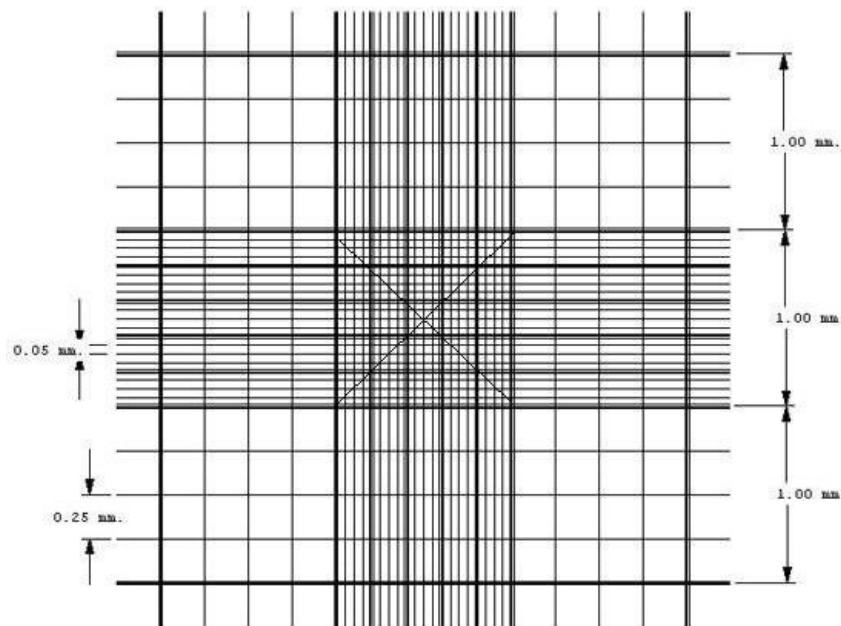
<b>Componente</b>	<b>Solución stock (g.L<sup>-1</sup> dH<sub>2</sub>O)</b>	<b>Cantidad usada</b>	<b>Concentración en medio final (M)</b>
<b>NaNO<sub>3</sub></b>	25.00	10 mL	2.94 x 10 <sup>-3</sup>
<b>CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O</b>	2.50	10 mL	1.70 x 10 <sup>-4</sup>
<b>MgSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O</b>	7.50	10 mL	3.04 x 10 <sup>-4</sup>
<b>K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	7.50	10 mL	4.31 x 10 <sup>-4</sup>
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	17.00	10 mL	1.29 x 10 <sup>-3</sup>
<b>NaCl</b>	2.50	10 mL	4.28 x 10 <sup>-4</sup>
<b>Solución EDTA alcalina</b>		1 mL	
<b>EDTA</b>	50.00		1.71 x 10 <sup>-4</sup>
<b>KOH</b>	31.00		5.53 x 10 <sup>-4</sup>
<b>Solución de métodos acidificados</b>		1 mL	
<b>FeSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O</b>	4.98		1.79 x 10 <sup>-5</sup>
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>		1 mL	
<b>Solución de Boro</b>		1 mL	
<b>H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>	11.42		1.85 x 10 <sup>-4</sup>
<b>Solución de metales traza</b>		1 mL	
<b>ZnSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O</b>	8.82		3.07 x 10 <sup>-5</sup>
<b>MnCl<sub>2</sub>. 4H<sub>2</sub>O</b>	1.44		7.28 x 10 <sup>-6</sup>
<b>MoO<sub>3</sub></b>	0.71		4.93 x 10 <sup>-6</sup>
<b>CuSO<sub>4</sub>. 5H<sub>2</sub>O</b>	1.57		6.29 x 10 <sup>-6</sup>
<b>Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 6H<sub>2</sub>O</b>	0.49		1.68 x 10 <sup>-6</sup>

**Fuente:** Bischoff & Bold, (1963).

El periodo de crecimiento duró mes y medio, obteniendo registro microscópicos, con el propósito de evaluar cualitativamente el crecimiento e identificar los diferentes géneros de microalgas nativas, con ayuda de claves taxonómicas (Bellinger & Sigeo, 2010). Además de esto, se realizaron mediciones constantes de los parámetros fisicoquímicos de los cultivos, los cuales podían afectar el crecimiento de los microorganismos, como: pH, oxígeno disuelto (OD), temperatura.

El cultivo de microalgas se realizó en diferentes fotobiorreactores teniendo en cuenta condiciones como la iluminación, temperatura, aireación y tipo de recipiente. Los fotobiorreactores fueron de vidrio traslucido y de forma cilíndrica. Se tuvo un sistema de aireación conectado a filtros de aire, los cuales evitaron la entrada de material particulado al sistema y en la parte inferior se ubicó un difusor plástico que permitió la salida del aire. Estos fotobiorreactores fueron ubicados en módulos con iluminación de 4700 lux con lámparas fluorescentes de luz blanca, aproximadamente de 50cm de alto por 1 metro de ancho con fotoperiodos de 12h y temperatura ambiente. Durante esta etapa, se llevó un seguimiento del crecimiento de las microalgas, identificándolas y clasificándolas según las claves taxonómicas.

Además, se hicieron repiques de los cultivos para aislar las microalgas de los demás microorganismos y suplir el agotamiento de los nutrientes, esto se hizo empleando un microscopio y una Cámara de Neubauer. Para la determinación o recuento celular se emplea una cámara de Neubauer de 0.25 mm o de 0.05 mm como lo muestra la figura 6.



**Figura 6.** Imagen de la rejilla de una cámara de Neubauer de 0.1 mm para conteo celular.

Para realizar el conteo celular, se tomó un volumen de 10  $\mu$ l de la muestra que contiene el alga y se tuvo en cuenta los siguientes pasos:

- Se tomó el recipiente donde se tenían las muestras y se agitó con el fin de permitir que las células se distribuyeran uniformemente.

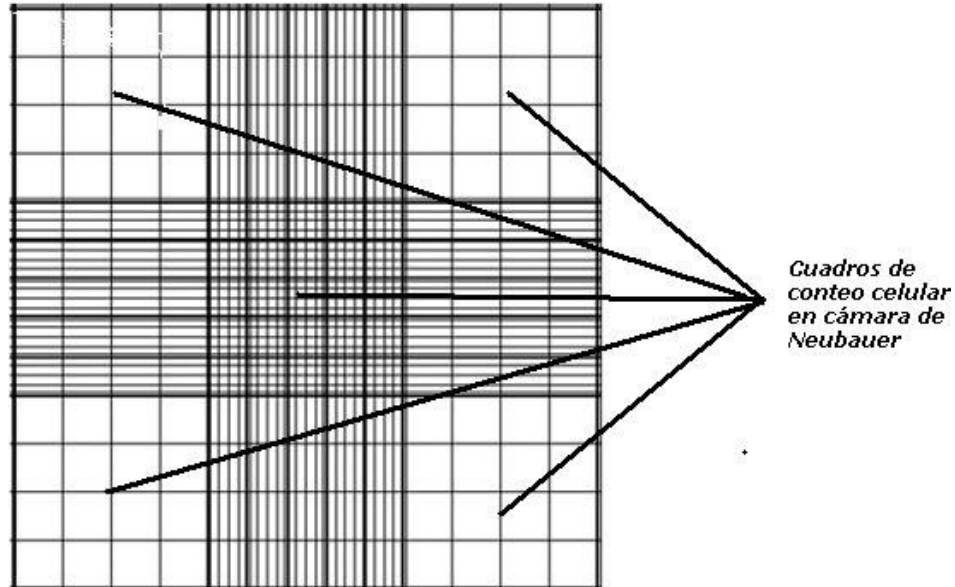
- Se colocó un cubreobjetos sobre la cámara de Neubauer, y se colocó en posición horizontal sobre el mesón, en un lugar cómodo para pipetear.
- Se introdujo una micropipeta y se succionó la sustancia (muestra).
- Se introdujo la pipeta o micropipeta en la muestra.
- Se pulsó el botón de succión suavemente hasta que se observó cómo se va llenando la pipeta o punta con el contenido de la muestra.
- Se sacó la pipeta o micropipeta de la muestra y siempre manteniéndola en posición vertical se llevó hasta la cámara de Neubauer.
- Se colocó la pipeta o punta en el borde del cubreobjetos, en el extremo de la cámara de Neubauer. Se trató de dejar que el líquido penetre entre la cámara y el cubreobjetos desde el lateral, por capilaridad.
- Se soltó el botón de eyección suavemente mientras se supervisó que el líquido estaba entrando correctamente y de forma uniforme en la cámara. De esta manera se tuvo la cámara de Neubauer lista para el recuento celular bajo el microscopio óptico.

Generalmente para hacer el recuento, se enfocó la cámara de Neubauer con el objetivo 10X, 20X o 40X según el tamaño de las células que se pretenden contar (Arredondo & Voltolina, 2007).

El recuento celular se realizó enumerando las células presentes en los 4 cuadros de las esquinas y el central del cuadro marcado con una X. Posteriormente se aplicó la siguiente fórmula para determinar la densidad celular por mililitro de la muestra.

$$\text{Concentración celular/ml} = \frac{(\text{N}^\circ \text{ de células contadas} \cdot \text{N}^\circ \text{ de cuadros totales})}{\text{N}^\circ \text{ de cuadros contados}} \cdot 10.000$$

Este tipo de conteo se realizó cuando en el conteo se alcanza un número > a 100 células. Por otro lado, cuando la densidad celular era baja (< a 100 células) se realizó el conteo de los 5 cuadros grandes de la cámara de Neubauer, así como se muestra en la figura 7.



**Figura 7.** Imagen de la rejilla de la cámara de Neubauer de 0.1 mm, donde se señalan los cuadros grandes que se cuentan cuando la densidad celular es inferior a 100 células.

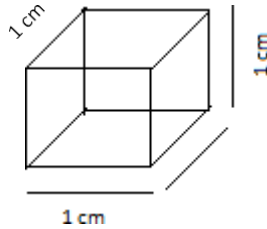
En este caso la fórmula para determinar la densidad de células por mililitro de la muestra es la siguiente:

$$\text{Concentración celular/ml} = (\text{N}^\circ \text{ células contadas} \times 10.000) / \text{N}^\circ \text{ cuadros contados}$$

Para efectuar un recuento más preciso es recomendable tomar como mínimo 1 submuestra de cada replica con el fin de determinar la concentración celular media.

### 3.1.2 Inmovilización de microalgas

Para la inmovilización de microalgas se utilizaron igualmente fotobiorreactores de vidrio translucidos cuales contenían una malla que sostenía 15 alambres y por cada alambre 24 cubitos del material inmovilizante, lo cual permitió una mayor concentración de la biomasa, también contraban con un sistema de aireación acoplado a un difusor plástico de burbuja mediana, ubicado en la parte inferior de los reactores., El soporte para la inmovilización de las microalgas fue el polietileno de baja densidad, el cual presentó resultados óptimos en estudios anteriores (Castro y Reyes, 2016). El material se cortó en cubos con las dimensiones que se muestran en la figura 8, los cuales fueron lavados con agua destilada en ebullición y luego secados en el horno a una temperatura de 105°. Pasado este tiempo, se fijaron en soportes de acero lo que garantizó que se encontraran sumergidos totalmente en los fotobiorreactores. El polietileno fue sumergido en medio de cultivo y biomasa algal nativa obtenida del cultivo realizado anteriormente, con una relación de 1:1.



**Figura 8.** Dimensiones del material de inmovilización

**Fuente:** Autor

### 3.2 REMOCIÓN DE NUTRIENTES DEL AGUA RESIDUAL

Para determinar la influencia del tipo de agua residual y la concentración inicial de amonio sobre la capacidad de las microalgas para la remoción de nutrientes, se realizó un análisis descriptivo, con el fin de recopilar datos, organizarlos y analizar los resultados, además de estudiar los efectos de los factores de interés de una manera simultánea. Se utilizó un diseño factorial  $2^2$ , con el fin de determinar cómo un factor puede influir en una variable respuesta. En este caso, se definieron los factores: 1) Tipo de agua residual y 2) Concentración inicial de amonio. Los niveles establecidos para el factor 1 fueron: agua residual sintética y agua residual real filtrada; y para el factor 2 fueron: 90 y 130 mg/L. La tabla 4 presenta un resumen de las condiciones experimentales utilizadas.

**Tabla 4.** Diseño experimental

<b>Factores</b>	<b>Agua residual</b>	<b>Concentración inicial de amonio</b>
<b>Nivel 1</b>	Sintética	90 mg/l $\text{NH}_4^+$
<b>Nivel 2</b>	Real filtrada	130 mg/l $\text{NH}_4^+$

**Fuente:** Autores

Las concentraciones iniciales de amonio se escogieron teniendo en cuenta los valores presentados en el efluente anaerobio de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad Pontificia Bolivariana Seccional Bucaramanga. El agua sintética simuló las características de un efluente anaerobio con las mismas concentraciones de nitrógeno y manteniendo una relación DQO, alcalinidad, amonio y ortofosfatos, 60/30/15/1, respectivamente. En la tabla 5 se presenta la composición del agua residual sintética.

**Tabla 5.** Composición del agua residual sintética utilizada

Clasificación	Compuesto/ Elemento	Reactivo utilizado	Concentración (mg/l)	
			ARS I	ARS II
Macronutrientes	Nitrógeno			
	amoniacal	NH <sub>4</sub> Cl	90	130
	Ortofósforo	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	36	36
	Azufre	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.781	0.781
	Potasio	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.298	2.298
	Calcio	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	9	9
	Magnesio	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	6	6
	Micronutrientes	Manganeso	MnCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.3
Zinc		ZnSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0.05	0.05
Cobalto		CoCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	0.026	0.026
Molibdeno		MoO <sub>3</sub>	0.03	0.03
Cobre		CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.0025	0.0025
Níquel		NiCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	0.007	0.007
Hierro		FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	2.4	2.4
Alcalinidad	Carbonatos	NaHCO <sub>3</sub>	260	260
Fuente de carbono	DQO	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	520	520

Fuente: Adaptado de Cerón-Vivas et al, 2012

Las variables de respuestas para este diseño fueron la remoción de amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), ortofosfatos (PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>), nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) y demanda química de oxígeno (DQO). Adicionalmente se midieron parámetros como temperatura, oxígeno disuelto y pH.

El agua residual real filtrada fue tomada del efluente anaerobio (entrada de canales) de la planta de tratamiento de agua residual de la Universidad Pontificia Bolivariana, seccional Bucaramanga. Estas muestras pasaron por un proceso de filtración, con el fin de remover los sólidos y así, determinar los parámetros fisicoquímicos de dicha agua (DQO, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>). El agua sintética buscó simular el efluente anaerobio y se preparó en el laboratorio.

### 3.3 MÉTODOS ANALÍTICOS

Durante el proceso de cultivo e inmovilización, los parámetros de control fueron: pH, temperatura y oxígeno disuelto, los cuales fueron monitoreados con un medidor multiparámetro portátil HQ40D.

#### 3.3.1 Concentración de biomasa en peso seco

En el cultivo, la metodología usada para la determinación de la biomasa en peso seco realizada, fue una variación en la metodología propuesta por Moheimani (2013), la cual contempla la estandarización del crecimiento algal mediante una curva de crecimiento que relaciona el crecimiento en peso seco y la absorbancia de una muestra de algas de 1 cm<sup>3</sup> por medio de una medición espectrofotométrica, la cual se basa en la interacción de la transmitancia (nm) del haz de luz con la absorbancia de una cantidad de microalgas correspondiente a la muestra problema (número de células/mL), el resultado es una ecuación que determina la concentración de las células del cultivo.

Para la determinación de la biomasa en peso seco, se utilizaron filtros GF/C, se tomó 1mL de alícuota de algas en un filtro completamente seco y pesado y se secó el filtro con la muestra durante 60 minutos a una temperatura de 105 °C, posteriormente se llevó al desecador por 30 minutos y se pesó nuevamente en una balanza analítica. El proceso se realizó durante 21 días, adicionalmente se tomaron mediciones de absorbancia a 500, 550, 580, 610,650 y 680 nanómetros en un espectrofotómetro Thermo serie GENESYS 10UV (Serrano Malagón, 2015). Para el cálculo del peso se utilizó la siguiente relación:

$$\text{Peso seco} = (\text{Peso del filtro con la muestra}) - (\text{peso del filtro previamente secado})$$

#### 3.3.2. Ortofosfatos (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) y Nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)

La determinación de ortofosfatos y nitratos se realizó por cromatografía iónica. El principio de este método se basa en una muestra de agua, la cual se inyecta en una corriente de eluyente y se pasa a través de una serie de intercambiadores de iones que se encuentran dentro de columnas.

Cuando una muestra iónica atraviesa estas columnas, los iones presentes se separan debido a las diferentes retenciones que sufren al interactuar con la fase fija de las columnas analíticas. Una vez se encuentren separadas, las muestras pasan a través de un detector donde se registra la señal obtenida respecto al tiempo de retención.



El equipo que se utilizó fue el Cromatógrafo iónico 883 Basic IC Metrom 120V/60Hz, el cual se encuentra ubicado en el laboratorio de estudios ambientales de la Universidad Pontificia Bolivariana- Bucaramanga. Para la realización de esta técnica se realizaron los siguientes pasos:

- Preparación de los materiales y reactivos a utilizar
- Estabilizar el equipo de cromatografía iónico para ajustar la columna
- Realizar la configuración inicial para la creación de métodos
- Preparación y análisis de la curva de calibración
- Análisis de las muestras
- Asegurar la calidad de las muestras
- Y por último, la realización de los cálculos

### 3.3.3. Nitrógeno ( $\text{NH}_4^+$ )

Para la medición del nitrógeno ( $\text{NH}_4^+$ ) se utilizó un equipo multi iones de marca Oaklon que contiene un electrodo para la medición de amonio. El equipo brinda una lectura directa de la concentración de iones, es compacto y fácil de usar, con puntos de calibración de iones preprogramados y el modo mV le permite verificar la calibración y el rendimiento del electrodo. Lee la concentración en ppm y mV, así como el pH y la temperatura en °C.

Para determinar el porcentaje de remoción en cada concentración de los tipos de aguas, se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{Remoción} = \frac{\text{Concentración inicial} - \text{concentración final}}{\text{Concentración inicial}} * 100$$

### 3.3.4. Demanda química de oxígeno (DQO)

La medición de la DQO se llevó a cabo mediante el método de titulación por FAS, en el cual se utilizaron tubos de rosca, a cada tubo se le adicionó lo siguiente:

- Dicromato de potasio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), que actúa como digestor
- Muestra, agua destilada (blanco) o patrón, este último fue preparado con biftalato de potasio
- Ácido sulfúrico más sulfato de plata ( $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{AgSO}_4$ ), el cual actúa como catalizador (acelerador de reacción).

Luego de la preparación de las muestras, se llevaron a un termoreactor por 2 horas a 150°C. Pasado este tiempo se dejaron enfriar por 40 min y se procedió a titular con sulfato ferroso amoniacal (FAS). Para el proceso de titulación, se pasaron las muestras a vasos precipitados y se les adicionó 3 gotas de ferroina, la cual actúa como un indicador.

Para obtener la concentración de DQO, se debe tener en cuenta la siguiente ecuación:

$$\frac{(A - B) * 8000 * N}{\text{Volumen de muestra}}$$

Donde:

A= Volumen gastado en el blanco

B= Volumen gastado en la muestra

N= Normalidad del FAS

## 4. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 4.1. SELECCIÓN E INMOVILIZACIÓN DE MICROALGAS

#### 4.1.1. Cultivo y aislamiento



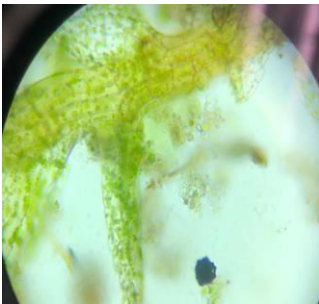
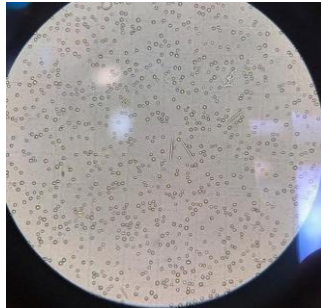
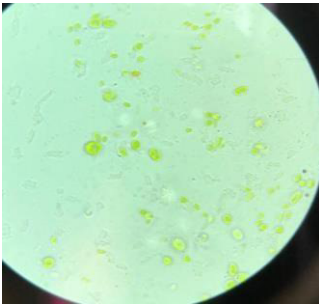
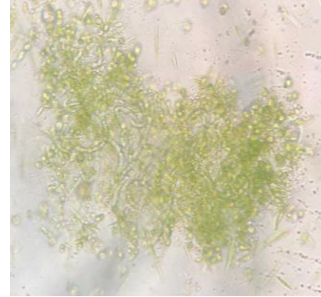
Mediante las observaciones microscópicas realizadas a los cultivos, se encontró la existencia de dos divisiones de microalgas, *Bacillariophyta* y *Chlorophyta*, dentro de las cuales se destacan los géneros: *Chlorella*, *Navicula*, *Gyrosigma*, *Diatomea* o *Bacillariophyceae*, *Cosmarium* y *Scenedesmus sp.* En el anexo 2 se muestran los registros microscópicos obtenidos.

El género de microalgas que manifestó mayor cantidad en las muestras microscópicas que fueron obtenidas del efluente anaerobio de la PTAR UPB, fue la *Chlorella vulgaris*. La presencia de este género se debe a que estas son desarrolladas en medios ricos en nutrientes, como es el caso del agua residual, además de esto, este género de microalgas tiene un rango amplio de adaptación, por lo tanto, es una de las microalgas con más rápido crecimiento, según lo registrado por Ruiz, A (2011).

Para la inmovilización, se trabajó solo con *Chlorella vulgaris*, ya que es una especie cosmopolita de ambientes acuáticos y que habita inherentemente en las aguas residuales, además de esto, presenta altas tasas de remoción de nitrógeno y fósforo. Como característica principal, la *Chlorella* crece rápidamente teniendo una tasa de crecimiento de hasta  $0.2 \text{ h}^{-1}$  en cultivos fotoautótrofos (Lee, 2001). Adicionalmente, las especies de *Chlorella* son consideradas de alta resistencia a cambios ambientales, estrés mecánico y altas concentraciones de contaminantes incluyendo nutrientes y metales pesados (Palmer, 1996: Kaplan et al., 1987).

Se observó un aumento en la densidad celular debido al suministro del medio de cultivo, el cual permite el crecimiento y la reproducción acelerada de las algas. Esto se apreció microscópicamente, por la cantidad y el aumento del tamaño de las células y macroscópicamente, por el cambio del color, el cual pasó de un verde pálido a un verde intenso, demostrando un aumento en la división *Chlorophyta*. En la tabla 6 se observan las microalgas al inicio y al final de la fase de cultivo.

**Tabla 6.** Evolución de las microalgas en el proceso de cultivo

Inicio	Final
	
	
	

**Fuente:** Autores

En cuanto al conteo por la cámara de Neubauer, se tuvo que el inóculo de la etapa de cultivo donde se presentaba el crecimiento de algas verdes estaba compuesto exclusivamente por células de *Chlorella Vulgaris*.

Después de determinar la concentración de células en un cultivo que se encontraba en fase exponencial de crecimiento, se usó la siguiente ecuación (ASTM 1218, 2007) para calcular el volumen total de cultivo requerido para la inoculación de todos los recipientes de ensayo:

$$A = \frac{(B \times C \times D \times E)}{F}$$

Dónde:

A= Volumen del inóculo requerido para cada cultivo prueba (ml).

B= Concentración celular inicial deseada para cada cultivo de prueba (células/ml).

C= Volumen de la solución en el recipiente de prueba (ml de la sustancia prueba y ml del medio).

D= Número de recipientes de prueba.

E= Factor de 1.2 para proporcionar un excedente del inóculo.

F= Concentración celular encontrada luego de realizar la lectura a la unidad de cultivo.

$$A = \frac{(15.000 \times 750 \times 1 \times 1.2)}{6.8 \times 10^7}$$

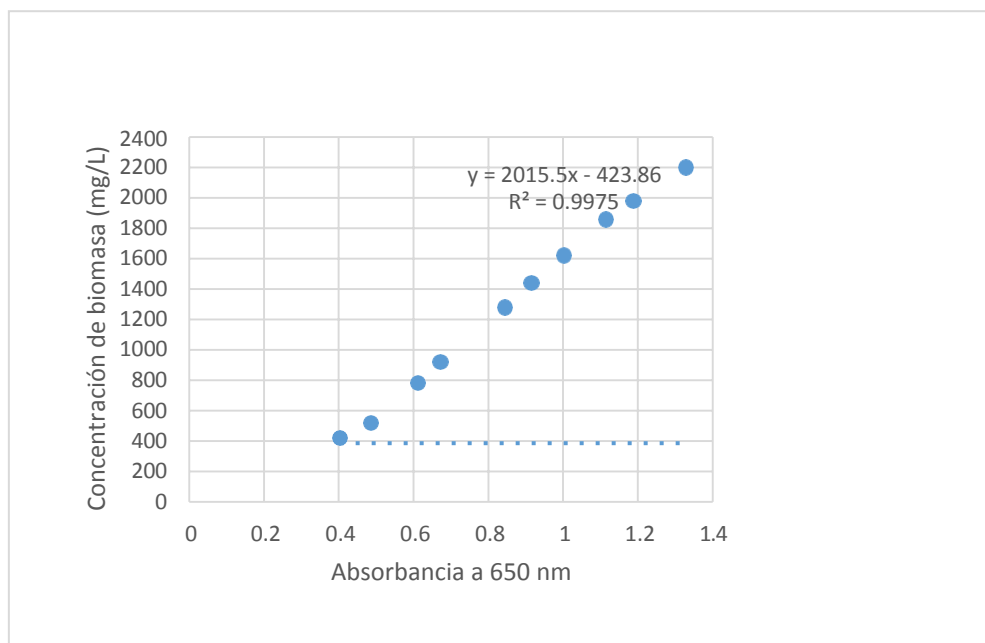
$$A = 0.1985 \text{ ml} \approx 1 \text{ ml}$$

El volumen requerido para cada cultivo fue de 1 ml. Posterior a estos cálculos se procedió a tomar el volumen del inóculo inicial (cantidad de alga en ml) y se depositó en los recipientes que contenían el medio de cultivo y de esta forma fueron realizados los repiques para aislar las microalgas y generar volumen. En el anexo 1 se encuentra cómo se realizó el conteo para obtener la concentración celular.

#### **4.2. CRECIMIENTO DE LA BIOMASA POR PESO SECO**

Teniendo en cuenta las longitudes de onda de la densidad óptica para la determinación de crecimiento de la biomasa, se eligió trabajar con la de 650 nm, la cual presentó un mejor ajuste lineal con una mejor constante de correlación  $R^2$ . En la gráfica 1 se observa la curva de correlación entre la biomasa medida como peso seco y la absorbancia a 650nm.

**Gráfica 1.** Curva de correlación entre la concentración de biomasa (mg/l) y absorbancia (nm)

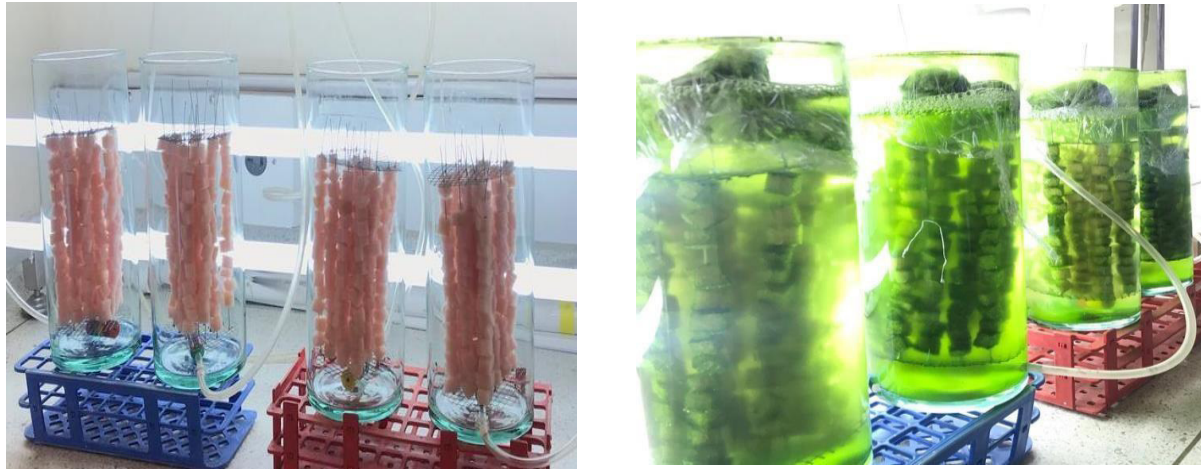


**Fuente:** Autores

Se observa un aumento en la concentración de biomasa algal, mostrando un comportamiento lineal, con una ecuación  $y=2015.5x-423.86$  y una constante de correlación  $R^2$  igual a 0.9975. La velocidad de crecimiento específico es una forma de representar la cinética, considerando el aumento en el número de células en un intervalo de tiempo. Este comportamiento se adapta a los modelos anteriormente reportados por autores como (Becker, 1994), (De Bashan et al., 202).

#### **4.3. INMOVILIZACIÓN DE LAS MICROALGAS**

Para la inmovilización de las microalgas, se inició con una concentración de biomasa de 2.2 g/L, en la figura 9 se observa el montaje mencionado antes y después de adicionar las microalgas para ser inmovilizadas. Al finalizar el proceso de inmovilización, la concentración de biomasa en el medio de soporte fue de 1.45 g/L. Con este valor se inició la etapa de remoción de nutrientes en agua residual.

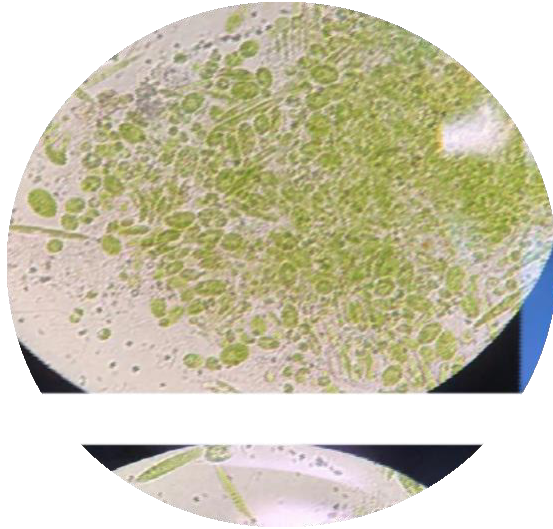


**Figura 9.** Registro fotográfico del proceso de inmovilización

**Fuente:** Autor

La capacidad de las microalgas por fijarse en superficies facilitando la formación de floculantes, ha permitido el desarrollo de esta técnica de inmovilización celular por adsorción en soportes como espumas translúcidas de poliuretano. En condiciones de cultivo controlado en biorreactor, se logra una mayor retención de la biomasa. En el anexo 3, se observa el procedimiento del montaje para la inmovilización de las microalgas.

Además de esto, al finalizar el periodo de inmovilización, los registros microscópicos mostraron que siguió predominando la presencia de la *Chlorella vulgaris* y hubo un gran aumento de sus células como se muestra en la figura 10.



**Figura 10.** Registro microscópico de las microalgas durante del proceso de inmovilización

**Fuente:** Autor

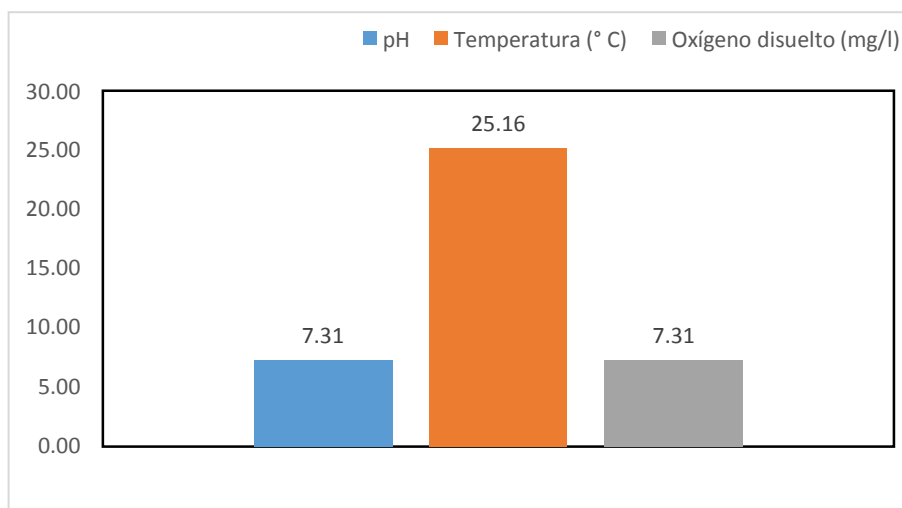
#### **4.4. PARÁMETROS DE CONTROL**

Como parámetros de control se midió el pH, la temperatura y el oxígeno disuelto, a los cuales se les hacía medición a diario, con el fin de mantener óptimas condiciones en los cultivos.

El pH se mantuvo en un rango 6.5 a 8.0 para el proceso de cultivo y  $7.0 \pm 0.4$  para el proceso de inmovilización. La temperatura estuvo entre 24°C y 26°C y el oxígeno disuelto entre 7.11 mg/l y 7.58 mg/l, en los dos procesos. En la gráfica 2 y 3 se observa el rango de los parámetros durante la etapa de control e inmovilización y en el anexo 4 se muestran los datos de forma detallada de la etapa de cultivo.

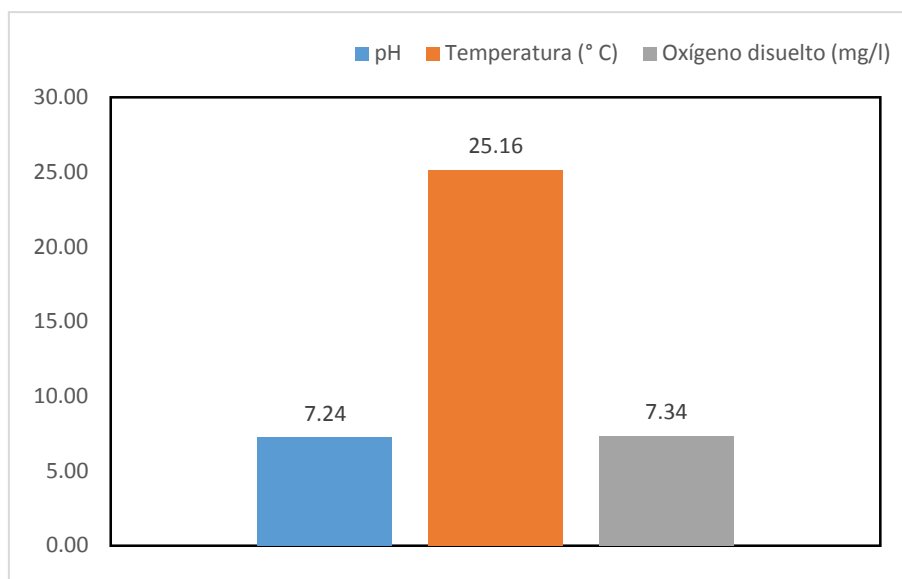


**Gráfica 2.** Parámetros de control durante la etapa de cultivo



**Fuente:** Autores

**Gráfica 3.** Parámetros de control durante la etapa de inmovilización



**Fuente:** Autores

El pH en los cultivos se ve influenciado por varios factores, como la productividad de algas, la respiración y la composición iónica del medio de cultivo, la actividad microbiana autotrófica y heterotrófica y la eficiencia del sistema de adición de CO<sub>2</sub> (Martínez 2008, Park et al. 2011a).

Cada especie requiere un rango determinado de pH que permita su crecimiento, se dice que para las microalgas su pH óptimo es de 8, ya que por encima o debajo de este pH presentan un descenso de

productividad, que no solo afecta el crecimiento algal, sino también la capacidad para remover nutrientes como nitrógeno y fósforo en sistemas de tratamiento de aguas (Park et al. 2011a).

#### 4.5 REMOCIÓN DE NITRÓGENO (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)

La concentración inicial de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> para los dos tipos de agua se encuentra en la tabla 7, para la concentración del agua residual sintética se tuvo en cuenta los parámetros iniciales del agua residual real filtrada obtenida de la planta de tratamiento. Además, la concentración inicial de biomasa en todos los experimentos fue de 1.45 g/L.

**Tabla 7.** Concentraciones iniciales de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

Concentraciones	Agua residual real filtrada (mg/l)	Agua residual sintética (mg/l)
<b>1</b>	130	138
<b>2</b>	90	93

**Fuente:** Autores

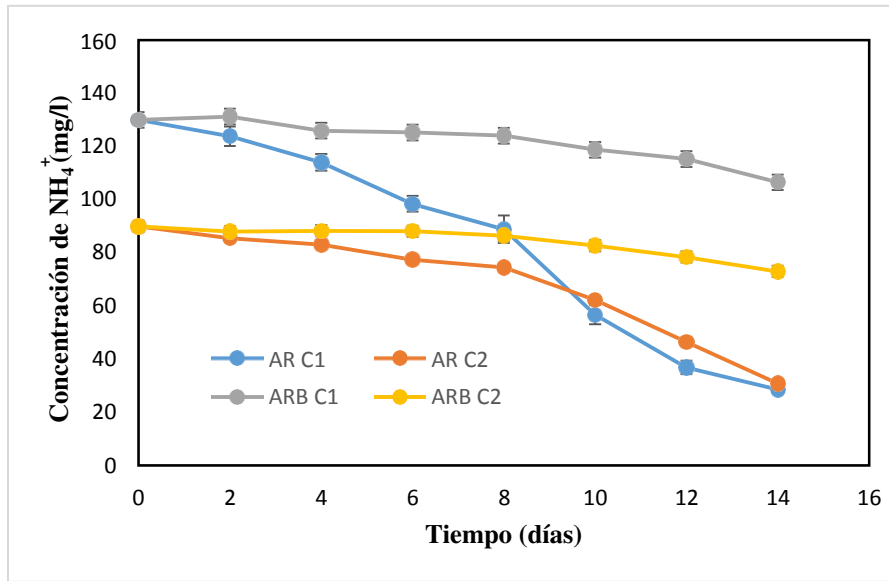
El período de remoción duró 15 días, realizando pruebas día de por medio, para un total de 8 pruebas, en los cuales se presentó una gran remoción de nitrógeno con relación a las concentraciones iniciales de cada tipo de agua, como se muestran en las gráficas 4 y 5. Adicionalmente, se muestran los datos obtenidos de los parámetros de control para los 2 tipos de aguas utilizadas (ver tabla 8).

**Tabla 8.** Parámetros de control en el proceso de remoción de nutrientes

Días	Parámetros en el agua residual real filtrada		Parámetros en el agua residual sintética	
	pH	Temperatura (° C)	pH	Temperatura (° C)
1	7.42	24.1	7.26	25.3
2	7.38	26.1	7.23	26.9
3	7.45	24.1	7.33	24.2
4	7.45	24.2	7.38	25.1
5	7.51	24.4	7.35	26
6	7.64	24.3	7.42	25.4
7	7.55	25	7.41	24.2
8	7.53	25.2	7.48	26

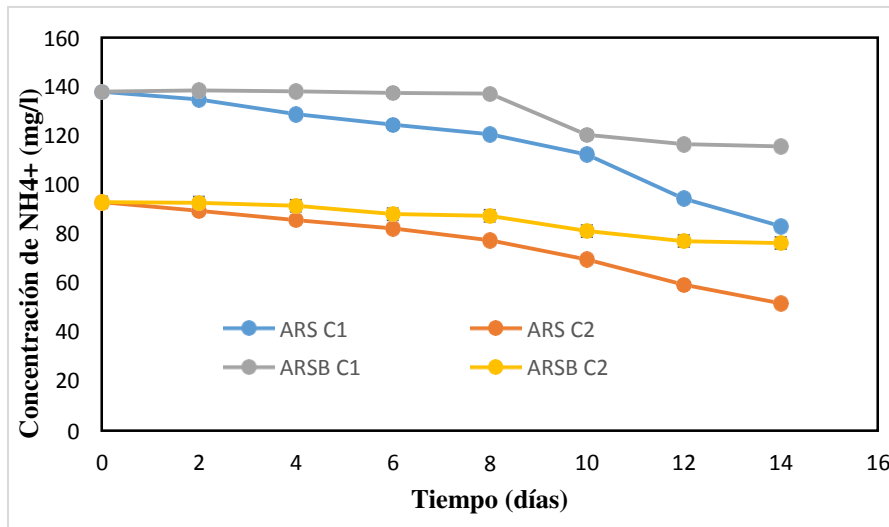
**Fuente:** Autores

**Gráfica 4.** Curva de remoción de  $\text{NH}_4^+$  en el agua residual real filtrada y sus blancos



Fuente: Autores

**Gráfica 5.** Curva de remoción de  $\text{NH}_4^+$  en el agua residual sintética y sus blancos



Fuente: Autores

Donde:

AR C1 = Agua residual real concentración 1

AR C2 = Agua residual real concentración 2

ARS C1 = Agua residual sintética concentración 1

ARS C2 = Agua residual sintética concentración 2

ARB C1= Agua residual real blanco concentración 1

ARB C2 = Agua residual real blanco concentración 2

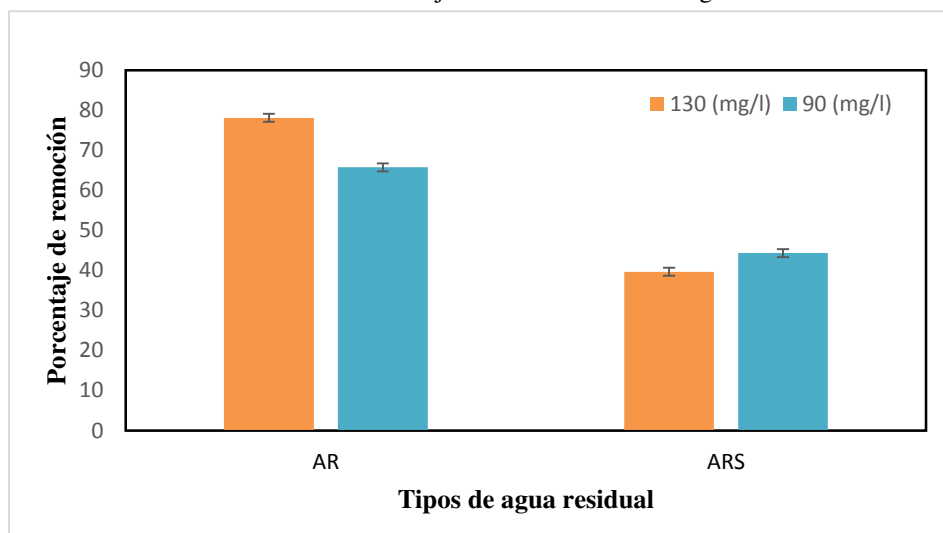
ARSB C1 = Agua residual sintética blanco concentración 1

ARSB C2 = Agua residual sintética blanco concentración 2

De acuerdo con la gráfica 3 y 4, se observa que tanto en el agua residual real filtrada, como en el agua residual sintética, la microalga *Chlorella vulgaris* tuvo un gran efecto a la hora de remover el ion  $\text{NH}_4^+$ . Esto ocurre gracias a que la *C. Vulgaris* es un alga con un crecimiento fotoautótrofo, el cual se encuentra limitado por el agotamiento de nutrientes, en especial el nitrógeno. Además de esto, tiene un gran potencial en la biorremediación de distintas calidades de aguas residuales, debido a su elevado contenido de aceite y alta tasa de crecimiento en condiciones difíciles (Zhigang et al., 2013).

Los resultados obtenidos de los porcentajes de remoción de los diferentes tipos de agua residual y concentraciones iniciales de nitrógeno se pueden apreciar en la gráfica 6.

**Gráfica 6.** Porcentajes de remoción de Nitrógeno



Fuente: Autores

De acuerdo con la gráfica 6, se observa que el porcentaje de remoción obtenido del  $\text{NH}_4^+$  fue mayor en las dos concentraciones del agua residual real filtrada, ya que en el agua residual habitan diferentes tipos de microorganismos los cuales utilizan el amonio como una fuente de nutrientes, en especial las bacterias, quienes pueden oxidar el nitrógeno amoniacal en nitritos y nitratos, provocando así su disminución, mientras que el agua residual sintética no cuenta con la misma capacidad de microorganismos, ya que fue

preparada en el laboratorio con cantidades de  $\text{NH}_4^+$  cercanas a las que se encontraron en el agua residual real filtrada y por tanto, la cantidad de amonio que está contenía solo fue degradado por las microalgas.

El uso de microalgas mostró ser una técnica efectiva a la hora de remover el amonio del agua, ya que se obtuvieron valores entre el 66 y el 77% , los altos porcentajes pueden estar asociados a que al ser nativas las microalgas de la planta de tratamiento, deben estar adaptadas a este medio y no se van a ver afectadas durante este proceso, mientras que en el agua residual sintética, se encuentran en un ambiente nuevo, porque a pesar de simular las características iniciales del agua residual real, no cuentan con las mismas condiciones (Hernandez- Reyes et.al, 2012).

Además de esto, Hernandez et al., (2012) evaluó la capacidad eliminar o remover el amonio mediante cultivos inmovilizados de microalgas, haciendo énfasis en la *Chlorella vulgaris*. Se llevó a cabo un seguimiento de su crecimiento y de su capacidad para remover nutrientes del agua residual proveniente de la UAM (Universidad autónoma de México) obteniendo porcentajes de remoción para el  $\text{NH}_4^+$  entre el 70 y 74%.

Al igual que en este proyecto, en los estudios anteriores los investigadores para obtener buenos resultados utilizaron sistemas cerrados como los fotobiorreactores, los cuales agregan un tipo de luz para proporcionar la energía en el biorreactor.

Respecto a los controles (blancos), se observa que la remoción de este ion fue baja en los dos tipos de agua, debido a que no contenían microalgas que hicieran el proceso de remoción.

En cuanto al pH, este es un parámetro fundamental en el proceso de remoción de nitrógeno, ya que durante los proceso de remoción de nutrientes, en especial de nitrógeno, se produce un cambio en el pH. Este sensor es una medida indirecta de la progresión de dichos procesos. El valor óptimo de pH para este proceso se encuentra alrededor de 8, mientras que a valores inferiores a 6.5 la velocidad de remoción disminuye bruscamente (Shammas, 1996).

De acuerdo con el análisis estadístico realizado, se observan diferencias significativas tanto para las concentraciones del agua residual sintética, como para las del agua residual real filtrada ( $p < 0.05$ ) (anexo 5). Eso se debe a que influyen los parámetros fisicoquímicos del agua, ya que aunque se trató de simular un agua parecida a la real, las condiciones eran diferentes, debido a la cantidad de microorganismos que cada una contenía.

A pesar de que es notorio que con el agua residual real se obtuvo un mayor porcentaje de remoción para las 2 concentraciones de amonio, al realizar el análisis de varianza de 2 factores se obtuvo que si hay diferencias

significativas entre la concentración inicial de amonio y el tipo de agua residual. Además de esto, se observa que si influye el tipo de agua residual y la concentración inicial de nitrógeno.

En el anexo 6 se encuentran todos los datos obtenidos de las concentraciones y el porcentaje de remoción durante los 15 días del proceso.

#### 4.6. REMOCIÓN DE $PO_4^{-3}$ (ORTOFOSFATOS)

La concentración inicial de  $PO_4^{-3}$  en los biorreactores que contenían el agua residual real filtrada y el agua residual sintética que fue preparada con base en los datos obtenidos del agua real se encuentran en la tabla 10.

**Tabla 10.** Concentraciones iniciales de  $PO_4^{-3}$

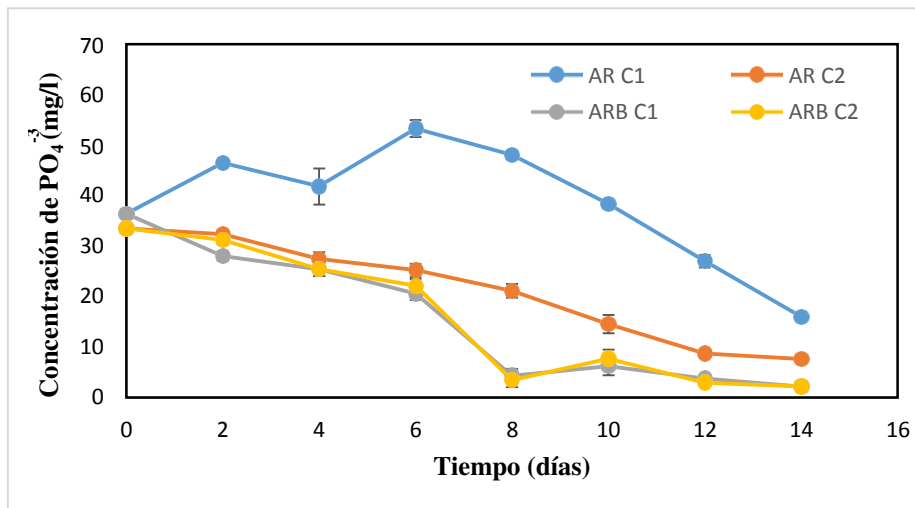
Concentraciones	Agua residual real filtrada (mg/l)	Agua residual sintética (mg/l)
<b>1</b>	36.4	35.6
<b>2</b>	33.5	35.6

**Fuente:** Autores

El fósforo se puede encontrar en el ambiente de manera orgánica e inorgánica. Debido a su reactividad, el fósforo no se encuentra libre en la naturaleza, por lo que principalmente se encuentra como fosfato, específicamente como ortofosfatos  $PO_4^{-3}$ . La cantidad necesaria por las microalgas es menor a la cantidad de nitrógeno para generar la misma cantidad de biomasa.

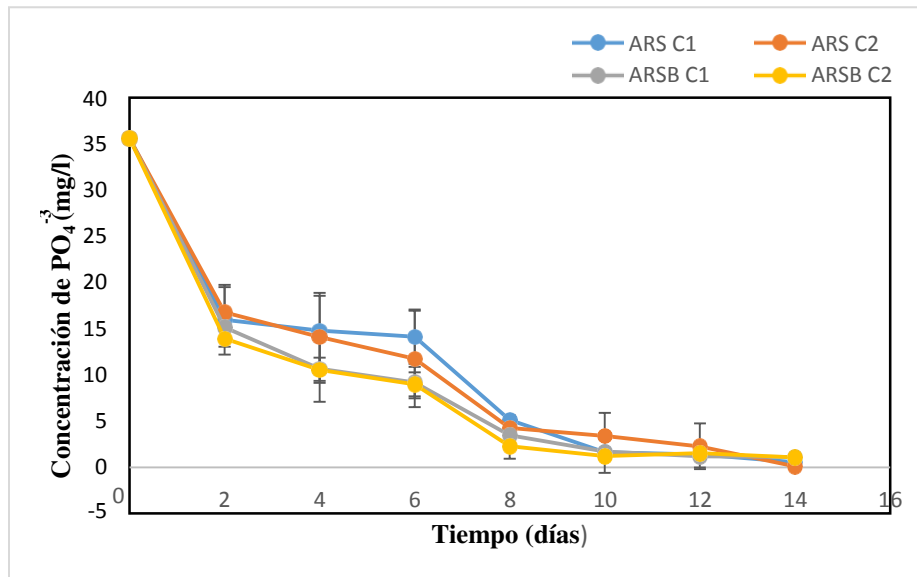
Los datos obtenidos de las concentraciones del fosfato en los dos tipos de agua residual más las microalgas y los controles, se encuentran en la gráficas 7 y 8 desde que inició el proceso de remoción, hasta su finalización.

**Gráfica 7.** Curva de remoción de  $\text{PO}_4^{-3}$  en agua residual real filtrada y sus blancos



**Fuente:** Autores

**Gráfica 8.** Curva de remoción de  $\text{PO}_4^{-3}$  en agua residual sintética y sus blancos

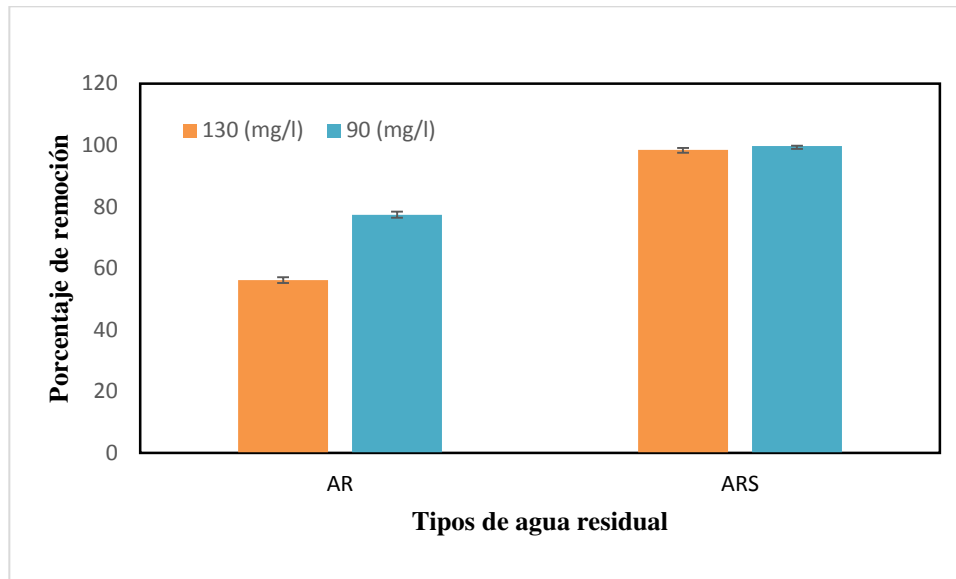


**Fuente:** Autores

De acuerdo con las gráficas, se observa que la remoción de ortofosfatos presentó una variación a través del tiempo en los dos tipos de agua.

En la gráfica 9 se pueden apreciar los porcentajes de remoción de  $\text{PO}_4^{-3}$  según las diferentes aguas y sus respectivas concentraciones.

**Gráfica 9.** Porcentajes de remoción de Fosfato



**Fuente:** Autores

Para el caso del agua residual real filtrada, se observa que la mayor remoción de fosfatos se encuentra el fotobiorreactor que contiene la concentración dos del agua residual, en donde inicialmente se registró una concentración de 33.5 (mg/l) de  $\text{PO}_4^{-3}$  con una remoción del 78%, lo cual indica que la especie de *Chlorella vulgaris* contribuye a grandes porcentajes de remoción del fosfato en el agua lo cual indica que la especie de *Chlorella vulgaris* contribuye a una buena remoción de fosfato en el agua.

En cuanto a la concentración 1 de dicha agua (real filtrada), se observa un incremento de fosfatos durante varios días, y luego procede a disminuir, este proceso se pudo presentar debido a que para poder obtener dos concentraciones diferentes, las muestras fueron tomadas en diferentes horarios, y esta agua pudo tener un poco más de carga orgánica pesada, lo cual limita a una remoción rápida de fosfatos.

En el agua residual sintética se observa que los porcentajes de remoción se encuentran similares, debido a que la concentración inicial de fosfatos fue la misma para las dos divisiones. Se observa aquí una mayor remoción con porcentajes entre el 98 y el 99%, esto se debe a que la *Chlorella vulgaris* incrementa la eliminación de fosfato presente en agua residual sintética a comparación del agua residual real filtrada, ya que en esas condiciones (agua sintética) dicha microalga incrementa su tamaño, su contenido de clorofila, su concentración de lípidos y el número de ácidos grasos, lo que indica que se producen cambios en el metabolismo de la *C. vulgaris* (de Bashan et al., 2002).

En cuanto a los blancos, la remoción de  $\text{PO}_4^{-3}$  fue alta, ya que aunque en los biorreactores no se contaba con la presencia de microalgas, el agua contaba con otros microorganismos que contribuyen a la



degradación o eliminación del fosforo, como lo son las bacterias. Por lo cual en este caso es posible decir también, que solo las microalgas no contribuyen a la degradación del fosfato.

Aunque es notorio en las gráficas 7 y 8 la gran remoción de fosfato que se presentó en el agua residual sintética, se puede apreciar también que para los 2 tipos de agua se presentó una mayor remoción en la concentración inicial 2 de amonio (90mg/l), ya que influye la carga orgánica con la que venían las muestras de la planta y con la que fue preparada el agua sintética. En cuanto a los análisis estadísticos se observa y comprueba que hay gran diferencia significativa entre los tipos de aguas residuales y la división de sus concentraciones ( $P < 0.05$ ).

En los anexos 7 y 8 se muestra el análisis de ANOVA realizado y las concentraciones y los porcentajes de remoción obtenidos durante los días de tratamiento.

#### 4.7 VARIACIÓN DE DQO (Demanda química de oxígeno)

Se puede observar que la cantidad de materia orgánica en los fotobioreactores descendió tanto en el agua residual real filtrada, disminuyendo de 510 mg/l a 58.42 mg/l para C1 y de 480 mg/l a 35.754 mg/l para C2, como para el agua residual sintética bajando de 520 mg/L a 30.646 mg/l como se muestra en la tabla 12.

Para el agua sintética con concentración 1 y 2, la remoción de materia orgánica fue muy similar, ya que los cuatro reactores originales y duplicados contenían la misma DQO inicial de 520 mg/l.

**Tabla 12.** Concentraciones iniciales y finales de DQO en los diferentes tipos de agua.

CONCENTRACIONES DE DQO				
Concentraciones	Inicial AR	Final AR	Inicial ARS	Final ARS
1	510mg/l	58.42mg/L	520mg/l	38.627mg/l
2	480mg/l	35.754mg/l	520mg/l	30.646mg/l

Fuente: Autores

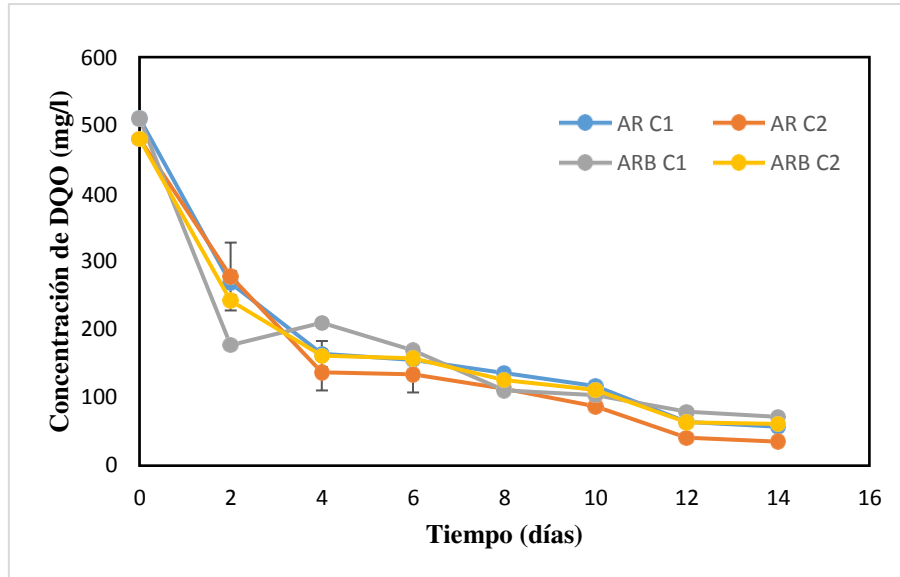
AR: Agua residual real filtrada

ARS: Agua residual sintética

Los resultados obtenidos se deben a la capacidad de las microalgas a la hora de remover materia orgánica del agua residual (Chacón et al., 2004), otro factor que puede influir en la reducción de materia orgánica es la aireación que se tenía desde una bomba a cada montaje, según investigaciones anteriores con *Clorella vulgaris* la remoción no solo se debe a la biomasa algal presente en cada uno de los fotobioreactores sino a diferentes microorganismos que podrían venir con el agua residual que se tomó en la planta que cumplen la función de remover materia orgánica (Chacón et al., 2004).

En la gráfica 10 y tabla 13 se muestra la remoción obtenida de materia orgánica que se llevó a cabo durante 15 días para el agua residual real filtrada y sus blancos.

**Gráfica 10.** Curva de remoción de DQO en el agua residual real filtrada y sus blancos



**Fuente:** Autores

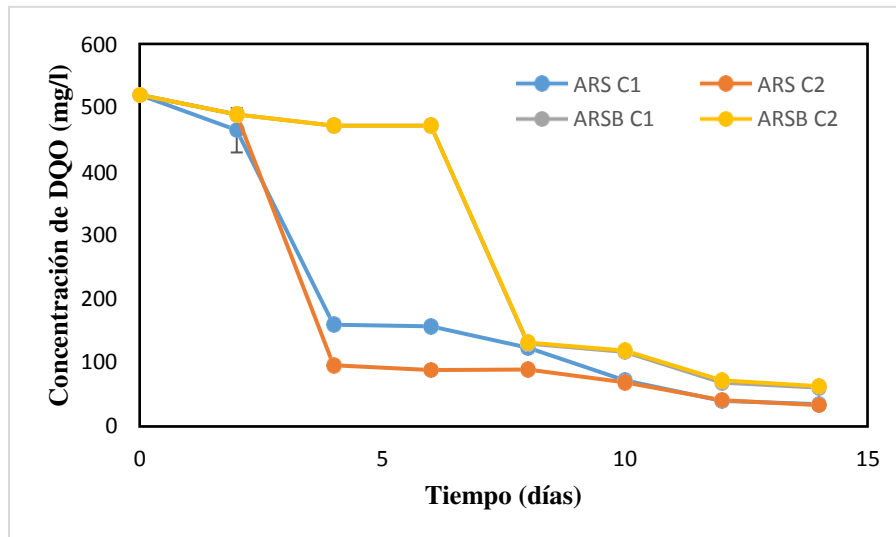
**Tabla 13.** Porcentaje de remoción de DQO en agua residual filtrada

	<b>% Remoción DQO</b>
AR C1	88.55
AR C2	92.55
ARB C1	85.98
ARB C2	87.30

**Fuente:** Autores

En la gráfica 11 y la tabla 14 se muestra la remoción obtenida de materia orgánica que se llevó a cabo durante 15 días para el agua residual sintética.

**Gráfica 11.** Curva de remoción de DQO en agua residual sintética y sus blancos



Fuente: Autores

**Tabla 14.** Porcentaje de remoción de DQO en agua residual sintética

	% Remoción DQO
ARS C1	92.57
ARS C2	94.11
ARSB C1	88.33
ARSB C2	87.91

Fuente: Autores

La mayor remoción de materia orgánica se dio en el agua residual sintética, ya que esta agua se preparó con base en los resultados obtenidos de las pruebas iniciales del agua residual real y utilizando glucosa como aporte de carbono, la cual es de rápida degradación. El agua real filtrada se tomó de la planta de tratamiento de agua residual de la Universidad Pontificia Bolivariana y esta contenía diferentes microorganismos y sustancias más complejas, las cuales pueden afectar la remoción de esta.

En los blancos de agua residual real C1 y C2 (ARB C1 y ARB C2), se vio buena remoción de materia orgánica a pesar de no contener material algal. Esta agua procede de la planta de tratamiento, la cual trae consigo diferentes microorganismos como bacterias o ciertas algas nativas que ayudan a descomponer materia orgánica, los reactores tiene un sistema de aireación por difusores, los cuales ayudan a incrementar esta remoción al agregar oxígeno al agua.

En cuanto a los blancos de agua sintética C1 y C2 (ARSB C1 y ARSB C2) la remoción de materia orgánica también fue alta, aunque esta no contenía biomasa algal ni microorganismos. Esto debido al ser la glucosa la sustancia que se le agregó para obtener la DQO requerida, la cual se descompone a gran velocidad bajando las concentraciones de materia orgánica.

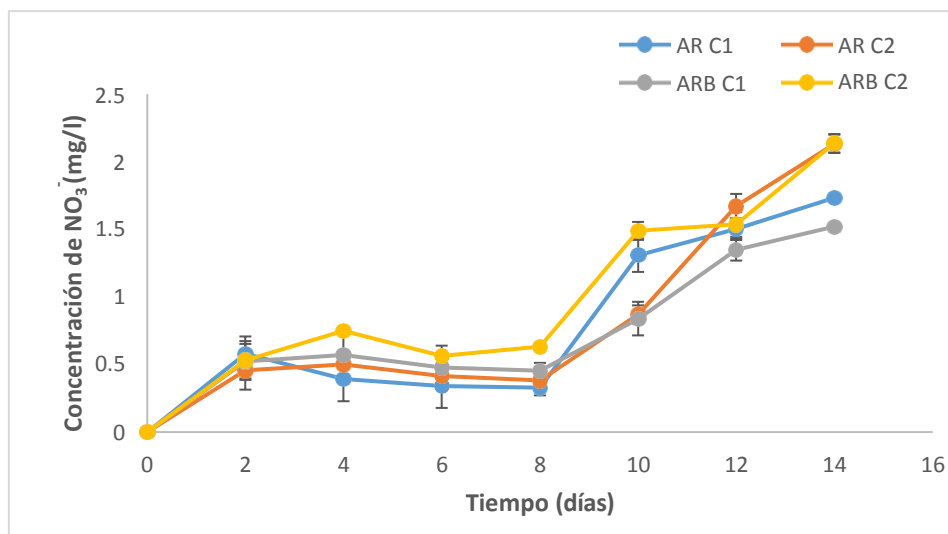
De acuerdo con las gráficas y los datos obtenidos se puede apreciar que la mayor remoción de dco se presentó en el agua residual sintética para sus dos concentraciones y en el agua residual real filtrada para la concentración 2. En cuanto al análisis de varianza realizado para la remoción de DQO, se puede apreciar que no hay diferencias significativas.

En los anexos 9 y 10 se encuentra la ANOVA realizada para el análisis de DQO y las concentraciones y porcentajes de remoción obtenidos.

#### 4.8 GENERACIÓN DE NITRATOS ( $\text{NO}_3^-$ )

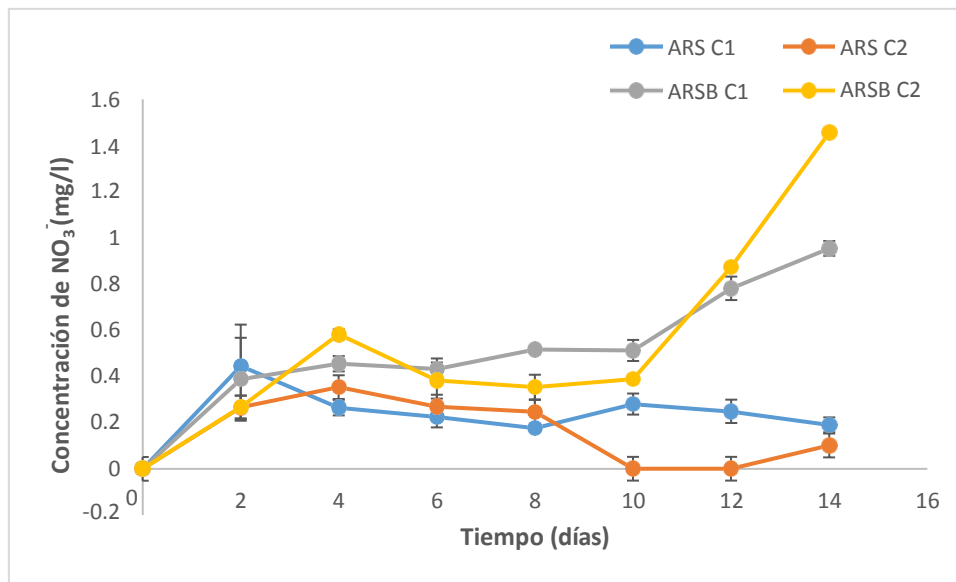
La medida de nitratos presentes en el agua se realiza para la confirmación de la existencia de microorganismos nitrificantes y de la oxidación del nitrógeno en forma de amonio a causa de varios factores como la aireación, lo cual justifica la alta remoción del ion  $\text{NH}_4^+$ . En los gráficos 12 y 13 se muestra el comportamiento de estos en el agua residual real filtrada y el agua residual sintética y sus respectivos blancos.

**Gráfica 12.** Generación de  $\text{NO}_3^-$  en agua residual real filtrada y sus blancos



Fuente: Autores

**Gráfica 13.** Generación de  $\text{NO}_3^-$  en agua residual sintética y sus blancos



**Fuente:** Autores

De acuerdo con los gráficos se observa que el proceso de generación de nitratos es mejor en el agua residual real filtrada y sus blancos, ya que esta cuenta con la presencia de bacterias, las cuales junto con las microalgas ayudan al proceso de oxidación de amonio a nitritos y nitratos, este proceso es más rápido a temperaturas de 25- 30 °C y a pH ente 7-8.

Mientras que en el agua residual sintética no se registró una alta concentración de nitratos, debido a que en esta agua no hay tanta presencia de microorganismos que ayudan al proceso de nitrificación del agua, por lo que fue un agua preparada que simulaba las condiciones iniciales del efluente donde se tomaron las muestras reales.

De acuerdo con un análisis estadístico realizado, tanto el agua residual real filtrada como el agua residual sintética muestran diferencias significativas con respecto a la generación de nitratos ( $P < 0.05$ ) (ver anexo 11), de igual forma, también se evidencian diferencias significativas respecto a las concentraciones de cada agua.

Según Marsshal (1991), aunque las microalgas consumen altas cantidades de amonio como nitrato, estas prefieren el amonio, por lo cual se evidencian porcentajes de remoción altos y mayor generación de nitratos.

## CONCLUSIONES

- La muestra de microalgas tomada de los canales de la planta de tratamiento de la Universidad Pontificia Bolivariana Seccional Bucaramanga, fue apta para su cultivo bajo condiciones controladas de luz, temperatura, pH y aireación y oxígeno disuelto. Se identificaron divisiones taxonómicas de microalgas, dentro de los cuales se destacan los géneros: *Chorella*, *Ulothrix*, *Haematococcus*, *Nitzschia*, *Stephanodiscus*, respectivamente; presentando mayor cantidad el género *Chorella vulgaris*.
- Se realizó el cultivo de microalgas en fotobiorreactores cilíndricos a escala laboratorio, con muestras de *Chorella vulgaris*, el cual contó con un sistema de bombeo de aire que generó la fuente de CO<sub>2</sub> y aportaba a la agitación. Además se contó también con filtros de material particulado, los cuales evitaron la contaminación en los bioreactores. El montaje tuvo una luminancia de 4700 Lux (lm/m<sup>2</sup>) los cuales fueron medidos con un luxómetro.
- De acuerdo con los registros microscópicos, la microalga que predominó siempre desde la fase de cultivo, hasta la fase de remoción fue la *Chlorella Vulgaris*, gracias a su alta tasa de crecimiento y reproducción y a sus características para adaptarse al medio utilizado.
- La concentración inicial de nitrógeno amoniacal y el tipo de agua si influyó en la remoción de nitrógeno. El porcentaje de remoción registrado del NH<sub>4</sub><sup>+</sup> fue de 77.2 % para el agua residual real filtrada y 45% para el agua residual sintética utilizada. Los altos porcentajes de remoción se deben a que la *Chlorella* es un alga con un crecimiento fotoautótrofo, el cual contribuye a la biorremediación de las aguas, además de esto, en el agua residual habitan diferentes tipos de microorganismos los cuales utilizan el amonio como una fuente de nutrientes, en especial las bacterias, quienes pueden oxidar el nitrógeno amoniacal en nitritos y nitratos, provocando así su disminución.
- La técnica de remoción de nutrientes mediante microalgas en aguas residuales, es una técnica efectiva, ya que permite la disminución en la concentración de los nutrientes respecto a su inicial en más de un 50%.

## RECOMENDACIONES

- Tener un mejor sistema de aireación, ya que si se hace una mala inyección de aire se pueden presentar fuertes cambios en el pH, además de esto utilizar una bomba que no genere tanto sonido, para así no presentar contaminación auditiva.
- Utilizar el mismo tamaño de los difusores en todos los fotobiorreactores, para así poder garantizar que el tamaño de las burbujas sea igual en todos los recipientes y que estas no afecten a las microalgas.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abalde, J. (1995). *Microalgas: Cultivo y Aplicaciones*. Laboratorio de Microbiología
- Anderson, D. M., Glibert, P. M., & Burkholder, J. M. (2002). *Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition, and consequences*. *Estuaries*, 25(4), 704-726
- APHA, A. (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 22th Edition*. Washington, DC: American Public Health Association.
- AST Ingeniería S.L. (2013). En *Aplicaciones de las microalgas: Estado de la técnica* (págs. 9-10). Gijón, España: Malgas.
- Ayala Montaña, S., (2015), *Clasificación taxonómica de microalgas presentes en un consorcio microbiológico que biorremedia el efluente de una planta de sacrificio de bovinos y porcinos*. Un trabajo de grado, Bogotá, Colombia. Departamento de ciencias biológicas.
- Barsanti, L. (3006). *Algae, Anatomy, Biochemistry & Biotechnology*. CRC Press.
- Becker, E. W. (1994). *Microalgae. Biotechnology and microbiology*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Bellinger, E. G., & Sigeo, D. C. (2010). *Freshwater Algae. Identification and Use as Bioindicatoris*. Oxford, UK: Wiley-Blackwell.
- Benemann, J.R.; Tillet D.M.; Weissman J.C.,(1987), *Microalgae biotechnology. Trends Biotechnol.* 5 (2): 47-53.
- Berenguel M, F Rodríguez, FG Ación & JL García. 2004. Model predictive control of pH in tubular photobioreactors. *Journal of Process Control* 14: 377-387.
- Bischoff, H. W., & Bold, H. C. (1963). *Phycological studies. IV. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species. Texas*.
- Blanco, V., & Villamizar, S. (2014). *Efecto del glicerol residual en la deposición de lípidos y carbohidratos en Chlorella Vulgaris UTEX 1803 como materia prima para la producción de biocombustibles de tercera generación. (Tesis de grado)*. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.
- Boussingault, J. B. (1864). *Agronomie*.
- Brock, T. a. (1991). *Microbiología* 8a. ed. México. Prentice Hall Hispanoamerica.

- Cai, T.; Park, S.Y.; Li Y., (2013), *Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects*. Renewable and Sustainable Energy Reviews., 19: 360-9.
- Castro, Y., Reyes P., (2016), *Remoción de nitrógeno y fósforo de un efluente anaerobio mediante la inmovilización de microalgas nativas*. Proyecto de grado, Bucaramanga, Colombia. Facultad de ingeniería ambiental.
- Chevalier, P., De la Noue, J. (1985). Wastewater nutrient removal with microalgae immobilized in carrageenan. *Enzyme and Microbiology Technology*. 7: 621-624.
- Conley, D. J., Paerl, H. W., Howarth, R. W., Boesch, D. F., Seitzinger, S. P., Havens, K. E., . . . Likens, G. E. (2009). *Controlling eutrophication: nitrogen and phosphorus*. *Science*, 323(5917), 1014-1015.
- Corredor, f. V. (2008). BIOTECNOLOGIA: La “Superciencia” Modema. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 82-89.
- Curtis, H., Sue, N., Schnek, A., Flores, G. (2006). *Invitación a la biología*. Sexta edición
- Davis, T. W., Bullerjahn, G. S., Tuttle, T., McKay, R. M., & Watson, S. B. (2015). *Effects of increasing nitrogen and phosphorus concentrations on phytoplankton community growth and toxicity during Planktothrix blooms in Sandusky Bay, Lake Erie*. *Environmental Science & Technology*.
- De Bashan, L. E., Moreno, M., Hernandez, J.P., & Bashan, Y. (2002). Removal of ammonium and phosphorus ions from synthetic wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* coinmobilized in alginate beads with the microalgae growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*, 36, 2941-2948.
- De Bashan, L., & Bashan, Y. (2010). Immobilized microalgae for removing pollutants: Review of practical aspects. *Bioresource Technology*, 101, 1611-1627.
- De la Noüe J., (1992), *Algae and waste water*. *J. Appl. Phycol.* 4: 247-254.
- Fábregas, J., Patió, M., Morales, E. D., Cordero, B., & Otero, A. (1996). Optimal renewal rate and nutrient concentration for the production of the marine microalga *Phaeodactylum tricomutum* in semicontinuous cultures. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(1), 266-268.
- Fair, G. M., (1984). Purificación de aguas y tratamiento y remoción de aguas residuales. En G.M. Fair, *Ingeniería sanitaria y de aguas* (pág. 1ª. Ed). LIMUSA
- Ferrera Cerrato, R.; Rojas Avelizapa, N.G.; Poggi Varaldo, H.M.; Alarcón, A., Caziñares Villanueva, R.O., (2006), *Procesos de biorremediación de suelo y agua contaminados por hidrocarburos del petróleo y otros compuestos orgánicos*. *Rev. Lat. Microbiol.*, 48 (2): 179-187.

- Garzón, C., & Barragán, B. e. (2008) Inmovilización microbiana: Técnicas y usos en el tratamiento de residuos tóxicos. *Sistemas Ambientales*, 2 23-34.
- Gonzales, A. M. (2000). *Alternativas en el cultivo de Microalgas (Tesis de pregrado)*. Guayaquil, Ecuador.
- Heisler, J., Glibert, P. M., Burkholder, J. M., Anderson, D. M., Cochlan, W., Dennison, W. C., Humphries, E. (2008). *Eutrophication and harmful algal blooms: a scientific consensus*. *Harmful algae*, 8(1), 3-13
- Hernández, J., de-Bashan, L. & Bashan, Y. (2006). Starvation enhances phosphorus removal from wastewater by the microalga *Chlorella* spp. co-immobilized with *Azospirillum brasilense*. *Enzyme and Microbial Technology*, 38(1-2), 190-198.
- Hernández Covarrubias, S.A., (2011), *Inmovilización de microorganismos en esferas de alginato como protección contra condiciones adversas en un tratamiento de agua residual*. Tesis, La Paz Baja California Sur, México.
- Hernández A & J Labbé. 2014. Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 49: 157-173.
- Hoffman, J. (1998). Wastewater treatment with suspended and nonsuspended algae. *Journal of Phycology*, 35, 757-763.
- Horan, N.J., (1990), *Biological Wastewater Treatment Systems. Theory and operation*. John Wiley and Sons Ltd. Baffins Lane, Chichester. West Sussex PO 191 UD, England.
- Jeanfils, J.; Thomas, D., (1986), *Culture and nitrite uptake in immobilized Scenedesmus obliquus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 24: 417-422.
- John, D., Whitton, B., & Brook, A. (2002). *The Fresh water Algal Flora of the British Isles*. Cambridge, UK.: Cambridge University Press.
- Kaplan, D., Richmond, A., Dubinsky, Z., & Aaronson, A. (1986). Algal nutrition. En e. A. Richmond (Ed.), *Handbook of Microalgal Mass Culture (págs. 147-98)*. CRC Press, Boca, Raton.
- Knowles, R. (1982). Denitrification. *Microbiol. Rev*, 46: 43-40.lab
- Lau, P., Tam, N., & Wong, Y., (1997), Wastewater nutrients (N and P) removal by carrageenan and alginate immobilized *Chlorella vulgaris*. *Environ Technol*, 18, 945- 951.
- Lebeau, T.; Robert, J.M., (2006), *Biotechnology of immobilized micro algae: a culture technique for the future? In: Rao, S. (Ed.), Algal Cultures, Analogues of Blooms and Applications*. Science Publishers, New Hampshire, USA, pp. 801-837.

- Lee, Y.K. (2004). Algal Nutrition. Heterotrophic Carbon Nutrition. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*, 116-124
- Li, Y.; Horsman, M.; Wu, N.; Lan, C.Q.; Dubois Calero, N., (2008), *Biocatalysts and bioreactor desing. Biotechnol.* 24: 815-20.
- Lundquist, I. W. (2010). A realistic technology and engineering assessment of algae biofuel production. Energy Biosciences Institute, University of California, Berkeley USA.
- Mallick, N., (2002), *Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P and metal removal: A review.* BioMetals 15:377-390.
- Maris, S. (15 de Septiembre de 2012). Universidad Nacional de Colombia. Obtenido de <http://cienciastella.com/fotosintesis.html>
- Martínez, L. (2008). Eliminación de CO<sub>2</sub> con microalgas autóctonas. León: Universidad de León.
- Martínez, F.; Navarrete, S., (2016), *Influencia de la concentración inicial de microalgas y nutrientes sobre la remoción de nitrógeno, fósforo y metabolitos producidos por un cultivo de microalgas nativas.* Proyecto de grado, Bucaramanga, Colombia. Facultad de ingeniería ambiental.
- Moheimani, R. N. (2013). Estándar Methods for Measuring Growth of Algae and Their Composition. *Australia: Springe Science+ Business Media Dordrecht*, 265-284
- Molina Grima, E., Acién Fernandez, F.G., García Camacho, F., & Chisti, Y. (1999). Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. *Progress in Industrial Microbiology*, 35(C), 231-247. [http://doi.org/10.1016/S0079-6352\(99\)80118-0](http://doi.org/10.1016/S0079-6352(99)80118-0)
- Moreno Garrido, I., (2008), *Microalgae immobilization: current techniques and uses. Bioresource technol:* 3949-3964.
- Morweiser, O.K. (2010). Evelopments and perspectives of photobioreactors for biofuel production. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 8, 1291-1301.
- Nazar, J. (2007). Biofilms bacterianos. *Revista de otorrinolaringología*, 67, 61-72
- Noyola, A.; Morgan Sagastume, J.M.; Gúereca, L.P., (2013), *Selección de tecnologías para el tratamiento de aguas residuales municipales*, México: Primera edición.
- Olguín, E.J. (2012). Dual purpose microalgae-bacteria-based systems that treat wastewater and produce biodiesel and chemical products within a biorefinery. *Biotechnol. Adv.* 30, 1031-1046.

- Ortega, J., & Montoya, R. (2004). Influencia del acetato sobre el crecimiento y contenido de pigmentos de la microalga *Chlorella* sp. Influence of acetate and pigments content on growth of the microalga *Chlorella* sp., 12 (March), 25-31.
- Palmer, C. M. (1969). A composite rating of algae tolerant organic pollution. *Journal of Phycology*, 5:78-82
- Pan, M., Chen, T., Hu, Z., & Zhan, X. (2013). *Assessment of nitrogen and phosphorus removal in an intermittently aerated sequencing batch reactor (IASBR) and a sequencing batch reactor (SBR)*. *Water Science & Technology*, 68(2), 400-405.
- Park, J. B. K., Craggs, R. J., & Shilton, A. N. (2011). Recycling algae to improve species control and harvest efficiency from a high rate algal pond. *Water Research*, 45(20), 6637-6649.
- Pfandl, K., Chatzinotas, A., Dyal, P., & Boeningk, J. (2009). SSU rRNA gene variation resolves population heterogeneity and ecophysiological differentiation within a morphospecies (Stramenopiles, Chrysophyceae). *Limnology and Oceanography*, 54, 171-181.
- Prosser, J. (1989). Autotrophic nitrification in bacteria. In: Rose, A. and Tempest, D. (Eds.) *Advances in microbial physiology*. p. 125-181. Academic Press, London
- Ramos, R.; Sepúlveda, R.; Villalobos, F. (2002), *El agua en el medio ambiente. Muestreo y análisis*, Baja California, México: Plaza y valdez, edición 1.
- Rawat, I.; Ranjith Kumar, R.; Mutanda, T.; Bux, F., (2011), *Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production*. *Applied Energy*. 88 (10): 3411-24.
- Richmond, A. (2004). *Handbook of microalgae culture: Biotechnology and applied phycology*. Analytical Biochemistry 296 (2).
- Robinson, P.K.; Reeve, J.O.; Goulding, K.H., (1988), *Kinetics of phosphorus uptake by immobilized Chlorella*. *Biotechnol. Lett.* 10: 17-20.
- Robinson, P.K.; Reeve, J.O.; Goulding, K.H.; (1989), *Phosphorus uptake kinetics of immobilized Chlorella in batch and continuous-flow culture*. *Enzyme Microb. Technol.* 11: 590-596.
- Romero Rojas, J. A., (1999), *Tratamiento de aguas residuales. Teoría y principios de diseño*, Bogotá, Colombia: Editorial escuela colombiana de ingeniería.
- Romero, M. A., & García, J. A., (2010), *Selección de materiales coimmobilizantes para la producción de biomasa a escala de laboratorio (Tesis de Pregrado)*. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

- Ruíz, A. (2011). *Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente (tesis de Maestría)*. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.
- Shammas, N.K. (1996) Interactions of temperature, pH, and biomass on the nitrification process. *J. Wat. Poll. Con. Fed.*, 58, 52-59
- Salisbury, F., & Ross, C. (1994). *Fisiología Vegetal*. México: Editorial Iberoamérica.
- Serrano, J.C. (2015). Evaluación de la eficiencia de remoción de nutrientes de un efluente anaerobio mediante una cepa de *Chlorella Vulgaris*. Tesis de grado. Universidad Pontificia Bolivariana, Bucaramanga, Colombia.
- Sialve B, N Bernet & O Bernard. 2009. Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. *Biotechnology Advances* 27(4): 409- 416.
- Suarez Mormolejo, C. L., (2010), *Tratamientos de aguas residuales municipales en el valle del Cauca. Trabajo de investigación*, Cali, Colombia.
- Tam, N.F.Y.; Wang, Y.S., (2000), *Effect of immobilized microalgal bead concentration on wastewater nutrient removal*. *Environ. Pollut.* 107: 145-51.
- Tam, N.F.Y.; Wong, W.S., (2000), *Spatial variation of heavy metals in surface sediments of Hong Kong mangrove swamps*. *Env Pollut* 110, 195–205.
- Tampion, J., & Tampion, M. (1987). *Inmobilized Cells: Principles and Applications*. Cambridge University Press, pág 257.
- Tan, X. B., Zhang, Y. L., Yang, L. Bin, Chu, H.Q., & Guo, J. (2016). Outdoor cultures of *Chlorella pyrenoidosa* in the effluent of anaerobically digested activated sludge: The effects of pH and free ammonia. *Bioresource Technology*, 200, 606-615. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.095>
- Tortora, G., Funke, B., Case, C., (2007) *Introducción a la microbiología*, Madrid, España: Editorial Panamericana.
- Trepanier, C., Parente, S., Comeau, Y., & Bouvrette, J., (2002), Phosphorus budget as a water quality management tool for closed aquatic mesocosms. *Water Res*, 36, 1007- 1017.
- Van Beilen, J.B. (2009). Why microalgal biofuels won't save the internal combustion machine. *Bioproducts and Biorefining*, 4(1), 41-52.
- Wang, L. M. (2009). Cultivation of Green Algae *Chlorella sp.* in Different Wastewaters from Municipal Wastewater Treatment Plant. *Applied Biochemical Biotechnology*.
- Wang, L.; Li, Y.C.; Chen, P.; Min, M.; Chen, Y.F.; Zhu, J.; Ruan, R., (2010), *Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae Chlorella sp.* *Bioresource Technol.* 101:2623–2628.

WATER.ORG, U. International Decade for Action 'WATER FOR LIFE' 2005-2015. Retrieved from <http://www.un.org/waterforlifedecade/scarcity.shtml>

## ANEXOS

### Anexo 1. Ejemplo del conteo de microalgas por la cámara Neubaber

**Tarro 1  
muestra 2**

11	15	20	30	
8	20	16	24	
29	35	13	21	
22	12	20	16	

10	22	15	20
13	25	10	17
15	15	8	9
17	8	10	12

**Tarro 1**       $(1496+1215+1377) / 3$       **1362**

El conteo se realizó por triplicado y se sacó un promedio

	11	10	8	6	22
	10	6	6	19	15
	12	10	8	20	26
	10	6	8	12	8
	8	20	12	10	18

**6810**      El valor se multiplica por  
10000

Conteo \* 25/5 =

68100000

$6.8 \times 10^7$

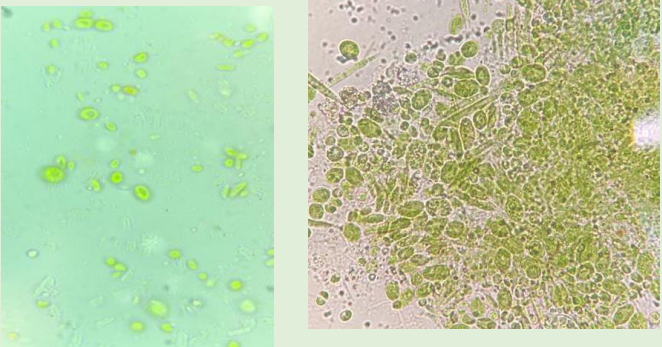


13	10	8	16	
16	9	6	4	
13	15	14	13	
10	12	8	18	

12	12	18	19
6	6	12	9
12	10	20	17
4	5	17	13

**Fuente:** Autores



**Anexo 2.** Registros microscópicos obtenidos en el proceso de cultivo

DIVISIÓN	GÉNERO	REGISTRO FOTOGRÁFICO
	<i>Chlorella</i>	
<i>Clorophyta</i>	<i>Scenedesmus</i>	
<i>Bacillariophyta</i>	<i>Navicula</i>	

	<p><i>Diatomea</i></p>	
	<p><i>Cosmarium</i></p>	
	<p><i>Gyrosigma</i></p>	

Fuente: Autores

### Anexo 3. Registro fotográfico del montaje de la inmovilización

**PASO 1:** Mezcla de las muestras para homogenizar y determinar la concentración inicial de biomasa para inmovilizar



**PASO 2:** Una vez homogenizada la muestra, se adicionó en los biorreactores que se tenían seleccionado para esta fase.



**PASO 3:** Se dejó en proceso de inmovilización por 21 días, llevándole un control en pH, DQO, OD.



**Fuente:** Autores

**Anexo 4.** Parámetros de control en la etapa de cultivo

Días	pH	Temperatura (° C)	Oxígeno disuelto (mg/l)
1	6.53	24.7	7.11
2	6.79	24.7	7.21
3	6.70	24.7	7.13
4	6.81	25.1	7.15
5	6.95	25.1	7.12
6	6.85	24.8	7.20
7	7.01	24.8	7.18
8	7.06	24.9	7.11
9	7.05	25.7	7.52
10	7.58	25.2	7.38
11	7.45	24.8	7.51
12	7.22	24.9	7.49
13	7.40	25.1	7.29
14	7.52	26.0	7.54
15	7.57	25.7	7.27
16	7.63	25.4	7.33
17	7.71	24.7	7.3
18	8.0	26.0	7.35
19	7.91	25.7	7.24
20	7.85	25.2	7.48
21	8.0	25.1	7.51

**Fuente:** Autores

**Anexo 5. Resultados del ANOVA en la remoción de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>**

Porcentaje de remoción de amonio		
	ARRF	ARS
130	77.38	40.22
	78.77	39.06
90	65.33	45.27
	66.11	43.33

Análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo

RESUMEN	AR	ARS	Total
<i>130</i>			
Cuenta	2	2	4
Suma	156.15	79.28	235.43
Promedio	78.075	39.64	58.8575
Varianza	0.96605	0.6728	492.962692
<i>90</i>			
Cuenta	2	2	4
Suma	131.44	88.6	220.04
Promedio	65.72	44.3	55.01
Varianza	0.3042	1.8818	153.667467
<i>Total</i>			
Cuenta	4	4	
Suma	287.59	167.88	
Promedio	71.8975	41.97	
Varianza	51.305425	8.09006667	

**ANÁLISIS DE VARIANZA**

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Muestra	29.6065125	1	29.6065125	30.962273	0.00510878	7.70864742
Columnas	1791.31051	1	1791.31051	1873.33936	1.7036E-06	7.70864742
Interacción	144.755113	1	144.755113	151.383832	0.00025067	7.70864742
Dentro del grupo	3.82485	4	0.9562125			

Fuente: Autores

**Anexo 6.** Concentraciones y porcentajes de remoción del  $\text{NH}_4^+$ 

<b>REMOCIÓN DE AMONIO (mg/l) EN AGUA RESIDUAL SINTÉTICA</b>				
<b>Días</b>	<b>ARS C1</b>	<b>ARS C1 dup</b>	<b>ARS C2</b>	<b>ARS C2 dup</b>
0	138	138	93	93
2	134.6	135.2	89.2	89.8
4	128.5	129.3	86.9	84.5
6	123.9	125.4	81.5	83.2
8	120.1	121.3	76.7	78.4
10	111.2	113.8	69.4	70.1
12	95.7	93.4	58.4	60.4
14	82.5	84.1	50.9	52.7
<b>% Remoción</b>	<b>40.22</b>	<b>39.06</b>	<b>45.27</b>	<b>43.33</b>

<b>REMOCIÓN DE AMONIO (mg/l) EN AGUA RESIDUAL REAL FILTRADA</b>				
<b>Días</b>	<b>AR C1</b>	<b>AR C1 duP</b>	<b>AR C2</b>	<b>AR C2 dup</b>

0	130	130	90	90
2	121.3	126.5	85.6	85.4
4	111.8	116.2	83.3	82.9
6	96.3	100.5	77.6	77.3
8	85.2	92.5	73.3	75.7
10	54.2	59.3	62.8	61.6
12	38.6	35	47.6	45.4
14	29.4	27.6	31.2	30.5
<b>% Remoción</b>	<b>77.38</b>	<b>78.77</b>	<b>65.33</b>	<b>66.11</b>

<b>REMOCIÓN DE AMONIO (mg/l) EN BLANCOS</b>				
<b>Días</b>	<b>ARB C1</b>	<b>ARB C2</b>	<b>ARSB C1</b>	<b>ARBS C2</b>
0	130	90	138	93
2	131.3	88	138.5	92.8
4	126	88.3	138.1	91.6
6	125.3	88.1	137.5	88.2
8	124.1	86.4	137.2	87.5
10	118.8	82.7	120.4	81.3
12	115.3	78.4	116.7	77.2
14	106.6	73	115.8	76.4
<b>% Remoción</b>	<b>18.00</b>	<b>18.89</b>	<b>16.09</b>	<b>17.85</b>

Fuente: Autores

**Anexo 7. Resultados del ANOVA en la remoción de PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>**

Porcentaje de remoción de fosfato		
	AR	ARS
130	56.81	98.93
	55.49	98.09
90	78.09	99.79
	76.66	99.75

Análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo

RESUMEN	AR	ARS	Total
<i>130</i>			
Cuenta	2	2	4
Suma	112.3	197.02	309.32
Promedio	56.15	98.51	77.33
Varianza	0.8712	0.3528	598.5312
<i>90</i>			
Cuenta	2	2	4
Suma	154.75	199.54	354.29
Promedio	77.375	99.77	88.5725
Varianza	1.02245	0.0008	167.519758
<i>Total</i>			
Cuenta	4	4	
Suma	267.05	396.56	
Promedio	66.7625	99.14	
Varianza	150.798092	0.64706667	

**ANÁLISIS DE VARIANZA**

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Muestra	252.787613	1	252.787613	449.950139	2.9202E-05	7.70864742
Columnas	2096.60501	1	2096.60501	3731.85896	4.3006E-07	7.70864742
Interacción	199.300613	1	199.300613	354.745778	4.6795E-05	7.70864742
Dentro del grupo	2.24725	4	0.5618125			
Total	2550.94049	7				

**Fuente:** Autores



**Anexo 8. Concentraciones y porcentajes de remoción del PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>**

<b>REMOCIÓN DE FOSFATOS (mg/l) EN AGUA RESIDUAL REAL FILTRADA</b>				
<b>Días</b>	<b>AR C1</b>	<b>AR C1 dup</b>	<b>AR C2</b>	<b>AR C2 dup</b>
0	36.4	36.4	33.5	33.5
2	46.64	46.39	32.95	31.72
4	39.3	44.36	28.42	26.49
6	54.5	52.1	26.13	24.3
8	48.6	47.5	22.1	20.18
10	38.4	38.3	15.81	13.27
12	27.85	26.12	8.72	8.7
14	15.72	16.2	7.34	7.82
<b>% Remoción</b>	<b>56.81</b>	<b>55.49</b>	<b>78.09</b>	<b>76.66</b>

<b>REMOCIÓN DE FOSFATOS (mg/l) EN AGUA RESIDUAL SINTÉTICA</b>				
<b>Días</b>	<b>ARS C1</b>	<b>ARS C1 duP</b>	<b>ARS C2</b>	<b>ARS C2 dup</b>
0	35.6	35.6	35.6	35.6
2	18.63	13.28	18.7	14.83
4	17.45	12.11	17.46	10.72
6	16.2	12.03	15.41	8.02
8	5.44	4.76	5.21	3.27

10	1.75	1.46	5.14	1.62
12	1.53	1.22	0.51	4
14	0.38	0.68	0.076	0.089
<b>% Remoción</b>	<b>98.93</b>	<b>98.09</b>	<b>99.79</b>	<b>99.75</b>

<b>REMOCIÓN DE FOSFATOS (mg/l) EN BLANCOS</b>				
<b>Días</b>	<b>ARB C1</b>	<b>ARB C2</b>	<b>ARSB C1</b>	<b>ARBS C2</b>
0	36.4	33.5	35.6	35.6
2	28.03	31.21	15.12	13.92
4	25.41	25.43	10.67	10.51
6	20.6	22.16	9.16	8.97
8	4.29	3.41	3.45	2.27
10	6.18	7.67	1.67	1.19
12	3.72	2.91	1.18	1.5
14	2.16	2.18	1.09	1.06
<b>% Remoción</b>	<b>94.07</b>	<b>93.49</b>	<b>96.94</b>	<b>97.02</b>

Fuente: Autores

**Anexo 9. Resultados del ANOVA en la remoción de DQO**

Porcentaje de remoción de dqo		
	<b>AR</b>	<b>ARS</b>
130	88.55	92.57
	89.09	94.11
90	92.55	94.11
	92.82	93.12

Análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo

RESUMEN	AR	ARS	Total
<i>130</i>			
Cuenta	2	2	4
Suma	177.64	186.68	364.32
Promedio	88.82	93.34	91.08
Varianza	0.1458	1.1858	7.254
<i>90</i>			
Cuenta	2	2	4
Suma	185.37	187.23	372.6
Promedio	92.685	93.615	93.15
Varianza	0.03645	0.49005	0.4638
<i>Total</i>			
Cuenta	4	4	
Suma	363.01	373.91	
Promedio	90.7525	93.4775	
Varianza	5.040158333	0.583825	

**ANÁLISIS DE VARIANZA**

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Muestra	8.5698	1	8.5698	18.44852268	0.01269401	7.70864742
Columnas	14.85125	1	14.85125	31.97083042	0.00482065	7.70864742
Interacción	6.44405	1	6.44405	13.87234272	0.0203933	7.70864742
Dentro del grupo	1.8581	4	0.464525			
Total	31.7232	7				

**Fuente:** Autores

**Anexo 10.** Concentraciones y porcentajes de remoción de DQO

<b>Días</b>	<b>AR C1</b>	<b>AR C1 duP</b>	<b>AR C2</b>	<b>AR C2 dup</b>
0	510	510	480	480
2	255.252	280.618	312.961	242.568
4	150.33	177.434	155.178	118.083
6	140.528	169.397	152.705	115.301
8	136.523	135.247	111.005	114.833
10	114.47	118.66	86.124	88.038
12	67.241	60.239	44.94	37.291
14	58.42	55.631	35.754	34.454
<b>% Remoción</b>	<b>88.55</b>	<b>89.09</b>	<b>92.55</b>	<b>92.82</b>

<b>Días</b>	<b>ARS C1</b>	<b>ARS C1 duP</b>	<b>ARS C2</b>	<b>ARS C2 dup</b>
0	520	520	520	520
2	439.794	489.259	489.259	489.259
4	162.596	156.414	96.445	94.59
6	158.887	154.56	89.954	85.935
8	123.126	123.764	89.314	89.314
10	70.175	74.003	68.262	69.537
12	43.028	36.653	39.841	41.753
14	38.627	30.646	30.646	35.754

% Remoción	<b>92.57</b>	<b>94.11</b>	<b>94.11</b>	<b>93.12</b>
------------	--------------	--------------	--------------	--------------

Días	ARB C1	ARB C2	ARSB C1	ARSB C2
0	510	480	520	520
2	176.615	241.934	489.259	489.259
4	209.583	161.360	471.716	471.716
6	169.397	157.342	471.716	471.716
8	110.689	125.678	129.567	131.419
10	103.349	111.005	116.981	118.660
12	79.044	63.426	68.763	72.988
14	71.508	60.974	60.679	62.889
% Remoción	<b>85.98</b>	<b>87.30</b>	<b>88.33</b>	<b>87.91</b>

Fuente: Autores

**Anexo 11. Resultados del ANOVA en la generación de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>**

<b>Concentraciones finales de NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>		
	<b>Agua residual real filtrada</b>	<b>Agua residual sintética</b>
<b>C1</b>	1.728	0.1013
	1.7397	0.213
<b>C2</b>	2.084	0.16778
	2.18	0.1003

Análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo

	Agua residual real filtrada	Agua residual sintética	Total
<i>C1</i>			
Cuenta	2	2	4
Suma	3.4677	0.3143	3.782
Promedio	1.73385	0.15715	0.9455
Varianza	6.8445E-05	0.00623844	0.83076326
<i>C2</i>			
Cuenta	2	2	4
Suma	4.264	0.26808	4.53208
Promedio	2.132	0.13404	1.13302
Varianza	0.004608	0.00227678	1.33290965
<i>Total</i>			
Cuenta	4	4	
Suma	7.7317	0.58238	
Promedio	1.932925	0.145595	
Varianza	0.05439996	0.00301643	

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Muestra	0.0703275	1	0.0703275	21.3248289	0.00989683	7.70864742
Columnas	6.38909706	1	6.38909706	1937.31328	1.5932E-06	7.70864742
Interacción	0.08872999	1	0.08872999	26.9048653	0.00657463	7.70864742
Dentro del grupo	0.01319167	4	0.00329792			
Total	6.56134622	7				

**Fuente:** Autores