



Remoción conjunta de materia orgánica, nitrógeno y fósforo mediante un sistema combinado entre lodo anaerobio y microalgas a escala de laboratorio

Jorge Mario Berrio Restrepo

Tesis doctoral presentada para optar al título de Doctor en Ingeniería Ambiental

Director

Julio César Saldarriaga Molina, Doctor (PhD) en Ingeniería

Universidad de Antioquia
Facultad de Ingeniería
Doctorado en Ingeniería Ambiental
Medellín, Antioquia, Colombia
2022

Cita	(Berrio-Restrepo, 2022)
Referencia	Berrio-Restrepo, J. M. (2022). <i>Remoción conjunta de materia orgánica, nitrógeno y fósforo mediante un sistema combinado entre lodo anaerobio y microalgas a escala de laboratorio</i> [Tesis doctoral]. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
Estilo APA 7 (2020)	



Doctorado en Ingeniería Ambiental, Cohorte VIII.

Grupo de Investigación Ingeniería y Gestión Ambiental (GIGA).



Centro Documentación Ingeniería (CENDOI)

Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

Rector: John Jairo Arboleda Céspedes.

Decano: Jesús Francisco Vargas Bonilla.

Directora de Investigación y Posgrados: Sara Cristina Vieira Agudelo.

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

*A pesar de múltiples advertencias,
de los peligros que pueda encontrar
a pesar de huracanes y tormentas
o incluso, de cantos de sirenas
el buen capitán no podrá modificar su plan.
Con nada más que su instinto,
navegará por aguas extrañas.
El rumbo está trazado,
¡hacednos a la mar!*

AGRADECIMIENTOS

A mi **madre** por el amor y cariño brindados. Su paciencia y sacrificio han permanecido fijos en mi memoria alentándome siempre a persistir y seguir adelante. Las palabras son demasiado cortas para expresar toda mi gratitud hacia ella.

Al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación – **COLCIENCIAS**, al Servicio Alemán de Intercambio Académico – **DAAD**, a la **Universidad de Antioquia** y a la Agencia de Educación Postsecundaria de Medellín – **SAPIENCIA**, por los apoyos económicos brindados en calidad de becario para la financiación y sostenimiento tanto de los estudios doctorales, como de la estancia de investigación doctoral.

A mi director, el profesor **Julio César Saldarriaga Molina**, por haberme *adoptado*: su paciencia inagotable y las palabras de apoyo constantes en los momentos indicados. El camino fue bastante sinuoso en su andar, pero nunca me faltó una voz de aliento y sus ánimos de seguir adelante.

A la doctora **Elisabeth Pohlen**, por la confianza, apoyo y comprensión. Por acogerme en su casa y en su grupo de investigación. Me sentí como un miembro más de su familia. Su acompañamiento incansable me permitió probarme a mí mismo como investigador.

Al profesor **Néstor Jaime Aguirre Ramírez**, por sus consejos, apoyo y palabras de ánimo. Al finalizar cada reunión terminaba con más preguntas que con las que había ingresado. Hacia el final comprendí que la intención de desarrollar una tesis doctoral correspondía precisamente a *pensar* cómo responder a esos interrogantes.

Al **Grupo de investigación en Ingeniería y Gestión Ambiental - GIGA** por el apoyo brindados, así como la financiación de la investigación y la divulgación de los resultados.

Al **Laboratorio de Estudios Ambientales (LEA)** y su equipo humano, por el apoyo y acompañamiento a lo largo de la experimentación.

A la empresa **Eduardoño** por la donación del sistema de tratamiento y poner a nuestra disposición el equipo humano del área ambiental para el diseño de este y su construcción. Al **Grupo de investigación en Ecología animal y Sistemática** de la **Universidad Justus Liebig** en Gießen (Alemania), en cabeza del **Prof. Dr. Volkmar Wolters** y el **Prof. Dr. Thomas Wilke**, por el apoyo y la confianza brindados. Me acogieron como un miembro más de su valioso equipo de trabajo.

Al **Grupo de investigación en Geografía y Limnología - Geolimna** por abrirme las puertas, brindarme su apoyo y acompañamiento durante la investigación.

Al equipo de trabajo de la línea de investigación en **Limnología** del Grupo de investigación en Ecología animal y Sistemática de la Universidad Justus Liebig en Gießen (Alemania), por el apoyo y los seminarios de investigación: fueron fundamentales para los resultados obtenidos a partir de la experimentación durante la estancia doctoral.

A mis buenos amigos: **Juan Gustavo, Santiago**, los **Danieles, Mónica, Priscilla, Ana** y los miembros de la **Liga** por el apoyo incondicional. Cada uno cumplió un papel fundamental. Las bromas, las tertulias académicas o la Ingeniería social acompañadas de un buen café que nunca pudo faltar. Me considero afortunado por contar con su amistad.

A **Nora y Philip, Tomasz, Cedric, Sarkar, David, Leo y Frank**: su apoyo, amistad y calor humano ayudaron a que no me sintiera como un extraño en tierras lejanas. Aún hoy día me siento como el *más alemán de los colombianos*.

A los estudiantes del pregrado en Ingeniería sanitaria **Ena Patricia Carrillo Machado** y **Óscar Esteban Cossio Madrid** por el apoyo brindado investigación en calidad de auxiliares de laboratorio.

A **Jenny Andrea Molina Ruiz**, por el cariño, comprensión, confianza y ánimo constantes. Nunca es demasiado tarde para aportar. Su apoyo fue fundamental durante la etapa final de la formación doctoral. Emprendemos juntos un nuevo reto en nuestras vidas: el de ser los padres de **Juan José**.

A **Héctor Serna**, por las discusiones durante la instalación y múltiples reparaciones del sistema de tratamiento. De cada persona podemos aprender algo nuevo cada vez sin importar los títulos obtenidos.

A **Carolina Lenis Álvarez**, por la hábil gestión y administración de los recursos para la construcción del sistema de tratamiento empleado en la investigación doctoral. Por escuchar, aunque sin entender. Por el apoyo, la preocupación y el cariño brindados antes de la fecha de caducidad.

A todas aquellas personas que por alguna u otra razón contribuyeron a la culminación de esta extenuante aventura doctoral: tanto en lo profesional, como en lo académico y personal; y que por alguna injusta razón pueda pasar por alto.

DIVULGACIÓN DE RESULTADOS

A continuación, se presentan los productos de divulgación derivados de los resultados obtenidos en el desarrollo de la presente investigación.

Artículos de investigación

- Berrio-Restrepo, J. M., Saldarriaga, J. C., & Correa, M. A. A natural microalgae consortium for the biological nutrient removal in a upflow photobioreactor as tertiary wastewater treatment. *Bioresource Technology Reports*, 20. doi:10.1016/j.biteb.2022.101240

Presentaciones en eventos

- Berrio-Restrepo, J. M., Saldarriaga, J. C., Correa, M. A. (2020). Performance of an anaerobic high-rate reactor for the treatment of complex domestic wastewater in a warm-climate region. Latin American Meetings on Anaerobic Digestion. Brazil Session.
- Berrio-Restrepo, J. M., Saldarriaga, J. C., Correa, M. A. (2020). Tratamiento de aguas residuales domésticas de naturaleza compleja empleando reactores anaerobios de alta tasa. VI Congreso internacional del agua y el ambiente (Ciaya6). Colombia.
- Berrio-Restrepo, J. M., Saldarriaga, J. C., Correa, M. A. (2017). Remoción biológica de nutrientes en aguas residuales domésticas de naturaleza compleja. 60° Congreso internacional de ACODAL: Agua, saneamiento, ambiente y energías renovables. Cartagena de Indias, Colombia.

Divulgación científica

- Berrio-Restrepo, J.M., Saldarriaga, J. C., Correa, M. A. (2017). Remoción biológica de nutrientes en aguas residuales domésticas de naturaleza compleja. Ponencia oral. Expoingeniería 2018. Desarrollo y sostenibilidad. Medellín, Colombia.
- Berrio-Restrepo, J.M., Saldarriaga, J.C., Pohlen, E. (2019). Microalgae as a sustainable alternative for the nutrient removal from domestic wastewater in the trophic. Oral presentation. Aktuelle Themen der Tierökologie WS 19/20. Justus-Liebig-Universität Gießen. Gießen, Alemania.

- Berrio-Restrepo, J.M., Saldarriaga-Molina, J.C. (2020). Calidad de agua y pobreza. Revista Experimenta, (13), 26-31. Universidad de Antioquia.

CONTENIDO

NOMENCLATURA.....	13
RESUMEN	15
Palabras clave	15
ABSTRACT	16
Keywords.....	16
INTRODUCCIÓN.....	17
OBJETIVOS.....	19
1.1. OBJETIVO GENERAL	19
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
2. MARCO CONCEPTUAL.....	20
2.1. Problemática ambiental de las aguas residuales.....	20
2.2. Composición de las aguas residuales domésticas (ARD)	22
2.3. Fenómenos ambientales asociados con la acumulación de nutrientes en los cuerpos de agua	22
2.4. Tratamiento de aguas residuales.....	23
2.4.1. Remoción de nitrógeno	25
2.4.2. Remoción de fósforo	28
2.4.3. Microalgas como alternativa para la remoción de nutrientes.....	29
2.5. Ecología microbiana en sistemas de tratamiento de aguas residuales.....	33
2.6. Demanda energética en sistemas de tratamiento de aguas residuales	34
3. METODOLOGÍA	37
3.1. AGUA RESIDUAL SINTÉTICA	37
3.2. MONTAJE EXPERIMENTAL.....	38
3.2.1. Sistema híbrido.....	38
3.2.1.1. Reactor UASB	39
3.2.1.2. Fotobiorreactor (FTBR)	41
3.2.2. Características hidráulicas del fotobiorreactor (FTBR)	42
3.2.3. Lodo de inóculo.....	42
3.3. VARIABLES DE OPERACIÓN Y CONTROL.....	43
3.3.1. Instrumentos de medición	43
3.3.2. Determinación de concentración de biomasa.....	44
3.3.3. Análisis de laboratorio y formas de nutrientes (N y P)	46
3.3.4. Observaciones al microscopio.....	47
3.4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	47
3.4.1. Inoculación del sistema	47
3.4.2. Operación del sistema híbrido.....	48
3.4.3. Análisis de los grupos poblacionales de microalgas en el fotobiorreactor.....	49
3.5. ESTUDIO DE LA ECOLOGÍA MICROBIANA	50
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS	53
4. RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	56
4.1. CARACTERÍSTICAS HIDRÁULICAS DEL FOTOBIORREACTOR (FTBR)	56

4.2.	OPERACIÓN DEL SISTEMA	56
4.2.1.	Caracterización de los lodos de inóculo	57
4.2.2.	Seguimiento del sistema híbrido	59
4.2.3.	Seguimiento del reactor anaerobio	67
4.2.4.	Seguimiento del fotobiorreactor	74
4.3.	RENDIMIENTO DEL SISTEMA HÍBRIDO.....	80
4.3.1.	Remoción de materia orgánica	80
4.3.2.	Remoción de nitrógeno	82
4.3.3.	Remoción de fósforo	85
4.4.	BALANCE DE MASA	88
4.4.1.	Balance parcial de masa	88
4.4.2.	Balance general de masa	92
4.5.	GRUPOS POBLACIONALES DE ALGAS EN EL FOTOBIORREACTOR.....	94
4.5.1.	Análisis estadístico multivariado del rendimiento del sistema híbrido	105
4.6.	ECOLOGÍA MICROBIANA DE CULTIVOS <i>IN VITRO</i> DE ALGAS.....	109
4.6.1.	Análisis de la dinámica del L-triptófano (TRY)	109
4.6.2.	Análisis de la dinámica de la clorofila- <i>a</i> (CHL)	118
4.6.3.	Análisis de la dinámica de la ficocianina (PHY)	122
4.6.4.	Análisis de la dinámica de la relación ficocianina/clorofila <i>a</i> (PHY/CHL).....	127
4.6.5.	Análisis estadístico multivariado del estudio de la ecología microbiana de microalgas en cultivos <i>in vitro</i>	129
5.	CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO.....	132
5.1.	Conclusiones.....	132
5.2.	Trabajo futuro.....	135
6.	TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN DERIVADOS	137
7.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	138

TABLA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama del sistema de tratamiento híbrido	40
Figura 2. Montaje experimental para la captura y valoración del biogás.....	41
Figura 3. Fotobiorreactor para el crecimiento de microalgas.....	42
Figura 4. Sitios de muestreo de lodo para la inoculación del fotobiorreactor.....	44
Figura 5. Botella Van Dorn para la toma de muestras.	45
Figura 6. Cápsulas de porcelana para la determinación de sólidos.	46
Figura 7. Cultivos de microalgas para análisis de ecología microbiana.	52
Figura 8. Análisis de las características hidráulicas del fotobiorreactor mediante la aplicación de sangre bovina como trazador colorimétrico	57
Figura 9. Curva de tendencia de la concentración de NaCl como trazador en el fotobiorreactor	58
Figura 10. Observaciones al microscopio de la muestra de lodo procedente del Jardín botánico Joaquín Antonio Uribe (JAB).	60
Figura 11. Observaciones al microscopio de la muestra de lodo procedente del Parque Norte J. Emilio Valderrama (PAN).	61
Figura 12. Observaciones al microscopio de la muestra de lodo procedente del Parque Zoológico Santa Fe (ZSF).	62
Figura 13. Dinámica de la temperatura y el pH en las fases del sistema híbrido.....	64
Figura 14. Dinámica de la conductividad eléctrica, el potencial de óxido-reducción y el oxígeno disuelto en las fases del sistema híbrido	66
Figura 15. Dinámica de los sólidos en las diferentes fases del sistema híbrido.....	67
Figura 16. Distribución zonal de la columna de agua en el reactor UASB.....	70
Figura 17. Dinámica de la temperatura y el pH en las diferentes zonas del reactor UASB.	71
Figura 18. Dinámica de la conductividad eléctrica y el potencial de óxido-reducción en las diferentes zonas del reactor UASB.	72
Figura 19. Dinámica de los sólidos en las diferentes zonas del reactor UASB.	73
Figura 20. Distribución zonal de la columna de agua en el fotobiorreactor.....	75
Figura 21. Dinámica de la temperatura y el pH en las zonas del fotobiorreactor durante la experimentación.....	77
Figura 22. Dinámica de la conductividad eléctrica, el potencial de óxido-reducción y el oxígeno disuelto en las zonas del fotobiorreactor durante la experimentación	78
Figura 23. Dinámica de la concentración de sólidos en las zonas del fotobiorreactor durante la experimentación.....	79
Figura 24. Dinámica de la demanda química de oxígeno en las diferentes fases del sistema híbrido durante la experimentación.	82
Figura 25. Dinámica del nitrógeno total en las diferentes fases del sistema híbrido durante la experimentación.....	83
Figura 26. Detalle de biomasa acumulada en la parte baja del fotobiorreactor durante la experimentación.....	84
Figura 27. Dinámica del fósforo total en las diferentes fases del sistema híbrido.	86

Figura 28. Relación entre la fracción de fósforo orgánico en el agua residual sintética y la eficiencia de remoción en el reactor UASB.	86
Figura 29. Dinámica de los sulfatos en las diferentes fases del sistema híbrido durante la experimentación.....	88
Figura 30. Dinámica de la biomasa en las diferentes zonas del fotobiorreactor durante la experimentación.....	95
Figura 31. Comparativa entre la concentración de biomasa en la columna de agua y el efluente del fotobiorreactor	96
Figura 32. Concentración de biomasa en el efluente del fotobiorreactor durante la experimentación.....	97
Figura 33. Coloración en la columna de agua del fotobiorreactor.	98
Figura 34. Principales grupos poblacionales de microalgas identificados en el fotobiorreactor.	99
Figura 35. Distribución espacial de la biomasa en las zonas del fotobiorreactor durante la experimentación.....	100
Figura 36. Análisis de los pigmentos accesorios a partir de muestras preservadas del fotobiorreactor durante la experimentación.....	101
Figura 39. Análisis de componentes principales (ACP) determinado a partir del estudio de la operación del reactor UASB	107
Figura 40. Análisis de componentes principales (ACP) determinado a partir del estudio de la operación del fotobiorreactor (FTBR).....	108
Figura 41. Dinámica del L-triptófano (TRY) en cultivos <i>in vitro</i> de <i>Chlorella sp.</i> (GA), <i>Spirulina sp.</i> (CY) y mixtos (MC) a diferentes iluminancias.	115
Figura 42. Pendiente de la cinética descrita por el L-triptófano (TRY) en cultivos <i>in vitro</i> de <i>Chlorella sp.</i> (GA), <i>Spirulina sp.</i> (CY) y mixtos (MC) a diferentes iluminancias y concentración de nutrientes.....	116
Figura 43. Pendiente de la cinética descrita por el L-triptófano (TRY) en cultivos <i>in vitro</i> de <i>Chlorella sp.</i> (GA), <i>Spirulina sp.</i> (CY) y mixtos (MC) a diferentes iluminancias y suplementados con N y P.	117
Figura 44. Dinámica de la clorofila <i>a</i> (CHL) en cultivos <i>in vitro</i> de <i>Chlorella sp.</i> (GA), <i>Spirulina sp.</i> (CY) y mixtos (MC) a diferentes iluminancias.....	119
Figura 45. Pendiente de la cinéticas descrita por la clorofila <i>a</i> (CHL) en cultivos <i>in vitro</i> de <i>Chlorella sp.</i> (GA), <i>Spirulina sp.</i> (CY) y mixtos (MC) a diferentes iluminancias y concentración de nutrientes.....	121
Figura 46. Pendiente de la cinéticas descrita por la clorofila <i>a</i> (CHL) en cultivos <i>in vitro</i> de <i>Chlorella sp.</i> (GA), <i>Spirulina sp.</i> (CY) y mixtos (MC) a diferentes iluminancias y suplementados con N y P.	122
Figura 47. Dinámica de la ficocianina (PHY) en cultivos <i>in vitro</i> de <i>Chlorella sp.</i> (GA), <i>Spirulina sp.</i> (CY) y mixtos (MC) a diferentes iluminancias.	124
Figura 48. Pendientes de la cinética descrita por la ficocianina (PHY) en cultivos <i>in vitro</i> de <i>Chlorella sp.</i> (GA), <i>Spirulina sp.</i> (CY) y mixtos (MC) a diferentes iluminancias y concentración de nutrientes.....	125
Figura 49. Pendientes de la cinética descrita por la ficocianina (PHY) en cultivos <i>in vitro</i> de <i>Chlorella sp.</i> (GA), <i>Spirulina sp.</i> (CY) y mixtos (MC) a diferentes iluminancias y suplementados con N y P.	126

Figura 50. Dinámica de la relación ficocianina/clorofila <i>a</i> (PHY/CHL) en cultivos <i>in vitro</i> mixtos (MC) de <i>Chlorella sp.</i> y <i>Spirulina sp.</i> iluminancias.	127
Figura 51. Pendientes de la cinética descrita por la relación de ficocianina/clorofila <i>a</i> (PHY/CHL) en cultivos <i>in vitro</i> mixtos (MC) de <i>Chlorella sp.</i> y <i>Spirulina sp.</i> a diferentes iluminancias y concentración de nutrientes.	129
Figura 52. Pendientes de la cinética descrita por la relación de ficocianina/clorofila <i>a</i> (PHY/CHL) en cultivos <i>in vitro</i> mixtos (MC) de <i>Chlorella sp.</i> y <i>Spirulina sp.</i>	130
Figura 53. Análisis de componentes principales determinado a partir del estudio de la ecología microbiana de microalgas en cultivos <i>in vitro</i>	130

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composiciones típicas de las aguas residuales domésticas de concentración media	22
Tabla 2. Principales ventajas y desventajas de los procesos anaerobios en el tratamiento de aguas residuales	24
Tabla 3. Procesos involucrados en la remoción conjunta de nutrientes	29
Tabla 4. Consumo energético en PTAR para la eliminación de nutrientes basado en los límites de vertimientos	35
Tabla 5. Composición del agua residual sintética empleada en la experimentación.....	37
Tabla 6. Composición de la solución de macronutrientes*	38
Tabla 7. Composición de la solución de micronutrientes*.....	39
Tabla 8. Concentración media de DQO, NTK y PT empleadas en el ARS durante la experimentación.....	39
Tabla 9. Instrumentos empleados en la determinación de los parámetros de control	45
Tabla 10. Métodos aplicados para determinación de MO y formas de nutrientes	46
Tabla 11. Parámetros medidos durante la operación del sistema y su periodicidad.....	48
Tabla 12. Composición del medio de cultivo de Laurent empleado para el cultivo <i>in vitro</i> de microalgas durante la experimentación*	52
Tabla 13. Composición de la solución de micronutrientes de Zarrouk empleada para el cultivo <i>in vitro</i> de microalgas durante la experimentación.....	52
Tabla 14. Condiciones de crecimiento empleadas para el cultivo <i>in vitro</i> de microalgas durante la experimentación.....	53
Tabla 15. Resumen de los datos analizados durante la operación del sistema híbrido	55
Tabla 16. Características generales del lodo anaerobio empleado para la inoculación del reactor UASB	59
Tabla 17. Características generales del lodo empleado para la inoculación del fotobiorreactor (FTBR).....	59
Tabla 18. Resumen estadístico de las concentraciones de DQO, NTK y P en el agua residual sintética empleada durante la experimentación	60
Tabla 19. Resumen estadístico de los parámetros fisicoquímicos en el sistema híbrido durante la experimentación.....	63
Tabla 20. Resumen estadístico de los parámetros fisicoquímicos en las diferentes zonas del reactor UASB durante la experimentación	69
Tabla 21. Resumen estadístico de los parámetros fisicoquímicos en las diferentes zonas del fotobiorreactor durante la experimentación.....	75
Tabla 22. Eficiencias medias de remoción (sistema híbrido alimentado con un agua residual sintética*).	80
Tabla 23. Resumen estadístico de los parámetros para evaluar el rendimiento del sistema híbrido alimentado con agua residual sintética.....	81
Tabla 24. Cargas medias y balance parcial de masa determinados en las fases que integran el sistema híbrido.....	90
Tabla 25. Eficiencias medias de remoción determinadas a partir del balance parcial de masa para cada fase del sistema híbrido durante la experimentación	92

Tabla 26. Cargas medias y balance general de masa determinados en el sistema híbrido	93
Tabla 27. Eficiencias medias de remoción determinadas a partir del balance general de masa en el sistema híbrido durante la experimentación	94
Tabla 28. Parámetros con mayor significancia para el análisis de componentes principales (ACP) determinado a partir de la operación del reactor UASB.....	106
Tabla 29. Parámetros con mayor significancia para el análisis de componentes principales (ACP) determinado a partir de la operación del fotobiorreactor (FTBR).....	108
Tabla 30. Análisis descriptivo de la cinética de crecimiento de cultivos <i>in vitro</i> de <i>Chlorella sp.</i> (GA).....	111
Tabla 31. Análisis descriptivo de la cinética de crecimiento de cultivos <i>in vitro</i> de <i>Spirulina sp.</i> (CY)	112
Tabla 32. Análisis descriptivo de la cinética de crecimiento de cultivos <i>in vitro</i> mixtos de <i>Chlorella sp.</i> (GA) y de <i>Spirulina sp.</i> (CY).....	113
Tabla 33. Análisis descriptivo de la cinética de crecimiento de cultivos <i>in vitro</i> de <i>Chlorella sp.</i> (GA), <i>Spirulina sp.</i> (CY) y mixtos (MC) suplementados con nitrógeno y fósforo.....	114
Tabla 34. Parámetros con mayor significancia para el análisis de componentes principales determinado a partir del estudio de la ecología microbiana de microalgas en cultivos <i>in vitro</i>	131

NOMENCLATURA

λ	Longitud de onda
μS	Microsiemens
A/M	Relación alimento-microorganismos
ACP	Análisis de componentes principales
AFL	Afluente
AR	Aguas residuales
ARD	Aguas residuales domésticas
ARS	Agua residual sintética
ATP	Adenosín trifosfato
$^{\circ}\text{C}$	Grados Celsius
C	Carbono
CE	Conductividad eléctrica
CE _n	Carga de entrada
CHL	Clorofila <i>a</i>
cm	Centímetros
CO ₂	
CR	Carga removida
CS	Carga de salida
CY	Cianobacterias
d	Días
DE	Desviación estándar
DBO ₅	Demanda bioquímica de oxígeno tras cinco días de reacción
DNPAO	Organismos acumuladores de fósforo desnitrificantes
DQO	Demanda química de oxígeno
DTR	Distribución de tiempos de residencia
EFL	Efluente
FC	Factor de conversión
FTBR	Fotobiorreactor
GA	Algas verdes
H ₂	Dihidrogeno
h	Horas
HRAP	Estanque de alta tasa
h/d	Relación altura/diámetro
kWh/kg DQO	Kilovatio-hora por kilogramo de demanda química de oxígeno
kWh/m ³	Kilovatio-hora por metro cúbico
m/h	Metros por hora
MC	Cultivo mixto (Algas verdes-Cianobacterias)
mg	Miligramos
mg/L	Miligramos por litro
mg ST/L	Miligramos de sólidos totales por litro
mg SV/L	Miligramos de sólidos volátiles por litro
min	Minutos

MO	Materia orgánica
mV	Milivoltios
N	Nitrógeno
N/A	No aplica
N/R	No registra
N or.	Nitrógeno orgánico
NaCl	Cloruro de sodio
nm	Nanómetros
NT	Nitrógeno total
NTK	Nitrógeno total de Kjeldahl
NH ₄ ⁺	Nitrógeno amoniacal
NO ₂ ⁻	Nitritos
NO ₃ ⁻	Nitratos
NO _x	Formas oxidadas del nitrógeno
OD	Oxígeno disuelto
P	Fósforo
PAO	Organismos acumuladores de fósforo
pH	Potencial de hidrógeno
PHY	Ficocianina
PHY/CHL	Relación Ficocianina/Clorofila <i>a</i>
PO ₄ ³⁻	Ortofosfatos
POR	Potencial de óxido-reducción
PT	Fósforo total
PTAR	Planta de tratamiento de aguas residuales
Q	Caudal de alimentación del sistema
RFU	Unidades de fluorescencia relativa
rpm	Revoluciones por minuto
SO ₄ ²⁻	Sulfatos
SS	Sólidos sedimentables
SST	Sólidos suspendidos totales
SSV	Sólidos suspendidos volátiles
ST	Sólidos totales
SV	Sólidos volátiles
SV/ST	Relación entre sólidos volátiles y sólidos totales
T	Temperatura
Unid.	Unidades
TAR	Tratamiento de aguas residuales
TRH	Tiempo de retención hidráulica
TRS	Tiempo de retención celular
TRY	L-triptófano
UASB	Reactor anaerobio de flujo ascendente
V	Volumen
v/v	Relación volumen/volumen

RESUMEN

El tratamiento de aguas residuales mediante procesos biológicos es uno de los métodos más empleados en la actualidad. Esto debido a la naturaleza compleja de dichas aguas, a su composición y a la posibilidad de implementar ambientes (anaerobios, aerobios, anóxicos) que permitan la remoción de nutrientes como el carbono (C), nitrógeno (N) y fósforo (P). Por otro lado, la acumulación de nutrientes en los cuerpos de agua altera la estructura y el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos, al amenazar su estabilidad. Con base en lo anterior, el objetivo de esta investigación fue diseñar y evaluar un sistema alternativo para el tratamiento combinado de aguas residuales domésticas. El sistema incluye una primera fase anaerobia para la descomposición de la materia orgánica presente en el agua residual y en la segunda fase, un proceso en el que la eliminación de nutrientes es realizada mediante un cultivo de microalgas en un fotobiorreactor. El tren de tratamiento fue alimentado con un agua residual sintética de características similares a un agua residual doméstica, al mantener una relación C:N:P media de 100:10:1. La concentración media en el afluente en términos de demanda química de oxígeno (DQO), nitrógeno total (NT) y fósforo total (PT) fue de 628 mg/L, 64 mg/L y 8 mg/L respectivamente. Los parámetros de operación del sistema incluyeron un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 6 h en la fase con lodo anaerobio y de 24 h en la fase con microalgas. Otros parámetros de importancia fueron el tiempo de retención de sólidos (TRS) en la fase anaerobia de 15 d y de 2 d en el fotobiorreactor, así como un fotoperiodo de 24 h a una intensidad lumínica de 5000 lux. Adicionalmente, se realizó un estudio de la ecología microbiana de microalgas en el fotobiorreactor y cultivos *in vitro* de especies modelo de algas verdes y cianobacterias mediante la aplicación de técnicas fluorimétricas. De acuerdo con los resultados obtenidos, factores ambientales como la iluminancia y la temperatura favorecen la dominancia de las cianobacterias sobre otros grupos taxonómicos de microalgas. Sin embargo, parámetros operativos como el TRS pueden ser ajustados para controlar las poblaciones de microalgas en fotobiorreactores y favorecer la eliminación de nutrientes. A partir de la operación del sistema híbrido se obtuvieron eficiencias para la remoción de DQO del 94%, del 30% para el NT y del 15% para el PT. Estos resultados permitieron concluir que cultivos mixtos de microalgas pueden ser empleados como tratamiento terciario para la eliminación de nutrientes en sistemas de tratamiento de aguas residuales domésticas.

Palabras clave: Agua residual doméstica, remoción biológica de nutrientes, microalgas, fotobiorreactor, reactor UASB.

ABSTRACT

Nowadays, the biological processes are one of the most used methods for wastewater treatment. Due to the several environments implementation (anaerobic, anoxic, and aerobic conditions) for the pollutant removal (as nutrient as nitrogen and phosphorus), according to the wastewater complex nature and its composition. On the other hand, nutrient accumulation in the water bodies alters the structure and functioning of aquatic ecosystems, threatening their stability. In consonance, this research aimed to design and evaluate an alternative system for the combined treatment of domestic wastewater. The system includes a first phase with anaerobic sludge for the organic matter decomposition. In the second phase, a microalgae culture carried out nutrient elimination in a photobioreactor. The influent mean concentration in terms of chemical oxygen demand (COD), total nitrogen (TN), and total phosphorus (TP) was 628 mg/L, 64 mg/L, and 8 mg/L, respectively. The system operation parameters include a hydraulic retention time (HRT) of 6 hours in the anaerobic stage and 24 h in the microalgae stage. Other parameters of importance were 15 and 2 d of solids retention time (SRT) in the anaerobic phase and the photobioreactor, respectively. The photoperiod in the photobioreactor was 24 at a light intensity of 5000 lux. Fluorescence techniques were applied to analyse the microalgae growth in the photobioreactor. In addition, a microbial ecology analysis with green algae and cyanobacteria model species was carried out in vitro cultures. According to the results, environmental factors such as illuminance and temperature favour the dominance of cyanobacteria over different microalgae taxonomic groups. However, the adjustment of the operational parameters such as SRT control the microalgae populations in photobioreactors and increase nutrient removal. The performance of the hybrid system for COD, TN, and TP was 94%, 30%, and 15%, respectively. According to the results, microalgae mixed cultures could be used as tertiary treatment for nutrient removal in domestic wastewater treatment systems.

Keywords: Domestic wastewater, biological nutrient removal, microalgae, photobioreactor, UASB reactor.

INTRODUCCIÓN

El aprovechamiento del recurso hídrico aporta sustancias de distinta naturaleza que afectan notablemente su calidad, como principal efecto antrópico. Dichas sustancias pueden tener distintos niveles de persistencia, de acuerdo con sus características y generar la acumulación de aguas residuales (von Sperling, 2007). En Colombia, estas aguas residuales pueden clasificarse de acuerdo con la actividad que les da origen, en aguas residuales domésticas (ARD) y aguas residuales no domésticas (ARnD) (MADS, 2015, 2018). En los últimos años se ha podido evidenciar que el mundo enfrenta una crisis en cuanto a la accesibilidad al recurso hídrico. Lo que ha sido agravado por fenómenos como el cambio climático, el manejo inadecuado de sus residuos, el crecimiento de la población, las prácticas agrícolas inadecuadas y cambios en el uso del suelo.

Según la Política Nacional para la Gestión Integral del Recurso Hídrico dictada por el Ministerio de Ambiente (2010), en Colombia la demanda del recurso se asocia en un 83% a fines domiciliarios y agrícolas, lo que brinda una idea de la problemática relacionada en mayor medida con la materia orgánica (MO), el N y el P en las aguas residuales. Este fenómeno que se maximiza debido al crecimiento poblacional y a las prácticas de consumo en los espacios habitados, provoca la eutrofización de los cuerpos de agua sobre los que se realizan los vertimientos de aguas residuales ricas en nutrientes, de no practicarles un tratamiento adecuado para su remoción (Liu *et al.*, 2017).

La alta acumulación de nutrientes estimula la proliferación de especies no deseadas en los cuerpos de agua, dentro de las que se destacan algunas plantas acuáticas, algas y cianobacterias que pueden alterar el equilibrio ecosistémico (Xu *et al.*, 2021). El crecimiento desmesurado de estas especies provocará en el agua el agotamiento del oxígeno disponible, síntesis de sustancias tóxicas o acumulación de formas de nitrógeno como los nitratos (NO_3^-) y el amonio (NH_4^+), que pueden afectar a otras especies acuáticas e inclusive, al ser humano de ser consumidas (Hasan *et al.*, 2021). Por lo tanto, es necesario desarrollar alternativas sostenibles para el manejo apropiado de las aguas residuales, como estrategia fundamental para la consecución de los objetivos de desarrollo sostenible (ODS), acordados por la Asamblea General de las Naciones Unidas (2015).

Aunque la remoción biológica de nutrientes es aplicada en la actualidad, los altos costos vinculados al tratamiento (Woertz *et al.*, 2009; X. Wang, 2020) y la complejidad en la operación de los sistemas convencionales (Metcalf & Eddy y AECOM, 2014; L. Wang *et al.*, 2016) representan un obstáculo importante para la implementación de dichas tecnologías, principalmente en los países en vía de desarrollo (Mara, 2004; WWAP, 2017). Es importante resaltar que en Colombia no se cuenta actualmente con una legislación clara en cuanto al vertimiento de nutrientes, en especial para el nitrógeno y el fósforo. En cuanto a la eliminación de nutrientes, se han empezado a dar los primeros pasos para incluir el

tratamiento terciario, mientras que en países desarrollados se eliminan estos compuestos de las aguas residuales desde la segunda mitad del siglo XX (Henze y Comeau, 2008).

A este respecto, diversas investigaciones han implementado el uso de cultivos de microalgas en tratamientos convencionales de aguas residuales, debido a su alto potencial para la remoción de compuestos de distinta naturaleza, entre ellos nutrientes como el nitrógeno y fósforo (Abdel-Raouf *et al.*, 2012; Rawat *et al.*, 2013; Renuka *et al.*, 2014; Kaloudas *et al.*, 2021). Sin embargo, no existe una norma generalizada para los tipos de sistema a emplear, ni las condiciones de operación óptimas para su aplicación. Bajo condiciones controladas de crecimiento y mediante cultivos de microalgas en matraces, se han podido alcanzar eficiencias en la remoción de N y P hasta del 90% con inversiones menores en comparación con tratamientos de tipo químico o biológico (García-Gozalbes *et al.*, 2015).

En este orden de ideas, el propósito de esta investigación fue diseñar un sistema híbrido mediante dos fases dispuestas en serie, así como la evaluación de la remoción combinada de MO, N y P. En la primera fase, anaerobia, para la degradación principal de la MO y una segunda fase con microalgas, para la eliminación de nutrientes. El sistema fue operado en flujo continuo a partir de un agua residual sintética (ARS) con características similares a las de un agua residual doméstica (ARD) de composición media.

Para la consecución de los objetivos propuestos, se plantearon las siguientes preguntas de investigación: ¿Cómo es la remoción conjunta de materia orgánica, nitrógeno y fósforo en un sistema combinado de lodo anaerobio y microalgas, operado en flujo continuo y alimentado con un agua residual sintética en concentración similar a un ARD de composición media?, ¿Cómo es la cinética de crecimiento descrita por la biomasa anaerobia y las microalgas en un sistema combinado operado en flujo continuo y alimentado con un agua residual sintética en concentración similar a un ARD de composición media? y ¿Cuáles son las principales especies microbianas en un sistema combinado de lodo anaerobio y microalgas operado en flujo continuo y alimentado con un agua residual sintética en concentración similar a un ARD de composición media?

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la remoción conjunta de materia orgánica, nitrógeno y fósforo mediante un sistema en línea (reactor UASB y fotobiorreactor con microalgas a escala de laboratorio), alimentado con agua residual sintética de características similares a las de un agua residual doméstica de composición media.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Diseñar el sistema de tratamiento híbrido, lodo anaerobio y microalgas, para la remoción conjunta de materia orgánica, nitrógeno y fósforo que opere en serie y bajo condiciones de flujo continuo, teniendo en cuenta variables como el tiempo de retención celular y el tiempo de retención hidráulica.
- Evaluar la eficiencia en la remoción de materia orgánica en términos de Demanda Química de oxígeno (DQO); remoción de nitrógeno como Nitrógeno total Kjeldahl (NTK), nitrógeno amoniacal (NH_4^+), nitratos (NO_3^-) y nitritos (NO_2^-); y remoción de fósforo en términos de fósforo total (PT) y ortofosfatos (PO_4^-) en cada unidad de tratamiento, para la determinación del rendimiento del sistema.
- Evaluar la cinética de crecimiento en el fotobiorreactor alimentado con un agua residual sintética pretratada en un reactor anaerobio, para establecer su relación con el rendimiento de la remoción de nutrientes en el sistema.
- Determinar los principales grupos de microalgas en el fotobiorreactor y establecer su relación con la remoción de materia orgánica (MO), nitrógeno (N) y fósforo (P) mediante la aplicación de técnicas de fluorescencia.

2. MARCO CONCEPTUAL

Históricamente se ha demostrado la importancia del agua al intervenir en numerosas actividades humanas tanto indirecta, como directamente por lo que ha sido vinculada tempranamente al desarrollo de las mismas. La abundancia de este recurso la ha hecho ideal como disolvente universal lo que favorece los vertimientos con una gran diversidad de contaminantes, que solían descargarse en el cuerpo de agua más próximo sin importar que fuese a la misma fuente de abastecimiento original (Henry *et al.*, 2008). En concordancia con lo anterior, se originan problemas ambientales como el de las aguas residuales, principalmente porque al momento de proyectar el desarrollo socio-económico no se tiene en cuenta su impacto sobre los componentes del medio (Chamy y Jeison, 2003).

Las aguas residuales se definen como una mezcla compleja de contaminantes de origen orgánico e inorgánico en una matriz líquida, que pueden estar presentes en distintas concentraciones (von Sperling, 2007) y se derivan de todo tipo de actividades domésticas e industriales (Saldarriaga *et al.*, 2010). La naturaleza del agua residual varía en relación con las características de la carga contaminante que contiene, por lo que es necesario realizar investigaciones para cada tipo de sustancia, lo que permitirá diseñar procesos específicos con tratamientos particulares, así como determinar su capacidad de eliminación y definir los parámetros de operación de los mismos. De esta manera, debe asegurarse que el efluente se encuentre dentro de los valores permitidos por la normatividad local y puedan ser vertidos a los cuerpos de agua (Chamy y Jeison, 2003).

2.1. Problemática ambiental de las aguas residuales

Toda actividad de origen antrópico genera la acumulación de sustancias en el agua, las cuales pueden estar presentes a través de todo el ciclo hidrológico y según su naturaleza, algunas pueden generar diversos fenómenos adversos sobre los ecosistemas que perturban su equilibrio. Dicha acumulación de sustancias, se debe principalmente a que al momento de proyectar el desarrollo socio-económico no se tiene en cuenta su impacto sobre los componentes del medio (Chamy y Jeison, 2003). Hace algo más de un lustro se estimó que el impacto ambiental para el planeta, aporta como carga contaminante sólo en residuos orgánicos de origen industrial cercano a las 19,000 toneladas por día (Kahraman y Baig, 2010).

De acuerdo con reportes publicados por la Agencia para el agua de las Naciones Unidas (2015), en términos generales, las aguas residuales pueden contener nutrientes (nitrógeno, fósforo, potasio, azufre), contaminantes orgánicos (hidrocarburos poliaromáticos, pesticidas), contaminantes emergentes (medicamentos, cosméticos), patógenos y algunos metales pesados (cadmio, cromo, níquel, cobre) lo que complejiza los procesos necesarios

para un tratamiento adecuado. De forma similar, en investigaciones desarrolladas en ciudades norteamericanas se han encontrado trazas de plata, oro y otros elementos de importancia comercial y económica para su aprovechamiento en sistemas de tratamiento como alternativa económica (Westerhoff *et al.*, 2015).

Si bien es sabido que el manejo de las aguas residuales impacta directamente a los ecosistemas acuáticos, influye sobre las cadenas productivas e industriales, por lo que las prácticas para el tratamiento de residuos líquidos deben ser incluidas dentro de las estrategias para alcanzar el desarrollo sostenible (Corcoran *et al.*, 2010). Si se tiene en cuenta que la mayoría de las aguas residuales son vertidas a los cuerpos de agua sin ningún tipo de tratamiento, o un tratamiento inadecuado, la afectación de ecosistemas es notable y la posibilidad de diseminar enfermedades es latente. A este respecto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reporta que al 73% de las aguas residuales servidas en el mundo se les realiza al menos tratamiento secundario, de las cuales solo un 37% corresponden a los países latinoamericanos (WHO y UNICEF, 2017).

Sin embargo, se estima que dicha problemática pueda duplicarse en los próximos cuarenta años debido a que se estima que solo un 20% de la totalidad de las aguas residuales generadas recibe un tratamiento adecuado en la actualidad. Esto estaría vinculado con que en la mayoría de los asentamientos urbanos no se cuenta con un sistema adecuado para la recolección y distribución de dichos residuos (UN-Water, 2015). Dicho tratamiento inadecuado puede generar problemáticas en la salud pública y afectar las actividades económicas, así como el bien común.

En este orden de ideas, el abastecimiento adecuado de agua potable es indispensable para el desarrollo de las actividades humanas, debido a su importancia para la supervivencia, propicia el desarrollo productivo y ayuda a la reducción de la pobreza. De acuerdo con la OMS (2017), en Latinoamérica la cobertura de agua potable aumentó desde un 82% de sus países en el año 2000, al 95% para 2015. Sin embargo, argumenta que alrededor de 35 millones de personas aún no cuentan con acceso al recurso. Así mismo, reporta que 829 000 personas mueren al año debido a enfermedades como la diarrea y al consumo de agua de mala calidad (WHO, 2019).

2.2. Composición de las aguas residuales domésticas (ARD)

En relación con lo ya mencionado, las aguas residuales son usualmente clasificadas de acuerdo con la actividad que las produce en domésticas e industriales o no domésticas (ARnD), en concordancia con la Resolución 631 de 2015 (MADS, 2015) y con la Resolución 0883 de 2018 (MADS, 2018). Mientras que la composición de las ARnD puede variar de acuerdo con los procesos que las originan, la composición de las ARD varía según factores como el número de personas que las producen, el grado de urbanización de la zona, los niveles socioeconómicos e inclusive, su posición geográfica (Friedler *et al.*, 2013; Qasim y Zhu, 2018). En la Tabla 1, se presenta la composición típica de un ARD de concentración media según diversos autores.

Tabla 1. Composiciones típicas de las aguas residuales domésticas de concentración media

Parámetro	Referencia		
	Metcalf & Eddy y AECOM (2014)	Henze y Comeau (2008)	Henze (1997)
Demanda Química de Oxígeno o DQO (mg/L)	508	750	530
Grasas y aceites (mg/L)	76	-	70
Sólidos suspendidos totales o SST (mg/L)	195	400	300
Sólidos suspendidos volátiles o SSV (mg/L)	152	320	210
Nitrógeno total o NT (mg N/L)	35	60	50
Fósforo total o PT (mg P/L)	5.6	15	16

Tomado y adaptado de Henze, M. (1997). *Wastewater, Volumes and Composition*. En: Henze, M., Harremoës, P. y Arvin, E. (eds.) *Wastewater Treatment: Biological and Chemical Process*, Henze, M. y Comeau, Y. (2008). *Wastewater Characterization*. En: Henze, M., van Loosdrecht, M. C. M., Ekama, G. A. y Brdjanovic, D. (eds.) *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design* y Metcalf & Eddy y AECOM. (2014). *Wastewater engineering: Treatment and resource recovery*.

A partir de la información recogida en la Tabla 1, se pueden extraer las relaciones C:N:P presentes en las aguas residuales domésticas de concentración media, expresadas en términos de DQO:NT:PT, así 100:7:1, 100:8:2, y 100:9:3. Esta información podría brindar una idea general acerca de lo que podría ser la evolución en los aportes de nutrientes por las aguas residuales en los últimos años.

2.3. Fenómenos ambientales asociados con la acumulación de nutrientes en los cuerpos de agua

La acumulación de nutrientes debido al vertimiento de aguas residuales sin un tratamiento apropiado puede generar en los cuerpos de agua distintas problemáticas, como la afectación del equilibrio en los ecosistemas acuáticos. Dichas problemáticas, se relacionan en mayor medida con la eutrofización; es decir, el crecimiento excesivo de plantas acuáticas y la proliferación de algas (UN-Water, 2015). Tanto las plantas acuáticas como las algas aprovechan para su crecimiento la acumulación del nitrógeno (N) y el fósforo (P), que en combinación con el dióxido de carbono (CO₂) y la luz solar, aprovechan para su desarrollo. El aumento en número de estas especies, agota la cantidad de oxígeno disuelto (OD) en el agua, lo que hace difícil el sostenimiento de la vida para otras especies en el ecosistema (Wentzel *et al.*, 2008).

Adicionalmente, la acumulación de N en los cuerpos de agua puede generar efectos adversos por la acumulación de ion amonio (NH₄⁺), lo que provoca toxicidad en peces y a otras especies acuáticas. De forma similar, el ion amonio presente en el agua puede ser oxidado a nitrato (NO₃⁻) en el suelo y contaminar reservas de agua subterránea, lo cual puede generar problemas para la salud pública, debido a que el consumo de nitrato (NO₃⁻) por poblaciones humanas, ha sido asociado con la metahemoglobinemia, enfermedad que se presenta principalmente en niños (WEF, 2006).

2.4. Tratamiento de aguas residuales

Según Metcalf & Eddy y AECOM (2014), los procesos de tratamiento de residuos líquidos pueden componerse de dos tipos: las operaciones unitarias, en las que predominan los procesos físicos; y los procesos unitarios, en los que los métodos de tratamiento son realizados mediante procesos químicos o biológicos. Es precisamente en estos últimos, donde se lleva a cabo de la degradación de la MO y la remoción de nutrientes (Bitton, 2005; Saldarriaga *et al.*, 2010). Dicha remoción, adquiere particular importancia debido a la aparición de fenómenos como la eutrofización, lo que crea la necesidad de establecer mecanismos en los que la remoción conjunta sea posible, al ser el carbono, nitrógeno, fósforo los nutrientes más críticos (Saldarriaga *et al.*, 2010).

Estos tratamientos biológicos pueden variar de acuerdo con las condiciones de operación que integren para la remoción de contaminantes en particular y conformar trenes de tratamiento con distintas características (Saldarriaga *et al.*, 2010; Crittenden *et al.*, 2012; Ramos *et al.*, 2017). En años recientes, el uso de procesos anaerobios para el tratamiento de aguas residuales se ha extendido en regiones tropicales y subtropicales, debido a sus condiciones ambientales predominantes (Mara, 2004). A este respecto, las principales ventajas y desventajas de emplear procesos anaerobios en sistemas de tratamiento de aguas residuales son relacionadas en la Tabla 2.

Tabla 2. Principales ventajas y desventajas de los procesos anaerobios en el tratamiento de aguas residuales

Ventajas	Desventajas
Requerimiento de energía bajo	Largos tiempos para puesta en marcha
Baja producción de lodo	Puede requerir fuentes externas de alcalinidad
Bajo requerimiento de nutrientes	Puede requerir procesos complementarios para alcanzar valores permitidos en la remoción de algunos componentes
Producción de metano con alto potencial de aprovechamiento energético	No hay remoción de nitrógeno y fósforo
Reactores de volumen reducido	Sensibilidad a la disminución de temperatura y alteraciones del pH en la operación
Reducción de contaminación atmosférica	Susceptibilidad a perturbaciones ante la presencia de sustancias tóxicas
Respuesta rápida al alimentar nuevamente tras periodo de suspensión	Producción potencial de gases corrosivos con olores ofensivos

Tomado y adaptado de Tchobanoglous, G., Burton, F. L. y Stensel, H. D. (2003). *Wastewater engineering: Treatment and reuse.*

En los procesos anaerobios, los microorganismos involucrados en el tratamiento emplean aceptores de electrones inorgánicos como el sulfato (SO_4^{2-}) y el CO_2 para la oxidación de sustancias complejas como polisacáridos, proteínas y lípidos (J B van Lier *et al.*, 2008). Esto implica que la transferencia de electrones en las reacciones metabólicas liberen bajas cantidades de energía, a partir de las formas carbonáceas, que son aprovechadas por los microorganismos para su crecimiento (Droste y Gehr, 2019). Dichos procesos anaerobios, comprenden una secuencia de reacciones bioquímicas agrupadas en cuatro etapas fundamentales para la fermentación del AR: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Chernicharo, 2007).

En la hidrólisis, los microorganismos segregan enzimas extracelulares para hidrolizar las moléculas complejas y de mayor tamaño que puedan difundirse a través de la membrana para su aprovechamiento (Akunna, 2019). En la acidogénesis y acetogénesis, las comunidades microbianas sintetizan ácidos orgánicos, como alcoholes, H_2 , ácido acético y ácidos grasos volátiles (AGV) a partir de los monómeros hidrolizados anteriormente. Debido a que en los procesos anaerobios se obtiene menor energía que los procesos aerobios, los microorganismos metabolizan toda clase de sustancias para suplir sus necesidades energéticas (Droste y Gehr, 2019). Por esta razón, los productos obtenidos en la acidogénesis y acetogénesis son de una gran diversidad.

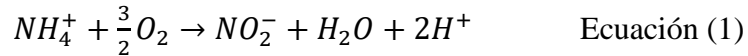
Finalmente, en la metanogénesis los microorganismos transforman los precursores obtenidos previamente en metano (CH_4), mediante procesos fermentativos que pueden ser acetoclásticos (fermentación de AGVs) o hidrogenotróficos (fermentación de H_2). En los procesos anaerobios típicos, el aporte de la metanogénesis acetoclástica para la CH_4 es aproximadamente del 70% y de la metanogénesis hidrogenotrófica, del 30% (Corrales *et al.*, 2015). La oxidación anaerobia de los compuestos presentes en las ARs, principalmente MO, son el resultado de interacciones complejas entre las poblaciones microbianas involucradas en el tratamiento. Estas interacciones determinan el rendimiento de los sistemas de tratamiento, debido a que algunas poblaciones, como las metanogénicas, son sensibles a condiciones ambientales (pH, temperatura, O_2 , concentración de AGVs, concentración de H_2) que pueden inhibir su crecimiento (L. Zhang, 2016).

Debido a la versatilidad de los procesos anaerobios, en países latinoamericanos se han implementado en los últimos años reactores de tipo UASB para el tratamiento de ARs, siendo la tercera tecnología más aplicada en la región (Chernicharo *et al.*, 2015). De acuerdo con Rajeshwari *et al.* (2000), existen reportes de procesos anaerobios operados a tiempos de retención hidráulica (TRH) < 1 d para el tratamiento de hasta 24 kg de DQO/ $\text{m}^3 \cdot \text{d}$. Sin embargo y como se ha mencionado anteriormente, a la fecha no existen reportes acerca de la remoción de nutrientes en este tipo de procesos. Por su parte, Chernicharo (2007) argumenta que la remoción de nutrientes en procesos anaerobios son equivalentes a los requerimientos nutricionales de las comunidades microbianas involucradas en el proceso, al ser hasta seis veces más alta para el N si el contenido de carbohidratos es elevado, debido a un incremento en el desarrollo de especies fermentativas.

2.4.1. Remoción de nitrógeno

En la actualidad, los mecanismos para la remoción de nitrógeno han sido ampliamente estudiados, desarrollándose distintos tipos de tecnologías basadas en el ciclo del nutriente, con especial atención al papel desempeñado por las poblaciones microbianas en el mismo. Los métodos tradicionales incluyen en un mismo proceso de tratamiento, la nitrificación autótrofa y posteriormente la desnitrificación heterótrofa, para que pueda alcanzarse dicha remoción. Las reacciones involucradas en el proceso de nitrificación a través del cual se transforma el amonio (NH_4^+) a nitrito (NO_2^-), son desarrolladas por bacterias oxidantes del amonio (AOB, por sus siglas en inglés) que pertenecen principalmente a los grupos *Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus* y *Nitrosobivrio*. Posteriormente, el NO_2^- es oxidado a nitrato (NO_3^-) por bacterias oxidantes del nitrito (NOB, por sus siglas en inglés) de los géneros *Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrospira* y *Nitrococcus* (Daims y

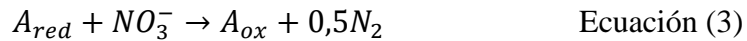
Wagner, 2010; Bitton, 2011). Dichas transformaciones son presentadas en la Ecuación (1) y la Ecuación (2) (Henze *et al.*, 1997; G. Zhu *et al.*, 2008).



Al realizar un balance estequiométrico de las reacciones anteriormente descritas, se obtiene que los requerimientos de oxígeno para el proceso de nitrificación, es de 4,57 mg O₂/mg N (G A Ekama y Wentzel, 2008a), lo que representa una porción importante de la energía necesaria en las plantas de tratamiento de agua residual. Sumado a lo anterior, se ha demostrado que la mayoría de las poblaciones bacterianas nitrificantes, describen una tasa de crecimiento relativamente baja en comparación a otras poblaciones involucrados en los lodos activados (Henze, 1997), lo que hace necesario que se establezcan tiempos de retención celular (TRS) en la operación del sistema comparativamente altos y aumenta a su vez, los requerimientos de oxígeno para asegurar las condiciones aerobias durante toda la duración del proceso (Daigger y Littleton, 2014).

Según lo planteado previamente, la remoción N en los procesos de tratamiento de agua residual se lleva a cabo cuando el nitrato (NO₃⁻) oxidado en la nitrificación sea reducido a nitrógeno gaseoso (N₂) y liberado a la atmósfera (G A Ekama y Wentzel, 2008a). En este proceso, denominado desnitrificación, debe prevalecer la poca presencia de oxígeno (anoxia) para favorecer que las poblaciones microbianas empleen el nitrato como agente oxidante, en lugar del oxígeno (Henze, 1997). Debido a que los microorganismos desnitrificantes tienen la capacidad de regular su metabolismo de acuerdo con las condiciones del medio, si la concentración de OD es superior a 0.5 mg/L preferirán respirar oxígeno antes que nitrato. Al respecto, Romero (2004) establece que concentraciones de OD entre 0.1 y 0.2 mg/L pueden presentar efectos inhibitorios en la desnitrificación.

Las poblaciones microbianas con capacidades desnitrificantes tienen una amplia diversidad taxonómica y pueden ser bacterias o arqueas. Dentro de los géneros más importantes, se destacan *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Spirillum*, *Hyphomicrobium*, *Agrobacterium*, *Acinetobacter*, *Propionobacterium*, *Rhizobium*, *Corynebacterium*, *Cytophaga*, *Thiobacillus* y *Alcaligenes* (Daims y Wagner, 2010; Bitton, 2011). La reacción que resume el proceso de desnitrificación, es expresada en términos de los agentes reductores y oxidantes, los cuales son específicos para cada proceso y se ilustra con la Ecuación (3) (Henze, 1997). En adición, G A Ekama y Wentzel (2008a) plantean que uno de los mayores inconvenientes para la desnitrificación en sistemas de tratamiento de aguas, es el cálculo apropiado de la cantidad necesaria de un donador de electrones (agente reductor), el cual es principalmente una fuente energética rica en carbono. De no aportarse la cantidad suficiente del agente reductor, el proceso de desnitrificación en el sistema no será satisfactorio (Grady *et al.*, 2011).



Para que la remoción de nitrógeno en aguas residuales sea efectiva, es necesario aportar a las poblaciones microbianas involucradas en el proceso, condiciones tanto aerobias como anóxicas. A este respecto, los diseños de sistemas de tratamiento necesariamente deben tener en cuenta las concentraciones deseables en el efluente, porque, entre más estricto sea el tratamiento, más complejo será el diseño y la operación del mismo (G A Ekama y Wentzel, 2008b; Metcalf & Eddy y AECOM, 2014).

A la fecha, con la intención de remover N de las aguas residuales, diversos sistemas han sido diseñados, cada uno con diversas características en su diseño dentro de los que se destacan los sistemas Bardenpho, Ludzack-Ettinger, UCT, A²/O, entre otros (Saldarriaga *et al.*, 2010). Sin embargo, de acuerdo con la complejidad de los mencionados, los grandes espacios para asegurar las condiciones específicas para el tratamiento, la aireación extendida y los altos costos operativos, se ha establecido la necesidad de diseñar métodos alternativos que permitan un alto rendimiento en la remoción de nutrientes, especialmente del nitrógeno (G. Zhu *et al.*, 2008). Dentro de las técnicas recientemente desarrolladas, se destacan la remoción simultánea de nutrientes, IFAS (o lodos activados de biopelícula fija, por sus siglas en inglés), ANAMOX (u oxidación anaerobia del amonio, por sus siglas en inglés), SHARON (sistema de reactor único para eliminación de amonio de alta actividad del nitrito, por sus siglas en inglés) y CANON (o remoción autótrofa del nitrógeno a partir del nitrito, por sus siglas en inglés) por mencionar algunos.

Los sistemas de remoción simultánea o SND (*Simultaneous Nitrification and Denitrification*), buscan estimular principalmente la generación de un consorcio granular aerobio de microorganismos, los cuales, establecen relaciones simbióticas complejas en las que se aseguran las condiciones necesarias para que la nitrificación y desnitrificación puedan ocurrir (G. Zhu *et al.*, 2008; G. A. Ekama, 2015). Por su parte, los sistemas SHARON (*Single reactor system for High Ammonia Removal Over Nitrite*), CANON (*Completely Autotrophic Nitrogen removal Over Nitrite*) y ANAMOX (*Anaerobic Ammonia Oxidation*) son tratamientos desarrollados a partir de “atajos” bioquímicos que permiten la remoción de nitrógeno bajo condiciones específicas.

En síntesis, los denominados “atajos” están relacionados para cada uno de los casos, con la reducción de nitrito (NO₂⁻) a nitrógeno gaseoso (N₂) bajo condiciones aerobias en sistemas SHARON, sin que se forme el nitrato (NO₃⁻); una nitrificación parcial y oxidación anóxica del ion amonio (NH₄⁺) en condiciones aerobias en sistemas CANON; y finalmente, con la oxidación del ion amonio (NH₄⁺) a nitrógeno gas (N₂) bajo condiciones anaerobias en los sistemas ANAMOX (G. Zhu *et al.*, 2008). Por su parte, los sistemas IFAS (*Integrated*

Fixed-Film Activated Sludge) consisten en modificar métodos convencionales para la remoción de N en aguas residuales, al agregar medios de soporte de diferentes características que permitan reducir los tiempos de retención celular en el sistema (TRS) o incrementar el rendimiento en los procesos de remoción, como lo evidenciado por Saldarriaga *et al.* (2010) al emplear un medio de soporte disperso en la fase aerobia del sistema.

2.4.2. Remoción de fósforo

En una línea similar a la remoción de N en aguas residuales, para que la remoción de P pueda llevarse a cabo en sistemas de tratamiento, se ha evidenciado la necesidad de aportarle a las poblaciones microbianas involucradas en el proceso, las condiciones necesarias para que esto ocurra. La remoción de P se basa en el principio de liberación y acumulación del nutriente con una secuencia de crecimiento microbiano bajo condiciones anaerobias, seguida de una fase aerobia (Metcalf & Eddy y AECOM, 2014). Si bien se ha demostrado que las especies que acumulan el nutriente son diversas, en los procesos de remoción adquieren particular importancia los denominados organismos acumuladores de P o PAOs (*Phosphorus Accumulating Organisms*, por sus siglas en inglés), los cuales pueden acumularlo en mayores concentraciones, hasta 0,38 mg P/mgSSV (Wentzel *et al.*, 2008).

En condiciones anaerobias, las poblaciones que fermentan la MO liberan AGV, los cuales son aprovechados por los PAOs al ser absorbidos para acumularlos al interior de la célula y obtener una fuente de carbono disponible. Este transporte de moléculas representa para las PAO un gasto energético considerable, por lo que queman la energía acumulada en cadenas de polifosfatos y eventualmente liberan el fósforo al medio. Posteriormente, bajo condiciones aerobias, los PAOs utilizan el carbono acumulado como fuente de energía para la división celular y “secuestran” o extra asimilan nuevamente el fósforo presente en el medio, para acumularlo como reservas energéticas en formas de cadenas de polifosfatos (Wentzel *et al.*, 2008; van Haandel y van der Lubbe, 2012).

En lo que a la remoción de P se refiere, los procesos no suelen ser tan complejos como para los de remoción del N en sistemas de tratamiento de aguas residuales. Es habitual en la actualidad, que los diseños de sistemas para la remoción de dichos nutrientes puedan realizarse de manera conjunta, sobretodo porque se ha demostrado que los procesos biológicos involucrados para ambos nutrientes se encuentran ampliamente relacionados. En este sentido, diversos estudios han identificado como PAO a bacterias de grupos como *Acinetobacter*, *Accumulibacter* y *Tetrasphaera* (McMahon *et al.*, 2010; Bitton, 2011). Sumado a lo anterior, Henze *et al.* (1997) argumentan que algunas poblaciones bacterianas pertenecientes a los PAOs, son capaces de llevar a cabo procesos de desnitrificación. En términos generales, en la Tabla 3 se resumen las características más relevantes relacionadas con lo abordado anteriormente para la remoción conjunta de nutrientes.

2.4.3. Microalgas como alternativa para la remoción de nutrientes

En las últimas décadas, han sido implementados métodos alternativos para el tratamiento de aguas residuales que emplean diversas especies de microalgas (Abdel-Raouf *et al.*, 2012; Renuka *et al.*, 2014; K. Li *et al.*, 2019; Kaloudas *et al.*, 2021). Los géneros más comúnmente empleados para este fin, han sido *Botryococcus*, *Chlamydomonas*, *Chlorella*, *Phormidium*, *Haematococcus*, *Spirulina*, *Oscillatoria*, *Dunaliella*, *Desmodesmus*, *Arthrospira*, *Nodularia*, *Nostoc*, *Cyanothece* y *Scenedesmus* (Sahu *et al.*, 2019; El-Sheekh *et al.*, 2021). El uso de microalgas en sistemas de tratamiento, aporta una alternativa económica para los procesos involucrados con la remoción de nutrientes, debido a que pueden obtener su fuente energética a partir de la luz solar y además, reducir las emisiones de CO₂ liberadas en la atmósfera (B. Wang *et al.*, 2008).

En este sentido, los sistemas que han empleado microalgas para el tratamiento de AR pueden incluir cultivos axénicos o también cultivos mixtos. Especies del género *Chlorella* tienen una mayor aplicación en el tratamiento de ARD debido a su fácil adaptación ante alteraciones de origen biótico y abiótico. Mientras que para ARnD, especies del género *Scenedesmus* son utilizadas con mayor frecuencia (Rani *et al.*, 2021). Cabe señalar, además, que algunos autores proponen la aplicación de cianobacterias en sistemas de tratamiento, debido a que forman parte fundamental de las comunidades microbianas en las AR y tienen un potencial para el consumo de nutrientes (Cepoi *et al.*, 2016; Mohsenpour *et al.*, 2021). No obstante, su uso potencial debe analizarse en relación con las especies seleccionadas para el cultivo, debido al riesgo vinculado con la síntesis y acumulación de cianotoxinas por algunos individuos (Al-Jabri *et al.*, 2020).

Tabla 3. Procesos involucrados en la remoción conjunta de nutrientes

Fase	Transformaciones	Funciones	Tratamiento
Anaerobia	- Acumulación de ácidos grasos volátiles y liberación de P - Fermentación de MO	Selección de PAOs	Remoción de P
Anóxica	- Desnitrificación - Producción de alcalinidad	Conversión de NO ₃ ⁻ a N ₂ (g)	Remoción de N
Aerobia	- Nitrificación y consumo de alcalinidad - Metabolismo de carbono almacenado por los PAOs - Absorción de fósforo - Metabolismo de sustrato por bacterias heterótrofas	- Conversión de NH ₄ ⁺ a NO ₃ ⁻ - Formación de cadenas de polifosfatos	Remoción de N, Remoción de P

-
- Crecimiento de poblaciones nitrificantes
 - Crecimiento de PAOs
-

Tomado y adaptado de Daigger, G.T. y Littleton, H.X. (2014). *Simultaneous Biological Nutrient Removal: A State-of-the-Art Review*. MO: Materia orgánica, N: Nitrógeno, P: Fósforo, PAOs: Organismos acumuladores de fósforo, NO_3^- : Nitratos, NH_4^+ : Amonio, N_2 : Nitrógeno molecular.

Algunas investigaciones que involucran el tratamiento de aguas residuales mediante la aplicación de microalgas, se enfocan en la posibilidad de la síntesis y obtención de biocombustibles a partir de la acumulación de FAMES (*Fatty Acid Methyl Esters*, por sus siglas en inglés), materia prima para la elaboración de alimentos para animales y otros productos de importancia económica, como lo son el CH_4 , el biohidrógeno (H_2), algunos pigmentos y diversas sustancias (Cho *et al.*, 2011; Abdel-Raouf *et al.*, 2012; L. Zhu *et al.*, 2013; G. Y. Kim *et al.*, 2015; Sukacová *et al.*, 2015). Adicionalmente, Cai *et al.* (2013) argumentan que la recuperación de nutrientes desde la biomasa generada a partir de procesos de tratamiento de aguas residuales ha generado resultados prometedores a escala de laboratorio, sin embargo, es necesario realizar más investigaciones al respecto que permitan un diseño en los sistemas de cultivo.

Por otro lado, las microalgas tienen la capacidad de convertir el N de formas inorgánicas (NO_3^- , NO_2^- , HNO_3 , NH_4^+ , y N_2) en formas orgánicas para su aprovechamiento, lo que puede variar de acuerdo con la especie debido a su tolerancia. En términos generales, las especies inorgánicas de N atraviesan la membrana plasmática y al interior de la célula son asimiladas como aminoácidos mediante reacciones enzimáticas (Cai *et al.*, 2013). De acuerdo con Maestrini *et al.* (1986), el amonio (NH_4^+) es la fuente del nutriente preferida por las microalgas debido a que no requieren una inversión energética considerable frente a la asimilación a partir del nitrato (NO_3^-). En dicha investigación, los autores pudieron observar que en cultivos *in vitro* de diatomeas las formas de nitrato son consumidas cuando el amonio empieza a escasear en el medio. Sin embargo, la preferencia por el NH_4^+ o NO_3^- como fuente de N depende de las especies de microalgas y sus características metabólicas (Honda *et al.*, 2012).

De forma similar, el P necesario para el desarrollo de las microalgas es captado preferiblemente a partir de sus formas inorgánicas ($\text{H}_2\text{PO}_4^{4-}$ y HPO_4^{2-}). Las fuentes del nutriente son incorporadas por las células por medio de la fosforilación, lo que representa generación de energía en forma de adenosín trifosfato (ATP) y más adelante en su incorporación en formas orgánicas (Cai *et al.*, 2013). Si bien la fuente predilecta de las microalgas son las formas inorgánicas, se ha demostrado que son capaces de sintetizar la enzima fosfatasa para el rompimiento de enlaces estéricos de fosfato (Muylaert *et al.*, 2015).

En relación con lo anterior, algunos autores señalan que las microalgas pueden desarrollarse adecuadamente con una relación N:P media de 16:1, aunque esto puede variar de una especie a otra de acuerdo con sus requerimientos nutricionales (Cai *et al.*, 2013; Muylaert *et al.*, 2015). A este respecto Suttle y Harrison (1988), reportaron el desarrollo de cianobacterias con relaciones N:P de hasta 45:1. En cualquiera de los casos, las características físico-químicas del sustrato afectarán la absorción de nutrientes y el desarrollo de las especies involucradas en el sistema de tratamiento. Es importante controlar variables como el pH para favorecer la absorción de nutrientes, debido a que cambios bruscos en los niveles de pH pueden alterar el equilibrio del NH_4^+ o la precipitación del PO_4^{3-} . Otras variables importantes para tener en cuenta son la duración del fotoperiodo y la concentración de CO_2 en el sistema (Tang *et al.*, 2011; Cai *et al.*, 2013). de Castro Araújo y Tavano García (2005) argumentan que la concentración de CO_2 en el sistema puede afectar la fisiología celular de las microalgas, en cuanto al contenido de proteínas y carbohidratos en la biomasa. Así mismo, Jimbo *et al.* (2021) evidenciaron que la escasez de CO_2 en el agua puede disminuir la tasa de crecimiento en las microalgas y esta a su vez, pueden adaptarse a dichas condiciones regulando su fotosistema.

La variación en los requerimientos nutricionales para el desarrollo de microalgas puede significar que la remoción de nutrientes sea más eficiente si se emplean cultivos mixtos en vez de axénicos, como han reportado algunas investigaciones en cuanto al rendimiento y recuperación de nutrientes en sistemas de tratamiento (Alcántara *et al.*, 2013; G. Y. Kim *et al.*, 2015; Lage *et al.*, 2021). Por otro lado, el uso de cultivos mixtos de microalgas en el tratamiento de aguas residuales podría significar problemáticas ambientales aún mayores debido a que algunas especies presentes en cuerpos de agua eutrofizados son capaces de sintetizar compuestos tóxicos, como es el caso de algunas cianobacterias y diatomeas (Cai *et al.*, 2013). A este respecto, la inclusión de mecanismos para la sedimentación de la biomasa permite una selección de las especies deseables en el tratamiento relacionados con sus características floculantes y mejora el rendimiento en el sistema (Park *et al.*, 2011).

Por otro lado, García-Gozalbes *et al.* (2015) argumentan que se han alcanzado eficiencias en la remoción de nutrientes a partir de aguas residuales mediante la aplicación de cultivos de microalgas en fotobiorreactores, superiores al 90%. De forma similar, Arbib *et al.* (2013) demostraron que la eficiencia en la remoción de N y P en aguas residuales es entre 2 y 2.5 veces mayor al emplear un fotobiorreactor (FTBR) en comparación con un HRAP (*High Rate Algal Pond*, por sus siglas en inglés), debido al aumento en el área de exposición a la radiación solar. Dichos resultados fueron obtenidos con cultivos axénicos de *Scenedesmus obliquus* en FTBRs y HRAPs con tubos fluorescentes como fuente lumínica y fotoperiodos de 14:10 h (luz:oscuridad).

En adición a lo planteado anteriormente, Kaloudas *et al.* (2021) coinciden en que la implementación de FTBRs permiten alcanzar eficiencias de remoción más elevadas, mayores

al 70% para el N y del 90% para el P. Así mismo, se han encontrado rendimientos en términos de biomasa superiores, de hasta 96.4 g/L en FTBRs de panel y de 19.78 g/L en FTBRs de columna. Un mayor rendimiento en términos de biomasa representa una eliminación de nutrientes más activa, e igualmente, una mayor eficiencia en operaciones complementarias para el aprovechamiento de la biomasa generada (Hodaifa *et al.*, 2020). Ahora bien, una mayor disponibilidad de nutrientes en el AR, permitirán a las microalgas obtener mayores rendimientos en términos de biomasa. M. Zhang *et al.* (2020) señalan que parámetros operativos como el TRH afectan la disponibilidad de los nutrientes para el desarrollo algal y que rendimientos elevados pueden obtenerse a TRHs cortos (entre 1 y 2 d).

Igualmente, Cabanelas *et al.* (2013) evaluaron la eficiencia en la remoción de nutrientes mediante cultivos tipo bache de *Chlorella vulgaris* en matraces agitados, a partir del efluente de distintos procesos en una planta de tratamiento. De acuerdo con los autores, la remoción de N fue similar para todos los sustratos evaluados, mientras que la productividad en cuanto a la biomasa fue superior a partir del centrado. Estos resultados son concordantes con lo reportado por García-Gozalbes *et al.* (2015) en matraces a partir del efluente de un reactor tipo UASB y por Hultberg *et al.* (2016) en el efluente de un reactor anaerobio de lecho móvil. Entretanto, Fonseca *et al.* (2013) discuten que es necesario realizar una desinfección previa del efluente de procesos anaerobios antes de alimentar un cultivo de microalgas, debido a que la presencia de algunos tipos de bacterias puede afectar el desarrollo algal.

Por otra parte, Tan *et al.* (2021) obtuvieron remociones de hasta un 53.8% de DQO, 88.7% de NT y 67.6% de PT en FTBRs tubulares alimentados con el efluente de reactores UASB provenientes de la industria alimenticia, mediante cultivos de *Chlorella pyrenoidosa*. En su estudio, los investigadores argumentan que debido a la alta concentración de sólidos en el efluente de reactores UASB, por lo que sería recomendable su remoción, para evitar la afectación de la captación de luz por parte de las microalgas. Una alternativa para la eliminación de los sólidos es mediante unidades de sedimentación o filtración complementaria al tratamiento, previo ingreso del AR tratada al FTBR.

Para el caso de Latinoamérica, se han reportado la aplicación de cultivos de microalgas como tratamiento terciario mediante PTBRs con alimentación continua y de tipo bache (Oviedo Acuña y Aguilar Carrera, 2019; Luque Tumiri, 2020). En su investigación, Oviedo Acuña y Aguilar Carrera (2019) analizaron el consumo de nutrientes en flujo discontinuo de cepas de *Chlorella vulgaris*, *Spirulina platensis* y *Spirulina maxima* a partir del agua de una laguna eutrofizada. Los resultados encontrados, evidenciaron un mayor consumo (87% de NO_3^- y 69% de PO_4^{3-}) para los cultivos de *C. vulgaris* a un TRH de 3.13 d. Por su parte, Luque Tumiri (2020) evidenció rendimientos hasta del 75.84% para el NO_3^- y del 93.75% para el PO_4^{3-} en un PTBR operado con flujo discontinuo. Reporta la autora que el consumo de nutrientes se realizó mediante un consorcio de microalgas conformado por las especies *Microcystis sp.*, *Scenedesmus sp.* y *Lyngbya sp.* en un TRH de 55 d.

Finalmente, en Colombia se han realizado investigaciones en los últimos años para evaluar la aplicación potencial de cultivos de microalgas para la eliminación de nutrientes en sistemas de tratamiento. Viveros Ruiz (2018) reportó una eliminación del 44% del NTK y del 15% de PT en un HRAP como tratamiento terciario complementario de un ARD mediante un cultivo de *Parachlorella kessleri*. Similarmente, Ortiz-Villota *et al.* (2018) encontraron eficiencias de remoción superiores para el N en PTBRs operados bajo flujo discontinuo (18.67%) y para el P en PTBRs operados en flujo continuo (66.14%) de *Chlorella sp.* Así mismo, diversos autores mencionan el uso de cultivos de microalgas para la obtención de biomasa algal con fines de aprovechamiento energético (Guiza-Franco *et al.*, 2018) y la mitigación de CO₂ (Zuluaga Esquivel, 2019), entre otras aplicaciones.

2.5. Ecología microbiana en sistemas de tratamiento de aguas residuales

Los procesos de tratamiento biológico de aguas residuales dependen del establecimiento apropiado de una comunidad de microorganismos capaces de consumir y remover el material de desecho (Szabolcs *et al.*, 2009). En relación con lo anterior, McHugh *et al.* (2004) habían planteado que el éxito de los procesos depende enteramente de las acciones e interacciones de los individuos que conforman las comunidades en mención. A lo anterior se agrega la estrecha relación entre la diversidad de especies microbianas y los procesos mismos de tratamiento, según lo reportado por Curtis *et al.* (2003).

Por consiguiente, es esencial un estudio minucioso para determinar la estructura, el funcionamiento y las propiedades biológicas de las comunidades microbianas involucradas en los procesos de tratamiento y remoción. Establecer un mejor entendimiento de las dinámicas de crecimiento microbiano (Rittmann y McCarty, 2001; Atlas y Bartha, 2002), puede permitir el mejoramiento y optimización de la tecnología involucrada (Wilderer *et al.*, 2002; McHugh *et al.*, 2004), al determinar su relación con la eficiencia del sistema. Al respecto, Calli *et al.* (2005) demostraron la relación entre las eficiencias de remoción en reactores UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*, por sus siglas en inglés) y las respuestas de la población microbiana al operar el sistema bajo elevadas concentraciones de amoníaco.

En contraste, tanto Wilderer *et al.* (2002), como McHugh *et al.* (2004) aducen que muchos de los procesos empleados para el tratamiento de aguas residuales son pobremente estudiados desde el punto de vista microbiológico. Esto debido en mayor medida, a que un amplio rango de especies no son cultivables en condiciones de laboratorio y a que también son considerados como modelos de tipo “caja negra” (Atlas y Bartha, 2002; Sanz y Köchling, 2007). Alternativamente, el desarrollo de análisis morfológicos (forma, tamaño y densidad), fisiológicos (actividad enzimática) o moleculares (hibridación de ADN o similitud entre secuencias de código) han permitido la identificación de la ecología microbiana (Flores, 2007).

Adicionalmente, los análisis fenotípicos tienden a dificultarse debido al alto grado de plasticidad que presentan las poblaciones microbianas como consecuencia de las condiciones del medio en el cual se desarrollan, por lo que muchos investigadores han optado por el uso de técnicas moleculares para el estudio de su ecología (Flores, 2007). Acorde a lo anterior, Atlas y Bartha (2002) sugieren el empleo de este tipo de técnicas como una de las formas más apropiadas para determinar la diversidad microbiana en términos poblacionales, al valorar la heterogeneidad de su información genética.

La aplicación de estrategias morfológicas, fisiológicas y/o moleculares, ha permitido determinar que las comunidades microbianas contienen mecanismos propios para controlar la densidad de grupos funcionales en todos los ambientes (Escalante, 2007) tendiente a un estado homeostático (Atlas y Bartha, 2002), a pesar de su gran diversidad.

2.6. Demanda energética en sistemas de tratamiento de aguas residuales

Como se ha mencionado, los sistemas de tratamiento de AR requieren de la implementación de condiciones específicas de crecimiento para el establecimiento apropiado de las comunidades microbianas. Dichas condiciones pueden representar una inversión económica considerable de acuerdo con el tipo de tratamiento desarrollado, los contaminantes a eliminar y los rendimientos proyectados (Droste y Gehr, 2019).

En las PTAR, los costos se relacionan principalmente con la operación y el mantenimiento de los equipos. En sistemas de los lodos activados, la aireación requiere un mayor aporte de energía, seguido de los posibles requerimientos de fuentes adicionales de materia orgánica y el bombeo (Fatone *et al.*, 2017). De acuerdo con X. Wang (2020), la demanda energética en los tratamientos convencionales, es aproximadamente el 60% del total de la energía requerida por el sistema para la operaciones primarias y secundarias. Según Daw *et al.* (2012), el 4% del total de la energía consumida en los Estados Unidos es invertida en el tratamiento de AR. Adicionalmente, el manejo y la disposición adecuados de los lodos requieren una alta inversión económica adicional que puede ascender hasta un 70% de los costos operacionales (Azizi *et al.*, 2021).

Igualmente, un sistema convencional para el tratamiento de ARD consume entre 0.34 y 0.66 kWh/m³ para la remoción de MO, mientras que, si incluye la remoción biológica de nutrientes, este consumo puede ascender hasta 0.74 y 1 kWh/m³ según el proceso empleado (G. Y. Kim *et al.*, 2015; X. Wang, 2020). Fatone *et al.* (2017) argumentan que la demanda energética de los procesos para la eliminación de nutrientes es establecida a partir de los límites determinados para el aporte de nutrientes a los cuerpos de agua tras su vertimiento.

En la Tabla 4, se presenta el consumo de energía de los procesos de tratamiento que incluyen operaciones terciarias para la eliminación de nutrientes.

Por otro lado, aunque los sistemas anaerobios son generalmente aplicados para el tratamiento de ARnD, han sido empleados en sistemas de ARD en países en vía de desarrollo como Colombia, Brasil e India (Foresti *et al.*, 2006). Su aplicación ha adquirido una mayor relevancia en los últimos años, debido al potencial para la recuperación de N y P (como NH_4^+ y PO_4^{3-}) en su efluente, así como la generación de energía sustentable a partir del biogás como subproducto (Ince *et al.*, 2017). Al respecto, J. B. van Lier *et al.* (2015) mencionan que la aplicación de sistemas anaerobios para el TAR permite ahorrar energía hasta 1 kWh/kg DQO de ARD tratada, en comparación con sistemas de lodos activados. De igual manera, continúan los autores, la generación de energía eléctrica mediante el aprovechamiento del biogás puede representar un rendimiento de 1.5 kWh/kg DQO tratado, al asumir una eficiencia del proceso del 40%.

Tabla 4. Consumo energético en PTAR para la eliminación de nutrientes basado en los límites de vertimientos

Límite de NT (mg N/L)	Límite de PT (mg P/L)	Consumo (kWh/m ³)	Incremento (%)
> 10	> 1	0.14	–
8	1	0.17	+20
8	0.1 a 0.3	0.18	+27
2	0.1	0.20	+41
< 2	< 0.02	0.38	+169

Tomado y adaptado de Fatone, F. *et al.* (2017). Nutrient removal. NT: Nitrógeno total, PT: Fósforo total.

Sin embargo, dentro de las principales desventajas de los sistemas anaerobios debe contemplarse que su rendimiento depende principalmente de la puesta en marcha, teniéndose una alta sensibilidad a las sustancias tóxicas y el biogás como subproducto, puesto que contiene ácido sulfhídrico, lo que puede generar corrosión (Mainardis *et al.*, 2020). En el caso específico de los reactores UASB, como desventaja adicional de su aplicación para el tratamiento de ARD podría estimarse que el efluente requiere de un tratamiento adicional debido a su escasa calidad, la alta concentración de nutrientes y la presencia de microorganismos patógenos. Aunque estas características descritas lo convierten en una opción viable si se combinan con un tratamiento adicional (Ince *et al.*, 2017).

Debido a que los recursos económicos destinados para el TAR en países en vía de desarrollo son escasos, se hace necesaria la implementación y desarrollo de tecnologías sustentables que permitan la eliminación adecuada de sustancias de las AR (X. Wang, 2020). En este

sentido, la aplicación de cultivos de microalgas como tratamiento terciario de AR requiere, según el tipo de sistema empleado, entre 0.0001 y 0.001 kWh/m³ si el FTBR es abierto; o entre 0.1 y 1 kWh/m³ si el FTBR es cerrado (Woertz *et al.*, 2009; I de Godos *et al.*, 2017). Igualmente, la biomasa acumulada en el proceso puede ser empleada como subproducto para la generación de energía. En algunos sistemas se han proyectado rendimientos a partir del biogás producido en la digestión de la biomasa de hasta 0.33 kWh/m³ o también, para la síntesis de biocombustibles (G. Y. Kim *et al.*, 2015).

3. METODOLOGÍA

La experimentación se desarrolló en dos etapas, una primera que consistió en la operación del sistema híbrido, así como las determinaciones analíticas de los parámetros involucrados en el proceso. Esta primera etapa se llevó a cabo en los laboratorios del Grupo de Ingeniería y Gestión Ambiental (GIGA) adscrito a la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Antioquia (Colombia). La segunda etapa de la investigación incluyó el análisis de la ecología microbiana de cultivos de microalgas y se desarrolló en los laboratorios del grupo Ecología animal y sistemática adscrito a la Facultad de Biología y Química de la Universidad Justus Liebig (Alemania) como parte de la estancia doctoral.

3.1. AGUA RESIDUAL SINTÉTICA

Para la operación del sistema, se empleó un agua residual sintética (ARS) con un alto contenido de N. La concentración de nutrientes de las AR varió aleatoriamente de forma controlada durante la experimentación, con la intención de emular las características de un ARD en una PTAR a escala real. Es importante mencionar que dicha variación en la concentración de nutrientes no generó ningún tipo de limitación nutricional para la biomasa a lo largo del tren que pudiese afectar los procesos de remoción y tratamiento.

El ARS se elaboró a partir de la disolución de una marca comercial de proteína animal en polvo al 75% en agua potable reposada con al menos 24 horas de anticipación, para favorecer la eliminación de cloro residual. Posteriormente se ajustó la concentración de macro y micronutrientes al adicionar soluciones concentradas de mezclas comerciales de fertilizantes solubles de acuerdo con un balance de masa previo. La información detallada acerca de la composición del ARS empleada en la experimentación y la concentración de sus componentes se presenta en la Tabla 5.

Tabla 5. Composición del agua residual sintética empleada en la experimentación

Compuesto	Cantidad	Unidad
Proteína animal al 75%	0.57	g/L
Cloruro de sodio (NaCl)	0.25	g/L
Bicarbonato de sodio (NaHCO₃)	0.20	g/L
Solución de macronutrientes	0.04	mL/L
Solución de micronutrientes	0.08	mL/L

Las soluciones de elementos mayores (Ver Tabla 6) y menores (Ver Tabla 7) se prepararon de acuerdo con los requerimientos nutricionales para el metabolismo anaerobio planteado por Torres (1992), Barsanti y Gualtieri (2014) y (Ferro *et al.*, 2022) para el desarrollo de

microalgas. Durante el periodo de experimentación, se analizó constantemente la composición del ARS con la intención de verificar que presentara las características de un agua residual de contaminación media, según lo establecido por Henze (1997), Henze y Comeau (2008) y Metcalf & Eddy y AECOM (2014). El ARS mantuvo una relación C:N:P media, en términos de DQO:NTK:PT, de 100:10:1.4. En la Tabla 8 se pueden apreciar las concentraciones medias aplicadas durante cada corrida experimental en términos de DQO, NTK y PT.

Tabla 6. Composición de la solución de macronutrientes*

Elemento	Cantidad (mg/L)
Fósforo asimilable (P₂O₅)	13.334
Potasio soluble (K₂O)	18.043
Azufre total (S)	0.417
Magnesio soluble (MgO)	0.117
Calcio soluble (CaO)	0.113
Hierro soluble (Fe)	0.104
Boro soluble (B)	0.092
Zinc soluble (Zn)	0.088
Cobre soluble (Cu)	0.042
Manganeso soluble (Mn)	0.042
Molibdeno soluble (Mo)	0.008
Cobalto soluble (Co)	0.004

Los elementos se expresan de acuerdo con lo establecido por el productor del fertilizante comercial. Adaptado de Torres, P. (1992). *Desempenho de um reator anaeróbico de manto de lodo (UASB) de banca no tratamento de substrato sintético simulando esgotos sanitários, sob diferentes condições.

3.2. MONTAJE EXPERIMENTAL

3.2.1. Sistema híbrido

El sistema híbrido fue diseñado para realizar el tratamiento en dos fases, a través de tanques adaptados para operar en serie. La primera fase consistió en un reactor anaerobio de alta tasa tipo UASB, operado para la remoción de MO en tiempos de residencia de 6 h. En la segunda fase, se empleó un FTBR para la eliminación de nutrientes. El esquema del sistema de tratamiento se presenta en la Figura 1.

Tabla 7. Composición de la solución de micronutrientes*

Elemento	Cantidad (mg/L)
Calcio soluble (CaO)	1.114
Magnesio soluble (MgO)	1.433
Molibdeno soluble (Mo)	0.028
Azufre (S)	1.552
Boro soluble (B)	0.362
Cobre soluble (Cu)	0.032
Hierro soluble (Fe)	0.362
Manganeso soluble (Mn)	0.111
Zinc soluble (Zn)	0.362
Cobalto soluble (Co)	0.004
Cloruro de níquel (NiCl ₂ ·6H ₂ O)	0.120
Selenito de sodio (Na ₂ SeO ₃ ·5H ₂ O)	0.026

*Los elementos se expresan de acuerdo con lo establecido por el productor del fertilizante comercial. Adaptado de Torres, P. (1992). *Desempenho de um reator anaeróbico de manto de lodo (UASB) de banca no tratamento de substrato sintético simulando esgotos sanitários, sob diferentes condições* y Barsanti, L. y Gualtieri, P. (2014). *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology* (2da ed.).

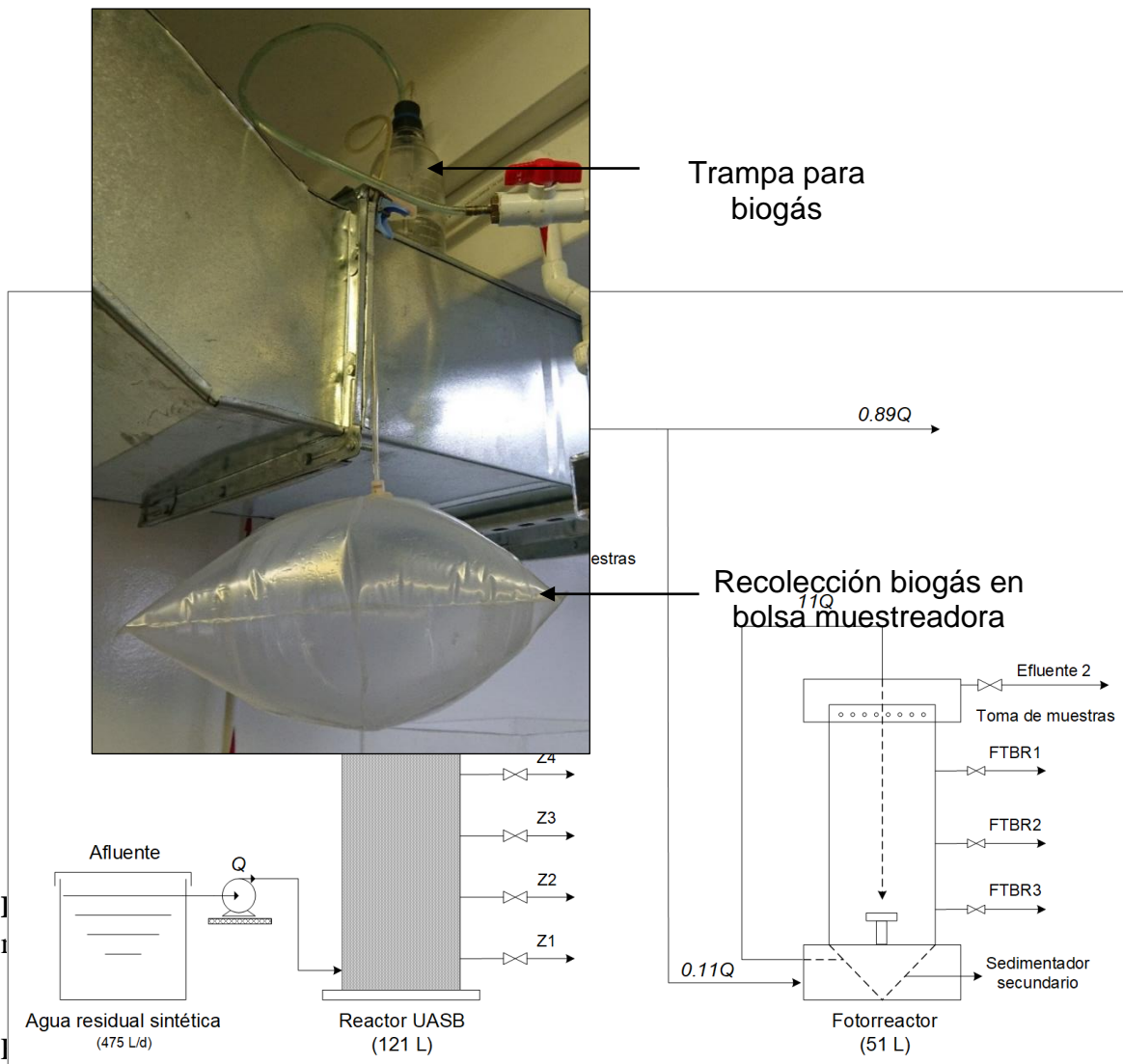
Tabla 8. Concentración media de DQO, NTK y PT empleadas en el ARS durante la experimentación

Parámetro	n	Concentración (mg/L)	DE (mg/L)
Demanda química de oxígeno (DQO)	13	627.54	±145.30
Nitrógeno total Kjeldahl (NTK)	13	63.76	±15.25
Fósforo total (PT)	13	8.36	±2.77

n: Muestras analizadas, DE: Desviación estándar.

3.2.1.1. Reactor UASB

El reactor UASB, de 121 L de capacidad, fue alimentado con el ARS a través de una sección cruciforme con orificios transversales de tamaño variable. La alimentación del ARS se realizó mediante una bomba peristáltica de precisión marca Masterflex Easy-Load II de Cole-Parmer con el ánimo de mantener un flujo constante y favorecer la fluidización del lecho a lo largo de la operación. Seis válvulas dispuestas en la vertical del reactor (Z1 a Z6) facilitaron periódicamente la toma de muestras. Una trampa de líquido acoplada a la campana de separación sólido-líquido-gas permitió recolectar el biogás producido durante la experimentación, mediante una bolsa de muestreo. El biogás capturado en (Ver Figura 2), fue posteriormente caracterizado a nivel de laboratorio.



vinilo (PVC), derivado y fraccionado ($0.11Q$) mediante una válvula de compuerta para alimentar el FTBR, al aprovechar la gravedad del sistema. El pH en el efluente fue monitoreado en tiempo real, para evitar que alcanzara niveles por debajo de las 6.8 unidades y se controló mediante la adición de NaHCO_3 al ARS. En cuanto a lo relacionado con las variables control en la primera fase del sistema, se tuvieron en cuenta un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 6 h y un TRS de 15 d, según lo relacionado por Khan *et al.* (2011) y Stazi y Tomei (2018).

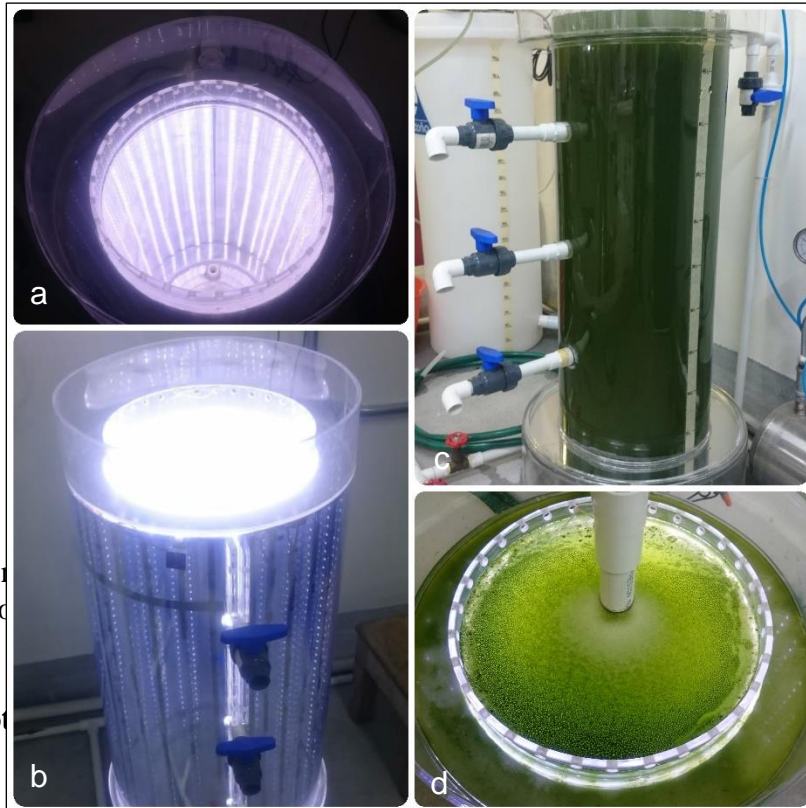


Figura 2. Modelo
propia del autor

Imagen de fuente

3.2.1.2. Fotoperiodo

El FTBR cilíndrico contó con un volumen de operación de 51 L e integró un sedimentador secundario en la parte inferior de la estructura (Ver Figura 3). El EFL1 ingresaba al reactor por la parte inferior, encima del sedimentador secundario y se mezclaba con la biomasa en suspensión. El proceso contó con una recirculación interna desde el sedimentador secundario para favorecer la mezcla, mediante un sistema de *arlift* a partir de una bomba de aire marca Alita AL-100. Tres válvulas dispuestas en la vertical (FTBR1 a FTBR3), facilitaron la toma de muestras en la columna de agua de forma periódica. Posteriormente, el efluente tratado (EFL2) abandonaba el FTBR mediante un borde libre en la parte superior del reactor.

Con la intención de favorecer la fotosíntesis en el FTBR, se aportó luz artificial fría mediante bombillos LED de color blanco, distribuidos a lo alto y ancho de la columna de agua al exterior del reactor. Como variables control para la segunda fase del sistema, se establecieron una iluminancia de 5000 lux, un fotoperiodo de 24 h y un TRH de 24 h según lo relacionado por Honda *et al.* (2012).

Figura 3. Fotobiorreactor para el crecimiento de microalgas. a. Vista superior, b. Vista frontal, c. Vista lateral inoculado, d. Vista superior inoculado. (Imágenes de fuente propia del autor)

3.2.2. Características hidráulicas del fotobiorreactor (FTBR)

Para verificar el patrón del flujo de masa en la columna de agua del FTBR, se evaluaron sus características hidráulicas mediante un modelo de distribución de tiempos de residencia (o DTR por sus siglas en inglés) y el modelo de Wolf-Resnick. Esto con la intención de identificar si existe algún cortocircuito en la unidad y verificar que el sistema mantenga una operación de mezcla completa a lo largo de la experimentación. La evaluación de las características hidráulicas del FTBR se desarrolló de acuerdo con el método descrito por Molina y Rodríguez (2015) al emplear agua potable y cloruro de sodio (NaCl) como trazador, previo a la corrida experimental.

El procedimiento consistió en la verificación de la conductividad eléctrica (CE) medida en el efluente del sistema, al introducir un pulso del trazador a una concentración conocida, en el afluente de este durante la alimentación. Previo a la ejecución del análisis, se elaboró una curva de calibración al diluir distintas concentraciones del trazador en agua potable reposada y se estableció su relación lineal con la CE. La DTR en el sistema se evaluó a un TRH de 24 h como referencia para las corridas experimentales durante un tiempo total de 120 h. Adicionalmente, se empleó sangre de bovino al 100% como trazador para evaluar el patrón del flujo en la columna de agua de forma visual.

3.2.3. Lodo de inóculo

Debido a las características del sistema híbrido empleado durante la experimentación, para la inoculación se evaluó el estudio de lodos provenientes de fuentes diferentes para la fase anaerobia y la fase con microalgas. El reactor UASB fue inoculado con lodo granular anaerobio proveniente de la planta de tratamiento de la Cooperativa de lácteos de Antioquia (Colanta), ubicada en Medellín. La muestra fue tomada de un estanque de agua residual



Para la inoculación se usó lodo de la ciudad de Medellín (Cooperativa de Lácteos de Antioquia) en las lagunas con una columna de agua de 1.5 m de altura. Se tomaron muestras de las diferentes lagunas para analizar los sólidos suspendidos totales y los principales gases.

La muestra fue tomada de un estanque de agua residual

en la ciudad de Medellín (Cooperativa de Lácteos de Antioquia) en el Parque Norte J. Se tomaron muestras de las lagunas de la superficie de las lagunas de plástico. A lo largo del tiempo se midió el pH, CE, conductividad eléctrica y la temperatura de los

3.3. VARIABLES

3.3.1. Instrumentación

Para verificar el funcionamiento del sistema se evaluaron los parámetros de las fases del proceso. Dentro de estos parámetros fueron incluidos la temperatura (T), pH, conductividad eléctrica (CE), oxígeno disuelto (OD), potencial de óxido-reducción (POR) e iluminancia (E). La estimación periódica de estos parámetros permitió verificar frecuentemente las condiciones de operación del sistema y realizar ajustes cuando fue necesario. Todos los instrumentos de medición se calibraron diariamente antes de realizar la estimación de los parámetros, de acuerdo con las recomendaciones de APHA *et al.* (2017). En la Tabla 9 se relacionan los equipos empleados en la medición.



Figura 4. Sitios de muestreo en el fotobiorreactor. a. Jardín botánico Joaquín Antonio Urdinola, b. Estación de Aterrizaje de Santa Fe. (Imágenes de fuentes externas)

b. Estación de Aterrizaje de Santa Fe, c. Parque Zoológico de Bogotá

3.3.2. Determinación de concentración de biomasa

La concentración de biomasa en el sistema fue evaluada mediante la determinación de los sólidos totales (ST) y los sólidos volátiles (SV). Dichas determinaciones se realizaron con una periodicidad semanal en EFL1, FTBR y EFL2, mientras que en el reactor UASB (Z1 a Z6) con periodicidad mensual. Las estimaciones de biomasa (Ver Figura 6) se realizaron en concordancia con los métodos estandarizados por la APHA *et al.* (2017) y para esto, se contó con cápsulas de porcelana, estufa, mufla y balanza debidamente calibrada.

Figura 5. Botella Van Dorn para la toma de muestras. (Imagen de fuente propia del autor)

Tabla 9. Instrumentos empleados en la determinación de los parámetros de control

Parámetro	Instrumento	Sonda
T	Thermo Orion 420A+	Orion 9157BN
pH		Orion 9157BN
CE	WTW Cond 720	TetraCon 325
OD	Hach HQ40d Multi	INTELLICAL Sensor LDO10101
POR		INTELLICALL ORP MTC10101
E	Extech 407026	N/A

T: Temperatura, CE: Conductividad eléctrica, OD: Oxígeno disuelto, POR: Potencial de óxido-reducción, E: Iluminancia.

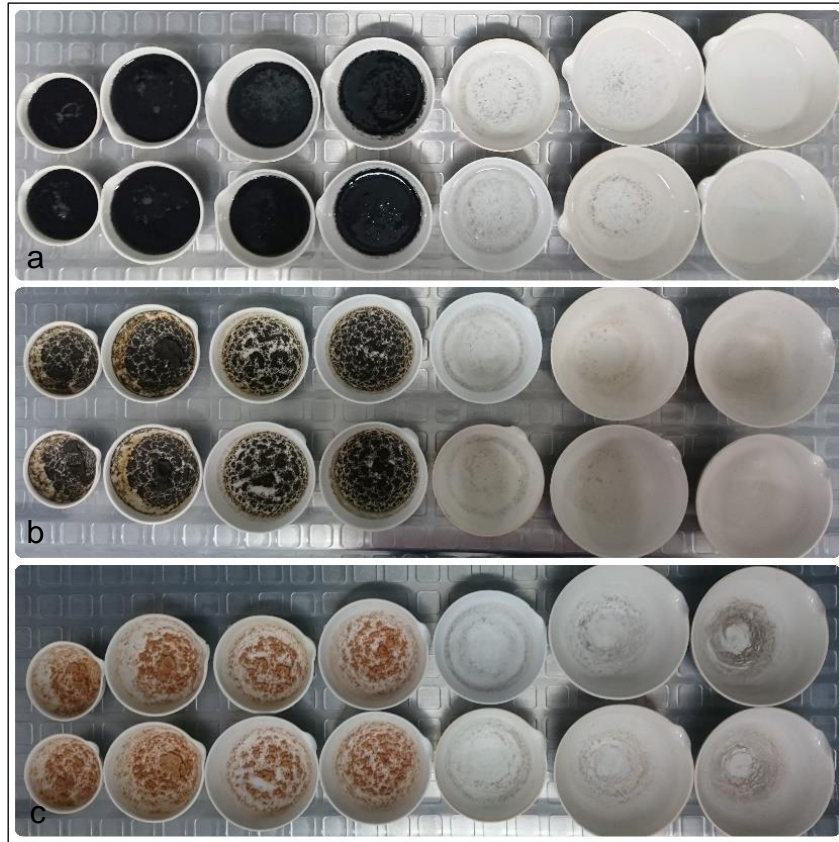


Figura 6. Cápsulas de porcelana para la determinación de sólidos. a. Muestras para análisis, b. Muestras secadas a 105 °C, c. Muestras calcinadas a 350 °C. (Imágenes de fuente propia del autor)

3.3.3. Análisis de laboratorio y formas de nutrientes (N y P)

Para verificar la eficiencia del tratamiento de MO y remoción de nutrientes durante la operación del sistema, se verificaron las concentraciones de MO en términos de DQO, DBO₅ y COT; de N y sus formas en términos de NTK, NH₄⁺, NO₃⁻, NO₂⁻ y de P y sus formas en términos de PT y PO₄³⁻ en cada una de las fases del tren de tratamiento. Adicionalmente, se analizaron en el reactor UASB las dinámicas del CH₄ y del azufre (S) en términos de SO₄²⁻ como variables respuesta en la primera fase del sistema. Estas determinaciones se realizaron en el Laboratorio de Estudios Ambientales del grupo GIGA, de acuerdo con métodos debidamente estandarizados y validados. En la Tabla 10 se relacionan los parámetros evaluados con sus respectivos métodos de cuantificación, de acuerdo con lo establecido por la ASTM (2012) y por la APHA *et al.* (2017).

Tabla 10. Métodos aplicados para determinación de MO y formas de nutrientes

Parámetro	Método
DQO	Colorimétrico – Reflujo cerrado (SM 5220 D)
DBO₅	Luminiscente – 5 días (SM 5210 B y ASTM D888-12 C)
COT	Oxidación (SM 5310 C)
NTK	Micro Kjeldahl – Titulométrico (SM 4500-N _{org} C)
NH₄⁺	Titulométrico – Destilación preliminar (SM 4500-NH ₃ ⁻ B, C)
NO₃⁻	Cromatografía iónica – (SM 4110 B)
NO₂⁻	Cromatografía iónica – (SM 4110 B)
PT	Espectrofotométrico – Ácido ascórbico (SM 4500-P B, E)
PO₄³⁻	Cromatografía iónica (SM 4110 B)
SO₄²⁻	Cromatografía iónica (SM 4110 B)
CH₄	Cromatografía de gases (SM 2720 C)

DQO: Demanda química de oxígeno, DBO₅: Demanda bioquímica de oxígeno, COT: Carbono orgánico total, NTK: Nitrógeno total Kjeldahl, NH₄⁺: Amonio, NO₃⁻: Nitratos, NO₂⁻: Nitritos, PT: Fósforo total, PO₄³⁻: Ortofosfatos, SO₄²⁻: Sulfatos, CH₄: Metano.

3.3.4. Observaciones al microscopio

A lo largo de la experimentación se realizaron observaciones al microscopio tanto en el reactor anaerobio, como en el fotobiorreactor de forma periódica. Esto con la intención de verificar cualitativamente las dinámicas poblacionales y el crecimiento relativo de microorganismos involucrados en el proceso. Para tal fin, se empleó un microscopio compuesto marca Nikon EFD-3 el cual cuenta con una reglilla graduada. La captura de imágenes se realizó mediante una cámara fotográfica integrada al microscopio.

3.4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.4.1. Inoculación del sistema

Como se ha mencionado, la puesta en marcha del sistema de tratamiento se realizó en dos momentos diferentes. En una primera instancia se inoculó el reactor UASB y se adaptó la estrategia para su arranque de acuerdo con lo sugerido por Chernicharo (2007). Una vez inoculado el reactor UASB, se alimentó diariamente de forma discontinua con ARS fresca para favorecer la adaptación de la biomasa. Durante este periodo de adaptación, se analizaron el pH y la CE del clarificado como variables respuesta para verificar la estabilidad del proceso. Eventualmente, se inició la operación continua del reactor en el día 10 posterior a

su inoculación de acuerdo con las variables respuesta y se aumentó gradualmente la carga orgánica.

Una vez se estabilizó la operación del reactor UASB, se realizó la inoculación del FTBR con el inóculo que presentó las mejores características y se inició la recirculación para favorecer la mezcla. La concentración inicial de la biomasa en el lodo de inóculo fue de 600 mg SV/L. De forma similar que con el reactor UASB, se alimentó diariamente el FTBR de forma discontinua con EFL1 y se iluminó la columna de agua con el fotoperiodo de 24 h. Durante el periodo de adaptación del FTBR, se evaluaron el pH, la CE, el OD y la sedimentabilidad de la biomasa como variables respuesta para verificar la estabilidad del proceso. Así mismo, se realizaron valoraciones cualitativas al microscopio para analizar las respuestas del sistema durante el proceso de adaptación (Ver sección 4.4). Finalmente, se aumentó el tiempo de alimentación de forma gradual hasta que el sistema híbrido fue operado de forma continua con un TRH de 24 h.

3.4.2. Operación del sistema híbrido

Durante el periodo de adaptación del reactor UASB (el cual duró alrededor de 17 semanas), se evaluó el rendimiento de la operación en función de la DQO. Una vez se alcanzó la carga orgánica objetivo en AFL de 700 mg DQO/L, se aumentó la periodicidad de las determinaciones para la evaluación de la operación del sistema y se empezó a analizar la concentración de nutrientes en el clarificado. Con base en esta información se logró caracterizar el EFL1 y establecer la inoculación del FTBR una vez los rendimientos en términos de DQO fueron superiores al 75%, así como la verificación permanente de la estabilidad del sistema.

Una vez terminado el periodo de adaptación del FTBR (el cual duró 3 semanas), se empezó a evaluar el rendimiento del sistema híbrido en función de la remoción de nutrientes y sus formas en el EFL2. Adicionalmente, se tomaron muestras integradas de la columna de agua del FTBR para la determinación de los principales grupos poblacionales de microalgas presentes durante la operación. Las muestras del FTBR fueron debidamente rotuladas, preservadas con etanol al 95% en relación volumétrica 1:1 y conservadas bajo refrigeración oscura a -20 °C según lo establecido por la APHA *et al.* (2017). La operación continua del sistema híbrido se realizó de forma preliminar durante 4 meses para evaluar su respuesta y la información recolectada fue organizada en una base de datos digital. En la Tabla 11 se presenta un resumen de las variables medidas y su periodicidad.

Tabla 11. Parámetros medidos durante la operación del sistema y su periodicidad

Parámetro	Punto de muestreo	Periodicidad	Datos
T, pH, CE	AFL, EFL1, FTBR, EFL2	Diaria	
OD, POR	AFL, EFL1, FTBR, EFL2	Diaria	
DQO, NTK, NH ₄ ⁺ , NO ₃ ⁻ , NO ₂ ⁻ , PT, PO ₄ ³⁻ , SO ₄ ²⁻	AFL, EFL1, EFL2	Semanal	
TRY, CHL, PHY	FTBR	Semanal	
ST, SV	EFL1, FTBR, EFL2	Semanal	
Observaciones al microscopio	EFL1, FTBR	Semanal	
ST, SV	UASB	Mensual	

T: Temperatura, CE: Conductividad eléctrica, OD: Oxígeno disuelto, POR: Potencial de óxido-reducción, DQO: Demanda química de oxígeno, DBO₅: Demanda bioquímica de oxígeno, COT: Carbono orgánico total, NTK: Nitrógeno total Kjeldahl, NH₄⁺: Amonio, NO₃⁻: Nitratos, NO₂⁻: Nitritos, PT: Fósforo total, PO₄³⁻: Ortofosfatos, SO₄²⁻: Sulfatos, TRY: L-Triptófano, CHL: Clorofila a, PHY: Ficocianina, ST: Sólidos totales, SV: Sólidos volátiles, AFL: Afluente, UASB: Reactor anaerobio, EFL1: Efluente 1, FTBR: Fotobiorreactor, EFL2: Efluente 2.

3.4.3. Análisis de los grupos poblacionales de microalgas en el fotobiorreactor

El análisis de los grupos poblacionales de microalgas presentes en el FTBR a lo largo de la operación del sistema se realizó mediante la aplicación de dos metodologías. La primera, mediante valoraciones periódicas a partir de muestras *in vivo* tomadas en la columna de agua del FTBR. En dichas valoraciones, de tipo cualitativo, se identificaron los grupos dominantes de microalgas con ayuda de la literatura a través de observaciones al microscopio. Las observaciones al microscopio se realizaron durante la experimentación, en los laboratorios del grupo GIGA.

La segunda, mediante la adaptación de las metodologías propuestas por Petersen (1989) y Gregor y Maršálek (2005) para el análisis de grupos poblacionales de microalgas en cuerpos de agua. El método consiste en la determinación fluorométrica de los pigmentos L-triptófano (TRY), clorofila-*a* (CHL) y ficocianina (PHY), asociados al metabolismo de los grupos de algas verdes y cianobacterias. Las determinaciones fluorométricas se realizaron en los laboratorios del Grupo de Ecología animal y sistemática durante la estancia doctoral, en muestras preservadas durante la operación del sistema híbrido.

Las mediciones se llevaron a cabo al disponer 5 mL de cada muestra preservada en una celda de cuarzo y leídas en un espectrofluorómetro digital Kontron Instruments SFM 25. El equipo

fue calibrado con agua bi-destilada antes de cada medición y configurado con las longitudes de onda de excitación y emisión específicas para cada compuesto según la metodología (Petersen, 1989; Gregor y Maršálek, 2005). Para la estimación de TRY se emplearon longitudes de onda de 270 nm para la excitación y 330 nm para la emisión. Para la estimación de CHL se emplearon longitudes de onda (λ) de 485 nm para la excitación y 670 nm para la emisión. Y para la estimación de PHY se emplearon longitudes de onda de 590 nm y 670 nm para la excitación y emisión respectivamente.

Adicionalmente, se realizaron estimaciones de la concentración de CHL mediante su extracción y la aplicación del método SM 10200 H (APHA *et al.*, 2017). La extracción se realizó con etanol al 95% grado analítico como solvente, en relación volumétrica de 1:1 al momento de realizarse la preservación. Posteriormente, se midió fotométricamente la absorbancia de cada muestra, a través de un espectrofotómetro digital Thermo Spectronic BioMate 3. La medición se realizó en celdas de cuarzo con 5 mL de muestra a longitudes de onda (λ) de 630 nm, 647 nm, 664 nm Y 750 nm de acuerdo con lo establecido por el Manual de métodos estándar (2017). La concentración de CHL extraída y la concentración de CHL en la muestra se calculó con la Ecuación (4) y la Ecuación (5) respectivamente, después de aplicar la corrección por turbidez al realizar las mediciones a 750 nm (APHA *et al.*, 2017).

$$C_a = 11.85 \cdot Abs_v - 1.54 \cdot Abs_w - 0.08 \cdot Abs_x \quad \text{Ecuación (4)}$$

Donde C_a : Concentración de clorofila-*a* extraída (mg/L)

Abs_v : Absorbancia con $\lambda = 664$ nm

Abs_w : Absorbancia con $\lambda = 647$ nm

Abs_x : Absorbancia con $\lambda = 630$ nm

$$Chl_a = \frac{C_a \cdot V_e}{V_m} \quad \text{Ecuación (5)}$$

Donde Chl_a : Concentración de clorofila-*a* en la muestra (mg/L)

V_e : Volumen de clorofila-*a* extraída (L)

V_m : Volumen de muestra (L)

3.5. ESTUDIO DE LA ECOLOGÍA MICROBIANA

El estudio de la ecología microbiana se realizó a partir de ensayos *in vitro* con cultivos de microalgas durante el desarrollo de la estancia doctoral en Alemania. Para los ensayos se

emplearon cultivos seriados de cepas de *Chlorella sp.* y *Spirulina sp.*, pertenecientes al grupo de investigación en Ecología animal y sistemática adscrito a la Facultad de Biología y Química de la Universidad Justus Liebig. En total se desarrollaron 57 ensayos en el periodo comprendido entre junio de 2019 y enero de 2020, con una duración de 10 días por experimento. Los cultivos fueron mantenidos en una cámara climática programada con las condiciones ambientales similares a la ciudad de Medellín (Colombia), a una temperatura media de 25 °C y una humedad relativa media del 40%. A los cultivos se le suministró luz artificial con lámparas fluorescentes Sylvania Aquastar F36W 174 10000K T8 de 1200 mm y un fotoperiodo de 12 h.

Los ensayos se llevaron a cabo en matraces de vidrio agitados a 120 rpm, en agitadores digitales IKA 501 (Ver Figura 7). Para los cultivos se empleó medio de Laurent diseñado para favorecer el crecimiento de *Spirulina* y suplementado con una solución de micronutrientes de Zarrouk (Barsanti y Gualtieri, 2014). Las composiciones del medio de Laurent, elaborado a partir de fertilizantes comerciales, y de la solución de micronutrientes de Zarrouk son detalladas en la Tabla 12 y Tabla 13. Para la experimentación, se prepararon tres cultivos diferentes a partir de las cepas disponibles, *Chlorella sp.* como algas verdes (GA), *Spirulina sp.* como cianobacterias (CY) y otro, con la mezcla de GA y CY (MC) con la intención de emular las condiciones del FTBR. Tanto los análisis para el estudio *in vitro* de la ecología microbiana, como los cultivos, se realizaron por triplicado.

El diseño experimental incluyó la evaluación del crecimiento de los cultivos de microalgas bajo condiciones de iluminancia variable y distintas combinaciones de nutrientes. Las iluminancias empleadas durante la experimentación fueron de 3000 lux, 5000 lux, 7000 lux y 10000 lux con la intención de analizar el desarrollo de los cultivos a un rango más amplio que el mantenido en el FTBR (5000 lux). Las distintas combinaciones de nutrientes, cinco en total, se resumen en la Tabla 14. A lo largo de la experimentación, se determinaron la T, el pH, la CE, los ST y los SV como variables respuesta. El análisis del crecimiento de los cultivos se desarrolló a partir de la metodología anteriormente descrita para la medición de TRY, CHL y PHY propuesta por Petersen (1989) y Gregor y Maršálek (2005). Durante la experimentación se estimuló el rompimiento de la agregación celular en cada cultivo previo a la medición de todos los parámetros, mediante sonicación con un ultrasonido digital Branson 250-D a una amplitud del 10% durante 10 segundos.

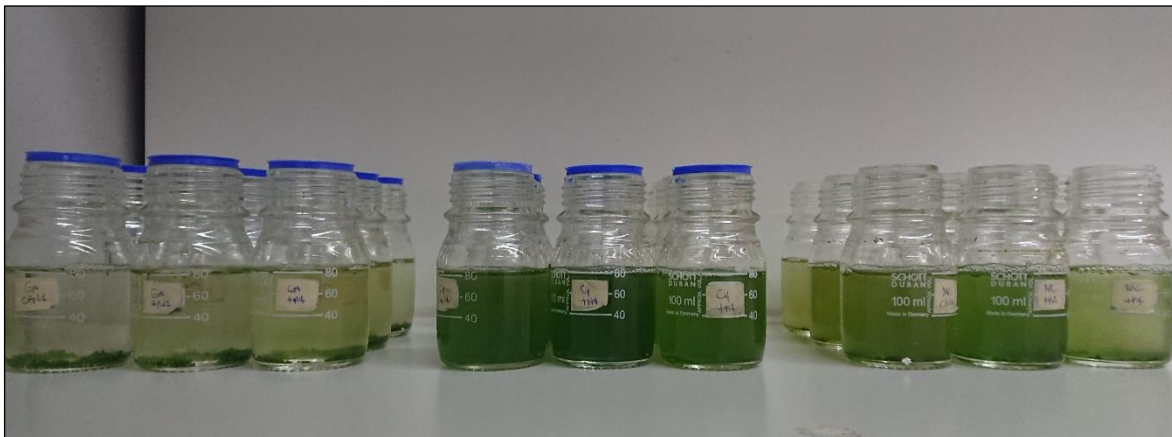


Figura 7. Cultivos de microalgas para análisis de ecología microbiana. Izquierda, cultivos con *Chlorella* sp. (GA); centro, cultivos con *Spirulina* sp. (CY) y derecha, cultivos mixtos (MC). (Imagen de fuente propia del autor)

Tabla 12. Composición del medio de cultivo de Laurent empleado para el cultivo *in vitro* de microalgas durante la experimentación*

Elemento	Cantidad	Unidades
Bicarbonato de sodio (NaHCO₃)	10.00	g/L
Sal marina (Sin refinar)	1.50	g/L
Urea (CH₄N₂O)	0.08	g/L
Fosfato monoamónico (NH₄H₂PO₄)	0.10	g/L
Sulfato de potasio (K₂SO₄)	0.30	g/L
Sulfato de magnesio (MgSO₄)	0.20	g/L
Hierro quelatado soluble (Fe)	0.01	g/L
Solución de micronutrientes de Zarrouk	1.00	mL/L

*Los elementos se expresan de acuerdo con lo establecido por el productor del fertilizante comercial. Adaptado de Barsanti, L. y Gualtieri, P. (2014). *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology* (2da ed.).

Previo a la ejecución del análisis, se elaboraron curvas de calibración con diluciones seriadas de un reactivo estándar de TRY, así como de CHL y PHY extraídas a partir de cultivos axénicos de GA y CY. Las curvas de calibración de TRY, CHL y PHY fueron elaboradas a partir de métodos fotométricos. La extracción de CHL para la preparación de la curva de calibración, se realizó en concordancia con lo establecido por APHA *et al.* (2017) como se ha mencionado anteriormente. Por su parte, la extracción de PHY para la construcción de la curva de calibración, se desarrolló al adaptar el método descrito por Moraes *et al.* (2011) y Sivasankari *et al.* (2014).

Tabla 13. Composición de la solución de micronutrientes de Zarrouk empleada para el cultivo *in vitro* de microalgas durante la experimentación

Elemento	Cantidad (g/L)
Ácido bórico (H₃BO₃)	2.86
Cloruro de manganeso tetrahidratado (MnCl₂·4H₂O)	1.81

Sulfato de zinc tetrahidratado (ZnSO₄·4H₂O)	0.22
Molibdato de sodio (Na₂MoO₄)	0.02
Sulfato de cobre heptahidratado (CuSO₄·5H₂O)	0.08

Adaptado de Barsanti, L. y Gualtieri, P. (2014). *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology (2da ed.)*.

Tabla 14. Condiciones de crecimiento empleadas para el cultivo *in vitro* de microalgas durante la experimentación

Descripción	Concentración (mg/L)	
	N	P
Control (CTR)	49.32	22.69
Suplemento de nitrógeno (+N)	149.32	22.69
Suplemento de fósforo (+P)	49.32	32.69
Suplemento mínimo de nutrientes (Min)	59.32	23.69
Suplemento máximo de nutrientes (Max)	149.32	32.69

Para la extracción de PHY, se prepararon diluciones seriadas de un cultivo de CY en matraces a los que se les agregó 10 g de perlas de vidrio con diámetros entre los 1.7 a 2.0 mm. Los matraces fueron sometidos a ultrasonificación para favorecer el rompimiento celular durante 120 min, en un baño ultrasónico Bandelin Sonorex RK 106 S a 35 kHz. El agua del baño ultrasónico fue reemplazada cada 20 min para evitar la desnaturalización térmica de la PHY. Posteriormente, se dejó decantar las muestras por 120 min y se midió la absorbancia al espectrofotómetro en celdas de cuarzo a longitudes de onda de 620 nm y 652 nm. La concentración de PHY extraída se calculó mediante la ecuación (6).

$$Phy = \left(\frac{Abs_y - 0.474 \cdot Abs_z}{5.34} \right) \cdot 1000 \quad \text{Ecuación (6)}$$

Donde *Phy*: Concentración de ficocianina extraída (mg/L)

Abs_y: Absorbancia con $\lambda = 620$ nm

Abs_z: Absorbancia con $\lambda = 652$ nm

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

A partir de la operación del sistema de tratamiento y de los ensayos *in vitro* con cultivos de microalgas, se obtuvieron familias de datos de las variables de respuesta inmediata (T, pH, CE, OD, POR). Así mismo, la operación permitió recopilar datos de las concentraciones de MO (DQO, COT) y formas de nutrientes (NTK, NH₄⁺, NO₃⁻, NO₂⁻, PT, PO₄³⁻, SO₄²⁻) en el afluente (AFL) y en los diferentes efluentes del sistema (EFL1, EFL2). Los datos de la

concentración de sólidos (ST, SV) se obtuvieron en las dos fases del tren de tratamiento (UASB, FTBR). En cuanto a la concentración de TRY, CHL y PHY únicamente se obtuvieron en el FTBR y a partir de los ensayos *in vitro* con cultivos de microalgas. La información detallada de los datos recolectados durante la operación del sistema híbrido es presentada en la Tabla 15.

A cada familia de datos se les realizó en primera instancia un análisis descriptivo exploratorio la media, mediana, varianza, desviación estándar (DE), rango, mínimo, máximo, error estándar y la curtosis. Posteriormente, se comprobó si estos cumplían con una distribución de tipo normal al aplicar la prueba de Kolmogórov-Smirnov. En los análisis estadísticos comparativos se verificó la homocedasticidad de la varianza al aplicar el método de Kruskal-Wallis. Para la validación de las hipótesis se estableció como regla de decisión un nivel de significancia del 95%. Adicionalmente se determinó la correlación estadística de las variables incluidas en la experimentación y se efectuó un análisis multivariado de componentes principales a la totalidad de los datos. Los análisis estadísticos se realizaron con la versión 3.6.1 del *software* libre R.

Tabla 15. Resumen de los datos analizados durante la operación del sistema híbrido

Variable	AFL	UASB	EFL1	FTBR	EFL2
T	223	5	230	117	80
pH	223	5	229	116	80
CE	160	5	169	57	41
OD	115	N/A	N/A	33	17
POR	N/A	5	96	18	N/A
DQO	13	N/A	14	N/A	12
COT	2	N/A	2	N/A	2
NTK	13	N/A	13	N/A	12
NH₄⁺	13	N/A	13	N/A	12
NO₃⁻	10	N/A	10	N/A	12
NO₂⁻	10	N/A	10	N/A	12
PT	13	N/A	13	N/A	12
PO₄³⁻	13	N/A	13	N/A	12
SO₄²⁻	5	N/A	5	N/A	5
ST	N/A	5	12	18	10
SV	N/A	5	12	18	10
TRY	N/A	N/A	N/A	9	N/A
CHL	N/A	N/A	N/A	9	N/A
PHY	N/A	N/A	N/A	9	N/A

T: Temperatura, CE: Conductividad eléctrica, OD: Oxígeno disuelto, POR: Potencial de óxido-reducción, DQO: Demanda química de oxígeno, COT: Carbono orgánico total, NTK: Nitrógeno total de Kjeldahl, NH₄⁺: Amonio, NO₃⁻: Nitratos, NO₂⁻: Nitritos, PT: Fósforo total, PO₄³⁻: Ortofosfatos, SO₄²⁻: Sulfatos, ST: Sólidos totales, SV: Sólidos volátiles, TRY: L-triptófano, CHL: Clorofila a, PHY: Ficocianina, N/A: No aplica.

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS

Los resultados obtenidos a partir de la operación de un sistema híbrido alimentado con un ARS doméstica, se exponen de manera ordenada a lo largo del presente capítulo. En primera instancia se presentan los resultados relevantes a la operación del sistema y la eliminación de nutrientes. En segundo lugar, se realiza el análisis de los grupos poblacionales en el FTBR y finalmente, el estudio de la ecología microbiana de los cultivos *in vitro* de microalgas.

4.1. CARACTERÍSTICAS HIDRÁULICAS DEL FOTOBIOREACTOR (FTBR)

Previo a la inoculación del sistema, la evaluación de las características hidráulicas del FTBR mediante el trazador colorimétrico evidenció un flujo no homogéneo en la vertical del reactor generado por la inyección de aire en la recirculación. Este flujo no homogéneo indujo la formación de flujos rotacionales en la columna de agua, al aumentarse la velocidad ascensional de la fracción de EFL1 (Ver Figura 8). Así mismo, el análisis matemático mediante la aplicación de los modelos de DTR y de Wolf-Resnick a partir del flujo de masa del NaCl como trazador, permitieron verificar el TRH definido para la operación del FTBR (24 h). La curva de tendencia de la concentración de NaCl como trazador en la columna de agua del FTBR se muestra en la Figura 9.

De acuerdo con lo anterior, las características hidráulicas del FTBR presentaron una dinámica no ideal intermedia entre el flujo pistón y la mezcla completa. Los resultados obtenidos a partir del modelo de Wolf-Resnick establecieron un régimen hidráulico en el FTBR en un 53% de mezcla completa y en un 47% de flujo pistón. Por esta razón, se modificó la salida de la recirculación mediante la adaptación de un distribuidor cruciforme con tubería de PVC. La implementación del distribuidor permitió hacer más uniforme la mezcla para minimizar el efecto cortante provocado por las burbujas de aire al reducir el tamaño de la burbuja y evitar un posible estrés hidrodinámico en las células microbianas (Ashok *et al.*, 2019). Adicionalmente, el análisis hidráulico del FTBR mediante el modelo de DTR se obtuvo una recuperación del trazador del 90% y un volumen útil de 50.75 L.

4.2. OPERACIÓN DEL SISTEMA

Como se ha mencionado, el sistema híbrido fue operado en dos momentos de acuerdo con la estrategia diseñada para su puesta en marcha. Primero, se operó el reactor UASB durante 121 días entre los meses de octubre de 2018 y febrero de 2019. Posteriormente, se operó el FTBR durante 124 días adicionales, entre los meses de febrero y junio de 2019. La fase experimental contó con una duración total de 245 días, bajo condiciones ambientales medias de 24.4 °C y de 65.3 % de humedad relativa (condiciones propias del laboratorio). En el

presente apartado, se hará alusión a la puesta en marcha de los sistemas que componen el tren de tratamiento y la dinámica descrita por los parámetros fisicoquímicos a lo largo de la operación del sistema híbrido. Más adelante, se analizarán las características de dichos parámetros en la columna de agua del reactor UASB y en el FTBR.



Figura 8. Análisis de las características del reactor mediante la aplicación de sangre bovina como trazador (Foto del autor)

4.2.1. Caracterización de los lodos de inóculo

Al definir la fuente del lodo para la inoculación del reactor UASB, se procedió con la recolección en recipientes limpios y eventual transporte bajo condiciones controladas con la intención de preservar sus propiedades biológicas. Una vez en el laboratorio, se tomó una muestra integrada de los recipientes para analizar las características de la muestra (Ver Tabla 16). De forma similar, la caracterización de las muestras seleccionadas para la inoculación del FTBR es presentada en la Tabla 17. Igualmente, en la Figura 10 se resumen las observaciones al microscopio más relevantes para las muestras provenientes del Jardín botánico Joaquín Antonio Uribe (JAB), en la Figura 11 para el Parque Norte J. Emilio Valderrama (PAN) y en la Figura 12 para el Parque Zoológico Santa Fe (ZSF). La

caracterización de las muestras fue realizada para evaluar las características poblacionales de las microalgas en cada sitio de muestreo y establecer las condiciones más propicias para el arranque del FTBR.

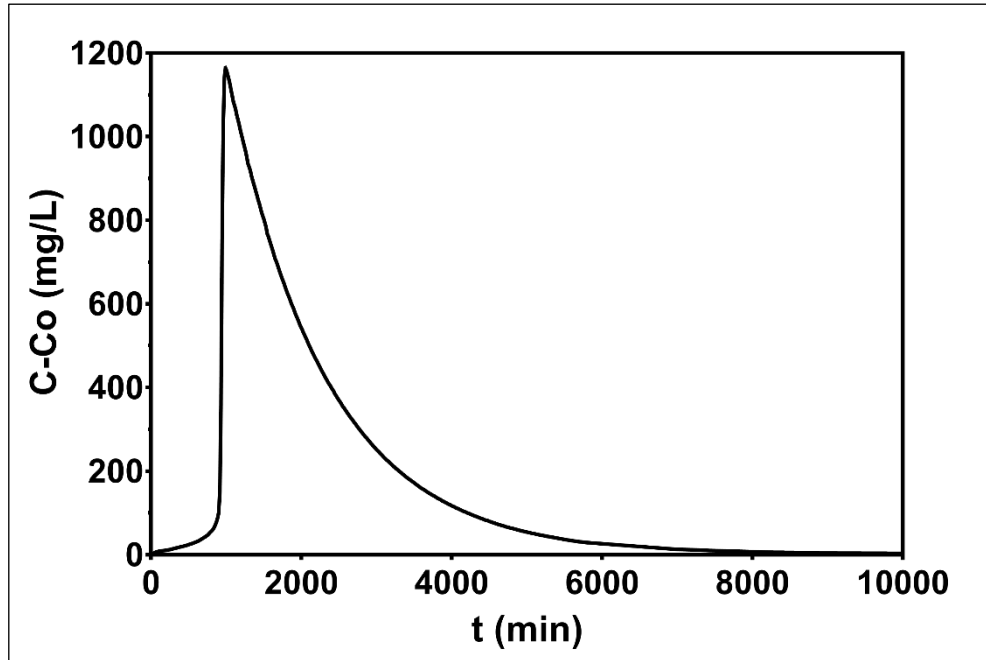


Figura 9. Curva de tendencia de la concentración de NaCl como trazador en el fotobiorreactor (t: Tiempo, C-Co: Concentración del trazador)

Las observaciones al microscopio evidenciaron una escasa presencia de microalgas en la muestra proveniente del JAB (Ver Figura 10). En la muestra del PAN se detectó materia orgánica, formación de flóculos por presuntas comunidades bacterianas y larvas de insectos (Ver Figura 11). Así mismo, los niveles de pH y la CE indicaron una baja calidad del agua lo que podría asociarse con aporte de ARs. Y, por último, en la muestra del ZSF se identificó una mayor diversidad de algas verdes, así como la presencia escasa de cianobacterias (Ver Figura 12). Dentro de los criterios de selección del lodo con mejores características para la inoculación del FTBR, se tuvieron en cuenta parámetros recomendados por Metcalf & Eddy y AECOM (2014) para la puesta en marcha de sistemas convencionales como la concentración de SV, la relación SV/ST, así como la ausencia de cianobacterias potencialmente tóxicas. Los análisis permitieron determinar que el lodo con mejores características para la puesta en marcha del FTBR era la muestra proveniente del ZSF con 420 mg SV/L, una relación SV/ST de 0.67 y mayor diversidad de grupos de algas verdes identificados.

Tabla 16. Características generales del lodo anaerobio empleado para la inoculación del reactor UASB

Parámetros fisicoquímicos	Observaciones
Temperatura (°C)	24.90
pH (unidades)	
Conductividad	
Sólidos totales (mg/L)	
Sólidos volátiles (mg/L)	
Relación SV/ST	
*Gránulos definidos	

Tabla 17. Características fisicoquímicas del agua de entrada al fotobiorreactor (FTBR)

Parámetros fisicoquímicos	JAB	PAN	ZSF
T (°C)	23.20		
pH	8.25		
CE (µS/cm)	554		
SS (mg/L)	1.2		
ST (mg/L)	312	701	622
SV (mg/L)	181	103	420
SV/ST	0.58	0.15	0.67
Color	Verde claro	Verde claro	Verde intenso

T: Temperatura, CE: Conductividad eléctrica, SS: Sólidos suspendidos, ST: Sólidos totales, SV: Sólidos volátiles, SV/ST: Relación de sólidos volátiles/Sólidos totales, JAB: Jardín botánico Joaquín Antonio Uribe, PAN: Parque Norte J. Emilio Valderrama, ZSF: Parque Zoológico Santa Fe.

4.2.2. Seguimiento del sistema híbrido

Durante la experimentación, se establecieron las características fisicoquímicas en el AFL, así como también parámetros como T, pH, CE, POR y OD en las distintas fases que componen el tren de tratamiento. Esto permitió verificar constantemente la estabilidad del sistema y evaluar las variables respuesta a lo largo de la operación. A este respecto, se preparó un resumen estadístico de las concentraciones de DQO, NTK y PT en el AFL que se presenta en la Tabla 18.

Figura 10. Observaciones al microscopio de la muestra de lodo procedente del Jardín botánico Joaquín Antonio Uribe (JAB). a. cf. *Scenedesmus acuminatus*; b.cf. *Crucigenia sp.*; c. *Selenastrum sp.*; d. cf. *Scenedesmus communis*. (Imágenes de fuente propia del autor)

Tabla 18. Resumen estadístico de las concentraciones de DQO, NTK y P en el agua residual sintética empleada durante la experimentación

Estadístico	DQO (mg O ₂ /L)	NTK (mg N/L)	PT (mg P/L)
Muestras analizadas	13	13	13
Media	628.54	63.76	8.36
Desviación estándar	±145.30	±15.25	±2.77
Mínimo	430.00	44.80	5.74
Máximo	896.00	94.90	12.70
Coefficiente de variación (%)*	23.15	23.93	33.20
Normalidad (valor-p)**	0.68	0.14	<0.05

**Variación establecida mediante coeficiente de Pearson, **Normalidad establecida mediante prueba de Kolmogórov-Smirnov. DQO: Demanda química de oxígeno, NTK: Nitrógeno total de Kjeldahl, PT: Fósforo total.*

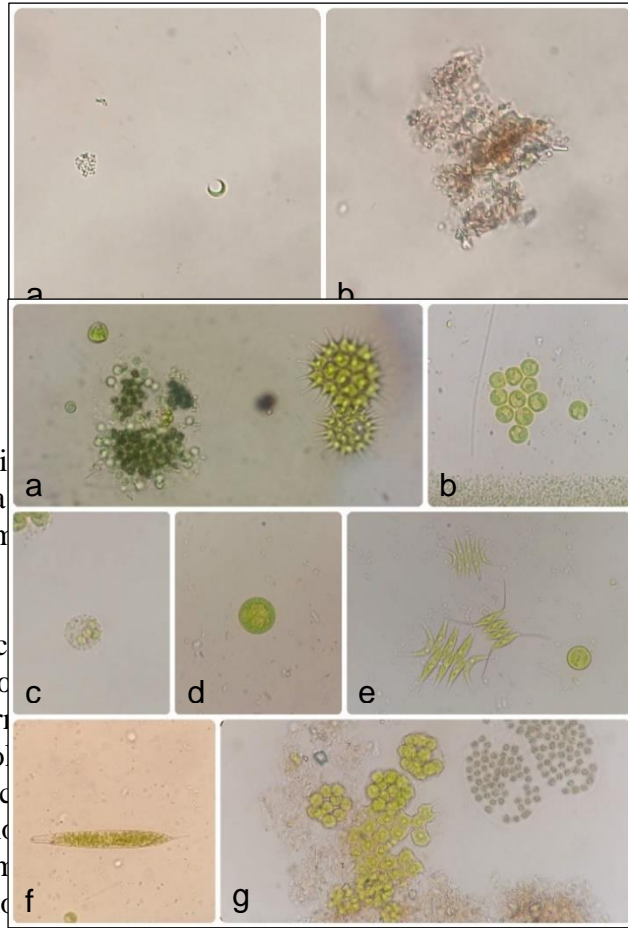


Figura 11. Observación microscópica de *Euglena* sp. (Instituto de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, 2019)

ente del Parque Norte
de materia orgánica;

En dicha tabla, las características de la distribución normal de los datos con una distribución normal a temperaturas de la solución y la solubilidad de sus componentes. Sin embargo, en la experimentación no

ben una distribución normal en el PT que no presentó preservación a bajas temperaturas (empleada) pudo afectar la distribución concentrada de la solubilidad de sus componentes durante el proceso de fermentación. Esto se debió a

que la relación de N/P en las distintas fases del sistema híbrido, se mantuvo (7.78 ± 3.13 en AFL y 7.07 ± 2.41 en EFL1) dentro de los rangos mínimos recomendados por la literatura para el desarrollo microbiano anaerobio (entre 4 y 7) y de las microalgas (entre 5 y 30) (Chernicharo, 2007; Lage *et al.*, 2021). En lo concerniente a la dispersión de las concentraciones de la DQO y el NTK en el AFL, se relacionó únicamente con el componente de aleatorización con la intención de emular las características de un ARD en una PTAR a escala real.

En cuanto a los parámetros fisicoquímicos, el análisis estadístico permitió establecer que los datos en el sistema híbrido presentaron una distribución no normal. Por esta razón, en el resumen estadístico de los parámetros fisicoquímicos en el tren de tratamiento (Ver Tabla 19) se emplea la mediana para reflejar adecuadamente las características de la operación. Como puede apreciarse en la Tabla 19, los valores de los parámetros determinados durante la operación del sistema varían en función del desplazamiento del ARS entre las diferentes fases del tren de tratamiento. Así mismo, el análisis de homocedasticidad de la varianza de dichos parámetros estableció diferencias estadísticamente significativas para todos los parámetros (T, pH, CE, POR, ST, SV, relación SV/ST) entre las fases del sistema.

Figura 12. Observaciones al microscopio de la muestra de lodo procedente del Parque Zoológico Santa Fe (ZSF). a. *Microcystis sp.* (izquierda), *Pediastrum sp.* (derecha); b. cf. *Chlorella sp.*; c. Organismo no identificable; d. cf. *Chlorella sp.*; e. *Scenedesmus acuminatus* (izquierda y superior), *Scenedesmus communis* (centro), *Chlorella sp.* (derecha); f. cf. *Euglena sp.*; g. cf. *Coelastrum sp.* (izquierda), *Microcystis sp.* (derecha), Materia orgánica (abajo). (Imágenes de fuente propia del autor)

Tanto la dinámica de los parámetros fisicoquímicos, como las diferencias estadísticamente significativas entre los mismos, corresponden a las características bioquímicas propias de cada fase del tratamiento. De forma similar, las correlaciones halladas entre estos parámetros se relacionan con las mencionadas propiedades para cada fase. La dinámica descrita por los parámetros fisicoquímicos en las diferentes fases del sistema híbrido se representa gráficamente mediante diagramas de cajas y bigotes en la Figura 13 para la T y el pH, en la Figura 14 para la CE, el POR y el OD y finalmente, en la Figura 15 para las concentraciones de ST y SV y la relación SV/ST.

Tabla 19. Resumen estadístico de los parámetros fisicoquímicos en el sistema híbrido durante la experimentación

Parámetro	AFL	UASB	EFL1	FTBR	EFL2
V (L)	475	121	N/A	51	N/A
TRH	N/A	6	N/A	24	N/A
T (°C)	22.70 (± 0.91)	24.18 (± 0.78)	23.50 (± 0.88)	25.60 (± 1.72)	24.35 (± 1.10)
pH (Unidades)	8.35 (± 0.33)	6.80 (± 0.11)	6.99 (± 0.18)	7.52 (± 0.96)	7.60 (± 0.36)
CE ($\mu\text{S/cm}$)	1478 (± 868)	1150 (± 186)	1226 (± 628)	816 (± 294)	828 (± 340)
OD ($\text{mg O}_2/\text{L}$)	6.34 (± 0.75)	N/A	N/A	5.73 (± 4.41)	4.99 (± 1.06)
POR (mV)	N/A	-299.10 (± 29.42)	-252.70 (± 40.77)	11.35 (± 71.94)	N/A
ST (mg/L)	N/A	12196 (± 11329)	648 (± 69)	1012 (± 296)	786 (± 35)
SV (mg/L)	N/A	9865 (± 7402)	179 (± 50)	494 (± 147)	236 (± 40)
SV/ST	N/A	0.85 (± 0.06)	0.28 (± 0.07)	0.46 (± 0.11)	0.30 (± 0.06)

V: Volumen, TRH: Tiempo de retención hidráulica, T: Temperatura, CE: Conductividad eléctrica, OD: Oxígeno disuelto, POR: Potencial de óxido-reducción, ST: Sólidos totales, SV: Sólidos volátiles, SV/ST: Relación de sólidos volátiles/Sólidos totales, AFL: Afluente, UASB: Reactor anaerobio, EFL1: Efluente 1, FTBR: Fotobiorreactores, EFL2: Efluente 2, N/A: No aplica.

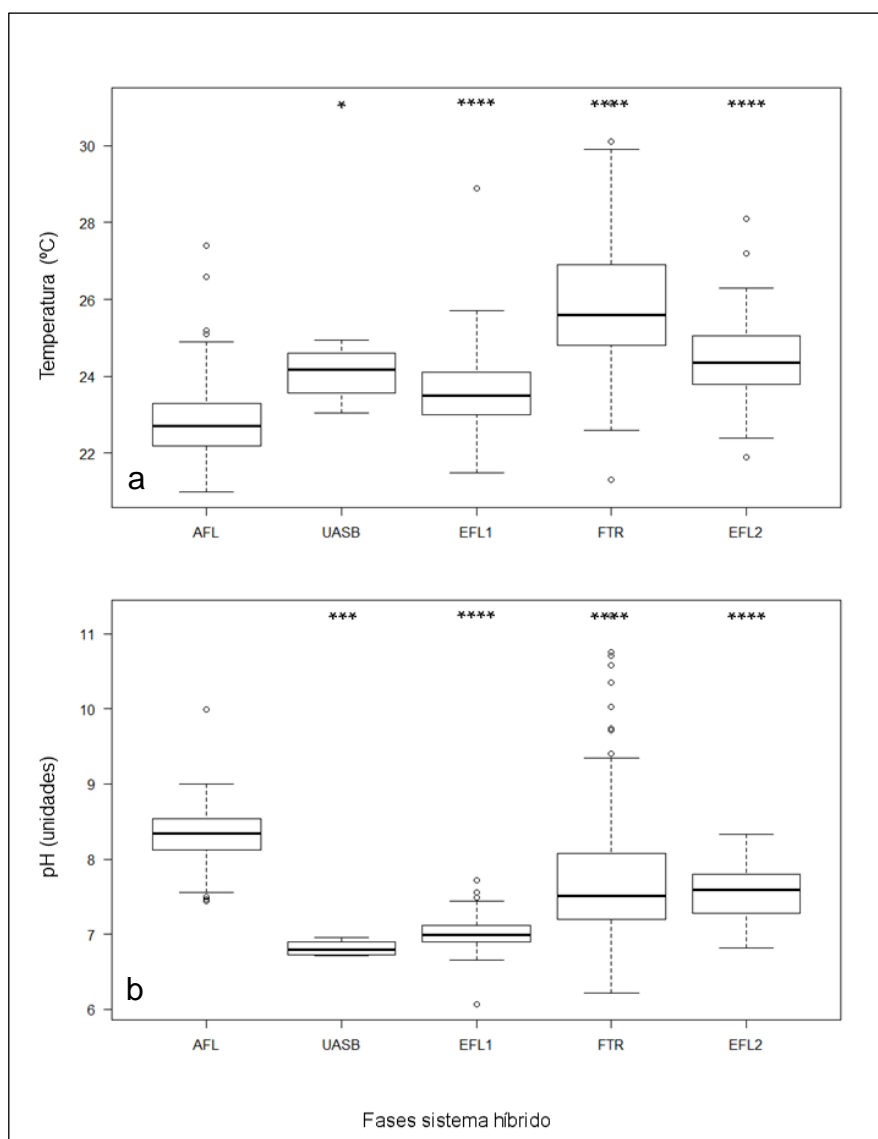


Figura 13. Dinámica de la temperatura y el pH en las fases del sistema híbrido. a. Temperatura; b. pH (AFL: Afluente, UASB: Reactor anaerobio, EFL1: Efluente 1, FTBR: Fotobiorreactores, EFL2: Efluente 2, *valor- $p \leq 0.05$, **valor- $p \leq 0.01$, *** valor- $p \leq 0.001$, ****valor- $p \leq 0.0001$).

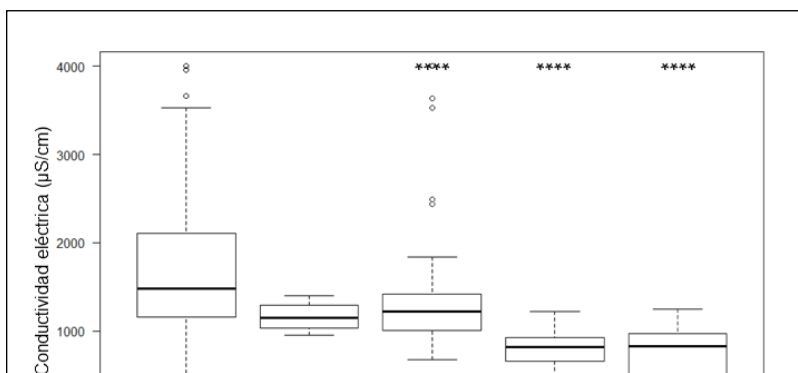
En el caso de T (Ver Figura 13a), se presentaron valores medios de 24.18 ± 0.78 °C para el reactor UASB y 25.60 ± 1.72 °C para el FTBR, cuya variación se relaciona con la entropía del sistema. Principalmente en el FTBR debido al efecto de los bombillos LED sobre la T del agua, empleados para garantizar la fuente lumínica requerida por las microalgas. Mientras que la T media en EFL1 (23.50 ± 0.88) y EFL2 (24.35 ± 1.10) fue levemente inferior (más cercana a la T ambiente). El análisis de correlación de Spearman evidenció una correspondencia inversa entre T, el pH (valor- $p < 0.0005$) y la CE (valor- $p < 0.0005$) de -0.19

y -0.22 respectivamente. Esto se relaciona principalmente con que la actividad biológica en las fases de los reactores UASB y FTBR, alteran los parámetros de pH y CE.

Como se ha mencionado, el pH del AFL fue incrementado mediante la adición de bicarbonato de sodio para amortiguar apropiadamente las reacciones bioquímicas asociadas con el metabolismo anaerobio en el reactor UASB (de hidrólisis y fermentación, principalmente). Dicha actividad biológica redujo el pH en un 84% desde 8.35 ± 0.33 unidades en el AFL, a 6.99 ± 0.18 unidades en el EFL1. Posteriormente, el pH en el FTBR se elevó hasta 7.60 ± 0.36 unidades debido al metabolismo algal. Por otra parte, se aprecia una escasa dispersión de los datos para los valores de pH en AFL, UASB, y EFL1, lo que sugiere la alcalinización apropiada del reactor UASB a lo largo de la operación. El análisis de correlación de Spearman evidenció correspondencias directas de 0.32 (valor- $p < 0.0005$) con la CE y de 0.59 (valor- $p < 0.0005$) con el POR.

Por otra parte, los valores elevados de la CE (Ver Figura 14a) en el AFL, con valor medio de 1478 ± 868 $\mu\text{S/cm}$, se debieron a la concentración de carbonatos (CO_3^{2-}) empleados como alcalinizante en el ARS. Eventualmente se redujo en el reactor UASB hasta un nivel medio de 1226 ± 628 $\mu\text{S/cm}$ en EFL1 y posteriormente a 828 ± 340 $\mu\text{S/cm}$ en EFL2 debido a las reacciones bioquímicas mediadas por las poblaciones microbianas en cada fase. Lo anterior se relaciona además con el coeficiente de correlación directa de 0.16 (valor- $p < 0.05$) con el OD en el FTBR, encontrado mediante el análisis estadístico. En lo relativo al POR (Ver Figura 14b) y al OD (Ver Figura 14c), se obtuvieron los valores más bajos en el reactor UASB y los más altos en el FTBR. Esta dinámica obedeció a la actividad biológica típica de las fases del tren de tratamiento, en las que prevalecen las condiciones reductoras bajo condiciones anaerobias y las condiciones oxidantes en ambientes aerobios.

Finalmente, la concentración de sólidos en el sistema fue más elevada en el reactor UASB como era de esperarse dadas las condiciones de operación, con valores medios de 12196 ± 11329 mg ST/L y 9865 ± 7402 mg SV/L. Mientras que la concentración media de sólidos en el FTBR fue de 1012 ± 296 mg ST/L y 494 mg SV/L. A medida que el ARS recorría el tren de tratamiento, la concentración de sólidos disminuyó en un 95% en EFL1 y un 12% en EFL2 con respecto a la concentración de ST en el reactor UASB y el FTBR respectivamente. Esto indicaría que el proceso de separación entre la biomasa y el efluente fue más eficiente en el reactor UASB que en el FTBR. Lo que estuvo relacionado, principalmente, con el potencial zeta de las microalgas libres en la columna de agua del FTBR como se ampliará más adelante en el presente capítulo. De forma similar, la relación SV/ST (Figura 15c) fue más elevada en el reactor UASB con un valor medio de 0.85 ± 0.06 y de 0.46 ± 0.11 en el FTBR.



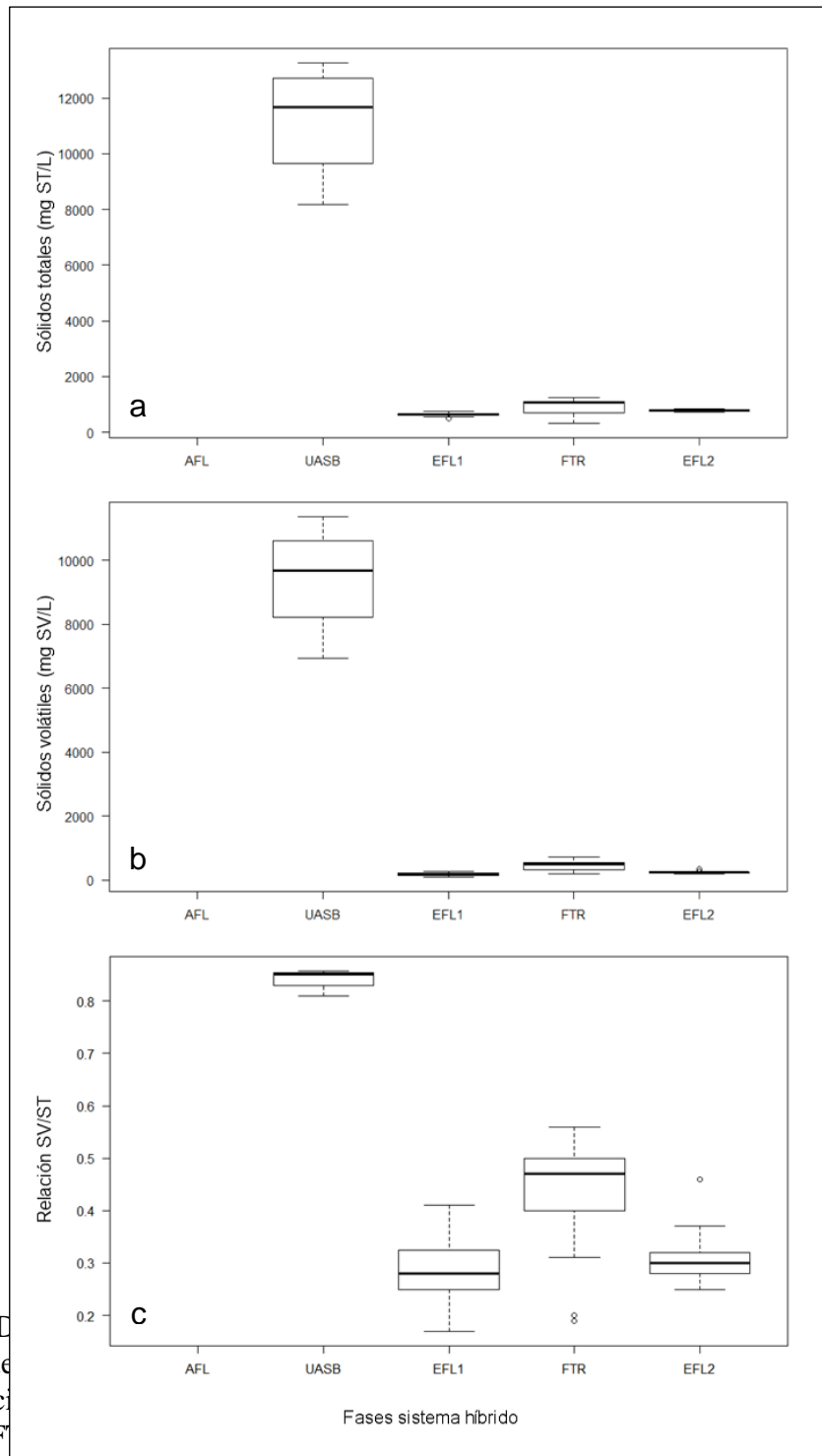


Figura 14. Distribución de los sólidos totales, sólidos volátiles y el potencial de reducción y el potencial de oxidación-reducción en las diferentes fases del sistema híbrido. EFL1: Efluente 1, FTR: Filtro de arena, UASB: Reactor de lecho floculante, AFL: Afluente. *** valor- $p \leq 0.001$, ****valor- $p \leq 0.0001$).

reducción y el potencial de oxidación-reducción en las diferentes fases del sistema híbrido. EFL1: Efluente 1, FTR: Filtro de arena, UASB: Reactor de lecho floculante, AFL: Afluente. *** valor- $p \leq 0.01$, ****valor- $p \leq 0.0001$).

Figura 15. Dinámica de los sólidos en las diferentes fases del sistema híbrido. a. Sólidos totales; b. Sólidos volátiles; c. Relación Sólidos volátiles/Sólidos totales (AFL: Afluyente, UASB: Reactor anaerobio, EFL1: Efluente 1, FTBR: Fotobiorreactores, EFL2: Efluente 2).

4.2.3. Seguimiento del reactor anaerobio

La estimación de variables fisicoquímicas en el reactor UASB, permitió ajustar oportunamente su operación para adaptar del lodo granular anaerobio a las nuevas

condiciones de operación. El ajuste en la operación con que la escala de construcción del reactor, con una relación altura/diámetro (h/d) de 7, estuvo sobredimensionada en comparación con la escala de diseño. A este respecto, la literatura no aporta información relevante para las condiciones óptimas de operación de acuerdo con la relación h/d, sino más bien, en función del diámetro del reactor (Chernicharo, 2007). Sin embargo, se ha podido establecer que relaciones h/d altas permiten la operación de reactores con flujo ascendente a velocidades ascensionales (V_{as}) elevadas (Bassin, 2018). Debido a que el objetivo principal de la investigación estaba enfocado principalmente en el funcionamiento del FTBR, los ajustes realizados a la operación del reactor UASB no serán abordados a profundidad en el presente documento.

Las condiciones de operación ajustadas para el reactor UASB permitieron disminuir la alta acumulación de biogás en la parte inferior del sistema, debido a la compactación del lodo anaerobio, asociado con una expansión deficiente del manto (Schmidt y Ahring, 1996). Por lo tanto, se favoreció la sedimentación del lodo en la zona de reacción del reactor y se evitó que fuera lavado del sistema (Hamoda y van der Berg, 1984). Luego, se aumentó gradualmente la carga orgánica (L) del reactor hasta alcanzar las concentraciones propuestas inicialmente dentro del alcance de los objetivos. Durante la experimentación, el reactor UASB fue alimentado con valores de carga medias de L de 298 g DQO/d, 30 g NT/d y 4 g PT/d, así como con una carga orgánica másica (L_m) media de 0.26 g DQO/g SV·d.

En cuanto al análisis estadístico de la distribución de los datos recopilados durante la operación del reactor UASB, se estableció que los parámetros presentaron una distribución no normal. En el resumen estadístico de los parámetros fisicoquímicos (Ver Tabla 20), puede apreciarse la variación de los parámetros fisicoquímicos a través de la vertical del reactor desde la Z1 a la Z6 (Ver Figura 16). Esto concuerda con el modelo hidráulico de flujo pistón evaluado para el reactor, de acuerdo con la evaluación hidráulica realizada previa a la experimentación (datos no incluidos en el presente documento). El análisis de homocedasticidad de la varianza de los parámetros establecidos para la T, el pH, la CE y el POR no estableció diferencias estadísticamente significativas entre las zonas del reactor UASB. Mientras que, para la concentración de sólidos (ST, SV) y la relación SV/ST, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las zonas del reactor.

Tabla 20. Resumen estadístico de los parámetros fisicoquímicos en las diferentes zonas del reactor UASB durante la experimentación

Parámetro	Zona de reactor UASB					
	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Z6
V (L)	19.82	13.38	13.54	13.38	18.16	34.35
TRH	1.00	0.68	0.68	0.68	0.92	1.73
T (°C)	25.10 (±0.98)	24.90 (±0.81)	24.10 (±0.78)	24.20 (±0.78)	24.00 (±0.65)	24.00 (±0.85)
pH (Unds)	6.95 (±0.25)	6.82 (±0.26)	6.75 (±0.27)	6.76 (±0.26)	6.84 (±0.06)	6.83 (±0.06)
CE (µS/cm)	1108 (±1409)	1183 (±1381)	1185 (±1384)	1161 (±1371)	1229 (±184)	1230 (±205)
POR (mV)	-311.40 (±13.79)	-309.55 (±23.48)	-297.55 (±15.86)	-300.65 (±53.64)	-218.00 (±63.75)	-203.75 (±10.51)
ST (g/L)	24.29 (±7.13)	23.84 (±12.05)	26.22 (±6.94)	21.12 (±13.08)	2.17 (±7.09)	0.67 (±0.39)
SV (g/L)	21.24 (±4.42)	20.92 (±8.78)	23.39 (±4.27)	18.60 (±9.94)	1.57 (±6.33)	0.14 (±0.32)
SV/ST	0.86 (±0.07)	0.81 (±0.07)	0.87 (±0.07)	0.87 (±0.22)	0.58 (±0.34)	0.22 (±0.18)
%SV	37.55 (±11.68)	18.20 (±9.10)	26.96 (±9.40)	16.13 (±10.75)	14.26 (±20.25)	0.94 (±1.03)

V: Volumen, TRH: Tiempo de retención hidráulica, T: Temperatura, Unds: Unidades, CE: Conductividad eléctrica, OD: Oxígeno disuelto, POR: Potencial de óxido-reducción, ST: Sólidos totales, SV: Sólidos volátiles, SV/ST: Relación de sólidos volátiles/Sólidos totales, %SV: Biomasa.

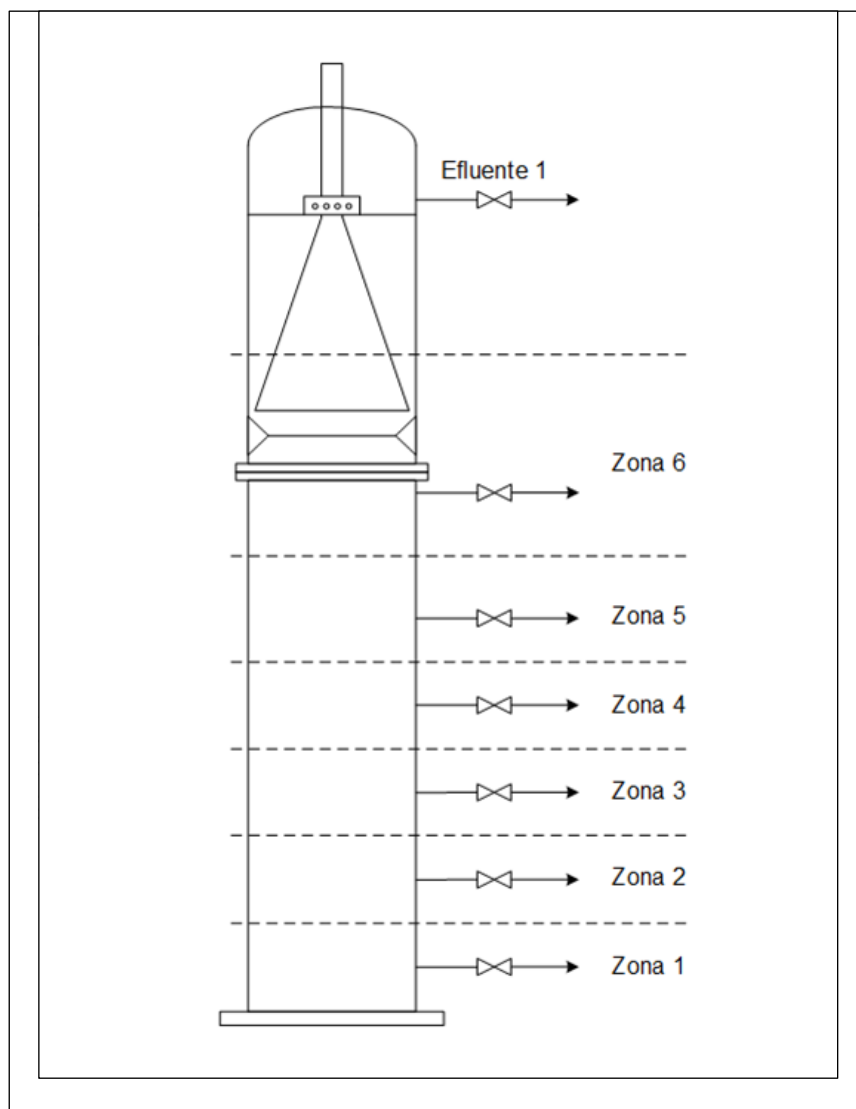


Figura 16. Distribución zonal de la columna de agua en el reactor UASB

Las dinámicas descritas por la T, pH, CE y POR en las diferentes zonas del reactor UASB, se ilustran en la Figura 15 y en la Figura 15. Los parámetros de T, pH y CE presentaron una dinámica similar al POR. La T (Ver Figura 17a) varió en función de la concentración de sólidos en cada zona del reactor y se registraron los niveles más altos (25.10 ± 0.98 °C) en el lecho del lodo (Z1). Esto podría estar relacionado con el equilibrio termodinámico y la actividad metabólica del lodo en esta sección, debido a que es la zona con mayor disponibilidad de MO al estar más cercana a la alimentación del reactor. El coeficiente de correlación de 0.63 (valor- $p < 0.005$) entre la T y la CE fortalece esta hipótesis, aunque los datos recopilados no son del todo concluyentes. Los valores más bajos de T se presentaron hacia la Z6 debido a la entropía del sistema. A pesar de la variación de la T, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las zonas del reactor UASB.

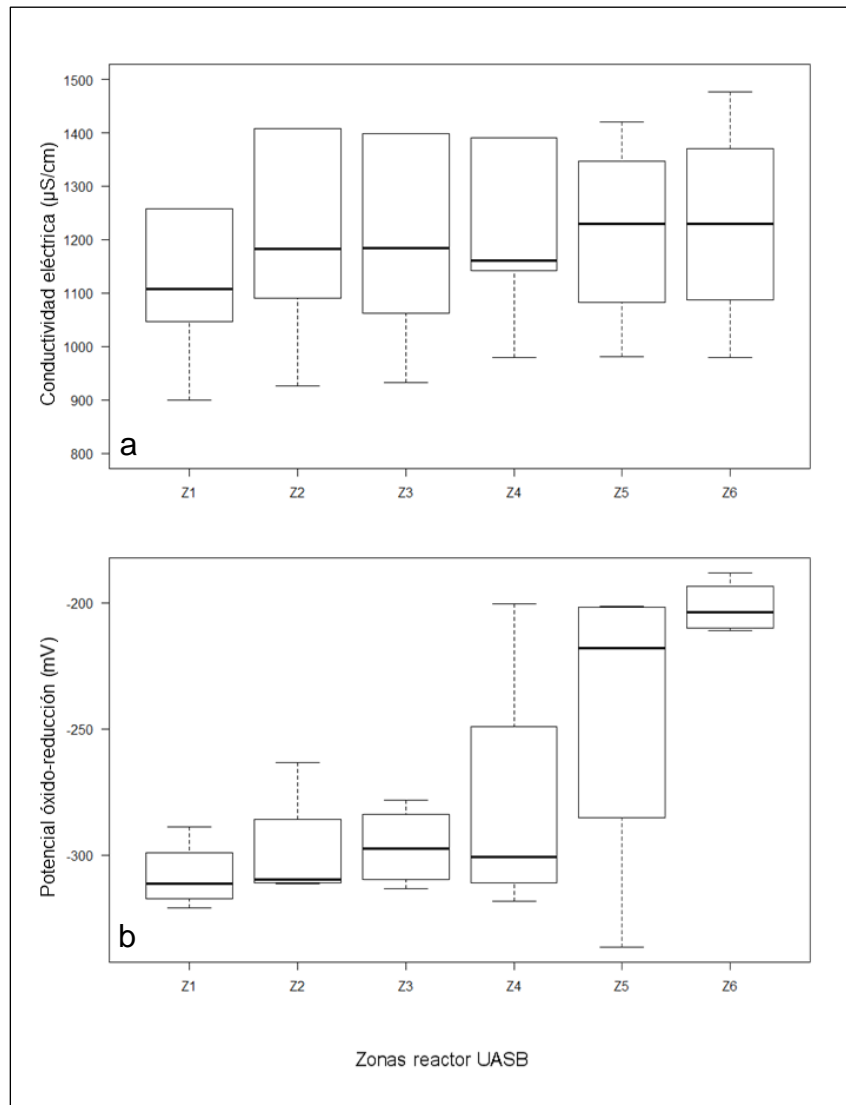


Figura 17. Dinámica de la temperatura y el pH en las diferentes zonas del reactor UASB. a. Temperatura; b. pH

El pH (Ver Figura 17b) disminuyó un 83% en Z1 con respecto al AFL y alcanzó una mediana de 6.95 ± 0.25 unidades debido a la degradación de la MO en AGV que acidificaron el ARS. La dinámica del pH en las diferentes zonas del reactor UASB variaron en función de la relación SV/ST y presentó en Z3 la mediana más baja registrada de 6.75 ± 0.27 unidades lo que indica mayor actividad biológica en este compartimento. A este respecto, se encontró una correlación de -0.38 (valor- $p < 0.05$) entre el pH y la relación SV/ST. Eventualmente, el pH aumentó levemente a través de la columna de agua hasta presentar un valor de 6.83 ± 0.6 unidades en Z6. Por otra parte, el pH presentó además un coeficiente correlación de Spearman de 0.47 (valor- $p < 0.05$) con el POR.

Figura 18. Dinámica de la conductividad eléctrica y el potencial de óxido-reducción en las diferentes zonas del reactor UASB. a. Conductividad eléctrica; b. Potencial de óxido-reducción

La CE (Ver Figura 18a) presentó el valor más bajo en Z1 debido a las reacciones bioquímicas mediadas por la biomasa y aumentó levemente de forma gradual hacia las zonas superiores del reactor. Esta dinámica de la CE se relaciona con la concentración de iones (CO_3^{2-} , $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^-$, NH_4^+ , PO_4^{3-}) presentes en el ARS, la cual puede variar en la columna de agua de acuerdo con los procesos biológicos que se desarrollan en cada zona (Le Bonté *et al.*, 2008). Con este respecto, el análisis estadístico de los datos no evidenció diferencias estadísticamente significativas para la CE en las diferentes zonas del reactor UASB.

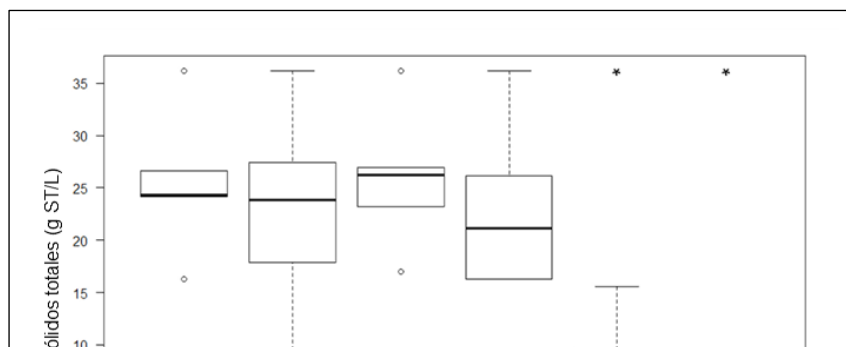


Figura 19. Dinámica de los sólidos en las diferentes zonas del reactor UASB. a. Sólidos totales; b. Sólidos volátiles; c. Relación Sólidos volátiles/Sólidos totales (*valor- $p \leq 0.05$, **valor- $p \leq 0.01$, *** valor- $p \leq 0.001$, ****valor- $p \leq 0.0001$).

En lo relacionado con las concentraciones de ST y SV determinadas en las diferentes zonas del reactor UASB durante la experimentación, así como la relación SV/ST, se presentan en la Figura 19. A partir de la dinámica descrita por los sólidos en los diagramas de cajas y

bigotes, se distinguen las diferentes secciones del reactor UASB al ser alimentado con un ARS. El lecho del lodo se ubicó entre Z1 y Z3 (concentración media de 19.79 g SV/L), el manto del lodo entre Z4 y Z5 (concentración media de 10.24 g SV/L) y finalmente, la clarificación hacia Z6 (concentración media de 0.29 g SV/L). La variación de la concentración de biomasa en las zonas evidenció diferencias estadísticamente significativas tanto para los SV, como para los ST (valor- $p < 0.05$ para ambos casos). Las cuales se relacionan con las características hidráulicas del flujo pistón en el reactor UASB. Ahora bien, a pesar de que se alcanzó una clarificación media del 95% de los ST en el reactor (concentración media de 17.51 g ST/L), se pudo evidenciar cómo la acumulación de biogás incidió sobre la sedimentación del lodo.

Sin embargo, la relación media de SV/ST en Z6, de 0.22 ± 0.18 , indica que la mayor parte de los ST en abandonar el reactor UASB correspondían a material inerte. Principalmente, si se tiene en cuenta la relación media SV/ST del lodo entre Z1 y Z4 de 0.87, lo que indica mayor actividad biológica y a su vez, una mejor sedimentabilidad. De acuerdo con Schmidt y Ahring (1996), la cantidad de cenizas boyantes en el efluente de reactores anaerobios de flujo ascendente está determinada por la naturaleza del AR, la producción de biogás y la V_{as} . Tanto la resuspensión de lodo provocada por la acumulación de biogás, como el contenido de cenizas en EFL1, afectaron la remoción de MO en el reactor UASB como se discutirá más adelante. En cuanto a la correlación con otros parámetros, se encontraron coeficientes de Spearman entre los ST y SV con el POR de -0.63 y -0.59 respectivamente (ambas con valor- $p < 0.05$). Esto evidenció las condiciones reductoras durante la operación, que aumentaron gradualmente en la columna de agua en función de las reacciones bioquímicas de cada sección del reactor.

4.2.4. Seguimiento del fotobiorreactor

A lo largo de la operación del FTBR, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas para la mayoría de los parámetros fisicoquímicos determinados en sus diferentes zonas, de la FTBR1 a la FTBR3 (Ver Figura 20). El análisis de homocedasticidad de varianza únicamente estableció diferencias significativas para la concentración de SV y la cantidad de biomasa (%SV) en la columna de agua. El resumen estadístico de los parámetros fisicoquímicos determinados en las diferentes zonas del FTBR, se relaciona en la Tabla 21. Adicionalmente, el diseño del FTBR fue ajustado para tratar una fracción del EFL1 (0.11Q) para garantizar un TRH de 24 h con un flujo de alimentación continua de 2.10 L/h. Así mismo, el FTBR presentó una relación h/d de 6 y una V_{as} calculada de 13.85 m/h, lo que se debió a la tasa de recirculación elevada para favorecer la mezcla en la columna de agua durante la experimentación.

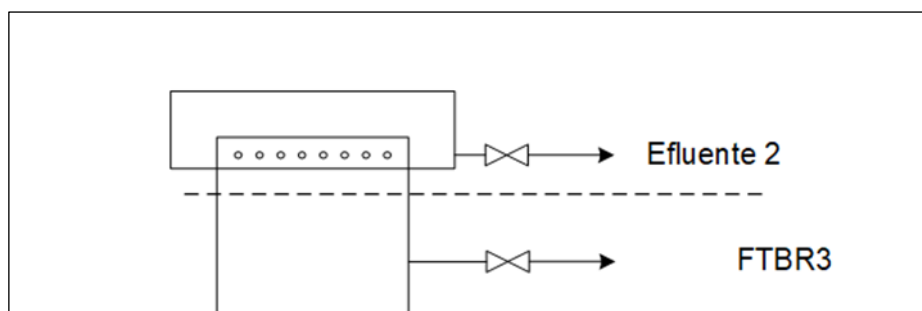


Figura 20. Distribución zonal de la columna de agua en el fotobiorreactor

La dinámica descrita por los parámetros fisicoquímicos en FTBR1, FTBR2 y FTBR3 se representan gráficamente mediante diagramas de cajas y bigotes para la T y el pH en la Figura 21, para la CE, el POR y el OD en la Figura 22 y para los ST, los SV y SV/ST en la Figura 23. Los datos recopilados para las diferentes fases del FTBR presentaron en su mayoría, una distribución no normal excepto los ST y la relación SV/ST.

Como se mencionó anteriormente, la T (Figura 21a) estuvo determinada por la pérdida de energía del sistema de iluminación en el FTBR y alcanzó los valores más altos en FTBR1 y una leve disminución hacia la vertical de la columna de agua. Esta variación se relacionó con el equilibrio termodinámico entre el agua y las burbujas de aire inyectadas a través de la recirculación. Lo anterior se corrobora con el coeficiente de correlación encontrado entre la T y el OD de 0.63 (valor- $p < 0.005$). Adicionalmente, el análisis estadístico permitió establecer correlaciones de Spearman entre la T y el pH de 0.34 (valor- $p < 0.05$).

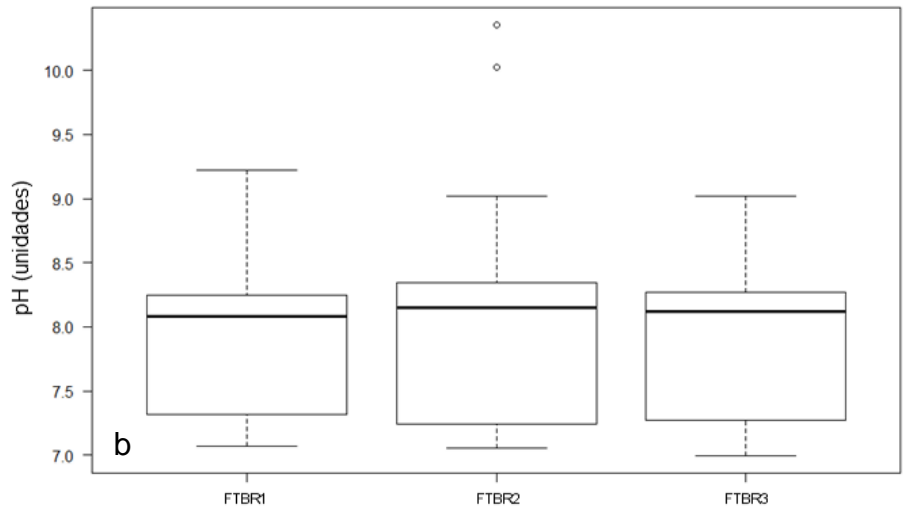
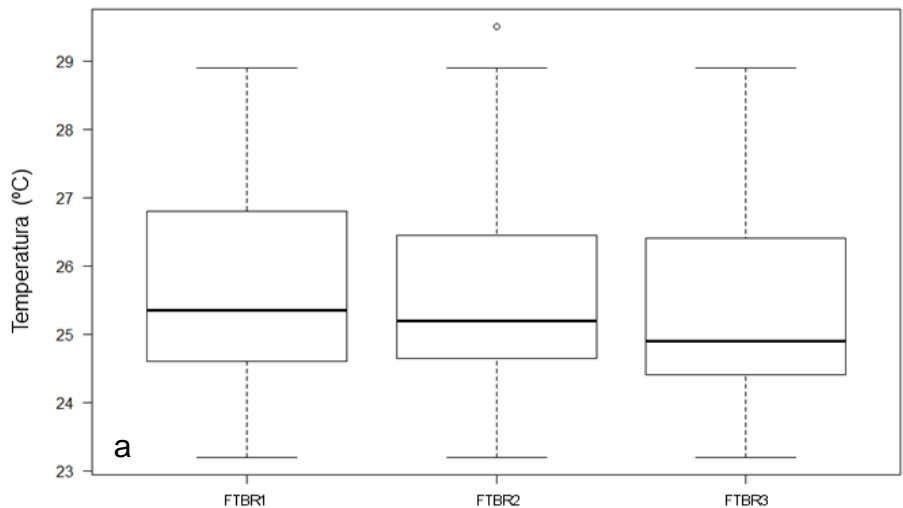
Tabla 21. Resumen estadístico de los parámetros fisicoquímicos en las diferentes zonas del fotobiorreactor durante la experimentación

Parámetros fisicoquímicos	Zonas del fotobiorreactor		
	FTBR1	FTBR2	FTBR3
V (L)	16.78	12.92	13.72
TRH (h)	7.91	6.09	6.47

T (°C)
 pH (U
 CE (μ
 POR
 OD (g
 ST (n
 SV (n
 SV/S'
 Biom
 V: V
 Cond
 Sólido
 totale

En lo r
 la conc
 propor
 pH est
 ser la z
 Eventu
 por las
 y el OI
 0.42 (v

La CE
 mayor
 se pres
 biomas
 0.57 (v
 remine
 se evid
 oxidati



Zonas fotobiorreactor

.65)
 68)
 23)
 8.41)
 54)
 06)
 27)
 10)
 .53)
 , CE:
 ón, ST:
 Sólidos

lada con
 rsamente
 ives de
 levada al
 r UASB.
 nsumido
 tre el pH
 e ST de -

entar una
 más bajos
 ca de la
 de ST de
 perse a la
 al POR,
 el estado

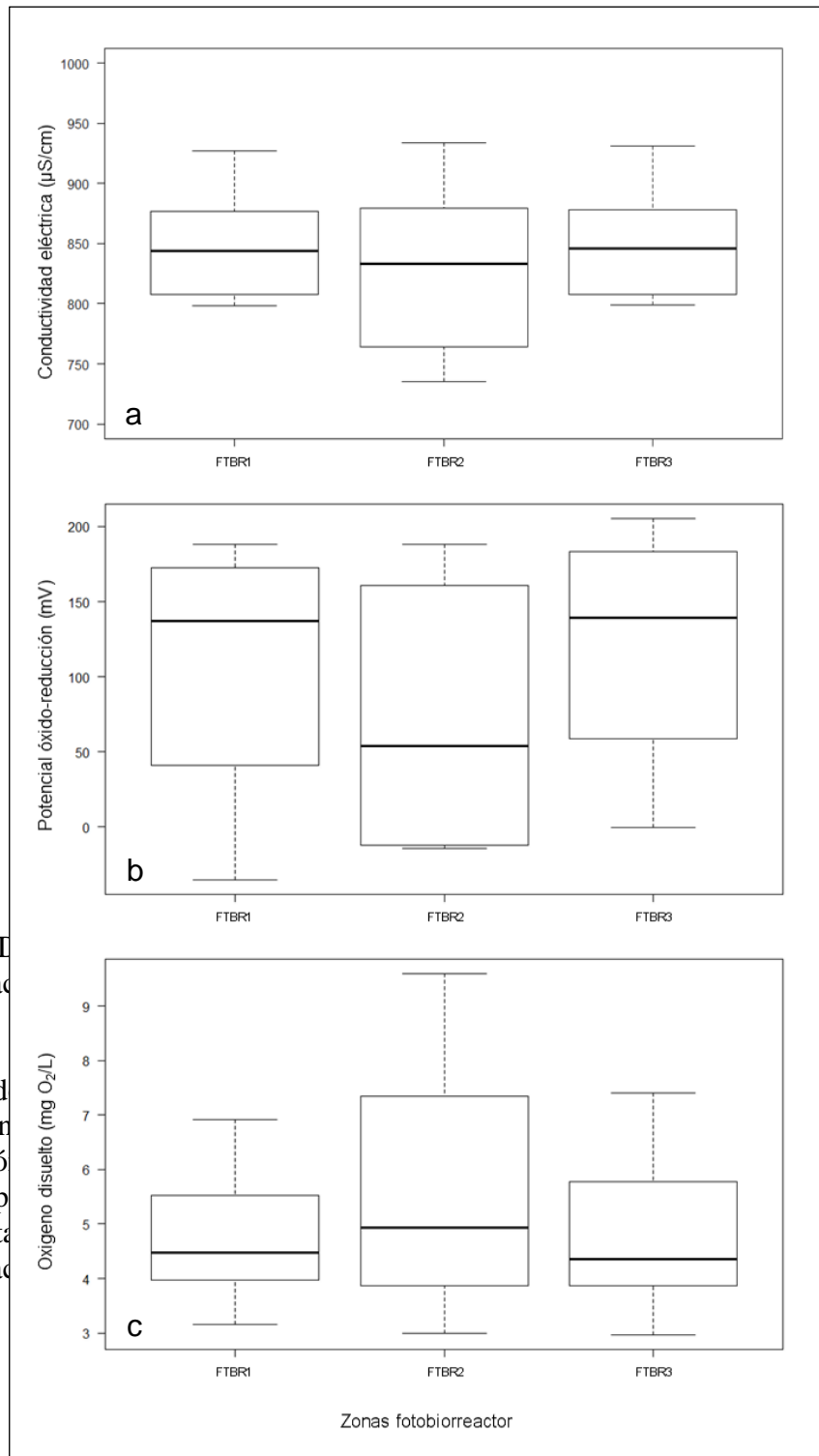


Figura 21. D

Por otro lado, se relacionó principalmente con la concentración de oxígeno disuelto (Ver Figura 23a), como puede verse en las respuestas experimentales.

or durante la

se relacionó con las zonas con la biomasa afectó durante la

Figura 22. Dinámica de la conductividad eléctrica, el potencial de óxido-reducción y el oxígeno disuelto en las zonas del fotobiorreactor durante la experimentación. a. Conductividad eléctrica; b. Potencial de óxido-reducción; c. Oxígeno disuelto

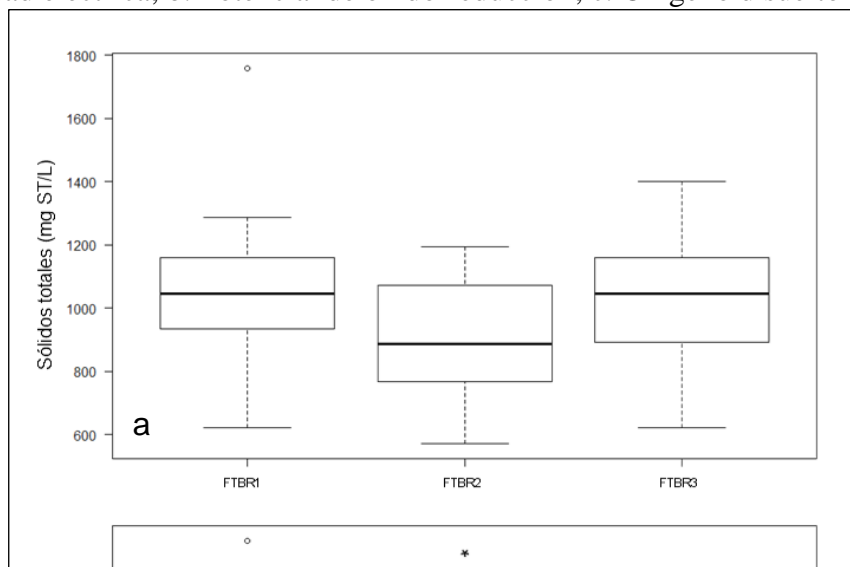


Figura 23. Dinámica de la concentración de sólidos en las zonas del fotobiorreactor durante la experimentación. a. Sólidos totales; b. Sólidos volátiles; c. Relación SV/ST (*valor- $p \leq 0.05$, **valor- $p \leq 0.01$, ***valor- $p \leq 0.001$, ****valor- $p \leq 0.0001$). fenómeno. También, la relación SV/ST media (Ver Figura 23c) presentó los niveles más elevados en FTBR3. Este comportamiento podría estar asociado con los flujos rotacionales generados por el aire aportado en la recirculación (sistema *airlift*) ubicado desde la parte inferior del sistema y que generaban un flujo turbulento que mantenían en suspensión a la biomasa. De otro lado, la relación de SV/ST en FTBR1 y FTBR2 tuvo comportamiento similar, lo que estaría relacionado con la capacidad para la agregación celular por parte de las microalgas y la producción de sustancias poliméricas extracelulares (o EPS por sus siglas en inglés) o metabolitos secundarios. Sin embargo, los resultados obtenidos en la presente investigación no aportan suficiente evidencia científica para corroborar esta hipótesis.

4.3. RENDIMIENTO DEL SISTEMA HÍBRIDO

Como se mencionó anteriormente, los diferentes parámetros para evaluar el rendimiento del sistema híbrido (DQO, COT, NTK, NH_4^+ NO_2^- , NO_3^- , PT, PO_4^{3-} y SO_4^{2-}) se analizaron con una frecuencia semanal una vez terminaron las diferentes fases de adaptación. El rendimiento del sistema se determinó a partir de la diferencia en la concentración de nutrientes entre el afluente y el efluente del tren de tratamiento. Posteriormente, se realizó un análisis estadístico y se estableció que las formas de nutrientes presentaron una distribución no normal a lo largo del sistema. En la Tabla 22 y Tabla 23 se presentan de forma respectiva el resumen estadístico y la desviación estándar (DE), para las eficiencias medias en cada fase del sistema híbrido, así como los diferentes parámetros establecidos.

Tabla 22. Eficiencias medias de remoción (sistema híbrido alimentado con un agua residual sintética*).

	UASB	FTBR	Sistema híbrido
Materia orgánica (%)	80.17 (± 7.00)	69.14 (± 13.14)	94.03 (± 2.55)
Nitrógeno (%)	22.08 (± 13.31)	20.93 (± 30.86)	33.59 (± 27.76)
Fósforo (%)	10.23 (± 22.74)	7.73 (± 30.05)	10.66 (± 42.91)

**Eficiencias de remoción calculadas a partir de la DQO (mg/L) para la materia orgánica, el NTK (mg/L), NO_3^- (mg/L), y NO_2^- (mg/L) para el nitrógeno y el y PT (mg/L) para el fósforo.*

4.3.1. Remoción de materia orgánica

Como puede apreciarse a partir de la Figura 24, el consumo más elevado de MO se presentó en el reactor anaerobio, con un $80.17 \pm 7.00\%$ en términos de DQO, en concordancia con el diseño inicial del sistema híbrido. De acuerdo con la literatura, esta remoción de MO fue levemente superior en comparación con otros reactores anaerobios de alta tasa operados bajo condiciones similares (Khan *et al.*, 2011; Stazi y Tomei, 2018). A este respecto, es necesario mencionar que la fracción de cenizas presentes en el EFL1 (648 ± 69 mg ST/L) pudieron afectar la remoción de MO en el reactor UASB, debido a que los análisis se desarrollaron a partir de la DQO total. Adicionalmente, la producción de biogás no fue determinada a lo largo de la operación como se ha mencionado con anterioridad, mientras que el contenido medio de CH_4 fue del $78 \pm 2\%$.

Tabla 23. Resumen estadístico de los parámetros para evaluar el rendimiento del sistema híbrido alimentado con agua residual sintética

Parámetro	AFL	EFL1	EFL2
DQO (mg/L)	627.54 (± 129.96)	124.48 (± 51.41)	42.37 (± 18.15)
COT (mg/L)	161.50 (± 38.39)	45.60 (± 17.11)	10.95 (± 0.49)
NTK (mg/L)	63.76 (± 13.64)	48.88 (± 8.70)	9.07 (± 6.78)
NH ₄ ⁺ (mg/L)	2.61 (± 1.14)	40.35 (± 6.78)	4.42 (± 6.24)
NO ₂ ⁻ (mg/L)	0.03 (± 0.18)	0.03 (± 0.11)	13.38 (± 15.31)
NO ₃ ⁻ (mg/L)	0.11 (± 0.10)	0.11 (± 0.26)	23.43 (± 23.02)
PT (mg/L)	8.36 (± 2.48)	7.64 (± 2.28)	8.48 (± 2.55)
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	7.81 (± 2.02)	7.66 (± 1.86)	7.71 (± 2.61)
SO ₄ ²⁻ (mg/L)	18.85 (± 7.20)	8.50 (± 4.09)	35.48 (± 6.58)

DQO: Demanda química de oxígeno, **COT:** Carbono orgánico total, **NTK:** Nitrógeno total de Kjeldahl, **NH₄⁺:** Amonio, **NO₃⁻:** Nitratos, **NO₂⁻:** Nitritos, **PT:** Fósforo total, **PO₄³⁻:** Ortofosfatos, **SO₄²⁻:** Sulfatos.

Posteriormente, la MO continuó fue consumida en un $69.14 \pm 13.14\%$ adicional, lo que podría estar relacionado con la presencia de asociaciones bacterianas en el FTBR o a un cambio metabólico de las poblaciones de algas (Bhushan *et al.*, 2019). Dadas las condiciones de operación en el FTBR, en cuanto a la disponibilidad nutricional, capacidad lumínica, fotoperiodo y la alta concentración de OD (4.99 ± 1.06), se podría especular que el consumo adicional de MO pudo deberse a la actividad bacteriana. Sin embargo, la información recopilada durante la investigación no es del todo concluyente a este respecto. El análisis de homocedasticidad de la varianza estableció diferencias estadísticamente significativas en el consumo de MO para cada fase del sistema híbrido durante la experimentación. Adicionalmente se encontró que la variación de la T afectó inversamente al consumo de MO tanto el reactor UASB, como en el FTBR, al presentar coeficientes de correlación de -0.58 y -0.57 (valor- $p < 0.05$) respectivamente. La remoción conjunta de MO en las fases que integraron el sistema híbrido tuvo un valor medio del $94.03 \pm 2.55\%$ y un valor máximo del 96.12% .

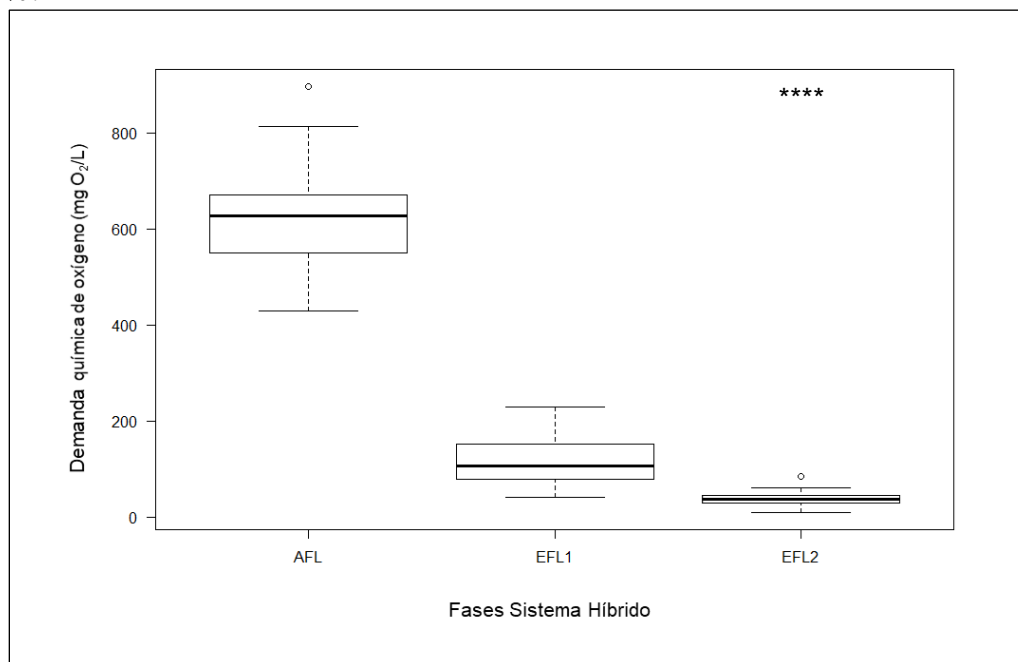
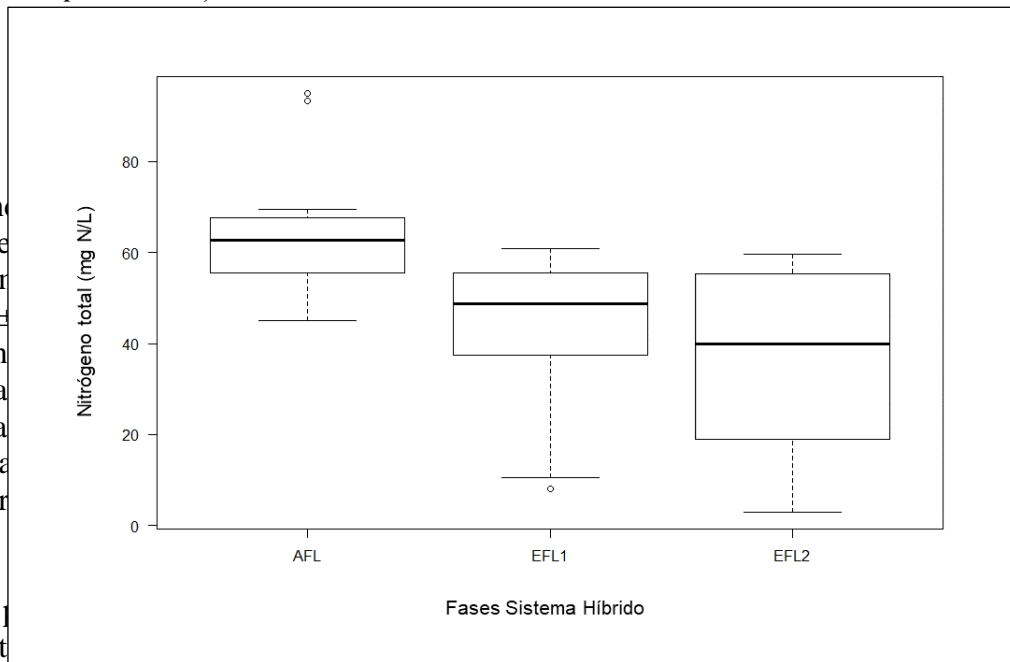


Figura 24. Dinámica de la demanda química de oxígeno en las diferentes fases del sistema híbrido durante la experimentación. (*valor- $p \leq 0.05$, **valor- $p \leq 0.01$, ***valor- $p \leq 0.001$, ****valor- $p \leq 0.0001$)

4.3.2.

El rendimiento (NT) es . Corriente 63.97± eliminada podría ser escasa respiración (Gerar

De la p durante



o total y NO₂⁻ fuero de en una anterior, temperatura es os a la 50:7:1

erobio prior al

consumo teórico), se relaciona con la amonificación del N orgánico en el reactor UASB que alcanzó una media del 86.19±21.90%. De lo anterior, se encontró como en otros estudios, que el NH₄⁺, es la forma de N más fácilmente asimilable por los organismos procariontas en ambientes acuáticos (Dodds y Whiles, 2010). Un coeficiente de correlación de Spearman de 0.63 (valor- $p < 0.05$) entre la amonificación y la eficiencia de remoción de N en el reactor UASB, fortalece esta hipótesis. También, a este respecto, autores como Grady *et al.* (2011) señalan que la amonificación está determinada por la tasa de utilización del NH₄⁺ en el sistema de tratamiento. Sin embargo, esta relación es más evidente en procesos de lodos activados para la remoción de N a partir de AR, en donde la transformación de N orgánico en NH₄⁺ puede determinar la tasa de nitrificación en el proceso (Berrio-Restrepo, 2018).

Figura 25. Dinámica del nitrógeno total en las diferentes fases del sistema híbrido durante la experimentación.

Por otro lado, en relación con la mineralización en exceso del N orgánico en el reactor UASB, investigadores dentro de los que se destaca Strock (2008), mencionan que es un fenómeno frecuente en ecosistemas microbianos y que no obedece a la demanda por parte del proceso. Posteriormente, la acumulación de NH_4^+ será eventualmente aprovechado por otros componentes que forman parte del sistema. No obstante, la información relacionada con los mecanismos que regulan el proceso de amonificación en el ciclo del N es escasa. Así mismo, Grady *et al.* (2011) agregan que la relación de C:N presente en el AR también puede afectar la cantidad de N orgánico amonificado en los sistemas para el tratamiento de AR. En este sentido, no se evidenció una correlación apreciable a partir del análisis estadístico de los datos.

En cuanto al consumo del N en el FTBR, la concentración media de NT en el EFL2 fue de 42.20 ± 17.16 mg N/L, lo que representó un rendimiento medio del $20.93 \pm 30.86\%$ y alcanzó un rendimiento máximo del 94.45%. Este consumo medio de N podría considerarse menor en comparación con resultados obtenidos por investigadores como Godos *et al.* (2009) del 77% en lagunas de alta tasa (o HRAP, por sus siglas en inglés) y por M. Zhang *et al.* (2020) del 70% en un FTBR de membrana, alimentados con concentraciones de N similares (59 mg N/L y 47 mg N/L, respectivamente). Sin embargo, dichos rendimientos para la eliminación de N se obtuvieron con TRHs más elevados (10 d y 3 d, respectivamente) en comparación con el empleado en la presente investigación (1 d).

De igual modo, se podría inferir a partir de la dispersión de los datos en la DE que la eficiencia en el sistema para la remoción del nutriente fue irregular a lo largo de la operación. Dicha irregularidad pudo estar relacionada con el aporte de nutrientes a partir de la acumulación de biomasa en el sedimentador del FTBR (Ver Figura 26) a lo largo de la experimentación. En la sección 4.2.3 del presente documento se ampliará la discusión al respecto. Por otra parte,

no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas a partir del análisis de varianza entre los diferentes rendimientos en el FTBR.



Figura 26. Detalle de biomasa acumulada en la parte baja del fotobiorreactor durante la experimentación. (Imagen de fuente del autor)

En lo relacionado con la transformación del N, la amonificación alcanzó un valor medio adicional del $68.99 \pm 18.47\%$ del N orgánico que ingresaba al FTBR en el EFL1. Si bien esta amonificación fue menor que en el reactor UASB en un $17.20 \pm 3.43\%$, se considera que la disminución en la tasa de transformación obedeció principalmente a la abundancia de NH_4^+ en la columna de agua del FTBR. De forma similar, la mineralización del N orgánico presentó coeficientes de correlación de 0.86 y 0.83 (valor- $p < 0.05$) con la DQO y la relación C:N en el EFL1 respectivamente. Adicionalmente, pudieron establecerse concentraciones medias de NO_x^- en el EFL2 de 33.13 ± 18.19 mg N/L, lo que indica que el NH_4^+ fue nitrificado en el FTBR debido a la disponibilidad de oxígeno. La nitrificación media del NH_4^+ en el FTBR fue del $88.69 \pm 14.76\%$ y fue afectada por la concentración de PT en el FTBR, de acuerdo con el coeficiente de correlación de Spearman de 0.70 (valor- $p < 0.05$). Dicha afectación podría estar vinculada con los requerimientos energéticos y nutricionales de P por parte de las poblaciones microbianas para la asimilación de N en el FTBR.

De acuerdo con Glibert *et al.* (2016), el NH_4^+ es la fuente preferida de las microalgas en ecosistemas acuáticos debido a los bajos requerimientos energéticos para su asimilación en comparación con el NO_3^- como fuente de N. A pesar de lo anterior, se puede inferir a partir

Figura 27. Dinámica del fósforo total en las diferentes fases del sistema híbrido.

Adicionalmente, el análisis estadístico de los datos permitió establecer una correlación de 0.59 (valor- $p < 0.05$) entre la eficiencia de remoción de la MO y el P orgánico (PoliP) en el AFL del sistema. Esta disponibilidad de PoliP podría representar una mayor asimilación de P por parte de las células, al hacer más eficiente la fosforilación del sustrato para su transporte a través de la membrana celular. Así mismo, esta mayor asimilación de P representaría un aumento en la eficiencia energética de las células y la acumulación de polifosfatos en el citoplasma como fuente de energía disponible (B. H. Kim y Gadd, 2008).

La disminución de PoliP de 1.03 ± 1.84 mg/L en el AFL a 0.45 ± 1.54 mg/L en el EFL1 podría soportar esta hipótesis, aunque se requiere mayor evidencia científica que permita corroborarlo. De forma similar, se encontró una relación de 0.62 (valor- $p < 0.05$) entre el PoliP en el AFL y el consumo de P en el reactor UASB a lo largo de la operación, de lo que se infiere que la disponibilidad de PoliP en el AR podría favorecer la metabolización del AR por parte de las poblaciones microbianas en el reactor UASB, que puede evidenciarse según lo ilustrado en la Figura 28, a partir de la relación entre la fracción de PoliP en el ARS y la eficiencia de remoción del sistema para la MO, el N y el P.

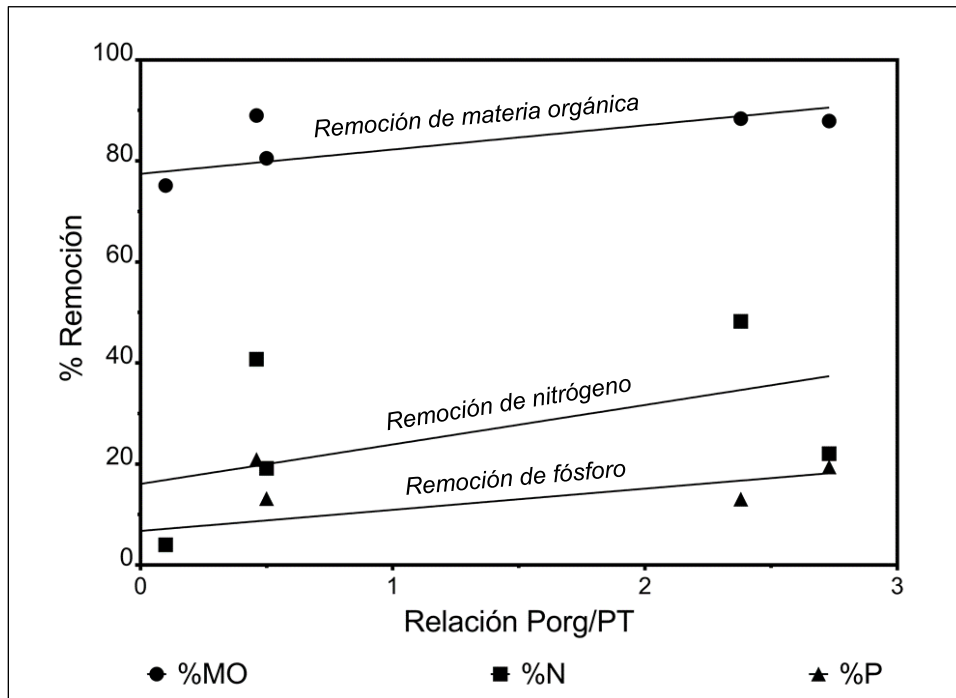


Figura 28. Relación entre la fracción de fósforo orgánico en el agua residual sintética y la eficiencia de remoción en el reactor UASB.

Es necesario aclarar que la concentración de P orgánico se determinó mediante la diferencia entre las concentraciones de PT y los fosfatos (PO_4^{3-}). De acuerdo con la APHA et al. (2017), los análisis de PT incluyen especies de P como los polifosfatos y el fósforo orgánico, además del PO_4^{3-} . Por esta razón y debido a que no se determinaron analíticamente las concentraciones de P ácido hidrolizable durante la experimentación, se hace referencia a esta diferencia como PoliP en términos genéricos. En este orden de ideas, es recomendable un análisis complementario que incluya la determinación de las formas de P en reactores anaerobios de alta tasa para tener mayor claridad al respecto.

En segunda instancia, el rendimiento medio para la remoción de P en el FTBR fue de $7.73 \pm 30.05\%$, con un rendimiento máximo del 51.67%. La concentración media de PT en el EFL1 aumentó de 7.64 ± 2.28 mg/L a 8.48 ± 2.55 mg/L en el EFL2. En relación con lo anterior, Nurdogan y Oswald (1995) evidenciaron un consumo reducido de P por parte de las poblaciones de microalgas en HRAPs empleados para el tratamiento de aguas residuales. Así mismo y análoga a la remoción de N, la eficiencia para la eliminación de PT fue menor en comparación con el 10% obtenido en un HRAP con un TRH de 10 d (Godos *et al.*, 2009). Mientras que en un FTBR de membrana se alcanzaron remociones del 45% con un TRH de 2 d y del 67% con un TRH de 3 d a un TRS de 20 d para ambos casos (M. Zhang *et al.*, 2020). Cabe aclarar que el rendimiento del PT en el FTBR de membrana se obtuvo al emplear tanto un TRH, como un TRS más elevado en comparación con la presente investigación (TRH de 1 d, TRS de 2 d) a concentraciones de PT influente similares.

Es necesario señalar, que el consumo de P en el FTBR presentó una dinámica irregular de acuerdo con la amplia dispersión de los datos, la cual fue superior a la media estadística en un 389%. Esto estaría relacionado principalmente con un aporte de nutrientes a partir de la remineralización de la biomasa acumulada en el sedimentador del FTBR, dispuesto en su parte inferior. Dicho planteamiento puede fundamentarse en un aumento en la concentración de nutrientes en el EFL2 con respecto al EFL1, la cual fue del 111% para el PT (Ver Figura 27) y del 317% para los SO_4^{2-} (Ver Figura 29). El incremento o superávit encontrado, sugiere que la concentración de nutrientes en la vertical del FTBR, especialmente para el P y S, aumentó a lo largo de la experimentación.

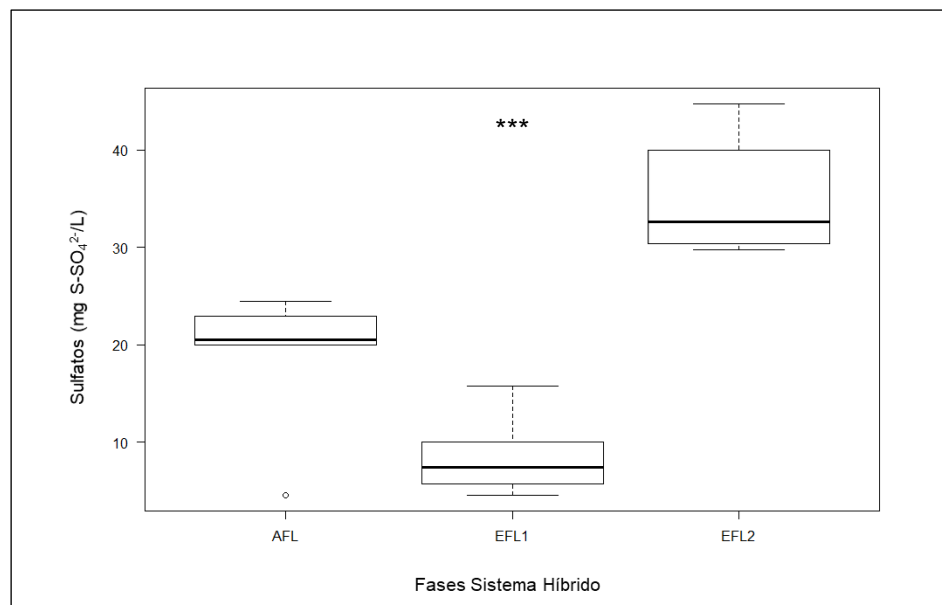


Figura 29. Dinámica de los sulfatos en las diferentes fases del sistema híbrido durante la experimentación (*valor- $p \leq 0.05$, **valor- $p \leq 0.01$, ***valor- $p \leq 0.001$, ****valor- $p \leq 0.0001$).

Con relación a lo anterior, Wetzel (2001) menciona que la actividad microbiana en los sedimentos de cuerpos de agua lénticos pueden favorecer la liberación de PO_4^{3-} . Posteriormente, estas especies alcanzan los estratos superiores de la columna de agua, fenómeno que se incrementa a medida que la concentración de SO_4^{2-} aumenta. A este respecto, las correlaciones entre la eficiencia de remoción de P y la concentración de la DQO de -0.78 (valor- $p < 0.05$) y el NT de -0.73 (valor- $p < 0.05$) en el EFL1 indican que la actividad microbiana de origen bacteriano pudo afectar la eliminación de P en el FTBR. Los resultados obtenidos sugieren que el aporte constante de nutrientes por parte del sedimentador afectó principalmente el rendimiento para su eliminación y no necesariamente el TRH reducido del AR en el FTBR, como se propuso previamente.

4.4. BALANCE DE MASA

Los balances de masa en el sistema se desarrollaron a partir de los análisis de las diferentes formas de nutrientes (DQO, NTK, NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- , PT, PO_4^{3-} , SO_4^{2-}) en el AFL y EFL, así como los flujos de alimentación de las fases que conformaron el tren de tratamiento. En el presente apartado se plantearán los modelos desarrollados para el balance parcial de masa en el reactor UASB y el FTBR, así como el balance general del sistema híbrido. El desarrollo matemático de cada balance a lo largo del periodo de experimentación es presentado en el Anexo 1.

4.4.1. Balance parcial de masa

Los balances parciales de masa en el sistema híbrido se determinaron a partir de las cargas de nutrientes afluentes y efluentes en las fases que conformaron el tren de tratamiento. Lo anterior, con la intención de analizar la dinámica descrita por los contaminantes a lo largo de la experimentación. Las cargas de nutrientes fueron determinadas de acuerdo con el flujo de entrada para el reactor UASB (Q) y del FTBR, el cual fue una fracción del caudal de

operación ($0.11 \cdot Q$) en estado estacionario. En los cálculos para ambas fases se despreciaron recirculaciones, debido a que el reactor UASB carecía de ellas y la del FTBR era una recirculación interna. Las cargas de entrada (CED) y salida (CSD) para el reactor UASB y el FTBR, se calcularon mediante la Ecuación (7) y Ecuación (8). La carga removida (CRD) en el reactor UASB y el FTBR, fue calculada mediante la Ecuación (9) y Ecuación (10). Y finalmente, la eficiencia de remoción en cada fase fue calculada mediante la Ecuación (11). Las cargas medias para cada fase determinadas a lo largo de la experimentación se presentan en la Tabla 24.

$$CED_{UASB} \text{ o } CSD_{UASB} = (Q \cdot C) \cdot FC \quad \text{Ecuación (7)}$$

$$CED_{FTBR} \text{ o } CSD_{FTBR} = [(0.11 \cdot Q) \cdot C] \cdot FC \quad \text{Ecuación (8)}$$

$$CRD_{UASB} = CED_{UASB} - CSD_{UASB} \quad \text{Ecuación (9)}$$

$$CRD_{FTBR} = CED_{FTBR} - CSD_{FTBR} \quad \text{Ecuación (10)}$$

$$\%RD_{UASB} \text{ o } \%RD_{FTBR} = \left(\frac{CRD_{UASB} \text{ o } CRD_{FTBR}}{CED_{UASB} \text{ o } CED_{FTBR}} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación (11)}$$

Para la Ecuación (7), Ecuación (8), Ecuación (9), Ecuación (10) y Ecuación (11) se tiene que:

CED_{UASB} : Carga de entrada al reactor UASB de la forma en estudio (g/d)

CSD_{UASB} : Carga de salida del reactor UASB de la especie en estudio (g/d)

CED_{FTBR} : Carga de entrada al fotobiorreactor de la forma en estudio (g/d)

CSD_{FTBR} : Carga de salida del fotobiorreactor de la especie en estudio (g/d)

Q : Caudal (L/h)

C : Concentración de la especie en estudio (mg/L)

FC : Factor de conversión a unidades de g/d

CRD_{UASB} : Carga removida o transformada por el reactor UASB (g/d)

CRD_{FTBR} : Carga removida o transformada por el fotobiorreactor (g/d)

$\%RD_{UASB}$: Eficiencia de remoción del reactor UASB

$\%RD_{FTBR}$: Eficiencia de remoción del fotobiorreactor

Los balances parciales de masa permitieron establecer, en primera instancia, un consumo medio en el reactor UASB de $239.24(\pm 60.19)$ g DQO/d, de $7.11(\pm 5.52)$ g NT/d y de $0.34(\pm 0.77)$ g P/d. Como se ha mencionado anteriormente, el consumo de MO es concordante con lo reportado por la literatura para sistemas anaerobios con condiciones de operación similares (Khan *et al.*, 2011; Stazi y Tomei, 2018). Por otro lado, el consumo medio de N en la fase anaerobia fue superior en un 149% lo que podría estar relacionado, además de la amonificación, con los niveles de pH en el AFL de acuerdo con un coeficiente de Spearman de -0.57 (valor- $p < 0.05$) con el consumo de NT en el sistema.

En adición con lo anterior, se encontró una correlación -0.73 (valor- $p < 0.05$) entre el pH en el AFL y el consumo de NH_4^+ en el reactor UASB. Es necesario aclarar que dicho consumo adquiere un valor negativo debido a que el N es transformado en exceso a NH_4^+ por las comunidades microbianas como ha sido discutido previamente en la sección anterior. A este respecto, Levine *et al.* (2011) argumentan que la volatilización del NH_4^+ se presenta cuando el pH presenta valores superiores a 8.5. Esto podría sugerir que el pH no solo afecta el desarrollo de las arqueas metanogénicas (Gerardi, 2003), sino que también el consumo de nutrientes por parte de las poblaciones heterótrofas en procesos anaerobios. Sin embargo, los resultados obtenidos en la presente investigación no aportan suficiente evidencia para corroborar esta hipótesis. Es importante mencionar que, a la fecha, no se han reportado consumos de nutrientes en reactores anaerobios bajo condiciones de operación similares a las empleadas durante esta investigación.

Tabla 24. Cargas medias y balance parcial de masa determinados en las fases que integran el sistema híbrido

Parámetro	CED_{UASB}	CSD_{UASB}	CRD_{UASB}	$\text{CED}_{\text{FTBR}}^{**}$	CSD_{FTBR}	CRD_{FTBR}
DQO (g/d)	298.44	59.20	239.24	6.26	1.97	4.29
NTK (g/d)	30.32	23.25	7.08	2.23	0.40	1.83
NH_4^+ (g/d)*	1.24	19.19	-17.95	1.72	0.20	1.52
Norg (g/d)*	29.47	4.38	25.10	0.80	0.23	0.57
NO_2^- (g/d)*	0.00	0.00	0.00	0.00	0.51	-0.51
NO_3^- (g/d)*	0.00	0.00	0.00	0.00	0.91	-0.91
NT (g/d)	30.42	23.31	7.11	2.24	1.83	0.41
PT (g/d)	3.97	3.63	0.34	0.37	0.36	0.01
PO_4^{3-} (g/d)	3.71	3.64	0.07	0.42	0.39	0.03
PoliP (g/d)	1.51	0.49	0.22	0.01	0.03	-0.02
SO_4^{2-} (g/d)	8.96	4.04	4.92	0.35	1.79	-1.43

*Las cargas máxicas de N se expresan como N-NXx. **La carga de entrada al fotobiorreactor fue derivada a partir del efluente del reactor UASB en 0.11Q. CED_{UASB} : Carga de entrada al reactor UASB diaria, CSD_{UASB} : Carga de salida diaria del reactor UASB, CRD_{UASB} : Carga removida o transformada en el reactor UASB diariamente, CED_{FTBR} : Carga de entrada diaria al fotobiorreactor, CSD_{FTBR} : Carga de salida diaria del fotobiorreactor, CRD_{FTBR} : Carga removida o transformada en el fotobiorreactor diariamente. T: Temperatura, CE: Conductividad eléctrica, OD: Oxígeno disuelto, POR: Potencial de óxido-reducción, DQO: Demanda química de oxígeno, COT: Carbono orgánico total, NTK: Nitrógeno total de Kjeldahl, NH_4^+ : Amonio, NO_3^- : Nitratos, NO_2^- : Nitritos, PT: Fósforo total, PO_4^{3-} : Ortofosfatos, PoliP: Polifosfatos, SO_4^{2-} : Sulfatos.

En segunda instancia, se estableció un consumo de $4.29(\pm 2.93)$ g DQO/d, de $0.41(\pm 0.83)$ g NT/d y de $0.01(\pm 0.08)$ g PT/d en el FTBR. A este respecto, autores como Jiménez-Pérez *et al.* (2004) han reportado consumos de 83.67 mg N/L·d y de 20.83 mg P/L·d en cultivos a escala de laboratorio de *Scenedesmus intermedius* en cámaras de incubación. Así mismo, Lu *et al.* (2015) reportaron consumos de 88.88 mg DQO/L·d, de 38.34 mg NT/L·d y de 2.03 mg P/L·d en cultivos de *Chlorella sp.* en fotobiorreactores con concentraciones de biomasa similares a las empleadas durante la experimentación. Mientras que Nguyen *et al.* (2021) obtuvieron consumos medios de 15.51 mg N/L·d y de 1.82 mg P/L·d en un FTBR de membrana empleando cultivos de *Chlorella vulgaris*.

Es importante mencionar que la información relacionada con el consumo de nutrientes por parte de cultivos de microalgas es escasa. En diversas investigaciones se han encontrado resultados que únicamente tuvieron en cuenta la remoción de nutrientes en términos de NH_4^+ para el N y de PO_4^{3-} para el P (Dickinson *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2020; Couto *et al.*, 2021). En la presente investigación, se evidenciaron eficiencias de remoción en términos de NH_4^+ del $83\pm 15\%$ y del $11\pm 22\%$ para el PO_4^{3-} , los cuales son similares para el NH_4^+ en comparación con lo obtenido en otras investigaciones. Sin embargo, debido a la naturaleza compleja de la operación del sistema y las características ecosistémicas en el mismo, dichos resultados no son del todo concluyentes.

Si bien los consumos de nutrientes en el FTBR (84.53 ± 57.73 mg DQO/L·d, 8.08 ± 16.36 mg NT/L·d, 0.20 ± 1.58 mg PT/L·d) fueron menores que los reportados por los autores anteriormente mencionados, se hace necesario aclarar que los experimentos emplearon cepas de microalgas axénicas con tasas de remoción elevadas y cultivos a escalas menores (0.8 L, 1.3 L y 4 L respectivamente). En comparación con los resultados encontrados por Nguyen *et al.* (2021), los resultados obtenidos a partir de la operación del FTBR son bastante similares. Principalmente, si se tiene en cuenta que los autores en mención emplearon un TRS igual al aplicado durante la presente investigación (2 d). Por su parte, Lu *et al.* (2015) reportaron consumos de 41.31 mg DQO/L·d, de 6.58 mg NT/L·d y de 2.74 mg PT/L·d en cultivos de *Chlorella sp.* en fotobiorreactores de 40 L. Esto significaría un consumo mayor en el FTBR en términos de la MO y el N, mientras que fue menor para el P. Como se ha discutido ampliamente en el presente documento, se considera que la remineralización de la biomasa sedimentada en el FTBR afectó el rendimiento de nutrientes como el N y el P en el sistema, lo que puede apreciarse a partir de las cargas transformadas con valor negativo (NO_2^- , NO_3^- , PoliP, SO_4^{2-}) en la Tabla 22.

Por otro lado, a partir de los balances parciales de masa se determinó la dinámica de las distintas especies de nutrientes analizadas durante la experimentación en las fases que integraron el tren de tratamiento. De acuerdo con las estimaciones calculadas, se estableció el rendimiento medio para la eliminación de C, N y P en el reactor UASB y el FTBR a lo largo de la experimentación. Los rendimientos determinados para el C (en términos de

DQO), N (en términos de NTK, NH_4^+ , N orgánico, NO_2^- y NO_3^-) y P (en términos de PT) son compilados en la Tabla 25 y corresponden con lo discutido previamente.

Tabla 25. Eficiencias medias de remoción determinadas a partir del balance parcial de masa para cada fase del sistema híbrido durante la experimentación

Nutriente	%RD _{UASB} (DE)	%RD _{FTBR} (DE)
C	79.96 (± 7.91)	60.99 (± 30.87)
N	22.01 (± 13.21)	17.87 (± 31.55)
P	6.91 (± 21.89)	6.69 (± 28.88)

C: Carbono, N: Nitrógeno, P: Fósforo, %RD: Eficiencia de remoción diaria, DE: Desviación estándar.

4.4.2. Balance general de masa

Para el balance general de masa se consideró el tren de tratamiento como una única unidad, en concordancia con lo planteado por Levenspiel (2004). El balance general se calculó a partir de las cargas de entrada y salida de las formas de nutrientes en el sistema híbrido. Las cargas fueron determinadas a partir del flujo de entrada (Q) en el AFL, la derivación interna del flujo ($0.11 \cdot Q$) en EFL1 y salida (EFL2) del mismo. Las cargas en el AFL, EFL1 y EFL2 se calcularon mediante la Ecuación (7) y Ecuación (8). La carga removida por el sistema fue calculada con la Ecuación (12) y la eficiencia de remoción se calculó de acuerdo con la Ecuación (13). Las cargas medias para los nutrientes de interés durante la alimentación del sistema híbrido con un ARS y el balance general se resumen en la Tabla 26.

$$CRD = CED - (CSD_{UASB} + CSD_{FTBR}) \quad \text{Ecuación (12)}$$

$$\%RD = \left(\frac{CED - CSD_{FTBR}}{CED} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación (13)}$$

Para la Ecuación (12) y la Ecuación (13) se tiene que:

CRD: Carga removida o transformada en el sistema (g/d)

CED: Carga de entrada al sistema de la forma en estudio (g/d)

CSD_{UASB}: Carga de salida de la especie en estudio en el EFL1 (g/d)

CSD_{FTBR}: Carga de salida de la especie en estudio en el EFL2 (g/d)

%RD: Eficiencia de remoción del sistema

La determinación de los diferentes balances generales de masa permitió establecer las cargas medias removidas en el sistema híbrido al alimentarse con un ARS. Dicha remoción representó un consumo de 237.91 ± 60.43 g DQO/d, de 5.78 ± 6.08 g NT/d y de 0.08 ± 0.82 g PT/d. De forma similar, se estableció el rendimiento medio del sistema para la eliminación de C, N y P a lo largo de la experimentación. Dichos rendimientos, los cuales se presentaron en la Tabla 23, fueron determinados para el C (en términos de DQO), N (en términos de NTK, NH_4^+ , N orgánico, NO_2^- y NO_3^-) y P (en términos de PT). A partir de la Tabla 27, se puede apreciar que el rendimiento del sistema calculado al emplear el balance general de masa coincide con lo discutido en el presente documento. Como se ha mencionado anteriormente, la remineralización de la biomasa acumulada en el sedimentador del FTBR, afectó el rendimiento del sistema híbrido, debido al aporte de especies orgánicas a la columna de agua y generó matemáticamente valores negativos en las cargas transformadas en el sistema. Esta afectación fue más significativa en la eliminación de P con una dispersión en el rendimiento $>$ al 100% con respecto a la media y para el N del 86% con respecto a la media.

Tabla 26. Cargas medias y balance general de masa determinados en el sistema híbrido

Parámetro	CED	CSD _{UASB}	CED _{FTBR} **	CSD _{FTBR}	CRD
DQO (g/d)	298.44	59.20	6.91	1.33	237.91
NTK (g/d)	30.32	23.25	2.59	0.29	6.79
NH_4^+ (g/d)*	1.24	19.19	2.11	0.14	-18.09
Norg (g/d)*	29.47	4.38	0.89	0.09	25.01
NO_2^- (g/d)*	0.00	0.00	0.00	0.38	-0.38
NO_3^- (g/d)*	0.00	0.00	0.00	0.66	-0.66
NT (g/d)	30.42	23.31	2.59	1.33	5.78
PT (g/d)	3.97	3.63	0.44	0.27	0.08
PO_4^{3-} (g/d)	3.71	3.64	0.41	0.27	-0.20
PoliP (g/d)	0.49	0.22	0.02	0.02	0.25
SO_4^{2-} (g/d)	8.96	4.04	0.18	1.49	3.43

*Las cargas másicas de N se expresan como N-NX_x. **La carga de entrada al fotobiorreactor fue derivada a partir del efluente del reactor UASB en 0.11Q. CED: Carga de entrada al sistema diaria, CSD_{UASB}: Carga de salida diaria del reactor UASB, CED_{FTBR}: Carga de entrada diaria al fotobiorreactor, CSD_{FTBR}: Carga de salida diaria del fotobiorreactor, CRD: Carga removida o transformada diariamente en el sistema. T: Temperatura, CE: Conductividad eléctrica, OD: Oxígeno disuelto, POR: Potencial de óxido-reducción, DQO: Demanda química de oxígeno, COT: Carbono orgánico total, NTK: Nitrógeno total de Kjeldahl, NH_4^+ : Amonio, NO_3^- : Nitratos, NO_2^- : Nitritos, PT: Fósforo total, PO_4^{3-} : Ortofosfatos, PoliP: Polifosfatos, SO_4^{2-} : Sulfatos.

Los resultados obtenidos en la presente investigación permiten proyectar un sistema para la eliminación de nutrientes a través de un FTBR como alternativa sustentable de tratamiento terciario. La proyección podría expresarse en función de las características del ARD de naturaleza compleja y la concentración media de biomasa algal en el FTBR como 0.20 mg DQO/mg SV·d, 0.02 mg NT/mg SV·d y 4.55×10^{-4} mg PT/mg SV·d. Esta proyección podría expresarse también en función de una relación volumen/volumen (v/v) de 1:123 entre un reactor anaerobio de alta tasa y un FTBR. Esto permitiría alcanzar, sin tener en cuenta el componente recalcitrante de cada nutriente, eficiencias superiores al 95% en la remoción de materia orgánica (en términos de DQO) y de N, así como un consumo medio del 90% del P en sistemas bajo condiciones de operación similares a las descritas anteriormente.

Tabla 27. Eficiencias medias de remoción determinadas a partir del balance general de masa en el sistema híbrido durante la experimentación

Nutriente	%RD (DE)
C	79.50 (± 8.03)
N	17.57 (± 15.13)
P	0.69 (± 25.23)

C: Carbono, N: Nitrógeno, P: Fósforo, %RD: Eficiencia de remoción diaria, DE: Desviación estándar.

4.5. GRUPOS POBLACIONALES DE ALGAS EN EL FOTOBIORREACTOR

A partir de la operación del sistema híbrido alimentado con un ARS, se estudió la variación de la biomasa, sus características y los principales grupos poblacionales de microalgas en el FTBR a lo largo de la experimentación. En una primera instancia, se analizó la dinámica descrita por la relación SV/ST media de la biomasa en el FTBR y se presenta en la Figura 30. El flujo ascensional del EFL1 a lo alto de la columna de agua, así como la recirculación interna del FTBR, tuvieron un efecto sobre las características del lodo de inóculo y su respuesta inicial fue la de disminuir en un 40% la relación SV/ST. Finalmente, se puede apreciar como la relación SV/ST en el FTBR tiende al equilibrio hacia el día 80 de la operación.

Entre tanto, la alta concentración de SV en la zona FTBR3 sugiere que las poblaciones de microalgas en el FTBR tendieron a permanecer en la parte superior de la columna de agua debido a su flotabilidad o boyancia (Biggs, 1996; Oliver *et al.*, 2012) y al potencial Zeta de las células libres (Henderson *et al.*, 2008; S. Li *et al.*, 2020). Mientras que la concentración de SV en FTBR1 estuvo vinculada con la salida de la recirculación del FTBR y la sedimentabilidad del lodo con propiedades floculantes. Esto último se relaciona

con que la mayor cantidad de biomasa en el FTBR con un $36.71 \pm 10.60\%$ se concentró en esta zona, de mayor capacidad. Adicionalmente, se pudo evidenciar una pérdida constante de biomasa en el efluente del FTBR (Ver Figura 31 y Figura 32), lo que influiría en que el TRS, calculado con la Ecuación (14), fuera de 2 d a lo largo de la operación.

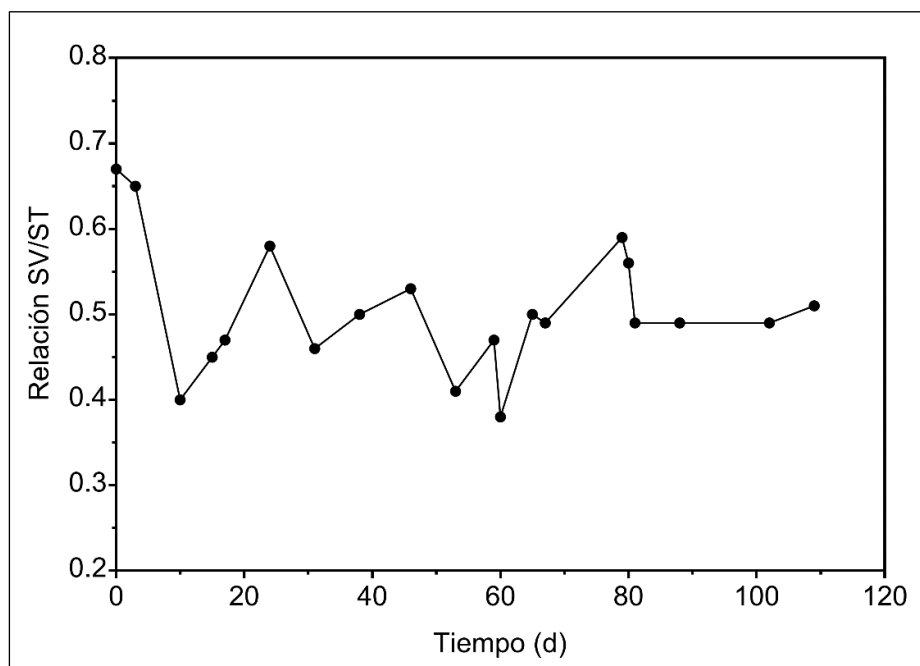


Figura 30. Dinámica de la biomasa en las diferentes zonas del fotobiorreactor durante la experimentación (Relación SV/ST: Relación Sólidos volátiles/Sólidos totales).

$$TRS = \frac{V \cdot X}{Q_w \cdot X + (Q - Q_w) \cdot X_{EFL2}} \quad \text{Ecuación (14)}$$

Para la Ecuación (14) se tiene que:

TRS : Tiempo de retención celular en el fotobiorreactor (d)

V : Volumen del fotobiorreactor (L)

X : Concentración de biomasa en el fotobiorreactor (mg SV/L)

Q : Caudal de alimentación del fotobiorreactor (L/d)

Q_w : Caudal en la línea de purga del fotobiorreactor (L/d)

X_{EFL2} : Concentración de biomasa en el efluente del fotobiorreactor (mg SV/L)

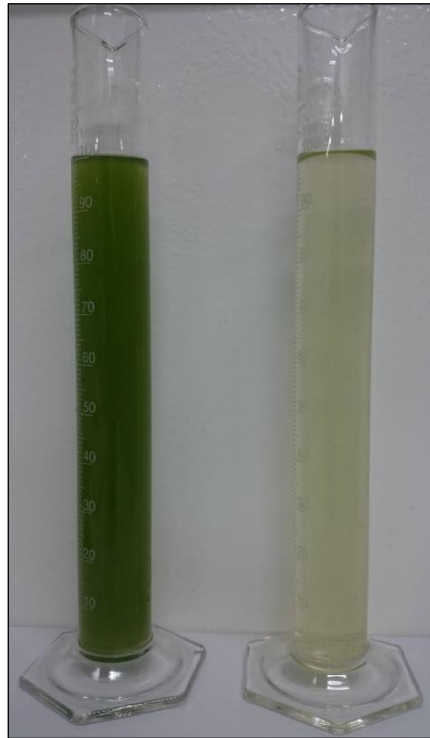


Figura 31. Comparativa entre la concentración de biomasa en la columna de agua y el efluente del fotobiorreactor. Izquierda, columna de agua del FTBR. Derecha, EFL2. (Imagen de fuente del autor)

A este respecto, Bradley *et al.* (2019) plantean que TRS bajos (menores a 5 d) en sistemas fotótroficos, inciden sobre la ecología microbiana de las microalgas y hacen inestable el ecosistema en cuanto a su composición. Esta inestabilidad podría favorecer principalmente la remoción del N, debido a que una alta diversidad de especies en el ecosistema promueve una mayor asimilación de este nutriente por parte de la biomasa. De acuerdo con lo anterior, se podría concluir que el TRS incidió significativamente sobre la eficiencia de remoción en el FTBR, al no ser lo suficientemente alto para permitir una mayor diversidad ecosistémica. Lo que podría indicar que las especies de microalgas que tendieron a dominar el ecosistema en el FTBR eran las que tenían mayor resiliencia. Esto pudo apreciarse cualitativamente, a partir de los cambios de coloración en la columna de agua del FTBR (Ver Figura 33) y de la observación periódica al microscopio de sus muestras (ver Figura 34).

En cuanto a la zona FTBR2, presentó la concentración de SV y ST más baja en la columna de agua, lo que sugiere que esta zona se comportó como una fase de transición entre FTBR3 y FTBR1. La distribución espacial de la biomasa en las diferentes zonas del FTBR se presenta en la Figura 35. Un análisis de regresión de la relación SV/ST en las diferentes zonas del FTBR, pudo establecer que FTBR2 y FTBR1 (-1×10^{-3} y -8×10^{-4} respectivamente) presentaron la pendiente negativa con mayor magnitud a lo largo de la operación. Esto podría

fortalecer la hipótesis de que la biomasa se acumula en el sedimentador del FTBR cuando los nutrientes disponibles en la columna de agua son limitados.

la biomasa se acumula en el sedimentador del FTBR cuando los nutrientes disponibles en la columna de agua son limitados.

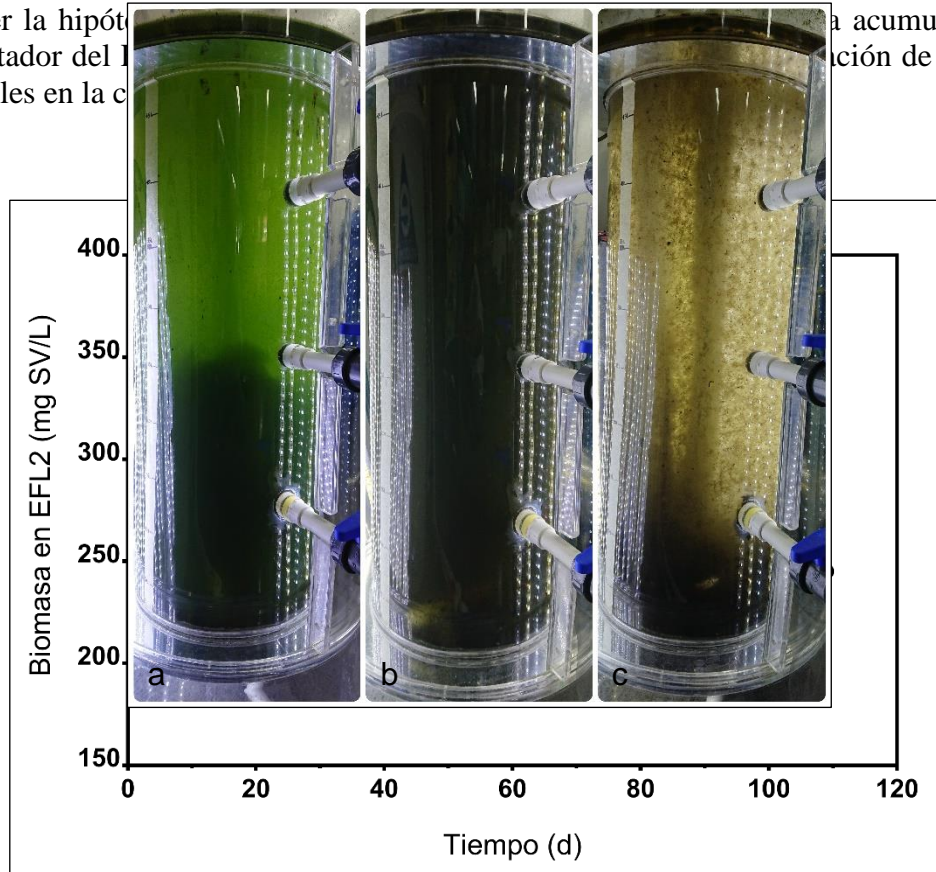
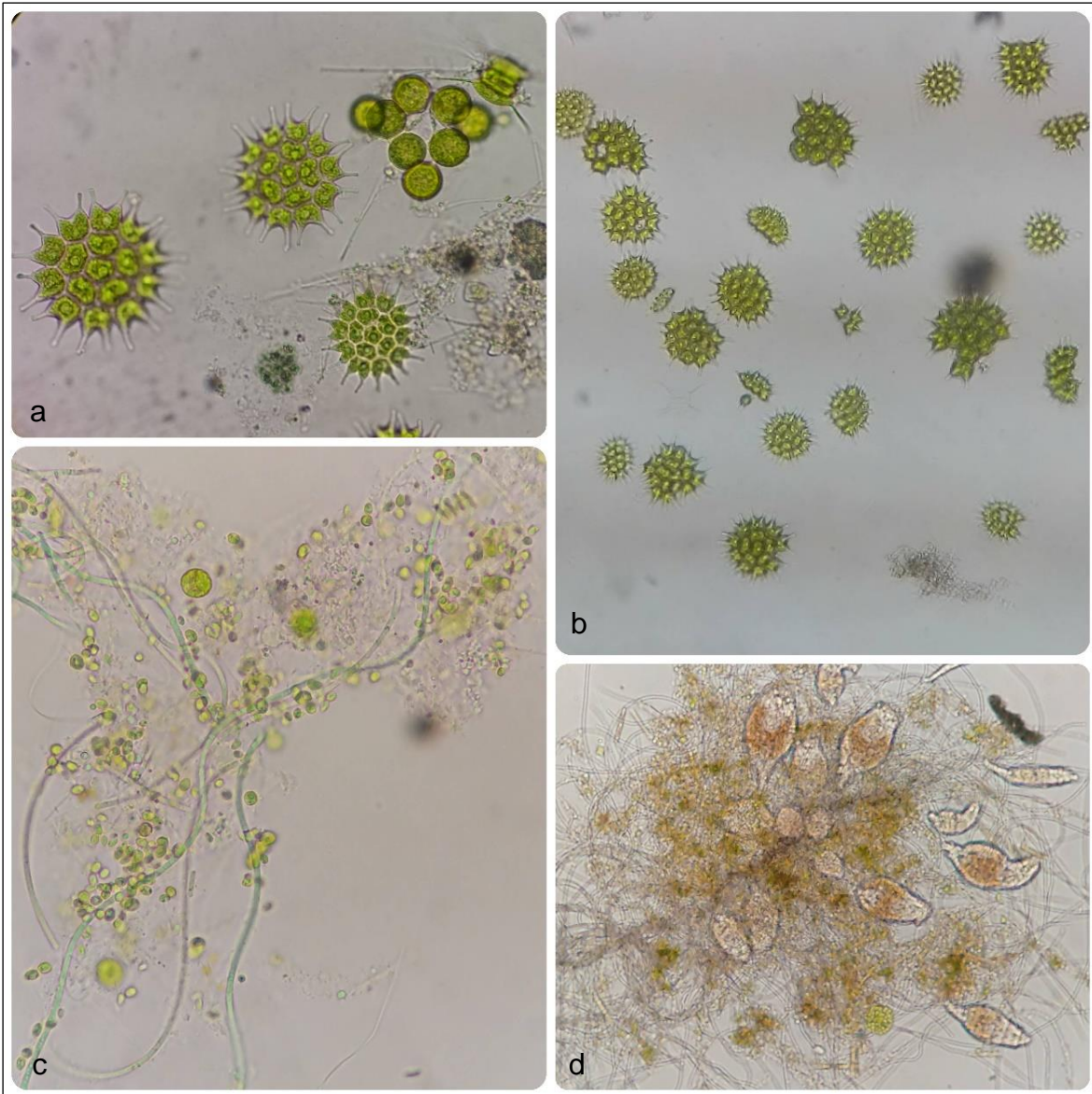


Figura 32. Concentración de biomasa en el efluente del fotobiorreactor durante la experimentación

Por otro lado, el análisis de los pigmentos a partir de las muestras preservadas del FTBR mediante la aplicación de técnicas fluorimétricas se resume en la Figura 36. En la Figura 36a se puede apreciar una relación inversamente proporcional entre el L-Triptófano (TRY) y la concentración de SV en la columna de agua. Según Hartmann *et al.* (2015), el TRY es liberado en altas concentraciones cuando las microalgas se encuentran bajo condiciones de estrés lumínico, debido a que este aminoácido puede absorber luz. Esto estaría vinculado con que, al disminuirse la biomasa, mayor energía lumínica ingresaría al FTBR desde las lámparas LED lo que genera estrés sobre las microalgas en el sistema y estimularía la liberación de TRY. En este sentido, el coeficiente de correlación de Spearman entre la HR y la síntesis de TRY (0.99, valor- $p < 0.05$) apoyaría este planteamiento debido a que la radiación lumínica estimula la evaporación



Así mismo, la clorofila a (CHL) en el FTBR, con una concentración media de 1.93 mg/L, describió una relación directa con la biomasa en la columna de agua (Ver Figura 36b). Sin embargo, no se evidenció una correlación estadísticamente significativa entre la CHL y la concentración de SV en el FTBR. Esto podría ser concomitante con que la concentración de CHL puede variar de acuerdo con la especie que la produce, así como con parámetros externos (factores ambientales) e internos (fisiológicos). Sin embargo, la CHL en la columna de agua se relaciona

Figura 34. Principales grupos poblacionales de microalgas identificados en el fotobiorreactor. a. Día 5: Dominancia de clorófitas. *Pediastrum sp.* (izquierda y centro), *Chlorella sp.* (derecha arriba), *Scenedesmus sp.* (esquina superior derecha); b. Día 12: Dominancia de *Pediastrum sp.* (clorófitas); c. Día 24 Dominancia de *Chlorella sp.* (clorófitas) y aparición de cianobacterias filamentosas. cf. *Pseudoanabaena sp.*; d. Día 87: Dominancia de cianobacterias, proliferación de rotíferos. (Imágenes de fuente del autor)

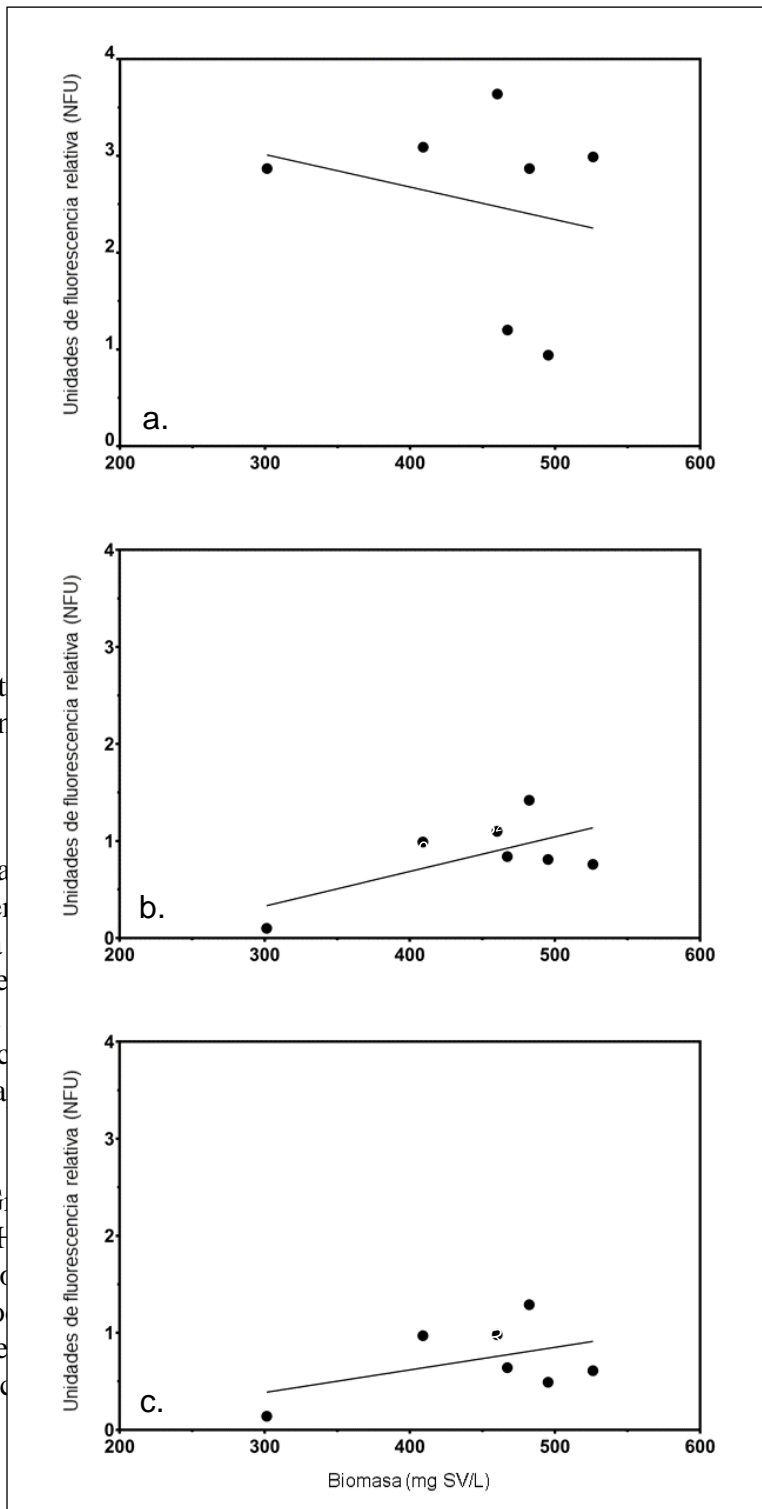
estrechamente con la biomasa algal viva (Bellinger y Sigeo, 2015). Debido a que la CHL funciona como catalizador para la formación de carbohidratos o biomasa, como pigmento accesorio de la fotosíntesis (Barsanti y Gualtieri, 2014). Por otro lado, los resultados obtenidos sugieren que la biomasa en el FTBR no estuvo constituida exclusivamente por microalgas.



Figura 35. Dist...
 experimentación...
 0.0001).

De forma simila...
 en el FTBR (Ver...
 en función de la...
 el aprovechamie...
 se evidenció un...
 que podría indic...
 en el siguiente a...

Por otro lado, G...
 la PHY y la CH...
 acuático. Por lo...
 preservadas, po...
 microalgas en e...
 PHY/CHL y la c...



factor durante la...
 ****valor-p ≤

Y) y la biomasa...
 HY en el FTBR,...
 reserva de N para...
). Similarmente,...
 T y la PHY, lo...
 rá más adelante

fluorescencias de...
 n un ecosistema...
 de las muestras...
 poblaciones de...
 por la relación

Figura 36. Análisis de los pigmentos accesorios a partir de muestras preservadas del fotobiorreactor durante la experimentación. a. L-Triptófano (TRY), b. Clorofila *a* (CHL), c. Ficocianina (PHY)

biomasa en el FTBR es ilustrada en la Figura 37. De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede concluir en primer lugar, que las CY representaron la mayor parte de la biomasa en el FTBR bajo condiciones de estrés generado por el TRS corto. Esto podría relacionarse con lo planteado por Reichwaldt y Ghadouani (2012), acerca de que las CY tienen una ventaja competitiva frente a otras poblaciones del fitoplancton para desarrollarse en condiciones de abundancia de nutrientes. Adicionalmente, el análisis de la relación PHY/CHL permitió

establecer un comportamiento diferenciado en la ecología microbiana del FTBR con respecto al consumo de nutrientes a lo largo de la experimentación (Ver Figura 38).

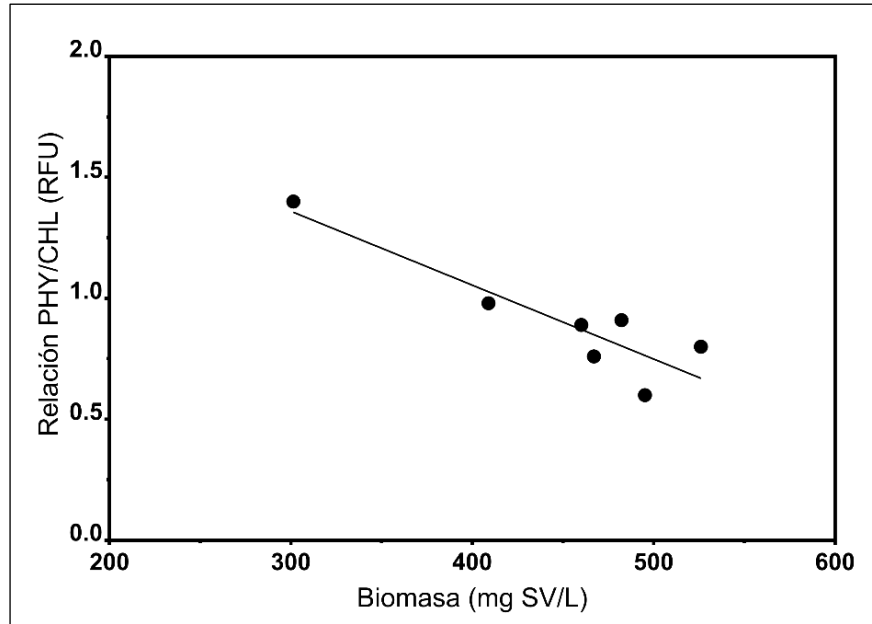


Figura 37. Dinámica de la relación Ficocianina/Clorofila-*a* (PHY/CHL) y la concentración de biomasa en el fotobiorreactor durante la experimentación

Dicho comportamiento diferenciado, evidenció un consumo más elevado de N con una relación PHY/CHL de 1 a una tasa máxima de consumo de 30 mg NT/h (0.72 g NT/d) con un TRS de 2 d. No obstante, los consumos más elevados de P se alcanzaron con una relación PHY/CHL de 0.6 a una tasa máxima de consumo de 5 mg PT/h (0.11 g PT/d). Esto se debe a que, en ecosistemas con poblaciones mixtas de microalgas, el consumo de P favorece principalmente el desarrollo de las GA y el N favorece el crecimiento de las CY (Ding *et al.*, 2018). Estos resultados podrían sugerir que para la remoción de N en FTBRs a partir de cultivos mixtos de microalgas, se recomienda la operación del sistema a TRS (alrededor de 5 d) que permitan mantener la relación entre CY:GA de 1:1. Mientras que, para la remoción de P en FTBRs a partir de cultivos mixtos de microalgas, se recomienda la operación del sistema a TRS (alrededor de 15 d) que permitan mantener la relación entre CY:GA de 1:2.

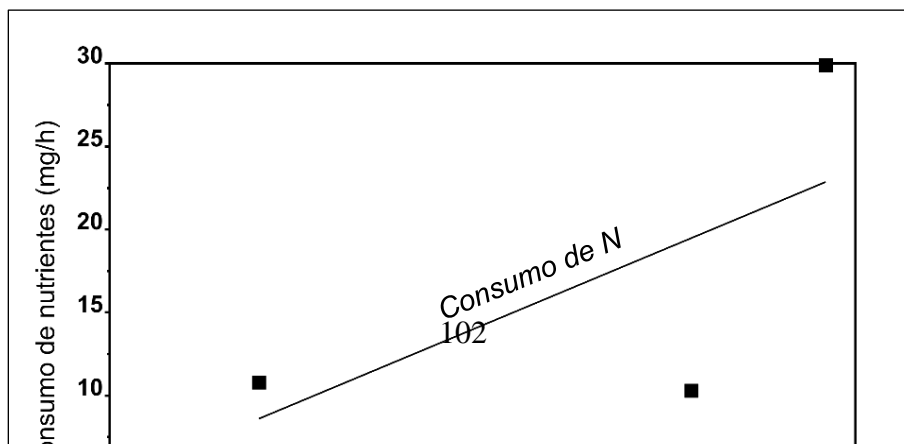


Figura 38. Dinámica del consumo de nutrientes en función de la relación Ficocianina/Clorofila-*a* (PHY/CHL) en el fotobiorreactor

Lo anterior se relaciona con que las poblaciones de CY, biológicamente versátiles, pueden desarrollarse bajo condiciones de estrés y en ecosistemas con baja disponibilidad de P (Huisman y Hulot, 2005). En relación con lo anterior, se encontró un coeficiente de correlación de Spearman de 0.96 (valor-*p* < 0.05) entre la concentración de PO₄³⁻ en el EFL2 y la PHY. Lo que indicaría un menor consumo de P en el FTBR mientras las CY dominaron el ecosistema. En caso contrario, las poblaciones de GA requieren de ecosistemas más estables y una mayor disponibilidad de P para su desarrollo (Cuellar-Bermudez *et al.*, 2017).

La información recopilada durante la operación del FTBR, permitió determinar los coeficientes cinéticos descritos por la biomasa mediante los modelos matemáticos soportados en la Ecuación (15) y Ecuación (16), aplicados por C. Wang *et al.* (2005) y por Honda *et al.* (2012) en cultivos de microalgas. De acuerdo con los resultados obtenidos, las poblaciones microbianas en el FTBR presentaron una tasa de crecimiento específica (μ) media de 0.60 d⁻¹ y un valor máximo de 0.93 d⁻¹, la cual fue afectada principalmente a partir del TRS. Esto se concluye a partir del análisis estadístico, que permitió establecer un coeficiente de correlación de -0.99 (valor-*p* < 0.005) entre la μ y el TRS. El TRS también afectó la productividad volumétrica (ΔX) en el FTBR al evidenciarse una correlación de Spearman de -0.79 (valor-*p* < 0.05). A pesar de lo anterior, se alcanzó un ΔX medio de 243 mg SV/L·d mayor a los 48 mg SV/L·d reportados por Honda *et al.* (2012) y menor a los 722 mg SV/L·d reportados por C. Wang *et al.* (2005), experimentos que emplearon FTBRs con TRHs de 24 h.

$$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1} \quad \text{Ecuación (15)}$$

Para la Ecuación (15) se tiene que:

μ : Tasa de crecimiento específico (d^{-1})
 X_1 : Concentración inicial de biomasa (mg SV/L)
 X_2 : Concentración final de biomasa (mg SV/L)
 t_1 : Tiempo inicial (d)
 t_2 : Tiempo final (d)

$$\Delta X = \frac{X}{TRS} = \mu \cdot X \quad \text{Ecuación (16)}$$

Para la Ecuación (16) se tiene que:

ΔX : Rendimiento volumétrico (mg SV/L·d)
 X : Concentración inicial de biomasa (mg SV/L)
 TRS : Tiempo de retención celular (d^{-1})
 μ : Tasa de crecimiento específico (d^{-1})

De forma similar, al reducirse el valor de μ en el FTBR, se afectó la remoción del N (Correlación de -0.73, valor- $p < 0.05$) y el P a lo largo de la operación (Correlación de -0.67, valor- $p < 0.05$) al aumentarse la concentración de nutrientes en el EFL2. Los resultados indican que el desarrollo de las poblaciones de microalgas en el FTBR estuvo limitado principalmente por parámetros operacionales como el TRS, lo que afectó la eficiencia de remoción de nutrientes en el sistema. Es importante agregar, que durante la operación del FTBR no se determinaron parámetros como la concentración de CO_2 en el sistema. Sin embargo, se determinó la concentración teórica de CO_2 en el EFL1 a partir de la temperatura, la alcalinidad y el pH mediante el método descrito por M. L. Davis (2020) mediante la Ecuación (17) y ecuación (18). A este respecto, autores como I. de Godos *et al.* (2014) mencionan que los requerimientos de CO_2 pueden variar en función de la especie y para cultivos mixtos de microalgas en reactores tipo *Raceway* son al menos de 1.8 g CO_2 /g biomasa.

$$K_a = \frac{[H^+] \cdot [HCO_3^-]}{[H_2CO_3]} \quad \text{Ecuación (17)}$$

Para la Ecuación (17) se tiene que:

K_a : Constante de equilibrio (mol/L)
[H^+]: Concentración de iones hidrogeno (mol/L)
[HCO_3^-]: Concentración de iones bicarbonato (mol/L)
[H_2CO_3]: Concentración de ácido carbónico (mol/L)

$$K_a = 10^{14.8453 - 3404.71/T - 0.032786 \cdot T} \quad \text{Ecuación (18)}$$

Para la ecuación (18) se tiene que:

K_a : Constante de equilibrio (mol/L)
 T : Temperatura (K)

La concentración media teórica de CO_2 disuelto que ingresó al FTBR fue de 3,68 g CO_2 /d, sin tener en cuenta la fracción de CO_2 atmosférico aportada por el *airlift*. Al tener en cuenta la concentración media de CO_2 en el FTBR, podríamos concluir que la relación teórica presentada en el sistema (0.3 g CO_2 /g biomasa) fue menor a la propuesta por los autores mencionados (1.8 g CO_2 /g biomasa). Ahora bien, los análisis estadísticos permitieron establecer un coeficiente de correlación de Spearman de 0.89 (valor- $p < 0.05$) entre la concentración teórica de CO_2 en el EFL1 y la remoción de N en el FTBR. Esto indicaría que se requieren concentraciones más elevadas de CO_2 para remover la totalidad de N presente en el ARS en sistemas bajo condiciones de operación similares.

Resulta oportuno mencionar que se evidenció, además, una correlación de 0.82 (valor- $p < 0.05$) entre la relación PHY/CHL en el FTBR y la remoción de MO. Esto podría sugerir que algunas CY presentes en el FTBR emplearon fuentes orgánicas de C para su desarrollo. Oliver *et al.* (2012) discute al respecto que algunas especies de CY, como también de GA, pueden ser mixótrofas y emplear fuentes orgánicas de C para la obtención de energía. Aunque este fenómeno se presenta bajo condiciones de oscuridad, cuando las microalgas no pueden llevar a cabo la fotosíntesis. Cabe recordar que, a lo largo de la experimentación, las poblaciones en el FTBR mantuvieron un fotoperiodo de 24 h y los procesos fotosintéticos no debieron sufrir afectación alguna. En este sentido, los resultados obtenidos en la presente investigación no aportan suficiente evidencia estadística para corroborar dicha posibilidad.

4.5.1. Análisis estadístico multivariado del rendimiento del sistema híbrido

A partir de los datos recopilados durante la experimentación, se desarrolló un análisis de componentes principales (ACP) para establecer los parámetros de mayor relevancia para la operación del sistema. Con la intención de facilitar la reducción de dimensión en el sistema híbrido, se realizó un ACP para la fase anaerobia y otro para la fase con microalgas. En la Tabla 28 se relacionan los parámetros con mayor significancia (> 50%) para el rendimiento del reactor UASB y los pesos para las variables en cada componente son presentados en la Figura 39.

Tabla 28. Parámetros con mayor significancia para el análisis de componentes principales (ACP) determinado a partir de la operación del reactor UASB

Componente 1		Componente 2	
Parámetro	Peso	Parámetro	Peso
DQO (mg/L)	0.98	PT (mg/L)	0.84
Relación C:N	0.95	Relación N:P	-0.73
N orgánico (mg/L)	0.95	PO ₄ ³⁻ (mg/L)	0.62
NH ₄ ⁺ (mg/L)	-0.90	Relación SV/ST	0.53
pH (Unidades)	0.89	SV (mg/L)	0.50
NT (mg/L)	0.71	PoliP (mg/L)	0.42

DQO: Demanda química de oxígeno, Relación C:N: Relación carbono:nitrógeno, N orgánico: Nitrógeno orgánico, NH₄⁺: Amonio, NT: Nitrógeno total, PT: Fósforo total, Relación N:P: Relación nitrógeno:fósforo, PO₄³⁻: Ortofosfatos, Relación SV/ST: Relación Sólidos volátiles/sólidos totales, SV: Sólidos volátiles, PoliP: Polifosfatos.

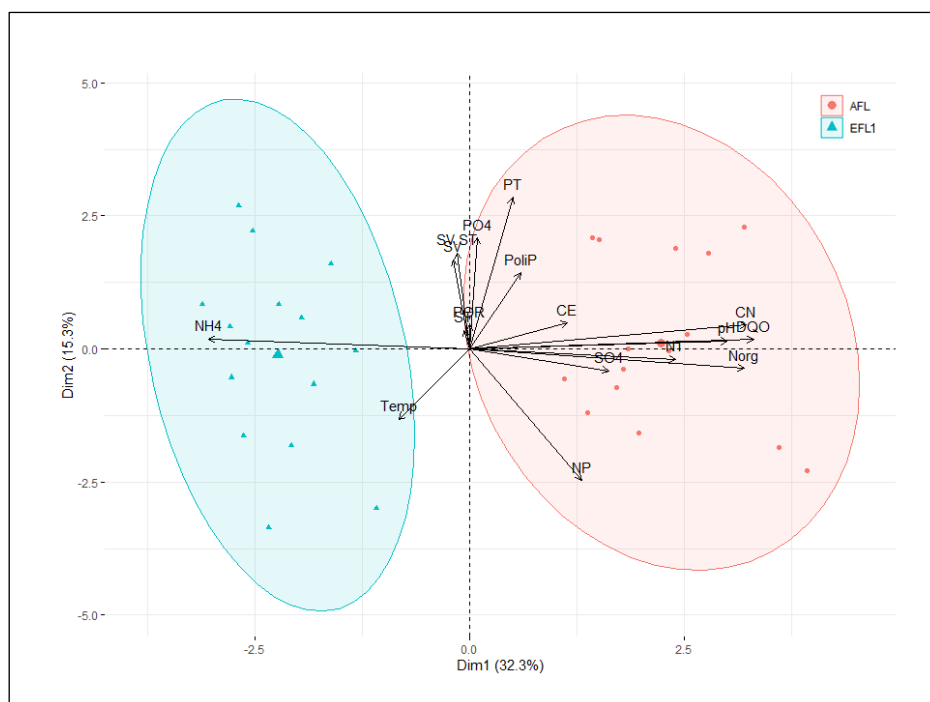


Figura 39. Análisis de componentes principales (ACP) determinado a partir del estudio de la operación del reactor UASB

El ACP realizado para la dinámica descrita por la operación del reactor UASB encontró que dos de las componentes describen el 48% de la variabilidad total de los datos. Esta baja representatividad de la totalidad de los datos se relaciona principalmente con su dispersión durante la fase experimental; y tal como se aprecia en la Tabla 28, los parámetros de mayor relevancia fueron la concentración de materia orgánica (DQO) y las formas de nutrientes (Norg, NH_4^+ , PT, PO_4^{3-} , NT y SO_4^{2-}), los parámetros fisicoquímicos (T, pH), así como las características de la biomasa (SV, relación SV/ST).

En adición a lo discutido acerca del rendimiento del sistema híbrido, se asume que tanto el Componente 1, como el Componente 2 del ACP, representan la transformación del AFL debido a la actividad biológica en el reactor UASB. El Componente 1 expresa los procesos que representaron una transformación más importantes como lo fueron el consumo de MO y de N, así como la disminución del pH debido a las reacciones de hidrólisis y fermentación. Mientras que, el Componente 2 representa el consumo del P y su relación con la concentración de biomasa.

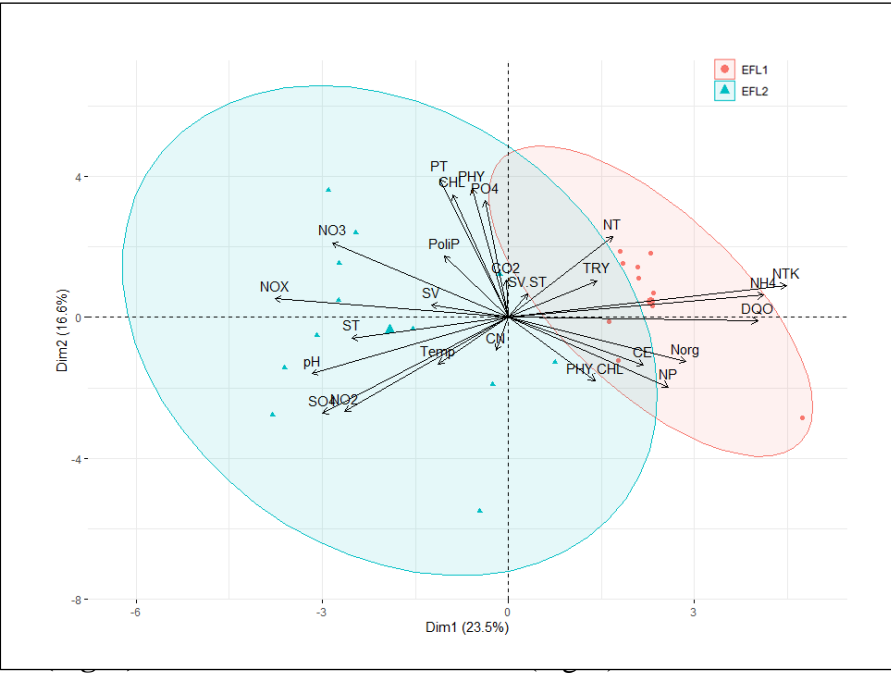
Por otra parte, los parámetros con mayor aporte al rendimiento del FTBR (> 55%) son resumidos en la Tabla 29 y los pesos de sus variables pueden apreciarse en la Figura 40. En lo que respecta al ACP evaluado para la operación del FTBR, se determinó que dos componentes describen en un 40% la variabilidad total de los datos. De forma similar que para el reactor UASB, la baja representatividad del ACP a partir de la eficiencia en el FTBR se debió a la amplia dispersión de los datos en la fase experimental. Vinculados en mayor medida, con la inestabilidad del ecosistema en la columna de agua y los cambios poblacionales. Así mismo, en la Tabla 29 se observa que los parámetros con mayor relevancia para la operación del FTBR fueron la concentración de las formas del N en mayor medida (todas las formas determinadas), las del P, los SO_4^{2-} , los parámetros biológicos (PHY, CHL, relación PHY/CHL, SV) y parámetros fisicoquímicos (T, CE).

De forma similar a los resultados obtenidos con el ACP para el reactor UASB, el Componente 1 y el Componente 2 del ACP de los datos en el FTBR expresan la transformación de la fracción del EFL1 debido al metabolismo algal. Análogamente, el Componente 1 expresa los procesos de transformación ligados al consumo de MO y N en el FTBR. Tanto para la fase anaerobia (0.63, valor- $p < 0.05$) del sistema híbrido, como para el FTBR (-0.71, valor- $p < 0.05$) se encontró correlación entre las eficiencias de remoción de la MO y del N. Esta

correlación
el metaboli
vinculado
mixotrofia
el consumo

Tabla 29.
(ACP) dete

NT
NH
DQ
NO
pH
SC



indicar que
que estaría
FTBR y la
representa
nente.

principales

NTK: Nitrógeno total Kjeldahl, NH₄⁺: Amonio, DQO: Demanda química de oxígeno, NO_x: Formas oxidadas del nitrógeno, SO₄²⁻: Sulfatos, PT: Fósforo total, PHY: Ficocianina, CHL: Clorofila a, PO₄³⁻: Ortofosfatos, NO₂: Nitritos.

Figura 40. Análisis de componentes principales (ACP) determinado a partir del estudio de la operación del fotobiorreactor (FTBR)

4.6. ECOLOGÍA MICROBIANA DE CULTIVOS *IN VITRO* DE ALGAS

El estudio de la ecología microbiana se desarrolló con el objetivo de analizar el efecto de variables ambientales como la iluminancia y la concentración de los nutrientes N y P sobre el crecimiento *in vitro* de dos especies de microalgas (GA y CY). Dichas especies fueron seleccionadas como modelos para la experimentación debido a su potencial de aplicación para el tratamiento de aguas residuales, versatilidad de crecimiento y potencial de generación de valor agregado (Cepoi *et al.*, 2016; Sahu *et al.*, 2019). La información recopilada permitió determinar las cinéticas de crecimiento de los cultivos de algas a partir del TRY, la CHL y la PHY para las diferentes combinaciones empleadas durante la experimentación. Es importante mencionar que, a la fecha, en la literatura no han sido reportados análisis similares de pigmentos accesorios a la fotosíntesis para el estudio de la ecología microbiana en cultivos de microalgas.

En una primera instancia, se discutirán las dinámicas para cada compuesto en función de las iluminancias y las especies modelo empleadas durante la investigación. Posteriormente, se examinará el efecto de los nutrientes sobre el desarrollo de las especies modelo mediante el análisis de las pendientes descritas por cada una de las curvas de crecimiento (54 en total). El resumen estadístico de los datos con las combinaciones de nutrientes Ctr, Min y Max se recopilan en la Tabla 30 para los cultivos de GA, en la Tabla 31 para los cultivos de CY y en la Tabla 32 para los cultivos MC. La información obtenida a partir de los cultivos de GA, CY y MC al ser suplementados con N y P con iluminancias de 3000 y 5000 lux es presentada en la Tabla 33.

4.6.1. Análisis de la dinámica del L-triptófano (TRY)

Debido a que el TRY es sintetizado por las microalgas bajo condiciones de estrés, autores como Petersen (1989) proponen su aplicación como estrategia para el estudio de la incidencia de microalgas en ecosistemas acuáticos. Por esta razón, se analizó la dinámica descrita por el TRY como alternativa para el estudio de la ecología microbiana de cultivos *in vitro* de microalgas (Ver Figura 41). Los resultados obtenidos permitieron evidenciar que la síntesis de TRY varió en función de la energía lumínica disponible para los diferentes cultivos (Figura 41a) y la elevación de la T. La concentración media más elevada del aminoácido (1.37 mg TRY/L) se alcanzó para una iluminancia de 7000 lx, mientras que, para los 10000 lx se registró una concentración media 0.89 mg TRY/L. A este respecto, Sorokin y Krauss (1958) plantearon que a iluminancias mayores a 6500 lx las microalgas tienden a desacelerar sus tasas de crecimiento. El análisis de los datos permitió establecer diferencias estadísticamente significativas entre la síntesis de TRY para las diferentes iluminancias con un valor- $p < 0.0005$, así como una correlación de 0.33 (valor- $p < 0.0005$) entre la concentración de TRY y la T.

Por otro lado, los resultados permitieron establecer que los cultivos de CY sintetizaron una mayor concentración de TRY a lo largo de la experimentación, seguidos de los MC (Figura 41b). De acuerdo con Robarts y Zohary (1987), las CY pueden desarrollar sus procesos metabólicos a temperaturas más elevadas que las GA, lo que podría favorecer una mayor liberación de TRY. En adición a lo anterior, Mur *et al.* (1999) mencionan que las CY son más eficientes que las GA para la metabolización de nutrientes, lo que favorecería la síntesis más acelerada del TRY. A este respecto se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la síntesis de TRY y los diferentes cultivos analizados durante la experimentación (valor- $p < 0.0005$).

El efecto de la concentración de nutrientes sobre la síntesis de TRY para las diferentes combinaciones de especies modelo e iluminancias, es representado en la Figura 42. Los resultados permitieron establecer una relación directamente proporcional entre la disponibilidad de nutrientes y la síntesis de TRY. Esto estaría relacionado con los procesos metabólicos de las microalgas, los cuales permitirían una obtención más acelerada de metabolitos ante una mayor disponibilidad de

Tabla 30. Análisis descriptivo de la cinética de crecimiento de cultivos *in vitro* de *Chlorella sp.* (GA)

Parámetro	3000 lux			5000 lux			7000 lux			10000 lux		
	Ctr	Min	Max	Ctr	Min	Max	Ctr	Min	Max	Ctr	Min	Max
NT (·)	49.32	59.32	149.32	49.32	59.32	149.32	49.32	59.32	149.32	49.32	59.32	149.32
PT (mg P/L)	22.69	23.69	32.69	22.69	23.69	32.69	22.69	23.69	32.69	22.69	23.69	32.69
T (°C)	27.77 (±0.67)	28.33 (±0.18)	28.55 (±0.18)	27.95 (±0.47)	28.58 (±0.28)	28.86 (±0.35)	30.30 (±0.70)	30.13 (±0.63)	30.24 (±0.71)	31.54 (±0.63)	31.80 (±0.85)	32.06 (±0.84)
pH (Unidades)	9.39 (±0.16)	9.36 (±0.15)	9.36 (±0.15)	9.50 (±0.21)	9.44 (±0.15)	9.45 (±0.15)	9.46 (±0.16)	9.46 (±0.16)	9.46 (±0.16)	9.42 (±0.19)	9.42 (±0.19)	9.42 (±0.19)
CE (µS/cm)	12.22 (±1.04)	12.62 (±0.24)	12.75 (±0.16)	12.10 (±0.46)	11.86 (±0.24)	12.03 (±0.25)	11.93 (±0.20)	12.08 (±0.27)	12.13 (±0.31)	13.49 (±0.39)	13.47 (±0.23)	13.70 (±0.32)
TRY (RFU)	3.79 (±0.51)	3.86 (±0.48)	3.73 (±0.54)	6.01 (±2.11)	7.84 (±2.08)	7.84 (±1.99)	8.71 (±1.99)	8.29 (±2.04)	8.25 (±2.07)	4.70 (±0.62)	4.73 (±0.66)	4.98 (±0.71)
CHL (RFU)	0.55 (±0.21)	0.50 (±0.26)	0.47 (±0.25)	0.39 (±0.23)	0.26 (±0.16)	0.27 (±0.17)	0.31 (±0.15)	0.28 (±0.16)	0.28 (±0.15)	0.50 (±0.16)	0.50 (±0.17)	0.58 (±0.17)
PHY (RFU)	0.28 (±0.14)	0.37 (±0.18)	0.35 (±0.20)	0.35 (±0.30)	0.60 (±0.33)	0.67 (±0.35)	0.59 (±0.33)	0.55 (±0.32)	0.56 (±0.33)	0.37 (±0.13)	0.36 (±0.14)	0.39 (±0.13)
µ (d ⁻¹)	0.02 (±0.19)	-0.09 (±0.30)	-0.11 (±0.33)	0.14 (±0.49)	0.17 (±0.56)	0.15 (±0.72)	0.08 (±0.57)	0.11 (±0.56)	0.08 (±0.58)	-0.04 (±0.22)	-0.06 (±0.22)	0.00 (±0.20)
SV (mg/L)	193 (±206)	203 (±256)	187 (±250)	192 (±232)	218 (±160)	187 (±164)	152 (±147)	173 (±137)	180 (±153)	142 (±156)	139 (±165)	148 (±166)
Y TRY (µg TRY/mg SV)	0.81 (±2.20)	0.77 (±0.97)	0.68 (±0.84)	3.65 (±52.31)	3.12 (±44.72)	2.76 (±35.78)	8.44 (±60.57)	7.27 (±38.35)	7.56 (±24.09)	5.72 (±26.34)	6.17 (±12.59)	5.67 (±24.16)
Y CHL (µg CHL/mg SV)	1.24 (±0.59)	1.05 (±0.39)	0.88 (±0.59)	2.35 (±8.29)	1.75 (±2.65)	1.92 (±2.28)	1.53 (±3.28)	1.41 (±1.72)	1.59 (±3.13)	1.24 (±1.04)	1.45 (±1.37)	1.43 (±2.44)
Y PHY (µg PHY/mg SV)	0.02 (±0.10)	0.03 (±0.15)	0.03 (±0.14)	0.01 (±0.11)	0.01 (±0.06)	0.03 (±0.11)	0.01 (±0.05)	0.02 (±0.11)	0.01 (±0.04)	0.02 (±0.07)	0.03 (±0.11)	0.03 (±0.06)

Ctr: Control, Min: Suplemento mínimo de nutrientes, Max: Suplemento máximo de nutrientes, NT: Nitrógeno total, PT: Fósforo total, T: Temperatura, CE: Conductividad eléctrica, RFU: Unidades de fluorescencia relativa, TRY: L-triptófano, CHL: Clorofila a, PHY: Ficocianina, µ: Tasa de crecimiento específico, SV: Sólidos volátiles, Y: Coeficiente de rendimiento.

Tabla 31. Análisis descriptivo de la cinética de crecimiento de cultivos *in vitro* de *Spirulina sp.* (CY)

Parámetro	3000 lux			5000 lux			7000 lux			10000 lux		
	Ctr	Min	Max	Ctr	Min	Max	Ctr	Min	Max	Ctr	Min	Max
NT (mg N/L)	49.32	59.32	149.32	49.32	59.32	149.32	49.32	59.32	149.32	49.32	59.32	149.32
PT (mg P/L)	22.69	23.69	32.69	22.69	23.69	32.69	22.69	23.69	32.69	22.69	23.69	32.69
T (°C)	28.12 (±0.77)	28.47 (±0.18)	28.53 (±0.46)	27.95 (±0.47)	28.58 (±0.28)	28.86 (±0.35)	30.41 (±0.69)	30.52 (±0.69)	30.56 (±0.66)	32.00 (±0.77)	32.17 (±0.55)	32.12 (±0.53)
pH (Unidades)	9.45 (±0.14)	9.47 (±)	9.47 (±0.14)	9.50 (±0.21)	9.44 (±0.15)	9.45 (±0.15)	9.50 (±0.16)	9.50 (±0.16)	9.50 (±0.16)	9.53 (±0.15)	9.52 (±0.15)	9.52 (±0.15)
CE (µS/cm)	15.66 (±2.31)	17.91 (±0.56)	18.12 (±0.53)	12.10 (±0.46)	11.86 (±0.24)	12.03 (±0.25)	12.26 (±0.28)	12.43 (±0.26)	12.42 (±0.25)	19.17 (±0.55)	19.20 (±0.58)	19.06 (±0.40)
TRY (RFU)	8.37 (±2.84)	5.81 (±1.24)	5.53 (±0.98)	9.21 (±2.14)	8.08 (±2.02)	8.16 (±1.99)	8.22 (±1.85)	8.45 (±1.97)	8.62 (±2.11)	7.67 (±1.78)	7.29 (±1.74)	7.54 (±1.71)
CHL (RFU)	0.31 (±0.33)	0.68 (±0.14)	0.63 (±0.13)	0.19 (±0.18)	0.28 (±0.16)	0.29 (±0.17)	0.29 (±0.17)	0.31 (±0.17)	0.32 (±0.21)	0.81 (±0.22)	0.82 (±0.25)	0.83 (±0.23)
PHY (RFU)	1.01 (±0.22)	1.20 (±0.21)	1.22 (±0.17)	0.87 (±0.30)	0.88 (±0.34)	0.88 (±0.32)	0.76 (±0.32)	0.79 (±0.36)	0.78 (±0.33)	0.92 (±0.39)	0.90 (±0.42)	0.93 (±0.41)
µ (d ⁻¹)	0.01 (±0.19)	0.01 (±0.17)	0.01 (±0.19)	0.14 (±0.49)	0.17 (±0.56)	0.15 (±0.72)	0.14 (±0.62)	0.10 (±0.81)	0.13 (±0.75)	0.01 (±0.15)	0.01 (±0.16)	0.01 (±0.15)
SV (mg/L)	297 (±139)	345 (±147)	299 (±137)	387 (±232)	411 (±160)	371 (±164)	355 (±173)	361 (±179)	337 (±211)	479 (±222)	489 (±257)	500 (±231)
Y TRY (µg TRY/mg SV)	1.90 (±1.83)	2.20 (±1.14)	2.39 (±1.51)	3.20 (±22.31)	2.89 (±24.72)	3.16 (±25.78)	3.69 (±54.30)	3.62 (±51.67)	3.47 (±43.63)	2.59 (±1.24)	2.41 (±1.25)	2.46 (±1.27)
Y CHL (µg CHL/mg SV)	0.66 (±0.13)	0.71 (±0.06)	0.73 (±0.07)	2.35 (±8.29)	0.55 (±2.65)	1.22 (±2.28)	0.93 (±0.65)	0.74 (±0.25)	0.77 (±0.30)	0.68 (±0.03)	0.68 (±0.04)	0.67 (±0.02)
Y PHY (µg PHY/mg SV)	0.02 (±0.05)	0.04 (±0.02)	0.05 (±0.02)	0.04 (±0.09)	0.06 (±0.06)	0.07 (±0.05)	0.03 (±0.02)	0.02 (±0.03)	0.03 (±0.01)	0.01 (±0.01)	0.01 (±0.01)	0.01 (±0.01)

Ctr: Control, Min: Suplemento mínimo de nutrientes, Max: Suplemento máximo de nutrientes, NT: Nitrógeno total, PT: Fósforo total, T: Temperatura, CE: Conductividad eléctrica, RFU: Unidades de fluorescencia relativa, TRY: L-triptófano, CHL: Clorofila a, PHY: Ficocianina, µ: Tasa de crecimiento específico, SV: Sólidos volátiles, Y: Coeficiente de rendimiento.

Tabla 32. Análisis descriptivo de la cinética de crecimiento de cultivos *in vitro* mixtos de *Chlorella sp.* (GA) y de *Spirulina sp.* (CY)

Parámetro	3000 lux			5000 lux			7000 lux			10000 lux		
	Ctr	Min	Max	Ctr	Min	Max	Ctr	Min	Max	Ctr	Min	Max
NT (mg N/L)	49.32	59.32	149.32	49.32	59.32	149.32	49.32	59.32	149.32	49.32	59.32	149.32
PT (mg P/L)	22.69	23.69	32.69	22.69	23.69	32.69	22.69	23.69	32.69	22.69	23.69	32.69
T (°C)	28.32 (±1.04)	27.94 (±0.42)	28.35 (±0.50)	28.87 (±0.53)	27.72 (±0.22)	28.97 (±0.24)	30.67 (±0.65)	31.05 (±0.67)	31.16 (±0.63)	31.99 (±0.35)	32.27 (±0.34)	32.27 (±0.24)
pH (Unidades)	9.40 (±0.13)	9.43 (±0.14)	9.43 (±0.15)	9.52 (±0.20)	9.46 (±0.14)	9.47 (±0.15)	9.47 (±0.15)	9.47 (±0.16)	9.48 (±0.16)	9.48 (±0.15)	9.48 (±0.15)	9.48 (±0.16)
CE (µS/cm)	13.82 (±1.52)	15.39 (±0.24)	15.46 (±0.18)	12.98 (±0.43)	12.95 (±0.36)	12.67 (±0.21)	12.93 (±0.28)	13.12 (±0.47)	13.15 (±0.27)	16.76 (±0.42)	16.96 (±0.55)	16.94 (±0.45)
TRY (RFU)	4.76 (±0.30)	5.99 (±1.38)	5.91 (±1.28)	7.99 (±1.66)	8.98 (±1.72)	8.63 (±1.59)	8.89 (±1.72)	9.22 (±1.96)	9.14 (±1.65)	8.03 (±1.81)	7.98 (±1.70)	7.92 (±1.81)
CHL (RFU)	0.42 (±0.22)	0.57 (±0.16)	0.60 (±0.17)	0.29 (±0.16)	0.31 (±0.17)	0.32 (±0.17)	0.34 (±0.16)	0.35 (±0.19)	0.34 (±0.18)	0.76 (±0.21)	0.76 (±0.19)	0.77 (±0.19)
PHY (RFU)	0.62 (±0.23)	0.84 (±0.19)	0.91 (±0.17)	0.65 (±0.29)	0.74 (±0.30)	0.73 (±0.32)	0.66 (±0.31)	0.66 (±0.31)	0.68 (±0.34)	0.72 (±0.32)	0.76 (±0.29)	0.76 (±0.33)
PHY/CHL	2.15 (±1.94)	1.54 (±0.41)	1.60 (±0.41)	3.55 (±5.71)	5.76 (±8.40)	4.34 (±5.34)	3.37 (±4.74)	2.60 (±1.89)	2.91 (±2.48)	0.91 (±)	0.97 (±0.27)	0.96 (±0.31)
µ (d ⁻¹)	-0.08 (±0.18)	-0.01 (±0.25)	-0.01 (±0.27)	0.03 (±0.48)	0.09 (±0.69)	0.08 (±0.60)	0.10 (±0.59)	0.11 (±0.56)	0.08 (±0.58)	-0.01 (±0.16)	0.01 (±0.15)	0.01 (±0.14)
SV (mg/L)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Y TRY (µg TRY/mg SV)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Y CHL (µg CHL/mg SV)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Y PHY (µg PHY/mg SV)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

Ctr: Control, Min: Suplemento mínimo de nutrientes, Max: Suplemento máximo de nutrientes, NT: Nitrógeno total, PT: Fósforo total, T: Temperatura, CE: Conductividad eléctrica, RFU: Unidades de fluorescencia relativa, TRY: L-triptófano, CHL: Clorofila a, PHY: Ficocianina, µ: Tasa de crecimiento específico, SV: Sólidos volátiles, Y: Coeficiente de rendimiento, N/A: No aplica.

Tabla 33. Análisis descriptivo de la cinética de crecimiento de cultivos *in vitro* de *Chlorella sp.* (GA), *Spirulina sp.* (CY) y mixtos (MC) suplementados con nitrógeno y fósforo

Parámetro	<i>Chlorella sp.</i> (GA)				<i>Spirulina sp.</i> (CY)				Cultivos mixtos (MC)			
	3000 lx		5000 lx		3000 lx		5000 lx		3000 lx		5000 lx	
	+N	+P	+N	+P	+N	+P	+N	+P	+N	+P	+N	+P
NT (mg N/L)	149.32	49.32	149.32	49.32	149.32	49.32	149.32	49.32	149.32	49.32	149.32	49.32
PT (mg P/L)	22.69	32.69	22.69	32.69	22.69	32.69	22.69	32.69	22.69	32.69	22.69	32.69
T (°C)	27.55 (±0.82)	27.76 (±1.01)	27.64 (±0.41)	28.02 (±0.41)	27.83 (±1.12)	28.08 (±1.08)	28.35 (±0.41)	28.41 (±0.47)	28.05 (±1.03)	28.08 (±0.89)	28.44 (±0.44)	28.09 (±0.58)
pH (Unidades)	9.39 (±0.15)	9.38 (±0.14)	9.53 (±0.25)	9.52 (±0.25)	9.44 (±0.14)	9.43 (±0.13)	9.60 (±0.26)	9.58 (±0.24)	9.39 (±0.12)	9.39 (±0.14)	9.55 (±0.24)	9.53 (±0.22)
CE (µS/cm)	11.96 (±1.39)	12.62 (±1.53)	12.36 (±0.38)	12.49 (±0.31)	14.05 (±1.49)	14.24 (±1.60)	13.96 (±0.32)	14.14 (±0.34)	12.45 (±0.39)	12.34 (±0.75)	13.16 (±0.58)	12.94 (±0.32)
TRY (RFU)	3.48 (±0.41)	3.38 (±0.28)	4.53 (±0.40)	4.59 (±0.45)	9.39 (±1.30)	9.74 (±1.74)	9.76 (±2.03)	10.39 (±2.44)	6.38 (±1.22)	6.69 (±1.24)	7.63 (±1.49)	7.91 (±1.48)
CHL (RFU)	0.54 (±0.09)	0.56 (±0.08)	0.48 (±0.22)	0.53 (±0.18)	0.10 (±0.23)	0.10 (±0.23)	0.14 (±0.17)	0.14 (±0.18)	0.33 (±0.11)	0.35 (±0.15)	0.31 (±0.14)	0.29 (±0.15)
PHY (RFU)	0.20 (±0.06)	0.20 (±0.06)	0.24 (±0.21)	0.25 (±0.18)	0.98 (±0.22)	0.88 (±0.20)	1.01 (±0.32)	0.93 (±0.29)	0.61 (±0.15)	0.55 (±0.13)	0.68 (±0.29)	0.63 (±0.25)
PHY/CHL	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	2.37 (±1.70)	1.92 (±1.06)	2.57 (±1.68)	4.89 (±8.64)
µ (d ⁻¹)	-0.03 (±0.09)	0.00 (±0.08)	0.07 (±0.27)	0.07 (±0.17)	0.04 (±0.12)	0.06 (±0.12)	0.35 (±0.70)	0.31 (±0.64)	-0.07 (±0.14)	-0.10 (±0.16)	0.01 (±0.27)	0.09 (±0.46)
SV (mg/L)	181 (±94)	202 (±82)	121 (±216)	166 (±175)	249 (±123)	250 (±137)	206 (±178)	208 (±183)	N/A	N/A	N/A	N/A
Y TRY (µg TRY/mg SV)	0.35 (±1.04)	0.20 (±1.10)	2.73 (±0.46)	2.11 (±0.63)	6.60 (±1.83)	6.26 (±1.33)	8.05 (±2.87)	8.70 (±3.33)	N/A	N/A	N/A	N/A
Y CHL (µg CHL/mg SV)	1.52 (±0.50)	1.12 (±0.87)	1.28 (±0.93)	1.33 (±0.91)	0.52 (±0.63)	0.64 (±0.63)	0.49 (±0.62)	0.48 (±0.59)	N/A	N/A	N/A	N/A
Y PHY (µg PHY/mg SV)	0.02 (±0.07)	0.02 (±0.06)	0.02 (±0.05)	0.02 (±0.06)	0.04 (±0.08)	0.04 (±0.08)	0.06 (±0.06)	0.04 (±0.10)	N/A	N/A	N/A	N/A

+N: Suplemento de nitrógeno, +P: Suplemento de fósforo, NT: Nitrógeno total, PT: Fósforo total, T: Temperatura, CE: Conductividad eléctrica, RFU: Unidades de fluorescencia relativa, TRY: L-triptófano, CHL: Clorofila a, PHY: Ficocianina, µ: Tasa de crecimiento específico, SV: Sólidos volátiles, Y: Coeficiente de rendimiento, N/A: No aplica.

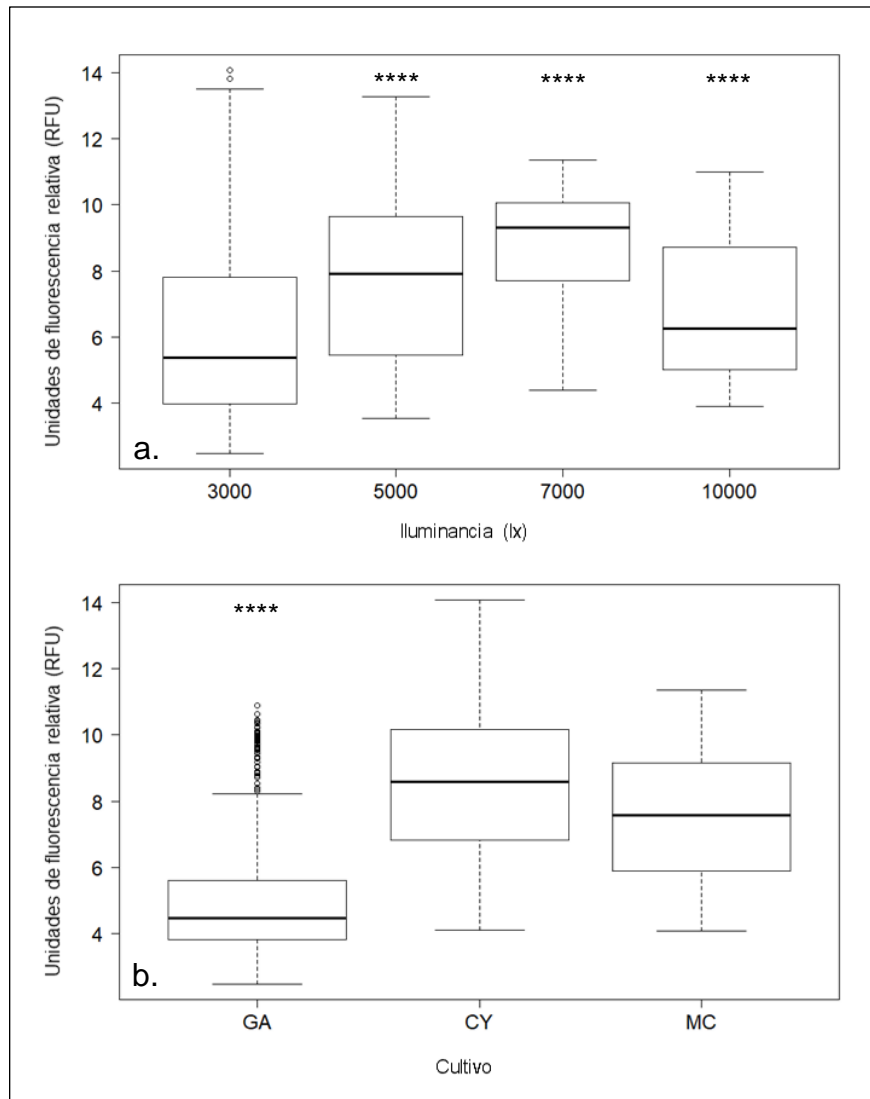


Figura 41. Dinámica del L-triptófano (TRY) en cultivos *in vitro* de *Chlorella sp.* (GA), *Spirulina sp.* (CY) y mixtos (MC) a diferentes iluminancias. a. Síntesis de TRY de acuerdo con las iluminancias empleadas; b. Síntesis de TRY de acuerdo con los cultivos empleados. (*valor- $p \leq 0.05$, **valor- $p \leq 0.01$, ***valor- $p \leq 0.001$, ****valor- $p \leq 0.0001$).

nutrientes. Sin embargo, para los tres cultivos analizados (GA, CY y MC) el aumento en la concentración de N o de P representó una síntesis de TRY más baja. Esto podría indicar que la síntesis de TRY se reduciría por la limitación de alguno de los macronutrientes esenciales (N o P). Así mismo, la síntesis de TRY estuvo afectada por las tasas bajas de crecimiento que presentaron los MC para las diferentes iluminancias empleadas en la experimentación.

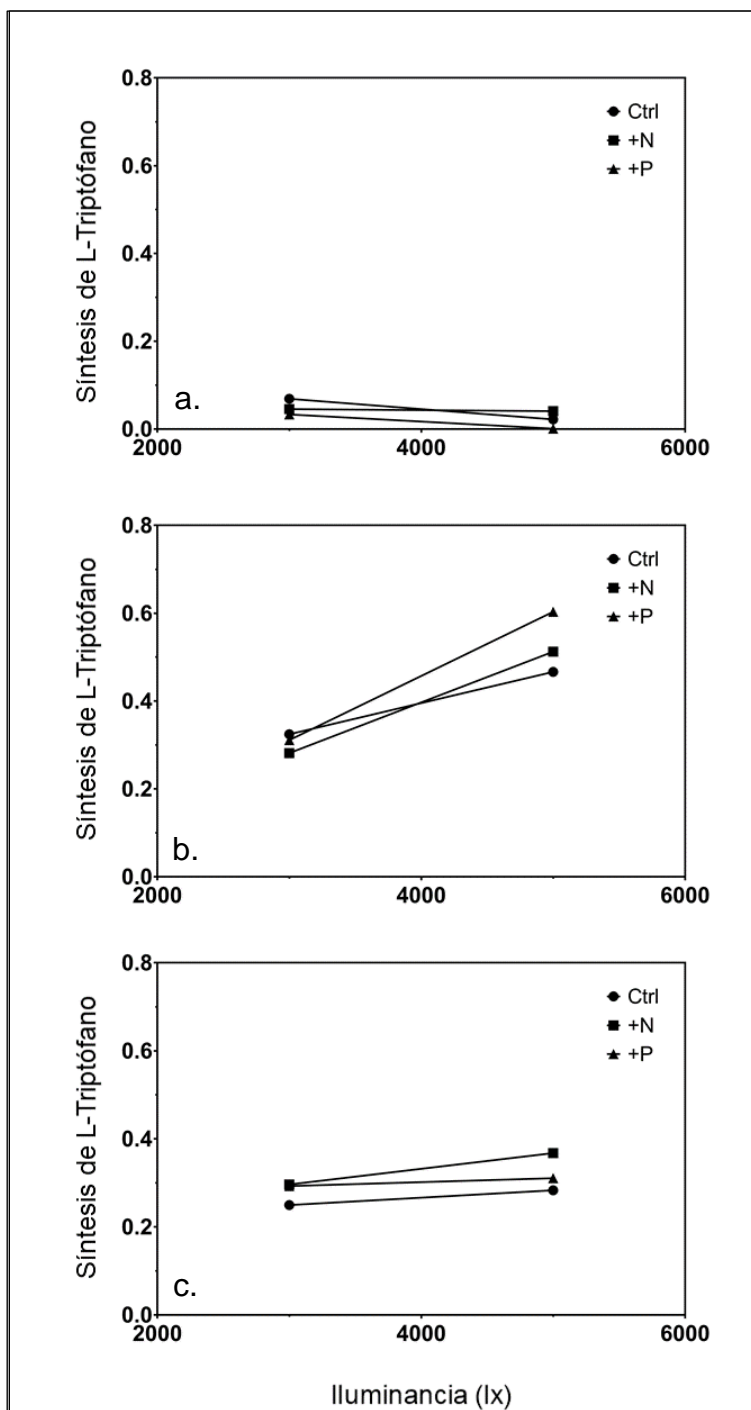


Figura 42. Pend...ltivos *in vitro* de *Chlorella sp.* (GA), *Spirulina sp.* (CY) y mixtos (MC) a diferentes iluminancias y concentración de nutrientes. a. Síntesis de TRY en cultivos de *Chlorella sp.* (GA); b. Síntesis de TRY en cultivos de *Spirulina sp.* (CY); c. Síntesis de TRY en cultivos mixtos (MC).

Figura 43. Pendiente de la cinética descrita por el L-triptófano (TRY) en cultivos *in vitro* de *Chlorella sp.* (GA), *Spirulina sp.* (CY) y mixtos (MC) a diferentes iluminancias y suplementados con N y P. a. Síntesis de TRY en cultivos de *Chlorella sp.* (GA); b. Síntesis de TRY en cultivos de *Spirulina sp.* (CY); c. Síntesis de TRY en cultivos mixtos (MC). De forma similar, la producción de TRY estuvo afectada por la disponibilidad de P para los cultivos de CY (Figura 43b) y de N para los cultivos MC (Figura 43c). A este respecto, la información obtenida no fue suficiente para el entendimiento de ambos fenómenos, así como la revisión de literatura tampoco ha dejado ver información relevante al respecto. A partir

del análisis de varianza, se pudieron establecer diferencias estadísticamente significativas para la obtención de TRY en los cultivos de GA (valor- $p < 0.005$) y CY (valor- $p < 0.0005$) a 3000 lux y en todos los cultivos a 5000 lux (valor- $p < 0.0005$ para GA y valor- $p < 0.05$ para CY y MC). Mientras que, para 7000 y 10000 lux no se encontraron diferencias significativas entre la producción de TRY en ninguno de los cultivos.

4.6.2. Análisis de la dinámica de la clorofila- a (CHL)

Diversos autores han discutido acerca de la importancia de la CHL para la estimación de la productividad primaria y la actividad fotosintética del fitoplancton en ecosistemas acuáticos (Krause, 1991). Sin embargo, dichos estudios no han demostrado que exista una relación directa entre la concentración de la CHL y la concentración de biomasa (Bellinger y Sigee, 2015). A pesar de lo anterior, el análisis de la dinámica descrita por la CHL permite estimar el crecimiento de microalgas debido a que es un catalizador para la obtención de nueva biomasa y la síntesis de metabolitos tanto primarios, como secundarios (Barsanti y Gualtieri, 2014). En este sentido, la aplicación de técnicas de fluorescencia permite la estimación *in situ* de la concentración de CHL en cultivos de microalgas para estimar su crecimiento (Suggett *et al.*, 2010).

De acuerdo con lo anterior, se elaboraron curvas de calibración de forma diferenciada para los cultivos de GA y CY que permitieran determinar la concentración de biomasa en función de la concentración de (APHA *et al.*, 2017). De esta manera se calcularon las μ de acuerdo con lo descrito por Honda *et al.* (2012) para cada especie modelo (GA y CY). Esto permitió analizar más fácilmente la dinámica descrita por las diferentes combinaciones de cultivos empleadas en la experimentación. Es necesario aclarar que para los MC no se determinaron los coeficientes cinéticos, debido a que las interacciones entre las GA y CY podrían afectar la calibración.

La dinámica descrita por la CHL en cultivos *in vitro* de GA, CY y MC, se representa en la Figura 44. Los resultados obtenidos permitieron determinar que la síntesis de CHL varió de acuerdo con la iluminancia durante la experimentación. El análisis de varianza permitió establecer diferencias estadísticamente significativas entre la producción de CHL y las distintas iluminancias (valor- $p < 0.0005$). La concentración media más elevada de CHL (0.28 mg CHL/L) se alcanzó para una iluminancia de 10000 lux, seguida de 3000 lux con una concentración media de 0.12 mg CHL/L. A este respecto, Sorokin y Krauss (1958) argumentan que las tasas de crecimiento son afectadas directamente por la disponibilidad de energía lumínica y el incremento de la T en el ecosistema. Esto sugiere que las tasas de crecimiento aumentaron en los cultivos a medida que aumentaba la iluminancia, de forma similar a lo descrito por el TRY.

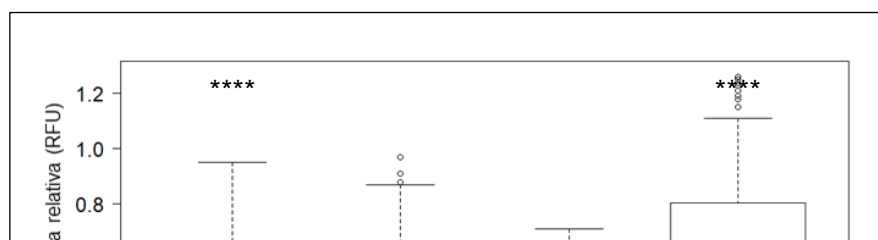


Figura 44. Dinámica de la clorofila *a* (CHL) en cultivos *in vitro* de *Chlorella sp.* (GA), *Spirulina sp.* (CY) y mixtos (MC) a diferentes iluminancias. a. Síntesis de CHL de acuerdo con las iluminancias empleadas; b. Síntesis de CHL de acuerdo con los cultivos empleados (*valor-*p* ≤ 0.05, **valor-*p* ≤ 0.01, ***valor-*p* ≤ 0.001, ****valor-*p* ≤ 0.0001).

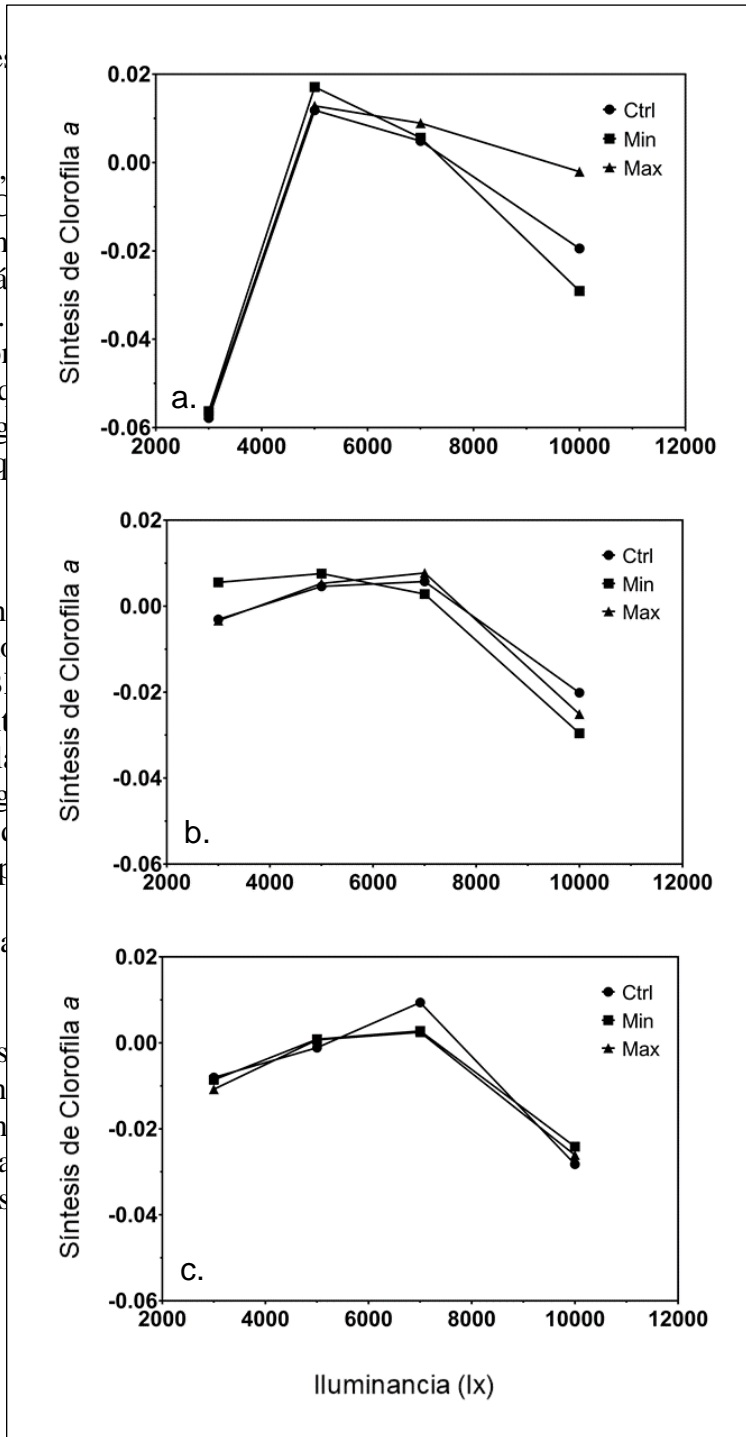
No obstante, las concentraciones medias más bajas se obtuvieron con iluminancias de 5000 y 7000 lux, con 0.02 mg CHL/L y 0.06 mg CHL/L respectivamente. Esto podría relacionarse con la agregación celular de las microalgas en los medios de cultivo, lo que dificulta la estimación de la CHL en el espectrofluorómetro. Como alternativa, el protocolo para la medición de parámetros incluyó la sonicación previa de cada muestra a una amplitud del 10% durante 10 segundos. Dicho proceso favorece la dispersión celular en la muestra sin generar un daño estructural y facilitar la medición, aunque los resultados obtenidos evidencian que no fue suficiente. De acuerdo con lo anterior, S. Li *et al.* (2020) argumentan que la formación de flóculos pueden depender del estrés inducido por la falta de nutrientes y presencia de

algunos metales
de acuerdo con la es

Adicionalmente,
producción de C
concentración m
CHL/L) y la má
como Mur *et al.*
comparación cor
podrían sugerir c
indican que la ag
CHL, debido a q

A este respecto,
la concentración
floculación como
como en el FTB
aportan suficien
establecer que l
aumenta la energ
Esto se debe a c
mayor energía p
nutrientes. En
($p < 0.0005$) entre la

La dinámica des
para las diferen
experimentación
cultivos adiona
con el análisis es



pueden variar de

ativas entre la
($p < 0.0005$). La
de GA (0.16 mg
respecto, autores
ento menores en
cultivos de CY,
. Los resultados
as mediciones de
O.

($p < 0.0005$) entre
dría favorecer la
cultivos *in vitro*,
perimentación no
ro lado, se pudo
L a medida que
s cultivos de GA.
pueden emplear
isponibilidad de
de 0.16 (valor- p

s de crecimiento
empleadas en la
descrias por los
46. De acuerdo

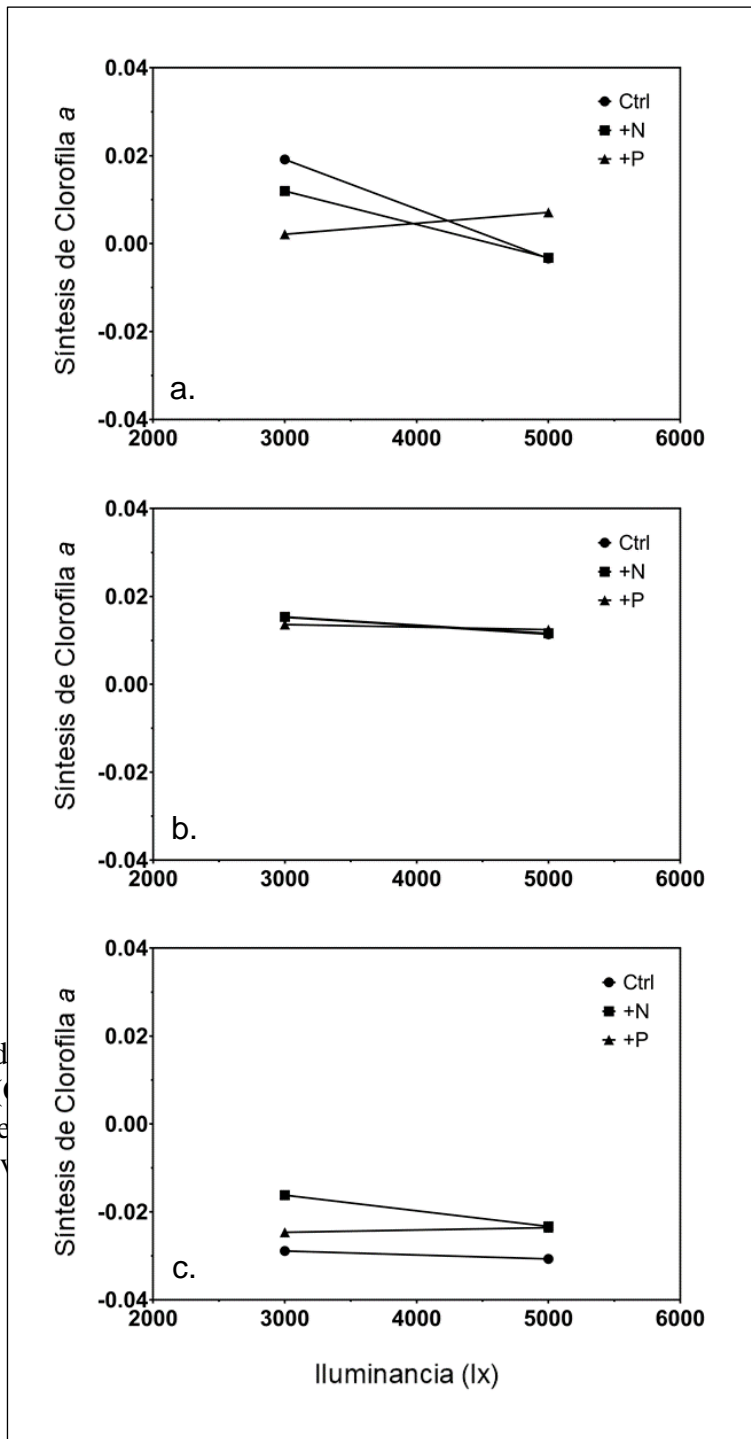


Figura 45. Pend...
Chlorella sp. (C...
 concentración de...
 de CHL en cultiv...

ltivos *in vitro* de...
 iluminancias y...
 (GA); b. Síntesis...
 ixtos (MC).

Figura 46. Pendiente de la cinéticas descrita por la clorofila *a* (CHL) en cultivos *in vitro* de *Chlorella sp.* (GA), *Spirulina sp.* (CY) y mixtos (MC) a diferentes iluminancias y suplementados con N y P. a. Síntesis de CHL en cultivos de *Chlorella sp.* (GA); b. Síntesis de CHL en cultivos de *Spirulina sp.* (CY); c. Síntesis de CHL en cultivos mixtos (MC). únicamente presentaron diferencias estadísticamente significativas para la síntesis de CHL para una iluminancia de 5000 lux (valor-*p* <0.005). En contraste, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los cultivos de CY para las iluminancias de 3000 (valor-*p* <0.0005) y 5000 lux (valor-*p* <0.05), así como en los MC para una iluminancia de 3000 (valor-*p* <0.0005). Esto se relacionaría con una mayor síntesis de CHL de acuerdo con la disponibilidad de nutrientes. Mientras que, para el caso de los cultivos adicionados únicamente con N o P, la producción de CHL estuvo determinada por la disponibilidad de P. Lo que indicaría que en los cultivos Ctr y +N, la síntesis de CHL estuvo limitada por la concentración de P tanto para 3000, como para 5000 lux.

4.6.3. Análisis de la dinámica de la ficocianina (PHY)

De acuerdo con Oliver *et al.* (2012), la PHY es el mayor pigmento que compone el fotosistema de las CY para la absorción de energía lumínica, por lo que su determinación permite estimar el desarrollo de las CY en un ecosistema acuático (Gregor y Maršálek, 2005). En relación con lo anterior, se emplearon técnicas de fluorescencia para analizar la concentración de la PHY a partir de los cultivos *in vitro* de las especies modelo de GA, CY y MC. Así mismo, se prepararon curvas de calibración en los cultivos de GA y CY para establecer la concentración de PHY a lo largo de la experimentación mediante la aplicación del método de extracción descrito por Moraes *et al.* (2011). Para el caso de los cultivos MC, no se realizó la extracción de PHY debido a que las interacciones entre las especies de GA y CY podrían afectar la calibración. La dinámica descrita por la PHY en los cultivos *in vitro* de GA, CY y MC es presentada en la Figura 47.

En lo que respecta a la concentración de PHY determinada para los cultivos de GA (media de 0.043 μg PHY/L), podría considerarse como un error del método debido a que este pigmento accesorio es exclusivo de las CY y las criptofitas (Barsanti y Gualtieri, 2014). La dinámica descrita por la PHY en los cultivos *in vitro* de las especies modelo a partir de las concentraciones de nutrientes y las iluminancias empleadas en la experimentación, se presenta en la Figura 48. De forma similar, en la Figura 49 se ilustran las pendientes descritas por los cultivos adicionados con N y P a 3000 y 5000 lux.

Los resultados obtenidos evidenciaron que la síntesis de PHY no presentó diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes iluminancias a lo largo de la experimentación (valor- $p > 0.05$). Sin embargo, se pudo apreciar un incremento gradual en función de la energía lumínica disponible en los cultivos, hasta su decrecimiento significativo a 10000 lux (Figura 48a). La concentración media más elevada de PHY (46.23 μg PHY/L) se obtuvo para una iluminancia de 7000 lux y la más baja, para la iluminancia de 10000 lux con 42.07 μg PHY/L. Según Oliver *et al.* (2012), esto obedece a que al aumentarse la intensidad lumínica, el contenido de PHY en las células de las CY se reduce. Principalmente en ambientes con baja disponibilidad de N, lo que contribuye a que las CY degraden el pigmento como fuente de N orgánico.

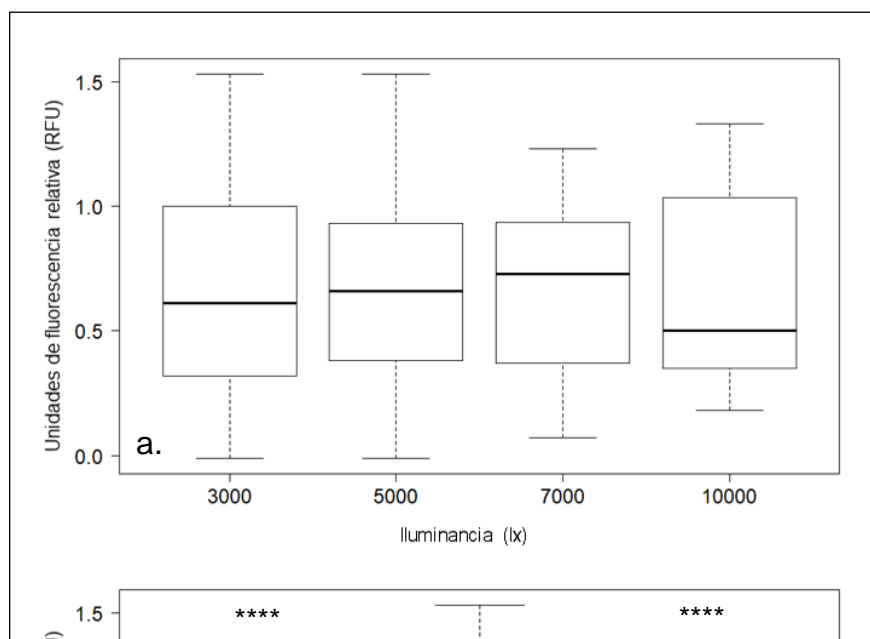
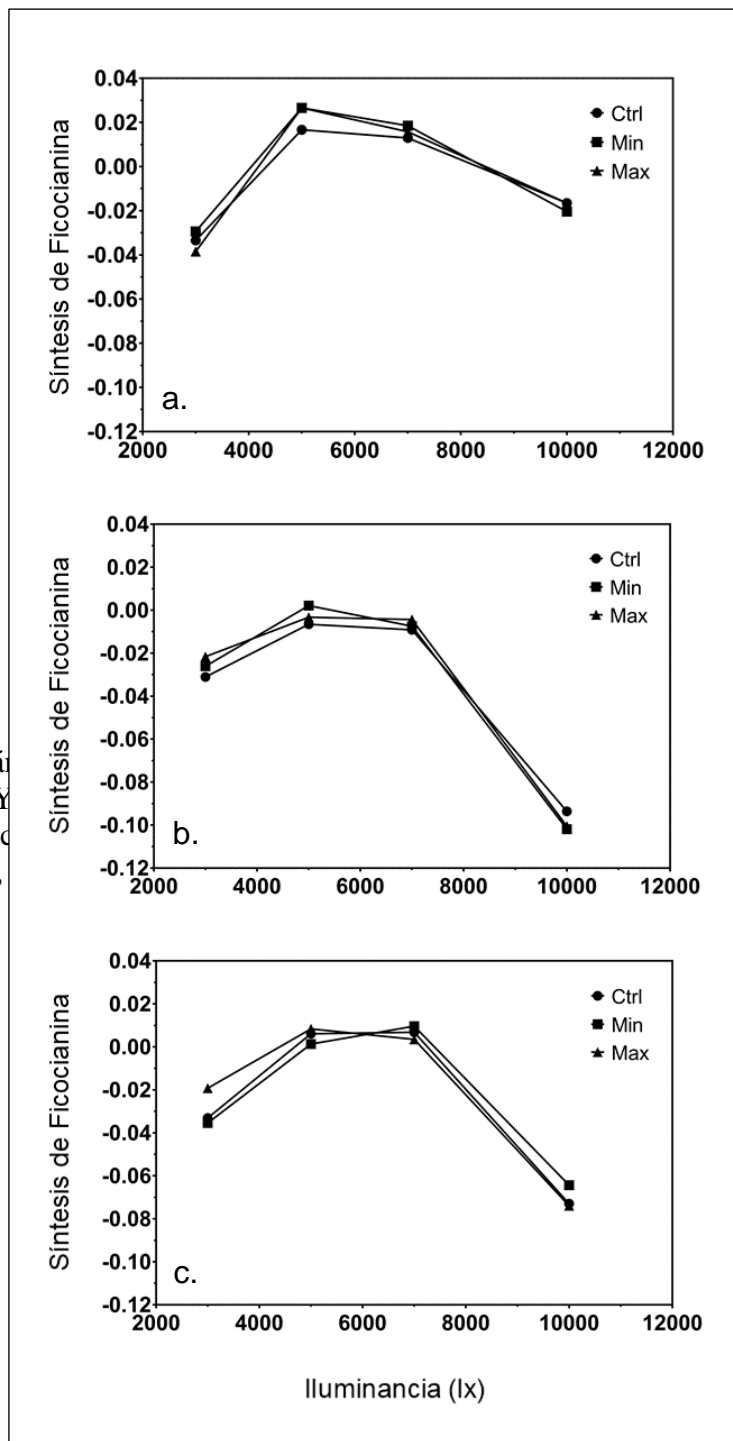
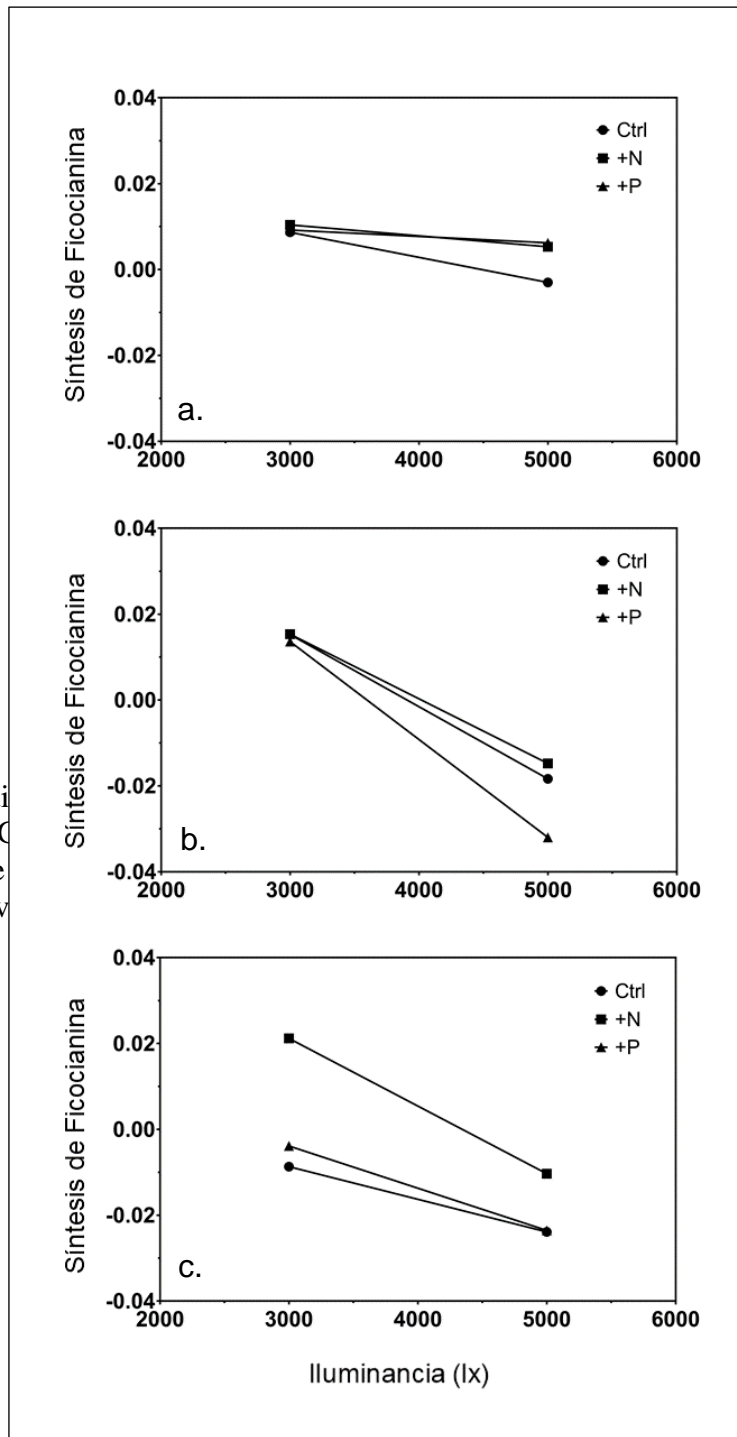


Figura 47. Dinámica de la síntesis de ficocianina en *Spirulina sp.* (CY) con las iluminancias de 2000, 5000 y 10000 lx (*valor- $p \leq 0.05$,



lorella sp. (GA), PHY de acuerdo a los resultados obtenidos en los experimentos realizados (valor- $p \leq 0.05$, $n = 3$ repeticiones).

Figura 48. Pendi *Chlorella sp.* (C concentración de de PHY en cultiv



ultivos *in vitro* de iluminancias y (GA); b. Síntesis mixtos (MC).

Figura 49. Pendientes de la cinética descrita por la ficocianina (PHY) en cultivos *in vitro* de *Chlorella sp.* (GA), *Spirulina sp.* (CY) y mixtos (MC) a diferentes iluminancias y suplementados con N y P. a. Síntesis de PHY en cultivos de *Chlorella sp.* (GA); b. Síntesis de PHY en cultivos de *Spirulina sp.* (CY); c. Síntesis de PHY en cultivos mixtos (MC).

Por otro lado, Richa y Häder (2016) argumentan que los altos niveles de radiación fotosintéticamente activa (o PAR, por sus siglas en inglés) reducen rápidamente el contenido de PHY en las CY. Sobre todo, cuando los cultivos de CY son sometidos a altas radiaciones de rayos UV-B. A este respecto, es más probable que la PHY haya sido desnaturalizada a iluminancias de 10000 lux debido a la radiación UV-B generada por las lámparas fluorescentes, de acuerdo con la información proporcionada por el fabricante. Entre tanto, el análisis de los datos estableció diferencias estadísticamente significativas para la concentración de PHY en los cultivos GA, CY y MC (valor- $p < 0.0005$). Como era de esperarse, los valores más elevados se obtuvieron a partir de cultivos de CY, seguidos por los MC.

El análisis estadístico permitió establecer diferencias significativas para la síntesis de PHY en cultivos de CY y en los cultivos MC, para una iluminancia de 3000 lux (valor- $p < 0.0005$ para ambos casos). Los resultados sugieren que la obtención de PHY por parte de las CY es influenciada por la concentración de nutrientes bajo condiciones de luminosidad reducida. Mientras que, en condiciones de mayor luminosidad, la disponibilidad de nutrientes no estimula la síntesis de PHY. Para el caso de los ensayos con +N y +P, se obtuvo una mayor producción de PHY en cultivos de CY con relaciones de N:P más elevadas (Ctr y +P), lo que indicaría una posible metabolización de la PHY como fuente de N. Por lo tanto, bajo condiciones de abundancia lumínica, la célula aprovecharía más fácilmente el N requerido

para sus procesos metabólicos de una fuente orgánica propia antes que del medio. Mientras que en los cultivos MC, la síntesis de PHY fue mayor únicamente bajo condiciones de abundancia de N. Esto probablemente se deba a que en los cultivos Ctr la disponibilidad del N sea menor debido a la competencia con las GA y sea necesaria la degradación de la PHY como fuente de N.

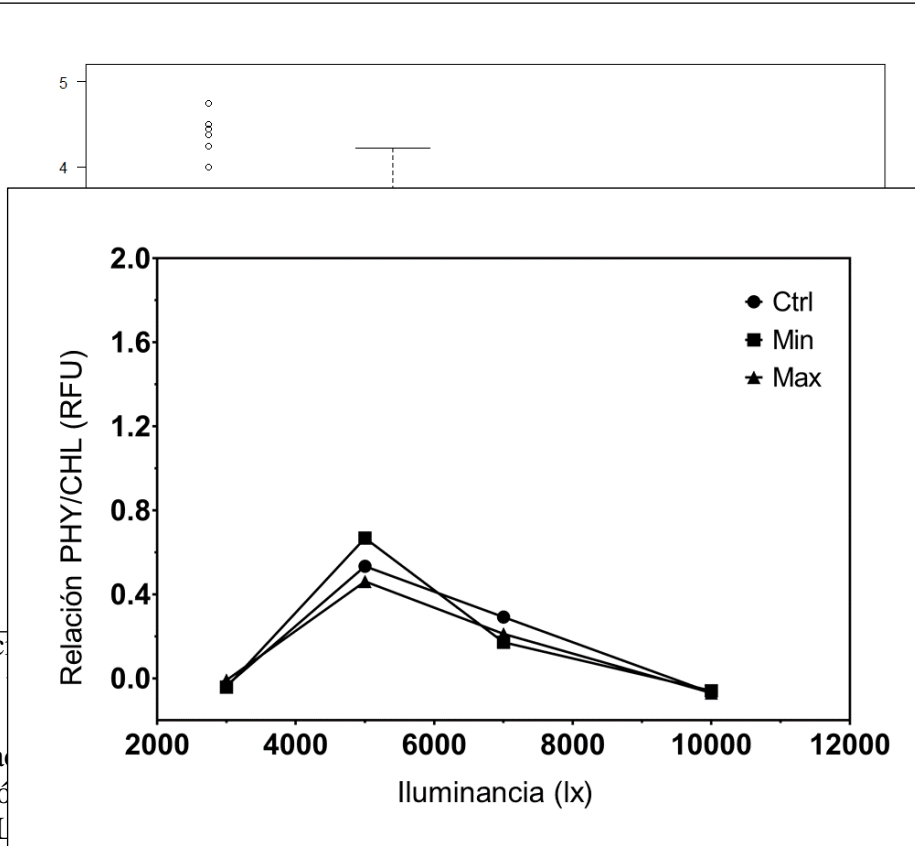
4.6.4. Análisis de la dinámica de la relación ficocianina/clorofila *a* (PHY/CHL)

La dinámica descrita por la relación PHY/CHL en los cultivos MC bajo condiciones de crecimiento con iluminancia variable, se ilustra en la Figura 50. Como puede apreciarse, la relación PHY/CHL presentó niveles por encima de 1.0 para las iluminancias de 3000 (media de 2.00 RFU), 5000 (media de 4.00 RFU) y 7000 lux (media de 2.96 RFU). Únicamente los cultivos que crecieron a 10000 lux presentaron una relación PHY/CHL menor a 1.0 (0.95 RFU). De acuerdo con Gregor y Maršálek (2005), la aplicación del método representa cualitativamente la dominancia de las CY en comparación con otros grupos taxonómicos de microalgas que pueden estar presentes en el medio. Por lo tanto, los resultados obtenidos evidenciaron que, en ambientes mixtos, las CY tienden a dominar los ecosistemas en función de su abundancia relativa como pudo corroborarse en el FTBR.

Figura 50. Dinámica de la relación ficocianina/clorofila *a* (PHY/CHL) en cultivos *in vitro* mixtos (MC) de *Chlorella sp.* y *Spirulina sp.* iluminancias.

De forma
con adic
además,
la intens
ecosiste
con resp
(Valor-p
que la al
sino más

Dichas
regulaci
et al. (20
prolifera
°C. Esto
microalg
iluminanc
permitan
obtenidos
la elimina
eliminació
PHY/CHL



s mixtos
ugieren,
es como
es en el
Y/CHL,
utrientes
ostienen
de CY,

incluir la
V. Davis
sobre la
e los 25
tivos de
(TRS,
onales que
los datos
e favorece
voren la
a relación
deberse a

una disminución de la CHL debido a la agregación celular.

Figura 51. Pendientes de la cinética descrita por la relación de ficocianina/clorofila *a* (PHY/CHL) en cultivos *in vitro* mixtos (MC) de *Chlorella sp.* y *Spirulina sp.* a diferentes iluminancias y concentración de nutrientes.

4.6.5. Análisis estadístico multivariado del estudio de la ecología microbiana de microalgas en cultivos *in vitro*

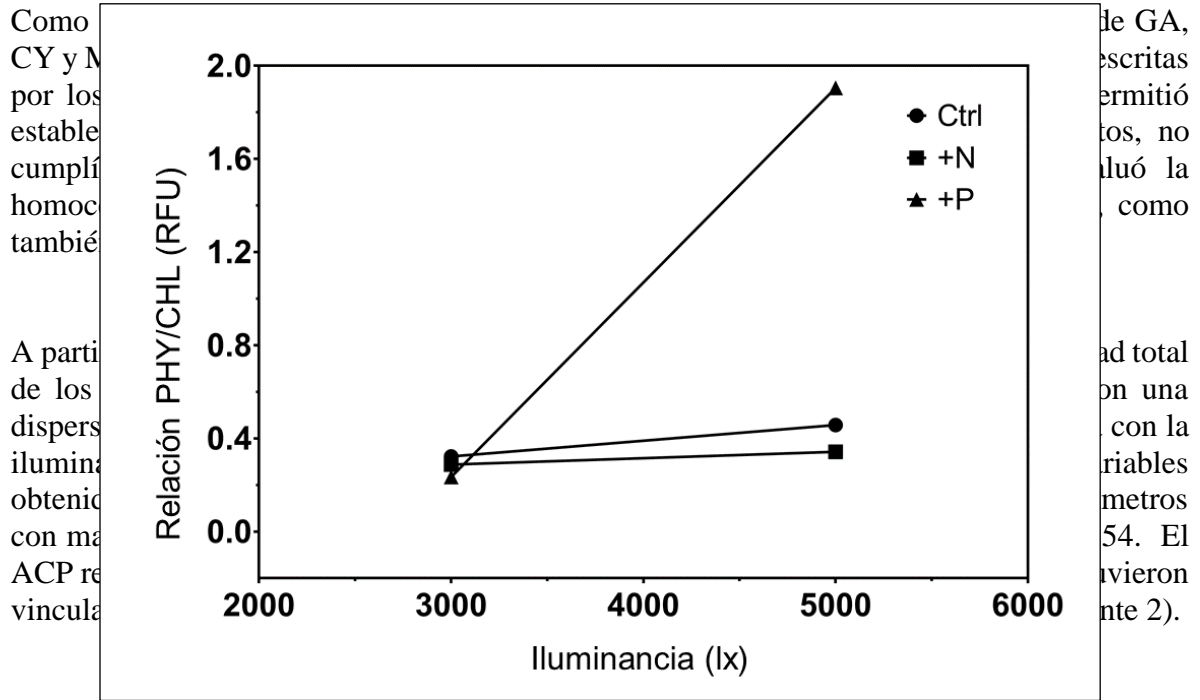
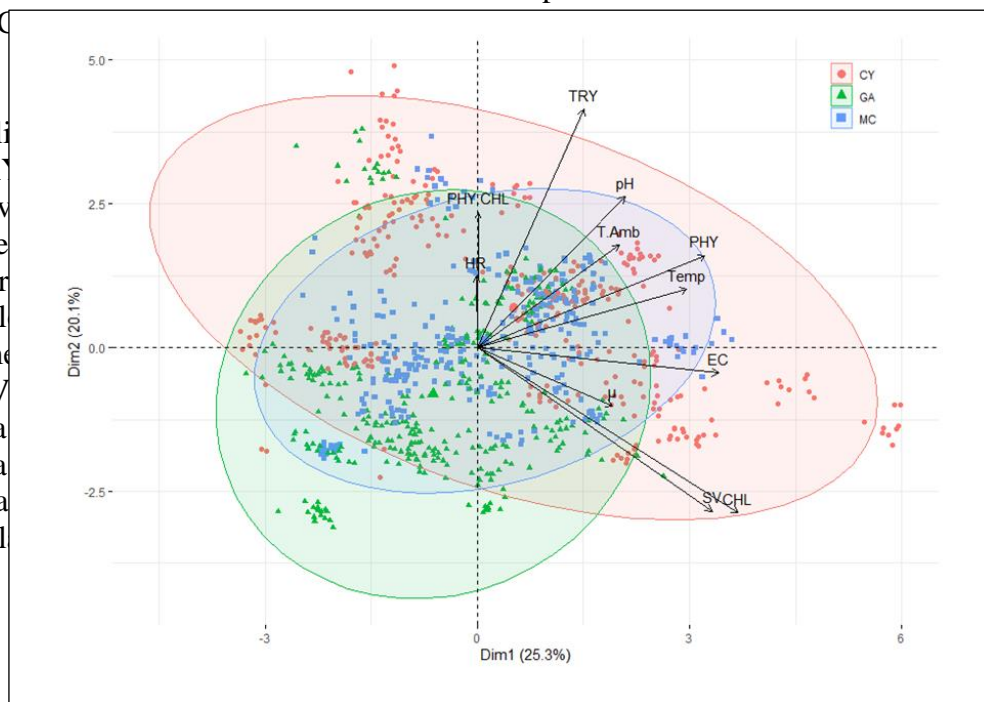


Figura 52. Pendientes de la cinética descrita por la relación de ficocianina/clorofila a (PHY/C

El análisis del TR (0.61, v mayor encontrado PHY, 1 Finalmente 0.14 (V energía medida la radiación acumul



dinámicas PHY/CHL sintetizar co. Se HL y la arrollo. PHY de - con alta cultivo a ento en lucir su

Figura 53. Análisis de componentes principales determinado a partir del estudio de la ecología microbiana de microalgas en cultivos *in vitro*

Tabla 34. Parámetros con mayor significancia para el análisis de componentes principales determinado a partir del estudio de la ecología microbiana de microalgas en cultivos *in vitro*

Componente 1		Componente 2	
Parámetro	Peso	Parámetro	Peso
CHL (RFU)	0.74	TRY (RFU)	0.83
CE (μS/cm)	0.68	CHL (RFU)	-0.57
SV (mg/L)	0.66	SV (mg/L)	-0.57
PHY (RFU)	0.64	pH (Unidades)	0.52
T (°C)	0.59	PHY/CHL (RFU)	0.47

CHL: Clorofila a, CE: Conductividad eléctrica, SV: Sólidos volátiles, PHY: Ficocianina, T: Temperatura, TRY: L-Triptófano, PHY/CHL: Relación Ficocianina/Clorofila a, RFU: Unidades de fluorescencia relativa.

5. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO

La presente investigación fue desarrollada con la motivación de explorar alternativas sostenibles para la remoción de nutrientes a partir de las aguas residuales y minimizar el impacto generado sobre los cuerpos de agua en el país. Esto debido al estado trófico actual de las fuentes hídricas en el territorio nacional y al deterioro de la calidad del recurso debido al vertimiento de dichas aguas. Especialmente si se tienen en cuenta los riesgos generados por la eutrofización para la estabilidad de los ecosistemas acuáticos y la salud pública, en combinación con el cambio climático. En este mismo sentido, se considera necesaria la actualización de las políticas públicas para la regulación del vertimiento de nitrógeno y fósforo a un límite máximo permisible para los distintos sectores productivos, especialmente el doméstico.

Con esto en mente, se diseñó y construyó un sistema híbrido alternativo para la remoción biológica de materia orgánica, nitrógeno y fósforo. Para su alimentación se empleó un agua residual sintética de características similares a las de un agua residual doméstica de composición media y alto contenido de nutrientes. El sistema híbrido estuvo integrado por dos fases dispuestas en serie, por un reactor anaerobio de alta tasa y un fotobiorreactor con iluminación artificial. Los resultados obtenidos permitieron comprobar que la aplicación de cultivos mixtos de microalgas o *ficorremediación* tienen un alto potencial para la eliminación de nutrientes a partir de las aguas residuales. Así mismo, se pudo determinar que el estudio de la ecología microbiana se hace necesario para la optimización de las condiciones de operación de sistemas de tratamiento similares a gran escala. Principalmente, con el objetivo de obtener altas eficiencias de remoción de nutrientes a partir de aguas residuales domésticas de naturaleza compleja.

El análisis de los resultados obtenidos a lo largo de la experimentación, los cuales han sido ampliamente discutidos en el presente documento, permitió plantear las conclusiones que se presentan a continuación. Adicionalmente, se proponen algunas recomendaciones a tener en cuenta en trabajos de investigación futuros que empleen cultivos de microalgas para el tratamiento de aguas residuales domésticas.

5.1. Conclusiones

- La tasa de amonificación favoreció el consumo de nitrógeno en el reactor anaerobio de alta tasa, al ser 1.6 más elevado que la relación teórica de consumo para el metabolismo anaerobio establecida por la literatura. Este fenómeno puede relacionarse con que el NH_4^+ es la forma de N más fácilmente asimilable por los procariontes en ecosistemas acuáticos.

- La disponibilidad de polifosfatos (determinados como PT-PO4³⁻ = PoliP) en el agua residual favorece la asimilación de nutrientes esenciales por parte de algunas poblaciones microbianas en los reactores anaerobios, ya que no se requiere mayor inversión energética para fosforilar los compuestos de carbono al ser transportados a través de la membrana celular.
- La aplicación de cultivos mixtos de microalgas como tratamiento terciario para la eliminación de nutrientes a partir de aguas residuales domésticas es viable. Sin embargo, es necesario realizar una evaluación de las poblaciones de microalgas a emplear como inóculo para evitar el desarrollo de especies que puedan aportar metabolitos secundarios como cianotoxinas o similares al efluente del sistema.
- Los cambios poblacionales de microalgas durante la operación del sistema tuvieron un impacto significativo en la eficiencia de remoción de nutrientes. Adicionalmente, el aumento en la concentración de parámetros analizados en el efluente del fotobiorreactor sugiere que la biomasa acumulada en el sedimentador fue constantemente remineralizada, al aumentar la concentración de nutrientes en la columna de agua.
- El análisis de la dinámica de consumo de nutrientes permitió establecer a partir de la relación ficocianina/clorofila *a* (PHY/CHL) que el consumo de nitrógeno máximo (30 mg NT/h) fue más elevado cuando las cianobacterias dominaron el ecosistema del fotobiorreactor (relación PHY/CHL > 1). En contraste, el consumo de fósforo en el fotobiorreactor alcanzó su punto máximo (5 mg PT/L) cuando las algas verdes dominaron el ecosistema en el fotobiorreactor (relación PHY/CHL < 1). Dicho fenómeno es acorde con lo publicado previamente por otros autores en ecosistemas acuáticos naturales.
- El estudio de la ecología microbiana y los análisis poblacionales de cultivos mixtos de microalgas, permiten definir las condiciones óptimas de operación en sistemas para la eliminación de nutrientes a partir de aguas residuales domésticas. La inclusión de dichos análisis como mecanismo de control favorecería los rendimientos en la eliminación de nutrientes e identificar posibles variaciones operacionales. De allí que las condiciones de operación como el tiempo de retención de sólidos o TRS pueden ser ajustadas en función de la concentración de nutrientes a eliminar del agua residual. Esto se relaciona con que los TRS mayores a 5 días promueven la estabilización de las poblaciones en el sistema, al favorecer la remoción de fósforo y donde, en caso contrario, si los TRS son menores a 5 días, se puede favorecer la eliminación de nitrógeno.
- De acuerdo con los rendimientos obtenidos en el sistema híbrido, se requeriría una concentración media de biomasa algal de 0.20 mg DQO/mg SV·d, 0.02 mg NT/mg SV·d

y 4.55×10^{-4} mg PT/mg Sv en función de las características del agua residual doméstica o una relación volumen/volumen (v/v) de al menos 1:123 entre un reactor anaerobio de alta tasa y un fotobiorreactor con poblaciones mixtas de microalgas. Esto con el objetivo de remover biológicamente la totalidad de nutrientes a partir de aguas residuales domésticas de naturaleza compleja bajo condiciones de operación similares a las de este estudio.

- A partir del crecimiento de microalgas bajo condiciones *in vitro* se estableció que el L-triptófano cumple un papel fundamental en el proceso de biofloculación en cultivos de microalgas. En este sentido, no se evidenció una relación similar a partir de los análisis del L-triptófano y la clorofila *a* en el fotobiorreactor. Lo que podría deberse a que las muestras fueron tomadas en la columna de agua del fotobiorreactor durante su operación y se incluyó en las determinaciones a las poblaciones con baja floculación.
- El estudio de la ecología microbiana de cultivos *in vitro* de cianobacterias permitió establecer que la disponibilidad de nutrientes tiene una relación directa con la síntesis de ficocianina (PHY) únicamente bajo condiciones de crecimiento de baja iluminancia (3000 lux). Sin embargo y debido a que la ficocianina puede servir como reserva de nitrógeno a la célula, además de ser un pigmento accesorio en el fotosistema, es posible que a iluminancias mayores (5000, 7000 lux) la ficocianina sea *blanqueada* o degradada. Esta degradación podría incluir la inversión del nitrógeno energético en otros procesos celulares debido a la abundancia lumínica o a la desnaturalización del pigmento.
- El estrés lumínico induce el *blanqueamiento* o degradación de la ficocianina (PHY) en las cianobacterias. Por esta razón, la aplicación de técnicas fluorimétricas para la estimación de la ficocianina debe ser empleada en combinación con técnicas complementarias (microscopía, estimación de clorofila *c*) para evaluar el desarrollo de cianobacterias en sistemas con cultivos mixtos de microalgas.
- Las poblaciones de cianobacterias modelo (*Spirulina sp.*) tendieron a dominar los ecosistemas a iluminancias de 3000, 5000 y 7000 lux. Los resultados sugieren, que factores ambientales como la iluminancia y la temperatura pueden favorecer dicha dominancia, mientras que la concentración de nutrientes no genera ninguna afectación. En contraste, en la columna de agua del fotobiorreactor se encontraron correlaciones inversamente proporcionales entre la relación ficocianina/clorofila *a* y la temperatura del agua. Esto indicaría que la dominancia de las cianobacterias en el fotobiorreactor se relacionó mayoritariamente con el TRS del sistema.
- Se evidenció que la dinámica descrita por la eliminación de nutrientes está vinculada con la dominancia poblacional de microalgas en los sistemas. Por lo tanto, se podrían

emplear trenes de tratamiento con fotobiorreactores dispuestos en serie diseñados para operar bajo condiciones controladas e independientes (TRH, TRS), de manera que se favorezca el consumo de nitrógeno y fósforo de forma diferenciada a partir de las aguas residuales domésticas de naturaleza compleja.

5.2. Trabajo futuro

- Se recomienda realizar análisis de la dinámica de consumo de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo, así como la ecología microbiana de diferentes grupos de microalgas bajo condiciones de crecimiento *in vitro*. El entendimiento de estas dinámicas de consumo permitirá definir las estrategias óptimas para la operación de fotobiorreactores en la eliminación de nutrientes a partir de aguas residuales domésticas.
- De acuerdo con las eficiencias de remoción obtenidas, se recomienda analizar el efecto del régimen hidráulico en los fotobiorreactores sobre el rendimiento del sistema mediante la aplicación cultivos mixtos de microalgas para la eliminación de nutrientes a partir de aguas residuales domésticas.
- Se propone analizar el rendimiento de fotobiorreactores para la eliminación de nutrientes a partir de aguas residuales, mediante la aplicación de condiciones de crecimiento con fotoperiodos menores a 24 horas y distintas iluminancias. Adicionalmente, estos estudios deberían realizarse bajo condiciones reales de crecimiento, luz natural y en ambientes no controlados, con la intención de evaluar su potencial de aplicación a escala real.
- Se recomienda evaluar la riqueza trófica de las poblaciones microbianas en fotobiorreactores, mediante la aplicación de índices de diversidad. El análisis de los cambios poblacionales permitirá identificar los fenómenos vinculados con el consumo de nutrientes por las microalgas y de esta manera optimizar las condiciones de operación del sistema.
- Se recomienda diseñar estrategias que permitan la separación apropiada de la biomasa que pueda estar presente en los efluentes de fotobiorreactores para mejorar su calidad, así como minimizar el aporte de microorganismos exógenos a los cuerpos de agua en un eventual vertimiento.
- Se propone evaluar el potencial de utilización de la biomasa generada a partir de fotobiorreactores aplicados para la eliminación de nutrientes a partir de aguas residuales

domésticas. Esto con la intención de diseñar estrategias que permitan el aprovechamiento de los subproductos generados a partir de la operación, enmarcados dentro de las políticas de la sostenibilidad y la *bioeconomía*.

- De acuerdo con el estado trófico de los cuerpos de agua superficial en Colombia, se recomienda continuar con la investigación de procesos económicamente viables frente a los procesos convencionales de tratamiento. Principalmente si se tiene en cuenta que fenómenos ambientales como el cambio climático tienden a acentuar los efectos adversos sobre los ecosistemas acuáticos y la calidad del agua. Adicionalmente, se hace necesario diseñar estrategias que permitan la sustentabilidad de los sistemas de tratamiento de aguas residuales en el país, con la intención de alcanzar los compromisos adquiridos en los objetivos de desarrollo sostenible (ODS).

6. TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN DERIVADOS

A continuación, se hace mención de la dirección de trabajos de investigación derivados de la tesis doctoral con sus respectivos porcentajes de avance. Estos trabajos han sido desarrollados por estudiantes del programa de pregrado de Ingeniería Sanitaria de la Universidad de Antioquia.

- Berrío-Uribe, J., Berrio-Restrepo, J.M., Tobón-Espinosa, D.F. y Saldarriaga-Molina, J.C. Modelación hidrodinámica de un fotobiorreactor para la remoción biológica de nutrientes a partir de aguas residuales domésticas. Proyecto seleccionado para participar en el Congreso nacional organizado por la Red Institucional de Semilleros de investigación en representación del departamento de Antioquia. Porcentaje de avance: 50%.
- Carrillo-Machado, E.P., Berrio-Restrepo, J.M. y Saldarriaga-Molina, J.C. Análisis del desarrollo vegetal como alternativa para el pulimiento de aguas residuales domésticas previamente tratadas. Trabajo de grado.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A. A. y Ibraheem, I. B. (2012). Microalgae and wastewater treatment. *Saudi J Biol Sci*, 19(3), 257-275. doi:10.1016/j.sjbs.2012.04.005
- Akunna, J. C. (2019). *Anaerobic Wastewater Treatment and Biogas Plants: A Practical Handbook*. Boca Raton, USA: Taylor & Francis Group, LLC.
- Al-Jabri, H., Das, P., Khan, S., Thaher, M. y AbdulQuadir, M. (2020). Treatment of Wastewaters by Microalgae and the Potential Applications of the Produced Biomass—A Review. *Water*, 13(1). doi:10.3390/w13010027
- Alcántara, C., García-Encina, P. A. y Muñoz, G. (2013). Evaluation of mass and energy balances in the integrated microalgae growth-anaerobic digestion process. *Chemical Engineering Journal*, 221, 238-246.
- APHA, AWWA y WEF (Eds.). (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (23rd ed.). Washington D.C., USA: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Arbib, Z., Ruiz, J., Álvarez-Díaz, P., Garrido-Pérez, C., Barragan, J. y Perales, J. A. (2013). Long term outdoor operation of a tubular airlift pilot photobioreactor and a high rate algal pond as tertiary treatment of urban wastewater. *Ecological Engineering*, 52, 143-153. doi:10.1016/j.ecoleng.2012.12.089
- Ashok, V., Gupta, S. K. y Shriwastav, A. (2019). Photobioreactors for Wastewater Treatment. En S. K. Gupta y F. Bux (Eds.), *Application of Microalgae in Wastewater Treatment* (Vol. 1, pp. 383-409). Cham, Switzerland: Springer Nature AG.
- ASTM. (2012). D888-12 *Standard test methods for dissolved oxygen in water*. West Conshohocken, EUA: ASTM International.
- Atlas, R. M. y Bartha, R. (2002). *Ecología microbiana y microbiología ambiental* (2nd. ed.). Madrid, España: Pearson Educación S.A.
- Azizi, S. M. M., Dastyar, W., Meshref, M. N., Maal-Bared, R. y Dhar, B. R. (2021). Low-temperature thermal hydrolysis for anaerobic digestion facility in wastewater treatment plant with primary sludge fermentation. *Chemical Engineering Journal*, 426(130485), 1-13. doi:doi.org/10.1016/j.cej.2021.130485
- Barsanti, L. y Gualtieri, P. (2014). *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology* (2da ed.). Boca Raton, EUA: CRC Press.
- Bassin, J. P. (2018). Aerobic Granular Sludge Technology. En M. Dezotti, G. Lippel y J. P. Bassin (Eds.), *Advanced Biological Processes for Wastewater Treatment* (pp. 75-142). Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG.
- Bellinger, E. G. y Sigee, D. C. (2015). *Freshwater Algae: Identification, Enumeration and Use as Bioindicators* (2da ed.). Oxford, RU: Wiley Blackwell.
- Berrio-Restrepo, J. M. (2018). *Actividad enzimática extracelular (AEE) y ecología microbiana en un reactor uct modificado a escala de laboratorio*. (Maestría en Ingeniería Ambiental), Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
- Bhushan, S., Simsek, H., Krishna, A., Sharma, S. y Prajapati, S. K. (2019). Remediation of Domestic Wastewater Using Algal-Bacterial Biotechnology. En S. K. Gupta y F. Bux (Eds.), *Application of Microalgae in Wastewater Treatment* (Vol. 1, pp. 269-289). Cham, Switzerland: Springer Nature.

- Biggs, B. J. F. (1996). Patterns in Benthic Algae of Streams. En J. L. Stevenson, M. L. Bothwell y R. L. Lowe (Eds.), *Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystems* (pp. 21-56). San Diego, USA: Academic Press.
- Bitton, G. (2005). *Wastewater Microbiology* (3rd ed.). Hoboken, USA: Wiley-Liss.
- Bitton, G. (2011). *Wastewater microbiology* (4th ed.). Hoboken, USA: Wiley-Blackwell.
- Bradley, I. M., Sevillano-Rivera, M. C., Pinto, A. J. y Guest, J. S. (2019). Impact of solids residence time on community structure and nutrient dynamics of mixed phototrophic wastewater treatment systems. *Water Res.*, *150*, 271-282. doi:10.1016/j.watres.2018.11.065
- Cabanelas, I. T., Ruiz, J., Arbib, Z., Chinalia, F. A., Garrido-Perez, C., Rogalla, F., . . . Perales, J. A. (2013). Comparing the use of different domestic wastewaters for coupling microalgal production and nutrient removal. *Bioresour Technol*, *131*, 429-436. doi:10.1016/j.biortech.2012.12.152
- Cai, T., Park, S. Y. y Li, Y. (2013). Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, *19*, 360-369. doi:10.1016/j.rser.2012.11.030
- Calli, B., Mertoglu, B., Inanc, B. y Yenigun, O. (2005). Effects of high free ammonia concentrations on the performances of anaerobic bioreactors. *Process Biochemistry*, *40*(3-4), 1285-1292. doi:10.1016/j.procbio.2004.05.008
- Cepoi, L., Donțu, N., Șalaru, V. y Șalaru, V. (2016). Removal of Organic Pollutants from Wastewater by Cyanobacteria. En I. Zinicovscaia y L. Cepoi (Eds.), *Cyanobacteria for Bioremediation of Wastewaters* (pp. 27-43). Cham, Switzerland: Springer International Publishing.
- Chamy, R. y Jeison, D. (2003). Biotecnología ambiental: Tecnología de punta para un desarrollo sustentable. En R. Chamy (Ed.), *Avances en biotecnología ambiental: tratamiento de residuos líquidos y sólidos*. Valparaíso, Chile: Ediciones Universitarias de Valparaíso.
- Chernicharo, C. A. L. (2007). *Anaerobic Reactors* (Vol. 4). Lóndres, RU: IWA Publishing.
- Chernicharo, C. A. L., van Lier, J. B., Noyola, A. y Bressani Ribeiro, T. (2015). Anaerobic sewage treatment: state of the art, constraints and challenges. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, *14*(4), 649-679. doi:10.1007/s11157-015-9377-3
- Cho, S., Luong, T. T., Lee, D., Oh, Y. K. y Lee, T. (2011). Reuse of effluent water from a municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production. *Bioresour Technol*, *102*(18), 8639-8645. doi:10.1016/j.biortech.2011.03.037
- Corcoran, E., Nellesmann, C., Baker, E., Bos, R., Osborn, D. y Savelli, H. (Eds.). (2010). *Sick Water? The central role of wastewater management in sustainable development*: United Nations Environmet Programme, UN-HABITAT & GRID-Arendal.
- Corrales, L. C., Antolínez Romero, D. M., Bohórquez Macías, J. A. y Corredor Vargas, A. M. (2015). Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta. *Nova*, *13*(24), 55-81.
- Couto, E., Calijuri, M. L., Assemany, P. y Cecon, P. R. (2021). Evaluation of high rate ponds operational and design strategies for algal biomass production and domestic

- wastewater treatment. *Science of the total environment*, 791. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.148362
- Crittenden, J. C., Trussell, R. R., Hand, D. W., Howe, K. J. y Tchobanoglous, G. (2012). *MWH's Water Treatment: Principles and Design* (3rd. ed.). Hoboken, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Cuellar-Bermudez, S. P., Aleman-Nava, G. S., Chandra, R., Garcia-Perez, J. S., Contreras-Angulo, J. R., Markou, G., . . . Parra-Saldivar, R. (2017). Nutrients utilization and contaminants removal. A review of two approaches of algae and cyanobacteria in wastewater. *Algal Res.*, 24, 438-449. doi:10.1016/j.algal.2016.08.018
- Curtis, T. P., Head, I. M. y Graham, D. W. (2003). Theoretical ecology for engineering biology. *Environmental Science & Technology*, 37(3), 64A-70A.
- Daigger, G. T. y Littleton, H. X. (2014). Simultaneous Biological Nutrient Removal: A State-of-the-Art Review. *Water Environment Research*, 86(3), 245-257. doi:10.2175/106143013x13736496908555
- Daims, H. y Wagner, M. (2010). The microbiology of nitrogen removal. En R. J. Seviour y P. H. Nielsen (Eds.), *Microbial Ecology of Activated Sludge* (pp. 259-280). London, UK: IWA Publishing.
- Davis, M. L. (2020). *Water and Wastewater Engineering: Design Principles and Practice* (2nd ed.). New York, USA: McGraw Hill.
- Davis, T. W., Berry, D. L., Boyer, G. L. y Gobler, C. J. (2009). The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms. *Harmful Algae*, 8(5), 715-725. doi:10.1016/j.hal.2009.02.004
- Daw, J., Hallet, K., DeWolfe, J. y Venner, I. (2012). *Energy Efficiency Strategies for Municipal Wastewater Treatment Facilities*. Retrieved from Golden, USA:
- de Castro Araújo, S. y Tavano García, V. M. (2005). Growth and biochemical composition of the diatom *Chaetoceros* cf. *wighamii* brightwell under different temperature, salinity and carbon dioxide levels. I. Protein, carbohydrates and lipids. *Aquaculture*, 246, 405-412.
- de Godos, I., Arbib, Z., Lara, E., Cano, R., Muñoz, R. y Rogalla, F. (2017). Wastewater treatment in algal systems. En J. M. Lema y S. Suarez (Eds.), *Innovative Wastewater Treatment & Resource Recovery Technologies: Impacts on Energy, Economy and Environment* (pp. 76-95). London, UK: IWA Publishing.
- de Godos, I., Mendoza, J. L., Acien, F. G., Molina, E., Banks, C. J., Heaven, S. y Rogalla, F. (2014). Evaluation of carbon dioxide mass transfer in raceway reactors for microalgae culture using flue gases. *Bioresour. Technol.*, 153, 307-314. doi:10.1016/j.biortech.2013.11.087
- Dickinson, K. E., Bjornsson, W. J., Garrison, L. L., Whitney, C. G., Park, K. C., Banskota, A. H. y McGinn, P. J. (2015). Simultaneous remediation of nutrients from liquid anaerobic digestate and municipal wastewater by the microalga *Scenedesmus* sp. AMDD grown in continuous chemostats. *J Appl Microbiol*, 118(1), 75-83. doi:10.1111/jam.12681
- Ding, Y., Xu, H., Deng, J., Qin, B. y He, Y. (2018). Impact of nutrient loading on phytoplankton: a mesocosm experiment in the eutrophic Lake Taihu, China. *Hydrobiologia*, 829(1), 167-187. doi:10.1007/s10750-018-3830-6

- Dodds, W. K. y Whiles, M. R. (2010). *Freshwater Ecology*. In J. E. Thorp (Series Ed.) *Aquatic Ecology, Concepts and Environmental Applications of Limnology* (pp. 821).
- Droste, R. y Gehr, R. L. (2019). *Theory and practice of water and wastewater treatment* (2nd ed.). Hoboken, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Ekama, G. A. (2015). Recent developments in biological nutrient removal. *Water S.A.*, *41*(4), 515-524. doi:10.4314/wsa.v41i4.11
- Ekama, G. A. y Wentzel, M. C. (2008a). Nitrogen removal. En M. Henze, M. C. M. van Loosdrecht, G. A. Ekama y D. Brdjanovic (Eds.), *Biological wastewater treatment: Principles, modelling and design* (pp. 87-138). London, UK: IWA Publishing.
- Ekama, G. A. y Wentzel, M. C. (2008b). Organic Material Removal. En M. Henze, M. C. M. van Loosdrecht, G. A. Ekama y D. Brdjanovic (Eds.), *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design* (pp. 53-86). London, UK: IWA Publishing.
- El-Sheekh, M., El-Dalatony, M. M., Thakur, N., Zheng, Y. y Salama, E.-S. (2021). Role of microalgae and cyanobacteria in wastewater treatment: genetic engineering and omics approaches. *International Journal of Environmental Science and Technology*. doi:10.1007/s13762-021-03270-w
- Escalante, A. E. (2007). Ecología molecular en el estudio de comunidades bacterianas. En L. Eguiarte, V. Souza y X. Aguirre (Eds.), *Ecología molecular* (pp. 393-494). México D.F., México: Instituto Nacional de Ecología.
- Fatone, F., Baeza, J. A., Batstone, D., Cema, G., Crutchik, D., Díez-Montero, R., . . . Tejero, I. (2017). Nutrient removal. En J. M. Lema y S. Suarez (Eds.), *Innovative Wastewater Treatment & Resource Recovery Technologies: Impacts on Energy, Economy and Environment* (pp. 3-39). London, UK: IWA Publishing.
- Ferro, T. N., de Carvalho, K. Q., de Lima, M. X., Barana, A. C., Kreutz, C., Gauza, O. R. y Passig, F. H. (2022). Influence of HRT and carbon source on the enhancement of nutrient removal in an Anaerobic-Oxic-Anoxic (AOA) system. *Environ. Technol.*, *43*(16), 2478-2491. doi:10.1080/09593330.2021.1882586
- Flores, R. C. (2007). La especie como unidad evolutiva: uso de marcadores moleculares para su reconocimiento y delimitación, con especial énfasis en microorganismos. En L. Eguiarte, V. Souza y X. Aguirre (Eds.), *Ecología molecular* (pp. 325-349). México D.F., México: Instituto Nacional de Ecología.
- Fonseca, A., Calijuri, M. L., Assemany, P. P., Calijuri, M. C. y J, D. A. (2013). Algal biomass production and wastewater treatment in high rate algal ponds receiving disinfected effluent. *Environmental technology*, *34*(13-14), 1877-1885.
- Foresti, E., Zaiat, M. y Vallero, M. (2006). Anaerobic Processes as the Core Technology for Sustainable Domestic Wastewater Treatment: Consolidated Applications, New Trends, Perspectives, and Challenges. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, *5*(1), 3-19. doi:10.1007/s11157-005-4630-9
- Friedler, E., Butler, D. y Alfiya, Y. (2013). Wastewater composition. En T. A. Larsen, K. M. Udert y J. Lienert (Eds.), *Source separation and decentralization for wastewater management* (pp. 241-257). London, UK: IWA Publishing.
- García-Gozalbes, C. C., Arbib, Z. y Perales, J. A. (2015). Cinéticas de crecimiento y consumo de nutrientes de microalgas en aguas residuales urbanas con distintos niveles de tratamiento. *Tecnol. y Cienc. del Agua*, *6*(1), 49-68.

- Gerardi, M. H. (2003). *The Microbiology of Anaerobic Digesters*. Hoboken, USA: Wiley-Interscience.
- Glibert, P. M., Wilkerson, F. P., Dugdale, R. C., Raven, J. A., Dupont, C. L., Leavitt, P. R., . . . Kana, T. M. (2016). Pluses and minuses of ammonium and nitrate uptake and assimilation by phytoplankton and implications for productivity and community composition, with emphasis on nitrogen-enriched conditions. *Limnol. Oceanogr.*, *61*(1), 165-197. doi:10.1002/lno.10203
- Godos, I., Blanco, S., Garcia-Encina, P. A., Becares, E. y Munoz, R. (2009). Long-term operation of high rate algal ponds for the bioremediation of piggery wastewaters at high loading rates. *Bioresour. Technol.*, *100*(19), 4332-4339. doi:10.1016/j.biortech.2009.04.016
- Grady, C. P. L., Daigger, G. T., Love, N. G. y Filipe, C. D. M. (2011). *Biological Wastewater Treatment*. Boca Raton, USA: CRC Press.
- Gregor, J. y Maršálek, B. (2005). A Simple In Vivo Fluorescence Method for the Selective Detection and Quantification of Freshwater Cyanobacteria and Eukaryotic Algae. *Acta hydrochim. hydrobiol.*, *33*(2), 142-148. doi:10.1002/aheh.200400558
- Guiza-Franco, L., Orozco-Rojas, L. G., Sánchez-Galvis, E. M., García-Martínez, J. B., Barajas-Ferreira, C., Zuorro, A. y Barajas-Solano, A. F. (2018). Production of *Chlorella vulgaris* Biomass on UV-treated Wastewater as an Alternative for Environmental Sustainability on High-Mountain Fisheries. *Chemical Engineering Transactions*, *64*, 517-522.
- Hamoda, M. F. y van der Berg, L. (1984). Effect of settling on performance of the upflow anaerobic sludge bed reactors. *Water Res.*, *18*(12), 1561-1567.
- Hartmann, A., Albert, A. y Ganzera, M. (2015). Effects of elevated ultraviolet radiation on primary metabolites in selected alpine algae and cyanobacteria. *J. Photochem. Photobiol. B.*, *149*, 149-155. doi:10.1016/j.jphotobiol.2015.05.016
- Hasan, M. N., Altaf, M. M., Khan, N. A., Khan, A. H., Khan, A. A., Ahmed, S., . . . Islam, S. (2021). Recent technologies for nutrient removal and recovery from wastewaters: A review. *Chemosphere*, *277*, 130328. doi:10.1016/j.chemosphere.2021.130328
- Henderson, R. K., Baker, A., Parsons, S. A. y Jefferson, B. (2008). Characterisation of algogenic organic matter extracted from cyanobacteria, green algae and diatoms. *Water Res.*, *42*(13), 3435-3445. doi:10.1016/j.watres.2007.10.032
- Henry, J. G., Heinke, G. W. y Burton, I. (2008). *Environmental science and engineering* (2nd ed.). New Jersey, USA: Prentice Hall International.
- Henze, M. (1997). Wastewater, Volumes and Composition. En M. Henze, P. Harremoës y E. Arvin (Eds.), *Wastewater Treatment: Biological and Chemical Process* (2nd ed., pp. 11-36). Berlín, Alemania: Springer-Verlag.
- Henze, M. y Comeau, Y. (2008). Wastewater Characterization. En M. Henze, M. C. M. van Loosdrecht, G. A. Ekama y D. Brdjanovic (Eds.), *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design* (pp. 33-52). Lóndres, RU: IWA Publishing.
- Henze, M., Harremoës, P., Arvin, E. y Janses, J. (1997). *Wastewater treatment: Biological and chemical processes* (2nd. ed.). New York, USA: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

- Hodaifa, G., Malvis, A., Maaitah, M. y Sánchez, S. (2020). Combination of psychochemical operations and algae culture as a new bioprocess for olive mill wastewater treatment. *Biomass and Bioenergy*(138), 1-10. doi:10.1016/j.biombioe.2020.105603
- Honda, R., Boonnorat, J., Chiemchaisri, C., Chiemchaisri, W. y Yamamoto, K. (2012). Carbon dioxide capture and nutrients removal utilizing treated sewage by concentrated microalgae cultivation in a membrane photobioreactor. *Bioresour. Technol.*, 125(125), 59-64. doi:10.1016/j.biortech.2012.08.138
- Huisman, J. y Hulot, F. D. (2005). Population Dynamics of Harmful Cyanobacteria. En J. Huisman, H. C. P. Matthijs y P. M. Visser (Eds.), *Harmful Cyanobacteria* (pp. 143-176). Dordrecht, Netherlands: Springer.
- Hultberg, M., Olsson, L. E., Birgersson, G., Gustafsson, S. y Sievertsson, B. (2016). Microalgal growth in municipal wastewater treated in an anaerobic moving bed biofilm reactor. *Bioresour Technol*, 207, 19-23. doi:10.1016/j.biortech.2016.02.001
- Ince, O., Cetecioglu Gurol, Z., Ozbayram, E. G., Iglesias, M. M., Ince, B., Massalha, N., . . . Seco, A. (2017). Anaerobic treatment of domestic wastewater. En J. M. Lema y S. Suarez (Eds.), *Innovative Wastewater Treatment & Resource Recovery Technologies: Impactos on Energy, Economy and Environment* (pp. 40-60). London, UK: IWA Publishing.
- Jimbo, H., Izuhara, T., Hirashima, T., Endo, K., Nakamura, Y. y Wada, H. (2021). Membrane lipid remodeling is required for photosystem II function under low CO₂. *Plant J.*, 105, 245-253. doi:10.1111/tpj.15054
- Jiménez-Pérez, M. V., Sánchez-Castillo, P., Romera, O., Fernández-Moreno, D. y Pérez-Martínez, C. (2004). Growth and nutrient removal in free and immobilized planktonic green algae isolated from pig manure. *Enzyme and Microbial Technology*, 34(5), 392-398. doi:10.1016/j.enzmictec.2003.07.010
- Kahraman, E. y Baig, A. (Eds.). (2010). *Environmentalism: Environmental Strategies and Environmental Sustainability*: Nova Science Publishers.
- Kaloudas, D., Pavlova, N. y Penchovsky, R. (2021). Phycoremediation of wastewater by microalgae: a review. *Environ. Chem. Lett.*, 19(4), 2905-2920. doi:10.1007/s10311-021-01203-0
- Khan, A. A., Gaur, R. Z., Tyagi, V. K., Khursheed, A., Lew, B., Mehrotra, I. y Kazmi, A. A. (2011). Sustainable options of post treatment of UASB effluent treating sewage: A review. *Resources, Conservation and Recycling*, 55(12), 1232-1251. doi:10.1016/j.resconrec.2011.05.017
- Kim, B. H. y Gadd, G. M. (2008). *Bacterial Physiology and Metabolism*. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press.
- Kim, G. Y., Yun, Y. M., Shin, H. S., Kim, H. S. y Han, J. I. (2015). Scenedesmus-based treatment of nitrogen and phosphorus from effluent of anaerobic digester and bio-oil production. *Bioresour. Technol.*, 196, 235-240. doi:10.1016/j.biortech.2015.07.091
- Krause, G. H. (1991). Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 42, 313-349.
- Lage, S., Toffolo, A. y Gentili, F. G. (2021). Microalgal growth, nitrogen uptake and storage, and dissolved oxygen production in a polyculture based-open pond fed with municipal wastewater in northern Sweden. *Chemosphere*, 276, 130122. doi:10.1016/j.chemosphere.2021.130122

- Le Bonté, S., Pons, M. N., Potier, O. y Rocklin, P. (2008). Relation Between Conductivity and Ion Content in Urban Wastewater. *Revue des sciences de l'eau*, 21(4), 429-438. doi:10.7202/019165ar
- Levenspiel, O. (2004). *Ingeniería de las reacciones químicas* (3a ed.). México, D.F. México: Limusa Wiley.
- Levine, R. B., Costanza-Robinson, M. S. y Spatafora, G. A. (2011). Neochloris oleoabundans grown on anaerobically digested dairy manure for concomitant nutrient removal and biodiesel feedstock production. *Biomass and Bioenergy*, 35(1), 40-49. doi:10.1016/j.biombioe.2010.08.035
- Li, K., Liu, Q., Fang, F., Luo, R., Lu, Q., Zhou, W., . . . Ruan, R. (2019). Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery: A review. *Bioresour. Technol.*, 291, 121934. doi:10.1016/j.biortech.2019.121934
- Li, S., Hu, T., Xu, Y., Wang, J., Chu, R., Yin, Z., . . . Zhu, L. (2020). A review on flocculation as an efficient method to harvest energy microalgae: Mechanisms, performances, influencing factors and perspectives. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 131, 1-15. doi:10.1016/j.rser.2020.110005
- Liu, J., Pemberton, B., Lewis, J., Scales, P. J. y Martin, G. J. O. (2020). Wastewater treatment using filamentous algae - A review. *Bioresour Technol*, 298, 122556. doi:10.1016/j.biortech.2019.122556
- Liu, J., Wu, Y., Wu, C., Muylaert, K., Vyverman, W., Yu, H. Q., . . . Rittmann, B. (2017). Advanced nutrient removal from surface water by a consortium of attached microalgae and bacteria: A review. *Bioresour. Technol.*, 241, 1127-1137. doi:10.1016/j.biortech.2017.06.054
- Lu, W., Wang, Z., Wang, X. y Yuan, Z. (2015). Cultivation of Chlorella sp. using raw dairy wastewater for nutrient removal and biodiesel production: Characteristics comparison of indoor bench-scale and outdoor pilot-scale cultures. *Bioresour. Technol.*, 192, 382-388. doi:10.1016/j.biortech.2015.05.094
- Luque Tumiri, J. F. (2020). Remoción de nitratos y fosfatos de agua residual mediante el uso de microalgas altiplánicas a nivel experimental. *Acta Nova*, 9(4), 543-552.
- MADS. (2015). *Resolución 0631 de 2015. Norma de Vertimientos Puntuales a Cuerpos de Aguas Superficiales y a los Sistemas de Alcantarillado Público*. Bogotá D.C., Colombia.
- MADS. (2018). *Resolución 0883 de 2018. Norma de vertimientos puntuales a cuerpos de aguas marinas*. Bogotá D.C., Colombia.
- Maestrini, S., Robert, J. M., Leftley, J. W. y Collos, Y. (1986). Ammonium thresholds for simultaneous uptake of ammonium and nitrate by oyster-pond algae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 102, 75-98.
- Mainardis, M., Buttazzoni, M. y Goi, D. (2020). Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Technology for Energy Recovery: A Review on State-of-the-Art and Recent Technological Advances. *Bioengineering (Basel)*, 7(2). doi:10.3390/bioengineering7020043
- Mara, D. (2004). *Domestic wastewater treatment in developing countries*. London, UK: Earthscan.
- McHugh, S., Carton, M., Collins, G. y O'Flaherty, V. (2004). Reactor performance and microbial community dynamics during anaerobic biological treatment of wastewaters

- at 16-37 degrees C. *FEMS Microbiol Ecol*, 48(3), 369-378. doi:10.1016/j.femsec.2004.02.012
- McMahon, K. D., He, S. y Oehmen, A. (2010). The microbiology of phosphorus removal. En R. J. Seviour y P. H. Nielsen (Eds.), *Microbial Ecology of Activated Sludge* (pp. 281-319). London, UK: IWA Publishing.
- Metcalf & Eddy, I. y AECOM. (2014). *Wastewater engineering: Treatment and resource recovery* (5th ed.). New York, USA: McGraw-Hill Education.
- Ministerio de Ambiente, V. y. D. T. (2010). *Política Nacional para la Gestión Integral del Recurso Hídrico*. Bogotá, D.C., Colombia.
- Mohsenpour, S. F., Hennige, S., Willoughby, N., Adeloye, A. y Gutierrez, T. (2021). Integrating micro-algae into wastewater treatment: A review. *Sci Total Environ*, 752, 142168. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.142168
- Molina, F. J. y Rodríguez, D. C. (2015). *Procesos biológicos*. Medellín, Colombia: Reimpresos, duplicación de textos y documentos académicos de la Universidad de Antioquia.
- Moraes, C. C., Sala, L., Cerveira, G. P. y Kalil, S. J. (2011). C-Phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* wet biomass. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 28(01), 45-49.
- Mur, L. R., Skulberg, O. M. y Utkilen, H. (1999). Cyanobacteria in the environment. En I. Chorus y J. Bartram (Eds.), *Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management* (pp. 14-43). London, GB: E & FN Spon.
- Muylaert, K., Beuckels, A., Depraetere, O., Foubert, I., Markou, G. y Vandamme, D. (2015). Wastewater as a Source of Nutrients for Microalgae Biomass Production. En N. R. Moheimani, M. P. McHenry, K. de Boer y P. A. Bahri (Eds.), *Biomass and Biofuels from Microalgae. Advances in Engineering and Biology* (Vol. 2, pp. 75-94). Cham, Suiza: Springer International Publishing.
- Nguyen, T.-T., Bui, X.-T., Ngo, H. H., Nguyen, T.-T.-D., Nguyen, K.-Q., Nguyen, H.-H., . . . Varjani, S. (2021). Nutrient recovery and microalgae biomass production from urine by membrane photobioreactor at low biomass retention times. *Sci. Total Environ.*, 785, 1-9. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.147423
- Nurdogan, Y. y Oswald, W. J. (1995). Enhanced nutrient removal in high-rate ponds. *Wat. Sci. Tec.*, 31(12), 33-43.
- Oliver, R. L., Hamilton, D. P., Brookes, J. D. y Ganf, G. G. (2012). Physiology, Blooms and Prediction of Planktonic Cyanobacteria. En B. A. Whitton (Ed.), *Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time* (Vol. 2, pp. 155-194). Dordrecht, Netherlands: Springer Science+Business Media B.V.
- Proyecto de documento final de la cumbre de las Naciones Unidas para la aprobación de la agenda para el desarrollo después de 2015, (2015).
- Ortiz-Villota, M. T., Romero-Morales, M. A. y Meza-Rodríguez, L. D. (2018). La biorremediación con microalgas (*Spirulina máxima*, *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris*) como alternativa para tratar la eutrofización de la laguna de Ubaque, Colombia. *Revista de Investigación, Desarrollo e Innovación*, 9(1), 163-176.
- Oviedo Acuña, E. M. y Aguilar Carrera, F. A. D. (2019). Efecto de la carga hidráulica en la remoción de nutrientes en un fotobiorreactor de algas clorofitas a flujos continuo y

- batch, en el efluente de un filtro percolador. *Agua, Saneamiento & Ambiente*, 14(1), 66-78.
- Park, J. B. K., Craggs, R. J. y Shilton, A. N. (2011). Recycling algae to improve species control and harvest efficiency from a high rate algal pond. *Water Res.*, 45(20), 6637-6649.
- Petersen, H. T. (1989). Determination of an algal bloom by L-tryptophan fluorescence. *Mar. Pollut. Bull.*, 20(9), 447-451. doi:10.1016/0025-326X(89)90065-9
- Qasim, S. R. y Zhu, G. (2018). *Wastewater treatment and reuse: Theory and design examples. Principles and basic treatment* (Vol. 1). Boca Raton, USA: CRC Press.
- Rajeshwari, K. V., Balakrishnan, M., Kansal, A., Lata, K. y Kishore, V. V. N. (2000). State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 4, 135-156.
- Ramos, M., Muñoz, J. F. y Saldarriaga, J. C. (2017). Efecto de la secuencia anaeróbica-óxica-anóxica (AOA) en la eliminación de materia orgánica, fósforo y nitrógeno en un SBR modificado a escala de laboratorio. *Ingeniare Revista Chilena de Ingeniería*, 25(3), 477-491. doi:doi.org/10.4067/S0718-33052017000300477
- Rani, S., Gunjyal, N., Ojha, C. S. P. y Singh, R. P. (2021). Review of Challenges for Algae-Based Wastewater Treatment: Strain Selection, Wastewater Characteristics, Abiotic, and Biotic Factors. *Journal of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste*, 25(2). doi:10.1061/(asce)hz.2153-5515.0000578
- Rawat, I., Kumar, R. R. y Bux, F. (2013). Phycoremediation by High-Rate Algal Ponds (HRAPs). En F. Bux (Ed.), *Biotechnological Applications of Microalgae. Biodiesel and Value-Added Products* (pp. 179-199). Boca Raton, EUA: CRC Press.
- Reichwaldt, E. S. y Ghadouani, A. (2012). Effects of rainfall patterns on toxic cyanobacterial blooms in a changing climate: between simplistic scenarios and complex dynamics. *Water Res.*, 46(5), 1372-1393. doi:10.1016/j.watres.2011.11.052
- Renuka, N., Sood, A., Prasanna, R. y Ahluwalia, A. S. (2014). Phycoremediation of wastewaters: a synergistic approach using microalgae for bioremediation and biomass generation. *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, 12(4), 1443-1460. doi:10.1007/s13762-014-0700-2
- Richa, R. P. S. y Häder, D. P. (2016). Effects of Global Change, Including UV and UV Screening. En M. Borowitzka, J. Beardall y J. A. Raven (Eds.), *The Physiology of Microalgae* (pp. 373-407). Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG.
- Rittmann, B. E. y McCarty, P. E. (2001). *Environmental biotechnology: Principles and applications*. New York, USA: McGraw-Hill.
- Robarts, R. D. y Zohary, T. (1987). Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom-forming cyanobacteria. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 21, 391-399.
- Romero, J. A. (2004). *Tratamientos de aguas residuales. Teoría y principios de diseño* (3a ed.). Bogotá, Colombia: Escuela Colombiana de Ingeniería.
- Sahu, S. N., Sahoo, N. K. y Naik, S. N. (2019). Phycoremediation Technology: A Global Prospective. En S. K. Gupta y F. Bux (Eds.), *Application of Microalgae in Wastewater Treatment* (Vol. 1, pp. 1-18). Cham, Switzerland: Springer Nature AG.

- Saldarriaga, J. C., Garrido, J. M., Hoyos, D. A. y Correa, M. A. (2010). Remoción simultánea de carbono, nitrógeno y fósforo de aguas residuales en un sistema híbrido UCT modificado. *DYNA*, 77(162), 39-48.
- Sanz, J. L. y Köchling, T. (2007). Molecular biology techniques used in wastewater treatment: An overview. *Process Biochemistry*, 42(2), 119-133. doi:10.1016/j.procbio.2006.10.003
- Schmidt, J. E. y Ahring, B. K. (1996). Granular sludge formation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Biotechnol Bioeng*, 49(3), 229-246. doi:10.1002/(SICI)1097-0290(19960205)49:3<229::AID-BIT1>3.0.CO;2-M
- Sivasankari, S., Ravindran, N. y Ravindran, D. (2014). Comparison of different extraction methods for phycoerythrin extraction and yield from *Spirulina platensis*. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 3(8), 904-909.
- Sorokin, C. y Krauss, R. W. (1958). The effects of light intensity on the growth rates of green algae. *Plant Physiol*, 33(2), 109-113.
- Stazi, V. y Tomei, M. C. (2018). Enhancing anaerobic treatment of domestic wastewater: State of the art, innovative technologies and future perspectives. *Sci Total Environ*, 635, 78-91. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.04.071
- Strock, J. B. (2008). Ammonification. En S. E. Jørgensen y B. D. Fath (Eds.), *Encyclopedia of Ecology* (Vol. 1, pp. 162-165). Amsterdam, Netherlands: Elsevier B.V.
- Suggett, D. J., Moore, C. M. y Geider, R. J. (2010). Estimating Aquatic Productivity from Active Fluorescence Measurements. En D. J. Suggett, O. Prášil y M. Borowitzka (Eds.), *Chlorophyll a Fluorescence in Aquatic Sciences: Methods and Applications* (pp. 103-127). Dordrecht, Netherlands: Springer Science+Business Media B.V.
- Sukacová, K., Trtílek, M. y Rataj, T. (2015). Phosphorus removal using microalgal biofilm in a new film photobioreactor for tertiary wastewater treatment. *Water research*, 71, 55-63.
- Suttle, C. A. y Harrison, P. J. (1988). Ammonium and phosphate uptake rates, N:P supply ratios, and evidence for N and P limitation in some oligotrophic lakes. *Limnology and Oceanography*, 33(2), 186-202.
- Szabolcs, S., Botond, R., Ildikó, M., Beáta, Á., Szabolcs, L. y Nicolae, D. R. (2009). Enzymatic activity studies of biological wastewater treatment. *UNIVERSITATIS BABEȘ-BOLYAI*, 54(2), 113-122.
- Tan, X. B., Wan, X. P., Yang, L. B., Wang, X., Meng, J., Jiang, M. J. y Pi, H. J. (2021). Nutrients recycling and biomass production from *Chlorella pyrenoidosa* culture using anaerobic food processing wastewater in a pilot-scale tubular photobioreactor. *Chemosphere*, 270, 129459. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.129459
- Tang, D., Han, W., Li, P., Miao, X. y Zhong, J. (2011). CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels. *Bioresour Technol*, 102(3), 3071-3076. doi:10.1016/j.biortech.2010.10.047
- Tebani, S., Lopes, F., Filali, R., Dumur, D. y Pareau, D. (2014). *CO₂ Biofixation by Microalgae. Modeling, Estimation and Control*. London, UK: ISTE Ltd.
- Torres, P. (1992). *Desempenho de um reator anaeróbico de manto de lodo (UASB) de banca no tratamento de substrato sintético simulando esgotos sanitários, sob diferentes*

- condições*. (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento), Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- UN-Water. (2015). *Wastewater management: A UN-Water analytical brief*. Geneve, Switzerland.
- van Haandel, A. C. y van der Lubbe, J. G. M. (2012). *Handbook of biological wastewater treatment: Design and optimisation of activated sludge systems* (2da ed.). London, UK: IWA Publishing.
- van Lier, J. B., Mahmoud, N. y Zeeman, G. (2008). Anaerobic Wastewater Treatment. En M. Henze, M. C. van Loosdrecht, G. A. Ekama y D. Brdjanovic (Eds.), *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modeling and Design* (pp. 415-456). London, UK: IWA Publishing.
- van Lier, J. B., van der Zee, F. P., Frijters, C. T. M. J. y Ersahin, M. E. (2015). Celebrating 40 years anaerobic sludge bed reactors for industrial wastewater treatment. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 14(4), 681-702. doi:10.1007/s11157-015-9375-5
- Viveros Ruiz, D. C. (2018). *Evaluación a escala piloto de una laguna algal de alta tasa acoplada a un sistema de tratamiento del agua residual de la Universidad del Valle, Campus Meléndez*. (Ingeniería Sanitaria y Ambiental), Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia.
- von Sperling, M. (2007). *Wastewater Characteristics, Treatment and Disposal*. Londres, RU: IWA Publishing.
- Wang, B., Li, Y., Wu, N. y Lan, C. Q. (2008). CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Appl Microbiol Biotechnol*, 79(5), 707-718. doi:10.1007/s00253-008-1518-y
- Wang, C., Sun, Y., Xing, R. y Sun, L. (2005). Effect of liquid circulation velocity and cell density on the growth of *Parietochloris incisa* in flat plate photobioreactors. *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 10, 103-108. doi:10.1007/BF02932578
- Wang, L., Liu, J., Zhao, Q., Wei, W. y Sun, Y. (2016). Comparative study of wastewater treatment and nutrient recycle via activated sludge, microalgae and combination systems. *Bioresour. Technol.*, 211, 1-5. doi:10.1016/j.biortech.2016.03.048
- Wang, X. (2020). *Energy Consumption, Chemical Use and Carbon Footprints of Wastewater Treatment Alternatives*. Singapore, Singapore: Springer Nature.
- WEF. (2006). *Biological Nutrient Removal (BNR) Operation in Wastewater Treatment Plants* (Vol. WEF Manual of Practice No. 29). Alexandria, EUA: McGraw-Hill.
- Wentzel, M., Comeau, Y., Ekama, G., Van Loosdrecht, M. y Brdjanovic, D. (2008). Enhanced biological phosphorus removal. En M. Henze, M. C. M. Van Loosdrecht, G. A. Ekama y D. Brdjanovic (Eds.), *Biological wastewater treatment: Principles, modelling and design* (pp. 156-220). London, UK: IWA Publishing.
- Westerhoff, P., Lee, S., Yang, Y., Gordon, G. W., Hristovski, K., Halden, R. U. y Herckes, P. (2015). Characterization, Recovery Opportunities, and Valuation of Metals in Municipal Sludges from U.S. Wastewater Treatment Plants Nationwide. *Environ. Sci. Technol.*
- Wetzel, R. (2001). *Limnology Lake and River Ecosystems*. San Diego, USA: Academic Press.
- WHO. (2019). *Water, sanitation, hygiene and health: a primer for health professionals*. Retrieved from Geneve, Switzerland:

- WHO y UNICEF. (2017). *Progress on drinking water, sanitation, and hygiene: 2017 update and SDG baselines* A. Grojec (Ed.) (pp. 108).
- Wilderer, P. A., Bungartz, H. J., Lemmer, H., Wagner, M., Keller, J. y Wuertz, S. (2002). Modern scientific methods and their potential in wastewater science and technology. *Water research*, 36(2), 370-393.
- Woertz, I. C., Fulton, L. y Lundquist, T. J. (2009). *Nutrient Removal & Greenhouse Gas Abatement with CO₂-Supplemented Algal High Rate Ponds*. Paper presented at the WEFTEC Annual Conference, Orlando, EUA.
- WWAP. (2017). *The United Nations World Water Development Report 2017. Wastewater: The Untapped Resource*. Paris, France: UNESCO.
- Xu, K., Zou, X., Xue, Y., Qu, Y. y Li, Y. (2021). The impact of seasonal variations about temperature and photoperiod on the treatment of municipal wastewater by algae-bacteria system in lab-scale. *Algal Res.*, 54, 1-12. doi:10.1016/j.algal.2020.102175
- Zhang, L. (2016). *Anaerobic Treatment of Municipal Wastewater in a UASB-Digester System*. (Doctor), Wageningen University, Wageningen, NL.
- Zhang, M., Leung, K. T., Lin, H. y Liao, B. (2020). The biological performance of a novel microalgal-bacterial membrane photobioreactor: Effects of HRT and N/P ratio. *Chemosphere*, 261, 1-9. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.128199
- Zhu, G., Peng, Y., Li, B., Guo, J., Yang, Q. y Wang, S. (2008). Biological Removal of Nitrogen from Wastewater. *Rev Environ Contam Toxicol*, 192, 159-195.
- Zhu, L., Wang, Z., Shu, Q., Takala, J., Hiltunen, E., Feng, P. y Yuan, Z. (2013). Nutrient removal and biodiesel production by integration of freshwater algae cultivation with piggery wastewater treatment. *Water research*, 47, 4294-4302. doi:10.1016/j.watres.2013.05.004
- Zuluaga Esquivel, M. (2019). EAFIT patenta la creatividad de sus investigadores. *Revista Universidad EAFIT*, 22-25.