



**FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES**

**CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**“TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES CON EL USO DE LA  
MICROALGA *CHLORELLA VULGARIS* PARA LA REMOCIÓN DE  
MATERIA ORGÁNICA”**

Tesis para optar el título profesional de:

**INGENIERO AMBIENTAL**

Presentado por:

Joseph Anthony Aguilar Moreno (0000-0002-6189-9625)

Asesor:

Wilmer Jhon Lujan Cardenas (0000-0001-7357-6447)

Lima – Perú

2022

### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 23 de febrero del 2023.

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: Mg. Blg. Catherine Mariela Coronado León
Miembro: Mg. Ing. Cecilia Libia Cermeño Castromonte
Miembro: Mg. Ing. Jimmy Castillo Becerra

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

**"TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES CON EL USO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS  
PARA LA REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA"**

Presentada por la/el estudiante/bachiller:

- **Joseph Anthony Aguilar Moreno**

Para optar el Título Profesional de Ingeniero Ambiental

Asesorado por: Mg. Ing. Wilmer Jhon Lujan Cardenas

Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño del estudiante de la carrera de Ingeniería Ambiental en la sustentación, concluyen de manera unánime (X) por mayoría simple ( ) calificar a:

Tesis: Joseph Anthony Aguilar Moreno		Nota (en letras): 17 (DIECISETE)	
Aprobado ( )	Aprobado - Muy buena (X)	Aprobado Sobresaliente ( )	- Desaprobado ( )

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.



**Mg. Blg. Catherine Mariela Coronado León**  
Presidente



**Mg. Ing. Cecilia Libia Cermeño Castromonte**  
Miembro 1



**Mg. Ing. Jimmy Castillo Becerra**  
Miembro 2



**Mg. Ing. Wilmer Jhon Lujan Cardenas**  
Asesor

**ANEXO: FORMATO DE DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD DE CONTENIDO DE INFORME FINAL DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

**UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR**

**DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD DE CONTENIDO DE INFORME FINAL DE TESIS / TRABAJO DE INVESTIGACIÓN<sup>1</sup>**

Lima, 03 de marzo del 2023

Señor,

Percy Manuel Mayta Tristan

**Director General de Investigación, Desarrollo e Innovación  
Universidad Científica del Sur  
Presente. –**

De nuestra consideración,

Yo: Joseph Anthony Aguilar Moreno, egresado de la carrera de Ingeniería Ambiental de la Universidad Científica del Sur, en conjunto con el asesor de tesis Wilmer Jhon Lujan Cardenas, declaramos que este informe final de tesis titulado: "TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES CON EL USO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS PARA LA REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA", sustentado para obtener el título Profesional de Ingeniero Ambiental es original.

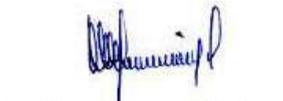
Es decir, no contiene plagio parcial ni total, cuando se utilizó información de fuentes externas se reconoció la autoría mediante la adecuada citación y los resultados obtenidos son producto entero de mi (nuestra) investigación y no han sido falseados ni fabricados. Todo esto en cumplimiento del Código de ética en la investigación, Reglamento del Comité de Integridad Científica, Reglamento de Propiedad Intelectual, Normas y procedimientos de los trabajos de investigación para la obtención de títulos profesionales y grados académicos<sup>2</sup>, que afirmamos conocer en su totalidad.

Por ello, en caso de identificarse alguna situación de plagio, falsificación o fabricación de resultados, nos allanamos al proceso de investigación que establezca la Universidad y las posibles sanciones que pudieran surgir.

Firmamos en conformidad con lo declarado,



Firma tesista  
DNI: 73658117



Firma del asesor de tesis  
DNI: 20115393

<sup>1</sup> En conformidad con la Resolución del Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD

<sup>2</sup> Los documentos están en: <https://investigacion.cientifica.edu.pe/reglamentos/>

## INFORME DE REVISIÓN DE ORIGINALIDAD

**Título del documento evaluado.** Tratamiento de aguas residuales con el uso de la microalga *Chlorella vulgaris* para la remoción de materia orgánica

**Autores.** Joseph Anthony Aguilar Moreno.

**Mecanismo de revisión de originalidad.** Evaluación con Turnitin (ID 2037330794).

**Resultado de la evaluación.** 7%

**Revisado por.** Magaly Kelly Guerrero Huaracallo.

**Comentarios sobre la revisión.** Filtros usados: excluir fuentes de menos de 12 palabras.

### Tratamiento de aguas residuales

#### INFORME DE ORIGINALIDAD



#### FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="https://es.scribd.com">es.scribd.com</a> Fuente de Internet	<1 %
2	<a href="https://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	<1 %
3	<a href="https://repositorio.ucv.edu.pe">repositorio.ucv.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
4	<a href="https://repositorio.lamolina.edu.pe">repositorio.lamolina.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
5	<a href="https://rio.upo.es">rio.upo.es</a> Fuente de Internet	<1 %
6	<a href="https://orcid.org">orcid.org</a> Fuente de Internet	<1 %
7	<a href="https://repositorio.espam.edu.ec">repositorio.espam.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
8	<a href="https://repositorio.unh.edu.pe">repositorio.unh.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
9	<a href="https://uvadoc.uva.es">uvadoc.uva.es</a> Fuente de Internet	<1 %

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis primeramente a Dios y a mi madre María Luz por brindarme su apoyo incondicional, dándome los mejores consejos, guiándome y haciéndome una persona de bien. A mi hermano Jeandy por confiar en mí y por brindarme muchas soluciones ante los problemas presentado en mi trabajo de tesis y tenerme paciencia para lograr mis metas trazados. A mi padre Segundo Fidel y a mi tía Betty quienes desde el cielo guían mi camino y quienes me enseñaron sobre la humildad y la valentía, son mis impulsores de seguir adelante. Finalmente, a toda mi familia por permitirme ser parte de su orgullo.

## AGRADECIMIENTO

*A Dios, por haberme bendecido con la oportunidad de llevar esta tesis, por la fortaleza y sabiduría que me otorgó día a día en este proceso de aprendizaje intelectual, para así con gran éxito haberlo culminado y ser un mejor profesional.*

*A mis padres, quienes nos apoyaron motivándonos a ser mejores que ellos, y por los impulsos de superación que me alentaban a dar lo mejor de mí.*

*A todos mis docentes de la facultad de Ingeniería Ambiental de la Universidad Científica del Sur, quienes, con su gran trayectoria académica y profesional, me transmitieron sus conocimientos con el propósito de ser un mejor profesional.*

*A mi asesor Wilmer Lujan Cárdenas, quien me brindo sus mejores conocimientos y consejos, por la paciencia y exigencia de dar lo mejor en la presente tesis.*

## INDICE GENERAL

I	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	12
II	MARCO TEÓRICO .....	14
	2.1 Aguas residuales .....	14
	2.1.1 Los componentes fisicoquímicos de las aguas residuales.....	15
	2.1.2 Tipos de aguas residuales.....	19
	2.2 Concepto de la microalga .....	21
	2.2.1 Fase de crecimiento de las microalgas.....	23
	2.2.2 Factores que afectan el crecimiento de las microalgas .....	24
	2.2.1 Tipos de medios de cultivos de las microalgas.....	27
	2.2.2 Sistemas de cultivos de las microalgas.....	28
	2.1 Tratamiento de Aguas Residuales con el Uso de Microalgas .....	31
	2.1.1 Mecanismo de crecimiento de las microalgas en el tratamiento de las aguas residuales .....	32
	2.1.2 Uso de la microalga <i>Chlorella Vulgaris</i> como biorremediación .....	33
	2.2 Aplicaciones de las microalgas en diferentes campos.....	34
	2.2.1 Aplicación de microalga en la parte comercial.....	35
	2.2.2 Aplicación de microalga en la parte industrial .....	36
	2.2.3 Aplicación en la parte ambiental.....	39
	2.2.4 Aplicación de microalga en la agricultura .....	42
III	OBJETIVOS .....	46
	3.1 Objetivo General.....	46
	3.2 Objetivos Específicos .....	46
IV	METODOLOGÍA.....	47
	4.1 Elaboración del prototipo Biorreactor.....	47
	4.2 Recolección de las muestras de las aguas residuales.....	49
	4.3 Recolección de la microalga <i>Chlorella vulgaris</i> y su medio de cultivo .....	51
	4.1 Proceso experimental con los tratamientos.....	57
	4.1 Determinación de la curva de calibración de la densidad óptica vs. la Concentración.....	60
	4.2 Generador de CO <sub>2</sub> para disminuir el pH de los cultivos.....	61
	4.3 Análisis para el uso como biofertilizantes de la microalga.....	64
	4.1 Determinación del cálculo porcentual de remoción .....	65
	4.2 Análisis estadísticos .....	66
V	RESULTADOS.....	67
	5.1 Resultado de las aguas residuales del Distrito de Monzón .....	67

5.2	Resultados del crecimiento de la microalga <i>Chlorella vulgaris</i> en las muestras sin o con agua residual. ....	67
5.2.1	Resultados de la concentración de biomasa en los biorreactores sin y con agua residual.....	67
5.2.2	Resultados entre la relación de la concentración de biomasa y la temperatura .....	69
5.2.3	Resultados entre la relación de concentración de biomasa y el pH .....	70
5.2.4	Resultado de la velocidad específica de crecimiento y la productividad en los biorreactores sin y con agua residual .....	72
5.3	Resultado de porcentaje de remoción de materia orgánica en los biorreactores sin y con agua residual.....	74
5.4	Resultado de fertilizante orgánico líquido después del tratamiento del agua residual .....	75
VI	DISCUSIÓN .....	77
VII	CONCLUSIONES.....	91
VIII	RECOMENDACIONES .....	92
IX	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93
X	ANEXOS.....	118

#### INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b>	Caracterización de las aguas residuales industriales textiles.....	20
<b>Tabla 2</b>	Importantes nutraceuticas a base de microalgas y aplicaciones .....	38
<b>Tabla 3</b>	Contenido de carbono de la microalga .....	40
<b>Tabla 4</b>	Características para la toma de muestra con sus respectivos parámetros.....	51
<b>Tabla 5</b>	Composición química del fertilizante químico Bayfolan® forte 11-8-6 (N-P-K)	52
<b>Tabla 6</b>	Resultados analíticos de los efluentes municipales del Distrito de Monzón ....	67
<b>Tabla 7</b>	Prueba de U de Mann-Whitney de la concentración de biomasa en el cultivo <i>C. vulgaris</i> .....	68
<b>Tabla 8</b>	Correlación de Spearman del crecimiento de la especie <i>C. Vulgaris</i> y la temperatura .....	69
<b>Tabla 9</b>	Correlación de Spearman del crecimiento de la especie <i>C. vulgaris</i> y el pH.....	70
<b>Tabla 10</b>	Resultados analíticos de la materia orgánica y nutrientes después de 17 días de tratamiento.....	75
<b>Tabla 11</b>	Resultado de % de remoción antes y después del tratamiento del agua residual .....	75
<b>Tabla 12</b>	Resultado de fertilizantes líquido después de 17 días de tratamiento con el agua residual .....	76
<b>Tabla 13</b>	LMP de metales pesados y descargas Industriales según la Normativa OMS y EPA.....	88
<b>Tabla 14</b>	LMP de concentración de metales pesados en agua de riego .....	88

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Estructura de una microalga .....	23
<b>Figura 2</b> Fase de crecimiento de la microalga en cultivo discontinuo .....	24
<b>Figura 3</b> Sistema de estanque abierto para el cultivo de microalgas .....	29
<b>Figura 4</b> Esquema de un fotobiorreactor tubular .....	30
<b>Figura 5</b> Fotobiorreactor de tanque agitado.....	31
<b>Figura 6</b> Proceso de biorremediación de las aguas residuales domésticas con el uso de microalgas.....	33
<b>Figura 7</b> Aplicaciones de las microalgas en diferentes campos .....	35
<b>Figura 8</b> Actividades de microalgas o cianobacterias en la producción de cultivos. ....	43
<b>Figura 9</b> Los diversos beneficios del uso de biofertilizantes .....	44
<b>Figura 10</b> Prototipo biorreactor 3d en el software Inventor Professional 2021.....	48
<b>Figura 11</b> Corte y armado de las 4 hélices en un solo eje.....	49
<b>Figura 12</b> Prototipo final de un Biorreactor de 19L.....	49
<b>Figura 13</b> Punto de Muestro de Aguas Residuales en el Distrito de Monzón.....	50
<b>Figura 14</b> Proceso de cultivo de la microalga chlorella vulgaris desde 100 ml hasta 19 L .....	53
<b>Figura 15</b> Proceso de centrifugado.....	55
<b>Figura 16</b> Proceso de filtrado por gravedad rápida.....	55
<b>Figura 17</b> Proceso de secado en la estufa a 100°C x 15 min .....	55
<b>Figura 18</b> Proceso de pesada en la balanza analítica (0.1 mg).....	55
<b>Figura 19</b> Biorreactores de control y de tratamiento .....	58
<b>Figura 20</b> Condiciones de trabajo de los biorreactores con y sin efluente.....	59
<b>Figura 21</b> Monitoreo de pH y T°C.....	60
<b>Figura 22</b> Medida de la densidad óptica (680nm) .....	60
<b>Figura 23</b> Relación entre la biomasa C. vulgaris y la absorbancia de luz (680 nm) .....	61
<b>Figura 24</b> Generador de CO <sub>2</sub> a base de levadura .....	63
<b>Figura 25</b> Medición del volumen de salida CO <sub>2</sub> .....	63
<b>Figura 26</b> Medición y recolección del gas metano .....	63
<b>Figura 27</b> Diagrama de Q (L/min) vs # de gotas de CO <sub>2</sub> .....	63
<b>Figura 28</b> Diagrama Caudal (L/min) vs %v/v CO <sub>2</sub> .....	64
<b>Figura 29</b> Biofertilizante líquido a base de la microalga C. vulgaris.....	65
<b>Figura 30</b> Crecimiento de la microalga C. vulgaris en los biorreactores.....	68
<b>Figura 31</b> Relación entre la concentración de biomasa y la temperatura .....	70
<b>Figura 32</b> Relación entre la concentración de biomasa y el pH .....	72
<b>Figura 33</b> Velocidad específica de crecimiento C. vulgaris en los biorreactores .....	73
<b>Figura 34</b> Productividad de la microalga C. vulgaris en los biorreactores .....	74
<b>Figura 35</b> Perfil de reducción de DQO .....	83
<b>Figura 36</b> Reacciones metabólicas entre las microalgas y las bacterias en el tratamiento de aguas residuales .....	85

**INDICE DE ECUACIONES**

<b>Ecuación 1</b> Fórmula para determinar la concentración de Biomasa .....	56
<b>Ecuación 2</b> Fórmula de la Velocidad específica de Crecimiento .....	56
<b>Ecuación 3</b> Fórmula de la Productividad .....	56
<b>Ecuación 4</b> Cálculo porcentual de remoción de la materia orgánica .....	65

**INDICE DE ANEXOS**

<b>ANEXO 1</b> Resultados del Agua residual del Distrito de Monzón.....	118
<b>ANEXO 2</b> Resultado de la Materia Orgánica y Nutrientes en el Biorreactor 4 .....	119
<b>ANEXO 3</b> Resultado de la Materia Orgánica y Nutrientes en el Biorreactor 5 .....	120
<b>ANEXO 4</b> Resultado de la Materia Orgánica y Nutrientes en el Biorreactor 6 .....	121
<b>ANEXO 5</b> Resultado de Macronutrientes NPK de fertilizante orgánico líquido.....	122
<b>ANEXO 6</b> Resultado de metales pesados del fertilizante orgánico líquido .....	123

## RESUMEN

La utilización de la microalga *Chlorella vulgaris* son una opción ecoamigable y rentable principalmente si se integra en la depuración del agua residual empleando la materia orgánica y nutriente presente del agua como medio de cultivo. Es así, que el objetivo en este estudio fue evaluar la eficiencia de remoción de materia orgánica mediante el uso de la microalga *C. vulgaris* en las aguas residuales municipales del distrito de Monzón (Huánuco). Para determinar la capacidad de remoción se empleó un sistema de crecimiento de cultivo llamado “Biorreactor” por un periodo de 17 días donde el análisis físico-químico de las muestras a tratar fueron antes y después del experimento, asimismo se monitoreó diariamente el crecimiento de la microalga a través de la cuantificación de peso seco, velocidad específica de crecimiento, productividad, temperatura, pH y las lecturas de absorbancia. El experimento contó con tres unidades experimentales sin el agua residual y tres unidades con el agua residual a una concentración de 21%. Los valores de porcentaje de remoción para el DQO, DBO, fosfato y nitrato fueron -293.0%, 41.9%, 69.13% y -107 592%, respectivamente. Donde el valor negativo del DQO se relacionó con la descomposición de las microalgas viejas a través de las bacterias y la liberación de la materia orgánica (sustancias poliméricas extracelulares ) luego que las microalgas fijaran el CO<sub>2</sub>, y para el valor negativo de nitrato se relacionó con la presencia de bacterias nitrificantes (BN). Por otra parte, los metales pesados como Ni, Cr, Pb y Cd fueron ligeramente superiores al Límite Máximo-Permisible (LMP). En conclusión, se ha demostrado que, si es posible la biorremediación de aguas residuales municipales a partir del cultivo de *C. vulgaris*.

**Palabras Claves:** Aguas residuales, microalgas, *Chlorella vulgaris*, materia orgánica

## ABSTRACT

The use of the microalga *Chlorella vulgaris* is an eco-friendly and profitable option, mainly if it is integrated into the purification of wastewater using the organic matter and nutrients present in the water as a culture medium. Thus, the objective of this study was to evaluate the efficiency of organic matter removal by using the microalgae *C. vulgaris* in the municipal wastewater of the Monzón district (Huánuco). To determine the removal capacity, a culture growth system called "Bioreactor" was used for a period of 17 days where the physical-chemical analysis of the samples to be treated were before and after the experiment, as well as daily monitoring of the growth of the microalga through the quantification of dry weight, specific growth rate, productivity, temperature, pH and absorbance readings. The experiment had three experimental units without residual water and three units with residual water at a concentration of 21%. The removal percentage values for COD, BOD, phosphate, and nitrate were -293.0%, 41.9%, 69.13% and -107.592%, respectively. Where the negative value of COD was related to the decomposition of old microalgae through bacteria and the release of organic matter (extracellular polymeric substances) after the microalgae fixed CO<sub>2</sub>, and for the negative value of nitrate it was related to the presence of nitrifying bacteria (BN). On the other hand, heavy metals such as Ni, Cr, Pb and Cd were slightly higher than the Maximum-Permissible Limit (LMP). In conclusion, it has been shown that, if it is possible, the bioremediation of municipal wastewater from the cultivation of *C. vulgaris*.

**Keywords:** Wastewater, microalgae, *Chlorella vulgaris*, organic matter

## I PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La contaminación de los ríos en Asia, África y América Latina aumentaron su grado de contaminación desde 17% hasta 45% entre los años 2010 y 2016 a causa del desarrollo económico, incremento de asentamientos informales, la expansión y aumento de la agricultura intensiva (UNEP, 2016). Además, se estima que el 80% de aguas residuales a nivel mundial no son tratadas de manera apropiada y que alrededor de 3.4 millones de personas a nivel global mueren por enfermedades infecciosas presentes en el agua como cólera, fiebre tifoidea, enfermedades diarreicas, entre otras (WWDR, 2017).

En Latinoamérica más del 70% de las descargas de aguas residuales no reciben un tratamiento apropiado (Meoño, 2015) mientras que, en Perú el 70.9% de las mismas son descargados directamente a un cuerpo de agua como ríos, mares o lagos; es decir, por lo menos 530 millón de metros cúbicos de aguas residuales llegaron a alterar los cuerpos de agua superficial que son usados para fines agrícolas, pesca, recreación e incluso para el suministro del agua potable (SUNASS, 2008). Asimismo, en el país de las 253 localidades del ámbito de las entidades prestadores de servicio de saneamiento (EPS), 83 no poseen con sistemas de tratamiento de aguas residuales, por ello los desechos líquidos de estas localidades son descargados directamente al cuerpo de agua (SUNASS, 2015), y esto representa que el 14% cumplen con las normativas vigentes para su funcionamiento de acuerdo con el Plan Nacional de Saneamiento 2006-2015.

El distrito de Monzón no cuenta con una planta de tratamiento de aguas residuales, por lo que las descargas de las aguas servidas son vertidas directamente al río de Monzón, generando así malos olores en las zonas aledañas del río. Pese a esto, no hay ninguna

iniciativa por parte del Gobierno Regional para el control de la contaminación del río; en consecuencia, no existe un interés de preservación y conservación del río.

En la actualidad, el tratamiento de aguas residuales convencionales (con métodos físicos y químicos) tiene el objetivo de disminuir los excesos de componentes orgánicos e inorgánicos a condiciones normales, pero esto tiene un nivel de costo muy alto para su funcionamiento y tratamiento, y muchas veces no son muy efectivos para su remoción (Tirado et al., 2016). En este contexto, el uso de microalgas en las últimas décadas es considerado una alternativa eco-tecnológica y económica capaz de brindar subproductos sostenibles (pigmentos, proteínas, lípidos, vitaminas, entre otros) y, al mismo tiempo, contribuye en la mejora de la calidad de agua (López-Pacheco et al., 2019).

De todas las especies de microalgas, la microalga *Chlorella vulgaris* tiene la gran capacidad de adaptarse y remover altas concentraciones de nutrientes orgánicas presentes en las aguas residuales municipales. Además, esta especie se cultiva para fines de alimentación o suplemento debido a la rápida tasa de crecimiento que presentan y por el alto contenido de componentes nutritivos que poseen como proteínas, pigmentos y lípidos (Nguyen et al., 2019). Por otro lado, *C. vulgaris* está siendo integrado al sistema de suministros de nutrientes en la agricultura (Faheed, 2008), considerados como biofertilizantes orgánicos debido a su alto contenido de micro y macronutrientes que son sustanciales para el crecimiento de las plantas, lo que favorece la productividad de los cultivos. Además, la biomasa de *C. vulgaris* se puede cultivar y utilizar de manera ecológica sin generar mayores gastos, lo que puede ser una elección frente a los costosos fertilizantes químicos nocivos (Suchithra et al., 2022).

El presente estudio pretende desarrollar un prototipo de biorreactor a base de materiales reciclados para el crecimiento de la microalga *C. vulgaris* en el medio sin o con agua residual. Esto permitirá ofrecer una alternativa de tratamiento de aguas biológica a la población de Monzón, específicamente orientado hacia el aprovechamiento del uso de microalgas para remoción de la materia orgánica (DBO y DQO) y nutrientes (nitrato y fosfato) presente en el agua residual y, con ello, generar biofertilizantes orgánicos para la productividad de los cultivos. Finalmente, este proyecto permitirá mejorar y conservar el entorno, reduciendo así los daños causados por la contaminación de las aguas residuales como por ejemplo conservación de las especies acuáticas, flora y fauna.

## II MARCO TEÓRICO

### 2.1 Aguas residuales

El término de aguas residuales se caracteriza por tener una matriz muy compleja donde se pueden encontrar concentraciones significativas de sólidos totales que van desde 350 a 1 200 mg/L, los materiales disueltos y particulados que son medidos por la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) que van desde 250 - 1 000 mg/L, también se encuentran los microorganismos que llegan hasta  $10^9$  NMP/ml, los nutrientes, los metales pesados y microcontaminantes (Warwick et al., 2013).

Los contaminantes presentes en el agua se pueden originar de dos maneras, primero ser de origen puntual que se refiere al agua residual que sale de una tubería o canal, el segundo de origen dispersa que se refiere a áreas amplias y no confinadas donde los contaminantes ingresan a un cuerpo receptor (ríos, lagos, lagunas y mares), por ejemplo, la escorrentía superficial de las granjas y agrícolas son considerados como una

fuente dispersa de contaminación que conducen desechos de animales, fertilizantes químicos, pesticidas, insecticidas, fungicidas y sedimentos en los arroyos o quebradas cercanos ( Britannica, 2022).

### **2.1.1 Los componentes fisicoquímicos de las aguas residuales**

**La demanda bioquímica de oxígeno (DBO).** Es un parámetro utilizado para determinar la calidad de agua donde la cantidad de oxígeno aprovechados por los microorganismos puedan transformar la cantidad total de materia orgánica en dióxido de carbono y agua, a través de un volumen determinado de aguas residuales y el tiempo limitado para detectar este tipo de análisis es de 5 días (Ramachandra Rao, 2006).

**La demanda química de oxígeno (DQO).** Las aguas residuales con altas concentraciones de DQO pueden ser perjudiciales cuando son descargados a las aguas superficiales y subterráneas, debido a que una gran cantidad de componentes orgánicos presentes en el cuerpo receptor (ríos, lagos y lagunas) reducen la cantidad de oxígenos disueltos y conducen al desarrollo de condiciones anaerobias. Además, los estándares de DQO para descarga en aguas continentales, costeras y protegidas se establecen en 60-300 mg/L (Ligaray et al., 2018).

**Nitrato.** El ion nitrato  $\text{NO}_3^-$  naturalmente se desarrolla a partir del ciclo de nitrógeno, pero a medida que sus concentraciones aumenten estos pueden ser perjudicial para los recursos hídricos naturales. El origen de los nitratos puede ser de manera puntual y no puntual (difusa), incluidas en el uso de fertilizantes tanto químicos y naturales, los sistemas sépticos con fugas y la producción de bacterias (Fenech et al., 2012). Cuando el nivel de nitrato presenta altas concentraciones en el cuerpo de agua natural conducen a la eutrofización, reducción de la calidad de agua, disminución de niveles de oxígeno

disuelto y de la biodiversidad impactando de manera negativa al equilibrio ecológico natural. Además, el nitrato en condiciones bajas se pueden convertir en nitritos, luego en nitrosaminas cancerígenas (amenaza para el ser humano) (X. Fu et al., 2022).

**Fosfato.** En el desarrollo de la eutrofización del agua el fósforo es considerados como uno de los principales responsables de esta contaminación si sobre pasa la concentración de fosforo de 15  $\mu\text{g/L}$  llegan a conducir a un crecimiento intenso de algas. Entre las fuentes puntuales de fósforo se hallan en los efluentes de criaderos de cerdos, domesticas, municipales e industriales (Jucherski et al., 2022).

**Sulfato.** Las principales fuentes de sulfatos se pueden dar de forma natural y antropogénica, el primero consiste en la meteorización química y en el proceso de la oxidación de algunos minerales que contienen azufre, el segundo se da por los efluentes descargados de muchas industrias como las aguas residuales textiles, farmacéuticas y la producción de aluminio. Además, pueden tener implicaciones en la salud humana como efecto de laxante, deshidratación y malestar gástrico cuando la concentración de sulfatos son superados a los 600 mg/L (Hudaib, 2021), en la parte ambiental a altas concentraciones de sulfatos provocan la mineralización del agua, altera el ciclo natural del azufre y la liberación de sulfuro de hidrogeno hacia la atmósfera (Mthembu et al., 2021).

**Temperatura.** En términos de temperatura esto puede variar porque depende de muchos factores como el área geográfica (de latitudes más altas o regiones montañosas) y los cambios de clima (época seca o fría ), las temperaturas de las aguas residuales pueden llegar hasta 8°C o 15°C, incluso a menos 5°C, lo cual es común para los efluentes (Zhou et al., 2018).

**pH.** El parámetro de pH es un indicador de las actividades biológicas presentes en las aguas residuales (Nadiri et al., 2018). Además, mide la actividad de iones de hidrógenos presentes en una solución y determina la acumulación de componente tóxicos químicos, así como los niveles de incremento de alcalinidad presentes en los efluentes (ALAR Water Treatment, 2016).

**Color.** Uno de los problemas fundamentales que genera el color de las aguas residuales son las alteraciones del equilibrio natural de la flora y fauna, y las alteraciones de las actividades fotosintéticas, esto se debe a la acumulación de sólidos suspendidos y de la materia orgánica que impiden que la radiación lumínica no puede ser penetrados sobre el agua, reduciendo de esta manera la actividad microbiana (Collivignarelli et al., 2019).

**Olor.** El olor de las aguas residuales generan efectos negativos a la vida humana como dolor de cabeza, náuseas, somnolencia e irritación o psicológicos (estrés y alteraciones de ánimo) debido a la liberación de compuesto químico al ambiente como por ejemplo el sulfuro de hidrogeno, amoniaco, dióxido de azufre y entre otros (Hawko et al., 2021)

**Conductividad eléctrica (CE).** Se caracteriza por estar compuesto de iones disuelto en agua y la medición de la CE en cualquier solución de la muestra permite detectar la presencia de materiales orgánica e inorgánica y niveles de impurezas presentes en el agua residual (Levlin, 2010). Hay que tener en cuenta, que las sales minerales son buenas conductoras, pero la presencia de materias orgánicas y coloniales tienen una menor conductividad (Iparraguirre, 2020 ).

**Sólidos disueltos totales (SDT).** Mayormente los SDT están compuestos por sales inorgánicos como calcio, magnesio, potasio, bicarbonatos, et., y materias orgánicas disueltas en agua. Las aguas naturales contienen un cierto límite de SDT, pero las

actividades antropogénicas (minería, agricultura, ganadería, industriales u otros) hacen que aumenten los niveles de SDT y esto a la vez pueden ser tóxicos para la vida acuática (peces, insectos, anfibios y macroinvertebrados), por ejemplo, si los STD superan a 250 mg/L alteran la fertilización de los salmónidos y si los valores de STD son de 270 a 170mg/L puede eliminar a casi toda las especies de totoras (*Ceratophyllus demersum*) (Peng et al., 2020). Por otra parte, las concentraciones de SDT de las aguas residuales varían entre los valores de 250 mg/L y 850 mg/L (Peng et al., 2020).

**Metales pesados.** Una de las características principales de los metales pesados es que son considerados como contaminantes inorgánicos que poseen una densidad y peso atómico relativamente muy altos y a bajas concentraciones pueden ser muy venenosos (Joshi & Gururani, 2022). Además, existen una gran cantidad de factores que son los causantes de las acumulaciones de iones de metales pesados en los efluentes líquidos como las diversas actividades industriales que dentro de sus operaciones realizan procesos de electrolisis, galvanoplastia y las fundiciones de metales (Saleh et al., 2022).

La mayor consecuencia de estos metales pesados en el ambiente son la destrucción del hábitat marino, la reducción de la productivos de los cultivos debido a la degradación de los suelos y la absorción de las plantas, lo cual estos entran a la cadena alimenticia y pueden generar adversas consecuencia hacia a la humanidad y animales (Chai et al., 2021).finalmente, Los principales contaminantes de metales pesados son Plomo (Pb), Cadmio (Cd), Cromo (Cr), Níquel (Ni), Arsénico (As), Mercurio (Hg) y entre otros.(Fouda-Mbanga et al., 2021).

**Turbidez.** La turbidez es un indicador importante para el análisis de la calidad del agua que consiste en mostrar el grado de absorción o dispersión de la luz debido a la

presencia de sustancias suspendidas en el agua que pueden ser sedimentos, compuestos orgánicos e inorgánicas, arcillas, plancton, microorganismo, entre otros. (Hudson, 2010).

### **2.1.2 Tipos de aguas residuales**

**Aguas residuales municipales.** Las aguas residuales municipales son los efluentes que se generan de la casa, restaurantes, tiendas, hoteles, colegios, lavado de autos, etc. (Shakeri et al., 2021). Además, se categorizan por ser una mezcla de efluentes industriales (5-20%) y efluentes domésticos (80-95%) , y dentro de esta categorización se puede encontrar los materiales orgánicos (Nitrato, Fosfato, DBO y DQO), materiales inorgánicos (Pb, Cu, Hg, Zn, etc.) y microorganismos patógenos (Guldhe et al., 2017).

**Aguas residuales Industriales.** Por lo general las aguas residuales industriales son procedentes de una actividad industrial (descarga acuosa) cuyo proceso de fabricación industrial se utilice el uso de agua o actividades de limpieza durante el proceso de producción y transformación. Estos efluentes en su mayoría contienen iones de metales pesados, compuestos orgánicos, nutrientes, colorantes, pesticidas u otros materiales tóxicos (Samaei et al., 2018). Por ejemplo, en la industria textil su mayor consumo para generar la producción textilera es el agua, los tintes y productos químicos. Se estima aproximadamente que 500 toneladas de materiales de tintura son descargados al medio ambiente anualmente. Lo cual generan acciones estéticamente indeseables, tóxicas, cancerígenas y mutagénicas, y dentro de las características principales de estos efluentes se encuentran el color, turbidez, DQO, sólidos en suspensión y conductividad eléctrica, debido a que contiene grandes cantidades de productos químicos (Desa et al., 2019). En el reporte de (Bougdour et al., 2020) se evaluaron los parámetros

fisicoquímicos de los efluentes de las industria textiles utilizando métodos estándar de análisis de aguas residuales y agua ( Ver tabla 1).

**Tabla 1**

*Caracterización de las aguas residuales industriales textiles*

Parameters	Unit	Concentration of textile effluent
pH	-	6.78-7.25
Temperature	°C	24.4
COD	mg/L	982.3 - 1012
BOD	mg/L	269 - 271
Conductivity	mS/cm	16.5-16.8
Turbidity	NTU	200.8

**Nota.** Tomado de “*Photocatalytic degradation of industrial textile wastewater using S2O8<sup>2-</sup>/Fe<sup>2+</sup> process*”, por Bougdour et al., 2020.

**Aguas residuales hospitalarios.** Los efluentes líquidos hospitalarios son generados por distintos servicios como laboratorios, policlínica, quirófano, lavandería, etc. Teniendo un alto contenido de macrocontaminantes (DBO, DQO, SS, etc) y microcontaminantes (productos farmacéuticos y de cuidado personal, compuestos orgánicos Halogenados, alterador hormonal u otros fármacos) en distintas concentraciones como fuente principal de microcontaminantes en el medio ambiente. Además, las concentraciones de los efluentes hospitalarios son muy superiores a las concentraciones de los efluentes municipales en términos de microcontaminantes (Hocaoglu et al., 2021).

**Aguas residuales agrícola.** La contaminación agrícola se ha convertido uno de los problemas más graves a nivel mundial en especial los países en desarrollo como china. La contaminación del agua por fuentes difusas (no se localiza en un punto fijo o determinado), siendo esto una fuente importante en la contaminación agrícola a causa de cantidades excesivas de uso de fertilizantes, herbicidas e insecticidas en el desarrollo de la producción agrícola (Chen et al., 2017). De acuerdo en el informe de Li et al. (2017) la agricultura China ha superado a la industria convirtiéndola en la principal fuente de

contaminación del agua, lo cual desde el 2005 han generado alrededor de 44 % de DQO, 57% de nitrógeno y 67 % de fosfato; debido a el excesivo uso de fertilizantes que esto a su vez provocó emisiones de gases de efecto invernadero y la disminución de 0.5 unidades de pH de suelo en las diversas regiones productoras de cultivo.

**Aguas residuales ganadera.** Los efluentes generados por la ganadería contienen altas concentraciones de materia orgánica, solidos en suspensión excesivo y altas cantidades de amoniaco y fosforo, esto se debe al lavado de los heces y orinas de los animales. Muchas veces, para las industrias ganaderas se les hace imposibles gestionar dicha agua residual, por ejemplo, tratar de reducir la propagación de patógenos y microorganismos tóxicos, y los problemas de los malos olores (Nik Daud & Anijiofor, 2017). Otro de los problemas que presenta es el consumo hídrico en grandes cantidades, se estima que el 29 % del agua usada para la agricultura en su mayoría es dirigido a la producción ganadera (cultivo de alimentos para los animales) y no solo reduce la disponibilidad del agua sino también son contribuyentes de los gases de efecto invernadero (GEI), debido a que demanda en grandes cantidades el uso de fertilizantes químicos (Lahlou et al., 2021).

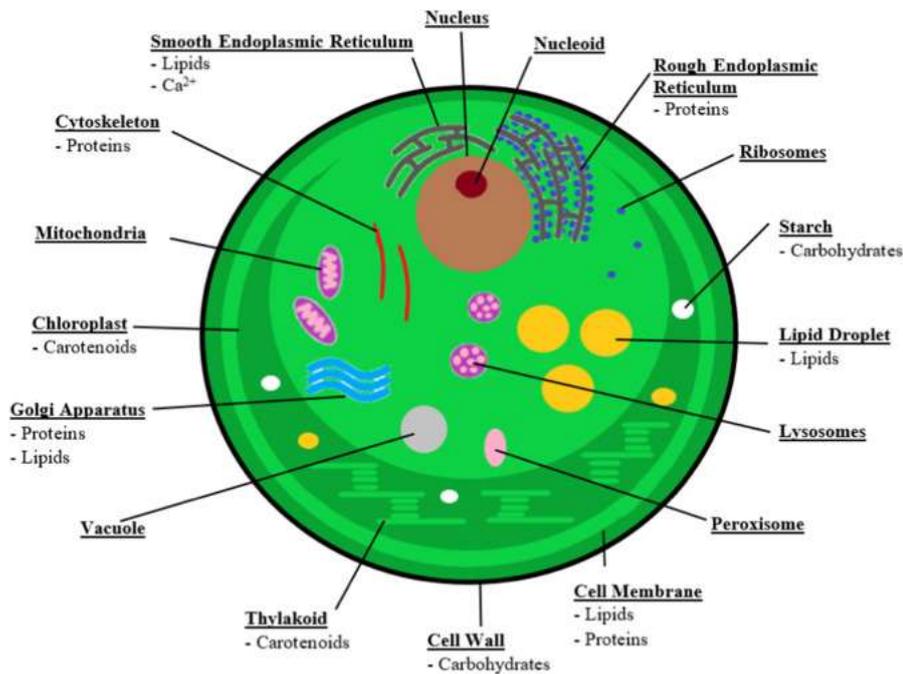
## 2.2 Concepto de la microalga

Las microalgas se caracterizan por estar rodeada de pared celular cubierta a lo largo con iones de carga negativa encontrándose a los grupos hidroxilo o grupos carboxilo. De esta manera atraen metales que tienen carga positiva uniendo así en su pared celular, la unión se puede dar por absorción, quelación y bioacumulación como en su mayoría de las aguas residuales están cargadas por una gran variedad de nutrientes como nitrógeno, fósforo, carbono, azufre, potasio y entre otros (M. Ray et al., 2019). Además,

las microalgas son organismos unicelulares que para su crecimiento usan la radiación solar, agua y el CO<sub>2</sub> atmosférico; no obstante, no poseen raíces, tallos u hojas como las plantas terrestres o acuáticas. En su mayoría están compuestas por 9.5-42 % de lípidos, 17-57 % de carbohidratos y proteínas en un 20-50 %, y 100 000 especies han sido identificado pero solo 35, 000 especies han sido caracterizado (Soares et al., 2019).

En la Figura 1, se observa la estructura de una microalga donde la parte del citoesqueleto está comprendido por filamentos de proteínas que permite dar la forma y soporte a la célula. La pared celular está constituida por polisacáridos que tienen como función proteger y estructurar a la célula a través de una capa protectora llamada membrana contenida por proteínas y lípidos. La membrana del retículo endoplasmático rugoso (REr) es el lugar donde asimilan las proteínas y almacenan el ion calcio (Ca<sup>+2</sup>) y esta recubierta por ribosomas, mientras que la membrana del retículo endoplasmático liso (REl) carece de ribosomas, pero es un lugar donde se sintetiza los lípidos. Finalmente, tenemos al cloroplasto (forma de organelos) que son los encargados de realizar la fotosíntesis y contienen los pigmentos, las clorofilas y los carotenoides para poder absorber la energía de la luz.

**Figura 1**  
Estructura de una microalga



**Nota.** Tomado de “Microalgae as an alternative to oil crops for edible oils and animal feed”, por Fawcett et al., 2022.

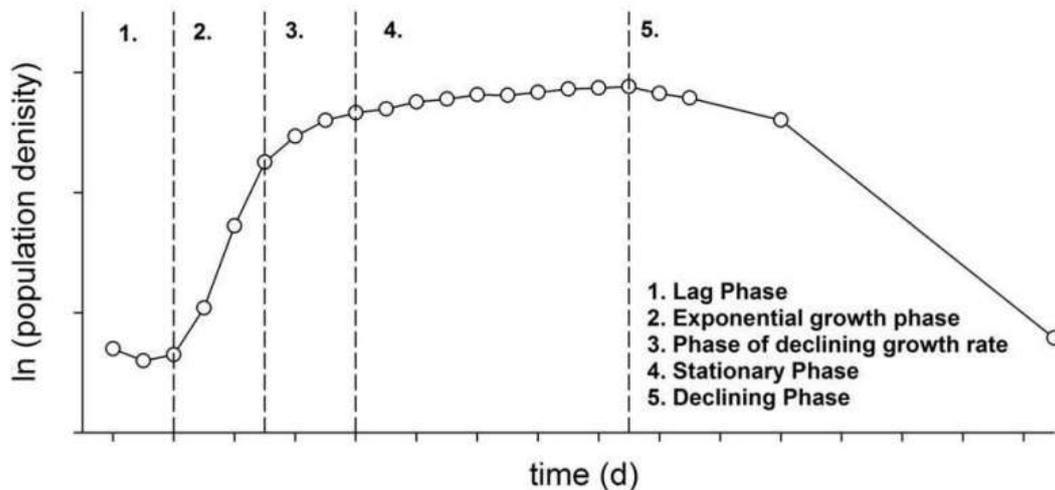
### 2.2.1 Fase de crecimiento de las microalgas

En la Figura 2, se describe las fases que posee las microalgas en un cultivo discontinuo, la primera fase corresponde a la fase de retraso o fase de adaptación donde la densidad de la población crece ligeramente debido a que las células de las microalgas se están aclimatando fisiológicamente al crecimiento (aumento de niveles de enzima y metabolitos). La segunda fase corresponde a la fase de crecimiento exponencial; es decir la densidad poblacional de las microalgas empiezan a incrementar en función al tiempo. La tercera fase corresponde a la fase de declinación donde la tasa de crecimiento de las microalgas empieza a disminuir (las células desaceleran), esto sucede por el agotamiento de los nutrientes u otros factores físicos o químicos que comienzan a reducir el crecimiento. En la cuarta fase corresponde a una fase estacionaria donde el factor limitante (nutrientes) están equilibrados con la densidad poblacional llevando a

que el crecimiento de la microalga sea constante. Finalmente, en la última fase corresponde a la fase de muerte de la densidad poblacional donde empieza a decaer rápidamente debido al agotamiento de nutrientes, carencia de oxígeno o el efecto de autosombreado.

**Figura 2**

*Fase de crecimiento de la microalga en cultivo discontinuo*



**Nota.** Tomado de “ *Cellular viability and the occurrence and significance of chlorophyll allomers during phytoplankton turnover*”, por Steele, 2015.

### 2.2.2 Factores que afectan el crecimiento de las microalgas

El crecimiento de las microalgas o cultivo de microalgas están influenciado por distintos factores ambientales como las unidades de pH (medición de ácidos, neutro o alcalino), la variación de temperatura (T°C), la intensidad de la luz (medición en luxes), el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y la composición de nutrientes en el medio de cultivo de las microalgas. Entre los factores mencionados la temperatura y la intensidad de luz son los dos componentes importantes que afectan el crecimiento y la productividad de la biomasa, ya que los valores óptimos de luz y temperatura va a depender de cada tipo de especie de microalga. Además, si las microalgas se encuentran en un ambiente de estrés como nutrientes inapropiados presentes en los medios de cultivos o la intensidad de luz o

temperatura que son bajas o altas, se pueden percibir una reducción en la producción de biomasa y en la tasa de crecimiento (Metsoviti et al., 2019).

**Temperatura.** La mayor parte de las especies de microalgas puede desarrollar su fotosíntesis y división celular entre los rangos de temperatura de 15°C y 30°C, pero con condiciones óptimas entre los rangos de 20°C y 25°C. Además, cuando la temperatura del medio es excedido frente a la temperatura óptima la tasa de crecimiento empieza reducir notablemente, esto se debe a, que el calor acumulado en el medio de cultivo lleva al estrés de las microalgas alterando sus funcionalidades como la inactivación y desnaturalización de las enzimas o cambiar las proteínas que están relacionadas en los procesos fotosintéticos (Ras et al., 2013).

**pH.** El parámetro de pH es fundamental para la determinación de solubilidad y disponibilidad del CO<sub>2</sub>, y los nutrientes presentes en el cultivo de las microalgas, debido a que está estrechamente vinculado en sus procesos metabólicos y cada especie de microalga posee rangos óptimos de pH para su producción de biomasa y lípidos. Además, el pH aumenta gradualmente durante el día (proceso fotosintético) en vista a la absorción del carbono inorgánico por medio de las microalgas, causando de esta manera la reducción de disponibilidad de CO<sub>2</sub> y muerte del crecimiento celular. Por otra parte, el pH cuando presenta valores muy alto puede eliminar contaminantes biológicos no deseados (Qiu et al., 2017). Finalmente, el pH óptimo para el crecimiento máximo de la microalga se da entre los valores de pH (7 - 7.6) (R et al., 2021).

**Intensidad de luz.** Existe una relación estrecha entre la intensidad de luz y la tasa fotosintética, pero va a depender de la curva de respuesta a la luz fotosintética. La curva está comprendida por una fase de limitancia de luz, fase de saturación de luz y la fase

de fotoinhibición, la primera fase ocurre cuando la intensidad de luz es muy baja o por la alta densidad celular que posee el medio de cultivo, es decir, genera un efecto denominado autosombreado por las altas concentraciones de biomasa presentadas en el medio de cultivo, lo cual hace que reduzca la intensidad de la luz (baja absorción de fotones y deficiencia fotosintética). En la segunda fase ocurre cuando la intensidad de luz limitante pasa hasta la intensidad de luz de saturación (zona donde favorece el crecimiento de las microalgas). Por último, la tercera fase ocurre cuando las intensidades de luz son muy superiores a la fase de saturación, punto de elevadas irradiaciones afecta el fotosistema II y reducen considerablemente el crecimiento de las microalgas o colapsa el cultivo (Daneshvar et al., 2021)

**Nutrientes.** Las células de las microalgas para realizar sus actividades fisiológicas necesitan de macronutrientes (Nitrógeno, Fósforo y Azufre) y micronutrientes (Potasio, Calcio, Hierro y Magnesio), de modo que, si existe una falta o agotamiento de estos nutrientes llevan a conducir alteraciones en sus procesos metabólicos celulares, provocando cambios en sus componentes de biomasa como proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos (Ran et al., 2019). Además, si existe una deficiencia de Nitrógeno (N) esto va a limitar la biomasa de las microalgas y si hay una deficiencia de Fósforo (P) esto va a dificultar que se realice la fotosíntesis (Zeng et al., 2021)

**Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>).** A bajas cantidades de CO<sub>2</sub> resulta la producción de lípidos en menor proporción debido a que su metabolismo son más lento de lo normal, pero si las cantidades de CO<sub>2</sub> son muy altas estos pueden dañar al crecimiento celular y la producción de lípidos. Este comportamiento, se debe a que la mayor parte de las células absorben el CO<sub>2</sub> y unas ves que consiguen tener una mayor concentración de CO<sub>2</sub>

empiezan a realizar la fotosíntesis, pero el carbono restante que no fueron absorbidos por las microalgas se convierten en ácido carbónico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), donde este componente genera la acidificación del medio afectando las vías metabólicas y el crecimiento celular de las microalgas (Mulgund, 2022).

### **2.2.1 Tipos de medios de cultivos de las microalgas**

**Cultivo fotoautótrofo.** Es una técnica de cultivo donde las microalgas transforma el carbono inorgánico representada por el  $\text{CO}_2$ , el ion carbonato  $\text{CO}_3^{-2}$ , y el ion bicarbonato  $\text{HCO}_3^-$  en materia orgánica utilizando energía luminosa por medio del proceso fotosintético. A nivel industrial y comercial el cultivo fotoautótrofo se considera eco-amigable con el medio ambiente, ya que no se adicionan fuentes de carbono orgánico al cultivo. Pero, en términos de productividad y eficiencia energética son muy bajas, debido a que desarrollan muy poca tasa de crecimiento y densidad celular (Y. Fu et al., 2021).

**Cultivo heterótrofo.** En este método los cultivos de las microalgas son únicamente desarrollados en completa oscuridad, la única fuente de carbono y energía solamente necesitan el suministro del sustrato carbono orgánico para su crecimiento. Además, la ausencia de luz conlleva que las microalgas no puedan fijar el  $\text{CO}_2$  inorgánico a través de la fotosíntesis (A. Ray et al., 2022).

**Cultivo mixótrofico.** En este método el cultivo mixótrofico consiste en la utilización simultánea del carbono inorgánico asimilado ( $\text{CO}_2$ ) y el carbono orgánica para elaborar biomasa y metabolitos por medio del proceso fotosintético y respiración celular (Verma et al., 2020).

**Cultivo fotoheterótrofico.** En este método las microalgas necesitan la luz como fuente de energía, el agua, y el CO<sub>2</sub> para sintetizar compuestos orgánicos (Dębowski et al., 2020).

### **2.2.2 Sistemas de cultivos de las microalgas**

Los cultivos de las microalgas se pueden realizar en laboratorios o al aire libre, así como en sistemas de cultivos abiertos o cerrados. Una de las ventajas de usar los sistemas de cultivos abiertos es que son muy rentables y fácil de instalar, pero se ven afectados por factores externos y por la contaminación lo que conlleva a una reducción de la producción de biomasa durante largos periodos de tiempo. Por otro lado, tenemos a los sistemas de cultivos cerrados que contribuyen el buen manejo y control de los parámetros de cultivos (pH, CO<sub>2</sub>, T°C, luz, agitación y nutrientes) favoreciendo las condiciones apropiadas para el cultivo de las microalgas, pero la desventaja es que son muy costosas para su instalación (Vale et al., 2020).

**Sistema de estanque abierto.** En la figura 3, se puede observar el funcionamiento de un sistema de estanque abierto (SEA), donde las microalgas se desarrollan de manera libremente y que la superficie del medio de crecimiento está en contacto directo con la atmósfera. Generalmente, el diseño que presentan es de forma de estanques o canales redondos o canales formadas en U y constantemente es agitado por un par de paletas con el fin de evitar la precipitación de biomasa del cultivo. Además, las concentraciones máximas de biomasa que pueden alcanzar las microalgas son de 1g/L en estos tipos de sistemas. Finalmente, la irradiación y la temperatura va a depender de la latitud del lugar, ya que no se pueden modificar artificialmente.

**Figura 3**

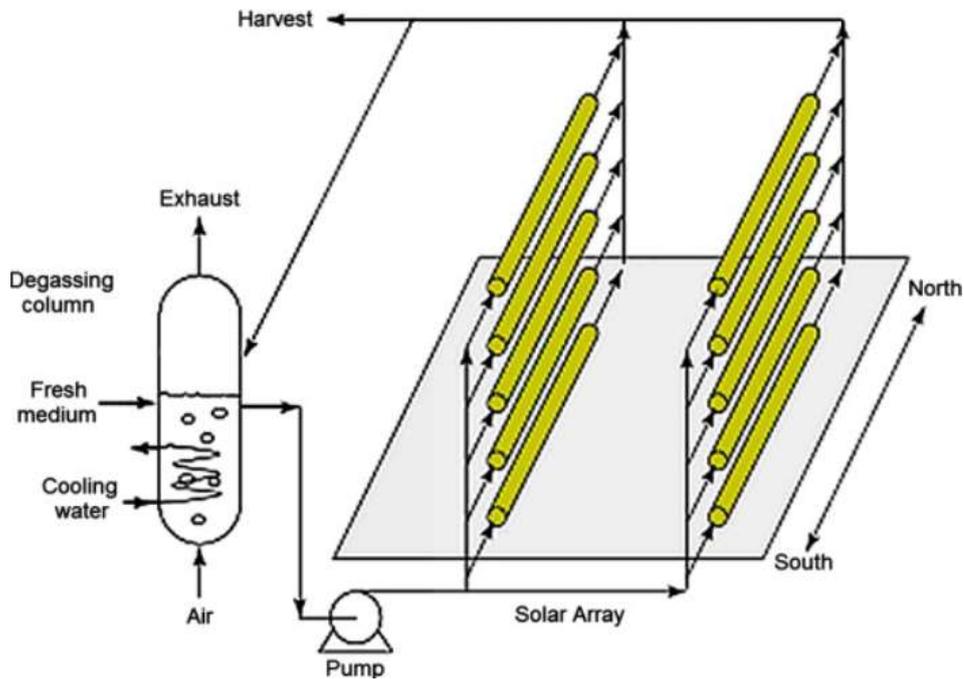
*Sistema de estanque abierto para el cultivo de microalgas*



**Nota.** Tomado de “*Biomass Resources*”, por Sánchez et al., 2018.

**Fotobiorreactores tubulares.** La configuración de fotobiorreactores tubulares (FBT) es uno de los más usado en la industria. Generalmente, está compuesta por tubos transparentes que poseen diámetros pequeños aproximadamente de 0.1 m (régimen de luz óptima) con el fin de asegurar una mayor eficiencia en la productividad de biomasa y las construcciones de estos sistemas puede ser de forma recta, doblada o espiral y en términos de orientaciones pueden estar ubicado de manera horizontal, inclinada o vertical. Además, dentro de sus componentes posee una unidad de separación de cosecha que permite separar las microalgas en suspensión y un tanque de desgasificación que brinda el intercambio de gases y energía (enfriamiento o calentamiento), y una bomba de circulación (Ver Figura 4). El flujo de circulación generada por la bomba es de 0.5 m/s, para conseguir una mayor turbulencia y mezcla entre las células que están en una zona iluminada (al contorno del tubo) y una zona oscura (alrededor del centro del tubo), con las configuraciones adecuadas se logra obtener una densidad de biomasa seca de 1.7 g/L (Norsker et al., 2011).

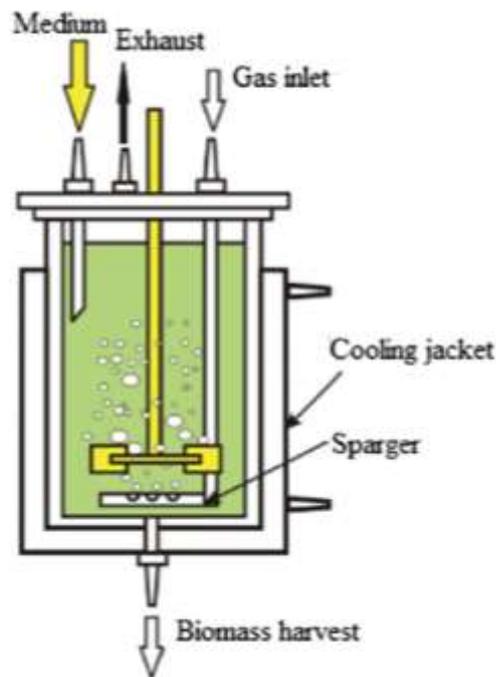
**Figura 4**  
Esquema de un fotobiorreactor tubular



**Nota.** Tomado de “Closed photobioreactors for production of microalgal biomasses”, por Wang et al., 2012.

**Biorreactores.** Este tipo de sistema también es denominado como fotobiorreactor de tanque agitado, ya que fue basado en reactores de fermentación de cultivos heterótrofos de alta eficiencia, lo cual fue diseñado para el cultivo de microalgas y para su crecimiento se usaron lampas fluorescentes y fibras ópticas como fuentes de luz (Ting et al., 2017). En la figura 5, se observa las características que posee un biorreactor, donde la parte de la agitación es generada por un motor eléctrico impulsando el movimiento mecánico, el canal de ingreso del gas CO<sub>2</sub> es por la parte superior del biorreactor y para tener un buen suministro de las concentraciones de CO<sub>2</sub> se instala un rociador de tipo boquilla circular muy pequeñas dentro del reactor. Además, el llenado del medio de cultivo es de 70 % a 80 % y el espacio faltante son para las espumas y para algunas formaciones de gaseosa o líquida que esperan ser liberados a través del escape.

**Figura 5**  
*Fotobiorreactor de tanque agitado*



**Nota.** Tomado de “*Biophotonics for improving algal photobioreactor performance*”, por Sero et al., 2020.

### 2.1 Tratamiento de Aguas Residuales con el Uso de Microalgas

En el proceso de una planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) usan distintas estrategias (físico, químico y biológico) para depurar o tratar el agua residual y luego ser vertidos al medio ambiente con menos concentración de contaminante. Una de las principales ventajas de usar las microalgas para el tratamiento de aguas residuales (TAR) es que son eficientes, seguros, aplicables en la producción de biocombustibles, generadores de alimentos para animales, aprovechamiento a través de su biomasa como biofertilizantes y bioestimulantes para la productividad de los cultivos en el área agrícola. Además, de ser económicamente viable y sostenibles, el uso de las microalgas en el TAR su costo total podría ser de  $0.15 \text{ \$}\cdot\text{m}^{-3}$  lo cual representa el 30 % menos que el uso de lodos activados y eso sin considerar los ingresos finales de la comercialización agrícola (Morillas-España et al., 2022).

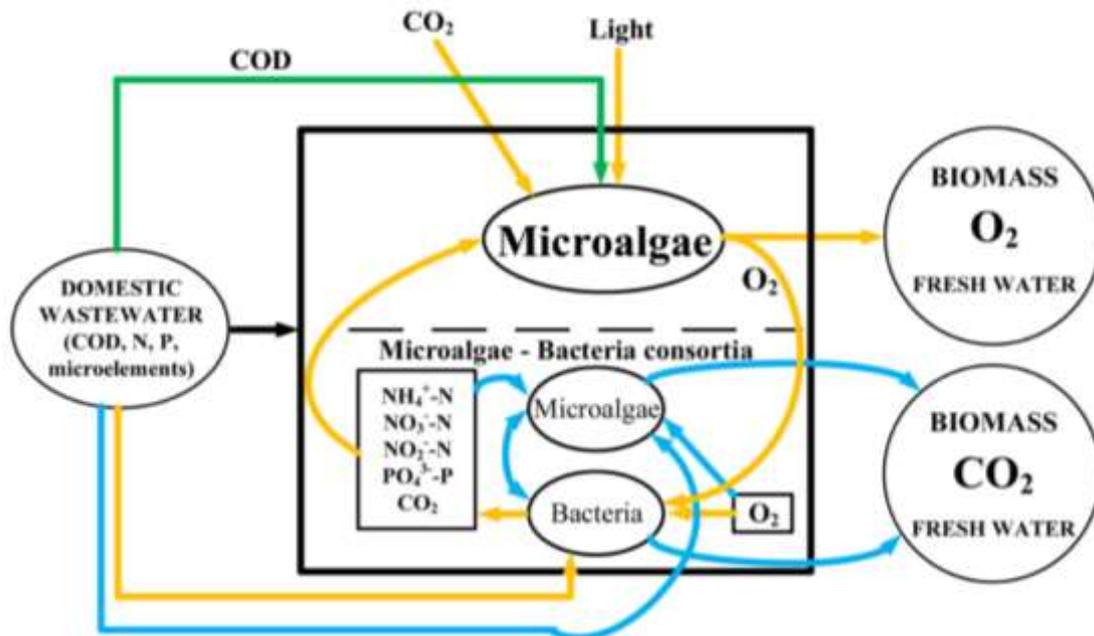
### **2.1.1 Mecanismo de crecimiento de las microalgas en el tratamiento de las aguas residuales**

En la Figura 6, se muestra el mecanismo de biorremediación de los efluentes doméstico a través del uso microalgas, donde la línea de color naranja está representada por la circulación de los nutrientes por vía del proceso fototrófico (síntesis de materia orgánica con el uso de la luz), en este punto los microorganismo de microalgas y bacteria realizan una simbiosis (intercambio de  $O_2$  y  $CO_2$ ) y nutrientes de componentes orgánicos e inorgánicos, esto se debe a que las bacterias empiezan a oxidar la materia orgánica a componentes inorgánicas ( $NH_4^+$ ,  $NO_3^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $PO_4^{3-}$  y  $CO_2$ ) que seguidamente son consumidas por las microalgas para generar la biomasa y oxígeno en presencia de la luz. Luego, Las bacterias heterótrofas aprovechan el oxígeno producido por las microalgas para seguir nuevamente oxidando los componentes orgánicos complejos presentes en el agua residual doméstico.

Para línea de color verde está representada el flujo de los nutrientes por vía mixotrófico, en este punto la mayoría de las microalgas pueden desarrollarse mixotróficamente, ya que solo necesita consumir el carbono orgánico (los azúcares, acetato, glicerol y entre otras.) y el carbono inorgánico en presencia de la irradiación de fotones (luz) (Gao et al., 2021). Finalmente, la línea de color celeste está representada por el flujo de nutrientes en el proceso heterótrofos, en este punto ciertas microalgas también son capaces de aprovechar el carbono orgánica en ausencia de luz (oscuridad) para producir su propia biomasa y generar  $CO_2$  como las bacterias heterótrofas (Murwanashyaka et al., 2020).

**Figura 6**

Proceso de biorremediación de las aguas residuales domésticas con el uso de microalgas



Nota. Tomado de "Microalgae and bioremediation of domestic wastewater", por Do et al., 2022.

### 2.1.2 Uso de la microalga *Chlorella Vulgaris* como biorremediación

La microalga *Chlorella Vulgaris* fue descubierta por el botánico y fitopatólogo holandés Martinus Willem Beijerinck con el estudio de algas verdes y el tamaño de la microalga posee un diámetro de forma circular entre 2 y 10 µm (Peter et al., 2022). Además, la microalga *C. Vulgaris* es un microorganismo unicelular que se desarrollan en las aguas dulces y posee elementos estructurales parecidos a las plantas y es considerada como una célula reproductora no móvil (Autospora) que experimenta una reproducción rápida y autoesporosa (células hijas formada de una célula madre). Así una célula de microalga puede ser capaz de multiplicarse en 24 horas (Soleimani khorrandashti et al., 2021).

*C. Vulgaris* tiene una alta capacidad de biorremediar diferentes tipos de aguas residuales (industriales, municipales, ganadera, entre otros.) debido a su alta resistencia y

contenido de aceite, se adaptan fácilmente a condiciones de cultivos mixotróficas, tienen la capacidad de generar alta tasa de crecimiento en condiciones muy adversas y sobre todo tienen la capacidad de tolerar altos niveles de metales pesados (Znad et al., 2018). Además, otras de las razones para cultivar en las aguas residuales se deben a que la microalga *C. Vulgaris* en su crecimiento natural (aguas dulces) cuando existe un agotamiento de sus nutrientes y están en medio de estrés normalmente empiezan acumular grandes cantidades de lípidos como materiales de almacenamiento. Lo cual, lo hacen adecuado para tratar y depurar las aguas residuales y generar biocombustibles (Wirth et al., 2020).

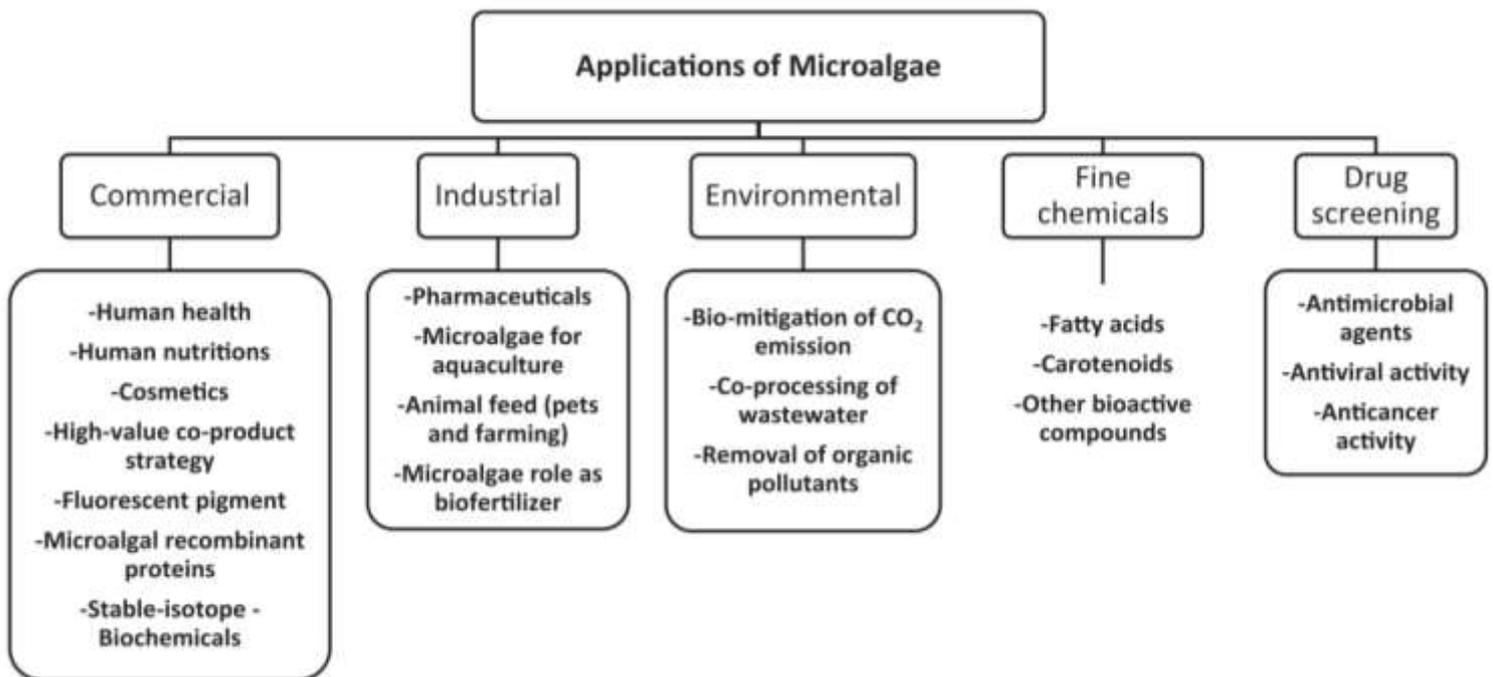
De acuerdo a Silva et al. (2022) el uso de las microalga *C. Vulgaris* son muy eficientes en la remoción de las aguas residuales donde el porcentaje de eliminación para el nitrógeno fue de 80 % a 90 %, para el fósforo de 80 % a 91% y para DQO fue más del 50% , asimismo son capaces de resistir los contaminantes de metales pesados (Cobre, Zinc, Níquel, Cadmio y Uranio) y remediar los hidrocarburos del petróleo crudo ligero en un 94 % y para el petróleo crudo pesado en un 88 %. Asimismo, en el estudio de Zou et al. (2020) determinaron que el uso de *C. Vulgaris* en la remoción de selenio (Se) de los efluentes agrícola (alto nivel de Se disuelto) fue mayor al 96 % a través de la volatilización (mecanismo similar a las plantas) donde la microalga absorben el Se a manera de selenato o selenito transformándolo finalmente en selenocisteína (SeCys) y selenometionina (SeMet).

## **2.2 Aplicaciones de las microalgas en diferentes campos**

Las microalgas tienen una gran capacidad de producir una gran variedad de productos bioquímicos aplicados para la investigación médica, alimentaria, industrial, comercial,

entre otras.( Ver Figura 7) siendo una fuente renovable de gran potencial; es decir, los cultivos de microalgas son utilizados para la captura de CO<sub>2</sub> atmosférico o los gases emitidas por las actividades antropogénicas, permite la eliminación de los nutrientes (compuestos orgánicos) de las aguas residuales, el uso de la biomasa de las microalgas son aprovechados para generar productos farmacéuticos debido a su alto valor nutricional ( carbohidratos, vitaminas y minerales ) que son esenciales para los seres humanos y animales, también acumula elevadas cantidades de lípidos que sirve para la producción de biodiesel (Vale et al., 2020).

**Figura 7**  
*Aplicaciones de las microalgas en diferentes campos*



**Nota.** Tomado de “Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond”, por Rizwan et al., 2018.

**2.2.1 Aplicación de microalga en la parte comercial**

El uso de algunas especies como *Arthrospira* y *Chlorella* en la actividad cosmética se elaboraron en el mercado cremas para el cuidado de la piel y de la cara que permite el antienvjecimiento y antiirritantes en los exfoliantes (para una piel sensible); por

ejemplo, el extracto de la biomasa de *Chlorella vulgaris* estimula la formación de colágeno en la piel brindando la regeneración de los tejidos y la reducción de arrugas; y el uso de la especie *Arthrospira* evita el envejecimiento prematuro de la piel que previene la formación de estrías (Spolaore et al., 2006). Además, en las aplicaciones de industria alimentaria se encuentran las especies *Chlorella zofingiensis*, *Arthrospira platensi* y *Dunaliella salina*, donde *Chlorella zofingiensis* contiene alta proteína en un 60-71 % de su peso seco (dw) y bajo contenido de carbohidratos en un 13- 16 % dw representando un poderoso ingrediente en los productos alimenticios como té verde en polvo, pan, fideos, galletas y helados. Para *Arthrospira platensi* se aplican en la dieta vegana sustituyendo otras fuentes de proteínas y carbohidratos, por último la especie *Dunaliella salina* se aplican en la alimentación animal que contienen proteínas en un 57 % dw y carbohidratos de 32% dw (Morais Junior et al., 2020).

### **2.2.2 Aplicación de microalga en la parte industrial**

En la actividad farmacéutica se realizaron estudios sobre propiedades anticancerígenas donde usaron las cepas puras de las microalgas para la disminución de los efectos secundarios en los pacientes y las moléculas bioactivas de la microalgas que emplearon eran los carotenoides, glicolípidos, polisacáridos y proteínas (Tsianta, 2019). Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) son compuestos bioactivos lipídicos de las microalgas que se usaron para la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Además, los PUFA  $\omega$ -3 en la dieta de las personas tienen un efecto positivo en la protección contra enfermedades cardíacas aterosclerótica y, los derivados de PUFAs llamadas ácido poliinsaturado eicosapentaenoico (C20  $\omega$ -3:5, EPA), ácido docosahexaenoico ( $\omega$ -3 C22:6, DHA), ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA) y el ácido docosapentaenoico ha sido aplicado para tratar diabetes de tipo 2, el asma, los

trastornos inflamatorios del intestino y de la piel (Xia et al., 2021). Según (Asgharpour et al., 2015) demostraron altas cantidades de PUFA y EPA en *las microalgas Chlorella minutissima, Porphyridium cruentum, Ocharomonas dánica y Phaeodactylum tricorutum*.

Las proteínas de las microalgas es un recurso sustancial para la capacidad de nutracéutica que actúa como suplemento nutricional previniendo o tratando enfermedades que pueden ser crónicas dentro de ellos encontramos a los grupos de *Chlorella* y *Spirulina* por su alto contenido en proteínas y aminoácidos. En la Tabla 2, se detalla los nutracéuticos a base de microalgas y sus diferentes aplicaciones, y además existen varias microalgas que poseen concentración de proteínas muy altas que son desde 42% hasta 70 % de igual manera se aplica para cianobacterias y para *Chlorella vulgaris* llega en un 58 % en peso seco (Vieira et al., 2020).

**Tabla 2**  
*Importantes nutraceuticas a base de microalgas y aplicaciones*

Type of Nutraceutical	Product name	Producing microalgae	Industrial application
PUFA's	EPA	<i>Pavlova</i> sp., <i>Nannochloropsis</i> sp., <i>Monodus</i> sp., <i>Phaeodactylum</i> sp.	Nutritional supplement and aquaculture feed constituent
	DHA	<i>Crypthecodiuiu</i> sp., <i>Schizochytrium</i> sp.	Nutritional supplement and constituent of infant and aquaculture feeds
	GLA ( $\gamma$ -linolenic acid)	<i>Spirulina</i> sp.	Nutritional supplement
	AA	<i>Porphyridium</i> sp.	Nutritional supplement
Phycobiliproteins	Phycocyanin	<i>Spirulina platensis</i>	Natural colorant for food and cosmetological products, anti-oxidant
	Phycoerythrin	<i>Porphyridium cruentum</i>	Diagnostic fluorescence agent
Carotenoids	$\beta$ -Carotene	<i>Dunaliella salina</i>	Natural food colorant, antioxidant, anti-cancer properties
	Astaxantin	<i>Haematococcus pluvialis</i>	Pigment and antioxidant
	Echinenone, Zeaxanthin	<i>Dunaliella</i> sp.	Food colorant
	Lutein	<i>Chlorella</i> sp., <i>Chlamydomonas</i> sp.	Food colorant
	Phycocyanobilin	<i>Synechocystis</i> sp., <i>Cyanidioschyzon</i> sp.	Food colorant
Aminoacids	MAA (mycosporine-like amino acids)	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	Sunscreen agent
Polysaccharides	Carragenan/algininate	<i>Porphyridium cruentum</i>	Viscosifier, lubricant, flocculant, antiviral agent
Phycotoxins	Okadaic acid, gonyautoxins, yessotoxins	<i>Amphidinium</i> sp., <i>Prorocentrum</i> sp., <i>Dinophysis</i> sp.	Diagnostic agent for neurodegenerative diseases

**Nota.** Tomado de “*Microalgae-based Pharmaceuticals and Nutraceuticals: An Emerging Field with Immense Market Potential*”, por Jha et al., 2017.

La industria de acuicultura proporciona aproximadamente el 50 % del pescado para el consumo humano a nivel mundial, por lo cual va en aumento en los últimos años; es decir, el consumo per cápita de pescado aumentaron significativamente de 9kg (1961) a 20.2 kg (2015) y para el año 2050 deberá duplicarse la producción acuícola debido al crecimiento poblacional mundial (Ansari et al., 2021). Por esta razón el uso de microalgas en la acuicultura es esencial, ya que están asociados a la nutrición de las larvas, molusco, camarones y peces. Dentro de las especies se encuentran a *Chlorella*, *Tetraselmis*, *Isochrysis*, *Nannochloropsis*, entre otras (Hemaiswarya et al., 2011). Por

ejemplo, el uso de *Haematococcus pluvialis* rico en astaxantina como alimento aditivo en las truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en una proporción de 0.3% mejora sus funciones fisiológicas (antioxidantes de los tejidos) y metabólicas de manera efectiva, y para la alimentación de las corvinas amarillas grandes (*Pseudosciaena crocea*) en una suplementación dietética de astaxantina y *Haematococcus pluvialis* ( proporción de 0.28 % y 0.56%) mejora el crecimiento, la capacidad antioxidantes e inmunológica. Además, la adición en la dieta de los peces Koi carp (*Cyprinus carpio*) en una proporción de 5 % de peso seco (dw) de *C. vulgaris* incrementa los niveles de anticuerpos(IgM) y de actividad lisozima permitiendo ser resistentes a las enfermedades infecciosas (Ma et al., 2020).

### **2.2.3 Aplicación en la parte ambiental**

El cambio climático es una gran amenaza para la supervivencia de plantas, animales y humanos, debido a las emisiones continuas de gases de efecto invernadero (GEI) incluidas como el CO<sub>2</sub>, el metano (CH<sub>4</sub>), el óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), vapor de agua, el ozono (O<sub>3</sub>) y los gases fluorados. El mayor contribuyente de estas emisiones es el uso de combustibles fósiles (Prasad et al., 2021). Estos tienen como consecuencia la pérdida de biodiversidad, grandes acumulaciones de concentraciones de GEI, aumento del nivel del mar, olas de calor con mayor frecuencia, disminución de las selvas tropicales, sequías, pérdidas de masa de hielo en la Antártida y Groenlandia (Onyeaka et al., 2021). El uso de microalgas juega un rol importante en la eliminación del CO<sub>2</sub> emitidas por los combustibles fósiles, por ejemplo 100 toneladas(t) de biomasa producidas por las microalgas pueden fijar aproximadamente 183 t de CO<sub>2</sub> presentes en la atmósfera y su biomasa microalgal está constituido alrededor de 50 % de carbono en peso seco (Qari et al., 2017). Existen especies que tiene una alta capacidad de bio-captura de CO<sub>2</sub> como

*Chlorella* sp. y *T. suecica* donde su tasa absorción de CO<sub>2</sub> para *Chlorella* sp. es de 95mg/L/día y para *T. suecica* es de 104 mg/L/día. Además, estas especies pueden soportar altas concentraciones de CO<sub>2</sub> entre 0.04 % y 15 %, siendo el porcentaje óptimo para *Chlorella* sp. en 5% y para *T. suecica* en 15 %. Se describe el contenido de carbono y la potencialidad de fijar el CO<sub>2</sub> por cada microalga (Ver Tabla 3).

**Tabla 3**  
Contenido de carbono de la microalga

Microalga	CO <sub>2</sub> inlet (%)	Carbon content (% w/w)
<i>Chlorella vulgaris</i>	10	49
<i>Chlorella vulgaris</i>	8	45
<i>Chlorella vulgaris</i>	24	48
<i>Chlorella</i> PY-ZU1	15	49
<i>Chlorella fusca</i>	0.03	50
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	0.04	46
<i>Synechocystis salina</i>	0.04	43
<i>Microcystis aeruginosa</i>	0.04	42
<i>Tetraselmis suecica</i>	40	40
<i>Oscillatoria</i> sp.	100	38

**Nota.** Tomado de “Combination of nejayote and swine wastewater as a medium for *Arthrospira maxima* and *Chlorella vulgaris* production and wastewater treatment”, por López-Pacheco et al., 2021.

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) en el año 2011 informó que el total de desechos sólidos municipales el 13 % son de desechos plásticos, además los plásticos están hecha a base de petróleo lo cual representa un gran riesgo al medio ambiente sobre todo al ecosistema marino, por esta razón en la actualidad se está tomando mayor conciencia y medidas en todo el mundo para la reducción de plásticos

derivados de procesos petroquímicos (Rahman & Miller, 2017). Ante este problema se están desarrollando bioplásticos que se puedan biodegradar parcialmente y dentro de las ventajas de generar plásticos verdes son: no necesita mayor energía para producir, fáciles de reciclar, la reducción de los combustibles fósiles, renovables, ecológicos y no son productos tóxicos (Thiruchelvi et al., 2020). El candidato ideal para la producción de bioplásticos son las microalgas debido a que proporciona un alto rendimiento de biomasa, es más degradable, su producción es muy rentable en términos económicos. Lo que le hace importante para la producción de plásticos verdes son por sus contenidos de proteínas y la presencia de la molécula de polihidroxitirato (PHB) en las células de las microalgas (Das et al., 2018).

El uso de las microalgas no solo permite la eliminación de nutrientes presentes en las aguas servidas, también son usados para eliminar compuestos farmacéuticos y pesticidas en aguas residuales de origen industrial y agrícola. De esta manera, las microalgas tienen una gran capacidad de crecer, asimilar y resistir condiciones extremas (toxicidad) convirtiéndola en un organismo muy versátil en los tratamientos de diferentes tipos de efluentes líquidos (Al-Jabri et al., 2021). Los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCPs) están relacionados a los microcontaminantes emergentes dado que muchos de estos no pueden ser biodegradados, bioacumulados y puede ser persistente, los más persistentes del PPCPs son el carbamazepina (CBZ), el sulfametazina (SMT) y tramadol (TRA) (Mojiri et al., 2021).

En el reporte de Xiong et al. (2016) el mecanismo para la remoción del carbamazepina (CBZ) se aplicó el proceso biodegradación mediante el uso de las microalgas *Chlamydomonas mexicana* y *Scenedesmus obliquus* la mayor tasa de degradación para

*C. mexicana* fue de 35% y para *S. obliquus* fue de 28 % en un periodo de 10 días con una concentración de CBZ de 1mg/L. *Chlorella vulgaris* demuestra una alta capacidad de eliminar algunos productos farmacéuticos como roxitromicina, tetraciclina, anilina y claritromicina en un 95 %, pero para los productos de sulfametazina, norfloxacin, gemfibrozil y carbamazepina su remoción son muy bajas (Liu et al., 2021).

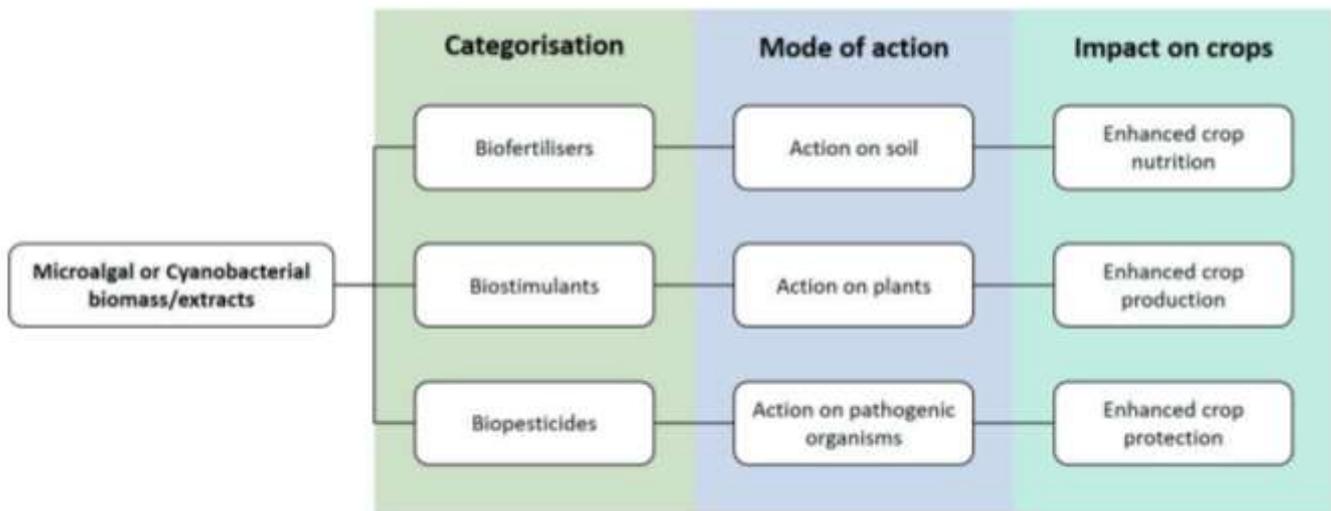
#### **2.2.4 Aplicación de microalga en la agricultura**

Las microalgas y cianobacterias son una fuente esencial para el desarrollo y crecimiento vegetal, así como la protección del suelo frente los patógenos y mejoramiento de la fertilidad del suelo. Esto se debe a la presencia de los compuestos biológicamente activos conocidos como compuestos fenólicos, polisacáridos, hormonas y proteínas. Además, Las cianobacterias fijadoras de nitrógeno, las microalgas, las macroalgas y las algas marinas son reconocidos por su alta capacidad en fertilizar el suelo y estimular el crecimiento de las plantas. Teniendo en cuenta estas funciones se pueden categorizar en biofertilizantes, bioestimulantes y biopesticidas (ver figura 8).

En una investigación de Bumandalai & Tserennadmid (2019) realizaron el uso de *C. vulgaris* como biofertilizantes en el tratamiento en la germinación de semillas de tomate y pepino, donde se recolectaron 2ml de algas suspendidas cada 3 días ( 3,6,9,12), esto a su vez se añadían en cada placa Petri donde se encontraban las semillas de tomate y pepino. Al final del experimento determinaron que las longitudes del brote y de la raíz del tomate fueron más altas en el día 9 con medidas de 17.4 mm y 44. 6mm, mientras que las longitudes del brote y de la raíz para el pepino fueron más altas en el día 12 con medidas 21. 6 mm y 55 mm. En otras palabras, una concentración de *C. vulgaris* de 0.17 y 0.25 g/L mejora la longitud de la raíz y el brote de las semillas de los tomates y pepinos.

**Figura 8**

*Actividades de microalgas o cianobacterias en la producción de cultivos.*



**Nota.** Tomado de “*The use of microalgae and cyanobacteria in the improvement of agricultural practices*”, por Gonçalves, 2021.

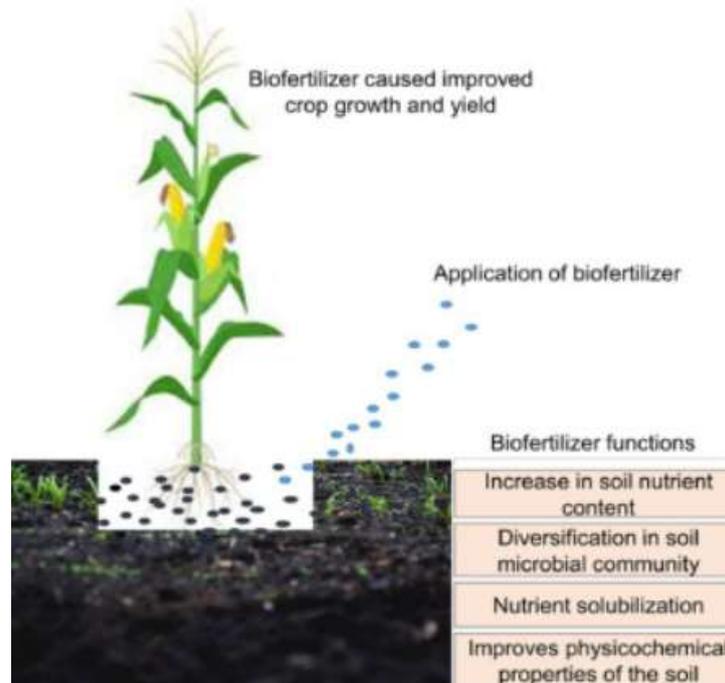
El uso de bioestimulantes y biofertilizantes son alternativas rentables y eco-amigables con el medio ambiente por su gran trabajo en fertilizar, regular el crecimiento vegetal y actuar como un producto fitosanitario frente al uso de productos sintéticos por su alta toxicidad y persistencia. Aplicada baja dosis de los bioestimulantes en las semillas, cultivos y suelos tienen la capacidad de regular y potenciar los procesos fisiológicos de los cultivos permitiendo aumentar su calidad, tener alta productividad agrícola, mejorar la capacidad de absorber los nutrientes y tolerar frente al estrés biótico (bacterias, virus y hongos) (Gharagozloo et al., 2014).

**Biofertilizantes.** Los productos de los biofertilizantes suelen ser ricos en materia orgánica, nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio y otros nutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas (S. Huang et al., 2021). Además, dentro de sus beneficios podemos encontrar como la fijación de nitrógeno, incremento de nutrientes en el suelo, la solubilización y movilización de los nutrientes, la diversificación de la comunidad

microbiana, inhibidora de los patógenos y la mejora de las propiedades físicoquímicas del suelo llevando de esta manera hacia una agricultura sostenible y eco-amigable (ver Figura 9).

**Figura 9**

*Los diversos beneficios del uso de biofertilizantes*



**Nota.** Tomado de *“Biofertilizer production in Africa: Current status, factors impeding adoption and strategies for success”*, por Raimi et al., 2021.

En el reporte de Kompi et al. (2018) determinaron que la aplicación de los biofertilizantes incrementa el nivel de rendimiento de los cultivos en un 20 % a 30 %. Además, aplicar una pequeña dosis de los productos biofertilizantes se obtiene buenos resultados deseados porque cada gramo de estos contiene por los menos 10 millones de células vivas de una cepa específica. Por lo general, los fertilizantes orgánicos portadores en su mayoría están hecho por formulaciones secas, sólidas, granulares o macrogranulados. Por ejemplo, los materiales portadores que se pueden usar en un producto biofertilizantes son las cascarillas de arroz, las cenizas de madera, el compost,

las cáscaras externas del trigo, turba (descomposición de los vegetales ) y el alginato de sodio (extracción de algas marinas) (Sakpirom et al., 2021).

**Bioestimulantes.** Hay que tener en cuenta que los bioestimulantes no aportan los nutrientes directamente al cultivo sino facilita la absorción de los nutrientes para mejorar la rizosfera, el metabolismo de las plantas, la eficiencia de los nutrientes, la calidad de los cultivos y tolerar frente al estrés abiótico (sequía, viento, heladas, etc.). Dentro de los bioestimulantes vegetales se encuentran las sustancias húmicas que corresponden a los ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y huminas; los hidrolizados de proteínas que corresponden a los péptidos de señalización y los aminoácidos libres; finalmente los microorganismos ( bacterias, levaduras, hongos y microalgas)(Kapoore et al., 2021).

**Biopesticidas.** Las microalgas están teniendo un gran protagonismo dentro de los productos biopesticidas, principalmente el uso de las cianobacterias por ser agentes biológicos (metabolitos secundarios y su efecto biocida) que permiten controlar los hongos patógenos y enfermedades presentes en el suelo de las plantas. Estos actúan como actividades antifúngicas, antibióticas y control de nemátodos, y dentro de las actividades están presentes los compuestos bioactivos fenólicos, polifenoles, carbohidratos, proteínas, aceites, etc. (Costa et al., 2019).

En el reporte de (K & Purushothaman, 2020) investigaron que las biopesticidas a base microalgas pueden inhibir o detener su crecimientos de los depredadores durante la etapa de larva y adulto, la responsabilidad de la actividad insecticidas se debe a la presencia de los grupos aminos, los compuestos sesquiterpenos y los alcaloides presentes en la composición química de las algas. Además, las microalgas generan

compuestos nematicidas y algunos aminoácidos en especial los péptidos que actúan con propiedades antimicrobianas y antibióticas, eliminando los patógenos nocivos y protegiendo los cultivos agrícolas.

### III OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo General

Evaluar la eficiencia de remoción de materia orgánica mediante el uso de la microalga *Chlorella vulgaris* en las aguas residuales del Distrito de Monzón (Huánuco).

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Analizar los parámetros físico-químicos del efluente de agua residual en el Distrito de Monzón antes del tratamiento del agua residual en el sistema de biorreactores.
- Estimar el crecimiento de las microalgas cultivadas de forma libre en los efluentes de aguas residuales.
- Determinar el porcentaje de remoción de materia orgánica en el sistema de biorreactores.
- Evaluar su potencialidad para su uso como biofertilizantes después del tratamiento del agua residual.

## IV METODOLOGÍA

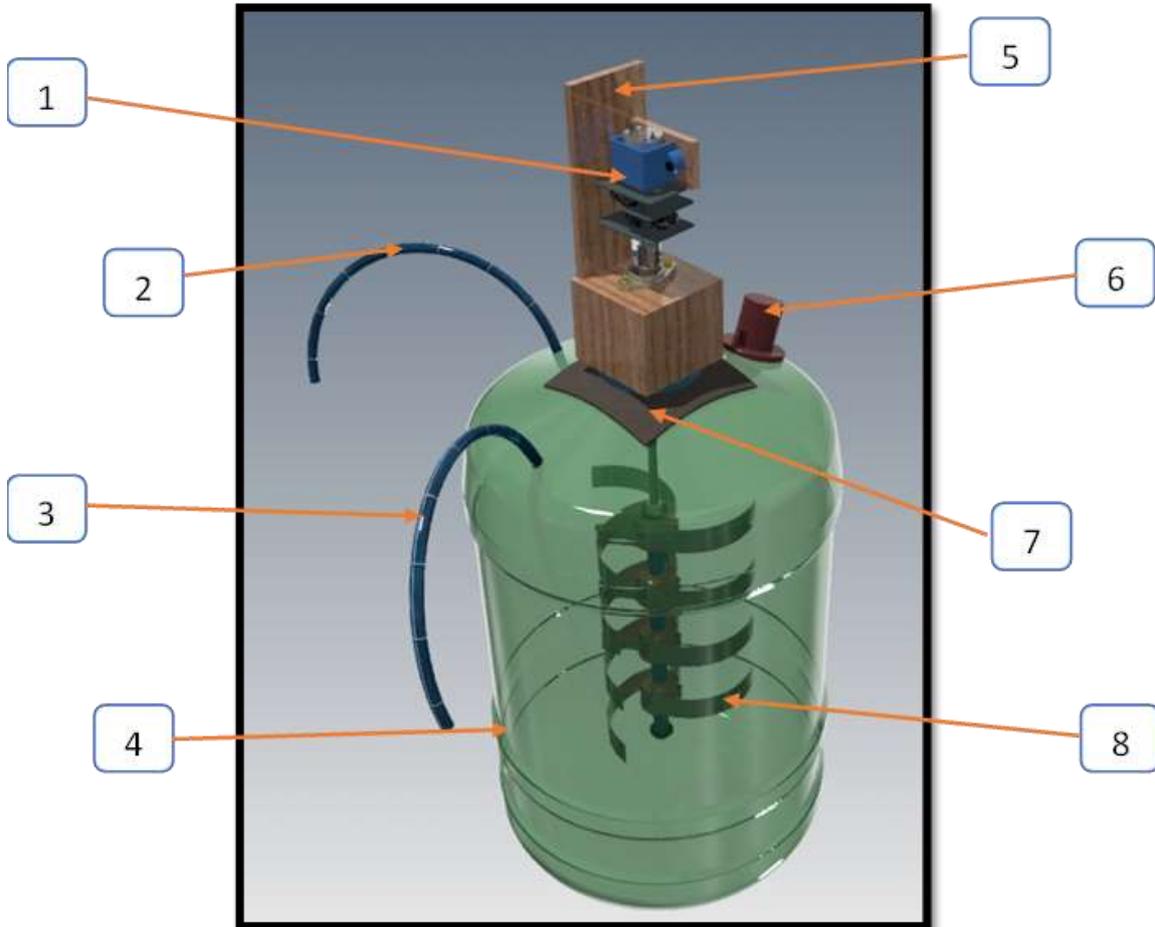
### 4.1 Elaboración del prototipo Biorreactor

Para elaborar el prototipo del biorreactor, se diseñó en el software Autodesk Inventor Professional 2021 (Ver Figura 10). Una vez obtenido el diseño adecuado, se construyeron los biorreactores. Para esto, se usaron materiales reciclados como latas de leche, cámaras de cauchos de autos, tapas de los envases de las gaseosas y de los aromatizantes. Paso siguiente, antes de hacer los cortes de las latas de leche, se aplicaron medidas de seguridad (guantes, lentes y tapón de ruido) para evitar algún accidente. Con estas medidas de seguridad, se realizaron los cortes y se armaron las hélices con la ayuda de un mini esmeril (cortador de metales) (Ver Figura 11).

Luego se realizaron cortes en la parte superior de los bidones en forma de un cuadrado con la finalidad de ingresar las hélices ya armadas. Una vez ingresada las hélices, paso siguiente viene el montaje del soporte y el motorreductor. La fuente de alimentación que se usó en el funcionamiento del motor fue de un transformador de 9V con una corriente de 1.5 A. De esta manera, se obtuvo el prototipo final del biorreactor para el cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* (Ver Figura 12).

**Figura 10**

*Prototipo biorreactor 3d en el software Inventor Professional 2021*



**Nota.** 1. Motorreductor 9V (1.5 A); 2. Salida de la Humedad; 3. Entrada de CO<sub>2</sub>(g); 4. Base del bidón; 5. Soporte del motorreductor; 6. Toma de muestra; 7. Unión del motor y la base del bidón; 8. Cuatro hélices en un solo eje. Diseñado en el software Inventor Professional versión 2021.

**Figura 11**  
*Corte y armado de las 4 hélices en un solo eje*



**Figura 12**  
*Prototipo final de un Biorreactor de 19L*



#### 4.2 Recolección de las muestras de las aguas residuales

Las aguas residuales utilizadas fueron obtenidas en el efluente del Distrito de Monzón, que se encuentra ubicado en la provincia Huamalés, Departamento de Huánuco y está a Latitud Sur  $9^{\circ}16'42.00''$  y  $76^{\circ}23'51.09''$  Longitud Oeste con relación al Meridiano de Greenwich (Ver Figura 13). La zona corresponde a la selva alta sobre una altitud desde 580 m.s.n.m hasta 2 700 m.s.n.m (Municipalidad distrital de Monzón, 2016). Dentro de la caracterización del clima, su temperatura sobrepasa los  $20^{\circ}\text{C}$  y con una precipitación anual menor a 500 mm, permitiendo el desarrollo de los cultivos cítricos (limón dulce, mango, piña, uva y naranja) y la caña de azúcar. Además, el origen del río Monzón empieza en los bordes de la meseta andina de la provincia de Huamalés, que vienen de oeste a este con formas céntricas desde su curso superior, y en la parte inferior de su curso viene formando meandros muy pronunciados que permiten hacer prácticas de canotaje (Arquiñigo et al., 2010).

**Figura 13**

*Punto de Muestra de Aguas Residuales en el Distrito de Monzón*



**Fuente.** Elaborada en el Programa Google Earth Pro-Versión 2021

Se tomaron las muestras representativas de acuerdo con el Protocolo Nacional para el Monitoreo de la Calidad del Agua de los Recursos Hídricos superficiales (RJ N°010-2016-ANA). Para la toma de muestra se tomó en cuenta algunas consideraciones para la medición en el campo, primero se usó las botas de goma, mascarillas, gafas protectoras y unos guantes de látex descartables antes de tomar la muestra, luego se ubicó en el punto principal de la descarga del agua residual y paso siguiente se recolectaron en los frascos de plásticos con capacidades de 250 ml, 500 ml y de 1L, y para los parámetros que necesitaron preservación se dejó en un espacio aproximadamente del 1%, y para el parámetro DBO se llenó lentamente para evitar la formación de burbujas. Por último, para conservar las muestras se refrigeró en un rango de 4 °C a 10 °C (DIGESA, 2015).

De la misma manera, se tomaron en cuenta las sugerencias del Laboratorio Hidrolab, que se encuentra acreditado por INACAL con Registro N°LE-077 (Tabla 4):

**Tabla 4**

*Características para la toma de muestra con sus respectivos parámetros*

Parámetros	Tipo de envase	Vol. Mínimo	Preservación	Nº de envases	Tiempo de vida
<b>DBO</b>	Plástico	1000 ml	Evitar burbujas de aire	1	48 h
<b>Turbidez, pH, conductividad, nitratos</b>	Plástico	500 ml	-	1	48 h
<b>Fosfatos</b>	Plástico	500 ml	-	1	28 días
<b>DQO</b>	Plástico	250 ml	Añadir H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1:1 hasta un pH menor a 2	1	28 días
<b>Sólidos totales</b>	Plástico	250 ml	-	1	7 días
<b>TOTAL</b>				5	

**Fuente.** Adaptado de “las recomendaciones para uso de las muestras en el campo”, por HidroLab.

### 4.3 Recolección de la microalga *Chlorella vulgaris* y su medio de cultivo

La cepa de la microalga *Chlorella vulgaris* usada en este proyecto de investigación fue obtenida de la ONG AQUATIC HOPE de procedencia CEPA UTEX 2714 (México). La concentración de la microalga entregada por el proveedor fue de  $5 \times 10^6$  células/ml dentro de un envase de 100 ml a una temperatura de 21 °C. De esta manera, se colocó en una botella de plástico de 1 L (900 ml agua filtrada + 100 ml microalga) y para el cultivo de las microalgas se emplearon el medio Bayfolan® forte formulado con 2 ml/L, y dentro de la compatibilidad del fertilizante pueden ser empleados en cualquier cultivo (Ver Tabla 5).

**Tabla 5**

*Composición química del fertilizante químico Bayfolan® forte 11-8-6 (N-P-K)*

**Elementos mayores**

Nitrógeno total (N)	110 g/l
Anhidrido Fosfórico (P2O5)	80 g/l
Oxido de potasio (K2O)	60 g/L

**Elementos menores**

Hierro (Fe)	190 mg/l
Manganeso (Mn)	162 mg/l
Boro (B)	102 mg/l
Cobre (Cu)	81 mg/l
Zinc (Zn)	61 mg/l
Molibdeno (Mo)	9 mg/l
Cobalto (Co)	3.5 mg/l
Vitamina B1, Hormonas de crecimiento	4 ppm

**Nota.** Elaborado por la empresa AGLUKON Spezialduenger GmbH & Co. KG

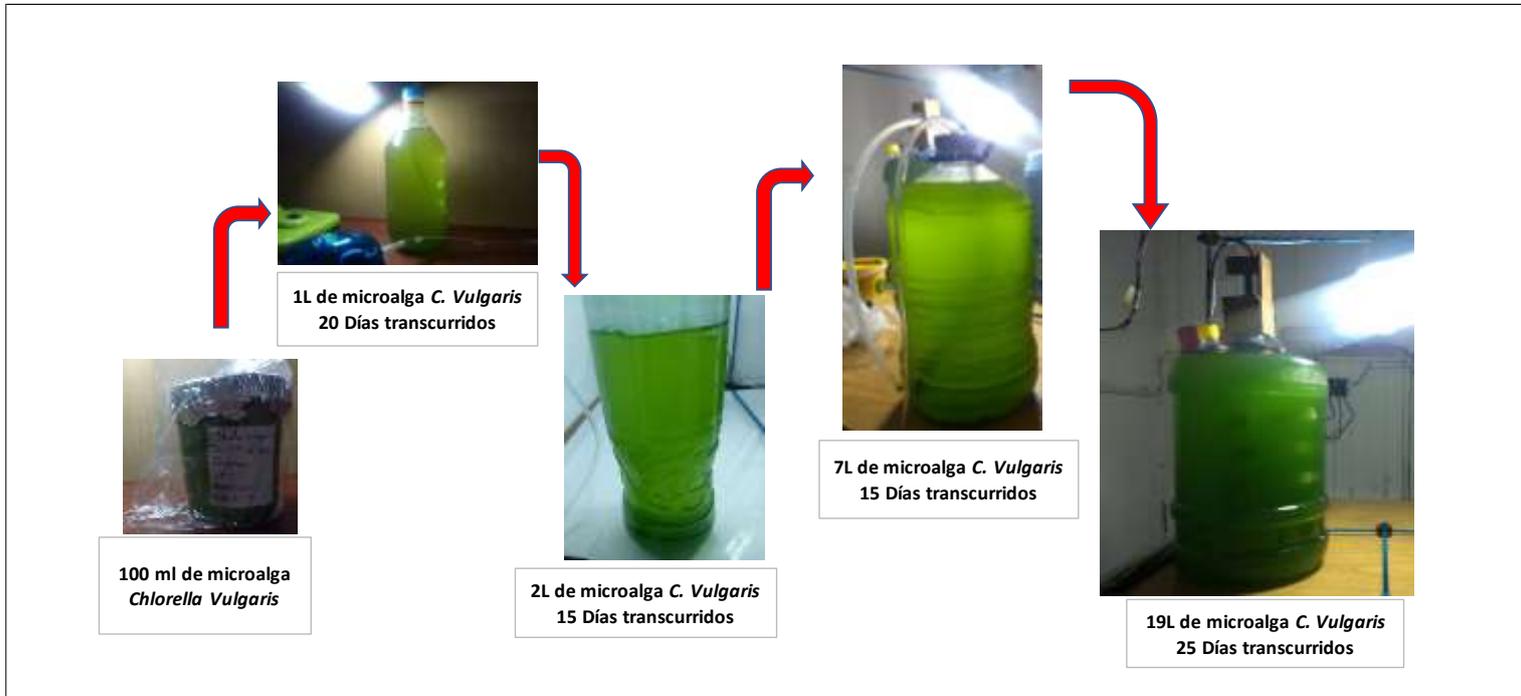
Durante el transcurso de 20 días aproximadamente, el envase de 1 L de microalga se pasó a colocar en un envase de 2 L con un llenado de 1 L de microalga y 1 L de agua filtrada. Luego de 15 días de crecimiento de las microalgas en el envase de plástico de 2 L, se obtuvo una concentración de 0.167 g/L, de manera que estos se emplearon en un bidón de 7 L conteniendo 5 L de agua filtrada y 2 L de microalga.

De la misma manera, se esperó otros 15 días más, obteniendo una concentración de 0.282 g/L, por lo cual el bidón de 7 L contenidas con las microalgas se llevó hacia el biorreactor de 20 L (12 L de agua filtrada + 7 L de microalgas). Una vez alcanzado en su

máximo crecimiento las microalgas en el biorreactor (fase estacionaria) durante los 25 días transcurridos se obtuvo una concentración de 0.41 g/L (Ver Figura 14).

**Figura 14**

Proceso de cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* desde 100 ml hasta 19 L



**Nota.** Proceso de aislamiento de las microalgas: Cultivo de 1L (primer aislamiento); Cultivo de 2L (segundo aislamiento); Cultivo de 7 L (tercer aislamiento) y Cultivo de 19 L (cuarto aislamiento).

Cabe recalcar que, para el envase de plástico de 1 L, se trabajó con una bombilla LED corn 15 W a un nivel de iluminancia de 5,840 Lux durante 12 h al día y para la agitación se usó una bomba de aire para acuario de 3 W con un flujo de salida de 3.5 L/min. Los envases de plástico de 2 L y el bidón de 7 L se trabajó con una Bombilla LED botella 40 W a un nivel de iluminancia de 6,630 Lux durante 12 h al día y para la agitación se usó una bomba de aire para acuario de 5 W con un flujo de salida de 5 L/min. Asimismo, para el biorreactor se trabajó a un nivel de iluminancia de 12,580 Lux durante 12 h al día y para la agitación se hicieron funcionar las 4 hélices en un solo eje por 3 h a una frecuencia de giro de 150 revoluciones por minuto (RPM).

En general el cultivo de las microalgas desde 1 L hasta los 19 L (Ver Figura 14) la temperatura y el pH promedio fueron de 25.51 °C y 7.69, respectivamente, encontrándose dentro de los rangos óptimos de crecimiento reportado por Saad et al. (2019), quienes describen que la tasa de crecimiento optimó para la microalga *C. vulgaris* es de 23 °C y cuando la temperatura se encuentra entre 28°C y 30°C, se inhibe (disminuye su tasa de crecimiento). Asimismo, de acuerdo con He et al. (2020), el rango óptimo de unidades de pH para el crecimiento de la microalga *C. vulgaris* debe encontrarse entre 5 a 9.

De este modo, las concentraciones aisladas desde el envase de 2 L hasta el biorreactor de 19 L de cultivo (4 veces de aislamiento). Se aplicó el método de peso seco que consistía en recoger alícuota de 15 ml de los cultivos, luego se centrifugó a 4000 rpm x 15 min y pasado ese tiempo quedó el sobrenadante donde se descartó, y se repitió la centrifugación por dos veces, para así eliminar el peso de las células secas (Yun et al., 2019) (Ver Figura 15). Paso siguiente, se filtró a través del papel filtro sin cenizas Whatman grado 42 de 5 cm con partículas de retención de 3 µm, para que la filtración sea más rápida y eficiente se diseñó un sistema de filtración por succión o vacío que consistía en un embudo Büchner, matraz de Kitasato y una mini-bomba de agua 12 V con un flujo de trabajo entre 1-3 L/min (Ver Figura 16).

**Figura 15**  
*Proceso de centrifugado*



**Figura 16**  
*Proceso de filtrado por gravedad rápida*



**Figura 17**  
*Proceso de secado en la estufa a 100°C x 15 min*



**Figura 18**  
*Proceso de pesada en la balanza analítica (0.1 mg)*



La biomasa filtrada se secó en una estufa de marca OVENS con capacidad de 8L durante 15 minutos a una temperatura de 100°C (Ver Figura 17). Una vez pasado el tiempo de secado, se dejó enfriar las muestras alrededor de 15 minutos para posteriormente realizar sus pesos en gramos (g) en la balanza analítica de precisión 0.1 mg (Ver Figura 18). Finalmente el peso seco de la biomasa *C. Vulgaris* se determinó utilizando la ecuación 1 descrito por Chawla et al. (2022).

### Ecuación 1

*Fórmula para determinar la concentración de Biomasa*

$$\text{Biomass Concentration (gL}^{-1}\text{)} = \left( \frac{W_t - W_f}{V} \right) \times 1000$$

**Nota.** Wf es el peso seco del papel filtro sin la biomasa, Wt es el peso seco del papel filtro que contiene la biomasa y V es el volumen recolectado (15 ml).

También se usó la ecuación 2 y ecuación 3 descritos por Hu et al. (2021). Para determinar la velocidad específica de crecimiento ( $\mu$ ) y la productividad de biomasa (g/L/día) durante el crecimiento de la microalga *C. Vulgaris*.

### Ecuación 2

*Fórmula de la Velocidad específica de Crecimiento*

$$\mu(\text{day}^{-1}) = \ln \left( \frac{DW_2}{DW_1} \right) / (t_2 - t_1)$$

**Nota.** DW<sub>1</sub> y DW<sub>2</sub> son las biomásas secas (g/L) en el tiempo t<sub>1</sub> y t<sub>2</sub>, respectivamente.

### Ecuación 3

*Fórmula de la Productividad*

$$P = (DW_i - DW_o) / (t_i - t_o)$$

**Nota.** DW<sub>o</sub> y DW<sub>i</sub> son las biomásas secas(g/L) en el tiempo inicial (t<sub>o</sub>) y tiempo final (t<sub>i</sub>)

#### 4.1 Proceso experimental con los tratamientos

Una vez que se obtuvo los 19 L de la microalga *C. Vulgaris* en el biorreactor de 20L con una concentración de 0.41 g/L. Se pasan a sacar 2L del cultivo para agregar en los biorreactores sin y con agua residual (Ver Figura 19), realizando de esta manera una proporción hasta obtener un volumen de 19 L por cada biorreactor. Lo cual, se puede notar en los siguientes puntos:

##### a) Para los Biorreactores sin el agua residual:

B1, B2, B3 tuvieron = (2 L de microalgas) + (38 ml de Bayfolan® forte) + (16.62 L de agua filtrada)

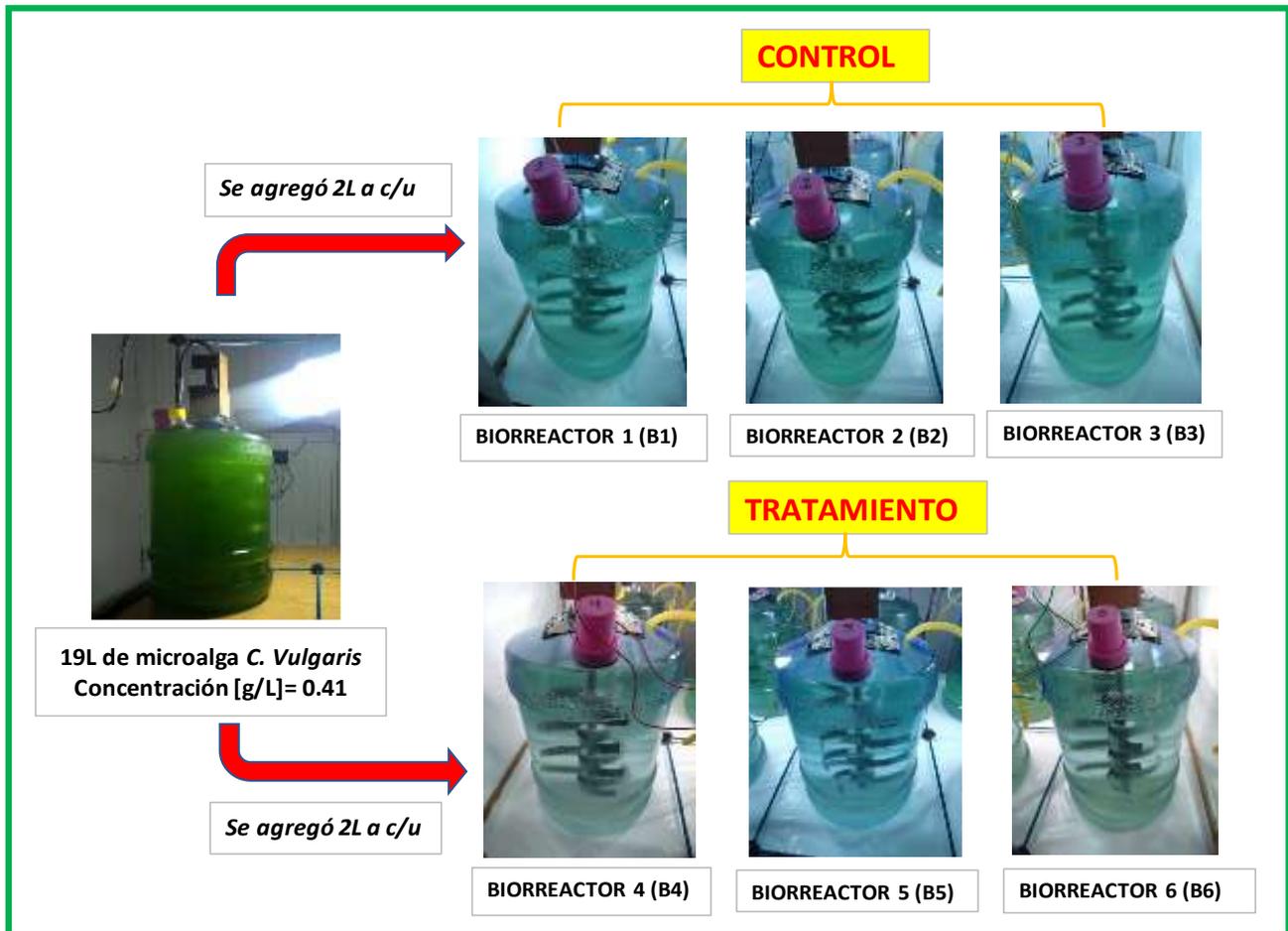
##### b) Para los Biorreactores con el agua residual (diluido al 21 %):

B5, B6, B7 tuvieron = (2 L de microalgas) + (4 L Agua Residual filtrado) + (13 L de agua filtrada)

La finalidad de realizar estas proporciones es para analizar el comportamiento de las microalgas cultivadas en las muestras sin y con agua residual, ya que se consideró en el punto “a” como medio natural (lugar donde existe baja cantidad de nutrientes) para el crecimiento de la microalga *C.vulgaris* en los biorreactores B1, B2 y B3; es decir se necesitó pocas cantidades del nutriente Bayfolan y con el agua filtrada se completó hasta obtener un volumen de 19 L a cada uno de los biorreactores. Mientras que, para el punto “b” se ha diluido en 21 % el agua residual, ya que la turbidez del efluente era muy alta, por tal razón se consideró el agua residual en un valor de 4 L y lo restante se completó con el agua filtrada hasta obtener un volumen de 19 L en los biorreactores B4, B5 y B6. En resumen, las únicas variaciones que tuvieron ambos puntos fueron los

nutrientes y la cantidad de agua filtrada agregada. Por otro lado, el agua filtrada que se menciona en el apartado se considera un agua de clorada y sin partículas de suspensión.

**Figura 19**  
*Biorreactores de control y de tratamiento*



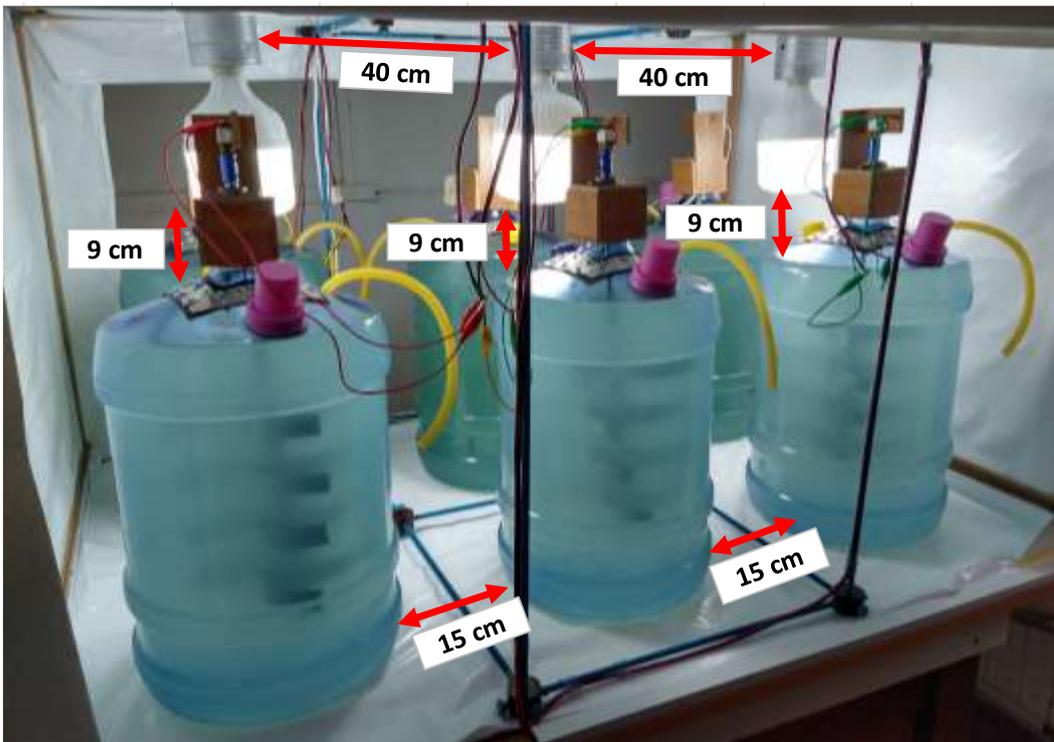
**Nota.** Para los Biorreactores sin el agua residual se hicieron 3 repeticiones (B1, B2, B3) y para los Biorreactores con el agua residual se hicieron 3 repeticiones (B4, B5, B6) con una dilución de 21 cada una.

Además, los biorreactores estaban sobre una mesa rectangular (124 x 92 cm), cada uno de estos biorreactores estuvieron separados a 15 cm, los tres focos LED botella 40 W tenían una separación de 40 cm, el nivel de iluminancia que incidían cada uno de estos focos LED fueron de 12,580 lux. con una separación de 9 cm entre la parte superior del biorreactor y la parte inferior de las bombillas. Asimismo, para aprovechar la luz en su

100 % sin generar ninguna pérdida, se tuvo que colocar un plástico blanco de polietileno para cubrir en su totalidad (Ver Figura 20). El prendido de los focos led estuvieron las 24 horas encendidas y el funcionamiento de las hélices para la agitación fueron cada 3 h en los horarios de 6:00 a.m hasta 10:00 p.m todos los días hasta transcurrir los 17 días del proceso experimental.

**Figura 20**

*Condiciones de trabajo de los biorreactores con y sin efluente*



Luego se monitoreo el crecimiento de las microalgas a través del uso del multiparámetro tipo lápiz 4 en 1 modelo EZ -9908, previo a su uso se realizó la calibración y las soluciones patrones fueron de pH =4; pH=7 y pH=10. De esta manera, se determinó su temperatura (T°C) y pH durante los 17 días de cultivo (Ver Figura 21). También se hizo el monitoreo por medio de la de la densidad óptica que consistía en medir la longitud de onda de los cultivos a 680 nm, ya que en el reporte de (Venckus et al., 2017) normalmente 680 nm está asociado con la absorción de la clorofila y la mejor absorbancia de una buena lectura se encuentran entre 680 nm y 687 nm para el análisis de la microalga *Chlorella*

*vulgaris*. La medición de la densidad óptica del crecimiento de la microalga se usó el espectrofotómetro UV-Visible Spectrophotometer GENESYS 150 brindado por el laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad Científica del Sur. Donde las muestras recolectadas de cada biorreactor fueron de 10ml en tubos de prueba PYREX 16 X 100 C/Tapa y las lecturas finales se daban en unidades de absorbancia (A) (Ver Figura 22).

**Figura 21**  
*Monitoreo de pH y T°C*



**Figura 22**  
*Medida de la densidad óptica (680nm)*



#### **4.1 Determinación de la curva de calibración de la densidad óptica vs. la Concentración**

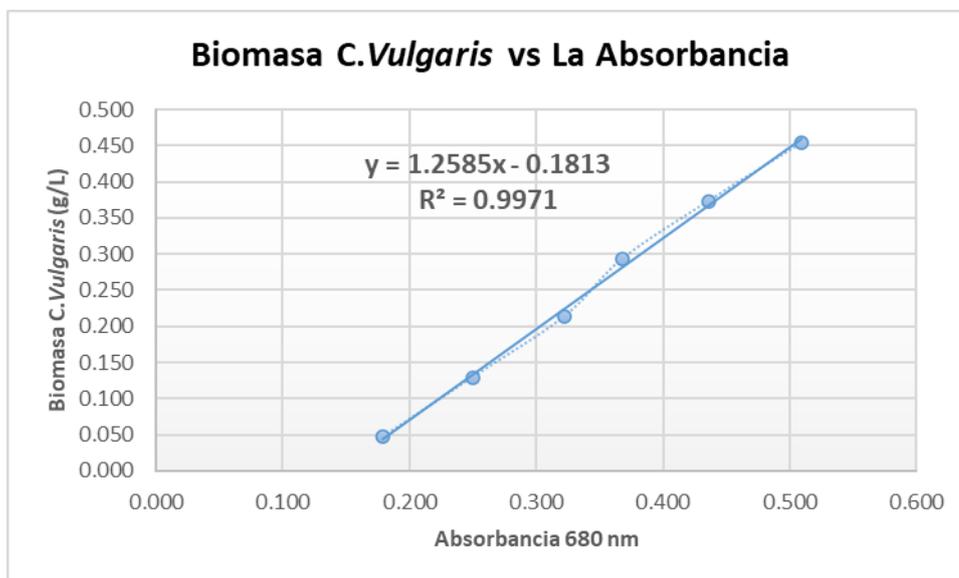
Por otra parte, se realizó una curva de calibración de la Densidad Óptica (OD) vs la concentración de biomasa (en g/L). Para determinar la calibración, se hicieron 6 diluciones de 5, 7, 9, 11, 13, 15 ml en un volumen total de 15 ml cada uno en tubos de prueba PYREX 16 X 125 C/Tapa. Una vez homogenizadas las muestras, se determinó las

concentraciones de las 6 muestras en g/L a través del método peso seco y el uso de la Ecuación 1.

La determinación de OD se realizaron las mismas disoluciones y paso siguiente fue hacer las lecturas de absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 680 nm. La ecuación resultante fue  $y = 1.2585 * \text{Abs (680 nm)} - 0.1813$  con  $R^2$  de 0.9971, donde “y” es la biomasa *C. vulgaris* (g/L) (Ver Figura 23).

**Figura 23**

Relación entre la biomasa *C. vulgaris* y la absorbancia de luz (680 nm)



Fuente. Elaborado en el programa Microsoft Excel 2021

#### 4.2 Generador de CO<sub>2</sub> para disminuir el pH de los cultivos

Se diseñó un generador de CO<sub>2</sub> para mantener el valor de pH dentro de los rangos óptimos del cultivo de *C. vulgaris*, ya que el pH propicio para la mayoría de las especies de microalgas es neutra y un pH 8 es favorable para las microalgas marinas. Cuando existe una ausencia en el suplemento de CO<sub>2</sub> en el cultivo de las microalgas el pH comienza a aumentar alrededor de 8 y 9 convirtiéndola a un medio alcalino; es decir, este aumento se debe a la actividad de la enzima anhidrasa carbónica (CA) que libera

iones de hidroxilos ( $\text{OH}^-$ ) al exterior de la célula (Seyed Hosseini et al., 2018). Por ende, se tiene que inyectar  $\text{CO}_2$  al medio de cultivo para disminuir su pH: cuanto más  $\text{CO}_2$  más bajo será el pH (Jesus et al., 2021). Durante el cultivo de las microalgas con las aguas residuales, hubo momentos donde el pH era superior a 8, entonces se aplicó la inyección de  $\text{CO}_2$  para disminuir su pH.

Para el diseño de un generador de  $\text{CO}_2$ , se realizó de manera casera a base de levadura, azúcar y agua. Se siguió el mismo procedimiento presentado por Arenas (2017), que consistió en pesar 8 a 10 g de levadura fresca (*Saccharomyces cerevisiae*) en un envase precipitado de 50 ml, luego se agregó poca cantidad de agua al recipiente con el fin de diluir bien la levadura. Una vez diluida la levadura, se pasó a agregar en el envase de 2.5 L (Agua mineral), agregando agua filtrada de 1 L y azúcar de 250 g. Teniendo la mezcla completa de levadura, agua y azúcar, se sacudió 15 veces para que se homogenice bien la mezcla y se dejó 1 h para su reacción. Luego se instaló un contador de gotas de burbujas de  $\text{CO}_2$  a través del uso del equipo de venoclisis y se agregó agua filtrada en la cámara de goteo hasta la mitad de su capacidad (Ver figura 24).

Además, se determinó el flujo de salida de  $\text{CO}_2$  a partir del método de desplazamiento de agua presentada por Sarioglu & Gökçek (2016), quienes calcularon el volumen del gas metano ( $\text{CH}_4$ ) acumulado a partir de un reactor que generaba biogás, describiendo que el gas  $\text{CH}_4$  almacenado era igual al volumen de salida de agua (Ver Figura 25). Con este proceso se adaptó para realizar el cálculo del volumen de la salida de  $\text{CO}_2$  con un intervalo de tiempo de 1 min (Ver Figura 26).

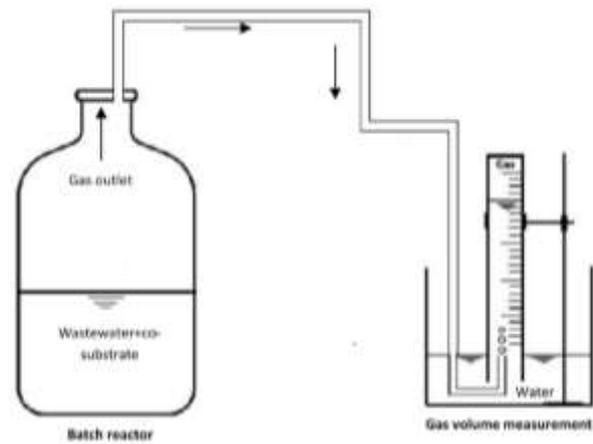
Finalmente, se hizo una curva de calibración Caudal (L/min) vs # gotas  $\text{CO}_2$  (Ver Figura 27) y se usó la curva de calibración del caudal operativo para la concentración de  $\text{CO}_2$  (%)

v/v) requerida en el agua (Ver Figura 28), resultando para la primera curva de calibración de  $y=0.0001*x-0.0006$  con  $R^2$  de 0.9968. para la segunda curva de calibración de  $y=0.03*x$  con  $R^2$  de 1.

**Figura 24**  
Generador de CO<sub>2</sub> a base de levadura



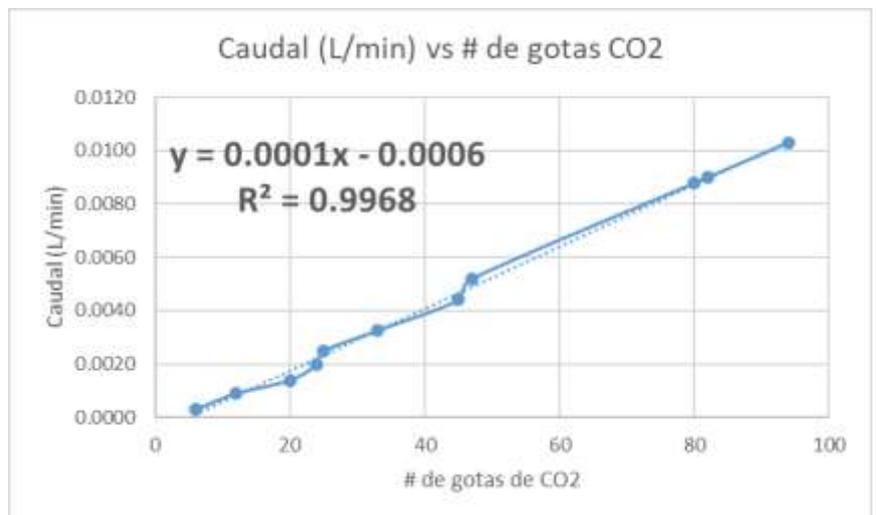
**Figura 25**  
Medición del volumen de salida CO<sub>2</sub>



**Figura 26**  
Medición y recolección del gas metano

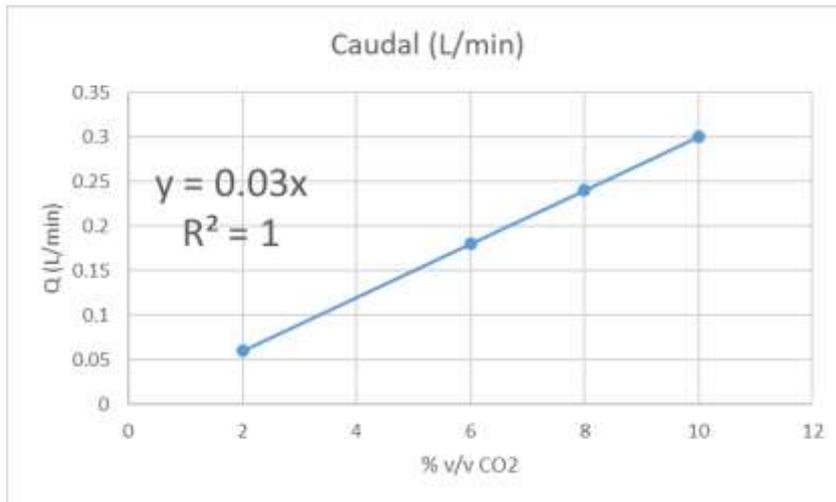


**Figura 27**  
Diagrama de Q (L/min) vs # de gotas de CO<sub>2</sub>



**Figura 28**

Diagrama Caudal (L/min) vs %v/v CO<sub>2</sub>



**Nota.** Adaptado de “Optimization of CO<sub>2</sub> biofixation rate by microalgae in a hybrid microfluidic differential carbonator using response surface methodology and desirability function”, por Yusuf et al., 2020.

#### 4.3 Análisis para el uso como biofertilizantes de la microalga

Se realizó después del tratamiento de las aguas residuales durante los 17 días transcurridos. Por tanto, se tomó las muestras más representativas de estos tratamientos en dos envases de plásticos con capacidad de 1 L cada uno. Una vez recolectadas las muestras se etiquetó y se llevó al laboratorio de SISTEMA DE SERVICIOS Y ANÁLISIS QUÍMICOS S.A.C para el análisis de Nitrógeno total, Fósforo total, Potasio Total y de metales pesados (Plomo, Cadmio, Cromo, Níquel, Arsénico y mercurio). Cabe resaltar que el tipo de fertilizante que se ha considerado para este proyecto fue de fertilizante orgánico líquido (Ver Figura 29).

**Figura 29**

*Biofertilizante líquido a base de la microalga C. vulgaris*



#### **4.1 Determinación del cálculo porcentual de remoción**

Finalmente, para el cálculo porcentual de la remoción de los indicadores de contaminantes del agua y nutrientes a partir de la aplicación de microalga *C. vulgaris* en la depuración de aguas residuales, se usó la siguiente fórmula descrito por Andrés et al. (2016). Se aplicaron para los componentes de materia orgánica (DBO y DQO) y nutrientes (Nitrato y Fosfato) independientemente.

#### **Ecuación 4**

*Cálculo porcentual de remoción de la materia orgánica*

$$\% R = \left[ \frac{C_o - C_f}{C_o} \right] \times 100$$

Donde: % R= Porcentaje de remoción de los nutrientes y materia orgánica; C<sub>0</sub>= La concentración inicial del nutriente y materia orgánica en el agua residual; C<sub>f</sub>= La concentración de nutriente y materia orgánica luego del tratamiento.

## 4.2 Análisis estadísticos

Los datos obtenidos del crecimiento de la microalga *C. vulgaris* fueron tabulados en el programa Microsoft Excel 2020, en el que se determinó la media y la desviación estándar para las variables de crecimiento de microalga (concentración de biomasa), pH, temperatura, velocidad específica y productividad. Luego, se realizaron pruebas de normalidad (Test Shapiro-Wilk) y pruebas de homogeneidad (Test-igualdad de varianzas) para los dos grupos de muestras independientes (sin y con agua residual) con las variables temperatura y concentración de biomasa. Los que cumplieron las dos pruebas (Normalidad y homogeneidad) fue la variable temperatura y los que no cumplieron fueron la concentración de biomasa y pH, donde se hicieron la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney. Finalmente, se realizaron los tes-t de correlación Concentración vs T°C y Concentración vs pH. En todos los casos se utilizó un 95% de confianza ( $p < 0.05$ ) en el programa estadístico IBM SPSS Statistics versión 26.

## V RESULTADOS

### 5.1 Resultado de las aguas residuales del Distrito de Monzón

Los resultados que se obtuvieron por cada parámetro analizado de las aguas residuales municipales del distrito de Monzón se detallan en la Tabla 6.

**Tabla 6**  
*Resultados analíticos de los efluentes municipales del Distrito de Monzón*

Parámetro	Resultado
Conductividad	204.75 $\mu\text{mho/cm}$ a 25 °C
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	35 mg/L
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	67 mg/L
Nitratos (N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	0.04 mg/L
Fosfatos	0.176 mg/L
Sólidos totales	115 mg/L
Turbidez	33 NTU
pH	6.91 unidad de pH

**Fuente.** Adaptado de los resultados del laboratorio HidroLab (Ver Anexo1)

### 5.2 Resultados del crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* en las muestras sin o con agua residual.

#### 5.2.1 Resultados de la concentración de biomasa en los biorreactores sin y con agua residual

Existió una diferencia estadísticamente significativa entre la concentración de biomasa (g/L) y los tipos de tratamiento (sin y con agua residual) debido a que el valor de  $p$  obtenido (0.011) fue menor a 0.05 con un nivel 95% de confianza (Ver Tabla 7). Además, en la Figura 30 la concentración máxima de biomasa que tuvo el biorreactor sin agua residual fue de  $0.878 \pm 0.03$  g/L en el día 15, y la concentración máxima de biomasa para

el biorreactor con agua residual fue de  $1.199 \pm 0.16$  g/L en el día 15. Además, se pudo notar las cuatro fases de crecimiento de la microalga en los biorreactores sin y con agua residual, donde la fase de adaptación se dio en los primeros días, la fase exponencial en los días 2 y 6, la fase estacionaria en los días 6 y 15, aquí en estos dos puntos la curva de crecimiento empieza hacerse constante hasta llegar la fase de declinación o muerte donde la curva en el día 15 empezó a bajar.

**Tabla 7**

*Prueba de U de Mann-Whitney de la concentración de biomasa en el cultivo C. vulgaris*

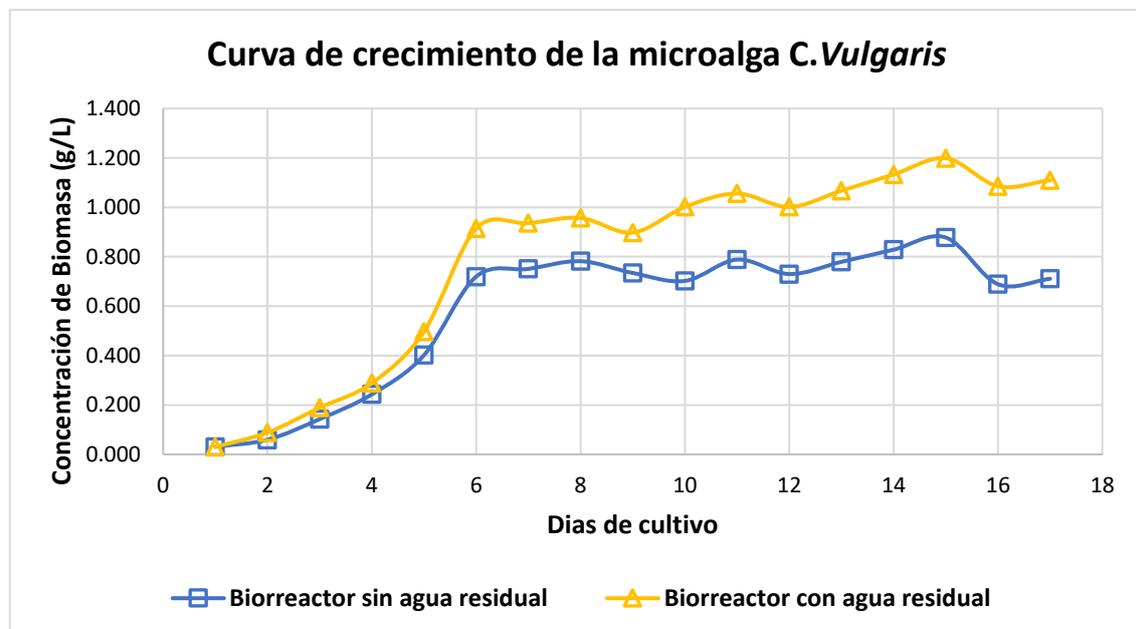
Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
La mediana de la concentración de Biomasa (g/L) es similar a la mediana del tratamiento sin agua residual y con agua residual	Prueba de U de Mann-Whitney para muestras independientes	0.011	Como valor de p $(0.011) < 0.05$ , se rechaza la hipótesis nula.

**Nota.** Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,050

**Fuente:** Resultado obtenido del programa IBM SPSS Statistics 26

**Figura 30**

*Crecimiento de la microalga C. vulgaris en los biorreactores*



### 5.2.2 Resultados entre la relación de la concentración de biomasa y la temperatura

Se evidenció con la misma prueba de correlación de Spearman que existe una relación significativa para la concentración de biomasa y la temperatura, en vista de que el valor  $p$  obtenido (0.035) es menor a 0.05 con un nivel 95% de confianza. Esta relación es inversa; es decir, cuando la temperatura disminuye la concentración de biomasa aumenta, dicha relación es débil ( $\rho = -0.363$ ) (Ver Tabla 8).

**Tabla 8**  
*Correlación de Spearman del crecimiento de la especie C. Vulgaris y la temperatura*

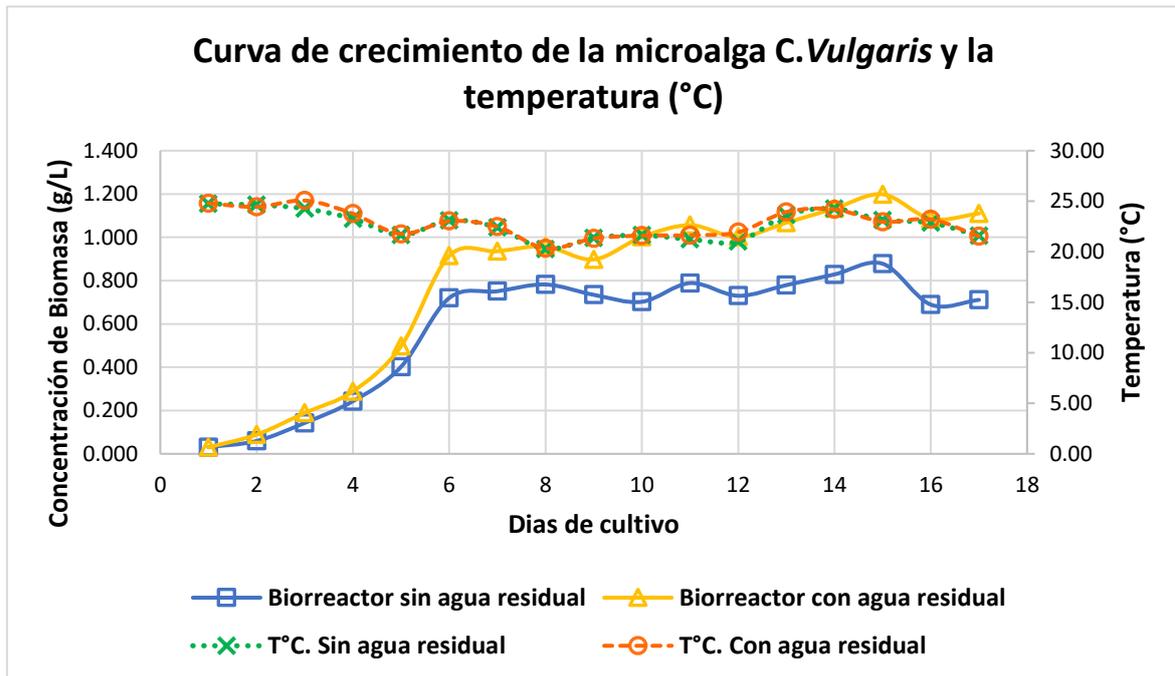
	$\rho$	$p$	N
Concentración de Biomasa -Temperatura	-0.363	0.035	34

**Nota.**  $\rho$ . coeficiente de correlación de Spearman;  $p$ . Nivel de significancia; N. Cantidades de datos; \*\*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

**Fuente:** Resultado obtenido del programa IBM SPSS Statistics 26

Además, en la Figura 31 la temperatura para el biorreactor sin agua residual y con agua residual disminuyeron en los días 2 y 5 durante el crecimiento exponencial de las microalgas, donde la disminución para el biorreactor sin agua residual fue de 24.63 °C a 21.63 °C con una diferencia de 3.00 °C, mientras que, para el biorreactor con agua residual fue de 24.43 °C a 21.77 °C con una diferencia de 2.60 °C. Después de 6 días en adelante, las temperaturas tanto para el biorreactor sin y con agua residual se mantuvo entre los rangos de 20.27 °C y 25.07 °C.

**Figura 31**  
Relación entre la concentración de biomasa y la temperatura



Nota. T°C. Temperatura

### 5.2.3 Resultados entre la relación de concentración de biomasa y el pH

Con la prueba de correlación de Spearman se evidenció existe una relación significativa entre la concentración de biomasa y el pH, debido a que el valor p obtenido (0.000) es menor a 0.01 con un nivel 99% de confianza. La relación que tienen estas dos variables son de manera directa; que quiere decir, si incrementa la concentración de biomasa también incrementará las unidades de pH. Además, la relación es alta ( $\rho=0.659$ ) (Ver Tabla 9).

**Tabla 9**  
Correlación de Spearman del crecimiento de la especie *C. vulgaris* y el pH

	$\rho$	p	N
Concentración de biomasa - pH	0.659**	0.000	34

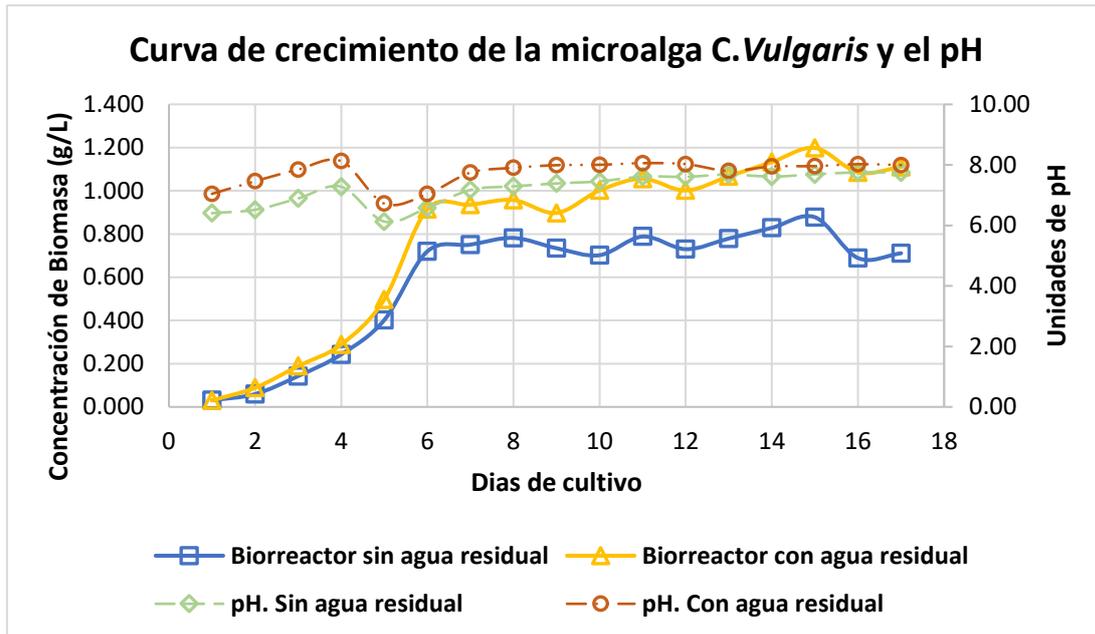
Nota.  $\rho$ . coeficiente de correlación de Spearman; p. Nivel de significancia; N. Cantidades de datos; \*\*. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

Fuente: Resultado obtenido del programa IBM SPSS Statistics 26

De acuerdo con la Figura 32, se observó que en los primeros días de cultivo de las microalgas en los biorreactores de sin y con agua residual estuvieron en la etapa de adaptación, después de los dos días empezaron a crecer de manera exponencial. Pero, en los días 2 y 4 el pH empezó a aumentar tanto para los biorreactores sin y con agua residual, lo cual se inyectó  $\text{CO}_2$  a un flujo de 0.0057 L/min y con una concentración de  $\text{CO}_2$  a 0.19 % v/v durante 3 h.

De esta manera, las unidades de pH para el biorreactor que no contenía el agua residual disminuyeron de 7.28 a 6.13 con una diferencia de 1.15, mientras que, para el biorreactor que contenía el agua residual disminuyó de 8.12 a 6.72 con una diferencia de 1.40. Después de los 6 días en adelante, el pH se estuvo monitoreando diariamente para ambos biorreactores, pero hubo caso donde el biorreactor con el agua residual su pH era superior de 8.00 llegando a ser más alcalino, lo cual se tuvo que inyectar el  $\text{CO}_2$  para disminuir su pH en un periodo de 3 h. La fluctuación de pH tanto para el Biorreactor sin y con agua residual se mantuvo entre 7.00 y 8.00 durante los 17 días de cultivo.

**Figura 32**  
Relación entre la concentración de biomasa y el pH

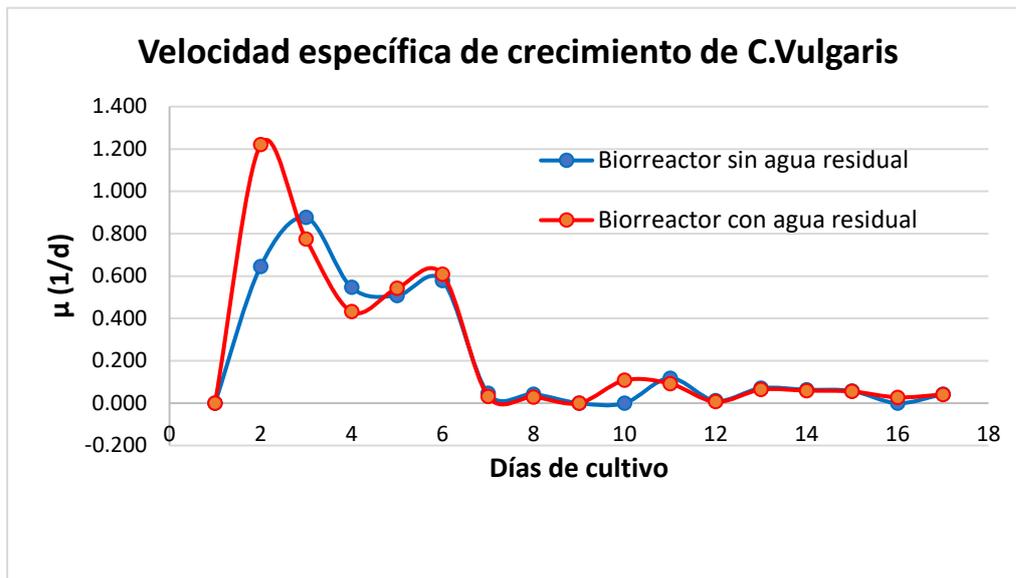


**5.2.4 Resultado de la velocidad específica de crecimiento y la productividad en los biorreactores sin y con agua residual**

En la Figura 33, la velocidad específica de crecimiento máximo ( $\mu_{m\acute{a}x.}$ ) de la microalga *C. vulgaris* para el biorreactor sin agua residual alcanzó un valor de  $0.876 \pm 0.210$  (1/día), mientras que, para el biorreactor con agua residual alcanzó un valor de  $1.220 \pm 0.414$  (1/día). De esta manera, se evaluó que el biorreactor con agua residual fue superior en término de  $\mu_{m\acute{a}x.}$  que el biorreactor de agua sin residual. Además, tanto para el biorreactor sin y con agua residual los valores de  $\mu$  (1/día) empezaron acercarse al valor cero en el día 7, ya después de este día en adelante la  $\mu$  comenzaron a fluctuar entre 0.00 y 0.20 determinando que las microalgas se encontraban en la fase estacionaria.

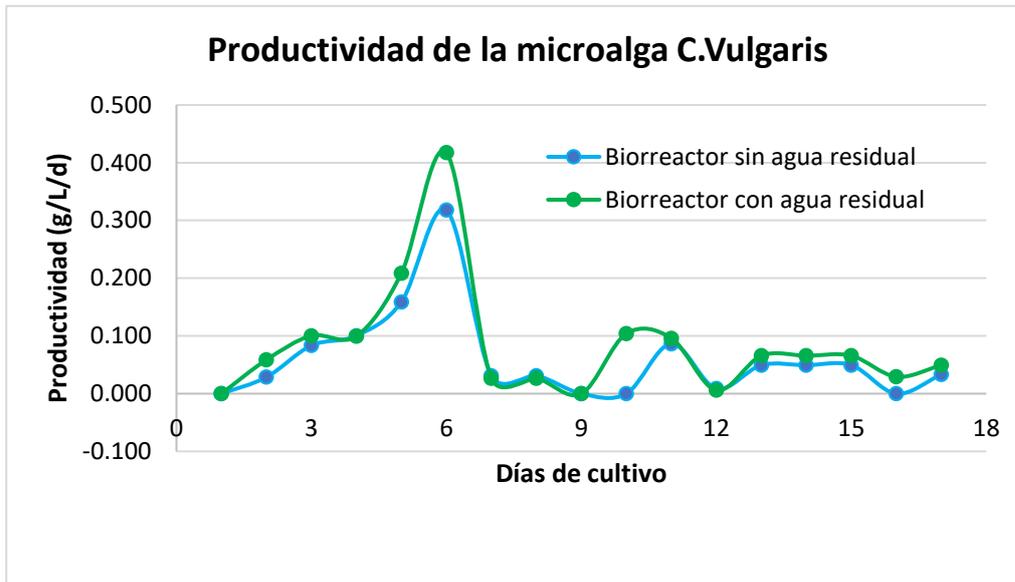
**Figura 33**

Velocidad específica de crecimiento *C. vulgaris* en los biorreactores



En la Figura 34, la productividad máxima que tuvo el biorreactor sin el agua residual fue de  $0.318 \pm 0.091$  g/L.día, mientras que la productividad máxima para el biorreactor con el agua residual fue de  $0.417 \pm 0.061$  g/L.día. En este caso, la productividad del biorreactor con agua residual fue superior al biorreactor sin agua residual. Además, tanto para el biorreactor sin y con agua residual en el día 7 del cultivo comenzaron a disminuir su productividad esto se debió al agotamiento de los nutrientes presentes en los medios de cultivos. Después del día 7 al día 17 la productividad de ambos grupos de tratamientos fluctuaba entre 0.00 y 0.1 g/L.día.

**Figura 34**  
Productividad de la microalga *C. vulgaris* en los biorreactores



### 5.3 Resultado de porcentaje de remoción de materia orgánica en los biorreactores sin y con agua residual

A continuación, se detallaron los resultados de DBO, DQO, Nitrato y Fosfato después de 17 días de tratamiento en los biorreactores con el agua residual (B4, B5 y B6), lo cual fueron 3 réplicas para la muestra con el agua residual (Ver Tabla 10). Para el cálculo de remoción de estos componentes orgánicos, se usó la Ecuación 4 descrita en la metodología. Donde los resultados de la Tabla 6 los parámetros obtenidos fueron antes de iniciar los tratamientos con el agua residual y la Tabla 10 representa los resultados después de los 17 días de tratamiento, teniendo las Concentraciones iniciales ( $C_0$ ) y Concentraciones finales ( $C_f$ ), respectivamente. Obteniendo los resultados de % Remoción (Ver Tabla 11).

$$\% R = \left[ \frac{C_0 - C_f}{C_0} \right] \times 100$$

**Tabla 10**

*Resultados analíticos de la materia orgánica y nutrientes después de 17 días de tratamiento*

Biorreactores con las aguas residuales de 3 réplicas				
Parámetro	Biorreactor 4	Biorreactor 5	Biorreactor 6	Promedio
DBO (mg/L)	16	21	24	20.33 ± 4.04
DQO (mg/L)	251	264	274	263 ± 11.53
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	45.92	43.75	39.56	43.08 ± 3.23
P-PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	0.060	0.053	0.050	0.054 ± 0.0051

**Nota.** DBO. Demanda Bioquímica de Oxígeno; DQO. Demanda Química de Oxígeno; N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Nitrato; P-PO<sub>4</sub><sup>-</sup>. Fosfato.

**Fuente.** Adaptado de los resultados analíticos del laboratorio HidroLab (Ver Anexo 2, Anexo 3 y Anexo 4).

**Tabla 11**

*Resultado de % de remoción antes y después del tratamiento del agua residual*

Parámetro	Antes	Después	Porcentaje de Remoción (%)
	Co (mg/L)	Cf (mg/L)	
DBO	35.00	20.33	41.9
DQO	67.00	263.00	-293.0 <sup>a</sup>
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.04	43.08	-107 592 <sup>a</sup>
P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0.18	0.054	69.13

**Nota.** DBO. Demanda Bioquímica de Oxígeno; DQO. Demanda Química de Oxígeno; N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Nitrato; P-PO<sub>4</sub><sup>-</sup>. Fosfato.<sup>a</sup> Los valores de porcentaje (%) de eliminación negativa indica un aumento en el parámetro.

#### 5.4 Resultado de fertilizante orgánico líquido después del tratamiento del agua residual

Después de 17 días de tratamiento con el agua residual se analizaron los macronutrientes y metales pesados (Ver Tabla 12).

**Tabla 12**

*Resultado de fertilizantes líquido después de 17 días de tratamiento con el agua residual*

	Unidad	Resultado
<b>Macronutrientes</b>		
Nitrógeno total (N)	%p/v	< 0.01
Fosforo Total (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	%p/v	0.04
Potasio Total (K <sub>2</sub> O)	%p/v	< 0.01
<b>Metales Pesados</b>		
Plomo, Pb	mg/L	0.90
Cadmio, Cd	mg/L	0.18
Cromo, Cr	mg/L	1.31
Níquel, Ni	mg/L	2.27
Arsénico, As	mg/L	<0.002
Mercurio, Hg	mg/L	<0.001

**Nota.** Resultado obtenido del Biorreactor 5 que fue el más significativo para el análisis de biofertilizante líquido.

**Fuente.** Adaptado de los resultados de macronutrientes y metales pesados del Laboratorio Slab (Ver Anexo 5 y Anexo 6).

## VI DISCUSIÓN

En la Figura 30, se observó que las concentraciones de biomasa de la microalga *C. vulgaris* en el biorreactor con el agua residual fue más predominante que las concentraciones de biomasa en el biorreactor sin agua residual. De acuerdo a Spennati et al. (2021), analizaron que los cultivos de microalgas o cianobacterias en condiciones mixotróficas (microalgas-bacterias) o heterotróficas poseen un aumento significativo en las concentraciones de biomasa con relación a los cultivos en condiciones autótrofas. Esto se debe en que los cultivos mixotróficas hay una fuerte relación entre las microalgas y las bacterias (intercambio de micro y macro nutrientes), donde las microalgas producen oxígeno (O<sub>2</sub>) por medio de la fotosíntesis para el consumo de bacterias aerobias que están activamente respirando, en cambio las bacterias liberan CO<sub>2</sub> para mejorar la eficiencia fotosintética de las microalgas, además las microalgas proporcionan la vitamina B para el crecimiento de las bacterias en cambio de recibir el carbono orgánico (Wirth et al., 2020).

Asimismo, la concentración máxima de biomasa de *C. vulgaris* que presentó en el biorreactor con agua residual fue de  $1.199 \pm 0.16$  g/L a los 15 días (Ver Figura 30). Obteniendo una mayor concentración de biomasa que el reporte de Azam et al. (2022), donde compararon dos especies de microalgas para el tratamiento de agua residual municipal, consiguiendo una biomasa máxima para la microalga *Chlorella pyrenoidosa* de 0.902 g/L y para la microalga *C. vulgaris* 0.848 g/L a los 15 días de cultivo. Para obtener los valores de concentración de biomasa muy altas en los biorreactores con el agua residual en este estudio, esto dependió de muchos factores como la intensidad de luz, el fotoperiodo, la agitación, el pH y la temperatura. Para el caso de la intensidad de luz los biorreactores con el agua residual estuvieron expuesto a 12 580 lux (Ver Figura

20) en otras palabras cuanto mayor sea la intensidad de luz mayor será el contenido de lípidos totales, esto sucedió similar al estudio de Han et al. (2021a), donde analizaron que la exposición de luz a 15 000 lux de la microalga *S. obliquus* la biomasa se mantuvo a niveles altas y no hubo ningún cambio brusco y cuando estuvo expuesta mayor o igual a 10 000 lux el contenido y el rendimiento de lípidos incrementaron considerablemente, obteniendo una concentración máxima de biomasa de 0.36 g/L a un rendimiento de 23.8%, concluyendo que la microalga *S. obliquus* pueden soportar alta intensidad de luz y producir mayor cantidad de lípido para la producción de biodiesel. Otro caso de Han et al. (2021b) demostró que una intensidad de luz de 12 000 lux la concentración máxima de biomasa de la microalga *C. pyrenoidosa* alcanzó a 0.84 g/L en el tratamiento de aguas residuales domésticas y comparó que el crecimiento de esta microalga en 8 000 lux y 12 000 lux no hubo una diferencia significativa.

El pH promedio total del biorreactor con el agua residual fue de  $7.75 \pm 0.421$  y para el biorreactor sin el agua residual fue de  $7.22 \pm 0.525$ , mientras que el promedio total de la temperatura del biorreactor con el agua residual fue de  $22.82 \pm 1.389$  °C y para el Biorreactor sin el agua residual fue de  $22.65 \pm 1.386$  °C, ambos parámetros en un periodo de 17 días de cultivo (Ver Figura 31 y 32). Como se observa, la parte del pH hubo una ligera variación de sus unidades en las muestras con y sin agua residual, en tanto que, la temperatura su comportamiento fue casi similar entre las muestras con y sin agua residual. Se mantuvo el pH óptimo entre los rangos de 7.5 y 8 de la microalga *C. vulgaris*, ya que si el pH llega a ser muy ácido o muy alcalino estos pueden llegar a inhibir el crecimiento de la microalga (Niederwieser et al., 2018) y para la temperatura también se mantuvo en los rangos óptimos de 16 y 27°C, puesto que a temperatura menor de 16

°C llegan a ralentizar el crecimiento y si son superiores a 35 °C ya se considera letales para el crecimiento de la microalga *C. vulgaris* (Blinová et al., 2015).

Otro de los factores a considerar es la presencia de depredadores de las microalgas llamadas rotíferas, pues es común en un agua contaminada (aguas residuales municipales o urbanas), en la Figuras 30 y 33. Se observó que la curva de concentración de biomasa (g/L) y la velocidad específica de crecimiento ( $d^{-1}$ ) de la microalga *C. vulgaris* el comportamiento fueron casi similar entre el biorreactor sin y con agua residual durante los 15 días de cultivo, lo cual indica que la presencia de rotífero no fue predominante en el cultivo con el agua residual, sino más bien fueron predominantes las microalgas. Además, fue similar al estudio de Fernández-Linares et al. (2017), donde usaron cepas inoculados de *C. vulgaris* en las aguas residuales urbanas sin esterilizar, lo cual observaron en el microscopio que no hubo la presencia de rotíferas (herbívoras de microalgas) y solo *Chlorella* estuvo presente (prevaleciendo durante todo el cultivo). Sin embargo, en el estudio de Lam et al. (2017) detectaron una inhibición del crecimiento de la microalga *C. vulgaris* presentes en el agua residual sin esterilizar observaron bajo el microscopio que las muestra de cultivo estuvieron contaminadas por agentes biológicos (rotíferos), convirtiéndola el medio de cultivo contaminado en un color de marrón claro. Para el caso de la Figura 21 y 29, los biorreactores con el agua residual sin esterilizar más la microalga *C. vulgaris* presentaron un color verde oscuro, mas no un marrón claro. También, se podría explicar la ausencia de los rotíferos que antes de ser utilizado el agua residual fueron filtradas con una con partículas de retención de 3  $\mu m$  de longitud. De acuerdo con Huang et al. (2014), recomiendan que para poder eliminar la mayoría de rotíferos adultos el filtrado debe ser  $> 200 \mu m$  de longitud, pero para que

la eliminación sea eficiente recomienda realizar cambios de condiciones de pH a pH 3 en un tiempo de 1 o 2 h para así evitar la contaminación de rotíferos.

De acuerdo con Gorgich et al. (2021), una mezcla adecuada (agitación) en el cultivo de la microalgas permite asegurar una buena distribución homogénea de las células, la luz, la concentración de nutrientes y la temperatura, pero si la mezcla es inadecuada puede ocasionar daños a las células a causa del esfuerzo cortante. Entonces si la agitación mecánica es mayor a 300 rpm, se provocan daños constantemente a la membrana celular, reduciendo de esta manera la cantidad de células y la tasa de crecimiento de la biomasa, por lo que la agitación mecánica que estuvo trabajando los biorreactores tanto con el agua residual y sin el agua residual fueron de 150 rpm.

La velocidad específica de crecimiento máximo ( $\mu_{\text{máx.}}$ ) de la microalga *C. vulgaris* en el biorreactor con el agua residual en un 21% fue de  $1.220 \pm 0.414 \text{ d}^{-1}$  (Ver Figura 33), obteniendo valores altos que el estudio de Wang et al. (2021), donde determinaron que la  $\mu_{\text{máx.}}$  de la microalga *C. vulgaris* en diferentes concentraciones de agua residual enriquecida (ARE) en 20, 40, 60, 80 y 100% fueron de  $0.354 \pm 0.018 \text{ d}^{-1}$ ,  $0.382 \pm 0.016 \text{ d}^{-1}$ ,  $0.323 \pm 0.016 \text{ d}^{-1}$ ,  $0.302 \pm 0.009 \text{ d}^{-1}$  y  $0.186 \pm 0.007 \text{ d}^{-1}$ , respectivamente, notando que cuanto mayor es la concentración de ARE menor es la velocidad específica de crecimiento.

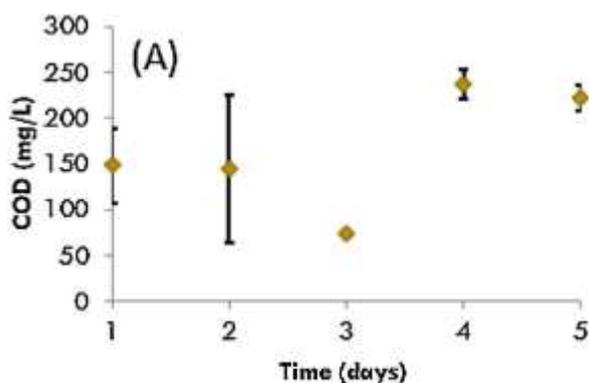
La productividad máxima de biomasa *C. vulgaris* para el biorreactor sin agua residual fue de  $0.318 \pm 0.091 \text{ g/L/d}$  y para el biorreactor con el agua residual fue de  $0.417 \pm 0.061 \text{ g/L/d}$ , ambos en el día 6 (Ver Figura 34), determinando que la mayor productividad se dio en el biorreactor con el agua residual con una dilución de 21 % (v/v). De acuerdo con Trivedi et al. (2019), determinaron los efectos de enriquecimiento de aguas residuales

(5, 10, 15, 30, 50, 70 y 100 %) en la productividad de biomasa de la microalga *C. vulgaris*, donde la productividad máxima en una dilución de 15 % (v/v) fue de  $257.87 \pm 1.27$  mg/L/d en el día 4, para la dilución de 30% fue de  $258.30 \pm 1.04$  mg/L/d en el día 8, para la dilución 50% fue de  $209.68 \pm 1.46$  mg/L/d en el día 20, y para las concentraciones de bajo enriquecimiento de aguas residuales de 5% y 10% fueron de  $67.07 \pm 0.22$  mg/L/d y  $84.97 \pm 0.55$  mg/L/d, respectivamente en un periodo de 8 días . Asimismo, relacionó que la baja productividad de biomasa en las concentraciones 5% y 10% estaba atribuida a la baja disponibilidad de nutrientes debido a la alta dilución que presentaba, mientras que para una concentración de 70% y 100% enriquecida con el agua residual, también presentó una baja productividad de biomasa esto se debió a que los niveles altos de turbidez retardaron las tasas fotosintéticas y por la toxicidad de iones de amonio presentes en los medios de cultivos. En este caso, para obtener una mayor productividad deben encontrarse entre 15% y 30%, lo cual en este estudio a una concentración de dilución de agua residual de 21% se obtuvo una productividad máxima de biomasa *C. vulgaris* de  $417.3 \pm 61.5$  mg/L/d en el día 6, siendo más alto que el estudio mencionado.

En cuanto al porcentaje de remoción del DQO fue de -293.0 %, donde la concentración del agua residual antes y después del tratamiento fue de 67.00 mg/L y 263 mg/L respectivamente (Ver Tabla 11), notando claramente que hubo un incremento del DQO en el medio de cultivo, lo que se debe a dos mecanismos principales: el primer mecanismo está relacionado con la descomposición de las microalgas viejas a través de las bacterias y el segundo mecanismo está relacionado con la liberación de la materia orgánica luego que las microalgas fijaran el CO<sub>2</sub>, de modo que el aumento de DQO puede estar asociado con el desequilibrio que hubo entre las bacterias y las microalgas o por el periodo de incubación prolongado (Lee et al., 2019). Una situación similar sucedió con

el estudio de Ayatollahi et al. (2021), en el que usaron la microalga *C. vulgaris* para la remoción del DQO en las aguas residuales municipales, la concentración DQO inicial del agua residual fue de  $404.95 \pm 7.83$  mg/L luego en las primeras 24 h redujo drásticamente a  $170.23 \pm 7.15$  mg/L, pero, después de 24 o 48 h, el DQO empezó a incrementar, lo cual dedujeron los investigadores que la microalga tuvo dos vías metabólicas (autótrofa y heterótrofa) que podrían modificar entre sí en relación a la disponibilidad de la fuente de carbono y las condiciones ambientales. Cuando hubo un agotamiento del sustrato orgánico, el crecimiento autótrofo utilizó el  $\text{CO}_2$  como fuente de carbono, generando de esta manera sustancias orgánicas en el medio de cultivo con moléculas muy pequeñas como el ácido glicólico (subproducto del ciclo de reducción del carbono fotosintético). Asimismo, de acuerdo con Otondo et al. (2018), quienes analizaron la disminución y el aumento de la concentración de DQO, la microalga que utilizaron fue *C. vulgaris* en la remoción de DQO de las aguas residuales municipales. Los investigadores empezaron con una concentración inicial de 150 mg/L DQO, esto disminuyó progresivamente en una tasa de 25 mg/L al día. En el día 3 el DQO fue de 75 mg/L con un porcentaje de remoción de 50% DQO, luego del tercer día la concentración de DQO se incrementó a 225 mg/L y posteriormente se mantuvo constante por el resto de los días (Ver Figura 35), concluyendo que la disminución de la concentración del DQO se debió a la asimilación del carbono presente en el DQO por medio de la fotosíntesis y el aumento de la concentración se debió a la liberación de productos metabólicos (productos de sustancias poliméricas extracelulares y productos microbianos solubles).

**Figura 35**  
Perfil de reducción de DQO



**Nota.** COD (Demanda química de oxígeno siglas en ingles).  
Fuente: Energetic evaluation of wastewater treatment using microalgae, *Chlorella vulgaris*.  
Otondo et al. (2018).

En la tabla 11, se observó que el porcentaje de remoción de nitrato ( $N-NO_3^-$ ) fue -107 592% esto se debió que la concentración final aumentó en 43.08 mg/L con respecto al inicial de 0.04 mg/L. Similar sucedió con el estudio de Magalhães et al. (2022), quienes usaron la especie de *Scenedesmus obliquus* para el tratamiento de aguas residuales agro-industriales en dos sistemas de cultivo (fotobiorreactores y tanques abiertos), la concentración inicial y final del  $N-NO_3^-$  para el fotobiorreactor (FBR) fue de 2.4 y 2.6 mg/L respectivamente, obteniendo un % remoción de -8.3% y para el sistema de tanque abierto (STA) la concentración inicial y final fue 1.4 y 2.2 respectivamente, obteniendo un % de remoción de -57.1%, lo cual se relacionó con el mecanismo de la eliminación del ion amonio  $N-NH_4^+$  con el aumento del nitrato, por lo que argumentaron que la eliminación del  $N-NH_4^+$  puede ocurrir por tres procesos, que son la volatilización, la asimilación por biomasa y la nitrificación. En el FBR, el crecimiento de microalga su crecimiento fue muy corto debido a que el  $N-NH_4^+$  es su nutriente preferida para asimilar, en cambio en el STA al ocurrir un mayor tiempo de adaptación fisiológica las

bacterias nitrificantes (BN) metabolizaron parte del  $\text{N-NH}_4^+$  disponible, lo que causó el aumento del nitrato. Además, dedujeron que el incremento de la nitrificación está relacionado con el mayor tiempo de cultivo que permanece el tratamiento y por la adición del  $\text{CO}_2$ , dado que existe una mayor cantidad de biomasa bacteriana. Entonces, los investigadores concluyeron que la mayor nitrificación fue en el STA debido a que el crecimiento duró 10 días en comparación al FBR que fue 6 días. También en el estudio de Eze et al. (2018) se relacionó la eliminación de  $\text{N-NH}_4^+$  con el aumento de la concentración de  $\text{N-NO}_3^-$  debido a la oxidación activa de nitrógeno amónico por medio de BN y la concentración inicial de nitrato del experimento fue de 1.8 mg/L, después de 16 días incrementó a 40.5 mg/L, y luego de 28 días disminuyó a 39.1 mg/L, lo cual la disminución de la concentración de  $\text{N-NO}_3^-$  se relacionó con un supuesto que las microalgas podrían haber eliminado el nitrato.

De acuerdo con Ahmed et al. (2022), se analizó el comportamiento y las reacciones metabólicas que ocurren entre las microalgas y las bacterias para la depuración de las aguas residuales (Ver Figura 36), donde el nitrógeno y el fósforo son eliminados por bacterias nitrificantes (BN), bacterias desnitrificantes (BD) y organismos que acumulan fosfatos. Existen varias fuentes que las microalgas pueden asimilar con menos energía los nutrientes, como el nitrógeno (N) en formas de amonio ( $\text{N-NH}_4^+$ ), nitrito ( $\text{N-NO}_2^-$ ) y nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ ). Además, para la asimilación de nitratos estos son conducidos a la membrana de las células de microalgas para ser reducidos y liberados el amonio.

**Figura 36**

*Reacciones metabólicas entre las microalgas y las bacterias en el tratamiento de aguas residuales*

Reactions involving microalgae	
$4\text{H}_2\text{O} + \text{NO}_3^- \rightarrow 7\text{OH}^- + \text{NH}_4^+$	Nitrate reduction
$\text{CO}_2 + \text{NH}_4^+ + \text{PO}_4^{3-} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}_2 + \text{microalgae biomass}$	Photosynthesis
Reactions involving bacteria	
$5\text{CH}_3\text{COOH} + 8\text{NO}_3^- \rightarrow 6\text{H}_2\text{O} + 8\text{HCO}_3^- + 4\text{N}_2 + 2\text{CO}_2$	Denitrification
$2\text{O}_2 + \text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_3^- + \text{H}_2\text{O} + 2\text{H}^+$	Nitrification
$\text{O}_2 + \text{COD} + \text{nutrients} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{bacterial biomass}$	

En resumen, en el análisis del aumento del DQO y  $\text{N-NO}_3^-$  (Ver Tabla 11) se debió que el incremento de la concentración del DQO en el medio de cultivo con las aguas residuales y las microalgas llegaron a su fase de muerte, de manera que hubo una respiración endógena entre la relación de microalgas y bacterias, mientras que el aumento de la concentración del  $\text{N-NO}_3^-$  se debió a la competición entre la BN y las microalgas por la absorción de  $\text{N-NH}_4^+$  (Vargas-Estrada et al., 2021).

El porcentaje de remoción del DBO fue de 41.9% (Ver Tabla 11), siendo menor que el reporte de Chandra et al. (2021), quienes usaron dos tipos de microalgas *Chlorella minutissima* y *Scenedesmus abundans* para el tratamiento de aguas residuales municipales, siendo el porcentaje de remoción para ambos de 70% en un periodo de cultivo de 10 días, y del reporte de Atoku et al. (2021), quienes usaron la microalga *C. vulgaris* y la cianobacteria *Oscillatoria limosa* para el tratamiento de aguas residuales industriales donde la eliminación del DBO fueron de 81% y 82%, respectivamente en un periodo de 15 días. El porcentaje bajo (41.9%) de DBO que se obtuvo en el estudio estuvo básicamente relacionado con el aumento del DQO, de acuerdo con el análisis de Lima et al. (2020), el DBO es afectado por el aumento de valores del DQO debido a la liberación de compuestos no degradables como la celulosa y hemicelulosa, que son los

principales componentes de carbohidratos de las microalgas. En efecto, el análisis del DBO en tiempo normal de 5 días únicamente se oxidan los carbohidratos de fácil degradación, en tanto que la celulosa y la hemicelulosa requieren un periodo de tiempo más largos.

En cuanto a la remoción del  $P-PO_4^{3-}$ , fue de 69.13% de una concentración inicial de 0.18 mg/L reduciendo a 0.054 mg/L en un periodo de 17 días de cultivo (Tabla 11). Pero, fue menor al estudio de Russel et al. (2020), quienes utilizaron dos especies, *Scenedesmus obliquus* y *Acinetobacter pittii*, en el mismo cultivo para el tratamiento de aguas residuales domésticos, el porcentaje de remoción del  $P-PO_4^{3-}$  fue de 91.5% y esta remoción fue relacionado con la concentración inicial de 1.67 mg/L, reduciendo a 0.142 mg/L en un periodo de 10 días de cultivo. Como la concentración de fosfato de este estudio disminuyeron, pero en menor medida, se debió a la disposición mínima de fósforo de las microalgas, lo cual puede ser derivado de la fórmula molecular de la biomasa de microalgas ( $CO_{0.48}H_{1.83}N_{0.11}P_{0.01}$ ) (Komolafe et al., 2014). Otro factor podría ser la saturación de oxígeno y la limitación de nitrógeno, que alcanzaron alterar fuertemente la asimilación de fosfatos por parte de microalgas, pero para la absorción bacteriana del  $P-PO_4^{3-}$  (heterótrofa o fototrófica) son menos afectados por esos parámetros; por tanto, las bacterias pudieron estar dominando todo el cultivo (Wicker & Bhatnagar, 2020).

En la tabla 12, se muestran los resultados de los metales pesados analizados del biorreactor que tuvo las aguas residuales y la microalga *C. vulgaris* después de un periodo de 17 días de tratamiento, lo cual se realizó un orden de tendencia de mayor a menor de los metales pesados que fue de esta manera  $Ni > Cr > Pb > Cd > As > Hg$  con

concentraciones de 2.27 mg/L > 1.31 mg/L > 0.9 mg/L > 0.18 mg/L > menores a 0.002 mg/L > menores a 0.001 mg/L, respectivamente.

En la Tabla 13 y 14 se describen las concentraciones de límites máximos permisibles (LMP) de los metales pesados presentes en actividades de agua de riego, la salud humana y las descargas industriales de aguas residuales, por lo que los investigadores se basaron en las normativas de la Organización Mundial de la Salud (OMS), Agencia de Protección Ambiental (EPA), Agencia Europea de Medio Ambiente (AEMA) y Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Para el caso de este estudio los metales pesados fueron ligeramente inferiores a los LMP de las descargas de aguas residuales industriales (Ver Tabla 13), en cambio para uso como riego el metal pesado Ni fue mayor al LMP 1.4 mg/L, el Cr > LMP 0.1 mg/L, el Pb > LMP 0.015 mg/L, el Cd > LMP 0.01 mg/L, pero para los metales pesados As y Hg fueron menores a LMP 0.01 mg/L, además se describió los problemas toxicológicos que presentarían las plantas cuando los metales pesados es superado al LMP (Ver Tabla 14). En resumen, como uso de biofertilizantes para riego de plantas, no se puede utilizar, debido que algunos metales pesados analizados son superados a los LMP, pero si pudiese utilizarse como un indicador de biorremediación (similar a una planta fitorremediadora), ya que las microalgas *C. vulgaris* tienen la gran capacidad de absorber y eliminar metales pesados con niveles de concentraciones altas.

**Tabla 13**

*LMP de metales pesados y descargas Industriales según la Normativa OMS y EPA*

Heavy Metals	Drinking water Concentration (mg/L)	Industrial Discharge Concentration (mg/L)	Effect on Human Health
Arsenic	0.01	0.2	Severe skin problems, endocrine disruptor, lung cancer, kidney cancer, liver cancer, prostate cancer, lethal to the cardiovascular and nervous system
Cadmium	0.005	1.0	Nausea, vomiting, diarrhea, muscle cramps, renal failure, liver injury, sensory disturbances
Chromium	0.10	2.0	Nausea, gastrointestinal distress, stomach ulcers, skin ulcers, allergic reactions, Kidney and liver damage, Reproductive problems, Lung and nasal cancer
Copper	2.0	3.0	Nausea, vomiting, diarrhea, gastrointestinal illness, abdominal and muscle pain, anemia, liver poisoning, and kidney failure.
Nickel	0.10	3.0	Decreased body weight and liver weight, cellular degeneration in liver and kidneys, low blood hemoglobin and damages the reproductive and immune systems
Zinc	5.0	15.0	Gastro-intestinal issues
Lead	0.01	1.0	Damage central nervous system decreased growth in children, Damages kidneys and bone marrow.
Mercury	0.002	0.01	Permanently damage the brain, kidneys, and developing fetus, tremors, changes in vision or hearing, and memory problems.
Silver	0.10	0.50	Increased risk of cancer
Uranium	0.03	50	Kidney toxicity increased risk of cancer

**Nota.** (LMP) Límite Máximo Permissible.

**Fuente.** Adaptado de “A Critical Review On Heavy Metals Removal Using Ionic Liquid Membranes From The Industrial Wastewater”, por Imdad & Dohare, (2022).

**Tabla 14**

*LMP de concentración de metales pesados en agua de riego*

Metales	Agua de riego (mg/L)*	Efecto en las plantas**
Plomo (Pb)	0.015	Disminución del contenido de proteína vegetal e inhibición de la actividad enzimática.
Cadmio (Cd)	0.01	Reducción en la germinación de semillas, contenido de nutrientes de las plantas y reducción de la longitud de brotes y raíces.
Cromo (Cr)	0.10	(Como Cr <sup>+6</sup> ) Disminución en la adquisición de nutrientes de las plantas, inhibición del proceso de germinación y reducción de la biomasa vegetal,
Arsénico (As)	0.01	Crecimiento atrofiado, reducción en la germinación de semillas, altura de las plántulas, área foliar y producción de materia seca.
Níquel (Ni)	1.40	Impide el crecimiento de brotes y raíces, daña varias partes de la planta, induce manchas en las hojas y produce deficiencia de Fe.
Mercurio (Hg)	0.01	Reducción del porcentaje de germinación, altura de la planta, peso de la floración y del fruto, clorosis y reducción de la formación de macollos y panojas.
Cobre (Cu)	0.20	Daño a las raíces de las plantas y deformación de la estructura de la raíz.
Hierro (Fe)	0.50	-
Zinc (Zn)	2.0	Efecto adverso sobre las actividades enzimáticas, crecimiento atrofiado y rendimiento reducido.
Manganeso (Mn)	0.20	-

**Nota.** \*AEMA, OMS y FAO; \*\*(Kumar et al., 2019)

**Fuente.** Adaptado de “*Phytoremediation: Environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils*”, por Ashraf et al., (2019).

En tabla 12, se obtuvieron los resultados de los macronutrientes después de 17 días de tratamiento del agua residual del Distrito de Monzón con el uso de la microalga *C. vulgaris* en un sistema de cultivo biorreactor. El Nitrógeno Total (N) obtenido fue de 0.01% p/v, el Fósforo Total ( $P_2O_5$ ) de 0.04% p/v y el Potasio Total ( $K_2O$ ) de 0.01% p/v. Como se puede ver, las concentraciones de nutrientes principales (NPK) son mínimas, lo cual se relacionó con los nano-fertilizantes, de acuerdo con El-Saadony et al. (2021), los nano-fertilizantes ofrecen algunos nutrientes de forma muy pequeña, permitiendo mejorar el crecimiento y la productividad de los cultivos según las necesidades de nutrientes de las plantas (aumenta la absorción y estimula de la producción vegetal). Asimismo, los nano-fertilizantes se pueden dispersar en polvo o en líquidos con un diámetro menor a 100 nm, ya que este tipo de biotecnología es considerada como una parte fundamental de una agricultura de precisión; es decir, provee una entrega de nutrientes controlada y específica del sitio, lo que le permite aumentar la eficiencia del uso de nutrientes y disminuir el desperdicio (NDABA et al., 2022). Por ejemplo, el uso de nano-fertilizante Zinc desempeña un papel sustancial en la tolerancia de una sequía, debido a que ayuda a aumentar el contenido lípidos, proteína, aminoácidos y clorofila b y disminuir el estrés oxidativo de las plantas (Ahmadian et al., 2021). Por otro lado, uno de los problemas de la aplicación de agroquímicos es que el 0.1% del total de nutrientes es aprovechado por las plantas del cultivo, mientras que una fracción de ella es liberado o se pierde en el medio ambiente (Elsayed et al., 2022). Entonces, con este análisis se podría aplicar de manera directa (unas micro-dosificaciones de fertilizantes), ya que las

concentraciones de NPK en este estudio fueron muy bajas y podría ser muy bien beneficioso para las plantas de los cultivos.

En consecuencia, el crecimiento de la microalga *C. vulgaris* cultivadas de forma libre en los efluentes de aguas residuales va a depender de muchos factores para su desarrollo como el pH, turbidez, materia orgánica, T°C, agitación, nutrientes, intensidad de luz y el lugar de crecimiento (biorreactores u otros sistemas de cultivos). No sólo estos factores están relacionados con el crecimiento sino también con la capacidad de remoción de la materia orgánica DQO y DBO, y de los nutrientes nitrato y fosfato, donde se observó que la baja limitación del nitrato, no se pudo obtener una remoción alta del fosfato. Asimismo, el DBO fue afectado por el aumento de valores del DQO debido a la liberación de compuestos no degradables como la celulosa y hemicelulosa (principales componentes de carbohidratos de las microalgas). Por otra parte, los metales pesados evaluados al final del tratamiento con el agua residual para uso como biofertilizante en la parte agrícola presentaron una ligera superación de las normativas LMP. Lo cual no se puede aplicar como biofertilizante como tal, sino realizar pruebas con plantas que comprueben si realmente funcionan. Finalmente, no hay que dejar caso omiso a los factores que podrían o no alterar nuestro crecimiento y remoción, de tal modo al tener un buen control y monitoreo podremos entender el comportamiento con mayor detalle del cultivo de la microalga *C. vulgaris*.

## VII CONCLUSIONES

Se estimó el crecimiento de la microalga *C. vulgaris* en los tratamientos de aguas residuales con sistemas de cultivos cerrados (biorreactores) consiguiendo una concentración de biomasa y una productividad máxima de  $1.199 \pm 0.16$  g/L y  $0.417 \pm 0.061$  g/L/d en una dilución de 21 % durante los 17 días tratamiento.

Se obtuvo un porcentaje de remoción de DQO de -293.0 %, esto se debió básicamente a la descomposición de las microalgas viejas por medio de las bacterias y a la liberación de la materia orgánica luego que las microalgas fijaran el CO<sub>2</sub>. Mientras que, para la remoción del DBO fue de 41.9% siendo menor que los demás estudios analizados, esto se debió al aumento de los valores del DQO donde se hubo una liberación de compuestos no degradables como la celulosa y hemicelulosa, que son los principales componentes de carbohidratos de las microalgas. En cuanto a la remoción del P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> y N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> fue de 69.13% y -107 592%, respectivamente. Para el valor negativo del nitrato esto se relacionó con la presencia de bacterias nitrificantes(BN).

El uso como biofertilizante para el riego de cultivo después del tratamiento del agua residual no se podría utilizar de manera directa, debido a que el análisis de metales pesados fue ligeramente superiores a los límites máximos permisibles (LMP) propuesto por las normativas OMS, FAO, EPA y AEMA. Pero podría ser un buen bioindicador de la presencia de metales pesados en el agua residual del Distrito de Monzón.

## VIII RECOMENDACIONES

Realizar el análisis del parámetro DQO, Nitrato y Fosfato diariamente para observar cómo es el comportamiento de estos componentes mencionados y así definir los resultados a analizar de manera precisa y correcta.

Controlar constantemente los parámetros de pH y temperatura, ya que estos influyen en el crecimiento y productividad de la microalga, y en la remoción de la materia orgánica presentes en el agua residual. Además, emplear que los parámetros sean medidos cada misma hora durante los días del experimento.

Verificar diariamente la existencia de rotíferos (depredadores de microalgas) en el microscopio de los medios de cultivos con el agua residual.

Realizar estudios de nano-fertilizantes y microdosificación de fertilizantes para su utilización directa en los cultivos de las plantas agrícolas a través del aprovechamiento de las aguas residuales domésticas, industriales, ganadera y agrícola con el uso de las microalgas *C. vulgaris* y *Spirulina platensis*.

Determinar el rendimiento productivo de los cultivos a mayor escala con el uso de este biorreactor casero (19L de capacidad) y sacar su mayor utilidad para la producción de biodiesel, bioaceite, bioplástico, biopesticida, biofertilizante, bioestimulante, alimentos para peces , entre otras.

## IX REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmadian, K., Jalilian, J., & Pirzad, A. (2021). Nano-fertilizers improved drought tolerance in wheat under deficit irrigation. *Agricultural Water Management*, 244, 106544. <https://doi.org/10.1016/J.AGWAT.2020.106544>
- Ahmed, S. F., Mofijur, M., Parisa, T. A., Islam, N., Kusumo, F., Inayat, A., Le, V. G., Badruddin, I. A., Khan, T. M. Y., & Ong, H. C. (2022). Progress and challenges of contaminate removal from wastewater using microalgae biomass. *Chemosphere*, 286(P1), 131656. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131656>
- Al-Jabri, H., Das, P., Khan, S., Thaher, M., & Abdulquadir, M. (2021). Treatment of wastewaters by microalgae and the potential applications of the produced biomass—a review. *Water (Switzerland)*, 13(1). <https://doi.org/10.3390/w13010027>
- Andrés, E., Gómez, O., Judith, M., & Giraldo, V. (2016). *EVALUACIÓN DEL USO DE LA MICROALGA *Chlorella vulgaris* EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES (VINAZAS)*. 1–30.
- Ansari, F. A., Guldhe, A., Gupta, S. K., Rawat, I., & Bux, F. (2021). Improving the feasibility of aquaculture feed by using microalgae. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(32), 43234–43257. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14989-x>
- Arquiñigo, C. M., Isidora, A., & Encinas, D. (2010). Percepción ambiental de los paisajes y sus potencialidades: provincia de Huamalíes Perception of environmental landscape and its Potential, province of Huamalies. | *Unmsm/lihs*, 47–62.
- Asgharpour, M., Rodgers, B., & Hestekin, J. A. (2015). Eicosapentaenoic acid from

Porphyridium cruentum: Increasing growth and productivity of microalgae for pharmaceutical products. *Energies*, 8(9), 10487–10503.

<https://doi.org/10.3390/en80910487>

Arenas. 2017. CO<sub>2</sub> casero de levadura. Acceso en <https://www.tuaquario.es/co2-casero-levadura/>

Ashraf, S., Ali, Q., Zahir, Z. A., Ashraf, S., & Asghar, H. N. (2019). Phytoremediation: Environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 174, 714–727.

<https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2019.02.068>

Atoku, D. I., Ojekunle, O. Z., Taiwo, A. M., & Shittu, O. B. (2021). Evaluating the efficiency of Nostoc commune, Oscillatoria limosa and Chlorella vulgaris in a phycoremediation of heavy metals contaminated industrial wastewater. *Scientific African*, 12(June), e00817. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2021.e00817>

Ayatollahi, S. Z., Esmailzadeh, F., & Mowla, D. (2021). Integrated CO<sub>2</sub> capture, nutrients removal and biodiesel production using Chlorella vulgaris. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(2), 104763. <https://doi.org/10.1016/J.JECE.2020.104763>

Azam, R., Kothari, R., Singh, H. M., Ahmad, S., Sari, A., & Tyagi, V. V. (2022). Cultivation of two Chlorella species in Open sewage contaminated channel wastewater for biomass and biochemical profiles: Comparative lab-scale approach. *Journal of Biotechnology*, 344, 24–31. <https://doi.org/10.1016/J.JBIOTEC.2021.11.006>

Blinová, L., Bartošová, A., Gerulová, K., Blinová, I. L., Bartošová, I. A., & Gerulová, I. K.

- (2015). *CULTIVATION OF MICROALGAE (Chlorella vulgaris) FOR BIODIESEL PRODUCTION*. 23, 36. <https://doi.org/10.1515/rput-2015-0010>
- Bougdoor, N., Tiskatine, R., Bakas, I., & Assabbane, A. (2020). Photocatalytic degradation of industrial textile wastewater using S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup>/Fe<sup>2+</sup> process. *Materials Today: Proceedings*, 22, 69–72. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.08.083>
- Bumandalai, O., & Tserennadmid, R. (2019). Effect of chlorella vulgaris as a biofertilizer on germination of tomato and cucumber seeds. *International Journal of Aquatic Biology*, 7(2), 95–99. <https://doi.org/10.22034/ijab.v7i2.582>
- Chai, W. S., Cheun, J. Y., Kumar, P. S., Mubashir, M., Majeed, Z., Banat, F., Ho, S. H., & Show, P. L. (2021). A review on conventional and novel materials towards heavy metal adsorption in wastewater treatment application. *Journal of Cleaner Production*, 296, 126589. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126589>
- Chandra, R., Pradhan, S., Patel, A., & Ghosh, U. K. (2021). An approach for dairy wastewater remediation using mixture of microalgae and biodiesel production for sustainable transportation. *Journal of Environmental Management*, 297, 113210. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2021.113210>
- Chawla, P., Gola, D., Dalvi, V., Sreekrishnan, T. R., Ariyadasa, T. U., & Malik, A. (2022). Design and development of mini-photobioreactor system for strategic high throughput selection of optimum microalgae-wastewater combination. *Bioresource Technology Reports*, 17(December 2021), 100967. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.100967>
- Collivignarelli, M. C., Abbà, A., Carnevale Miino, M., & Damiani, S. (2019). Treatments

for color removal from wastewater: State of the art. *Journal of Environmental Management*, 236(October 2018), 727–745.

<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.11.094>

Costa, J. A. V., Freitas, B. C. B., Cruz, C. G., Silveira, J., & Morais, M. G. (2019). Potential of microalgae as biopesticides to contribute to sustainable agriculture and environmental development. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 54(5), 366–375.

<https://doi.org/10.1080/03601234.2019.1571366>

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

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124870>

Das, S. K., Sathish, A., & Stanley, J. (2018). Production of Biofuel and Bioplastic from *Chlorella Pyrenoidosa*. *Materials Today: Proceedings*, 5(8), 16774–16781.

<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2018.06.020>

Dębowski, M., Zieliński, M., Kazimierowicz, J., Kujawska, N., & Talbierz, S. (2020). Microalgae cultivation technologies as an opportunity for bioenergetic system development—advantages and limitations. *Sustainability (Switzerland)*, 12(23), 1–37.

<https://doi.org/10.3390/su12239980>

Desa, A. L., Hairom, N. H. H., Ng, L. Y., Ng, C. Y., Ahmad, M. K., & Mohammad, A. W. (2019). Industrial textile wastewater treatment via membrane photocatalytic reactor (MPR) in the presence of ZnO-PEG nanoparticles and tight ultrafiltration.

*Journal of Water Process Engineering*, 31(January), 100872.

<https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.100872>

Do, C. V. T., Pham, M. H. T., Pham, T. Y. T., Dinh, C. T., Bui, T. U. T., Tran, T. D., & Nguyen, V. T. (2022). Microalgae and bioremediation of domestic wastewater. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 34, 100595. <https://doi.org/10.1016/J.COGSC.2022.100595>

El-Saadony, M. T., Almoshadak, A. S., Shafi, M. E., Albaqami, N. M., Saad, A. M., El-Tahan, A. M., Desoky, E. S. M., Elnahal, A. S. M., Almakas, A., Abd El-Mageed, T. A., Taha, A. E., Elrys, A. S., & Helmy, A. M. (2021). Vital roles of sustainable nano-fertilizers in improving plant quality and quantity-an updated review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(12), 7349–7359. <https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2021.08.032>

Elsayed, A. A. A., EL-Gohary, A., Taha, Z. K., Farag, H. M., Hussein, M. S., & AbouAitah, K. (2022). Hydroxyapatite nanoparticles as novel nano-fertilizer for production of rosemary plants. *Scientia Horticulturae*, 295, 110851. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2021.110851>

Eze, V. C., Velasquez-Orta, S. B., Hernández-García, A., Monje-Ramírez, I., & Orta-Ledesma, M. T. (2018). Kinetic modelling of microalgae cultivation for wastewater treatment and carbon dioxide sequestration. *Algal Research*, 32, 131–141. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2018.03.015>

Faheed, F. A. (2008). Effect of *Chlorella vulgaris* as Bio-fertilizer on Growth Parameters and Metabolic Aspects of Lettuce Plant. *ISSN OnlineAWB J. Agri. Soc. Sci*, 4(1965), 1813–2235. <http://www.fspublishers.org>

Fawcett, C. A., Senhorinho, G. N. A., Laamanen, C. A., & Scott, J. A. (2022). Microalgae as

an alternative to oil crops for edible oils and animal feed. *Algal Research*, 64(March), 102663. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102663>

Fenech, C., Rock, L., Nolan, K., Tobin, J., & Morrissey, A. (2012). The potential for a suite of isotope and chemical markers to differentiate sources of nitrate contamination: A review. *Water Research*, 46(7), 2023–2041. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.01.044>

Fernández-Linares, L. C., Guerrero Barajas, C., Durán Páramo, E., & Badillo Corona, J. A. (2017). Assessment of *Chlorella vulgaris* and indigenous microalgae biomass with treated wastewater as growth culture medium. *Bioresource Technology*, 244, 400–406. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2017.07.141>

Fouda-Mbanga, B. G., Prabakaran, E., & Pillay, K. (2021). Carbohydrate biopolymers, lignin based adsorbents for removal of heavy metals (Cd<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>) from wastewater, regeneration and reuse for spent adsorbents including latent fingerprint detection: A review. *Biotechnology Reports*, 30, e00609. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00609>

Fu, X., Hou, R., Yang, P., Qian, S., Feng, Z., Chen, Z., Wang, F., Yuan, R., Chen, H., & Zhou, B. (2022). Application of external carbon source in heterotrophic denitrification of domestic sewage: A review. *Science of the Total Environment*, 817, 153061. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153061>

Fu, Y., Chen, T., Chen, S. H. Y., Liu, B., Sun, P., Sun, H., & Chen, F. (2021). The potentials and challenges of using microalgae as an ingredient to produce meat analogues. *Trends in Food Science and Technology*, 112(March), 188–200. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.050>

- Gao, F., Yang, Z. Y., Zhao, Q. L., Chen, D. Z., Li, C., Liu, M., Yang, J. S., Liu, J. Z., Ge, Y. M., & Chen, J. M. (2021). Mixotrophic cultivation of microalgae coupled with anaerobic hydrolysis for sustainable treatment of municipal wastewater in a hybrid system of anaerobic membrane bioreactor and membrane photobioreactor. *Bioresource Technology*, 337(May), 125457. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125457>
- Gharagozloo, P. E., Drewry, J. L., Collins, A. M., Dempster, T. A., Choi, C. Y., James, S. C., Ronga, D., Biazzi, E., Parati, K., Carminati, D., Carminati, E., & Tava, A. (2014). Microalgal biostimulants and biofertilisers in crop productions. *Agronomy*, 9(4), 1–22.
- Gonçalves, A. L. (2021). The use of microalgae and cyanobacteria in the improvement of agricultural practices: A review on their biofertilising, biostimulating and biopesticide roles. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(2), 1–21. <https://doi.org/10.3390/app11020871>
- Gorgich, M., Martins, A. A., Mata, T. M., & Caetano, N. S. (2021). Composition, cultivation and potential applications of *Chlorella zofingiensis* – A comprehensive review. *Algal Research*, 60, 102508. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2021.102508>
- Guldhe, A., Kumari, S., Ramanna, L., Ramsundar, P., Singh, P., Rawat, I., & Bux, F. (2017). Prospects, recent advancements and challenges of different wastewater streams for microalgal cultivation. *Journal of Environmental Management*, 203, 299–315. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.08.012>
- Han, W., Jin, W., Ding, W., Lu, S., Song, K., Chen, C., Qin, C., Chen, Y., Tu, R., & Zhou, X. (2021). Effects of nutrient composition, lighting conditions, and metal ions on the growth and lipid yield of the high-lipid-yielding microalgae (*Chlorella pyrenoidosa*)

cultivated in municipal wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(6), 106491. <https://doi.org/10.1016/J.JECE.2021.106491>

Han, W., Jin, W., Li, Z., Wei, Y., He, Z., Chen, C., Qin, C., Chen, Y., Tu, R., & Zhou, X. (2021). Cultivation of microalgae for lipid production using municipal wastewater. *Process Safety and Environmental Protection*, 155, 155–165. <https://doi.org/10.1016/J.PSEP.2021.09.014>

Hawko, C., Verrielle, M., Hucher, N., Crunaire, S., Leger, C., Locoge, N., & Savary, G. (2021). A review of environmental odor quantification and qualification methods: The question of objectivity in sensory analysis. *Science of the Total Environment*, 795. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148862>

He, L., Chen, Y., Wu, X., Chen, S., Liu, J., & Li, Q. (2020). Effect of physical factors on the growth of *Chlorella vulgaris* on enriched media using the methods of orthogonal analysis and response surface methodology. *Water (Switzerland)*, 12(1), 1–12. <https://doi.org/10.3390/w12010034>

Hemaiswarya, S., Raja, R., Kumar, R. R., Ganesan, V., & Anbazhagan, C. (2011). Microalgae: A sustainable feed source for aquaculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(8), 1737–1746. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0632-z>

Hocaoglu, S. M., Celebi, M. D., Basturk, I., & Partal, R. (2021). Treatment-based hospital wastewater characterization and fractionation of pollutants. *Journal of Water Process Engineering*, 43(February), 102205. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102205>

- Hu, D., Zhang, J., Chu, R., Yin, Z., Hu, J., Kristianto Nugroho, Y., Li, Z., & Zhu, L. (2021). Microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus* co-cultivation with landfill leachate for pollutant removal and lipid production. *Bioresource Technology*, 342(July), 126003. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126003>
- Huang, S., Zheng, X., Luo, L., Ni, Y., Yao, L., & Ni, W. (2021). Biostimulants in bioconversion compost of organic waste: A novel booster in sustainable agriculture. *Journal of Cleaner Production*, 319(June), 128704. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.128704>
- Huang, Y., Liu, J., Li, L., Pang, T., & Zhang, L. (2014). Efficacy of binary combinations of botanical pesticides for rotifer elimination in microalgal cultivation. *Bioresource Technology*, 154, 67–73. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2013.11.098>
- Hudaib, B. (2021). Treatment of real industrial wastewater with high sulfate concentrations using modified Jordanian kaolin sorbent: batch and modelling studies. *Heliyon*, 7(11), e08351. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08351>
- Hudson, A. (2010). Turbidity and suspended solids in waste water treatment. *Measurement and Control*, 43(3), 82–83. <https://doi.org/10.1177/002029401004300304>
- Imdad, S., & Dohare, R. K. (2022). A Critical Review On Heavy Metals Removal Using Ionic Liquid Membranes From The Industrial Wastewater. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 173(February), 108812. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2022.108812>
- Iparraguirre, K. (2020). *Disminución de nitratos y fosfatos con chlorellas sp. en las aguas*

*residuales de la poza de oxidación del distrito de Huayucachi – 2020.*

- Jesus, P. da C. C. de, Mendes, M. A., Perpétuo, E. A., Basso, T. O., & Nascimento, C. A. O. do. (2021). Extracellular carotenoid production and fatty acids profile of *Parachlorella kessleri* under increased CO<sub>2</sub> concentrations. *Journal of Biotechnology*, 329(February), 151–159.  
<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.02.004>
- Jha, D., Jain, V., Sharma, B., Kant, A., & Garlapati, V. K. (2017). Microalgae-based Pharmaceuticals and Nutraceuticals: An Emerging Field with Immense Market Potential. *ChemBioEng Reviews*, 4(4), 257–272.  
<https://doi.org/10.1002/cben.201600023>
- Joshi, N. C., & Gururani, P. (2022). Advances of graphene oxide based nanocomposite materials in the treatment of wastewater containing heavy metal ions and dyes. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 5(March), 100306.  
<https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2022.100306>
- Jucherski, A., Walczowski, A., Bugajski, P., Józwiakowski, K., Rodziewicz, J., Janczukowicz, W., Wu, S., Kasprzyk, M., Gajewska, M., & Mielcarek, A. (2022). Long-term operating conditions for different sorption materials to capture phosphate from domestic wastewater. *Sustainable Materials and Technologies*, 31, e00385.  
<https://doi.org/10.1016/J.SUSMAT.2021.E00385>
- K, I. M., & Purushothaman, T. (2020). *Micro-algae as bio-pesticides for the development of sustainable agriculture*. 8(6), 35–48.
- Kapooore, R. V., Wood, E. E., & Llewellyn, C. A. (2021). Algae biostimulants: A critical look

at microalgal biostimulants for sustainable agricultural practices. *Biotechnology Advances*, 49(October 2020), 107754.

<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107754>

Komolafe, O., Velasquez Orta, S. B., Monje-Ramirez, I., Noguez, I. Y., Harvey, A. P., & Orta Ledesma, M. T. (2014). Biodiesel production from indigenous microalgae grown in wastewater. *Bioresource Technology*, 154, 297–304.

<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2013.12.048>

Kompi, M., Mekbib, S. B., & George, M. J. (2018). Evaluation of Microalgae Sludge as Biofertilizer for Growth of Maize Under Greenhouse Trials. *National Niversity of Lesotho International Science, Technology & Innovation Conference & Expo*, 10–12.

Kumar, S., Prasad, S., Yadav, K. K., Shrivastava, M., Gupta, N., Nagar, S., Bach, Q. V., Kamyab, H., Khan, S. A., Yadav, S., & Malav, L. C. (2019). Hazardous heavy metals contamination of vegetables and food chain: Role of sustainable remediation approaches - A review. *Environmental Research*, 179, 108792.

<https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2019.108792>

Lahlou, F. Z., Mackey, H. R., & Al-Ansari, T. (2021). Wastewater reuse for livestock feed irrigation as a sustainable practice: A socio-environmental-economic review. *Journal of Cleaner Production*, 294, 126331.

<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126331>

Lam, M. K., Yusoff, M. I., Uemura, Y., Lim, J. W., Khoo, C. G., Lee, K. T., & Ong, H. C. (2017). Cultivation of *Chlorella vulgaris* using nutrients source from domestic wastewater for biodiesel production: Growth condition and kinetic studies. *Renewable Energy*, 103, 197–207.

<https://doi.org/10.1016/J.RENENE.2016.11.032>

- Lee, S. A., Lee, N., Oh, H. M., & Ahn, C. Y. (2019). Enhanced and balanced microalgal wastewater treatment (COD, N, and P) by interval inoculation of activated sludge. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(9), 1434–1443. <https://doi.org/10.4014/jmb.1905.05034>
- Levlin, E. (2010). Conductivity Measurements for Controlling Municipal Waste-Water Treatment. *Research and Application of New Technologies in Wastewater Treatment and Municipal Solid Waste Disposal in Ukraine, Sweden and Poland*, May, 51–62.
- Ligaray, M., Futralan, C. M., de Luna, M. D., & Wan, M. W. (2018). Removal of chemical oxygen demand from thin-film transistor liquid-crystal display wastewater using chitosan-coated bentonite: Isotherm, kinetics and optimization studies. *Journal of Cleaner Production*, 175(2), 145–154. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.12.052>
- Lima, S., Villanova, V., Grisafi, F., Caputo, G., Brucato, A., & Scargiali, F. (2020). Autochthonous microalgae grown in municipal wastewaters as a tool for effectively removing nitrogen and phosphorous. *Journal of Water Process Engineering*, 38, 101647. <https://doi.org/10.1016/J.JWPE.2020.101647>
- Liu, R., Li, S., Tu, Y., & Hao, X. (2021). Capabilities and mechanisms of microalgae on removing micropollutants from wastewater: A review. *Journal of Environmental Management*, 285(December 2020), 112149. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112149>
- López-Pacheco, I. Y., Carrillo-Nieves, D., Salinas-Salazar, C., Silva-Núñez, A., Arévalo-Gallegos, A., Barceló, D., Afewerki, S., Iqbal, H. M. N., & Parra-Saldívar, R. (2019).

Combination of nejayote and swine wastewater as a medium for *Arthrospira maxima* and *Chlorella vulgaris* production and wastewater treatment. *Science of the Total Environment*, 676, 356–367.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.278>

López-Pacheco, I. Y., Rodas-Zuluaga, L. I., Fuentes-Tristan, S., Castillo-Zacarias, C., Sosa-Hernández, J. E., Barceló, D., Iqbal, H. M. N., & Parra-Saldívar, R. (2021). Phycocapture of CO<sub>2</sub> as an option to reduce greenhouse gases in cities: Carbon sinks in urban spaces. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization*, 53(July).

<https://doi.org/10.1016/j.jcou.2021.101704>

Ma, K., Bao, Q., Wu, Y., Chen, S., Zhao, S., Wu, H., & Fan, J. (2020). Evaluation of Microalgae as Immunostimulants and Recombinant Vaccines for Diseases Prevention and Control in Aquaculture. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8(November). <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.590431>

Magalhães, I. B., Ferreira, J., Castro, J. de S., Assis, L. R. de, & Calijuri, M. L. (2022). Agro-industrial wastewater-grown microalgae: A techno-environmental assessment of open and closed systems. *Science of The Total Environment*, 834, 155282. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.155282>

Meoño, F. L. (2015). Aguas residuales y sus Consecuencias en el Desarrollo y la producción. *Revista de La Facultad de Ingeniería de La USIL*, 2, 9–25. <http://revistas.usil.edu.pe/index.php/syh/article/view/115>

Metsoviti, M. N., Papapolymerou, G., Karapanagiotidis, I. T., & Katsoulas, N. (2019). Comparison of growth rate and nutrient content of five microalgae species cultivated in greenhouses. *Plants*, 8(8), 1–13.

<https://doi.org/10.3390/plants8080279>

Mojiri, A., Baharlooeian, M., Kazeroon, R. A., Farraji, H., & Lou, Z. (2021). Removal of pharmaceutical micropollutants with integrated biochar and marine microalgae.

*Microorganisms*, 9(1), 1–20. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010004>

Morais Junior, W. G., Gorgich, M., Corrêa, P. S., Martins, A. A., Mata, T. M., & Caetano,

N. S. (2020). Microalgae for biotechnological applications: Cultivation, harvesting and biomass processing. *Aquaculture*, 528, 735562.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735562>

Morillas-España, A., Lafarga, T., Sánchez-Zurano, A., Acién-Fernández, F. G., & González-

López, C. (2022). Microalgae based wastewater treatment coupled to the production of high value agricultural products: Current needs and challenges.

*Chemosphere*, 291(July 2021).

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132968>

Mthembu, M. S., Swalaha, F. M., Basson, A. K., Ndulini, S. F., Mokoena, G. T., &

Mthembu, Q. N. (2021). Sulfate removal from industrial wastewater in a hydroponic system planted with *Bidens pilosa* L. *Physics and Chemistry of the Earth*,

124(February 2020), 103023. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2021.103023>

Mulgund, A. (2022). Increasing lipid accumulation in microalgae through environmental

manipulation, metabolic and genetic engineering: a review in the energy NEXUS framework. *Energy Nexus*, 5(February), 100054.

<https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100054>

Murwanashyaka, T., Shen, L., Yang, Z., Chang, J. S., Manirafasha, E., Ndikubwimana, T.,

- Chen, C., & Lu, Y. (2020). Kinetic modelling of heterotrophic microalgae culture in wastewater: Storage molecule generation and pollutants mitigation. *Biochemical Engineering Journal*, 157(December 2019), 107523. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107523>
- Nadiri, A. A., Shokri, S., Tsai, F. T. C., & Asghari Moghaddam, A. (2018). Prediction of effluent quality parameters of a wastewater treatment plant using a supervised committee fuzzy logic model. *Journal of Cleaner Production*, 180, 539–549. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.01.139>
- NDABA, B., ROOPNARAIN, A., RAMA, H., & MAAZA, M. (2022). Biosynthesized metallic nanoparticles as fertilizers: An emerging precision agriculture strategy. *Journal of Integrative Agriculture*, 21(5), 1225–1242. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(21\)63751-6](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(21)63751-6)
- Nguyen, T. D. P., Tran, T. N. T., Le, T. V. A., Nguyen Phan, T. X., Show, P. L., & Chia, S. R. (2019). Auto-flocculation through cultivation of *Chlorella vulgaris* in seafood wastewater discharge: Influence of culture conditions on microalgae growth and nutrient removal. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 127(4), 492–498. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.09.004>
- Niederwieser, T., Kociolek, P., & Klaus, D. (2018). Spacecraft cabin environment effects on the growth and behavior of *Chlorella vulgaris* for life support applications. *Life Sciences in Space Research*, 16, 8–17. <https://doi.org/10.1016/J.LSSR.2017.10.002>
- Nik Daud, N. N., & Anijiofor, C. S. (2017). Livestock wastewater generation and farm management: The gap analysis. *Acta Horticulturae*, 1152, 265–271. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1152.36>

- Norsker, N. H., Barbosa, M. J., Vermuë, M. H., & Wijffels, R. H. (2011). Microalgal production - A close look at the economics. *Biotechnology Advances*, 29(1), 24–27. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.08.005>
- Onyeaka, H., Miri, T., Oibileke, K., Hart, A., Anumudu, C., & Al-Sharify, Z. T. (2021). Minimizing carbon footprint via microalgae as a biological capture. *Carbon Capture Science & Technology*, 1(September), 100007. <https://doi.org/10.1016/j.ccst.2021.100007>
- Otondo, A., Kokabian, B., Stuart-Dahl, S., & Gude, V. G. (2018). Energetic evaluation of wastewater treatment using microalgae, *Chlorella vulgaris*. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(2), 3213–3222. <https://doi.org/10.1016/J.JECE.2018.04.064>
- Peng, J., Kumar, K., Gross, M., Kunetz, T., & Wen, Z. (2020). Removal of total dissolved solids from wastewater using a revolving algal biofilm reactor. *Water Environment Research*, 92(5), 766–778. <https://doi.org/10.1002/wer.1273>
- Peter, A. P., Tan, X., Lim, J. Y., Chew, K. W., Koyande, A. K., & Show, P. L. (2022). Environmental analysis of *Chlorella vulgaris* cultivation in large scale closed system under waste nutrient source. *Chemical Engineering Journal*, 433, 134254. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2021.134254>
- Prasad, R., Gupta, S. K., Shabnam, N., Oliveira, C. Y. B., Nema, A. K., Ansari, F. A., & Bux, F. (2021). Role of microalgae in global CO<sub>2</sub> sequestration: Physiological mechanism, recent development, challenges, and future prospective. *Sustainability (Switzerland)*, 13(23). <https://doi.org/10.3390/su132313061>

- Qari, H., Rehan, M., & Nizami, A. S. (2017). Key Issues in Microalgae Biofuels: A Short Review. *Energy Procedia*, 142, 898–903. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.12.144>
- Qiu, R., Gao, S., Lopez, P. A., & Ogden, K. L. (2017). Effects of pH on cell growth, lipid production and CO<sub>2</sub> addition of microalgae *Chlorella sorokiniana*. *Algal Research*, 28(November), 192–199. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.004>
- R, F., H, T., E, M., & B, T. (2021). Evaluation of the Growth Performance of Microalgae Based on Fine pH Changes. *Austin Journal of Biotechnology & Bioengineering*, 8(1), 1–7. <https://doi.org/10.26420/austinjbiotechnolbioeng.2021.1109>
- Rahman, A., & Miller, C. D. (2017). Microalgae as a Source of Bioplastics. In *Algal Green Chemistry: Recent Progress in Biotechnology*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63784-0.00006-0>
- Raimi, A., Roopnarain, A., & Adeleke, R. (2021). Biofertilizer production in Africa: Current status, factors impeding adoption and strategies for success. *Scientific African*, 11, e00694. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2021.e00694>
- Ramachandra Rao, S. (2006). *Waste Characterization* (pp. 13–34). [https://doi.org/10.1016/s0713-2743\(06\)80087-5](https://doi.org/10.1016/s0713-2743(06)80087-5)
- Ran, W., Wang, H., Liu, Y., Qi, M., Xiang, Q., Yao, C., Zhang, Y., & Lan, X. (2019). Storage of starch and lipids in microalgae: Biosynthesis and manipulation by nutrients. *Bioresource Technology*, 291(July), 121894. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121894>
- Ras, M., Steyer, J. P., & Bernard, O. (2013). Temperature effect on microalgae: A crucial

- factor for outdoor production. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 12(2), 153–164. <https://doi.org/10.1007/s11157-013-9310-6>
- Ray, A., Nayak, M., & Ghosh, A. (2022). A review on co-culturing of microalgae: A greener strategy towards sustainable biofuels production. *Science of the Total Environment*, 802, 149765. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149765>
- Ray, M., Kumar, N., Kumar, V., Negi, S., & Banerjee, C. (2019). Microalgae: A Way Forward Approach Towards Wastewater Treatment and Bio-Fuel Production. In *Applied Microbiology and Bioengineering*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815407-6.00012-5>
- Rizwan, M., Mujtaba, G., Memon, S. A., Lee, K., & Rashid, N. (2018). Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 92(April), 394–404. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.034>
- Russel, M., Meixue, Q., Alam, M. A., Lifen, L., Daroch, M., Blaszcak-Boxe, C., & Kumar Gupta, G. (2020). Investigating the potentiality of *Scenedesmus obliquus* and *Acinetobacter pittii* partnership system and their effects on nutrients removal from synthetic domestic wastewater. *Bioresource Technology*, 299, 122571. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2019.122571>
- Saad, M. G., Selahi, A., Zoromba, M. S., Mekki, L., El-Bana, M., Dosoky, N. S., Nobles, D., & Shafik, H. M. (2019). A droplet-based gradient microfluidic to monitor and evaluate the growth of *Chlorella vulgaris* under different levels of nitrogen and temperatures. *Algal Research*, 44(September). <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101657>

- Sakpirom, J., Nunkaew, T., Khan, E., & Kantachote, D. (2021). Optimization of carriers and packaging for effective biofertilizers to enhance *Oryza sativa* L. growth in paddy soil. *Rhizosphere*, *19*(May), 100383. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100383>
- Saleh, T. A., Mustaqeem, M., & Khaled, M. (2022). Water treatment technologies in removing heavy metal ions from wastewater: A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*, *17*(November 2020), 100617. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2021.100617>
- Samaei, S. M., Gato-Trinidad, S., & Altaee, A. (2018). The application of pressure-driven ceramic membrane technology for the treatment of industrial wastewaters – A review. *Separation and Purification Technology*, *200*(February), 198–220. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.02.041>
- Sánchez, J., Curt, M. D., Robert, N., & Fernández, J. (2018). Biomass resources. In *The Role of Bioenergy in the Emerging Bioeconomy: Resources, Technologies, Sustainability and Policy*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813056-8.00002-9>
- Sarioglu, M., & Gökçek, Ö. B. (2016). Treatment of automotive industry wastewater using anaerobic batch reactors: The influence of substrate/inoculum and molasses/wastewater. *Process Safety and Environmental Protection*, *102*(December), 648–654. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2016.05.021>
- Sero, E. T., Siziba, N., Bunhu, T., Shoko, R., & Jonathan, E. (2020). Biophotonics for improving algal photobioreactor performance: A review. *International Journal of Energy Research*, *44*(7), 5071–5092. <https://doi.org/10.1002/er.5059>

- Seyed Hosseini, N., Shang, H., & Scott, J. A. (2018). Biosequestration of industrial off-gas CO<sub>2</sub> for enhanced lipid productivity in open microalgae cultivation systems. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 92(April), 458–469. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.086>
- Shakeri, H., Motiee, H., & McBean, E. (2021). Forecasting impacts of climate change on changes of municipal wastewater production in wastewater reuse projects. *Journal of Cleaner Production*, 329(December 2020), 129790. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.129790>
- Silva, D. A., Cardoso, L. G., de Jesus Silva, J. S., de Souza, C. O., Lemos, P. V. F., de Almeida, P. F., Ferreira, E. de S., Lombardi, A. T., & Druzian, J. I. (2022). Strategy for the cultivation of *Chlorella vulgaris* with high biomass production and biofuel potential in wastewater from the oil industry. *Environmental Technology and Innovation*, 25, 102204. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102204>
- Soares, R. B., Martins, M. F., & Gonçalves, R. F. (2019). A conceptual scenario for the use of microalgae biomass for microgeneration in wastewater treatment plants. *Journal of Environmental Management*, 252(April), 109639. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109639>
- Soleimani khorramdashti, M., Samipoor Giri, M., & Majidian, N. (2021). Extraction lipids from *Chlorella vulgaris* by supercritical CO<sub>2</sub> for biodiesel production. *South African Journal of Chemical Engineering*, 38(November 2020), 121–131. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2021.03.008>
- Spennati, E., Mirizadeh, S., Casazza, A. A., Solisio, C., & Converti, A. (2021). *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* growth in a continuous membrane

photobioreactor using industrial winery wastewater. *Algal Research*, 60, 102519.

<https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2021.102519>

Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., & Isambert, A. (2006). Commercial Applications of Microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(2), 87–96. <https://doi.org/10.1263/jbb.101.87>

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

Suchithra, M. R., Muniswami, D. M., Sri, M. S., Usha, R., Rasheeq, A. A., Preethi, B. A., & Dinesh kumar, R. (2022). Effectiveness of green microalgae as biostimulants and biofertilizer through foliar spray and soil drench method for tomato cultivation. *South African Journal of Botany*, 146, 740–750. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.12.022>

Thiruchelvi, R., Das, A., & Sikdar, E. (2020). Bioplastics as better alternative to petro plastic. *Materials Today: Proceedings*, 37(Part 2), 1634–1639. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.07.176>

Ting, H., Haifeng, L., Shanshan, M., Zhang, Y., Zhidan, L., & Na, D. (2017). Progress in microalgae cultivation photobioreactors and applications in wastewater treatment: A review. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 10(1), 1–29. <https://doi.org/10.3965/j.ijabe.20171001.2705>

Tirado, D., Gallo, L., Acevedo, D., & Mouthon, J. (2016). Waste water biotreatment in

dairy industries. *Producción + Limpia*, 11(1), 171–184.

Trivedi, T., Jain, D., Mulla, N. S. S., Mamatha, S. S., Damare, S. R., Sreepada, R. A., Kumar, S., & Gupta, V. (2019). Improvement in biomass, lipid production and biodiesel properties of a euryhaline *Chlorella vulgaris* NIOCCV on mixotrophic cultivation in wastewater from a fish processing plant. *Renewable Energy*, 139(3), 326–335. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.02.065>

Tsianta, A. (2019). *Pharmaceutical Applications of Eukaryotic Microalgae* (A. Tsianta (ed.); thesis). INTERNATIONAL APPLICATIONS OF EUKARYOTIC MICROALGAE. <https://repository.ihu.edu.gr/xmlui/handle/11544/29668>

Vale, M. A., Ferreira, A., Pires, J. C. M., & Gonçalves, A. L. (2020). CO2 capture using microalgae. *Advances in Carbon Capture*, 381–405. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819657-1.00017-7>

Vargas-Estrada, L., Longoria, A., Okoye, P. U., & Sebastian, P. J. (2021). Energy and nutrients recovery from wastewater cultivated microalgae: Assessment of the impact of wastewater dilution on biogas yield. *Bioresource Technology*, 341, 125755. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2021.125755>

Venckus, P., Kostkevičienė, J., & Bendikienė, V. (2017). Green algae *Chlorella vulgaris* cultivation in municipal wastewater and biomass composition. *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management*, 25(1), 56–63. <https://doi.org/10.3846/16486897.2016.1245661>

Verma, R., Kumari, K. V. L. K., Srivastava, A., & Kumar, A. (2020). Photoautotrophic, mixotrophic, and heterotrophic culture media optimization for enhanced

- microalgae production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(5), 104149. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104149>
- Vieira, M. V., Pastrana, L. M., & Fuciños, P. (2020). Microalgae Encapsulation Systems for Food, Pharmaceutical and Cosmetics Applications. *Marine Drugs*, 18(12). <https://doi.org/10.3390/md18120644>
- Wang, B., Lan, C. Q., & Horsman, M. (2012). Closed photobioreactors for production of microalgal biomasses. *Biotechnology Advances*, 30(4), 904–912. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.01.019>
- Wang, J., Song, A., Huang, Y., Liao, Q., Xia, A., Zhu, X., & Zhu, X. (2021). Domesticating *Chlorella vulgaris* with gradually increased the concentration of digested piggery wastewater to bio-remove ammonia nitrogen. *Algal Research*, 60, 102526. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2021.102526>
- Warwick, C., Guerreiro, A., & Soares, A. (2013). Sensing and analysis of soluble phosphates in environmental samples: A review. *Biosensors and Bioelectronics*, 41(1), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.07.012>
- Wicker, R., & Bhatnagar, A. (2020). Application of Nordic microalgal-bacterial consortia for nutrient removal from wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 398, 125567. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2020.125567>
- Wirth, R., Pap, B., Böjti, T., Shetty, P., Lakatos, G., Bagi, Z., Kovács, K. L., & Maróti, G. (2020). *Chlorella vulgaris* and Its Phycosphere in Wastewater: Microalgae-Bacteria Interactions During Nutrient Removal. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8(September), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.557572>

- Xia, D., Qiu, W., Wang, X., & Liu, J. (2021). Recent advancements and future perspectives of microalgae-derived pharmaceuticals. *Marine Drugs*, 19(12), 1–23. <https://doi.org/10.3390/md19120703>
- Xiong, J. Q., Kurade, M. B., Abou-Shanab, R. A. I., Ji, M. K., Choi, J., Kim, J. O., & Jeon, B. H. (2016). Biodegradation of carbamazepine using freshwater microalgae *Chlamydomonas mexicana* and *Scenedesmus obliquus* and the determination of its metabolic fate. *Bioresource Technology*, 205, 183–190. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.038>
- Yun, C. J., Hwang, K. O., Han, S. S., & Ri, H. G. (2019). The effect of salinity stress on the biofuel production potential of freshwater microalgae *Chlorella vulgaris* YH703. *Biomass and Bioenergy*, 127(June), 105277. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.105277>
- Yusuf, H. A., Hossain, S. M. Z., Khamis, A. A., Radhi, H. T., & Jaafar, A. S. (2020). Optimization of CO<sub>2</sub> biofixation rate by microalgae in a hybrid microfluidic differential carbonator using response surface methodology and desirability function. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization*, 42(July), 101291. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2020.101291>
- Zeng, J., Wang, Z., & Chen, G. (2021). Biological characteristics of energy conversion in carbon fixation by microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 152(August), 111661. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111661>
- Zhou, H., Li, X., Xu, G., & Yu, H. (2018). Overview of strategies for enhanced treatment of municipal/domestic wastewater at low temperature. *Science of the Total Environment*, 643, 225–237. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.100>

Znad, H., Al Ketife, A. M. D., Judd, S., AlMomani, F., & Vuthaluru, H. B. (2018).

Bioremediation and nutrient removal from wastewater by *Chlorella vulgaris*.

*Ecological Engineering*, 110(September 2016), 1–7.

<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.10.008>

Zou, H., Huang, J. C., Zhou, C., He, S., & Zhou, W. (2020). Mutual effects of selenium and

chromium on their removal by *Chlorella vulgaris* and associated toxicity. *Science of*

*the Total Environment*, 724, 138219.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138219>

## X ANEXOS

### ANEXO 1

#### Resultados del Agua residual del Distrito de Monzón

LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA CON REGISTRO N° LE-077				
		Informe de Análisis 2203073		
		Cotización: 2202079		
(FAP-009-01)				
Fecha Emisión Informe: 30-03-2022 17:00				
Identificación del Cliente				
Cliente: JOSEPH ANTHONY AGUILAR MORENO		RUC: --		
Dirección: Jr. Las Tradiciones 120 Asoc. Ricardo Palma, San Juan de Lurigancho – Lima – Lima				
Contacto: Joseph Aguilar		Teléfono: --		
N° Muestra: 2203073-1 DRENAJE DE SALIDA				
Matriz: Agua Residual Doméstica				
Término de muestreo: 17-03-2022 10:00		Fecha de Recepción: 17-03-2022 17:00		
Departamento: Huánuco		Provincia: Huamalles		
Lugar de muestreo: Drenaje de tubería		Punto de muestreo: DRENAJE DE SALIDA		
Dirección de muestreo: Distrito de Monzón, provincia Huamalles, departamento de Huánuco		Instrumento ambiental: --		
Proyecto: Tratamiento de aguas residuales con el uso de la microbiología C. vulgaris para la remoción de materia orgánica		Muestreado por: El cliente		
Tipo de muestreo: --		Coordenadas: --		
Resultados Analíticos				
Parámetro	Resultado	LD	Referencia	Fecha de Análisis
Conductividad	204,75 µmho/cm a 25°C	--	SM 2510 B	21-03-2022
Demanda Bioquímica de Oxígeno	35 mg/L	< 2 mg/L	SM 5210 B	19-03-2022
Demanda Química de Oxígeno	67 mg/L	< 50 mg/L (**)	SM 5220 D	24-03-2022
Nitrato (N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	0,04 mg/L	< 0,01 mg/L	SM 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> E	17-03-2022
Fosfatos	0,176 mg/L	< 0,004 mg/L	SM 4500-P E	18-03-2022
Sólidos Totales	115 mg/L	< 4 mg/L	SM 2540 B	21-03-2022
Turbidez (*)	33 NTU	< 1 NTU	SM 2130 B	21-03-2022
pH (4)	6,91 Unidad de pH	--	SM 4500-H+ B	21-03-2022
Notas				
NA: No se aplica. LU: Límite de Detección. SM: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd. Edition 2017. (4) El resultado del método de ensayo indicado se encuentra fuera del alcance de acreditación otorgada por INACAL-DA, debido a que la muestra no es idónea para el ensayo. (*): Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA. (**): Límite de cuantificación. Resultados válidos únicamente para la muestra analizada. Prohibida toda reproducción parcial o total de este Informe sin autorización del laboratorio. Hidrolab es un laboratorio de ensayo acreditado por el organismo peruano de acreditación INACAL-DA con registro N°LE-077; de acuerdo a NTP-ISO 17025:2017				
 Raquel Rosales Torres Responsable de calidad CIP N° 209612				

## ANEXO 2

### Resultado de la Materia Orgánica y Nutrientes en el Biorreactor 4

LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA CON REGISTRO N° LE-077				
		Informe de Análisis 2203131		
Cotización: 2203091				
(FAP-009-01)				
Fecha Emisión Informe: 11-04-2022 16:00				
Identificación del Cliente				
Cliente: JOSEPH ANTHONY AGUILAR MORENO			RUC: --	
Dirección: Jr. Las Tradiciones 120 Asoc. Ricardo Palma, San Juan de Lurigancho – Lima – Lima				
Contacto: Joseph Aguilar			Teléfono: --	
N° Muestra: 2203131-1 BIOREACTOR 4				
Matriz: Agua Residual				
Término de muestreo: 30-03-2022 15:00		Fecha de Recepción: 30-03-2022 17:15		
Departamento: Lima		Provincia: Lima		
Lugar de muestreo: San Juan de Lurigancho		Punto de muestreo: BIOREACTOR 4		
Dirección de muestreo: San Juan de Lurigancho - Lima		Instrumento ambiental: --		
Proyecto: Tratamiento de aguas residuales con el uso de la microalga <i>Chorella vulgaris</i> para la remoción de materia orgánica		Muestreado por: El cliente		
Tipo de muestreo: --		Coordenadas: --		
Resultados Analíticos				
Parámetro	Resultado	LD	Referencia	Fecha de Análisis
Demanda Bioquímica de Oxígeno	16 mg/L	< 2 mg/L	SM 5210 B	01-04-2022
Demanda Química de Oxígeno	251 mg/L	< 50 mg/L (**)	SM 5220 D	01-04-2022
Nitrato (N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	45,92 mg/L	< 0,01 mg/L	SM 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> E	01-04-2022
Fosfatos	0,060 mg/L	< 0,004 mg/L	SM 4500-P E	04-04-2022
Notas				
<p>NA: No se aplica.                      LD: Límite de Detección.                      SM: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd. Edition 2017.                      (4) El resultado del método de ensayo indicado se encuentra fuera del alcance de acreditación otorgada por INACAL-DA, debido a que la muestra no es idónea para el ensayo.                      (*): Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA.                      (**): Límite de cuantificación</p> <p>Resultados válidos únicamente para la muestra analizada.                      Prohibida toda reproducción parcial o total de este informe sin autorización del laboratorio.                      Hidrolab es un laboratorio de ensayo acreditado por el organismo peruano de acreditación INACAL-DA con registro N°LE-077 ; de acuerdo a NTP-ISO 17025:2017</p>				
 Raquel Rosales Torres Responsable de calidad CIP N° 209612				

### ANEXO 3

#### Resultado de la Materia Orgánica y Nutrientes en el Biorreactor 5

LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA CON REGISTRO N° LE-077				
		Informe de Análisis 2203132		
(FAP-009-01)		Cotización: 2203091		Registro N°LE - 077
Fecha Emisión Informe: 11-04-2022 11:00				
Identificación del Cliente				
Cliente: JOSEPH ANTHONY AGUILAR MORENO			RUC: ---	
Dirección: Jr. Las Tradiciones 120 Asoc. Ricardo Palma, San Juan de Lurigancho – Lima – Lima				
Contacto: Joseph Aguilar			Teléfono: ---	
N° Muestra: 2203132-1 BIOREACTOR 5				
Matriz: Agua Residual				
Término de muestreo: 30-03-2022 15:00		Fecha de Recepción: 30-03-2022 17:15		
Departamento: Lima		Provincia: Lima		
Lugar de muestreo: San Juan de Lurigancho		Punto de muestreo: BIOREACTOR 5		
Dirección de muestreo: San Juan de Lurigancho - Lima		Instrumento ambiental: ---		
Proyecto: Tratamiento de aguas residuales con el uso de la microalga <i>Chorella vulgaris</i> para la remoción de materia orgánica		Muestreado por: El cliente		
Tipo de muestreo: ---		Coordenadas: ---		
Resultados Analíticos				
Parámetro	Resultado	LD	Referencia	Fecha de Análisis
Demanda Bioquímica de Oxígeno	21 mg/L	< 2 mg/L	SM 5210 B	01-04-2022
Demanda Química de Oxígeno	264 mg/L	< 50 mg/L (**)	SM 5220 D	01-04-2022
Nitrato (N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	43,75 mg/L	< 0,01 mg/L	SM 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> E	01-04-2022
Fosfatos	0,053 mg/L	< 0,004 mg/L	SM 4500-P E	04-04-2022
Notas				
<p>NA: No se aplica.                      LD: Límite de Detección.                      SM: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd. Edition 2017.                      (4) El resultado del método de ensayo indicado se encuentra fuera del alcance de acreditación otorgada por INACAL-DA, debido a que la muestra no es idónea para el ensayo.                      (*): Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA.                      (**): Límite de cuantificación</p> <p>Resultados válidos únicamente para la muestra analizada.                      Prohibida toda reproducción parcial o total de este informe sin autorización del laboratorio.                      Hidrolab es un laboratorio de ensayo acreditado por el organismo peruano de acreditación INACAL-DA con registro N°LE-077 ; de acuerdo a NTP-ISO 17025:2017</p>				
 Raquel Rosales Torres Responsable de calidad				

## ANEXO 4

### Resultado de la Materia Orgánica y Nutrientes en el Biorreactor 6

LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INACAL-DA CON REGISTRO N° LE-077				
		Informe de Análisis 2203133		
		Cotización: 2203091		Registro N°LE - 077
(FAP-009-01)				
Fecha Emisión Informe: 11-04-2022 11:00				
Identificación del Cliente				
Cliente: JOSEPH ANTHONY AGUILAR MORENO			RUC: ---	
Dirección: Jr. Las Tradiciones 120 Asoc. Ricardo Palma, San Juan de Lurigancho – Lima – Lima				
Contacto: Joseph Aguilar			Teléfono: ---	
N° Muestra: 2203133-1 BIOREACTOR 6				
Matriz: Agua Residual				
Término de muestreo: 30-03-2022 15:00		Fecha de Recepción: 30-03-2022 17:15		
Departamento: Lima		Provincia: Lima		
Lugar de muestreo: San Juan de Lurigancho		Punto de muestreo: BIOREACTOR 6		
Dirección de muestreo: San Juan de Lurigancho - Lima		Instrumento ambiental: ---		
Proyecto: Tratamiento de aguas residuales con el uso de la microalga <i>Chorella vulgaris</i> para la remoción de materia orgánica		Muestreado por: El cliente		
Tipo de muestreo: ---		Coordenadas: ---		
Resultados Analíticos				
Parámetro	Resultado	LD	Referencia	Fecha de Análisis
Demanda Bioquímica de Oxígeno	24 mg/L	< 2 mg/L	SM 5210 B	01-04-2022
Demanda Química de Oxígeno	274 mg/L	< 50 mg/L (**)	SM 5220 D	01-04-2022
Nitrato (N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	39,56 mg/L	< 0,01 mg/L	SM 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> E	01-04-2022
Fosfatos	0,050 mg/L	< 0,004 mg/L	SM 4500-P E	04-04-2022
Notas				
<p>NA: No se aplica.                      LD: Límite de Detección.                      SM: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd. Edition 2017.                      (4) El resultado del método de ensayo indicado se encuentra fuera del alcance de acreditación otorgada por INACAL-DA, debido a que la muestra no es idónea para el ensayo.                      (*): Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL-DA.                      (**): Límite de cuantificación</p> <p>Resultados válidos únicamente para la muestra analizada.                      Prohibida toda reproducción parcial o total de este informe sin autorización del laboratorio.                      Hidrolab es un laboratorio de ensayo acreditado por el organismo peruano de acreditación INACAL-DA con registro N°LE-077 ; de acuerdo a NTP-ISO 17025:2017</p>				
 Raquel Rosales Torres Responsable de calidad CIP N° 209812				

## ANEXO 5

### Resultado de Macronutrientes NPK de fertilizante orgánico líquido

## INFORME DE ENSAYO IE-310322-01

### 1. DATOS DEL CLIENTE

- 1.1 Cliente : JOSEPH ANTHONY AGUILAR MORENO  
1.2 DNI : 73658117

### 2. FECHAS

- 2.1 Inicio : 31 de Marzo de 2022  
2.2 Finalización : 12 de Abril de 2022  
2.3 Emisión de informe : 13 de Abril de 2022

### 3. CONDICIONES AMBIENTALES DE ENSAYO

- 3.1 Temperatura : 20.2°C  
3.2 Humedad Relativa : 54 %

### 4. ENSAYO SOLICITADO Y METODO UTILIZADO

- 4.1 Ensayo solicitado / Método utilizado : Ver 6.1

### 5. DATOS DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS

Tabla N°1: Datos de las muestras

Código de Laboratorio	Tipo de Muestra	Descripción
S-3594	Fertilizante	Descripción: Análisis de Fertilizante Líquido Hora: 11:00 am - Fecha: 31/03/22

### 6. RESULTADOS

#### 6.1. Resultados Obtenidos

Tabla N°2: Resultados Obtenidos

Parámetro	Unidad	Método de Ensayo	Resultado S-3594
Nitrógeno, N	%p/v	Kjeldahl	<0.01
Fósforo Total, P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	%p/v	UV-Visible	0.04
Potasio, K <sub>2</sub> O	%p/v	Absorción Atómica	<0.01

- Los Resultados pertenecen a las muestras entregadas al laboratorio
- Queda prohibida la copia parcial de este informe sin el consentimiento por escrito de SISTEMA DE SERVICIOS Y ANÁLISIS QUÍMICOS SAC.

  
DIEGO ROMANO VERGARAY D'ARRIGO  
QUÍMICO  
CQP. 1337

INFORME DE ENSAYO IE-310322-01

Página 1 de 2

Calle 22 Urb. VIPOL NARANJAL MZ E LT 07, SAN MARTÍN DE PORRES LIMA. – Teléfono 721 6212 – Cel: 949494763

[www.slabperu.com](http://www.slabperu.com) – [contacto@slabperu.com](mailto:contacto@slabperu.com)

**ANEXO 6**

*Resultado de metales pesado del fertilizante orgánico líquido*



**SISTEMA DE SERVICIOS Y ANÁLISIS  
QUÍMICOS S.A.C. SLAB**

**6.2. Resultados Obtenidos de Metales Pesados**

**Tabla N°3: Resultados Obtenidos de Metales Pesados**

Parámetro	Unidad	Método de Ensayo	Resultado S-3594
Plomo, Pb	mg/L	Espectroscopia de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-OES)	0.90
Cadmio, Cd	mg/L		0.18
Cromo, Cr	mg/L		1.31
Níquel, Ni	mg/L		2.27
Arsénico, As	mg/L		<0.002
Mercurio, Hg	mg/L		<0.001

- Los Resultados pertenecen a las muestras entregadas al laboratorio
- Queda prohibida la copia parcial de este informe sin el consentimiento por escrito de SISTEMA DE SERVICIOS Y ANÁLISIS QUÍMICOS SAC.



**FIN DEL DOCUMENTO**

*Diego Romano Vergaray D'Arrigo*  
**DIEGO ROMANO VERGARAY D'ARRIGO**  
 QUÍMICO  
 CQP. 1337