



Universidad de Valladolid



ESCUELA DE INGENIERÍAS  
INDUSTRIALES

MÁSTER EN INGENIERÍA AMBIENTAL

**MÁSTER EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

**ESCUELA DE INGENIERÍAS INDUSTRIALES**

**UNIVERSIDAD DE VALLADOLID**

**TRABAJO FIN DE MÁSTER**

**TÍTULO: EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DE FOTOBIORREACTORES PARA EL  
TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS**

Autor: Ing. Marianela Ruíz Guirola

Tutor: Dr. Raúl Muñoz Torre

M. Sc. Irina Bausa Ortiz

Valladolid, julio, 2023



Universidad de Valladolid



ESCUELA DE INGENIERÍAS  
INDUSTRIALES

MÁSTER EN INGENIERÍA AMBIENTAL

**MÁSTER EN INGENIERÍA AMBIENTAL**  
**ESCUELA DE INGENIERÍAS INDUSTRIALES**  
**UNIVERSIDAD DE VALLADOLID**

**TRABAJO FIN DE MÁSTER**

**TÍTULO: EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DE FOTOBIORREACTORES PARA EL  
TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS**

Autor: Ing. Marianela Ruíz Guirola

Tutor: Dr. Raúl Muñoz Torre

M. Sc. Irina Bausa Ortiz

Valladolid, julio, 2023

## Resumen:

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el rendimiento de sistemas de microalgas y bacterias para el tratamiento de aguas residuales domésticas. La investigación se ha desarrollado en una instalación compuesta por dos fotobiorreactores aerobios con iluminación LED. La experimentación se ha desarrollado durante 80 días, comprendiendo dos etapas de trabajo. En cada etapa de experimentación se trabajó con diferentes valores de tiempo de retención hidráulico (TRH) para evaluar las eficiencias de eliminación de contaminante en cada etapa. Se utilizaron procedimientos analíticos estandarizados para determinar los valores de carbono orgánico e inorgánico, nitrógeno total, amonio, fósforo y sulfato disueltos en los fotobiorreactores y en el agua residual de entrada. Además, se realizó un seguimiento en línea de variables del proceso que varían rápidamente durante el día, como la temperatura, el pH y el oxígeno disuelto.

Los resultados de la evaluación de las eficiencias de eliminación de carbono y nutrientes en la instalación revelaron que el sistema logra mayores eficiencias de eliminación de todos los contaminantes evaluados (90 % para carbono orgánico disuelto y 86 % para nitrógeno total) cuando se trabaja con un TRH de 7 días. Además, los resultados también demostraron la reproducibilidad de los resultados, ya que los dos fotobiorreactores utilizados en el estudio se comportaron de manera similar. Esto sugiere que los resultados obtenidos son consistentes y confiables.

**Palabras claves:** Eliminación de carbono, eliminación de nitrógeno, simbiosis microalgas-bacterias, tratamiento de agua residual.

## Abstract:

The objective of this work is to evaluate the performance of microalgae and bacteria systems for the treatment of domestic wastewater. The research was conducted using a set-up consisting of two aerobic photobioreactors with LED lighting. The experimentation lasted 80 days and involved two stages. Different hydraulic retention time (HRT) values were used in each stage to assess pollutant removal efficiencies. Standardized analytical procedures were employed to measure organic and inorganic carbon, total nitrogen, ammonium, phosphorus, and sulfate levels in the photobioreactors and incoming wastewater. Online monitoring tracked process variables such as temperature, pH, and dissolved oxygen, which exhibited rapid fluctuations throughout the day.

The evaluation of carbon and nutrient removal efficiencies in the lab-scale set-up revealed that the system achieved higher removal rates for all compounds (90% for dissolved organic carbon and 86% for total nitrogen) when operating with a HRT of 7 days. Furthermore, the results demonstrated the reproducibility of the findings, as both photobioreactors exhibited a similar behavior. This indicates the consistency and reliability of the obtained results.

**Keywords:** Carbon removal, microalgae-bacteria symbiosis, nitrogen removal, wastewater treatment.

## **AGRADECIMIENTOS:**

Quiero expresar mi más sincera gratitud a todos aquellos que contribuyeron significativamente a la realización de esta tesis de máster. Su apoyo, guía y aliento han sido esenciales para este logro. Reconocer y agradecer a:

A mi familia, a mis tíos y en especial a mis padres y hermano, quienes me han dado cariño, apoyo y seguridad en los momentos que más lo necesitaba. Ellos han sido mi fuerza para avanzar.

Dejo constancia de mis sinceros agradecimientos a mis tutores, la M. Sc. Irina Bausa Ortiz y el Dr. Raúl Muñoz Torre, quienes con paciencia y dedicación me han sabido guiar, orientar, resolver todas mis dudas y aconsejarme estos meses. Su conocimiento y mentoría fueron invaluable y me permitieron crecer tanto profesional como personalmente

A mis compañeros de clase, de laboratorio y amigos, quienes me brindaron apoyo moral, compartieron ideas y experiencias, y me motivaron durante este arduo proceso. Sus palabras de aliento y camaradería fueron un pilar fundamental en mi camino hacia la culminación de este máster.

A los miembros del ISP por brindarme grandes profesores que, además, de transmitirme sus conocimientos, me han enseñado a enfrentar la vida.

A Lidia, Iván, Lisi, José y Wendy por sus palabras de aliento, consejos y cariño me han dado el impulso necesario para el cumplimiento de una más de mis metas, además, de compartir conmigo los buenos y malos momentos a lo largo de este proceso.

Agradecer a Kevin y Sara Pérez por confiar en mí y ayudarme en todo este tiempo.

Quiero aprovechar esta oportunidad para expresar mi más profundo agradecimiento a la Beca Stem Women Uva-Santander Iberoamérica+Asia por el apoyo brindado. Sin su generosidad, no habría sido posible para mí realizar este máster y adquirir los conocimientos y habilidades necesarios.

A todos y cada uno de ustedes, gracias por ser parte de este proyecto y por ayudarme a alcanzar este logro académico. Su apoyo ha dejado una huella significativa en mi vida y estoy profundamente agradecida por ello.

## ÍNDICE:

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Tratamiento de aguas residuales urbanas con microalgas .....	2
1.1.1. Utilización de las microalgas para la eliminación de carbono y nutrientes de las aguas residuales.....	4
1.1.2. Fotobiorreactores para el tratamiento de aguas residuales .....	8
1.1.3. Influencia de las condiciones medioambientales y de operación en el tratamiento de aguas residuales con microalgas.....	11
2. OBJETIVOS.....	13
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	14
3.1. Descripción de la planta piloto. Condiciones de operación y del medio de cultivo.....	14
3.2. Instrumentación y sistema de adquisición de datos.....	16
3.3. Toma de muestras y análisis fisicoquímicos .....	18
3.4. Procedimientos analíticos.....	19
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
4.1. Evolución de la concentración de biomasa en el sistema.....	23
4.2. Evolución de la eliminación de carbono en los fotobiorreactores.....	24
4.3. Evolución en la eliminación de nitrógeno en los fotobiorreactores .....	27
4.4. Evolución en la eliminación de fosfatos y sulfatos en los fotobiorreactores.....	31
4.5. Evolución diaria de parámetros ambientales en los fotobiorreactores .....	33
5. CONCLUSIONES.....	36
6. RECOMENDACIONES Y TRABAJO FUTURO .....	37
7. BIBLIOGRAFÍA.....	38
ANEXOS.....	42

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo de simbiosis algas-bacterias. ....	5
Figura 2: Microalgas más empleadas en el tratamiento de aguas residuales.....	7
Figura 3: Fotobiorreactor cilíndrico cerrado.. ....	9
Figura 4: Fotobiorreactor placa plana.....	9
Figura 5: Fotobiorreactor tubular.. ....	10
Figura 6: Fotobiorreactor de bolsa.. ....	10
Figura 7: Fotobiorreactor HRAPs.. ....	11
Figura 8: Planta piloto. ....	15
Figura 9: Instrumentación utilizada.....	17
Figura 10: Instrumentación de luces. ....	17
Figura 11: Evolución de las poblaciones de microalgas y bacterias en la instalación .....	22
Figura 12: Evolución de la concentración de biomasa en los fotobiorreactores A)Fotobiorreactor 1 B)Fotobiorreactor 2 .....	24
Figura 13: Evolución de la concentración de Carbono Orgánico Total .....	25
Figura 14: Evolución de la concentración del Carbono Inorgánico Total.....	25
Figura 15: Eficiencia de eliminación del Carbono orgánico total .....	26
Figura 16: Eficiencia de eliminación del Carbono inorgánico total.....	26
Figura 17: Evolución de la concentración del Nitrógeno Total.....	27
Figura 18: Evolución de la concentración del amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) .....	28
Figura 19: Evolución de la concentración del nitrito .....	29
Figura 20: Evolución de la concentración del nitrato.....	30
Figura 21: Eficiencia de eliminación del nitrógeno total .....	30
Figura 22: Eficiencia de eliminación del amonio.....	31
Figura 23: Evolución de la concentración del fosfato .....	31
Figura 24: Evolución de la concentración del sulfato .....	32
Figura 25: Eficiencia de eliminación del fosfato.....	32
Figura 26: Eficiencia de eliminación del sulfato .....	33
Figura 27: Evolución del pH en los fotobiorreactores durante los días 3 al 7 de junio.....	33
Figura 28: Evolución de la temperatura en los fotobiorreactores durante los días 3 al 7 de junio.....	34
Figura 29: Evolución de la concentración de oxígeno disuelto en los fotobiorreactores durante los días 3 al 7 de junio .....	35

## 1. INTRODUCCIÓN

La escasez de los recursos hídricos es uno de los problemas principales a los que enfrenta la humanidad actualmente y la contaminación de las diferentes fuentes de agua, uno de los factores más relevantes que contribuyen a esta situación. Los vertidos de efluentes contaminados en áreas costeras, ríos y acuíferos pueden afectar negativamente a la salud humana y animal, la biodiversidad y la calidad general del agua. Por lo tanto, es fundamental tomar medidas para reducir la cantidad de contaminantes vertidos al medio ambiente cada día.

El aumento de la población humana y de la actividad industrial conlleva una mayor producción de agua residual que necesita ser tratada para cumplir con las normativas de depuración de aguas (Unión Europea, 2005). En este sentido, las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR) desarrollan un papel crucial para tratar el agua residual antes de ser vertida al medio ambiente. Estas estaciones cuentan con distintos tratamientos para disminuir la materia orgánica presente en el agua residual (Merino Ibarra and Escobar Briones, 2015; ASEPEYO, 2009; Merino Ibarra and Escobar Briones, 2015; Ros Moreno, 2010; Vilanova, Pedret and Santín, 2017).

Actualmente, las EDAR utilizan diversos procesos para tratar las aguas residuales y eliminar los contaminantes presentes en ellas. Estos se clasifican en las siguientes fases o tratamientos:

**El pretratamiento:** Es la primera etapa del proceso de depuración, que consiste en la eliminación de materiales gruesos y sólidos que puedan obstruir los equipos y procesos posteriores como rejillas y desarenadores.

**El tratamiento primario:** Se basa en métodos fisicoquímicos para separar y eliminar los sólidos suspendidos del agua residual. Los procesos físicos incluyen la sedimentación o decantación y la filtración, mientras que los procesos químicos incluyen la coagulación- floculación y la neutralización.

**El tratamiento secundario:** Se basa en métodos biológicos donde se utilizan microorganismos para descomponer los contaminantes orgánicos, es decir, la materia orgánica presente en las aguas residuales. Los procesos biológicos incluyen la oxidación biológica y la digestión anaerobia, los cuales se basan en favorecer la actividad de ciertas bacterias que consumen contaminantes orgánicos biodegradables. Existen muchos tratamientos basados en estos procesos como los fangos activos, sistemas UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), los lechos de turba, los lechos bacterianos, los biodiscos, el lagunaje, y los sistemas de filtración al suelo.

**El tratamiento terciario:** Se basa en métodos biológicos y químicos con el fin de eliminar los agentes patógenos que puedan perjudicar la salud humana o medioambiental, el nitrógeno, el fósforo y los metales pesados. Estos tratamientos avanzados varían su complejidad en cuanto a las exigencias legales y el uso previsto del agua tratada. Algunos de estos tratamientos son lechos bacterianos, microfiltración, ultrafiltración, filtros verdes, cloración, ozonización, desinfección por ultravioleta, uso de microalgas, entre otros (Troconis and Herbert, 2010; Alabaster et al., 2021).

El tratamiento terciario que emplea microalgas es una técnica utilizada en la depuración de aguas residuales para eliminar contaminantes del agua, ya que las microalgas pueden crecer rápidamente y asimilar nutrientes y contaminantes orgánicos, convirtiéndolos en biomasa y oxígeno. En este proceso, las microalgas se alimentan del carbono y los nutrientes del agua residual, incluyendo nitrógeno y fósforo, y absorben contaminantes como metales pesados y compuestos orgánicos emergentes. La biomasa resultante puede ser recolectada y utilizada como fertilizante o biocombustible y el agua tratada se puede descargar de manera segura en el medio ambiente. Este es un proceso natural y sostenible que utiliza la fotosíntesis para eliminar

nutrientes y contaminantes, lo que lo hace económicamente viable y respetuoso con el medio ambiente. Sin embargo, en los cultivos compuestos por aguas residuales, la falta de energía de iluminación y la inhibición de las fuentes de carbono pueden afectar el crecimiento de las microalgas. Esto se debe a la alta cantidad de materia orgánica y nutrientes presentes en estos efluentes (Ramírez-Mérida, 2020; Jácome-Pilco *et al.*, 2021).

En los últimos tiempos, las microalgas han despertado el interés como una opción viable para el tratamiento de aguas residuales de manera sostenible. Las microalgas son una opción atractiva para el tratamiento de aguas residuales debido a su capacidad para eliminar nutrientes y contaminantes, así como su capacidad para producir biocombustibles y productos de alto valor añadido.

### 1.1. Tratamiento de aguas residuales urbanas con microalgas

La investigación sobre el tratamiento de aguas residuales con microalgas comenzó a realizarse en la década de 1950, pero se intensificó a partir de 1970 (Abalde *et al.*, 2016). Se llevaron a cabo investigaciones sobre el uso de microalgas en el tratamiento de aguas residuales ganaderas e industriales. Estos estudios demostraron que la microalga *Chlorella* es efectiva en la eliminación de contaminantes orgánicos recalcitrantes y nutrientes de las aguas residuales (Tafur Alvarez, 2021). Desde entonces, se han realizado numerosos estudios y pruebas tanto a escala piloto como comercial, lo que ha permitido el desarrollo de tecnologías avanzadas para el tratamiento de aguas residuales con microalgas (Andrade *et al.*, 2006; Ruiz Martínez, 2011; Tafur Alvarez and Estrada Palencia, 2015; Malo, Cartagena and Sandoval, 2016). En la actualidad, el tratamiento de aguas residuales con microalgas se ha convertido en una técnica sostenible y eficiente para eliminar contaminantes del agua, con beneficios adicionales en términos de producción de biomasa y reducción de emisiones de gases de efecto invernadero y del consumo de energía.

El tratamiento de aguas residuales con microalgas se basa en el uso de estos organismos unicelulares fotosintéticos que pueden crecer rápidamente en ambientes acuosos ricos en nutrientes, como los efluentes de aguas residuales, de esta manera se logran remover los contaminantes de las aguas residuales, convirtiéndolos en biomasa. Este proceso implica el cultivo de las microalgas en estanques o reactores que contienen agua residual para que las microalgas puedan utilizar el carbono orgánico e inorgánico y los nutrientes presentes en el agua residual como el nitrógeno y fósforo para crecer y reproducirse. El proceso de tratamiento de aguas residuales con microalgas se lleva a cabo habitualmente en estanques abiertos, llamados fotobiorreactores, que permiten el crecimiento de biomasa de microalgas. El agua residual es dirigida a estos fotobiorreactores, donde se mezcla con las microalgas, y se expone a la luz solar. A medida que las algas crecen, asimilan los contaminantes del agua transformándolos en biomasa (Jácome-Pilco *et al.*, 2021).

Los sistemas de tratamiento de aguas residuales con microalgas implican una disminución del consumo eléctrico en comparación con los sistemas de tratamientos de aguas residuales basados en fangos activos, debido a que estos requieren grandes cantidades de energía para la aireación de los reactores biológicos, que es necesaria para mantener las condiciones adecuadas de oxígeno para las bacterias que eliminan los contaminantes. En cambio, el tratamiento con microalgas utiliza la luz solar necesaria para la fotosíntesis como fuente de energía, eliminando la necesidad de aireación y reduciendo el consumo de energía eléctrica al bombeo y agitación del caldo de cultivo.

Otro aspecto importante es la reducción de emisiones de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), ya que la eliminación de los contaminantes en los sistemas de fangos activos se produce mediante la oxidación biológica de la materia orgánica, lo que produce dióxido de carbono. En contraste, el

tratamiento con microalgas utiliza la fotosíntesis para convertir el CO<sub>2</sub> en biomasa, lo que reduce las emisiones de gases de efecto invernadero y contribuye a la mitigación del cambio climático.

Las microalgas son altamente efectivas en la eliminación de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo, que son los principales responsables de la eutrofización de las aguas superficiales y subterráneas. La eliminación de nutrientes resulta crucial para evitar el crecimiento excesivo de algas y la disminución de la calidad del agua (González Ramírez, 2020; Pachés Giner and González Camejo, 2022).

El tratamiento de aguas residuales con microalgas no solo remueve los contaminantes del agua, sino que también produce biomasa, que puede ser utilizada para producir biocombustibles como biogás, biodiésel o bioetanol, alimento para animales como piensos para peces y crustáceos o fertilizantes, ya que es rica en nutrientes esenciales como el nitrógeno, fósforo y potasio. Esta producción de biomasa puede generar ingresos adicionales y reducir la necesidad de importar productos químicos y fertilizantes.

Desde finales del siglo XX comenzó el empleo de las microalgas como una potente herramienta en el tratamiento de aguas residuales, por todas las ventajas asociadas a su aplicación. Sin embargo, en la práctica también se enfrenta a disímiles desafíos como la selección de microalgas, el control del crecimiento de microalgas, cosechado de la biomasa, requerimientos de espacio, recuperación de la biomasa, normativa y regulaciones. A pesar de que el tratamiento con microalgas tiene el potencial de reducir los costos de energía y los costos de tratamiento, el costo inicial de la construcción de instalaciones puede ser más alto que el de otros sistemas de tratamiento de aguas residuales. Existen muchas especies de microalgas, pero no todas son adecuadas para el tratamiento de aguas residuales, por lo que la selección de las microalgas que sean capaces de crecer y eliminar contaminantes en aguas residuales puede ser un desafío.

Los altos tiempos de residencia a los que trabajan los fotobiorreactores de tratamiento de aguas residuales conllevan altos CAPEX (gastos de capital), por lo que es necesario un control adecuado del crecimiento de las microalgas para asegurar que el tratamiento sea efectivo y económico. El cosechado de la biomasa de algas es un proceso crítico en el tratamiento de aguas residuales con microalgas, ya que la biomasa debe ser separada del agua para su uso posterior. Las células de microalgas tienen un pequeño tamaño, densidad similar a la del agua y se encuentran dispersas en el agua, lo que dificulta su recolección. Además, los métodos de cosechado pueden ser costosos y requieren mucha energía, lo que reduce la eficiencia del proceso (Ortiz-Villota, Romero-Morales and Meza-Rodríguez, 2018; Lobos Briones, 2019), por lo que se necesitan métodos de recuperación de biomasa eficientes y económicos para hacer el tratamiento con microalgas más viable.

El espacio es otro desafío importante en el tratamiento de aguas residuales con microalgas. Los fotobiorreactores necesarios para el crecimiento y la acumulación de biomasa de microalgas requieren mucho espacio, lo que puede ser un obstáculo para la implementación del tratamiento en zonas urbanas o densamente pobladas. Por lo tanto, es necesario desarrollar tecnologías más compactas y eficientes, como fotobiorreactores verticales, que permitan un mayor aprovechamiento del espacio. Sin embargo, el coste de estos últimos puede comprometer la viabilidad del tratamiento de aguas residuales.

La implementación de tecnologías de tratamiento de aguas residuales con microalgas puede estar sujeta a regulaciones y normativas locales, lo que puede restringir su uso. Sin embargo, con la investigación y el desarrollo continuo, estos desafíos pueden superarse para permitir el uso amplio y efectivo del tratamiento de aguas residuales con microalgas (Gamboa De La Torre, 2022).

Los límites de vertido de agua residual en España están regulados por la legislación ambiental. La normativa principal que establece los límites de vertido de agua residual en España es el Real Decreto 1290/2012, de 7 de septiembre, por el que se aprueba el Reglamento de la Ley de Aguas en materia de gestión de la calidad de las aguas continentales, las normas de calidad ambiental y los objetivos de calidad. Este reglamento establece los límites de vertido de sustancias contaminantes en las aguas residuales, en función de su origen y de la zona de vertido. Además, la normativa ambiental española también establece los requisitos para la autorización y el control de los vertidos de aguas residuales (España. Ministerio de Agricultura, 2012).

En general, los límites de vertido de agua residual en España se establecen en función de la calidad del agua en la que se realiza el vertido, y tienen como objetivo prevenir la contaminación y proteger el medio ambiente acuático. En España, estos límites de vertido se establecen en la legislación nacional, como la Ley de Aguas y la Ley de Aguas Residuales, y se aplican a través de los organismos responsables de la gestión del agua y los vertidos de aguas residuales en cada comunidad autónoma. Por lo tanto, es importante consultar la legislación ambiental y los requisitos específicos de cada región y sector industrial antes de realizar cualquier vertido de aguas residuales.

### 1.1.1. Utilización de las microalgas para la eliminación de carbono y nutrientes de las aguas residuales

La eliminación de nitrógeno, carbono y fósforo en el tratamiento de aguas residuales con microalgas es una tecnología prometedora y sostenible que puede ayudar a resolver los problemas ambientales asociados con la contaminación del agua.

La importancia de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales radica en su capacidad para eliminar gran parte del nitrógeno inorgánico como amonio y nitratos, además de parte del fósforo mediante su asimilación celular directa. Las bacterias heterótrofas son muy eficientes para la eliminación del carbono orgánico en el tratamiento de aguas residuales. Sin embargo, su capacidad de eliminar nutrientes inorgánicos como el nitrógeno y el fósforo es limitada. Es necesaria la combinación de las bacterias con microalgas fotoautótrofas para poder superar esta limitación y además lograr un tratamiento eficiente de las aguas residuales para su vertido, o incluso, para su reutilización (Bolado *et al.*, 2016; Zaballa *et al.*, 2016).

Las interacciones entre microalgas y bacterias en el tratamiento de aguas residuales soportan la eliminación de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo de varias maneras. Uno de los mecanismos es la absorción directa de nutrientes por parte de las células de microalgas y bacterias. Esto se debe a la capacidad de absorción de las microalgas, las cuales son capaces de absorber la mayoría del nitrógeno inorgánico y parte del fósforo directamente de la corriente líquida, mientras que las bacterias heterótrofas son eficientes en la eliminación del carbono orgánico. Además, las bacterias pueden proporcionar nutrientes adicionales a las microalgas, promoviendo su crecimiento y capacidad de eliminar nutrientes. Las bacterias pueden producir compuestos orgánicos que las microalgas pueden utilizar como fuente de carbono, mientras que las microalgas pueden liberar oxígeno a la corriente líquida, lo que favorece la actividad de las bacterias aerobias como se muestra en la Figura 1. La formación de agregados entre microalgas y bacterias permite la eliminación de nutrientes y carbono mediante procesos físicos, como la sedimentación o flotación, y por procesos biológicos, como la nitrificación y desnitrificación (Barreiro Vescovo, 2019).

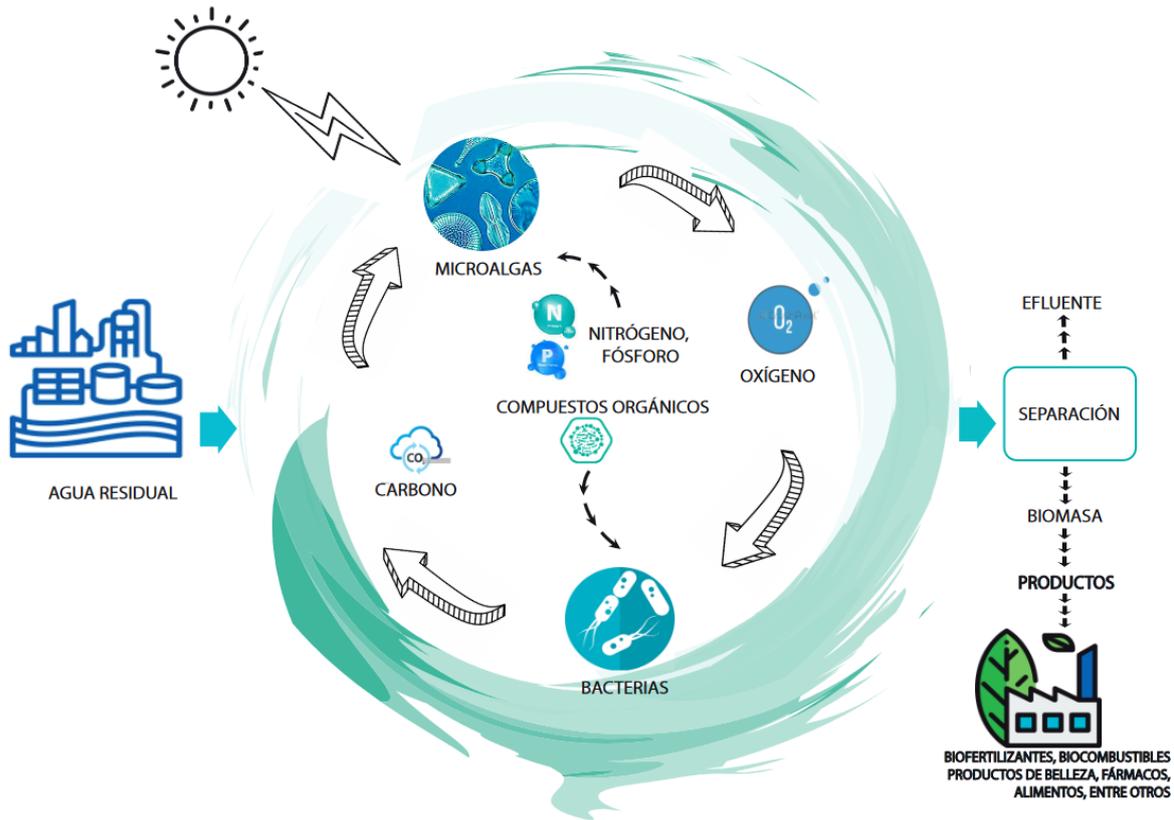


Figura 1: Ciclo de simbiosis algas-bacterias. Fuente: Autor

El mecanismo de eliminación del nitrógeno en el tratamiento de aguas residuales con microalgas y bacterias involucra varios procesos biológicos. En primer lugar, las bacterias heterótrofas utilizan el carbono orgánico presente en las aguas residuales produciendo dióxido de carbono como subproducto, así las microalgas autótrofas lo utilizan como fuente de carbono para su crecimiento y reproducción. Por otra parte, las bacterias nitrificantes son las encargadas de convertir el amonio en nitrito y nitrato en el proceso conocido como nitrificación. De esta forma, las microalgas pueden utilizar como fuente de nutrientes el nitrato, favoreciendo su crecimiento. Además, las microalgas también pueden eliminar nitrógeno mediante la asimilación celular directa de amonio, nitratos y nitritos presentes en el agua residual o bien mediante el proceso de desnitrificación, donde se reducen los compuestos de nitrato y nitrito a nitrógeno molecular gaseoso empleando materia orgánica como donador de electrones, liberándose  $N_2$  a la atmósfera. Sin embargo, este proceso requiere condiciones anaeróbicas, por lo que es más común en sistemas de tratamiento de aguas residuales con lechos de algas o lagunas de tratamiento. La combinación de estos procesos biológicos permite la eliminación eficiente del nitrógeno en el tratamiento de aguas residuales con microalgas y bacterias. Además, la producción de oxígeno durante el proceso de fotosíntesis de las microalgas puede mejorar las condiciones de oxígeno en el agua, lo que favorece el crecimiento de las bacterias nitrificantes y la eliminación de nitrógeno (López Vazquez *et al.*, 2001; Claros Bedoya, 2012).

El mecanismo de eliminación del carbono en el tratamiento de aguas residuales con microalgas y bacterias involucra la fotosíntesis realizada por las microalgas. Durante la fotosíntesis, las microalgas absorben dióxido de carbono del agua y producen carbono orgánico y oxígeno como subproducto. Las bacterias heterótrofas, por otro lado, utilizan los compuestos orgánicos producto de la fotosíntesis como fuente de carbono y energía, lo que reduce la carga orgánica del agua y permite que las microalgas crezcan más eficientemente. En conjunto, las microalgas

y las bacterias trabajan en sinergia para eliminar el carbono de las aguas residuales. (Levasseur, Perré and Pozzobon, 2020; Filipigh, 2021).

El mecanismo de eliminación de fósforo en el tratamiento de aguas residuales con microalgas y bacterias por absorción celular directa implica que las microalgas y las bacterias pueden absorber el fósforo directamente a través de sus células. Las microalgas pueden absorber el fósforo del medio líquido a través de la membrana celular y acumularlo en su interior en forma de polifosfatos. Por otro lado, las bacterias pueden eliminar el fósforo a través de la producción de enzimas que hidrolizan los compuestos orgánicos del fósforo en solución, transformándolos en formas inorgánicas que son absorbidas por las células bacterianas. Una vez que las microalgas han acumulado el fósforo, pueden ser separadas del agua tratada y su biomasa puede ser utilizada como fertilizante agrícola o como fuente de biocombustible (López Vazquez et al., 2001).

En el tratamiento de aguas residuales con microalgas, las diferentes poblaciones bacterianas juegan un papel fundamental. Entre estas poblaciones se encuentran las bacterias nitrificantes, las cuales pueden ayudar a mantener un pH óptimo para el crecimiento de las microalgas. Las bacterias fotótrofas pueden crecer en simbiosis con las microalgas y proporcionarles nutrientes y otras sustancias beneficiosas para su crecimiento. Estas bacterias también pueden ayudar a eliminar las sustancias tóxicas del agua residual. Las bacterias sulfato-reductoras pueden reducir el sulfato en el agua residual y producir sulfuro de hidrógeno. Esto puede ayudar a eliminar los metales pesados y otros compuestos tóxicos del agua residual (Kun Li Qiang Liu; Fan Fang; Ruihuan Luo; Qian Lu; Wenguang Zhou; Shuhao Huo; Pengfei Cheng, 2019; Ortiz Ruiz, 2021). Es decir, las diferentes poblaciones bacterianas en el tratamiento de aguas residuales con microalgas de forma conjunta descomponen la materia orgánica, convierten los nutrientes en formas utilizables para las microalgas y eliminan sustancias tóxicas del agua residual.

Las microalgas son un grupo diverso de microorganismos fotosintéticos que tienen una gran variedad de aplicaciones, incluyendo el tratamiento de aguas residuales. Algunas de las cepas de microalgas más utilizadas en el tratamiento de aguas residuales se muestran en la Figura 2. La microalga *Chlorella vulgaris* tiene una alta capacidad para remover nitrógeno y fósforo, y también es una buena fuente de proteínas y lípidos. *Scenedesmus sp.* se utiliza ampliamente para el tratamiento de aguas residuales debido a su capacidad para eliminar nitrógeno y fósforo, así como otros contaminantes orgánicos. *Spirulina sp.* se utiliza para la eliminación de nitrógeno y fósforo, así como para la producción de proteínas y pigmentos. *Nannochloropsis sp.* se utiliza para la eliminación de nitrógeno y fósforo, así como para la producción de lípidos y biocombustibles. *Dunaliella sp.* se utiliza para la eliminación de nitrógeno y fósforo, así como para la producción de carotenoides. *Chlamydomonas reinhardtii* se utiliza para la eliminación de nitrógeno y fósforo, así como para la producción de hidrógeno y lípidos. Cada cepa tiene diferentes características y debe ser seleccionada en función de las condiciones ambientales y las necesidades específicas del tratamiento (Ramírez Mérida, 2020).

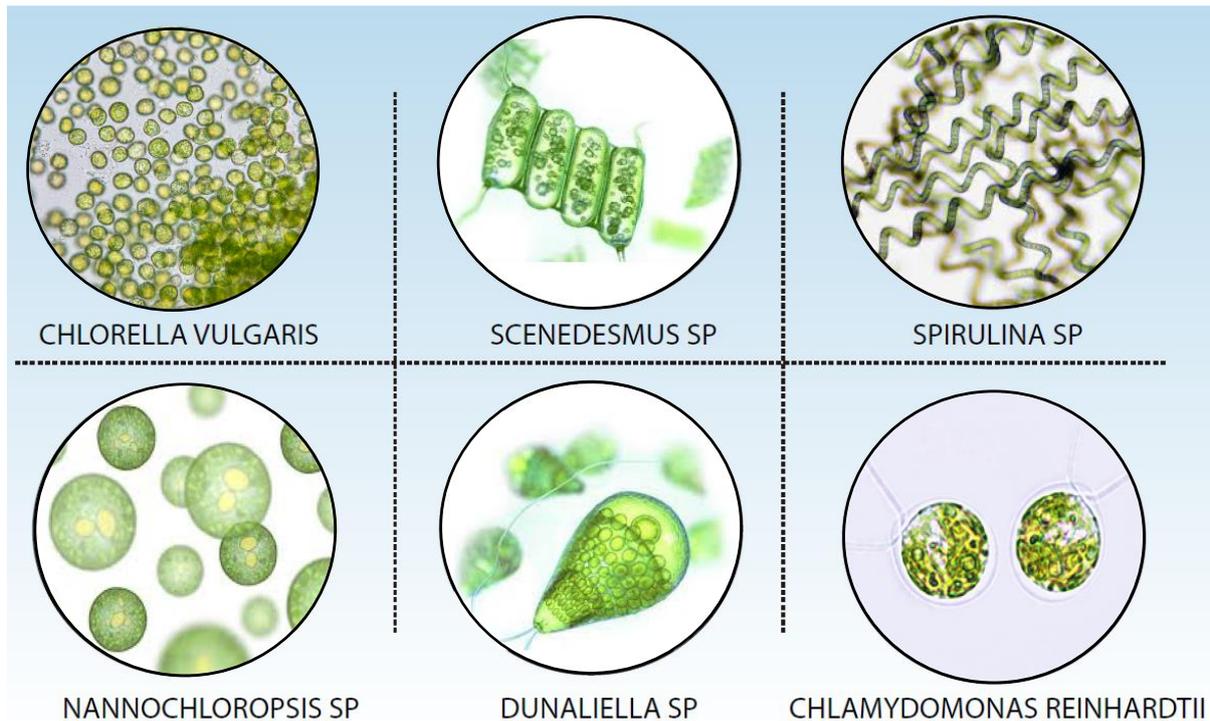


Figura 2: Microalgas más empleadas en el tratamiento de aguas residuales. Fuente: Autor

Como se ha mencionado anteriormente, el objetivo que se persigue con el empleo de microalgas en el tratamiento de aguas residuales es la eliminación de materia orgánica y nutrientes. El rendimiento de eliminación es el indicador de un óptimo o deficiente funcionamiento del proceso. Las eficiencias de eliminación de nitrógeno, carbono y fósforo del agua residual utilizando microalgas y bacterias pueden variar según diversos factores, como la configuración de fotobiorreactor, las especies de microalgas y bacterias utilizadas y los parámetros de operación. Por tanto, se han tomado como referencia valores obtenidos en otros estudios.

Las eficiencias de eliminación de nitrógeno utilizando microalgas y bacterias pueden variar ampliamente. Algunos estudios han reportado eficiencias de eliminación de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) superiores al 90% utilizando sistemas de cultivo mixto de microalgas y bacterias en sistemas de cultivos abiertos (HRAP). Por otro lado, la desnitrificación realizada por bacterias desnitrificantes puede lograr eficiencias de eliminación de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) superiores al 90% en sistemas de cultivos cerrados (Hernández-Pérez and Labbé, 2014; Montero Marqués, 2019; Prieto Márquez, 2020). Las bacterias nitrificantes son especialmente eficientes en la eliminación de amonio. Algunos estudios han demostrado eficiencias de eliminación de amonio superiores al 90% utilizando cultivos mixtos de microalgas y bacterias en sistemas de cultivos cerrados (Hernández-Pérez and Labbé, 2014).

Las eficiencias de eliminación de carbono orgánico utilizando microalgas y bacterias también pueden variar. Algunos estudios han reportado eficiencias de eliminación de materia orgánica superiores al 84% mediante sistemas combinados de microalgas y bacterias en sistemas de cultivos cerrados (Hernández-Pérez and Labbé, 2014; Tawfik *et al.*, 2022). La eliminación de fósforo utilizando microalgas y bacterias puede lograr eficiencias significativas. Se han reportado eficiencias de eliminación de fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) superiores al 80% utilizando sistemas combinados de microalgas y bacterias en sistemas de cultivos cerrados (Hernández-Pérez and Labbé, 2014; Lu *et al.*, 2018). Sin embargo, la eliminación de fósforo puede depender de la disponibilidad de este nutriente en el agua residual y la capacidad de las microalgas y bacterias para acumularlo dentro de sus células.

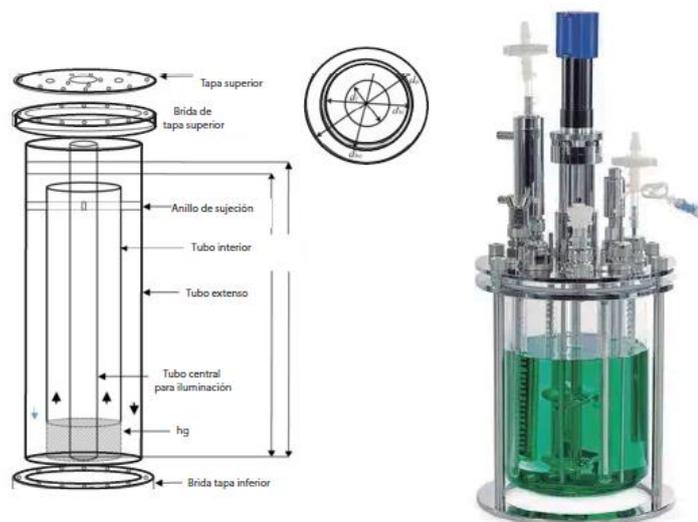
Las eficiencias de eliminación de aniones utilizando microalgas y bacterias pueden variar según el tipo de anión. Por ejemplo, la eliminación de sulfatos ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) puede ser más desafiante y las eficiencias pueden variar ampliamente. Algunos estudios han informado eficiencias de eliminación de sulfatos superiores al 50% utilizando sistemas de microalgas y bacterias (Aditya *et al.*, 2022).

Es importante destacar que las eficiencias reportadas pueden variar según los estudios y las condiciones específicas de cada sistema de tratamiento. Por lo tanto, es recomendable realizar investigaciones y pruebas piloto para evaluar la eficiencia de eliminación de contaminantes para cada tipo de agua residual y condiciones ambientales.

### 1.1.2. Fotobiorreactores para el tratamiento de aguas residuales

Los fotobiorreactores son dispositivos que utilizan la luz solar para cultivar microorganismos fotosintéticos, como microalgas o cianobacterias, y producir biomasa o compuestos de interés industrial. Existen varios tipos de fotobiorreactores, cada uno con sus propias características y ventajas que pueden ser utilizados para el cultivo de microorganismos fotosintéticos. La elección del fotobiorreactor dependerá del tipo de microorganismo, la escala de producción y el propósito de la producción.

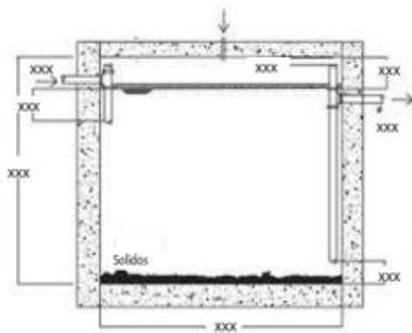
Los fotobiorreactores cerrados (Figura 3) son sistemas cerrados que permiten un control completo de las condiciones de cultivo, como la temperatura, la luz y la mezcla. Los fotobiorreactores cerrados evitan la contaminación externa, como la entrada de microorganismos no deseados, polvo o contaminantes atmosféricos. Esto ayuda a mantener la pureza del cultivo y reduce el riesgo de infecciones o competencia por nutrientes. Estos sistemas pueden ser tubulares, cilíndricos, o de placa plana, y se pueden construir con diferentes materiales, como vidrio, acrílico o acero inoxidable.



FOTOBIORREACTOR CILÍNDRICO CERRADO

Figura 3: Fotobiorreactor cilíndrico cerrado. Fuente: Autor con inspiración de (Estévez, 2021).

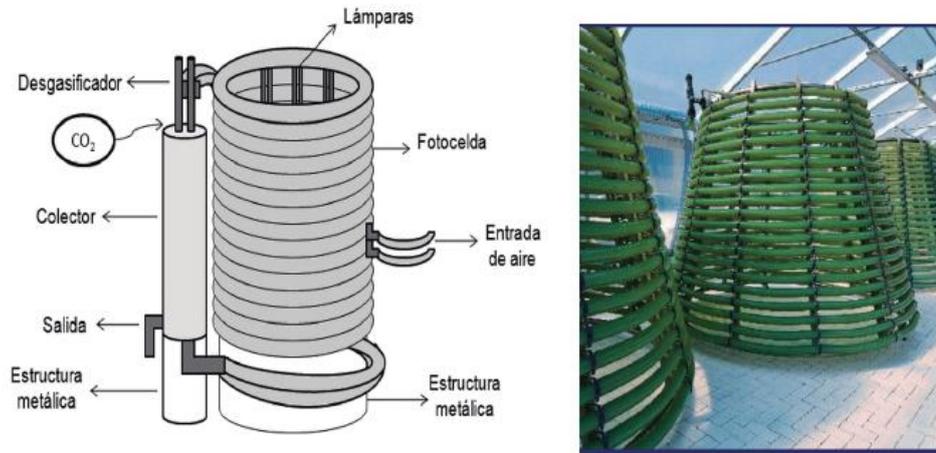
Los fotobiorreactores de placa plana (Figura 4) son dispositivos utilizados para el cultivo y la producción de microorganismos fotosintéticos, como algas y cianobacterias, en condiciones controladas. Estos dispositivos están diseñados para capturar la luz solar y proporcionar un ambiente adecuado para el crecimiento y la reproducción de los microorganismos. La estructura básica de un fotobiorreactor de placa plana consiste en una serie de paneles planos o placas apiladas verticalmente. Cada placa suele ser transparente para permitir la entrada de luz solar. Las placas están diseñadas de tal manera que proporcionan un área de crecimiento para los microorganismos y permiten un flujo adecuado de nutrientes y gases.



#### FOTOBIORREACTOR PLACA PLANA

Figura 4: Fotobiorreactor placa plana. Fuente: Autor con inspiración de (Benavente Valdés et al., 2012).

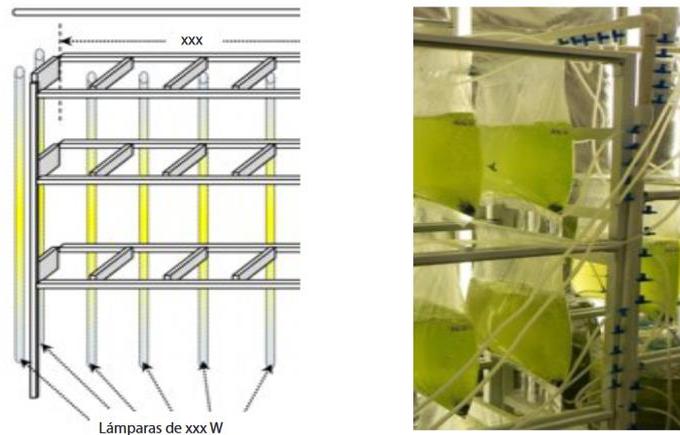
Los fotobiorreactores tubulares (Figura 5) son similares a los fotobiorreactores planos, pero con forma tubular o cilíndrica. Los fotobiorreactores tubulares constan de tubos o columnas largas y estrechas, generalmente hechas de vidrio o materiales transparentes, que contienen el medio de cultivo y los microorganismos fotosintéticos. Estos tubos están dispuestos de manera vertical u horizontal. Estos tubos están diseñados para permitir el paso de la luz necesaria para la fotosíntesis, al mismo tiempo que mantienen un ambiente controlado para el crecimiento de los microorganismos. Estos sistemas permiten un mejor control de temperatura y la mezcla, siendo adecuados para la producción algal a pequeña y mediana escala.



## FOTOBIORREACTOR TUBULAR

Figura 5: Fotobiorreactor tubular. Fuente: Autor con inspiración de (Carvajal Oses, Chacón Guzmán and Herrera Ulloa, 2018).

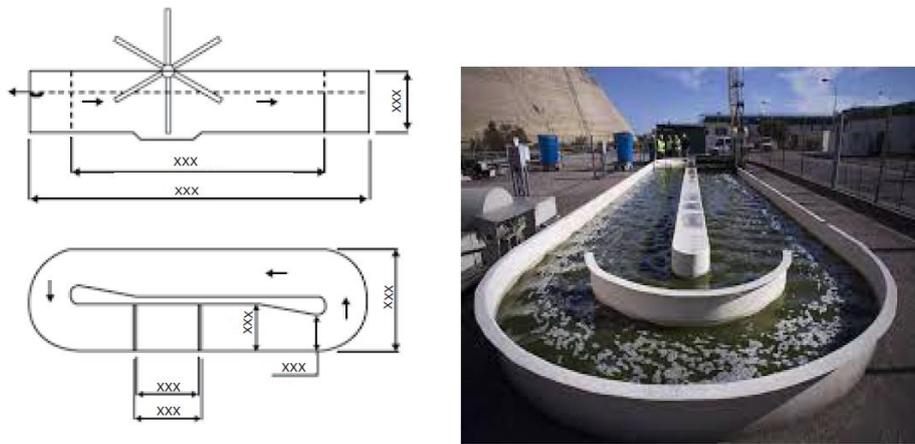
Los fotobiorreactores de bolsas (Figura 6) consisten en bolsas de plástico transparente que se llenan con agua y se cierran con una válvula de aire, las bolsas se colocan en un lugar con luz solar directa y se agitan suavemente para evitar el crecimiento de biofilm. Las bolsas planas de los fotobiorreactores permiten una gran superficie de exposición a la luz solar o artificial. Esto maximiza la captura de luz por parte de los microorganismos y promueve una mayor eficiencia fotosintética. Este tipo de fotobiorreactor es fácil de instalar, limpiar y cosechar, y es adecuado para la producción a pequeña y mediana escala.



## FOTOBIORREACTOR DE BOLSA

Figura 6: Fotobiorreactor de bolsa. Fuente: Autor con inspiración de (Cruz et al., 2015).

Los fotobiorreactores HRAPs (*High-Rate Algae Ponds*) son sistemas de cultivo de microalgas diseñados para maximizar la producción de biomasa en un espacio reducido y controlado. Los HRAPs tipo *raceway* (Figura 7) son generalmente estanques poco profundos en general excavados en la tierra y recubiertos de plástico o bien implementados en lagunas naturales, con sistemas de circulación de agua y mezcla para asegurar una distribución uniforme de las microalgas y maximizar la exposición a la luz solar. El diseño del fotobiorreactor puede variar, pero suele incluir dispositivos de agitación o sistemas de aireación para facilitar la transferencia de oxígeno y mejorar la eficiencia de crecimiento de las microalgas. Este tipo de fotobiorreactor es adecuado para la producción a gran escala y la cosecha de microalgas. Estos sistemas aprovechan la capacidad de las microalgas para capturar y metabolizar nutrientes, como nitrógeno y fósforo, presentes en las aguas residuales. A medida que las microalgas crecen, consumen estos nutrientes y producen biomasa rica en proteínas, lípidos y carbohidratos. Esta biomasa resultante puede ser posteriormente utilizada con diversos fines, como la producción de biocombustibles, piensos para animales o productos de valor añadido (Hernández-Pérez and Labbé, 2014; Roldán Martínez *et al.*, 2019; Arribas Jimeno and Muñoz Torre, 2020).



## FOTOBIORREACTOR HRAPs

Figura 7: Fotobiorreactor HRAPs. Fuente: Autor con inspiración de (Haro and Perales, 2015; Domínguez Gómez, 2018).

### 1.1.3. Influencia de las condiciones medioambientales y de operación en el tratamiento de aguas residuales con microalgas

El tratamiento de aguas residuales con microalgas es un proceso biológico complejo que está influenciado por una serie de factores ambientales y de operación. Algunas de las condiciones más importantes que influyen en la eficiencia de eliminación de contaminantes en el tratamiento de aguas residuales con microalgas son las concentraciones de los nutrientes, debido a que las microalgas requieren una fuente adecuada de nutrientes para crecer y eliminar contaminantes. Otro factor importante es la luz, debido a que las microalgas son organismos fotosintéticos que requieren una fuente adecuada de luz para crecer y eliminar contaminantes. La intensidad, la duración y la calidad de la luz son factores críticos que afectan la eficiencia de eliminación de contaminantes. La temperatura es otro factor importante que influye en la eficiencia del tratamiento con microalgas debido a que cada cepa de microalga tiene una temperatura óptima

de crecimiento y eliminación de contaminantes, y es necesario mantener la temperatura dentro de un rango adecuado para maximizar la eficiencia del proceso.

El pH es un factor crítico que afecta el crecimiento y la actividad de las microalgas. Cada cepa de microalga tiene un rango de pH óptimo, y es necesario mantener el pH dentro de este rango para maximizar la eficiencia del proceso. La concentración de biomasa de microalgas en el fotobiorreactor es otro factor crítico que afecta la eficiencia del proceso. Una alta concentración de biomasa puede afectar la penetración de luz y limitar el crecimiento de las microalgas, mientras que una baja concentración puede limitar la eficiencia de eliminación de contaminantes. La velocidad de agitación es importante para mantener las microalgas en suspensión y asegurar una distribución uniforme de nutrientes y luz. Una velocidad de agitación demasiado alta puede dañar las microalgas y disminuir la eficiencia del proceso, mientras que una velocidad demasiado baja puede limitar la transferencia de nutrientes y oxígeno a las microalgas (Hernández-Pérez and Labbé, 2014; Jácome-Pilco *et al.*, 2021).

El TRH (Tiempo de Retención Hidráulico) es un parámetro importante en el tratamiento de aguas residuales con microalgas. El TRH se refiere al tiempo que el agua residual pasa en el sistema de tratamiento, y su influencia en el crecimiento y eliminación de contaminantes por las microalgas es significativa. En el caso del tratamiento de aguas residuales con microalgas, el TRH adecuado puede promover el crecimiento óptimo de las microalgas y la remoción eficiente de contaminantes. Durante el TRH, las microalgas utilizan los nutrientes presentes en el agua residual como fuente de alimentación y, a su vez, realizan la fotosíntesis para producir oxígeno y biomasa. Esto conduce a la eliminación de nutrientes como nitrógeno y fósforo, así como a la reducción de la carga orgánica. En general, un TRH más largo permite un mayor crecimiento de las microalgas y, por lo tanto, una mayor capacidad de eliminación de nutrientes y materia orgánica. Sin embargo, un TRH demasiado largo puede causar la sobreacumulación de biomasa de microalgas y limitar la eficiencia del sistema. Además, un TRH corto puede no permitir un crecimiento adecuado de las microalgas y resultar en una eliminación incompleta de los contaminantes. Es importante tener en cuenta que el TRH óptimo puede variar según el tipo de microalga utilizada, las características del agua residual, las condiciones ambientales y el tipo de biorreactor utilizado. Por lo tanto, es necesario realizar estudios y pruebas piloto para determinar el TRH adecuado en cada caso específico (Jácome-Pilco *et al.*, 2021).

En resumen, el tratamiento de aguas residuales con microalgas es un proceso complejo que está influenciado por una serie de factores ambientales y de operación. Es importante controlar cuidadosamente estas condiciones para maximizar la eficiencia del proceso y asegurar una eliminación efectiva de contaminantes.

## 2. OBJETIVOS

El presente trabajo tiene como objetivo general evaluar el rendimiento de sistemas de microalgas y bacterias para el tratamiento de aguas residuales domésticas en una instalación de dos fotobiorreactores aerobios con iluminación LED, agitación constante y control de temperatura. Este objetivo general persigue los siguientes objetivos específicos:

- Evaluar las eficiencias de eliminación de carbono, nitrógeno, fosfatos y sulfatos mediante la realización de los procedimientos analíticos apropiados para cada parámetro en el agua residual de entrada y en el efluente de ambos fotobiorreactores a diferentes tiempos de residencia hidráulicos.
- Evaluar la reproducibilidad de resultados en estos sistemas biológicos mediante la monitorización de diferentes parámetros en dos fotobiorreactores idénticos, inoculados con el mismo medio de cultivo y bajo las mismas condiciones de operación.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se desarrolló en el Instituto de Procesos Sostenible (ISP) de la Universidad de Valladolid en la provincia de Valladolid, España durante un período de 80 días, con el fin de analizar el rendimiento de fotobiorreactores para el tratamiento de aguas residuales domésticas. En el estudio se llevó a cabo el seguimiento del tratamiento biológico de agua residual doméstica sintética mediante un consorcio de microalgas y bacterias a escala piloto.

#### 3.1. Descripción de la planta piloto. Condiciones de operación y del medio de cultivo

La planta piloto (Anexo 2) consiste en un proceso de microalgas y bacterias en dos fotobiorreactores aerobios, que operan de forma individual. Los fotobiorreactores son tanques idénticos de plástico PVC (policloruro de vinilo) de 3.85 L con un volumen de trabajo total de 3.2 L. Los fotobiorreactores se iluminan mediante un arreglo de tiras de luces LED (Philips 150 W-0.7 A, España) colocadas a 0,44 m sobre la superficie de los fotobiorreactores. La iluminación emula el ciclo de luz solar, con una intensidad máxima de  $1495 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$  sobre la superficie de los fotobiorreactores. Los dos fotobiorreactores se mantienen agitados de forma constante con placas de agitación magnética (LBX instruments S20, España). Para garantizar un rango de valores de temperatura apropiado para el crecimiento de las microalgas, se utiliza un sistema de enfriamiento mediante mangueras alrededor de los fotobiorreactores, por las cuales circula agua a 22 °C procedente de un baño térmico (Fisher Scientific, España). En la figura 8 se representa un esquemático de la planta piloto.

Los reactores se inocularon con un consorcio de microalgas y bacterias procedente de las instalaciones de tratamiento fotosintético de agua residual de Almería, con una concentración inicial de biomasa del inóculo de  $1.10 \text{ g L}^{-1}$  de SST. Las cepas de microalgas presentes en el inóculo eran las de *Dictyosphaerium sp.*, *Scenedesmus sp.*, *Nitzschia sp.* y *Pseudanabaena sp.*, predominando la *Dictyosphaerium sp.*

Ambos reactores se alimentan con agua residual sintética, la cual se mantiene a una temperatura constante de 4 °C antes de su alimentación para evitar su degradación. El agua residual se alimenta a los reactores utilizando bombas peristálticas de caudal HYGIAFLEX HF-SK-HandyPump.

La temperatura y el pH del medio de cultivo se mantuvieron entre los 24-27 °C y 8-9.8, respectivamente, durante todo el proceso de experimentación.

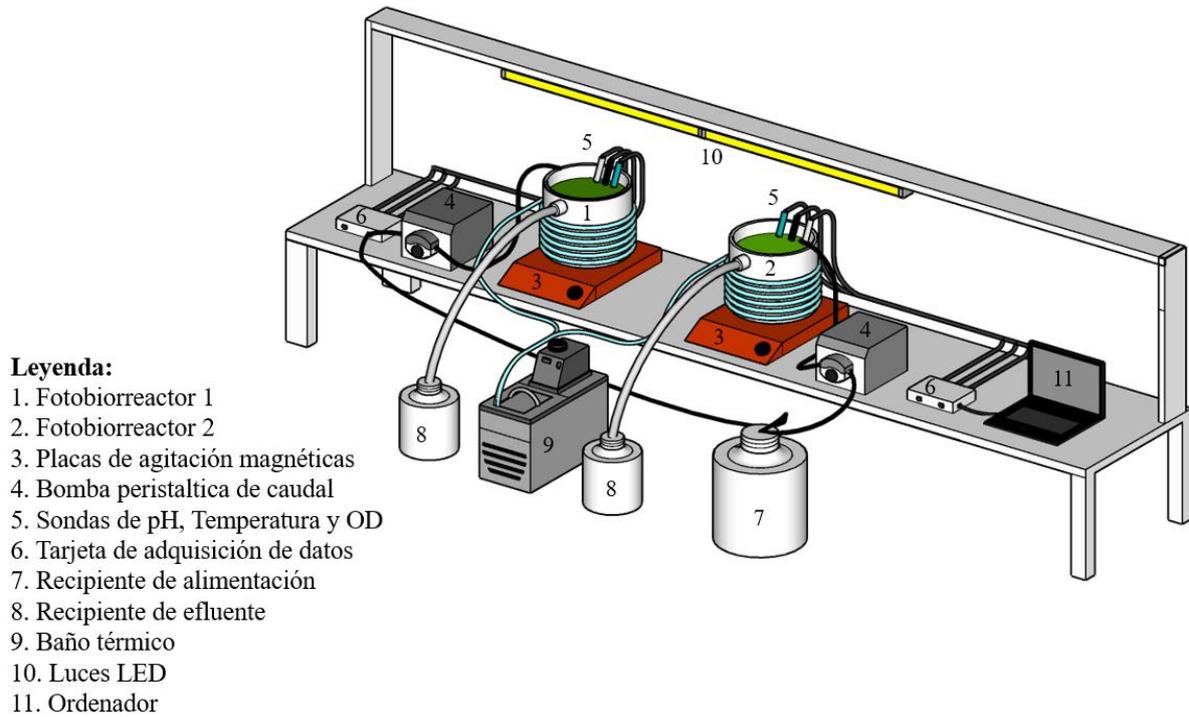


Figura 8: Planta piloto. Fuente: Autor

Para tener condiciones de operación controladas, se preparó agua residual sintética (ARS), simulando las características fisicoquímicas y la composición del agua residual urbana de carga media. La composición del agua residual utilizada se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1: Composición del ARS

Compuesto	Concentración	Unidad de medida
Glucosa	625	mg/L
Extracto de carne	137.5	mg/L
Peptona de caseína	200	mg/L
NHCO <sub>3</sub>	1375	mg/L
NaCl	8.75	mg/L
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	5	mg/L
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	2.5	mg/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	140	mg/L
CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O (urea)	37.5	mg/L
CuCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.625	mg/L

El uso de agua residual sintética en experimentos y pruebas de laboratorio ofrece ventajas como controlar las características y composición del agua, facilitar comparaciones y evaluaciones de tecnologías de tratamiento, eliminar riesgos de contaminantes peligrosos y reducir costos en el

tratamiento y manejo del agua real. Además, permite simular diversos escenarios y condiciones para evaluar con mayor precisión el rendimiento de las tecnologías de tratamiento. En experimentos a escala de laboratorio, utilizar agua residual real puede resultar complicado debido a las variaciones que pueden afectar al cultivo de microalgas u otros organismos utilizados, y a la presencia de microorganismos patógenos (SARS-Cov2). Las aguas residuales reales pueden tener fluctuaciones en su composición, contenido de nutrientes y presencia de contaminantes, lo que dificulta la reproducibilidad y comparación de resultados. En cambio, el uso de agua residual sintética, con una composición controlada y predecible, permite establecer condiciones experimentales estables y reproducibles, lo que facilita la investigación y evaluación de diferentes tecnologías de tratamiento de manera más precisa. La variabilidad puede tener un impacto negativo en las plantas piloto de baja capacidad, lo cual puede dar lugar a resultados desfavorables.

### 3.2. Instrumentación y sistema de adquisición de datos

En el sistema experimental se utiliza una instrumentación compuesta por tres sondas en cada reactor. Estas sondas se utilizaron para recopilar datos de oxígeno disuelto, pH y temperatura (Figura 9). Las sondas se ubican estratégicamente en cada reactor para obtener mediciones representativas de las condiciones dentro de los mismos. Cada sonda se conecta a una tarjeta de adquisición de datos, que actúa como un intermediario entre las sondas y el ordenador.

La tarjeta de adquisición de datos se conecta al ordenador mediante una conexión USB. Esta conexión permite la transferencia de datos desde las sondas al ordenador en tiempo real. La tarjeta de adquisición de datos tiene la capacidad de capturar los datos recopilados por las sondas mediante un SCADA (*Supervisory Control And Data Acquisition*, Control Supervisor y Adquisición de Datos) desarrollado en el software LabView 2021 (*National Instruments, NI*). El ordenador se encarga de recibir los datos de la tarjeta de adquisición de datos y almacenarlos en el disco duro. El SCADA está configurado para guardar la información recopilada cada minuto, lo que significa que se almacenan los datos periódicamente a lo largo del experimento.

Desde el SCADA, además, se controla el flujo de alimentación de agua residual sintética a ambos fotobiorreactores mediante las bombas (Figura 9). Esto asegura que se proporcione la cantidad adecuada de agua residual sintética a cada uno de ellos, para los valores de tiempo de Retención Hidráulico (TRH) deseados, en este caso para un TRH = 7 días (flujo de 0.317 mL/min) y para un TRH = 5 días (flujo de 0.444 mL/min).

Los fotobiorreactores se iluminan con paneles LED (Figura 10), la radiación proporcionada por estos paneles en cada momento del día emula el ciclo de luz solar. Un controlador Arduino Leonardo se encarga de enviar a los paneles LED los valores de voltaje equivalentes a los valores de radiación para las diferentes horas del día. El ciclo de luz solar programado en el Arduino se corresponde con las condiciones de radiación de verano en Castilla y León. Los paneles LED aseguran una iluminación adecuada para promover el crecimiento y desarrollo óptimo de los organismos, mejorando así la eficiencia de eliminación de diferentes compuestos en los fotobiorreactores.

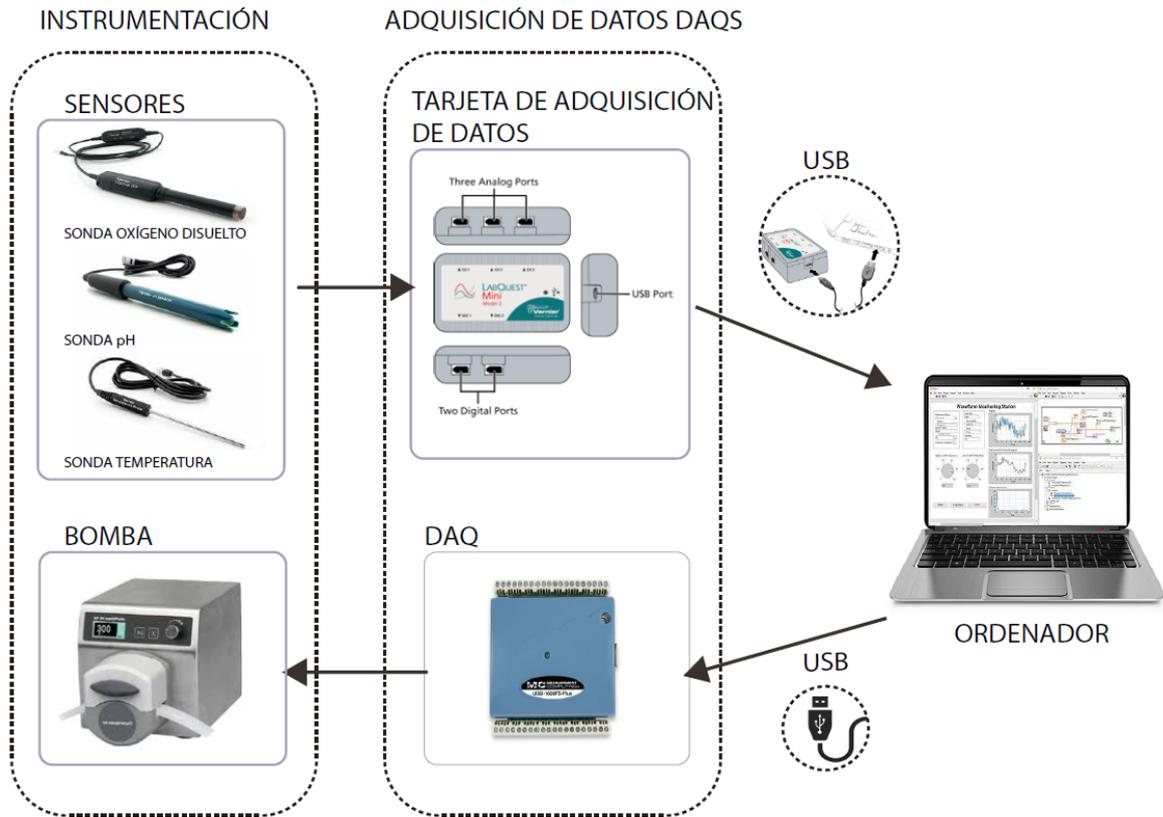


Figura 9: Instrumentación utilizada. Fuente: Autor

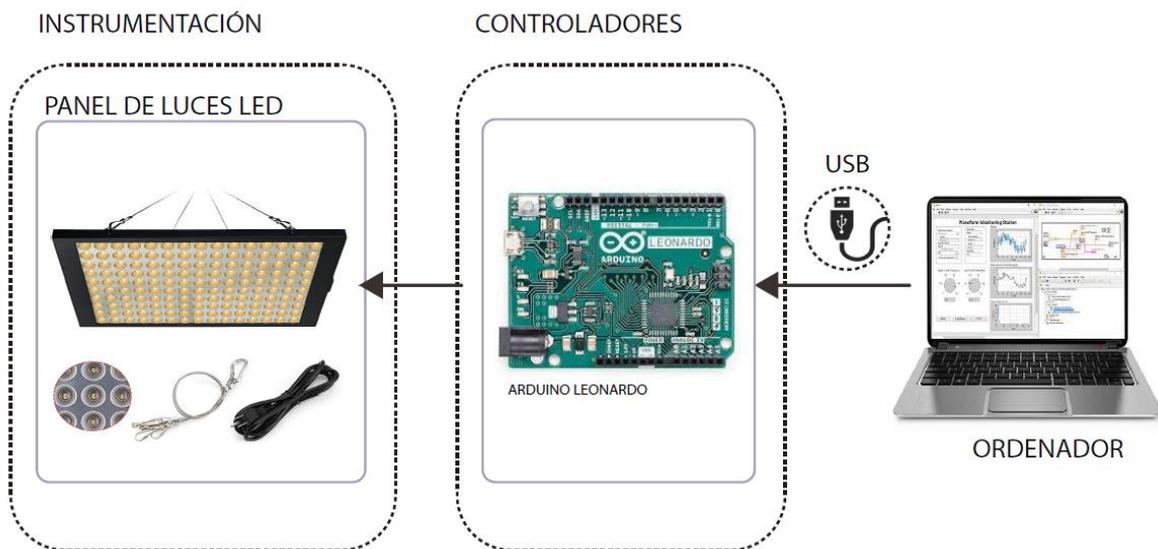


Figura 10: Instrumentación de luces. Fuente: Autor

### 3.3. Toma de muestras y análisis fisicoquímicos

Para tener un adecuado seguimiento del proceso, se llevaron a cabo evaluaciones de las características en el agua tanto en el influente (entrada) como en el efluente final (salida), analizando las concentraciones de varios parámetros, incluyendo el Carbono Total (TC), Carbono Inorgánico (IC), Carbono Orgánico Total (TOC), Nitrógeno Total soluble (TN), amonio ( $NH_4^+$ ), nitritos ( $NO_2^-$ ), nitratos ( $NO_3^-$ ), fosfatos ( $PO_4^{3-}$ ) y sulfatos ( $SO_4^{2-}$ ).

Además, se tomaron muestras del efluente final (salida) para medir los sólidos suspendidos volátiles (SSV) y los sólidos suspendidos totales (SST).

Para medir el oxígeno disuelto (OD), el pH y la temperatura en los fotobiorreactores, se utilizaron sondas Vernier Optical DO Probe, Vernier pH Sensor y Vernier Stainless Steel Temperature Probe, respectivamente. Los datos se registraron mediante tarjetas de adquisición de datos LABQUEST MINI (Model 2 Vernier®, Japón).

La Tabla 2 muestra los puntos de muestreo de todo el sistema para los diferentes parámetros fisicoquímicos y la frecuencia de medición.

Tabla 2: Puntos de muestreo y frecuencia de muestreo en la instalación

Parámetros	Puntos de muestreo		Frecuencia de toma de muestras		
	Influente	Efluente	1 min	Diario	Tres veces por semana
Caudal	X	X		X	
OD		X	X		
pH		X	X		
Temperatura		X	X		
SST	X	X			X
SSV	X	X			X
TOC	X	X			X
TC	X	X			X
IC	X	X			X
TN	X	X			X
$NH_4^+$	X	X			X
$NO_2^-$	X	X			X
$NO_3^-$	X	X			X
$PO_4^{3-}$	X	X			X
$SO_4^{2-}$	X	X			X

El muestreo y el análisis físico y químico de las aguas son componentes importantes del monitoreo y control de aguas residuales. El muestreo en línea, es decir, el muestreo directo del

caldo de cultivo de los fotobiorreactores en tiempo real tiene muchas ventajas. El muestreo en línea proporciona una comprensión más precisa del estado del agua en el sistema bajo estudio. Las propiedades físicas del agua, como la temperatura, el pH y el oxígeno disuelto cambian rápidamente a lo largo del día. Al tomar muestras online, se captura esa variabilidad y se obtiene una muestra más representativa de la calidad del agua en cada momento específico. Al obtener muestras online, es posible detectar cambios en la calidad del agua de manera casi instantánea. Esto es especialmente útil en situaciones en las que se requiere una respuesta rápida, como la detección de contaminantes o alteraciones en la calidad del agua potable. Si se dependiera únicamente de muestras tomadas de forma discontinua, los cambios rápidos y transitorios podrían no registrarse y usarse como variables de decisión.

Esto es particularmente valioso en sistemas críticos, como plantas de tratamiento de agua potable o instalaciones industriales que generan aguas residuales. El monitoreo continuo brinda la oportunidad de identificar tendencias, cambios estacionales o fluctuaciones diarias en los parámetros fisicoquímicos, lo que puede ayudar a optimizar los procesos de tratamiento y mantener la calidad del agua dentro de los límites establecidos. Además, al contar con un monitoreo continuo y en tiempo real, es posible identificar rápidamente problemas o desviaciones en la calidad del agua y tomar acciones correctivas de manera oportuna.

A pesar de las ventajas de las medidas on-line, en la actualidad persisten algunos problemas relacionados con el costo y la fiabilidad de los sensores utilizados para medir variables como la concentración de biomasa y el carbono orgánico disuelto, por lo cual se hace necesario la realización de analíticas de laboratorio para obtener medidas más fiables de las variables de interés en los fotobiorreactores.

En resumen, la toma de muestras online y el análisis fisicoquímico de las aguas residuales brutas y del caldo de cultivo de los fotobiorreactores brindan una visión más precisa y actualizada de la calidad del agua en sistemas de abastecimiento y tratamiento. Esto resulta beneficioso tanto en términos de seguridad del agua potable como en la eficiencia y optimización de los procesos de tratamiento de aguas residuales. Sin embargo, las medidas on-line presentan el problema de ser costosas y poco precisas en la medida de algunas variables como la concentración de biomasa.

### 3.4. Procedimientos analíticos

El seguimiento analítico del funcionamiento del sistema a escala piloto se realizó tomando tres muestras de cada fotobiorreactor (salida) y tres muestras del ARS (entrada) por semana durante 12 semanas.

#### **Sólidos suspendidos totales y sólidos suspendidos volátiles**

Se empleó la metodología propuesta por APHA-AWWA-WPCF para realizar el análisis de los sólidos suspendidos totales (SST) y los sólidos suspendidos volátiles (SSV) (Valladolid, 2014). Para llevar a cabo este procedimiento, se tomó una muestra de cada fotobiorreactor en agitación y se filtró en vacío por filtros de 0,7  $\mu\text{m}$ . Luego, se colocaron los filtros a 105 °C en estufa por 24 horas para obtener los sólidos suspendidos totales. Después se colocó el filtro en la mufla a 550 °C por 24 horas para obtener los sólidos suspendidos volátiles.

Se pudo calcular el contenido de SST y SSV utilizando las expresiones (1) y (2)

$$SST = (PF1 - PF0) * V * 1000 \quad (1)$$

$$SSV = (PF2 - PF1) * V * 1000 \quad (2)$$

Donde:

PF0: Masa del filtro limpio (g)

PF1: Masa del filtro después de la estufa (g)

PF2: Masa del filtro después de la mufla (g)

V: Volumen de la muestra (L)

### **Carbono Orgánico Total y Nitrógeno Total**

El ensayo para determinar la concentración de TOC y TN se llevó a cabo utilizando patrones de TC, IC y TN. Primeramente, las muestras de influente y efluente se filtraron utilizando filtros de 0,7  $\mu\text{m}$  para así preparar diluciones de las muestras con agua milli-Q y poder ser analizadas utilizando el equipo TOC-L SHIMADZU *Total Organic Carbon Analyzer*. En el análisis se midió tanto el TN, como el TC y el IC, de esta forma se puede obtener el TOC el cual representa la cantidad de carbono orgánico y se da por la diferencia del TC y el IC.

### **Nitritos, Nitratos, Fosfato y Sulfatos**

La concentración de aniones,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{SO}_4^{2-}$ , se midió por cromatografía líquida (HPLC-IC) para los puntos de influente y efluente posterior a la filtración de las muestras homogenizadas utilizadas para el TOC y TN se filtraron con un filtro de 0,22  $\mu\text{m}$ .

### **Amonio**

Inicialmente, se procedió a cuantificar la concentración de amonio mediante la construcción de una curva de calibración. Para esto, se prepararon varias disoluciones patrón con concentraciones conocidas de 1, 2, 3, 4 y 5 ppm. Estas disoluciones se obtuvieron a partir de una disolución madre de cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) con una concentración de 100 ppm. A cada una de las disoluciones patrón se les agregaron 12  $\mu\text{L}$  del reactivo EDTA ( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ), seguido de una agitación en vórtex y se esperó durante tres minutos. Después de este tiempo, se añadieron 400  $\mu\text{L}$  del reactivo NESSLER, se agitaron nuevamente en vórtex y se esperó durante diez minutos. Luego, se analizaron las muestras en el espectrofotómetro Spectrostra Nano utilizando una longitud de onda de 425 nm. Se observó una relación lineal de aproximadamente el 99,96 % entre la concentración de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y la absorbancia medida. Para calcular la concentración de  $\text{NH}_4^+$  en las muestras evaluadas, se utilizó la ecuación de la recta obtenida, aplicando la ecuación de la recta  $y=m*x+n$ . La recta de calibración obtenida se detalla en el Anexo 1.

El ensayo de determinación de  $\text{NH}_4^+$  se llevó a cabo por espectrofotometría. Para poder analizar las mediciones en el rango de absorbancia apropiado, se realizaron diferentes diluciones para el influente y para el efluente a los cuales se les añadieron dos o tres gotas de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) para fijar el amonio.

Para llevar a cabo el procedimiento, se tomaron 10 mL de la muestra diluida correspondiente y se colocaron en tubos de ensayo. Posteriormente, se agregaron 12  $\mu\text{L}$  del reactivo EDTA ( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ) y se agitaron en vórtex durante tres minutos. Pasado este tiempo, se añadieron 400  $\mu\text{L}$  del reactivo NESSLER y se volvieron a agitar en vórtex y después de esperar diez minutos las muestras se analizaron en el espectrofotómetro UV-VIS Spectrophotometer SHIMADZU utilizando una longitud de onda de 425 nm. El método se basa en la reacción del  $\text{NH}_4^+$  disuelto con el reactivo NESSLER alcalino, lo que eleva el pH del medio y produce la formación de amonio. Durante esta reacción, se observa una progresiva coloración que va desde el amarillo hasta el pardo, en proporción a la concentración de amonio presente en la muestra.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el desarrollo de esta investigación, se llevaron a cabo análisis en dos etapas con distintos tiempos de retención hidráulica (TRH) para evaluar la eficiencia de eliminación de carbono y nutrientes en cada una de ellas, con el propósito de obtener resultados sobre la eliminación de contaminantes en ambos fotobiorreactores.

En cada una de las etapas de experimentación, se realizaron procedimientos analíticos para recopilar datos relevantes y de esta forma, evaluar las eficiencias de eliminación de contaminantes en los fotobiorreactores. Además, se midieron periódicamente el pH, el oxígeno disuelto y la temperatura, los cuales se tienen un valor añadido más allá de su evaluación, ya que también pueden ser utilizados con otros propósitos adicionales. Por ejemplo, estos datos pueden ser empleados en la creación y desarrollo de modelos matemáticos, los cuales permiten obtener un mayor conocimiento de la dinámica del sistema y facilitan su optimización en futuros experimentos.

Durante las dos etapas del análisis, se realizó un seguimiento de la evolución del medio de cultivo utilizando el microscopio para examinar la composición de las microalgas y bacterias presentes (Figura 11). Esta técnica permitió observar en detalle la estructura y características de estos organismos, proporcionando información importante sobre su abundancia y diversidad en el sistema. El análisis microscópico reveló la presencia de diferentes especies de microalgas y bacterias, lo cual es relevante para comprender la dinámica de la comunidad biológica en el fotobiorreactor.

Durante las dos etapas del análisis, se realizaron mediciones de los valores de SST, SSV, TOC, IC, así como de TN, amonio, fosfato y sulfato. Estas mediciones resultaron fundamentales para evaluar la eliminación de carbono y nutrientes presentes en el agua residual. Los valores de SST y SSV permitieron evaluar la presencia de sólidos suspendidos, mientras que el TOC e IC indicaron el contenido de carbono orgánico e inorgánico. Asimismo, las mediciones de TN, amonio, fosfato y sulfato fueron esenciales para monitorear la concentración de nutrientes. Estos análisis integrales permitieron un seguimiento eficiente del tratamiento.

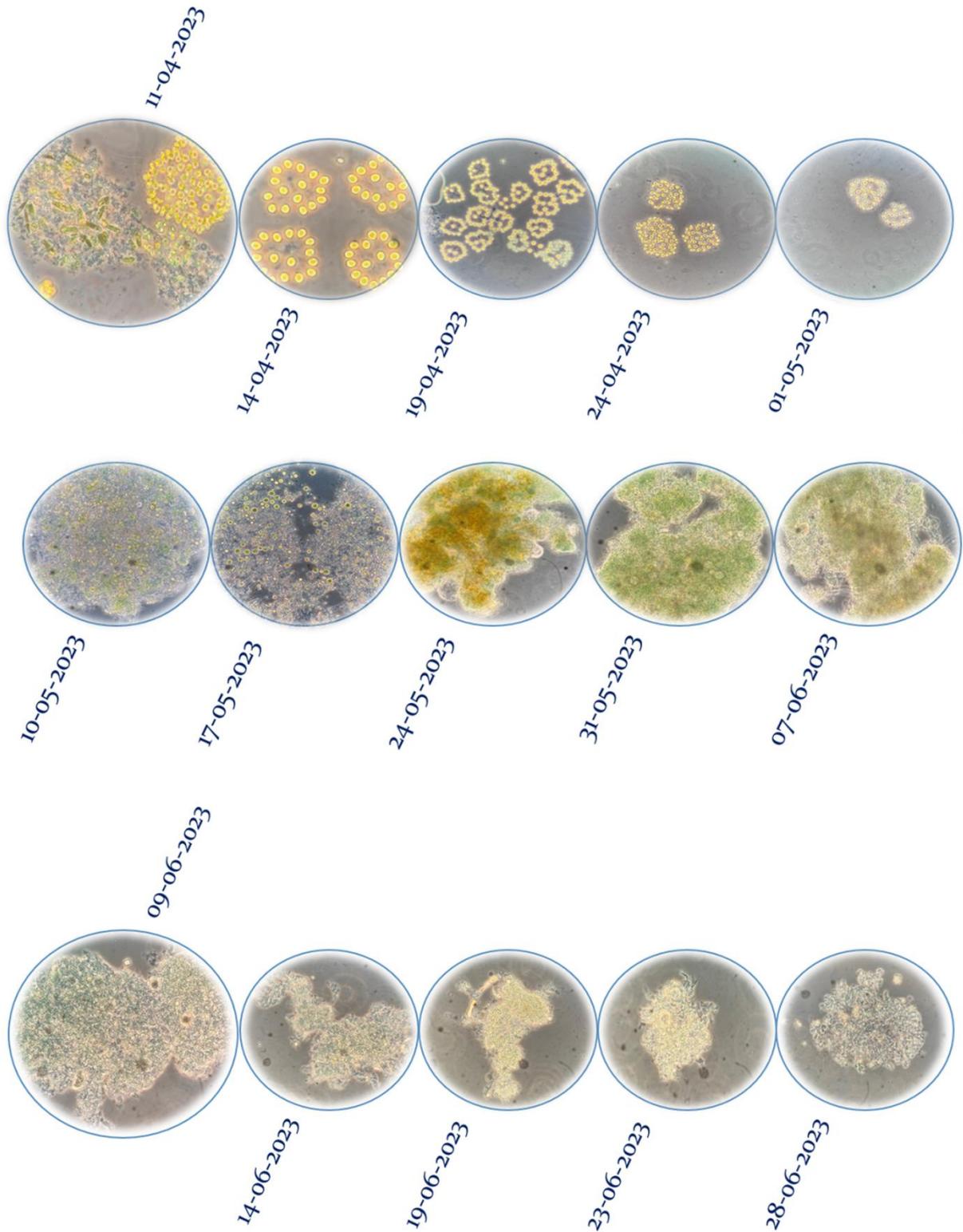


Figura 11: Evolución de las poblaciones de microalgas y bacterias en la instalación

#### 4.1. Evolución de la concentración de biomasa en el sistema

El análisis de los sólidos suspendidos totales y volátiles en un fotobiorreactor que contiene microalgas y bacterias es de suma importancia para comprender el crecimiento y el comportamiento de las microalgas, así como para evaluar la eficiencia del sistema en términos de producción de biomasa.

Los sólidos suspendidos totales se refieren a la cantidad total de material sólido presente en el sistema, incluyendo las microalgas y bacterias, y otras partículas orgánicas e inorgánicas en el caldo de cultivo. Por otro lado, los sólidos suspendidos volátiles se refieren a la fracción de los sólidos suspendidos totales que es volátil a 550 °C. La medición de los sólidos suspendidos volátiles es importante para determinar la proporción de material orgánico presente en el sistema, lo cual puede ser útil para evaluar la composición y calidad de la biomasa de las microalgas.

En la figura 12 se representan los sólidos suspendidos totales y volátiles de ambos fotobiorreactores durante los 80 días de experimentación. Se puede apreciar claramente una marcada disminución en la cantidad de biomasa en ambos fotobiorreactores durante la fase inicial del experimento. Durante los primeros 20 días de experimentación, se observa un decrecimiento continuo en la cantidad de biomasa en el sistema. Durante este período, la concentración de sólidos suspendidos totales y volátiles se redujo prácticamente a la mitad respecto a la concentración inicial del inóculo. Esta reducción en la concentración de biomasa puede ser atribuida al proceso de adaptación que las microalgas experimentaron al ser introducidas en el nuevo sistema debido a la procedencia de estas, ya que las microalgas utilizadas inicialmente fueron extraídas de una EDAR donde se utilizaban las microalgas y se encontraban perfectamente adaptadas a las condiciones específicas del agua residual, incluyendo factores como la temperatura y otras condiciones ambientales. Para garantizar un adecuado desarrollo y rendimiento de las microalgas en el nuevo entorno experimental, era necesario someterlas a un proceso de adaptación. Esto aseguraba que las microalgas se aclimataran correctamente, garantizando la obtención de resultados confiables y representativos.

A partir del día 20 de operación, se observa una estabilidad en la concentración de sólidos, lo cual sugiere que la producción de biomasa se mantuvo estable. A partir del día 30, se observó un aumento en la biomasa de ambos fotobiorreactores. Esto indica que las microalgas finalmente se adaptaron a las nuevas condiciones de trabajo presentes en los fotobiorreactores. Con el tiempo, la biomasa alcanzó un estado estacionario, lo que sugiere un equilibrio en la producción y el crecimiento de las microalgas dentro del sistema. El establecimiento de un estado estacionario en la biomasa es importante para garantizar una producción sostenible y estable en los fotobiorreactores. Esto implica que las microalgas han encontrado un equilibrio entre su tasa de crecimiento y la tasa de pérdida o remoción de biomasa en el sistema por lavado en el efluente.

La disminución de biomasa observada en la segunda etapa de experimentación se debió a la adaptación al nuevo TRH. Cuando las condiciones ambientales cambian, como en este caso al cambiar el TRH, los organismos en los fotobiorreactores necesitan tiempo para adaptarse a las nuevas condiciones. Es importante tener en cuenta que la disminución de biomasa en la segunda etapa de experimentación no necesariamente indica un efecto negativo. Puede ser parte del proceso de adaptación y ajuste de los organismos a las nuevas condiciones. Con el tiempo, es posible que la biomasa se estabilice y se restablezca un equilibrio en el sistema.

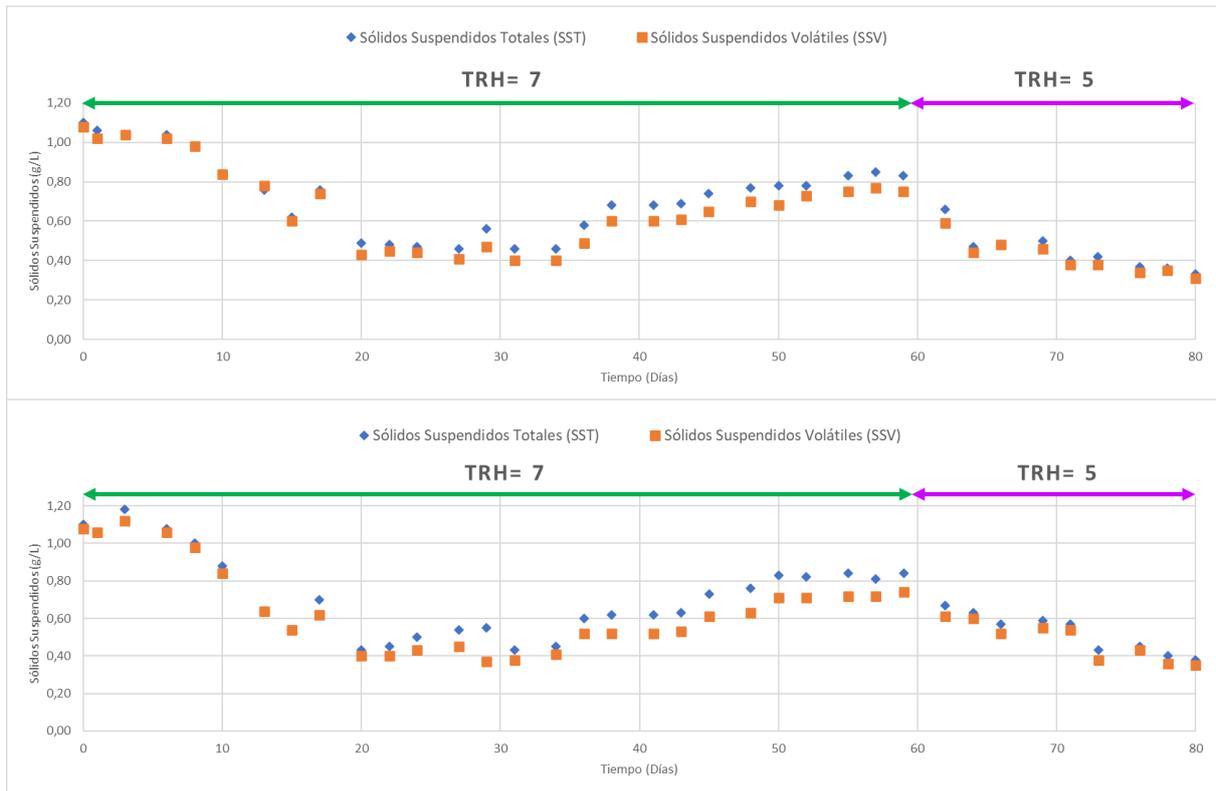


Figura 12: Evolución de la concentración de biomasa en los fotobiorreactores  
A)Fotobiorreactor 1 B)Fotobiorreactor 2

#### 4.2. Evolución de la eliminación de carbono en los fotobiorreactores

Durante el desarrollo del experimento, se suministró continuamente agua residual sintética a los fotobiorreactores con el objetivo de mantener constante el suministro de carbono orgánico e inorgánico para las microalgas y las bacterias presentes en el sistema. Estos nutrientes carbonados se utilizaron como fuentes de carbono y energía para el crecimiento y metabolismo de ambos microorganismos.

En la figura 13, se puede apreciar que la concentración de carbono orgánico en ambos fotobiorreactores fue considerablemente más baja en comparación con la cantidad suministrada en la alimentación (figura 13 ARS). Este descenso en los niveles de carbono orgánico sugiere que las bacterias y microalgas heterótrofas presentes en los fotobiorreactores han utilizado activamente este carbono para su crecimiento y metabolismo. La capacidad de las bacterias para consumir y utilizar el carbono orgánico es fundamental en los procesos de eliminación de contaminantes. Al utilizar este carbono como fuente de energía y carbono, las bacterias descomponen y degradan los compuestos orgánicos presentes en el medio, contribuyendo así a la eliminación eficiente de los contaminantes.

El hecho de que se observe una disminución significativa en la concentración de carbono orgánico indica que las bacterias tienen la capacidad de alcanzar altos rendimientos en la eliminación de contaminantes. Esto significa que fueron efectivas en su capacidad para consumir y metabolizar el carbono orgánico presente en el sistema. El rendimiento de eliminación se puede evaluar comparando la concentración de carbono orgánico suministrado inicialmente con la concentración que abandona el sistema. Si la diferencia entre estas dos concentraciones es alta, esto indica que las bacterias y microalgas heterótrofas lograron una eliminación eficiente de los contaminantes orgánicos.

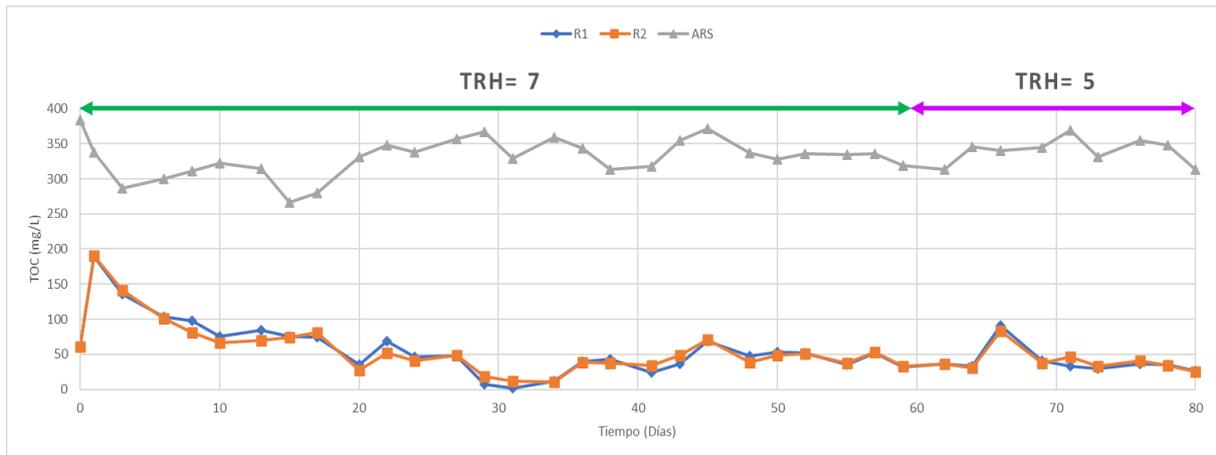


Figura 13: Evolución de la concentración de Carbono Orgánico Total

El suministro de carbono inorgánico permite a las microalgas tener una fuente constante y disponible de carbono, adicional al  $\text{CO}_2$  liberado de la mineralización microbiana de materia orgánica, lo que les permite realizar los procesos de fotosíntesis y crecimiento. Las microalgas utilizan estos compuestos en forma de  $\text{CO}_2$  y bicarbonato para la fijación de carbono y la producción de compuestos orgánicos, como carbohidratos y lípidos. La concentración de carbono inorgánico suministrada debe ser cuidadosamente controlada para proporcionar una concentración adecuada de carbono que permita un crecimiento óptimo de las microalgas y bacterias nitrificantes sin afectar negativamente el equilibrio químico del medio de cultivo. También es importante destacar que ambos fotobiorreactores presentaron un comportamiento similar a lo largo de todo el experimento.

Como se puede apreciar en la figura 14, la concentración de carbono inorgánico en la salida de ambos fotobiorreactores es menor a la cantidad suministrada inicialmente. Esta observación sugiere que las microalgas han utilizado el carbono inorgánico suministrado para su crecimiento y metabolismo. Este resultado es alentador y demuestra la capacidad de las microalgas para utilizar y asimilar el carbono inorgánico como una fuente de nutrientes. Es relevante destacar que, durante todo el experimento, ambos fotobiorreactores presentan un comportamiento similar. Se observaron ligeras diferencias entre los días 10 y 20, donde el fotobiorreactor 1 muestra valores inferiores al fotobiorreactor 2. No obstante, esta tendencia cambió en los días 30 al 40 y a partir de este momento se comportaron de forma similar.

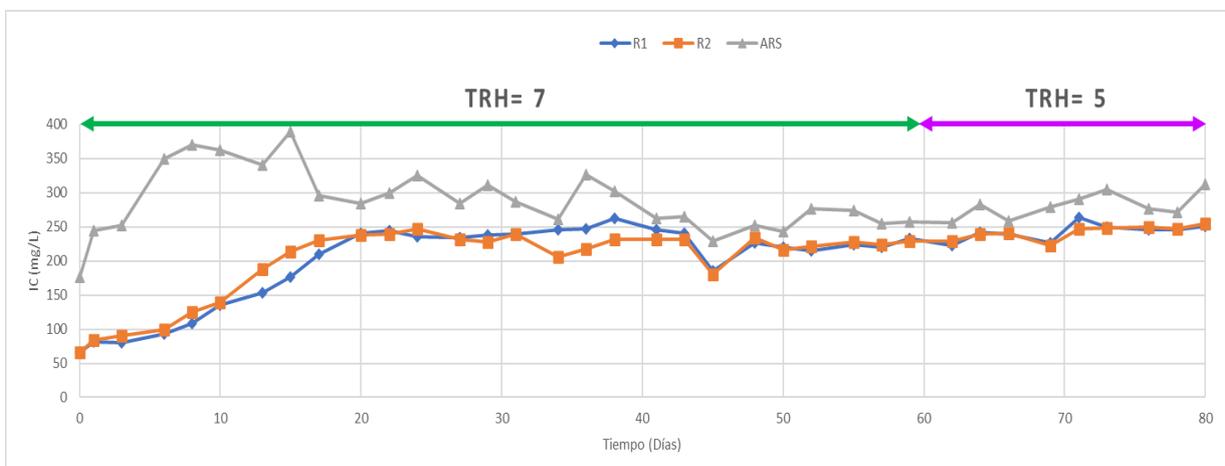


Figura 14: Evolución de la concentración del Carbono Inorgánico Total

El suministro controlado de carbono orgánico e inorgánico aseguró que tanto las microalgas como las bacterias tuvieran la fuente de carbono necesaria para su crecimiento y desarrollo adecuados. Estas fuentes de carbono contribuyeron a la producción de biomasa, la síntesis de compuestos celulares y la realización de funciones vitales en el sistema. La concentración y proporción de carbono suministrado simuló los valores presentes en aguas residuales de carga media, y fueron adecuadas para ambas poblaciones microbianas.

En cada una de las etapas se analizaron las eficiencias de eliminación promedio en estado estacionario del carbono orgánico e inorgánico total. Según se muestra en la Figura 15, las eficiencias de eliminación de carbono orgánico total reportadas en ambos fotobiorreactores durante la primera etapa fueron superiores al 90 %, mientras que en la segunda etapa superaron el 88 %. En la Figura 16, se observa que las eficiencias de eliminación de carbono inorgánico total registradas en ambos fotobiorreactores durante la primera etapa fueron superiores al 41 %, mientras que en la segunda etapa superaron el 7 %, este resultado en la segunda etapa se debe a la disminución de la biomasa en ambos fotobiorreactores.



Figura 15: Eficiencia de eliminación del Carbono orgánico total

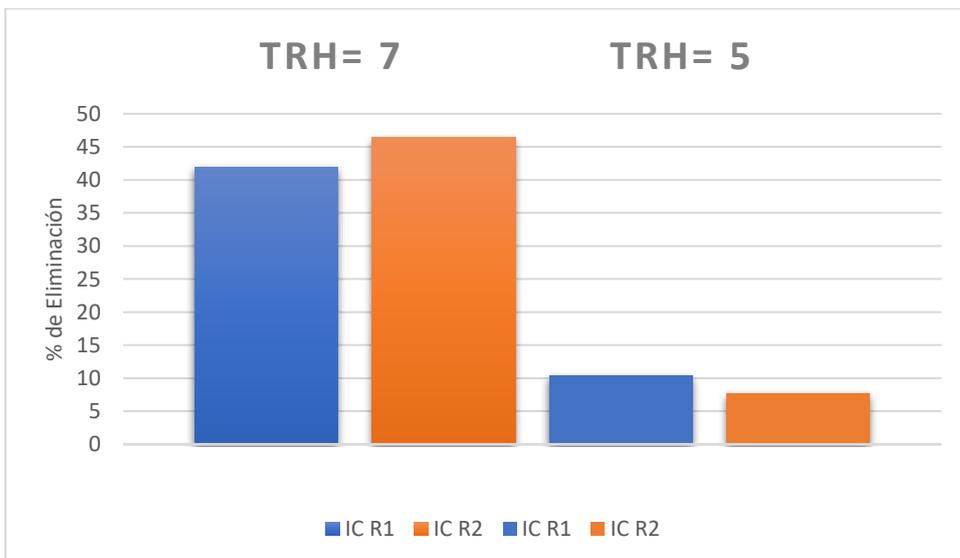


Figura 16: Eficiencia de eliminación del Carbono inorgánico total

### 4.3. Evolución en la eliminación de nitrógeno en los fotobiorreactores

Además del carbono, el suministro de nutrientes como el nitrógeno es esencial para el crecimiento saludable de las microalgas y bacterias. Durante el experimento, se suministró nitrógeno para soportar el crecimiento tanto a las microalgas como a las bacterias presentes en el sistema. El suministro adecuado de nitrógeno garantizó que las microalgas y las bacterias tuvieran suficientes recursos para su crecimiento. Estos microorganismos utilizaron el nitrógeno suministrado para sintetizar aminoácidos, enzimas y otros componentes celulares necesarios para su metabolismo y función biológica.

Como se puede observar en la figura 17, la concentración de nitrógeno total en ambos fotobiorreactores es baja en comparación con la concentración suministrada en la alimentación. Esta disminución sugiere que tanto las bacterias como las microalgas han utilizado activamente el nitrógeno como fuente de nutrientes para su crecimiento y metabolismo, o que los fenómenos de eliminación abiótica pueden ser intensivos. El hecho de que se hayan logrado altos rendimientos de eliminación de nitrógeno junto con altas concentraciones de biomasa indicó que las bacterias y las microalgas fueron eficientes en la asimilación y utilización del nitrógeno presente en el medio de cultivo. Estos organismos han utilizado el nitrógeno para su crecimiento y desarrollo, lo que ha resultado en una reducción significativa en la concentración de nitrógeno total en los fotobiorreactores. Además, durante los días 20 al 30 se observa un incremento en el contenido de nitrógeno total en ambos fotobiorreactores como resultado de la disminución de la concentración de microalgas y bacterias. Posteriormente, cuando la biomasa comenzó a crecer y estabilizarse, se incrementó la eliminación del nitrógeno total. Después de realizar un cambio en el TRH y reducir la concentración de biomasa en ambos fotobiorreactores, se observa un incremento en el contenido de nitrógeno total debido a la disminución de la biomasa en ambos fotobiorreactores.

La capacidad de las bacterias y las microalgas para utilizar el nitrógeno es crucial para mantener un equilibrio en el sistema y lograr altos rendimientos de eliminación. Estos organismos son capaces de metabolizar el nitrógeno y convertirlo en biomasa, lo que conduce a la reducción de su concentración en el medio. Es importante resaltar que, a lo largo de todo el experimento, ambos fotobiorreactores presentaron un comportamiento similar. Así, aunque se observaron valores de eliminación más altos en el fotobiorreactor 2 durante los días 13 al 17, esta tendencia cambió posteriormente presentando el fotobiorreactor 1 valores mayores que el 2 durante los días 17 al 41, y a partir del día 43 ambos fotobiorreactores presentaron valores de eliminación similares hasta el día 52.

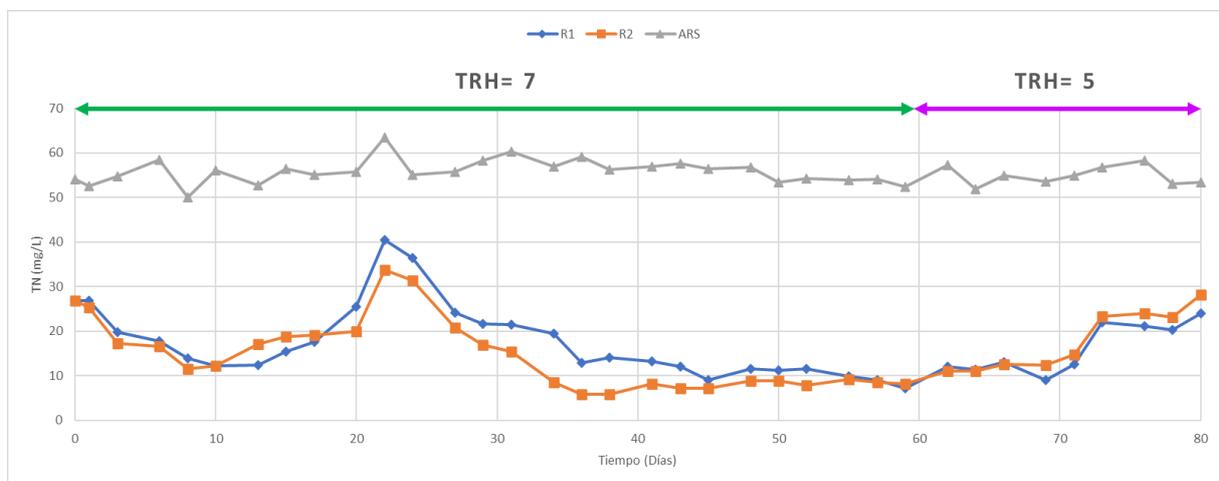


Figura 17: Evolución de la concentración del Nitrógeno Total

Es importante destacar que el nitrógeno puede estar presente en diferentes formas en el medio de cultivo, siendo el amonio la forma específica de nitrógeno presente en el ARS (proveniente de la hidrólisis de la urea).

Durante el desarrollo del experimento se suministró nitrógeno, principalmente en forma de amonio, tanto para las microalgas como para las bacterias presentes en el sistema. El  $NH_4^+$  se utilizó como una fuente de nitrógeno inorgánico fácilmente asimilable por las microalgas y las bacterias. La cantidad de  $NH_4^+$  junto con el nitrógeno orgánico determinaron la concentración final de biomasa en estado estacionario en ambos reactores.

Como se puede observar en la figura 18, al comienzo del experimento, las microalgas y bacterias utilizan el amonio como fuente de nitrógeno, lo que conllevó a la disminución de su concentración en los fotobiorreactores. Entre los días 10 y 25, cuando la concentración de biomasa de microalgas disminuyó, se observó una disminución en el consumo de amonio, lo que resultó en un aumento de su concentración en ambos fotobiorreactores. Sin embargo, a medida que la biomasa comenzó a crecer nuevamente, la concentración de amonio disminuyó una vez más. Luego, con el cambio del TRH la concentración de biomasa nuevamente disminuyó, por lo que el contenido de amonio en ambos fotobiorreactores aumentó. Dado el bajo nivel de nitrito y nitrato presentes, se puede inferir que la eliminación del amonio se debe principalmente a la asimilación por parte de las microalgas y bacterias en los fotobiorreactores. En el caso del ARS, también se observaron variaciones en la concentración de amonio. Esto se debe a que se suministraron tanto sales de amonio como urea, cuya velocidad de hidrólisis ocurre a diferentes velocidades, lo que generó fluctuaciones en la concentración de amonio en el ARS.

Durante los primeros 10 días, ambos fotobiorreactores presentaron un comportamiento similar. Sin embargo, a partir del día 11, se observaron mayores rendimientos de eliminación en el fotobiorreactor 1 hasta el día 17. A partir del día 17, los rendimientos de eliminación variaron en ambos fotobiorreactores durante el resto de los días hasta el día 34, momento en el cual el comportamiento en ambos fotobiorreactores es similar.

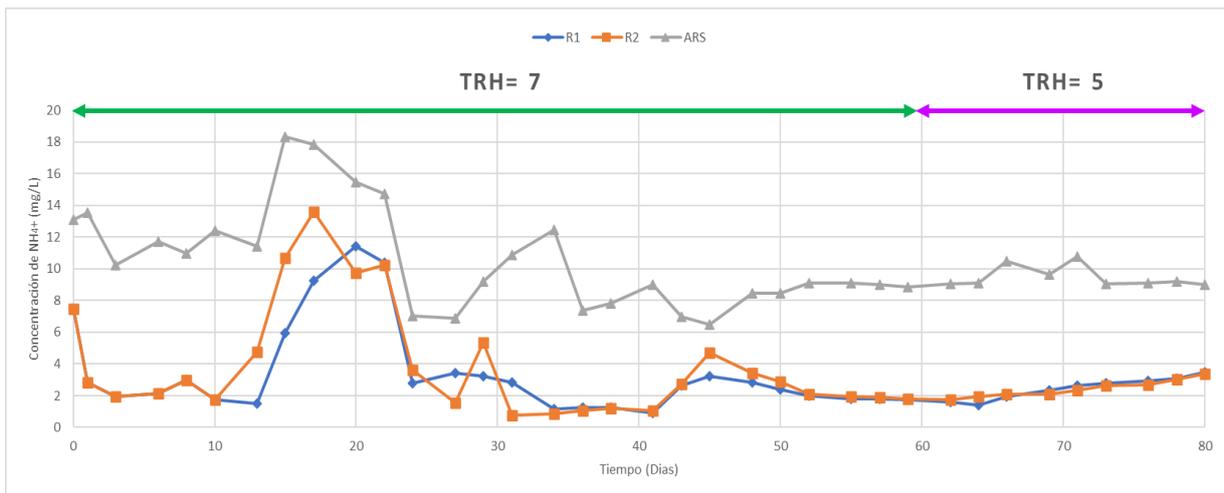


Figura 18: Evolución de la concentración del amonio ( $NH_4^+$ )

Además del amonio, es importante tener en cuenta que existen otras formas de nitrógeno que también pueden ser utilizadas por las microalgas para su crecimiento, como el  $NO_2^-$  y  $NO_3^-$ , que son producidas a partir de la oxidación de amonio por acción de bacterias nitrificantes.

En resumen, el suministro controlado de nitrógeno, especialmente en forma de amonio, fue esencial para el crecimiento y el metabolismo de las microalgas y las bacterias en el experimento.

Como se puede observar en la figura 19, en el ARS, no se encontraron nitritos debido a la ausencia de procesos de oxidación del agua residual urbana en la red de alcantarillado. Sin embargo, en ambos fotobiorreactores se observaron concentraciones reducidas de nitrito, lo cual indica la presencia de un proceso basal de oxidación de amonio a nitrito y posteriormente a nitrato. Además, se observó una variabilidad en el comportamiento de la concentración de nitrito en ambos fotobiorreactores.

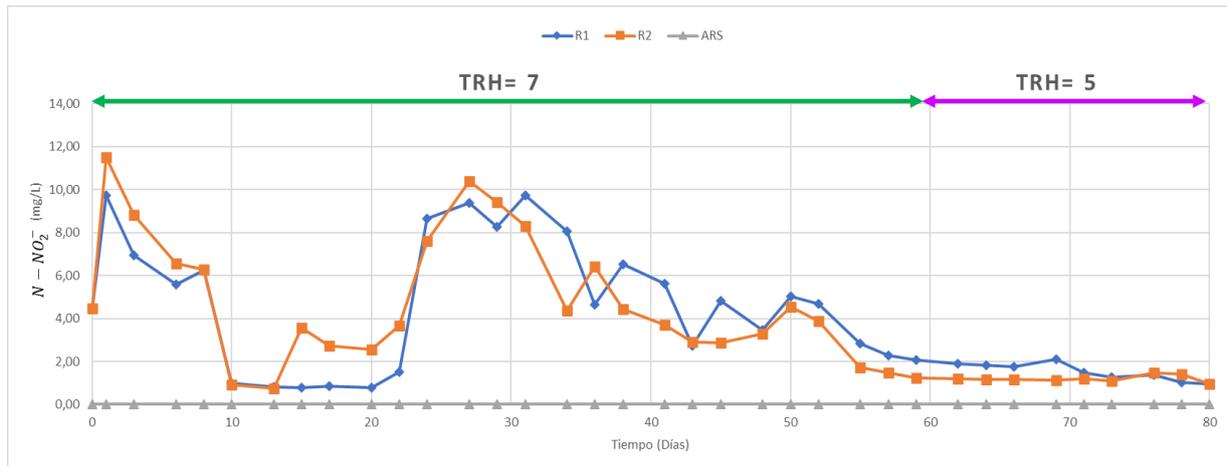


Figura 19: Evolución de la concentración del nitrito

Como se puede observar en la figura 20, en el ARS, no se encontraron nitratos debido a la ausencia de procesos de oxidación del agua residual urbana en la red de alcantarillado. En cambio, en ambos fotobiorreactores al comienzo del experimento se observan valores más altos de nitratos. Esto se debe a que el inóculo utilizado procedía de un sistema con una nitrificación activa. A medida que se llevó a cabo el lavado del cultivo utilizado como inóculo, las bacterias nitrificantes y el nitrato/nitrito (inicialmente presentes en el inóculo) desaparecieron gradualmente del caldo de cultivo. En ambos fotobiorreactores se observaron niveles bajos de nitrato, lo que indicó que el proceso de nitrificación no es un proceso predominante en este experimento, aunque en los días del 24 al 31, los resultados sugieren que se produjo un aumento de la nitrificación que pudo deberse a una mejora en la cinética de la nitrificación como consecuencia del aumento en la concentración de amonio en ambos fotobiorreactores.

Es importante resaltar que, a lo largo de todo el experimento, los dos fotobiorreactores se comportaron de manera similar, excepto al comienzo, donde se observaron concentraciones más altas de nitrato en el fotobiorreactor 1 durante los primeros 8 días de operación.

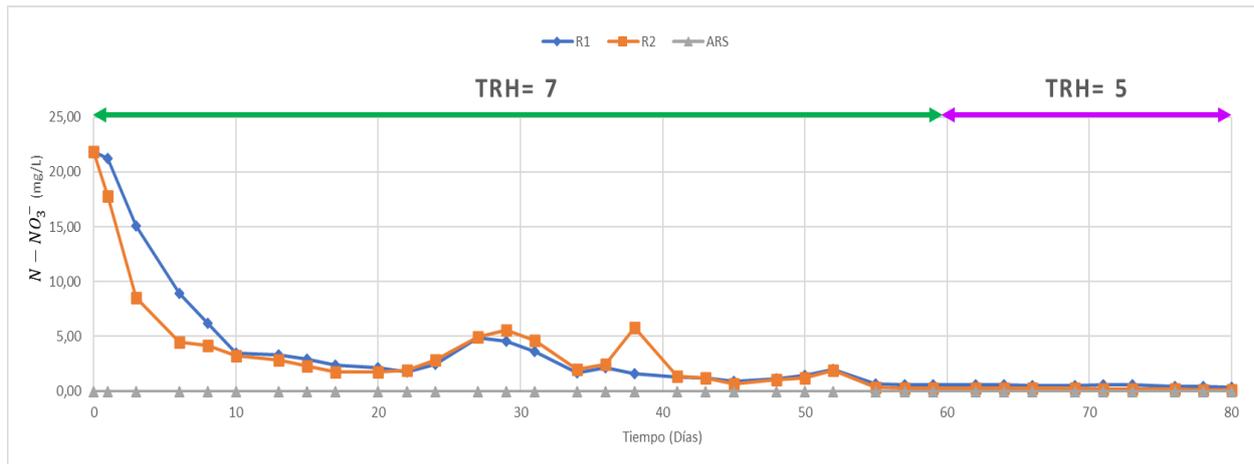


Figura 20: Evolución de la concentración del nitrato

En cada una de las etapas se evaluaron las eficiencias de eliminación promedio en estado estacionario de nitrógeno total y amonio. Como se puede observar en la figura 21, las eficiencias de eliminación de nitrógeno total registradas en ambos fotobiorreactores durante la primera etapa fueron superiores al 86 %, mientras que en la segunda etapa superaron el 55 %. En la figura 22, se puede apreciar que las eficiencias de eliminación de amonio documentadas en ambos fotobiorreactores durante la primera etapa fueron superiores al 80 %, mientras que en la segunda etapa superaron el 65 %. Las eficiencias de eliminación en la segunda etapa fueron inferiores a la primera debido a la disminución de la concentración de biomasa.

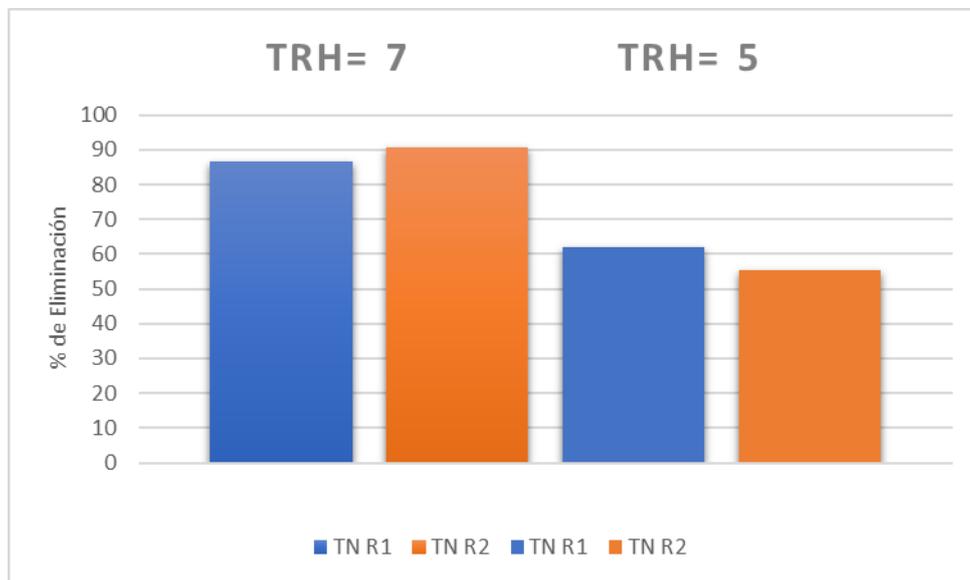


Figura 21: Eficiencia de eliminación del nitrógeno total

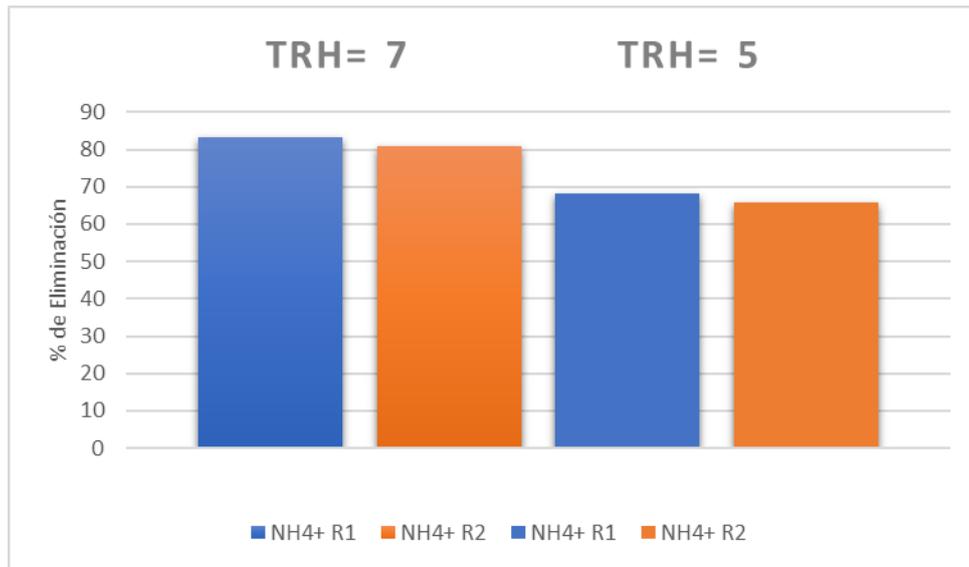


Figura 22: Eficiencia de eliminación del amonio.

#### 4.4. Evolución en la eliminación de fosfatos y sulfatos en los fotobiorreactores

Durante el experimento, se alimentaron los reactores con agua residual con un alto contenido de fosfato y sulfato tanto para las microalgas como para las bacterias presentes en los fotobiorreactores.

En la figura 23 se representan las concentraciones de fosfato en el agua residual sintética y en ambos fotobiorreactores. En ambos fotobiorreactores se observó una disminución en la concentración de fosfato respecto a la concentración de entrada al sistema, lo cual indica que tanto microalgas como bacterias están consumiendo y asimilando este compuesto del agua residual. Luego, al cambiar el TRH se observa un aumento de la concentración de fosfato debido a la disminución de biomasa en ambos fotobiorreactores. En ambos fotobiorreactores el comportamiento fue similar durante las etapas de experimentación.

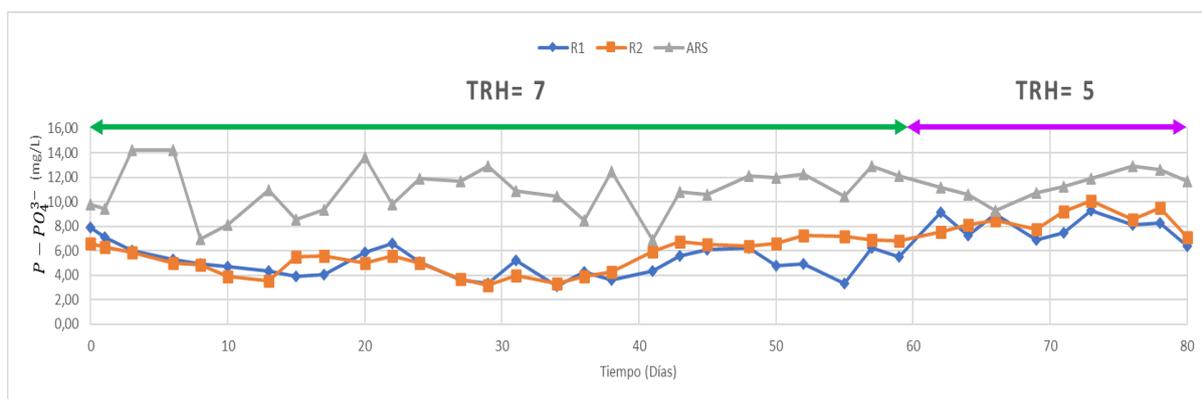


Figura 23: Evolución de la concentración del fosfato

Como se puede observar en la figura 24, el ARS contiene sulfato, el cual es un nutriente esencial para microalgas y bacterias. En ambos fotobiorreactores, se observó un consumo de este compuesto debido a su asimilación por parte de los organismos presentes. Luego, al cambiar el TRH se observa un aumento de la concentración de sulfato debido a la disminución de

biomasa en ambos fotobiorreactores. El comportamiento en ambos fotobiorreactores es similar durante todas las etapas del experimento.

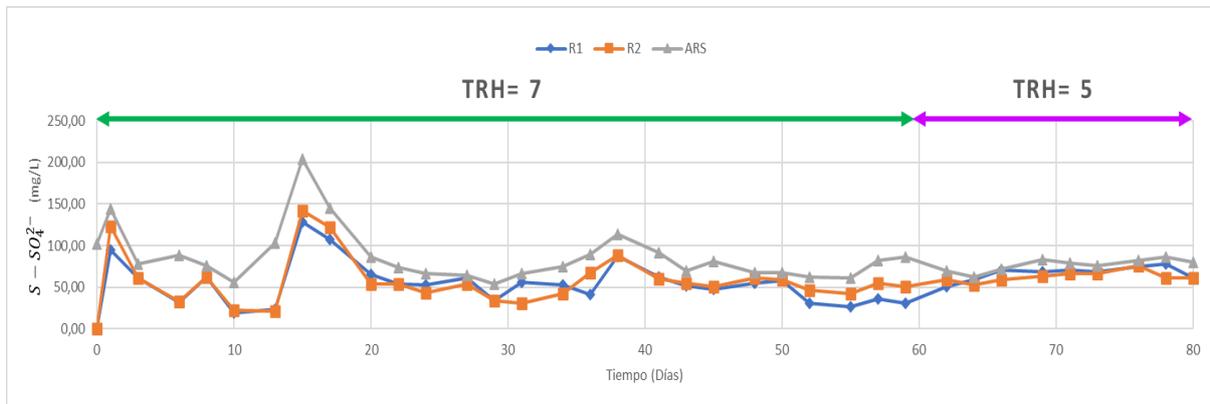


Figura 24: Evolución de la concentración del sulfato

En cada una de las etapas se evaluaron las eficiencias de eliminación promedio en estado estacionario de fosfato y sulfato. Como se puede observar en la figura 25, las eficiencias de eliminación de fosfatos registradas en ambos fotobiorreactores durante la primera etapa fueron superiores al 61 %, mientras que en la segunda etapa superaron el 19 %. En la figura 26, se puede apreciar que las eficiencias de eliminación de fosfatos documentadas en ambos fotobiorreactores durante la primera etapa fueron superiores al 55 %, mientras que en la segunda etapa superaron el 9 %. Las eficiencias de eliminación en la segunda etapa fueron inferiores a la primera debido a la disminución de la concentración de biomasa, ya que al disminuir la biomasa disminuye la asimilación de nutrientes por parte de las microalgas.

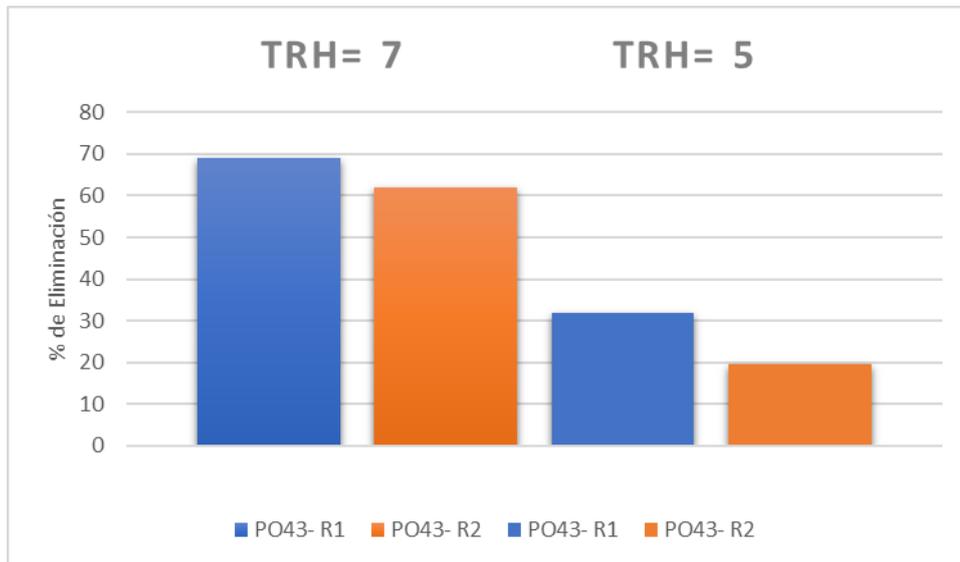


Figura 25: Eficiencia de eliminación del fosfato

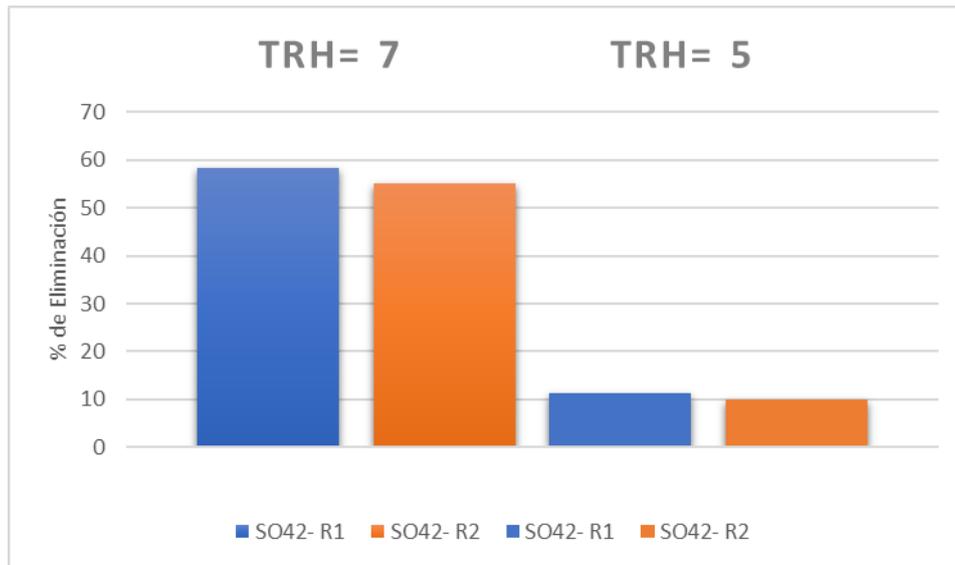


Figura 26: Eficiencia de eliminación del sulfato

#### 4.5. Evolución diaria de parámetros ambientales en los fotobiorreactores

Con el objetivo de analizar en detalle los procesos que ocurren diariamente en los fotobiorreactores, se tomaron muestras diariamente, con una frecuencia de muestreo de un minuto de tres parámetros fundamentales: el pH, la temperatura y el oxígeno disuelto. Se observa cómo estos parámetros varían en el transcurso del día, ya que estos están implicados en el crecimiento y la actividad metabólica de las microalgas y las bacterias presentes en los fotobiorreactores.

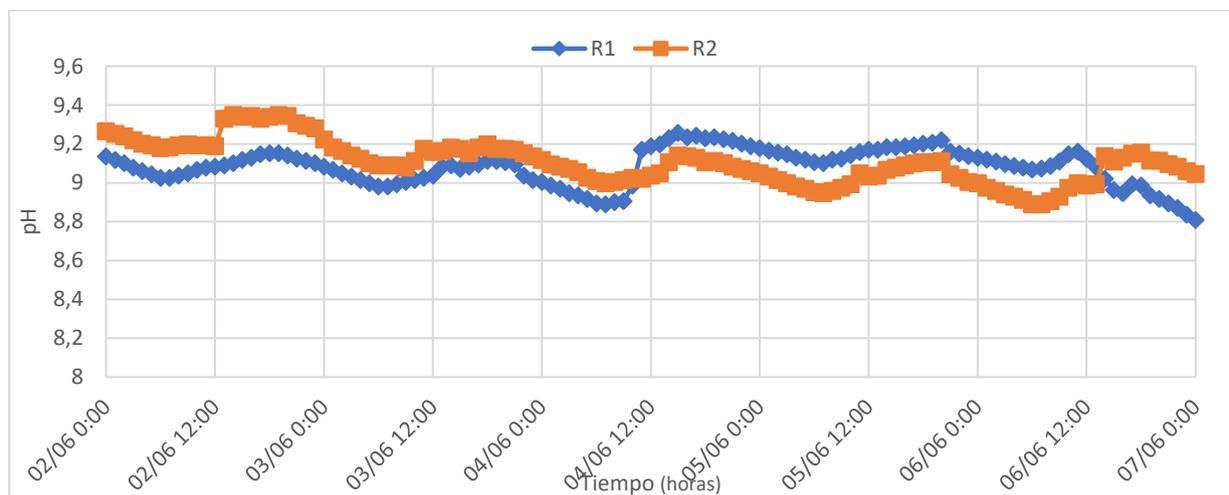


Figura 27: Evolución del pH en los fotobiorreactores durante los días 3 al 7 de junio

Durante los 80 días de experimentación el pH de ambos fotobiorreactores se mantuvo entre 8.5 y 9.5. Este rango de valores es adecuado para el crecimiento de las microalgas y bacterias heterótrofas, pero no para bacterias nitrificantes. En la figura 27, se representa la evolución del pH de ambos fotobiorreactores durante los días 3 al 7 de junio, donde se observan condiciones de cultivo alcalinas que benefician a las microalgas y las bacterias. Las microalgas se benefician de un pH alcalino para llevar a cabo eficientemente la fotosíntesis y generar energía a partir de

la luz solar. Asimismo, las bacterias heterótrofas pueden crecer en ambientes alcalinos, inhibiendo el crecimiento de bacterias patógenas y promoviendo la salud del ecosistema del fotobiorreactor. El mantenimiento estable de un pH alcalino evita cambios abruptos que podrían estresar a los organismos y afectar su metabolismo y rendimiento. En conjunto, estas condiciones de pH estable en el rango alcalino proporcionan un entorno favorable para el crecimiento y la actividad metabólica óptima de las microalgas y las bacterias en los fotobiorreactores. Durante el día, la fotosíntesis y la disminución de  $\text{CO}_2$  debido a la absorción por parte de las microalgas conllevaron un aumento del pH del agua. Durante la noche, la falta de fotosíntesis y el aumento de  $\text{CO}_2$  debido a la respiración celular de los organismos causaron una disminución del pH del agua, ya que el  $\text{CO}_2$  se convierte en  $\text{H}_2\text{CO}_3$ . Estos cambios diarios en la concentración de  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{CO}_3$  influyeron en la variación del pH durante el ciclo día-noche.

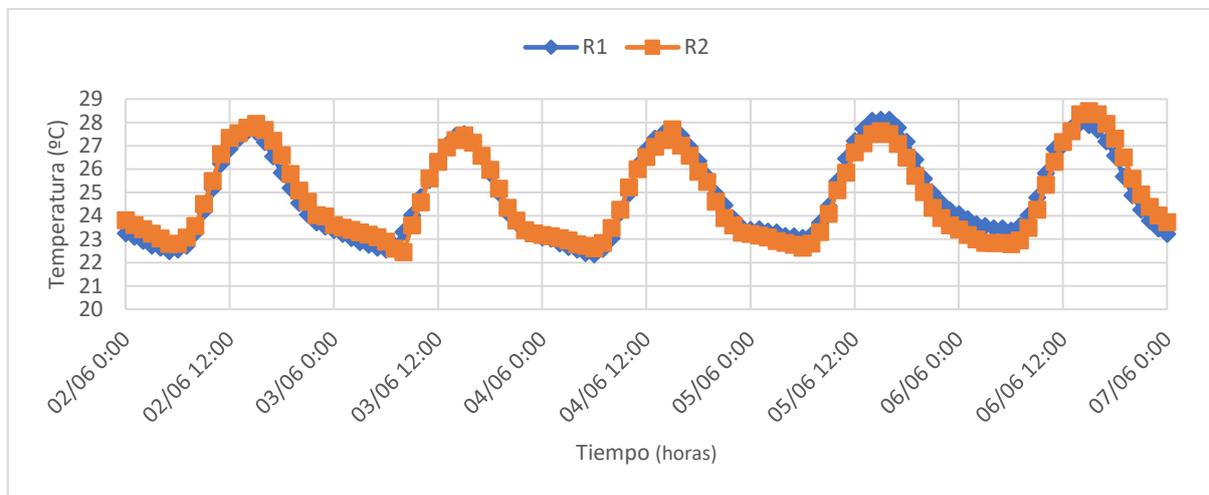


Figura 28: Evolución de la temperatura en los fotobiorreactores durante los días 3 al 7 de junio

Durante los 80 días de experimentación, la variación diaria de la temperatura en los fotobiorreactores se mantuvo dentro del rango de 22 a 29 °C. En la figura 28, se representa la variación de la temperatura en los fotobiorreactores durante los días 3 al 7 de junio. Además, se observa un patrón de aumento de la temperatura durante el día y una disminución durante la noche. Este patrón de temperatura es común en sistemas de cultivo y puede tener un impacto significativo en el rendimiento de las microalgas y las bacterias presentes en los fotobiorreactores. La variación de la temperatura en los fotobiorreactores se debe a la radiación, durante los momentos de mayor radiación, es decir, desde las 11:00 a las 14:00 horas, la temperatura en los reactores aumenta. El aumento de la temperatura durante el día puede estimular la actividad metabólica de los organismos, promoviendo la fotosíntesis y el crecimiento. Por otro lado, la disminución de la temperatura durante la noche puede proporcionar un período de descanso y recuperación, permitiendo a los organismos ajustarse y conservar energía. El mantenimiento de la temperatura dentro del rango adecuado de 22 a 29 °C es crucial para garantizar un ambiente propicio para el crecimiento de las microalgas y las bacterias. Esta estabilidad térmica ayudó a mantener un equilibrio favorable en el sistema de cultivo.

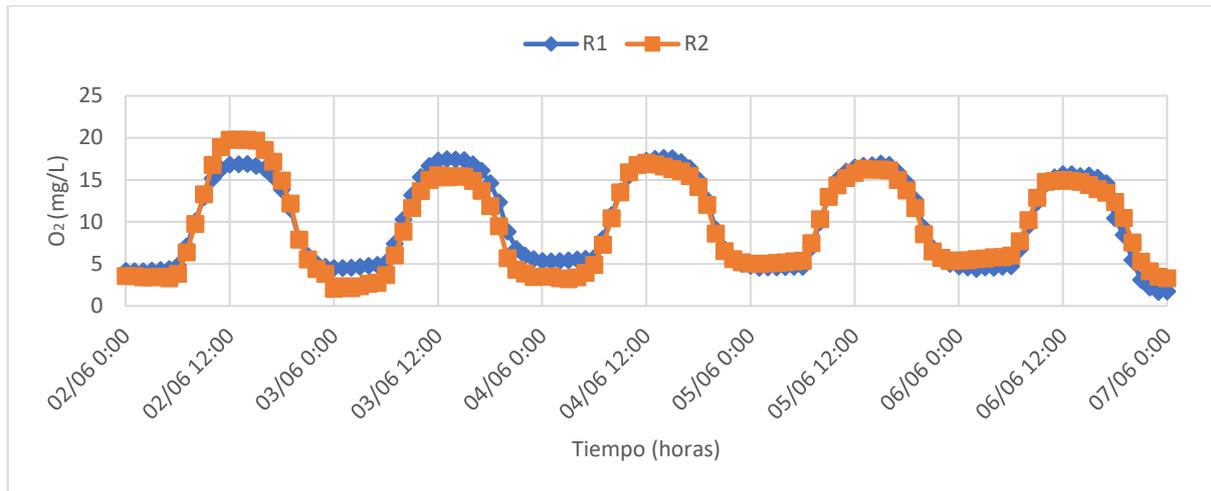


Figura 29: Evolución de la concentración de oxígeno disuelto en los fotobiorreactores durante los días 3 al 7 de junio

Durante los 80 días de experimentación, la concentración de oxígeno disuelto en ambos fotobiorreactores varió diariamente entre los 2 y 20 mg/L. Como se puede observar en la figura 29, durante los días 3 al 7 de junio la concentración de oxígeno disuelto aumentó durante el día y disminuyó durante la noche en ambos fotobiorreactores. Este patrón en los niveles de oxígeno disuelto estuvo relacionado con los procesos de fotosíntesis y respiración de los organismos presentes en los fotobiorreactores. Durante el día, con la presencia de luz solar, las microalgas llevan a cabo la fotosíntesis, donde utilizan la energía luminosa y producen oxígeno. Este aumento en la producción de oxígeno disuelto es evidente en la figura 29. Por otro lado, durante la noche, en ausencia de luz, la fotosíntesis disminuye y las microalgas y bacterias consumen oxígeno a través de la respiración, lo que causó una disminución en los niveles de oxígeno disuelto. Este ciclo de aumento y disminución del oxígeno disuelto es importante para el equilibrio de los procesos metabólicos de los organismos en los fotobiorreactores.

## 5. CONCLUSIONES

- Las analíticas desarrolladas permitieron evaluar las eficiencias de eliminación de contaminantes en las dos etapas de experimentación, atribuidas principalmente a la asimilación de las bacterias heterótrofas y microalgas.
- Se reportaron eficiencias de eliminación de carbono orgánico superiores al 88% durante cada una de las etapas de experimentación, atribuidas principalmente a la asimilación de este compuesto por parte de las bacterias heterótrofas presentes en el sistema.
- Las eficiencias de eliminación de carbono inorgánico obtenidas operando a un TRH de 7 días son superiores a las obtenidas a un TRH de 5 días, debido a una mayor concentración de biomasa en ambos fotobiorreactores.
- Los valores de eficiencias de eliminación de nitrógeno obtenidos durante la primera etapa demuestran condiciones favorables para la eliminación de este compuesto a TRH de 7 días.
- La eliminación de fosfatos alcanzó valores de 61% a tiempo de residencia de 7 días.
- El análisis de las poblaciones predominantes ha permitido evaluar la composición microbiana y su impacto en el proceso.
- Trabajar con dos reactores operados bajo las mismas condiciones de operación ha demostrado la reproducibilidad de los resultados obtenidos.
- Los patrones de la concentración de oxígeno disuelto y la temperatura en el medio de cultivo fueron reproducibles y alineados con las variaciones en la intensidad luminosa.

## 6. RECOMENDACIONES Y TRABAJO FUTURO

- Se recomienda ajustar los parámetros operacionales de los fotobiorreactores con el fin de lograr mayores eficiencias de eliminación de carbono inorgánico y nitrógeno total y cumplir con los estándares establecidos por la Unión Europea para el vertido de aguas residuales urbanas.
- Los datos experimentales obtenidos pueden utilizarse para desarrollar modelos y estrategias de control que optimicen el rendimiento del sistema y aumenten las eficiencias de eliminación de los contaminantes presentes en las aguas residuales.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Abalde, J. *et al.* (2016) *MICROALGAS: Cultivo y Aplicaciones*. UNIVERSIDA. Available at: <https://doi.org/10.17979/spudc.9788497497695>.
2. Aditya, L. *et al.* (2022) 'Microalgae-bacteria consortium for wastewater treatment and biomass production', *Science of the Total Environment*, 838(February), p. 155871. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155871>.
3. Alabaster, G. *et al.* (2021) *Progreso en el tratamiento de las aguas residuales, Naciones Unidas y Organización Mundial de la Salud*. Available at: <https://www.unwater.org/publications/progress-on-wastewater-treatment-631-2021-update/>.
4. Andrade, C. *et al.* (2006) 'Remoción de nitrógeno y fósforo de aguas residuales urbanas por la microalga *Chlorella sp.* en condiciones de laboratorio Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater for the microalgae *Chlorella sp.* in conditions laboratory', *Ciencia*, 14(March), pp. 56–63.
5. Arribas Jimeno, A. and Muñoz Torre, R. (2020) 'Fotobiorreactores, técnicas y parámetros implicados en la producción de biocombustibles de origen microalgal', *Tesis* [Preprint]. Available at: <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/44886>.
6. ASEPEYO (2009) 'Guía de buenas prácticas depuradoras de aguas. Monografía Estudio EDAR', *EDAR*, pp. 1–278. Available at: <https://www.aguasresiduales.info/revista/libros/buenas-practicas-preventivas-en-estaciones-depuradoras-de-aguas-residuales>.
7. Barreiro Vescovo, S.N. (2019) 'Caracterización de los consorcios microalgas-bacterias en el tratamiento de agua residual urbana', *Universidad Complutense De Madrid*, p. 242. Available at: <https://eprints.ucm.es/58187/1/T41559.pdf>.
8. Benavente Valdés, R. *et al.* (2012) 'Tecnología De Cultivo De Microalgas En Fotobiorreactores', *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 4(7), p. 12. Available at: <file:///C:/Users/maria/Downloads/Benavente-Valds2012.pdf>.
9. Bolado, S. *et al.* (2016) 'Tratamiento y valorización de aguas residuales mediante microalgas', *Dpto. Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente*, pp. 1–5.
10. Carvajal Oses, M.D.M., Chacón Guzmán, J. and Herrera Ulloa, Á. (2018) 'Optimización en la producción de la microalga marina *Nannochloropsis oculata* en un fotobiorreactor tubular helicoidal', *Revista Tecnología en Marcha*, 31(2), p. 117. Available at: <https://doi.org/10.18845/tm.v31i2.3629>.
11. Claros Bedoya, J.A. (2012) 'Estudio del proceso de nitrificación y desnitrificación vía nitrito para el tratamiento biológico de corrientes de agua residual con alta carga de nitrógeno amoniacal', *Applied and Environmental Microbiology*, p. 230.
12. Cruz, I. *et al.* (2015) 'Tecnologías para el cultivo de microalgas en interior y exterior. Propuestas prácticas para operar en granjas acuícolas de pequeña escala.', *E-bios*, 2(December), pp. 31–42. Available at: <http://dx.doi.org/10.18845/tm.v31i2.3629>.
13. Domínguez Gómez, M. (2018) 'Optimización de un reactor HRAP para la depuración de aguas residuales urbanas.', *Tesis*, p. 158. Available at: <https://rodin.uca.es/handle/10498/20814>.
14. España. Ministerio de Agricultura, A. y M.A. (2012) 'Real Decreto 1290/2012, de 7 de septiembre, por el que se modifica el Reglamento del Dominio Público Hidráulico, aprobado por el Real Decreto 849/1986, de 11 de abril, y el Real Decreto 509/1996, de 15 de marzo, de

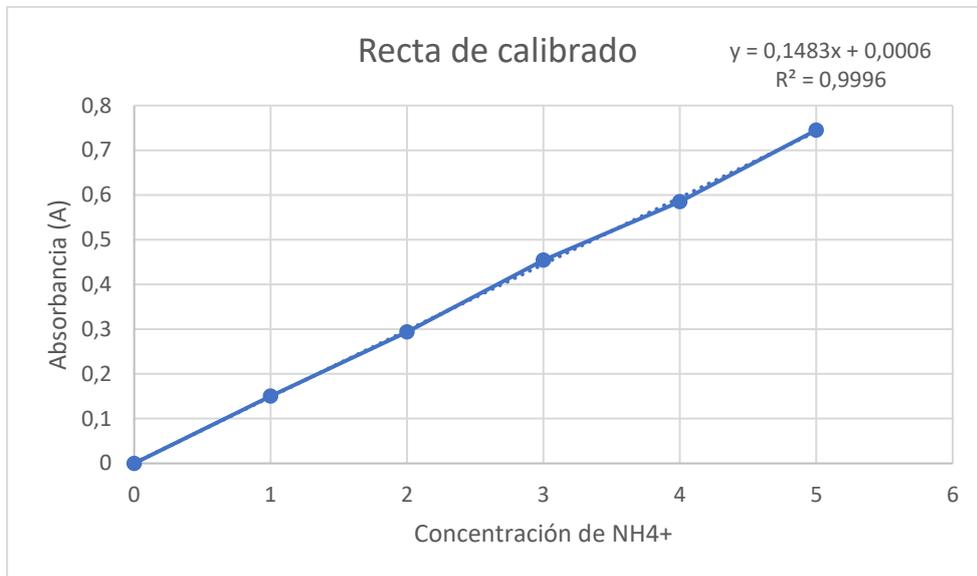
- desarrollo del Real Decreto-ley 11/1995', *Boletín Oficial del Estado*, (227, 20 de septiembre), pp. 66167–66194. Available at: <https://www.boe.es/eli/es/rd/2012/09/07/1290>.
15. Estévez, O. (2021) 'Cultivo de microalgas mediante el uso de fotobiorreactores', *Petroenergía* [Preprint]. Available at: <http://www.petroenergia.info/post/cultivo-de-microalgas-mediante-el-uso-de-fotobiorreactores>.
16. Filipigh, Á.A. (2021) 'VALORIZACIÓN DE UN CONSORCIO DE MICROALGAS Y BACTERIAS: COMPARACIÓN DE MÉTODOS CONVENCIONALES Y NUEVOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN ASISTIDA', *Tesis* [Preprint].
17. Gamboa De La Torre, N. (2022) 'PROPUESTA DE PRODUCCIÓN DE MICROALGAS EN LA ECONOMÍA CIRCULAR', *Tesis* [Preprint]. Available at: <https://dspace.unia.es/handle/10334/6593>.
18. González Ramírez, D.E. (2020) 'Diseño y estudio de un sistema híbrido de depuración de aguas residuales urbanas mediante Microalgas y Fangos Activos', *Tesis* [Preprint]. Available at: <https://repositori.uji.es/xmlui/handle/10234/191659>.
19. Haro, S. and Perales, J.A. (2015) 'Cinética de consumo de nutrientes y crecimiento de un bloom de microalgas en un fotobiorreactor High Rate Algae Pond (HRAP)', *Tecnología y Ciencias del Agua*, 6(3), pp. 15–31. Available at: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-24222015000300002&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-24222015000300002&lng=es&nrm=iso).
20. Hernández-Pérez, A. and Labbé, J.I. (2014) 'Microalgas, cultivo y beneficios', *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(2), pp. 157–173. Available at: <https://doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>.
21. Jácome-Pilco, C. *et al.* (2021) 'Microalgas en el tratamiento de aguas residuales generadas en industrias de curtiembres', *Environmental Sciences*, 14(2), pp. 47–55. Available at: <https://doi.org/10.18779/cyt.v14i2.502>.
22. Kun Li Qiang Liu; Fan Fang; Ruihuan Luo; Qian Lu; Wenguang Zhou; Shuhao Huo; Pengfei Cheng, J.L.M.A.P.C.D.C.R.R. (2019) 'Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery: A review', *Science Direct* [Preprint]. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852419311642?via%3Dihub>.
23. Levasseur, W., Perré, P. and Pozzobon, V. (2020) 'A review of high value-added molecules production by microalgae in light of the classification', *PubMed, Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* [Preprint]. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32272160/>.
24. Lobos Briones, P.F. (2019) 'Uso De Un Consorcio Microalgal Para La Remoción De Nutrientes Desde Planta De Tratamiento De Aguas Servidas', *Tesis*, pp. 1–140. Available at: [http://repositorio.udec.cl/jspui/bitstream/11594/9688/1/TESIS\\_USO\\_DE\\_UN\\_CONSORCIO\\_MICROALGAL\\_PARA\\_LA\\_REMOCIÓN\\_Image.Marked.pdf](http://repositorio.udec.cl/jspui/bitstream/11594/9688/1/TESIS_USO_DE_UN_CONSORCIO_MICROALGAL_PARA_LA_REMOCIÓN_Image.Marked.pdf).
25. López Vazquez, C.M. *et al.* (2001) *Tratamiento biológico de aguas residuales: Principios, modelación y diseño*, *Ingeniería Química*. Available at: <https://doi.org/10.17345/9788484241027>.
26. Lu, D. *et al.* (2018) 'Sustainable microalgae cultivation by using anaerobic centrate and biogas from anaerobic digestion', *Algal Research*, 35(March), pp. 115–124. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.08.028>.
27. Malo, B.O., Cartagena, J.C. and Sandoval, J.A. (2016) 'RESIDUALES DE LA PTAR EL SALITRE A NIVEL LABORATORIO', *29 Congreso Colombiano de Ingeniería Química y Profesiones Afines*, (2009), p. 2016.

28. Merino Ibarra, M. and Escobar Briones, E.G. (2015) *Tendencias de Investigación en Limnología Tropical Perspectivas Universitarias en Latinoamérica, Tendencias de Investigación en Limnología Tropical Perspectivas Universitarias en Latinoamérica*. Available at: <https://doi.org/10.22201/icmyl.9786070272189e.2015>.
29. Montero Marqués, P.M. (2019) ‘Estudio de la competencia entre microalgas y bacterias amonioxidantes en la eliminación de nutrientes del efluente de un reactor anaerobio de membranas (AnMBR) [TFM]’. Available at: <https://riunet.upv.es/handle/10251/122020>.
30. Ortiz-Villota, M.T., Romero-Morales, M.A. and Meza-Rodríguez, L.D. (2018) ‘La biorremediación con microalgas (*Spirulina máxima*, *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris*) como alternativa para tratar la eutrofización de la laguna de Ubaque, Colombia’, *Revista de Investigación, Desarrollo e Innovación*, 9(1), pp. 163–176. Available at: <https://doi.org/10.19053/20278306.v9.n1.2018.8153>.
31. Ortiz Ruiz, A. (2021) ‘Microalgae-Based Wastewater Treatment Systems At Demonstrative Scale: Gravity Harvesting and Thickening of Biomass, and Advanced Design of Bioreactors’, *Tesis* [Preprint].
32. Pachés Giner, M. and González Camejo, J. (2022) ‘Uso de microalgas en depuración de aguas’, *RiuNet* [Preprint]. Available at: [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/183751/PachesGonzalez - Uso de las microalgas para depuración de agua.pdf?sequence=1](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/183751/PachesGonzalez_Uso_de_las_microalgas_para_depuracion_de_agua.pdf?sequence=1).
33. Prieto Márquez, I. (2020) ‘ESTUDIO DEL CRECIMIENTO DE LA MICROALGA *Chlorella vulgaris* Y SU CAPACIDAD DE DEPURACIÓN DE AGUA RESIDUAL’, *Universidad de Almería*, pp. 14–16. Available at: [http://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/9896/PRIETO MARQUEZ%2C INMACULADA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/9896/PRIETO_MARQUEZ%2C_INMACULADA.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
34. Ramírez-Mérida, L.G. (2020) ‘Microalgas para el manejo de aguas residuales, actualidad y perspectivas.’, *ResearchGate* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.4322/MP.2020.001.02>.
35. Ramírez Mérida, L.G. (2020) ‘Microalgas para el manejo de aguas residuales, actualidad y perspectivas’, *Mérida Publishers* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.4322/mp.2020.001.02>.
36. Roldán Martínez, A. de J. *et al.* (2019) ‘Los fotobiorreactores como herramientas para el desarrollo de bioprocesos a partir de microalgas’, *ResearchGate* [Preprint].
37. Ruiz Martínez, A. (2011) ‘Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente.’, *Universidad Politécnica de Valencia*, p. 102. Available at: [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/12831/Ruiz Martinez Ana - Tesina Fin Master - 2011.pdf?sequence=1](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/12831/Ruiz_Martinez_Ana_-_Tesina_Fin_Master_-_2011.pdf?sequence=1).
38. Tafur Alvarez, J.E. (2021) ‘Alvarez, J. E. T. (2019). Tratamiento de aguas residuales in vitro por medio de la microalga *Chlorella* sp. en el municipio de Barrancabermeja, Colombia.’, 11. Available at: <https://revistas.unipaz.edu.co/index.php/revcitecsa/article/view/227>.
39. Tafur Alvarez, J.E. and Estrada Palencia, L. (2015) ‘TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES IN VITRO POR MEDIO DE LA MICROALGA *CHLORELLA* SP EN EL MUNICIPIO DE BARRANCABERMEJA, COLOMBIA’, *Revista CITECSA*, pp. 5–19.
40. Tawfik, A. *et al.* (2022) ‘Cultivation of microalgae on liquid anaerobic digestate for depollution, biofuels and cosmetics: a review’, *Environmental Chemistry Letters*, 20(6), pp. 3631–3656. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10311-022-01481-2>.

41. Troconis, A. and Herbert, K. (2010) ‘Guía de Aplicaciones Belzona en Equipos de Tratamiento de Aguas Residuales-Tratamiento de Aguas Residuales’, *Primera ed*, p. 40. Available at: <https://www.belzona.com/es/industries/wastewater.aspx>.
42. Unión Europea (2005) ‘DIRECTIVA 91/271/CEE SOBRE EL TRATAMIENTO DE LAS AGUAS RESIDUALES URBANAS Manual de interpretación y elaboración de informes’, *Unión Europea* [Preprint]. Available at: [https://www.miteco.gob.es/es/agua/publicaciones/03\\_Manual\\_Directiva\\_91\\_271\\_CEE\\_tcm30-214069.pdf](https://www.miteco.gob.es/es/agua/publicaciones/03_Manual_Directiva_91_271_CEE_tcm30-214069.pdf) (Accessed: 5 May 2023).
43. Valladolid, I.U. de (2014) ‘Procedimiento Normalizado de Trabajo PNT-16-01’. Available at: [https://docs.google.com/document/d/0B1HLfgj-4VcWYW91NkNCb1JySXc/edit?resourcekey=0-AZ2ub5L\\_ZcNjPRQDJeGITg](https://docs.google.com/document/d/0B1HLfgj-4VcWYW91NkNCb1JySXc/edit?resourcekey=0-AZ2ub5L_ZcNjPRQDJeGITg).
44. Vilanova, R., Pedret, C. and Santín, I. (2017) ‘Control en Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales: Estado actual y perspectivas’, *Revista Iberoamericana de Automática e Informática Industrial*, 14, pp. 329–345. Available at: <https://polipapers.upv.es/index.php/RIAI/article/view/9178>.
45. Zaballa, I.J. *et al.* (2016) ‘Remoción biológica de nitrógeno y fósforo en aguas residuales por parte de microalgas y bacterias co-inmovilizadas’, *IFRH 2016 3er encuentro de Investigadores en Formación en Recursos Hídricos*, p. 6.

## ANEXOS

### Anexo 1: Recta de calibración de amonio



### Anexo 2: Planta piloto

