



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA**  
**INGENIERÍA AMBIENTAL – AGUA**

**TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL Y LIXIVIADO MEDIANTE EL CULTIVO**  
**DE MICROALGAS EN UN REACTOR DE ALTA TASA**

TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:  
IQ VERÓNICA RODRÍGUEZ MUÑIZ

TUTOR PRINCIPAL:  
DR. IGNACIO MONJE RAMÍREZ, INSTITUTO DE INGENIERÍA

COMITÉ TUTOR:  
DRA. PETIA MIJAYLOVA NACHEVA, INSTITUTO MEXICANO DE TECNOLOGÍA  
DEL AGUA  
DR. GERMÁN BUITRÓN MÉNDEZ, INSTITUTO DE INGENIERÍA

Ciudad Universitaria, CDMX. DICIEMBRE 2017



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **JURADO ASIGNADO:**

Presidente: Dr. Germán Buitrón Méndez

Secretario: Dra. Petia Mijaylova Nacheva

Vocal: Dr. Guillermo Quijano Govantes

1er. Suplente: Dr. Armando González Sánchez

2do. Suplente: Dr. Ignacio Monje Ramírez

Lugar donde se realizó la tesis: Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM, que cuenta con la certificación ISO 9001:2008, otorgada por el Instituto Mexicano de Normalización y Certificación A.C. (IMNC), con registro RSGC 960 de fecha 11 de enero de 2016, vigente al 11 de enero de 2019.

## **TUTOR DE TESIS:**

-----  
Dr. Ignacio Monje Ramírez

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería de la UNAM, por abrirme sus puertas para enriquecer mi formación académica y personal.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), CVU 708208, por la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría.

Al proyecto 220704 del Fondo Sectorial CONACYT – SENER – Sustentabilidad Energética, por proporcionar los recursos para la realización de este trabajo.

A mi tutor, el Dr. Ignacio Monje Ramírez, por toda la asesoría que me brindó a lo largo de la maestría, pero sobre todo por su amistad. Sin su ayuda, esto no podría ser posible.

A los integrantes de mi jurado: Dr. Germán Buitrón, Dra. Petia Mijaylova, Dr. Guillermo Quijano y Dr. Armando González, por sus múltiples consejos, observaciones y recomendaciones durante la realización de esta tesis.

A la Dra. María Teresa Orta Ledesma, por permitirme ser parte de su grupo de investigación.

A la Maestra Isaura Yáñez, por todo su apoyo durante mi estancia en el Instituto de Ingeniería.

Al personal del Instituto de Ingeniería y del Laboratorio de Ingeniería Ambiental, por toda la ayuda brindada.

## **DEDICATORIA**

A mis padres, Silvia Muñiz y Juan Rodríguez, por todo el apoyo y cariño que me han brindado en todas las etapas de mi vida. Este logro también es de ustedes.

A mis abuelos, tíos y primos, por estar en las buenas y en las malas siempre.

A Víctor Gracia y José Rodríguez, por ser los mejores amigos que podría tener. Gracias por estar conmigo por casi siete años.

A mis amigos de la licenciatura: Monse, Mariana, Ale, Juan Luis, Gerardo y Óscar, por brindarme su amistad desde que nos conocimos.

A Teresa Valeriano y Andrea Hernández, por los buenos momentos compartidos dentro y fuera del laboratorio, así como también por su amistad.

A Mariana Franco, por la ayuda brindada en la realización de este trabajo.

A mis amigos y compañeros del Instituto de Ingeniería: Elisa, Isaac, Tania, Santiago, Lalo, Gustavo, Erick, Lidia y Axa. Gracias por todas las risas compartidas, y por hacer de los momentos de estrés más llevaderos.

# CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS .....	7
LISTA DE TABLAS .....	8
RESUMEN .....	9
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUCCIÓN .....	11
2. MARCO TEÓRICO .....	13
2.1 Tratamiento de agua residual mediante microalgas .....	13
2.2 Generación y composición de lixiviado .....	17
2.3 Tratamiento de lixiviado .....	19
2.4 Tratamiento de lixiviado con microalgas.....	21
3. OBJETIVOS .....	32
3.1 Objetivo general.....	32
3.2 Objetivos particulares .....	32
4. HIPÓTESIS.....	32
5. METODOLOGÍA .....	33
5.1 Lixiviado .....	34
5.1.1 Muestreo de lixiviado.....	34
5.1.2 Caracterización del lixiviado.....	36
5.2 Agua residual.....	37
5.2.1 Muestreo y caracterización del agua residual.....	37
5.3 Cultivo del consorcio microalgal en lixiviado .....	37
5.3.1 Consorcio microalgal .....	37
5.3.2 Arreglo experimental .....	38
5.3.3 Diseño de experimentos.....	40
5.4 Reactor de alta tasa.....	41
5.4.1 Dimensionamiento y equipamiento .....	41
5.4.2 Operación del reactor de alta tasa .....	42
5.5 Perfil lipídico .....	44
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	45
6.1 Características fisicoquímicas del lixiviado .....	45
6.2 Características fisicoquímicas del agua residual.....	46

6.3	Cultivo del consorcio microalgal en lixiviado y remoción de nutrientes .....	46
6.4	Análisis estadístico.....	57
6.5	Cultivo de microalgas en mezclas de agua residual y lixiviado en un reactor de alta tasa.....	59
6.5.1	Operación por lote .....	59
6.5.2	Operación en continuo .....	61
6.6	Balance de nitrógeno durante la operación en continuo .....	68
6.7	Perfil lipídico del consorcio microalgal en lixiviado .....	72
7.	CONCLUSIONES.....	74
	PERSPECTIVAS .....	75
	BIBLIOGRAFÍA .....	76

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principio del proceso de remoción de materia orgánica mediante sistemas de microalgas-bacterias .....	14
Figura 2. Asimilación de nitrógeno en las células de las microalgas .....	28
Figura 3. Reactores para el cultivo de microalgas. A) Fotobiorreactor abierto. B) Fotobiorreactor cerrado .....	29
Figura 4. Metodología general. ....	33
Figura 5. Ubicación de Bordo Poniente y sus etapas.....	34
Figura 6. Muestreo de lixiviado. ....	35
Figura 7. Consorcio microalgal con predominio de <i>Scenedesmus obliquus</i> . ....	37
Figura 8. Arreglo experimental. ....	39
Figura 9. Reactor de alta tasa. ....	42
Figura 10. Comportamiento del pH durante el cultivo de microalgas.....	47
Figura 11. Crecimiento de microalgas medido como SST. ....	48
Figura 12. Remoción de nitrógeno amoniacal durante el cultivo de microalgas. ....	48
Figura 13. Remoción de nitratos durante el cultivo de microalgas. ....	49
Figura 14. Remoción de ortofosfatos durante el cultivo de microalgas. ....	49
Figura 15. ANOVA.....	57
Figura 16. Gráficas de interacción. ....	58
Figura 17. Remoción de nutrientes y crecimiento de biomasa microalgal en la operación por lote del HRAP. ....	60
Figura 18. Gráfica de $\ln(x/x_0)$ VS tiempo.....	63
Figura 19. Biomasa obtenida durante la operación en continuo del HRAP. ....	64
Figura 20. Remoción de nutrientes durante la operación del HRAP. ....	67
Figura 21. Esquema del balance de nitrógeno .....	68
Figura 22. Fracción de amoniaco en función de la temperatura y el pH (Capodaglio, Hlavínek, and Raboni 2014).....	70



## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Porcentaje de remoción de N y P en tratamiento de agua residual con microalgas.....	15
Tabla 2. Carga contaminante de agua residual doméstica y lixiviado .....	17
Tabla 3. Características de los lixiviados en función a su edad (Renou et al. 2008). .....	18
Tabla 4. Ventajas y desventajas de los principales sistemas de tratamiento de lixiviados (Bastos Sousa 2010) .....	20
Tabla 5. Comparación de la composición de diferentes medios para el cultivo de microalgas. ....	22
Tabla 6. Estudios de cultivo de microalgas utilizando lixiviado de rellenos sanitarios. ....	24
Tabla 7. Principales ventajas y desventajas de los sistemas abiertos y cerrados (Kumar et al. 2015). ....	30
Tabla 8. Parámetros fisicoquímicos medidos en las muestras de lixiviado.....	36
Tabla 9. Parámetros operacionales HRAP. ....	43
Tabla 10. Caracterización fisicoquímica del lixiviado.....	45
Tabla 11. Caracterización fisicoquímica del agua residual .....	46
Tabla 12. Remoción de nutrientes. ....	50
Tabla 13. Velocidad de consumo de nutrientes.....	51
Tabla 14. Comparación de resultados de remoción de nutrientes con lo reportado por otros autores. ....	53
Tabla 15. Condiciones de operación reportadas por otros autores. ....	54
Tabla 16. Remoción de materia orgánica.....	55
Tabla 17. Contenido de lípidos y carbohidratos presentes en la biomasa microalgal. ....	56
Tabla 18. Remoción de nutrientes y crecimiento de biomasa microalgal en la operación por lote del HRAP (promedio de tres ciclos de operación). ....	59
Tabla 19. Porcentaje de remoción de nutrientes en la operación por lote del HRAP.....	61
Tabla 20. Tasa de crecimiento. ....	63
Tabla 21. Remoción de nutrientes durante la operación del HRAP. ....	66
Tabla 22. Perfil de ácidos grasos y abundancia relativa del consorcio microalgal utilizado. ....	72

## RESUMEN

Se evaluó el tratamiento de agua residual doméstica y lixiviado de relleno sanitario mediante el cultivo de un consorcio de microalgas-bacterias en un reactor de alta tasa.

En una primera etapa, se realizaron cultivos de microalgas por lote, utilizando diferentes volúmenes de lixiviado, tomando como base tres diferentes concentraciones de nitrógeno amoniacal (alta, media y baja), y controlando el pH mediante la adición de CO<sub>2</sub>. Para determinar qué concentración de nitrógeno amoniacal fue la mejor respecto a la remoción de nutrientes y generación de biomasa, se realizó un análisis estadístico, cuyos resultados arrojaron que la concentración más alta de nitrógeno fue la mejor, y que el control del pH no tuvo diferencia significativa entre los experimentos.

Posteriormente, se llevó a cabo la operación del reactor de alta tasa primero con agua residual por lote, y después en continuo con una mezcla de agua residual y lixiviado, cuya concentración de nitrógeno amoniacal fue de 300 mg/L (la más alta utilizada durante el diseño de experimentos). Durante la operación del reactor se realizó un balance de nitrógeno, en el cual se concluyó que la desorción de este elemento es el principal proceso de remoción.

Se realizó el perfil lipídico con la biomasa obtenida durante la operación en continuo del reactor, el cual mostró que dicha biomasa es susceptible de ser utilizada para la generación de productos de valor agregado, como detergentes o emulsificantes.

Finalmente, se concluyó que el tratamiento de mezclas de agua residual y lixiviado es susceptible de ser realizado mediante el cultivo de microalgas-bacterias en un reactor de alta tasa, obteniéndose remociones mayores al 50% de materia orgánica medida como DQO, NTK y nitrógeno amoniacal.

## **ABSTRACT**

The domestic wastewater and landfill leachate treatment by a microalgae-bacteria consortium in a High-Rate Algal Pond was evaluated.

First, several batch microalgae cultures were carried out using different leachate ratios, considering three different ammonia nitrogen concentrations (low, medium and high), and controlling pH with the addition of CO<sub>2</sub>. To determine which concentration of ammonia nitrogen produced more biomass and removed more nutrients a statistical analysis was done. The results obtained showed that the highest concentration was the best, and the pH control had no significant difference between the trials.

Afterward, the operation of the reactor was carried out in two modes: first in batch using wastewater and then in continuous with a mixture of wastewater and leachate with the highest ammonia nitrogen concentration used during the experimental design (300 mg/L). A nitrogen mass balance was performed. According to the results, nitrogen removal was mainly due to nitrogen stripping.

The lipid profile of the biomass obtained during the continuous operation showed that microalgae biomass could be used for the generation of value-added products, like detergents and emulsifiers.

Finally, it was concluded that using microalgae-bacteria cultures in a High-Rate Algal Pond is a feasible option for wastewater and leachate treatment since more than 50% of the organic matter (Chemical Oxygen Demand), Total Kjeldahl Nitrogen and ammonia nitrogen was removed.

# 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, uno de los problemas más graves que enfrentan las ciudades en México es la generación y la inadecuada disposición -generalmente en tiraderos a cielo abierto- de los Residuos Sólidos Urbanos (RSU), los cuales al descomponerse originan un líquido de compleja composición denominado lixiviado.

La Ciudad de México es el principal centro político, económico y cultural del país, así como la entidad federativa con mayor población, después del Estado de México, lo que implica un aumento en la generación de RSU. De acuerdo con datos estadísticos, tan sólo en la Ciudad de México en 2015 se generaron 12,843 ton/día de RSU, con una producción per cápita estimada entre 0.85 y 2.42 kg·día/hab. Del total de RSU generados, el 67% se dispuso en rellenos sanitarios localizados en el Estado de México y Morelos (SEDEMA 2015).

A pesar de que actualmente existen nuevas tecnologías para la disposición de los RSU, en México los rellenos sanitarios son el sistema más utilizado para el confinamiento, ya que son considerados un método eficiente, económico, poco contaminante y seguro para disponer RSU (Alkalay et al. 1998); sin embargo, la generación de grandes volúmenes de lixiviados en estos sitios es uno de sus principales inconvenientes.

Los lixiviados de rellenos sanitarios contienen altas concentraciones de contaminantes orgánicos e inorgánicos, incluyendo materia recalcitrante como los ácidos húmicos, compuestos de origen sintético, nitrógeno amoniacal y metales pesados, así como sales inorgánicas (De Moraes and Zamora 2005; Wiszniowski et al. 2006). Debido al impacto que pueden ocasionar en el medio ambiente por su capacidad de migración y contaminación del subsuelo y fuentes de agua, es de suma importancia que reciban un manejo y tratamiento adecuado.

La cantidad de lixiviado que se genera en un relleno sanitario es variable, y depende de factores ambientales (precipitación pluvial, grado de infiltración y evaporación de agua, temperatura), de las características de los residuos sólidos (tipo y contenido de humedad), y del diseño y la operación del relleno sanitario (Renou et al. 2008). Por ejemplo, un relleno sanitario con un área superficial de 40 Ha puede llegar a producir hasta 28000 m<sup>3</sup> de lixiviado por año, si la percolación neta de agua es similar a los 0.07 m<sup>3</sup> de agua por metro cuadrado de terreno por año (Qasim and Chiang 1994).

Para el tratamiento de los lixiviados se han utilizado métodos fisicoquímicos (coagulación-floculación, precipitación química, adsorción con carbón activado, filtración con membranas) y biológicos (reactor de lodos activados, lagunas aireadas, reactor anaerobio). El inconveniente de los fisicoquímicos radica en su elevado costo de operación y la generación de subproductos tóxicos (lodos

químicos), mientras que con los biológicos se tienen problemas de inhibición de los microorganismos (Bastos Sousa 2010).

En la Ciudad de México hasta 2011 operó uno de los sitios de disposición de residuos más grandes del mundo, "Bordo Poniente", el cual es uno de los pocos rellenos sanitarios en el país que cuenta con una planta de tratamiento de lixiviados en el sitio, además de lagunas de evaporación. Actualmente, la planta se encuentra fuera de operación por falta de recursos.

Considerando que en la actualidad es poco probable la reducción en la generación de los RSU en México, es imperativo realizar investigaciones en las cuales se trate de mejorar las tecnologías existentes.

En este contexto, existen estudios donde se busca tratar lixiviado de relleno sanitario mediante el uso de microalgas (Lin et al. 2007; Mustafa, Phang, and Chu 2012; Edmundson and Wilkie 2013; Richards and Mullins 2013; Zhao et al. 2014; Sforza et al. 2015). Hasta el momento se han obtenido resultados favorables a escala laboratorio; sin embargo, es necesaria más investigación para que dichos sistemas puedan ser aplicados a gran escala.

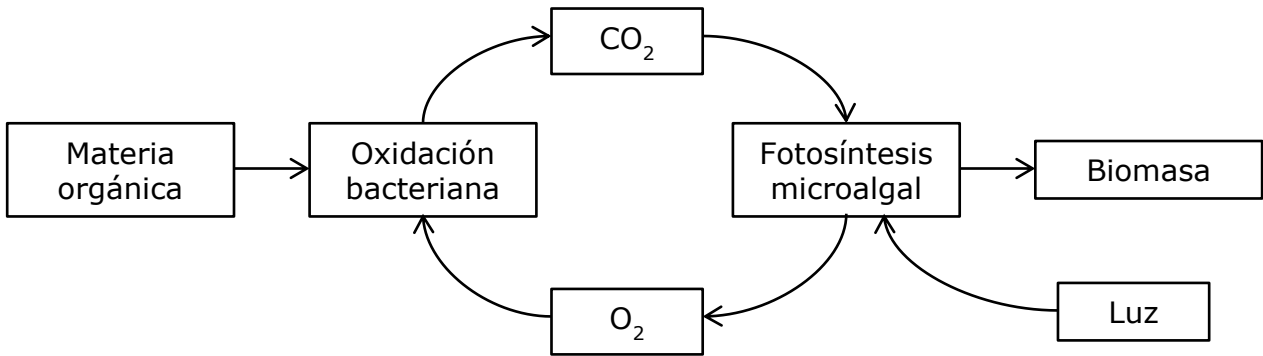
## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1 Tratamiento de agua residual mediante microalgas**

En años recientes, se ha observado que los ecosistemas acuáticos están siendo severamente afectados por las actividades antropogénicas, como la urbanización, industrialización y agricultura. Todas estas actividades incrementan la cantidad de nutrientes que ingresan a los cuerpos de agua, especialmente nitrógeno y fósforo, los cuales son los principales causantes de la eutrofización (Mennaa, Arbib, and Perales 2015). La eutrofización se define como el aumento de nutrientes en el agua, especialmente de compuestos de nitrógeno y fósforo, lo cual causa un aumento acelerado de algas y otras plantas, produciendo una perturbación indeseable al equilibrio de organismos y a la calidad del cuerpo de agua (Mennaa, Arbib, and Perales 2015).

La eutrofización ha llevado al desarrollo de procesos para la remoción de nutrientes del agua residual, utilizando métodos físicos, químicos y biológicos. Estos procesos incluyen diferentes operaciones para remover sólidos, materia orgánica y nutrientes mediante la combinación de zonas aerobias, anaerobias y anóxicas; sin embargo, la principal desventaja de estas tecnologías son los altos costos de construcción, la compleja operación y el gran volumen de lodos que se genera (Mennaa, Arbib, and Perales 2015).

El uso de sistemas biológicos con microalgas y bacterias heterotróficas aerobias como tratamiento terciario de agua residual doméstica, fue propuesto por el profesor Oswald en 1957 (Oswald et al. 1957). En este tipo de sistemas, las microalgas juegan un papel fundamental durante el tratamiento del agua residual, ya que facilitan la remoción de nutrientes (nitrógeno y fósforo), metales pesados y patógenos; además, proporcionan oxígeno para que las bacterias heterotróficas aerobias puedan oxidar la materia orgánica presente en el medio y generar dióxido de carbono, el cual es utilizado por las microalgas durante la fotosíntesis (Muñoz and Guieysse 2006; Oswald et al. 1955). De esta forma, la descomposición de la materia orgánica por las bacterias ocurre al mismo tiempo que nueva materia orgánica está siendo sintetizada por acción de las microalgas, siempre y cuando exista luz disponible como fuente de energía (Oswald et al. 1955). Dicho proceso se esquematiza en la Figura 1 (Muñoz and Guieysse 2006; Oswald et al. 1955).



**Figura 1. Principio del proceso de remoción de materia orgánica mediante sistemas de microalgas-bacterias**

Durante la última década, el tratamiento de agua residual mediante el uso de sistemas de microalgas-bacterias es una idea que está tomando impulso debido a dos principales ventajas que éstos poseen en comparación con otros procesos biológicos. La primera es que el tratamiento de agua residual mediante microalgas demanda un menor consumo energético en comparación con los sistemas tradicionales que utilizan aireadores electromecánicos, debido a que el oxígeno es proporcionado mediante la fotosíntesis de estos microorganismos. La segunda es que las microalgas son capaces de remover nitrógeno y fósforo en una sola etapa para producir biomasa que puede ser convertida, por ejemplo, en biocombustibles. Por el otro lado, los sistemas tradicionales de tratamiento de agua residual remueven estos compuestos en dos procesos separados: nitrificación-desnitrificación y precipitación química, respectivamente (Beuckels, Smolders, and Muylaert 2015).

Existen estudios donde se busca tratar agua residual mediante sistemas de microalgas-bacterias. Algunas de las investigaciones más recientes en esta área se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1. Porcentaje de remoción de N y P en tratamiento de agua residual con microalgas.**

<b>Configuración</b>	<b>Medio de cultivo</b>	<b>Microalgas y tipo de agregación</b>	<b>Remoción de nitrógeno (%)</b>	<b>Remoción de fósforo (%)</b>	<b>Referencia</b>
Botellas de vidrio borosilicato (2 L)	Agua residual doméstica	Consorcio con predominio de <i>Desmodesmus sp.</i>	84	60	(Komolafe et al. 2014)
Reactor de alta tasa (12 m <sup>3</sup> )	Efluente de cultivo pecuario	Flóculos de microalgas-bacterias	31	64	(Van Den Hende et al. 2014)
Reactor biológico secuencial (4 L)	Agua residual de industria alimenticia	Flóculos de microalgas-bacterias	58	89	(Van Den Hende et al. 2014)
Botellas de vidrio borosilicato (2 L)	Agua residual doméstica	<i>Botryococcus braunii</i>	85	80	(Mennaa, Arbib, and Perales 2015)
Reactor de alta tasa (180 L)	Agua residual doméstica	Consorcio conformado por <i>Chlorella sp.</i> , <i>Chloroidium saccharophilum</i> y <i>Pseudanabaena sp.</i>	87	84	(Posadas et al. 2017)
Fotobiorreactor aerobio-anóxico (3.6 L)	Agua residual doméstica	Consorcio de <i>microalgas-bacterias</i>	81	67	(García, Alcántara, et al. 2017)
Fotobiorreactor (3 L)	Purines de cerdo	Consorcio conformado por <i>Chlorella minutissim</i> , <i>Acutodesmus obliquus</i> y <i>Aphanothece sp.</i>	83	91	(García, Posadas, et al. 2017)



En tiempos recientes, ha habido un creciente interés en el tratamiento de agua residual mediante el uso de reactores de alta tasa, o High-Rate Algal Pond (HRAP) por su nombre en inglés, debido al bajo costo energético y a la simpleza de su operación en comparación con los reactores de lodos activados, los cuales actualmente son el sistema más empleado para el tratamiento de agua residual en Estados Unidos (Young, Taylor, and Fallowfield 2017).

Los reactores de alta tasa se caracterizan por ser sistemas abiertos en forma de circuito divididos por el centro, los cuales pueden ser provistos con mamparas en los extremos, además de un sistema de agitación mediante paletas. Desde su desarrollo en la Universidad de California a mediados del siglo XX, los reactores de alta tasa han sido utilizados en diferentes países para tratar agua residual doméstica, de granjas lecheras, de la curtiduría y purines de cerdo (Young, Taylor, and Fallowfield 2017).

De acuerdo a datos reportados en la literatura, se han obtenido remociones promedio de 59% de DBO<sub>5</sub>, 61% de nitrógeno total y 42% de fósforo total cuando se utilizan reactores de alta tasa para el tratamiento de agua residual doméstica (Young, Taylor, and Fallowfield 2017).

A pesar de que muchos estudios sugieren el uso de agua residual, el contenido de nitrógeno que éstas poseen es insuficiente para mantener un cultivo de microalgas a gran escala cuando se tiene como objetivo la producción de biocombustibles (Peccia et al. 2013). Por ejemplo, la literatura señala que la relación N:P óptima para que las microalgas del género *Scenedesmus* crezcan sin limitación, es alrededor de 30. Por debajo de ese valor existe limitación por nitrógeno, mientras que por arriba de ese valor hay limitación por fósforo (Rhee 1978). Así bien, para cumplir con dicho objetivo, es importante evaluar alternativas que permitan proporcionar la concentración y la relación necesaria de nutrientes para una alta producción de biomasa microalgal. Dentro de estas alternativas se ha planteado el uso de lixiviado de relleno sanitario, en una mezcla con agua residual, tomando en cuenta el alto contenido de nitrógeno amoniacal que éstos pueden aportar.

## 2.2 Generación y composición de lixiviado

Durante la operación de los rellenos sanitarios se originan dos tipos de emisiones: las gaseosas y las líquidas; las primeras están compuestas principalmente por metano y dióxido de carbono, mientras que las segundas son corrientes líquidas complejas denominadas lixiviados.

Los lixiviados se definen como el efluente generado debido a la percolación del agua de lluvia a través de los residuos, al agua producida de la degradación de la basura y al agua presente en los residuos al momento de ser dispuestos (Renou et al. 2008), y se caracterizan por tener altas concentraciones de compuestos químicos tóxicos y cancerígenos, metales pesados, materia orgánica e inorgánica, nitrógeno amoniacal y sales inorgánicas (Gotvajn and Pavko 2015). Es importante mencionar que la carga contaminante de estos efluentes es superior a la de un agua residual municipal y a la de muchos desechos industriales (Monje Ramírez 2004), lo cual se puede apreciar en la Tabla 2.

**Tabla 2. Carga contaminante de agua residual doméstica y lixiviado**

<b>Componente</b>	<b>Agua residual doméstica<sup>(1)</sup></b>	<b>Lixiviado<sup>(2)</sup></b>	<b>Purines de cerdo<sup>(3)</sup></b>
DQO (mg/L)	1000	5127.32	3339 - 40498
DBO <sub>5</sub> (mg/L)	400	608.14	2494 - 11697
Nitrógeno total (mg/L)	85	1464.92	1110 - 3213
Fósforo total (mg/L)	15	SD	310 - 987

<sup>1</sup> (Metcalf&Eddy 2002); <sup>2</sup> (Alcántar Negrete 2015) ; <sup>3</sup> (Arango Muñoz 2015); SD: Sin dato

La generación de lixiviados es variable y depende de factores ambientales (precipitación pluvial, grado de infiltración y evaporación de agua, temperatura), de las características de los residuos sólidos (tipo y contenido de humedad), y del diseño y la operación del relleno sanitario (Renou et al. 2008); sin embargo, la cantidad total de lixiviado producido puede ser estimado usando datos empíricos basados en mediciones de flujo, o usando balances de agua entre lluvia, evapotranspiración, escorrentía superficial y capacidad de almacenamiento de humedad (Gotvajn and Pavko 2015).

Por otro lado, la composición química de un lixiviado cambia durante la degradación de los residuos sólidos biodegradables, y se encuentra estrechamente relacionada con la edad del relleno sanitario y con el grado de estabilización de los residuos sólidos. Con relación a la edad del relleno sanitario, tres tipos de lixiviado han sido identificados (Tabla 3).

**Tabla 3. Características de los lixiviados en función a su edad (Renou et al. 2008).**

<b>Característica</b>	<b>Joven</b>	<b>Medio</b>	<b>Viejo</b>
<b>Edad (años)</b>	< 5	5-10	> 10
<b>pH</b>	6.5	6.5-7.5	> 7.5
<b>DQO (mg/L)</b>	> 10,000	4000-10,000	< 4000
<b>DBO<sub>5</sub>/DQO</b>	> 0.3	0.1-0.3	< 0.1
<b>Metales pesados</b>	Bajo-Medio	SD	Bajo
<b>Biodegradabilidad</b>	Alta	Media	Baja

SD: Sin dato

De acuerdo a la Tabla 3, se observa que la concentración de compuestos orgánicos e inorgánicos, expresada como DQO y DBO<sub>5</sub> en los lixiviados jóvenes es alta, mientras que en los lixiviados viejos dichos parámetros son menores, debido a los procesos de estabilización biótica que se desarrollan en los rellenos sanitarios (Gotvajn and Pavko 2015).

Finalmente, es importante mencionar que el tratamiento óptimo de los lixiviados puede cambiar con el tiempo, debido a la calidad y cantidad variable del lixiviado, al desarrollo de nuevas tecnologías y a la legislación (Gotvajn and Pavko 2015).

### **2.3 Tratamiento de lixiviado**

Con el fin de reducir los posibles impactos negativos al medioambiente, se deben aplicar procesos de tratamiento eficaces. El mayor desafío en el tratamiento de lixiviados consiste en la alta variabilidad de éstos y las altas cantidades de compuestos tóxicos que presentan. Existe una amplia gama de tecnologías disponibles para su tratamiento, pero todas ellas poseen algunos inconvenientes asociados. La Tabla 4 presenta las ventajas y desventajas de los principales sistemas de tratamiento de lixiviados.

De acuerdo a la Tabla 4, se observa que los tratamientos biológicos ofrecen diversas ventajas, como bajos costos de operación, la generación de lodo valioso, y la posibilidad de utilizar las capacidades metabólicas de los organismos para la degradación de una amplia gama de contaminantes (Bastos Sousa 2010).

**Tabla 4. Ventajas y desventajas de los principales sistemas de tratamiento de lixiviados (Bastos Sousa 2010)**

	<b>Tratamiento</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
<b>Fisicoquímico</b>	Coagulación - floculación	Alta tasa remoción de contaminantes.	Incremento en la generación de lodos tóxicos, costo de los coagulantes, sensibilidad en el pH.
	Precipitación química	Bajo costo de los agentes precipitantes, simplicidad operacional	Incremento en la generación de lodos tóxicos, sensibilidad en el pH.
	Adsorción con carbón activado	Alta tasa de remoción de contaminantes.	Generación de lodos tóxicos, costo por la regeneración del carbón.
	Ozonación	Oxidación de compuestos refractarios, mejoras en la biodegradabilidad de compuestos recalcitrantes	Altos costos de operación debido al consumo de electricidad para la generación de ozono.
	Filtración con membranas	Alta tasa de remoción de contaminantes.	Generación de un concentrado tóxico, ensuciamiento de la membrana.
<b>Biológico</b>	Reactor de lodos activados	Proceso simple.	Consumo de energía elevado debido a la aireación, sensibilidad de los microorganismos.
	Lagunas aireadas	Bajo costo de construcción, proceso simple, alta tasa de remoción de contaminantes	Área de construcción grande, generación de olor, "bloom" de algas, invasión de insectos.
	Anaerobio	Alta tasa de remoción de DBO, baja producción de lodos, generación de metano.	Fragilidad de los microorganismos debido a la alta concentración de nitrógeno amoniacal y presencia de metales pesados.
	Fotobiorreactor abierto (HRAP)	Alta tasa de remoción de contaminantes, aireación biológica, generación de biomasa microalgal.	Área de construcción grande.
	Fotobiorreactor cerrado	Alta tasa de remoción de contaminantes, aireación biológica, generación de biomasa microalgal.	Sistema costoso.

Desafortunadamente en México, el tratamiento de lixiviados no es una práctica común. En la mayoría de los rellenos sanitarios donde se tiene un control adecuado, los lixiviados se disponen en lagunas de evaporación. Su éxito en el país radica en que son sistemas relativamente fáciles de operar; sin embargo, se demandan superficies considerables, pudiendo presentarse serios problemas durante la época de lluvias debido a una sobreproducción en los lixiviados. Hasta el año 2007, en el territorio nacional existían alrededor de 67 rellenos sanitarios de los cuales únicamente 10 contaban con lagunas de evaporación (Rojas Valencia 2007). En este contexto, es importante mencionar que Bordo Poniente es uno de los pocos rellenos sanitarios que cuenta con una planta de tratamiento de lixiviados en el sitio, además de lagunas de evaporación. La planta consta de dos módulos que operan en forma paralela con gasto de 1.5 L/s, respectivamente, la cual fue diseñada para tratar los lixiviados de las etapas I y II. El tratamiento consiste en la aplicación de una combinación de métodos fisicoquímicos: acidificación, neutralización, coagulación, oxidación química y filtración en arena. La remoción de materia orgánica es baja (de 40 a 60% como DQO), y el costo de tratamiento elevado (\$12.9 USD/m<sup>3</sup> de lixiviado) debido al alto consumo de reactivos químicos (Monje Ramírez 2004). El efluente de tratamiento era utilizado para el riego de caminos del propio relleno sanitario. Actualmente la planta se encuentra fuera de operación por falta de recursos.

#### **2.4 Tratamiento de lixiviado con microalgas**

Como se mencionó anteriormente, el tratamiento de agua residual con microalgas presenta ventajas que son muy atractivas en los tiempos actuales en donde se busca aumentar la eficiencia energética y cerrar el ciclo mediante el reciclaje de elementos presentes en efluentes contaminantes.

A continuación se muestra una tabla comparativa de los nutrientes presentes en diferentes medios donde se puede realizar el cultivo de microalgas (Tabla 5).

**Tabla 5. Comparación de la composición de diferentes medios para el cultivo de microalgas.**

<b>Compuesto</b>	<b>Lixiviado <sup>(1)</sup></b>	<b>Agua residual doméstica <sup>(2)</sup></b>	<b>Medio basal bold <sup>(3)</sup></b>
<i>Macronutrientes (mg/L)</i>			
Nitrógeno total	980	70	41.2
Nitrógeno orgánico	-	25	-
Nitrógeno amoniacal	980	45	-
Nitritos	-	-	-
Nitratos	-	-	41.2
Fósforo total	13.2	12	53.2
Fósforo orgánico	-	4	
Fósforo inorgánico	-	8	
Potasio	980	7 - 15	106
Magnesio	88	4 - 10	7.4
Calcio	110	6 - 16	6.8
Hierro	16	-	1
Sodio	3700	40 - 70	86.3
Cloruros	1800	90	27.5
<i>Micronutrientes (mg/L)</i>			
Manganeso	0.11	0.2 - 0.4	0.5
Cobre	0.17	-	0.4
Zinc	0.06	-	2
Cobalto	0.07	-	0.1
<i>Metales tóxicos (mg/L)</i>			
Arsénico	0.13	-	-
Antimonio	<0.06*	-	-
Cadmio	<0.0032*	-	-
Cromo	0.12	-	-
Plomo	<0.013*	-	-
Selenio	<0.068*	-	-

<sup>1, 3</sup> (Edmundson and Wilkie 2013); <sup>2</sup> (Metcalf&Eddy 2002); \*Límite mínimo detectable

De acuerdo con la Tabla 5, se observa que los lixiviados poseen características para ser utilizados como medio de cultivo de microalgas. Es importante mencionar que el cultivo de microalgas utilizando como fuente de nutrientes lixiviados presentaría una función dual: por un lado el tratamiento de estos líquidos contaminantes y por el otro la producción de biomasa microalgal.

La literatura actual acerca del tratamiento de lixiviado con microalgas es escasa; sin embargo, algunos autores sugieren diluir el lixiviado con agua o aplicar aireación para que las microalgas puedan sobrevivir (Lin et al. 2007;

Mustafa, Phang, and Chu 2012; Cheung, Chu, and Wong 1993). Se ha reportado que a concentraciones del 10% de lixiviado el crecimiento es favorable; sin embargo, concentraciones mayores al 30% de lixiviado presentan un efecto inhibitorio o tóxico en el crecimiento del cultivo (Lin et al. 2007; Mustafa, Phang, and Chu 2012).

En la actualidad, se han realizado investigaciones en las cuales se busca utilizar lixiviado como fuente de nutrientes para el cultivo de microalgas (Tabla 6).



**Tabla 6. Estudios de cultivo de microalgas utilizando lixiviado de rellenos sanitarios.**

Suspensión de microalgas	Objetivo	Sistema	Medio de cultivo	Condiciones de operación	Observaciones	Productividad biomasa	Referencia
<i>Chlorella pyrenoidosa</i> y <i>Chlamydomonas snowiae</i>	Examinar la factibilidad del tratamiento de lixiviado con algas tolerantes al nitrógeno.	Matraces agitados	Lixiviado filtrado al 10, 30, 50 y 80% de concentración (diluido con agua destilada), y lixiviado al 100%	Agitación a 100 rpm e iluminación artificial con lámparas fluorescentes por fotoperiodos de 16:8 por 12 días.	Máximo crecimiento con concentración del 10%. Remoción de DQO, N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> y ortofosfatos de más del 60%.	-	(Lin et al. 2007)
Consortio de <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Scenedesmus quadricauda</i> , <i>Euglena gracilis</i> , <i>Ankistrodesmus convolutus</i> , <i>Chlorococcum oviforme</i>	Evaluar la biorremediación de lixiviados utilizando un consorcio de cinco géneros microalgales en un reactor de alta tasa.	Reactor de alta tasa (HRAP)	Lixiviado aireado	Reactor de 40 L de capacidad, 0.27 m <sup>2</sup> de área superficial y 0.15 m de profundidad. Velocidad de agitación de 15 cm/s. Tasa de alimentación de lixiviado de 1% y 2% y 4% a los días 1, 197 y 309, respectivamente.	Remoción de DQO, N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> y ortofosfatos de más del 85%.	2 - 5.54 g/L	(Mustafa, Phang, and Chu 2012)
<i>Scenedesmus cf. Rubescens</i>	Evaluar el potencial de los lixiviados como medio de cultivo para la producción de biomasa microalgal, comparando el crecimiento en Medio Basal Bold.	Matraces agitados	Lixiviado al 80% con control de pH	Aireación y regulación del pH con CO <sub>2</sub> . Iluminación artificial con lámparas fluorescentes por fotoperiodos de 24:0 (150 μmol fotones/m <sup>2</sup> s).	Lixiviado limitado en fósforo.	0.55 g/L día	(Edmundson and Wilkie 2013)

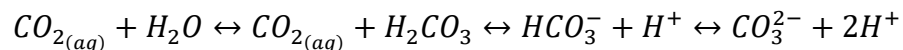
Suspensión de microalgas	Objetivo	Sistema	Medio de cultivo	Condiciones de operación	Observaciones	Productividad biomasa	Referencia
<i>Consortio de Nannochloropsis, Pavlova lutheri, Tetraselmis chuii, Chaetoceros muelleri</i>	Determinar el potencial de un consorcio de especies de microalgas marinas para el tratamiento de una mezcla de lixiviado con agua hipersalina, y evaluar el impacto de los metales presentes en el lixiviado sobre las tasas de crecimiento y mortalidad de estos microorganismos, además de la producción de lípidos.	Fotobiorreactores cilíndricos	Lixiviado filtrado	Dos fotobiorreactores, con capacidades de 2.5 y 12.5 L, respectivamente. Iluminación artificial por fotoperiodos de 12:12. Inyección de aire por el fondo, con flujos de 1250 mL/min para el primer reactor y 3260 mL/min para el segundo.	Remoción de más del 95% de los metales presentes a los 10 días.	Después de 10 días: 535 mg/L (primer reactor) y 667.5 mg/L (segundo reactor), en promedio	(Richards and Mullins 2013)
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Estudiar la factibilidad de cultivar microalgas usando lixiviado.	Matraces agitadas	Agua residual al 100% y lixiviado al 5, 10, 15 y 20% de concentración (diluido con agua residual)	Periodo de cultivo de 12 días. Flujo de aire de 100 mL/día. Iluminación artificial de 8000 lux por fotoperiodos de 20:4.	Máxima tasa específica de crecimiento y concentración de biomasa utilizando 10% de lixiviado. Se observó un efecto inhibitorio en el crecimiento utilizando 20% de lixiviado. Remoción de nitrógeno amoniacal y ortofosfatos de más del 95%.	1.58 g/L	(Zhao et al. 2014)

Suspensión de microalgas	Objetivo	Sistema	Medio de cultivo	Condiciones de operación	Observaciones	Productividad	Referencia
<i>Acutodesmus obliquus</i>	Evaluar la viabilidad de cultivar microalgas en lixiviado para la producción de biomasa y como forma de biorremediación.	Matraces agitados	Lixiviado sin estabilizar ni filtrar, al 10, 25, 34 y 50% de concentración, (diluido con agua desionizada), y lixiviado al 100%	Aireación con aire enriquecido con CO <sub>2</sub> al 5% e iluminación artificial continua (100 µmol/m <sup>2</sup> s).	Se obtuvo la mayor cantidad de biomasa utilizando 10% de lixiviado. Remoción N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> y ortofosfatos de más del 95%.	1.5 g/L	(Sforza et al. 2015)

De acuerdo a la Tabla 6, se infiere que es posible cultivar y tratar lixiviados utilizando microalgas. Se observa que en algunos casos es posible el cultivo de estos organismos utilizando 100% de lixiviado y controlando el pH; sin embargo, la mayoría de los estudios recomiendan utilizar solamente 10% para evitar la inhibición del crecimiento. De igual forma, se observa que se pueden obtener remociones de más del 90% de DQO, nitrógeno amoniacal y ortofosfatos, además de que en algunos casos se obtuvo remoción de los metales presentes en el lixiviado. Por otro lado, estos trabajos reportan que la mayor productividad de biomasa microalgal se obtiene con 10% de lixiviado, siendo éstas mayores a 1 g/L.

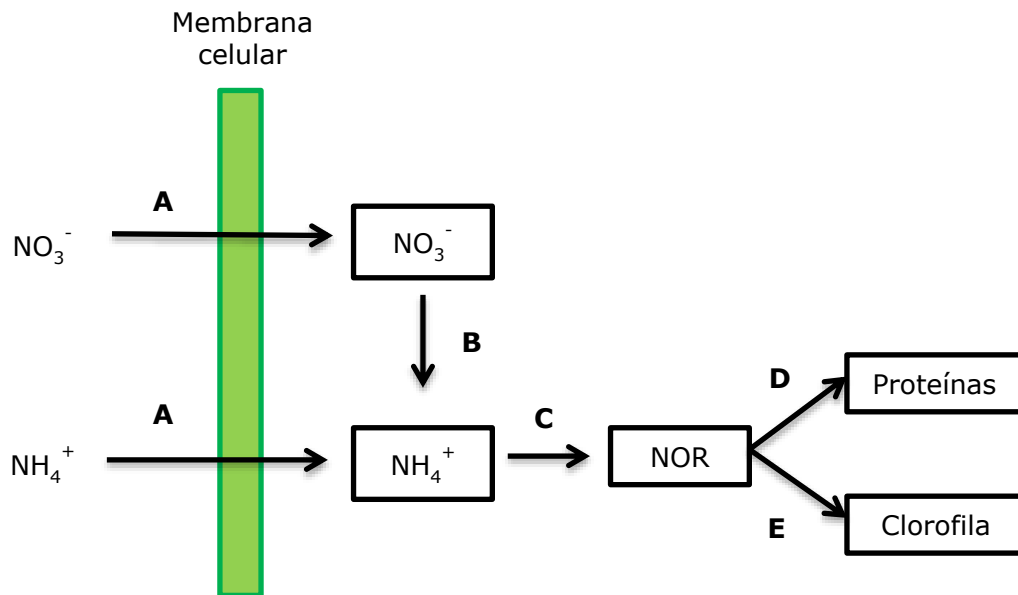
Las microalgas son microorganismos fotosintéticos unicelulares de rápido crecimiento, generalmente en el rango de tamaño de 1-400  $\mu\text{m}$  (Yu et al. 2017). Estos microorganismos utilizan la luz solar como fuente de energía, además de nutrientes como el carbono, nitrógeno y fósforo para su crecimiento (Razzak et al. 2017).

El carbono es principalmente asimilado en su forma inorgánica de  $\text{CO}_2$  por los microorganismos fotosintéticos; sin embargo, dado que la mayoría de las microalgas son microorganismos que crecen en hábitats acuáticos, el  $\text{CO}_2$  se disuelve en el sistema y, al reaccionar con las moléculas del agua, se forma un equilibrio ácido-base, el cual está representado en la siguiente reacción (Markou, Vandamme, and Muylaert 2014):



El equilibrio anterior depende del pH de la solución, lo que significa que la cantidad relativa de la especie de carbono inorgánico disuelto está estrictamente relacionada con el pH de la solución (Markou, Vandamme, and Muylaert 2014). Con base al equilibrio de las especies de carbono, y tomando en cuenta que la mayoría de las microalgas sobreviven a pH entre 6.5 y 10, la forma de carbono dominante es el bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), el cual es transportado dentro de las células de las microalgas para ser convertido a una forma orgánica a través del Ciclo de Calvin (Markou, Vandamme, and Muylaert 2014).

Otro de los nutrientes que es de suma importancia para el crecimiento de las microalgas es el nitrógeno, el cual no solamente es removido a través del metabolismo celular, sino también por un mecanismo al que se le conoce como "desorción".



- A. Sistema de transporte a través de la membrana.
- B. Conversión de nitrato a amonio mediante la enzima nitrato reductasa.
- C. Conversión de amonio a nitrógeno orgánico reducido.
- D. Síntesis de proteínas.
- E. Síntesis de clorofila.

**Figura 2. Asimilación de nitrógeno en las células de las microalgas**

El proceso de asimilación requiere nitrógeno únicamente en las formas de amonio y nitrato, los cuales son tomados en la membrana celular (Figura 2). A pesar de que la mayoría de las algas pueden tomar tanto amonio como nitrato, se prefiere el amonio ya que puede ser usado de manera más directa en la biosíntesis de aminoácidos. La conversión de nitrato en amonio requiere energía, además de la presencia de la enzima nitrato reductasa (Graham and Wilcox 2000).

Por otro lado, la desorción ocurre cuando el pH del medio aumenta debido a la actividad fotosintética de las microalgas (Picot et al. 1991). Algunos autores sugieren que la volatilización del amonio es el mecanismo más importante de remoción de nitrógeno en HRAP's (Garcia, Mujeriego, and Hernandez-Marine 2000).

El fósforo es otro macronutriente esencial para el crecimiento de las microalgas, las cuales lo consumen principalmente como ortofosfato; sin embargo, otras formas de fósforo orgánico e inorgánico también pueden ser utilizadas por las microalgas (Markou, Vandamme, and Muylaert 2014).

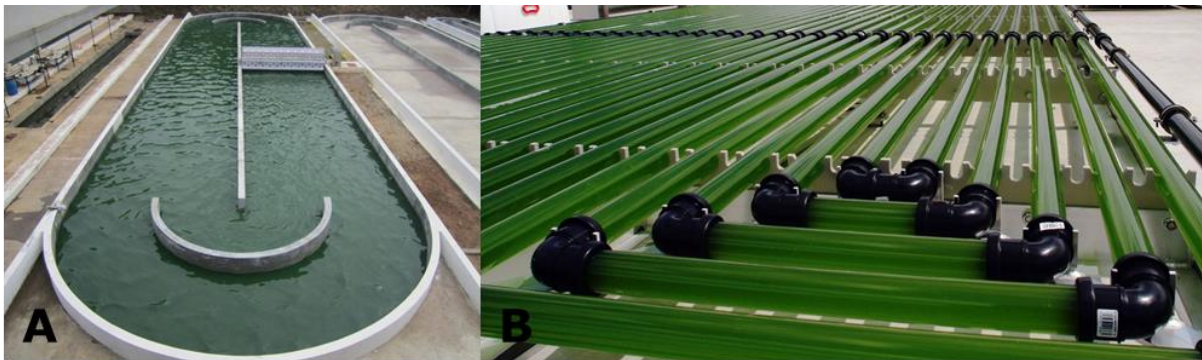
Además de las capacidades de remoción previamente mencionadas, se sabe que algunas especies de microalgas pueden acumular metales pesados, por lo cual pueden ser una opción para la remoción de este tipo de contaminantes (Richards and Mullins 2013). Asimismo, el aumento del pH en el medio debido

a la actividad fotosintética, puede contribuir a la remoción de bacterias patógenas presentes en el agua (Fallowfield, Cromar, and Evison 1996).

Por otra parte, los sistemas microalgales poseen otras ventajas de tipo operacionales. Al fijar dióxido de carbono y producir oxígeno, pueden ser utilizadas para oxigenar el agua, mejorando el posterior tratamiento biológico con microorganismos aerobios (Oswald 1988).

La producción de oxígeno y el consumo de dióxido de carbono hacen de este sistema más amigable con el medioambiente, contribuyendo a la mitigación de la emisión de gases de efecto invernadero y obteniendo bonos de carbono. Es importante mencionar que durante el tratamiento con microalgas no se necesita la adición de ninguna sustancia química, lo que trae como ventaja la reducción en la generación de lodos. La biomasa microalgal obtenida en estos sistemas puede ser utilizada como materia prima para producir biocombustibles o productos de alto valor agregado, como fertilizantes y pigmentos (Young, Taylor, and Fallowfield 2017).

Las microalgas pueden ser cultivadas en fotobiorreactores abiertos y cerrados (Figura 3).



**Figura 3. Reactores para el cultivo de microalgas. A) Fotobiorreactor abierto. B) Fotobiorreactor cerrado**

Los sistemas abiertos, a pesar de sus formas y diversos tamaños, destacan por ser semejantes al entorno natural de las microalgas. Los cultivos abiertos comprenden sistemas naturales (lagos, lagunas, estanques) y artificiales (estanques tipo circuito), siendo éstos últimos los de mayor uso para el tratamiento de agua residual mediante microalgas (Abdel-Raouf, Al-Homaidan, and Ibraheem 2012). Por otro lado, en los sistemas cerrados, es posible llevar a cabo la producción masiva de biomasa.

La Tabla 7 muestra las principales ventajas y desventajas de los sistemas abiertos y cerrados. Se observa que en los sistemas cerrados se obtienen altas

concentraciones de biomasa; sin embargo, los costos de operación son muy elevados y la escalabilidad es baja con la tecnología disponible actualmente. Por otro lado, en los sistemas abiertos se obtienen bajas concentraciones de biomasa, pero los costos de operación son menores. En este caso, es importante mencionar que hoy en día, la mayor parte de la instalación de producción de biomasa microalgal a gran escala se basa en sistemas abiertos en reactores de alta tasa, lo cual representa casi el 95% del total la producción de algas en todo el mundo (Mendoza et al. 2013).

**Tabla 7. Principales ventajas y desventajas de los sistemas abiertos y cerrados (Kumar et al. 2015).**

<b>Parámetro</b>	<b>Sistemas abiertos</b>	<b>Sistemas cerrados</b>
Área requerida	Alta	Baja
Concentración de biomasa	Baja (0.1 – 0.5 g/L)	Alta (0.5 – 8 g/L)
Pérdidas de agua	Altas	Bajas
Concentración de O <sub>2</sub>	Baja	Alta
Relación Área superficial/Volumen	Moderada $\frac{A_s}{V} = \frac{1}{h}$	Alta $\frac{A_s}{V} = \frac{4}{D}$
Limpieza	Fácil	Difícil
Escalabilidad	~ 10,000 m <sup>2</sup>	~ 100 m <sup>2</sup>
Escalabilidad mundial	95%	5%
Costos de operación	Bajos	Altos
Inversión	Altos (\$100,000/Ha)	Muy altos (\$250,000 - \$1,000,000/Ha)

Igualmente, es importante mencionar que para el tratamiento de lixiviados mediante reactores de alta tasa se han realizado muy pocos estudios, siendo uno de ellos el desarrollado por Mustafa y colaboradores (Mustafa, Phang, and Chu 2012). En dicho estudio, se alimentó un máximo de 4% de lixiviado (v/v), y se obtuvieron remociones de DQO, nitrógeno amoniacal y ortofosfatos de más del 85%, con un tiempo de retención hidráulico (TRH) de 100 días. A pesar de que se obtuvieron resultados favorables, se necesita mayor investigación para que estos sistemas puedan tratar una mayor cantidad de lixiviado.

Así bien, con la incorporación de lixiviado se busca cubrir las limitaciones en el crecimiento de microalgas por deficiencia de nitrógeno amoniacal que se presenta en el agua residual. De esta forma, se obtendrá un nivel de tratamiento de ambas corrientes contaminantes, además de la generación de una mayor cantidad de biomasa microalgal, la cual podría ser aprovechada para obtener subproductos de valor agregado.



## **3. OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivo general**

Evaluar el tratamiento de agua residual doméstica y lixiviado de relleno sanitario mediante el cultivo de un consorcio microalgal en un reactor de alta tasa.

### **3.2 Objetivos particulares**

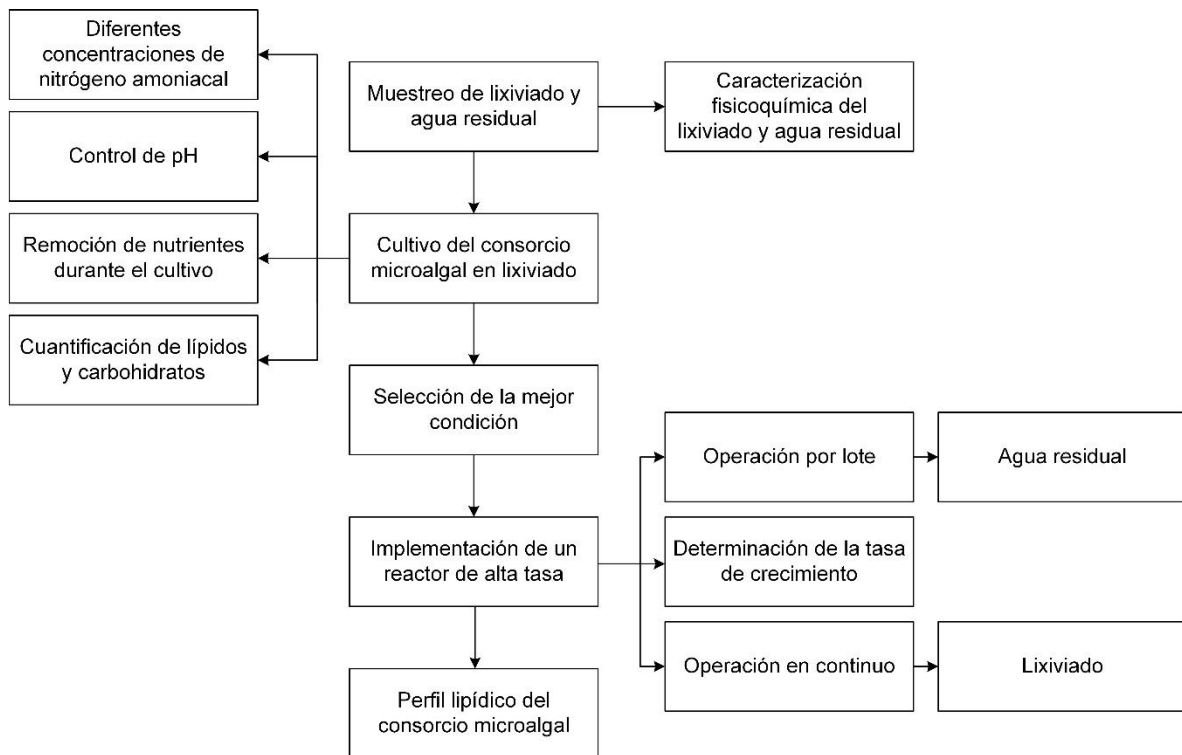
- Evaluar el crecimiento de la biomasa y el tratamiento de agua residual y lixiviado mediante el cultivo de un consorcio microalgal en reactores por lote, controlando el pH y utilizando diferentes concentraciones de nitrógeno amoniacal.
- Evaluar el tratamiento de agua residual y lixiviado en un reactor de alta tasa, utilizando la mejor condición de concentración de nitrógeno amoniacal y control de pH.
- Determinar el perfil lipídico del consorcio microalgal cultivado en el reactor de alta tasa.

## **4. HIPÓTESIS**

Al utilizar mezclas de agua residual y lixiviado como medio de nutrientes para el sistema de microalgas, se conseguirá una mayor cantidad de biomasa microalgal; además, se obtendrá la remoción de nutrientes (nitrógeno y fósforo), así como también de materia orgánica.

## 5. METODOLOGÍA

El diagrama de la Figura 4 representa de forma general la metodología desarrollada en el presente trabajo de investigación, la cual es explicada más adelante.



**Figura 4. Metodología general.**

## 5.1 Lixiviado

El lixiviado a tratar proviene de la Tercera Etapa del relleno sanitario Bordo Poniente, ubicado en la Zona Federal del ex Lago de Texcoco (Figura 5), el cual dejó de operar en 2011.



**Figura 5. Ubicación de Bordo Poniente y sus etapas.**

### 5.1.1 Muestreo de lixiviado

Se realizaron dos muestreos, uno en abril y otro en diciembre de 2016. El punto de muestreo fue en un cárcamo de almacenamiento de la Tercera Etapa de Bordo Poniente (Figura 6). El lixiviado se recolectó con una cubeta de plástico, la cual se enjuagó previamente con lixiviado antes de tomar la muestra definitiva, y se colocó en bidones de polietileno de 20 L.

El lixiviado, al ser el medio de cultivo en combinación con agua residual, para las microalgas, fue sometido a un proceso de filtrado rápido con un tipo de esponja comercial para retirar los sólidos. Posteriormente se ajustó el pH con HCl concentrado hasta un pH de 6.5, ya que algunos autores obtuvieron mejores resultados de esta forma (Edmundson and Wilkie 2013). Finalmente, fue almacenado en un cuarto frío a 4°C hasta su uso.



**Figura 6. Muestreo de lixiviado.**

### 5.1.2 Caracterización del lixiviado

La caracterización fisicoquímica del lixiviado comprendió los parámetros enlistados en la Tabla 8.

**Tabla 8. Parámetros fisicoquímicos medidos en las muestras de lixiviado.**

<b>Parámetro</b>	<b>Método analítico</b>	<b>Técnica de la determinación</b>
<b>Alcalinidad total</b>	*Método 2320 B	Método titulométrico. Medición de pH hasta 4.5 titulando con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.1 N
<b>DBO<sub>5</sub></b>	Método respirométrico	Medición directa con botellas OxiTop
<b>DQO</b>	Método 8000 HACH	Método colorimétrico. Medición en espectrofotómetro a 420 nm
<b>Nitrógeno amoniacal</b>	*Método titulométrico 4500-NH <sub>3</sub> E	Destilación con NaOH y posterior titulación con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.02 N
<b>Nitratos</b>	Método 8039 HACH	Método colorimétrico. Medición en espectrofotómetro a 500 nm
<b>Nitrógeno Kjeldahl Total</b>	Método Macro-Kjeldahl 4500-N <sub>org</sub> B*	Digestión y posterior destilación
<b>Ortofosfatos</b>	Método 8178 HACH	Método colorimétrico. Medición en espectrofotómetro a 530 nm
<b>pH</b>	*Método electrométrico 4500-H <sup>+</sup> B	Medición directa con potenciómetro
<b>Sólidos Suspendidos Totales</b>	*Método 2540 D	Método gravimétrico. Sólidos secados a 105 °C

\* Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales (APHA 1992).

## 5.2 Agua residual

El agua residual que se utilizó en el presente trabajo experimental proviene de la Planta de Tratamiento de Cerro del Agua ubicada en Ciudad Universitaria, y fue tomada a la salida del sedimentador primario.

### 5.2.1 Muestreo y caracterización del agua residual

El muestreo de agua residual se realizó en una toma después de la sedimentación primaria. La muestra se recolectó en bidones de polietileno de 20 L, y fue sometida a un tratamiento de filtrado con esponja comercial para eliminar los sólidos presentes. Finalmente, fue almacenada en un cuarto frío a 4°C hasta su uso.

La caracterización del agua residual comprendió los parámetros de nitrógeno amoniacal, nitratos y ortofosfatos, para los cuales se utilizaron los métodos analíticos descritos en la Tabla 8.

## 5.3 Cultivo del consorcio microalgal en lixiviado

### 5.3.1 Consorcio microalgal

El inóculo de *Scenedesmus obliquus* fue donado por la Escuela de Ciencias Biológicas del IPN y fue adaptado en agua residual. Una vez adaptado al agua residual, el consorcio estuvo compuesto principalmente por *Scenedesmus obliquus* (70%), aunque también se observó la presencia de cianobacterias y de otros géneros de microalgas (*Micractinium*) (Figura 7).



Figura 7. Consorcio microalgal con predominio de *Scenedesmus obliquus*.

### 5.3.2 Arreglo experimental

El cultivo de microalgas se llevó a cabo en reactores de PET de 5 L, con un volumen de trabajo de 3.5 L. Como inóculo se utilizó el consorcio microalgal previamente descrito y como fuente de nutrientes el lixiviado acondicionado.

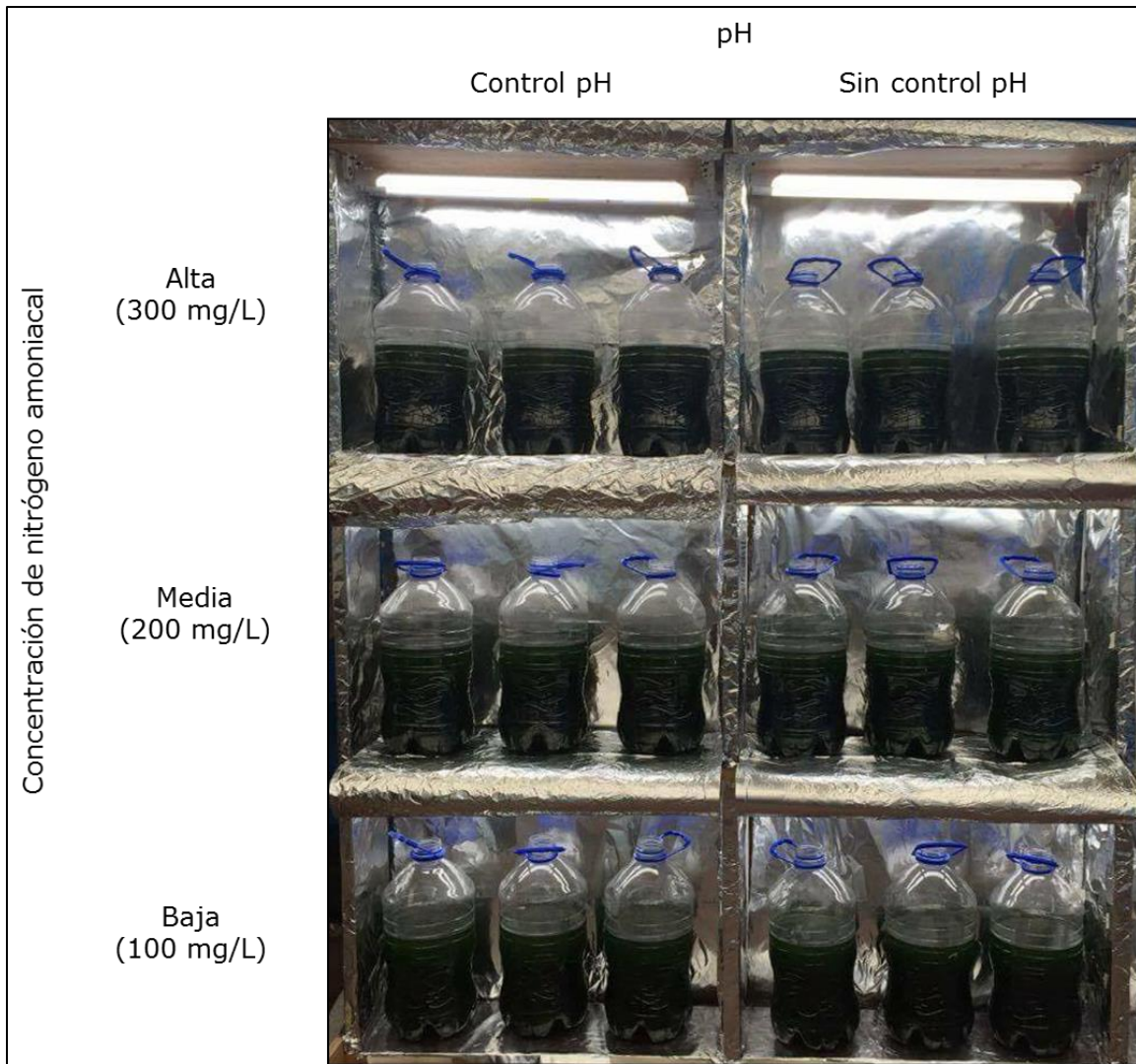
Para obtener las tres concentraciones de nitrógeno amoniacal se utilizaron diferentes volúmenes de lixiviado, los cuales corresponden al 6, 13 y 20% del volumen total de trabajo, los cuales serán referidos de aquí en adelante como 100, 200 y 300 mg/L de nitrógeno amoniacal, ya que el criterio que se tomó como referencia fue la concentración de este nutriente. Para obtener esas concentraciones de nitrógeno amoniacal, el lixiviado fue diluido con agua residual proveniente de la Planta de Tratamiento de Cerro del Agua.

Es importante mencionar que el consorcio microalgal que se utilizó para mezclar con el lixiviado tenía una concentración de nitrógeno y fósforo prácticamente de cero, esto con el fin de reducir el error experimental al momento de realizar las mezclas de microalgas y lixiviado.

Para evaluar el efecto del pH sobre el consorcio microalgal, ésta variable fue controlada mediante la adición de una mezcla de aire/CO<sub>2</sub> al 5%, con un flujo de 1 L/min hasta llegar a un valor entre 6.5 y 7.5. Asimismo, la agitación proporcionada a los reactores con control de pH, además de la provista por la inyección de la mezcla de aire/CO<sub>2</sub>, se realizó de forma manual una vez al día, mientras que para los reactores sin control de pH, la agitación solamente fue manual una vez al día.

Como fuente de iluminación se emplearon tubos LED (OSRAM) de 60 cm, los cuales suministraron una radiación fotosintéticamente activa promedio de 105  $\mu\text{mol}$  fotones/m<sup>2</sup>s. El fotoperiodo utilizado fue de 24:0 (luz:oscuridad) para compensar el efecto del color café rojizo del lixiviado.

El arreglo experimental utilizado se muestra en la Figura 8.



**Figura 8. Arreglo experimental.**

Por otro lado, con el fin de evaluar un posible aprovechamiento a la biomasa microalgal como materia prima para la generación de biocombustibles, se cuantificó el contenido de lípidos y carbohidratos.

La cuantificación de los carbohidratos totales se hizo por el método colorimétrico fenol-ácido sulfúrico (Dubois et al. 1956), el cual detecta todo tipo de estas biomoléculas, además de ser simple, rápido y reproducible.

Los lípidos se cuantificaron por el método de la sulfofosfovainillina (Barnes and Blackstock 1973; Mishra et al. 2014), cuya principal ventaja es la medición de los lípidos en medio acuoso.



### 5.3.3 Diseño de experimentos

Para determinar la máxima concentración de nitrógeno amoniacal que puede tolerar el consorcio microalgal antes de que se inhiba su crecimiento y evaluar el efecto del pH, se realizó un diseño de experimentos factorial 2x3 completamente al azar, con dos factores, los cuales son control de pH y concentración de nitrógeno amoniacal, con dos niveles de pH (con control y sin control) y tres niveles para la concentración de nitrógeno amoniacal (bajo, medio y alto). En esta etapa tanto el fotoperiodo como la intensidad luminosa se mantuvieron constantes.

El modelo del diseño de experimentos utilizado está representado en la siguiente ecuación:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\gamma)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

$y_{ijk}$ : Cantidad de biomasa cultivada

$\mu$ : Media general

$\tau_i$ : Efecto del nivel i del factor relación lixiviado-inóculo.

$\beta_j$ : Efecto del nivel j del factor control de pH.

$(\gamma)_{ij}$ : Efecto de la interacción entre los factores relación lixiviado:inóculo y control de pH.

$\varepsilon_{ijk}$ : Error experimental.

Se supone que  $\varepsilon_{ijk} \sim NID(0, \sigma^2)$

En este modelo, las hipótesis a probar son:

$$H_{0_1}: \gamma_{ij} = 0 \quad \forall i, j$$

$$H_{0_2}: \tau_i = 0 \quad \forall i$$

$$H_{0_3}: \beta_j = 0 \quad \forall j$$

## 5.4 Reactor de alta tasa

### 5.4.1 Dimensionamiento y equipamiento

De acuerdo a la literatura consultada, se sabe que los reactores de alta tasa a escala piloto o laboratorio son dimensionados con relaciones L/D igual a 3 (Weissman, Goebel, and Benemann 1988).

En trabajos realizados en el Instituto de Ingeniería relacionados con el diseño y operación de estos reactores escala laboratorio, se ha experimentado y obtenido buenos resultados con prototipos con relación D/L igual a 0.2 o su inverso, L/D igual a 5 (Franco-Morgado et al. 2017). Para este trabajo se tomó la decisión de utilizar dicha relación. Las dimensiones del HRAP fueron obtenidas mediante las siguientes ecuaciones de diseño, y suponiendo una profundidad de 10 cm (H).

$$H = 10 \text{ cm}$$

$$L = LR + 2R$$

$$D = 2R$$

$$V = HLD$$

$$\frac{D}{(2R + LR)} = 0.2$$

$$\frac{D}{(2R + LR)} = \frac{D}{L} = 0.2$$

$$\frac{L}{D} = 5$$

Así bien, las dimensiones del reactor son:

$$H = 15 \text{ cm}$$

$$L = 119 \text{ cm}$$

$$D = 24 \text{ cm}$$

$$A_s = 0.27 \text{ m}^2$$

$$V = 30.1 \text{ L}$$

El reactor se construyó en fibra de vidrio y cuenta con mamparas internas. Se colocó sobre una base metálica con soporte para motor y lámparas de

iluminación con altura regulable. Para la agitación está provisto con un sistema de paletas de acero inoxidable acopladas a un motor de bomba (Cole Parmer, 100-600 rpm). De igual forma, el HRAP está equipado con un panel LED (MAGG), el cual proporciona radiación fotosintéticamente activa promedio de  $62 \mu\text{mol fotones}/\text{m}^2\text{s}$ .

La Figura 9 muestra una imagen del reactor utilizado en el presente trabajo.



**Figura 9. Reactor de alta tasa.**

## **5.4.2 Operación del reactor de alta tasa**

### **5.4.2.1 Operación por lote**

El reactor operó por lote por periodos de 13 días, utilizando como medio de cultivo agua residual y como inóculo el consorcio microalgal previamente mencionado.

Los parámetros operacionales utilizados durante la operación del HRAP en lote y en continuo fueron establecidos con base a estudios reportados por otros autores (Tabla 9).

**Tabla 9. Parámetros operacionales HRAP.**

<b>Parámetro</b>	<b>Este trabajo</b>	<b>(Craggs et al. 2014)</b>	<b>(Mehrabadi, Farid, and Craggs 2016)</b>
<b>Profundidad (cm)</b>	11	10 - 60	30
<b>Volumen (L)</b>	28	SD	8000
<b>Velocidad superficial de mezclado (cm/s)</b>	13	5 - 30	15

Para evaluar el desempeño del reactor, se cuantificó la remoción de nutrientes (nitrógeno amoniacal y ortofosfatos), así como también los SST como medida indirecta del crecimiento microalgal.

A partir de los datos obtenidos de crecimiento microalgal en la operación por lote, se calculó la tasa de crecimiento, la cual fue utilizada posteriormente para iniciar la operación en continuo del reactor de alta tasa, y de esta manera evaluar el tratamiento de la mezcla agua residual - lixiviado.

#### **5.4.2.2 Operación en continuo**

La operación en continuo se realizó utilizando la concentración de nitrógeno amoniacal con la cual se obtuvo la mayor cantidad de biomasa microalgal de acuerdo con los resultados obtenidos en el diseño de experimentos.

Para evaluar el desempeño del reactor de alta tasa, durante la operación en continuo se realizaron mediciones de nitrógeno total, nitrógeno amoniacal, nitritos, nitratos y SST. Posteriormente, se hizo un balance de nitrógeno para determinar en qué medida la asimilación de nitrógeno por parte de las microalgas predomina sobre el proceso de nitrificación.

## 5.5 Perfil lipídico

Se realizó la extracción de ácidos grasos mediante el método reportado por Bligh-Dyer (Bligh and Dyer 1959). Para esto, se dispuso medio gramo de biomasa seca en un matraz Erlenmeyer con una mezcla de cloroformo:metanol (2:1). El matraz se selló con parafilm y se colocó en un agitador orbital durante 24 h a 140 rpm. Después de ese tiempo, se procedió a realizar una extracción líquido-líquido. Para ello, la biomasa con la mezcla de disolventes se colocó en un embudo de separación y se lavó con KCl al 0.88%. La fase orgánica (inferior), rica en lípidos, se colectó en un matraz Erlenmeyer previamente pesado, en el cual el solvente se evaporó a presión reducida y la cantidad de ácidos grasos extraídos se determinó por gravimetría.

Seguido de la extracción de lípidos, se realizó la reacción de transesterificación. La transesterificación de los lípidos totales se realizó agregando metanol y ácido sulfúrico como catalizador a los lípidos extraídos. La mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 24 h en un agitador oscilatorio. Posteriormente se evaporó hasta obtener un volumen final de 2 mL, el cual se centrifugó durante 30 min a 5000 rpm para separar impurezas y el glicerol formado durante la transesterificación. Las muestras se conservaron a 4 °C para su posterior análisis cualitativo mediante cromatografía de gases acoplada a espectroscopía de masas (CG-EM).

Para la identificación de los ácidos grasos de metil éster (FAME), se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 6809, acoplado a un espectrofotómetro de masas Agilent Technologies 5973. La detección de los FAME se realizó a través de una columna de separación DB-5ms de sílice fundido, con una longitud de 30 m, un diámetro interno de 0.25 mm y un espesor de película de 0.25  $\mu\text{m}$ . El gas acarreador para el análisis fue Helio con 99.9995% de pureza.

Los FAME obtenidos de las muestras de microalgas fueron identificados comparando el tiempo de retención con un estándar conocido FAME Mix, C8-C24 (Sigma Aldrich, 18918-1AMP, USA).

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Características fisicoquímicas del lixiviado

La Tabla 10 muestra los resultados obtenidos durante la caracterización fisicoquímica del lixiviado y se comparan con lo reportado por otros autores.

**Tabla 10. Caracterización fisicoquímica del lixiviado.**

<b>Parámetro</b>	<b>Este trabajo</b>	<b>(Zhao et al. 2014)</b>	<b>(Edmundson and Wilkie 2013)</b>
<b>Alcalinidad Total (mg CaCO<sub>3</sub>/L)</b>	11479.75 ± 0.92	SD	SD
<b>DBO<sub>5</sub></b>	280.00 ± 0.01	SD	SD
<b>DQO</b>	3520.00 ± 113.14	900.00	2107.30
<b>Nitrógeno Amoniacal</b>	1611.40 ± 1.98	1381.00	980.00
<b>Nitratos</b>	SD	SD	SD
<b>Nitrógeno Total Kjeldahl</b>	1727.60 ± 11.88	1786.00	SD
<b>Ortofosfatos</b>	49.56 ± 0.62	3.20	13.20
<b>pH</b>	8.49 ± 0.05	8.30 - 8.50	7.52
<b>SST</b>	184.00 ± 28.00	SD	SD

SD: Sin datos

De acuerdo a los resultados obtenidos en la Tabla 10 y a la clasificación de lixiviados reportada en la literatura (Tabla 3), se observa que las características fisicoquímicas del lixiviado utilizado en este trabajo corresponden a uno estabilizado o "viejo". Dichas características son comparables con lo reportado por Edmundson & Wilkie (2013) y Zhao (2014), quienes utilizaron lixiviado de relleno sanitario como fuente de nutrientes para cultivar microalgas.

Como se mencionó previamente, las características de los lixiviados cambian a lo largo del tiempo; sin embargo, el nitrógeno amoniacal en un lixiviado viejo sigue presente en altas concentraciones incluso después de mucho tiempo (Couto et al. 2017).

Por otro lado, de acuerdo a lo reportado en la literatura, se sabe que la relación N:P óptima para que las microalgas del género *Scenedesmus* crezcan sin limitación, es alrededor de 30 (Rhee 1978). Así bien, un lixiviado con alta cantidad de nitrógeno amoniacal ayudará a obtener un valor cercano a dicha relación.

## 6.2 Características fisicoquímicas del agua residual

La caracterización del agua residual comprendió los parámetros de nitrógeno amoniacal, nitratos y ortofosfatos. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 11.

**Tabla 11. Caracterización fisicoquímica del agua residual**

Parámetro	Este trabajo
<b>Nitrógeno Amoniacal</b>	52.80 ± 1.98
<b>Nitratos</b>	15.65 ± 2.07
<b>Ortofosfatos</b>	23.80 ± 0.90

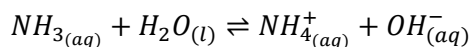
De acuerdo a la Tabla 10 y Tabla 11, se observa que la cantidad de nitrógeno amoniacal presente en el lixiviado es 30 veces mayor al del agua residual, por lo cual, los lixiviados pueden ser utilizados como fuente extra de nitrógeno.

Asimismo, se observa la existencia de nitratos debido a que, en presencia de oxígeno, el amonio es oxidado por bacterias nitrificantes. Las condiciones de pH y temperatura para que dichas bacterias realicen ese proceso de acuerdo a lo reportado en la literatura son 8.4 y 30 °C, respectivamente, y el agua residual utilizada cumple con ese requisito (Wild, Sawyer, and McMahon 1971).

## 6.3 Cultivo del consorcio microalgal en lixiviado y remoción de nutrientes

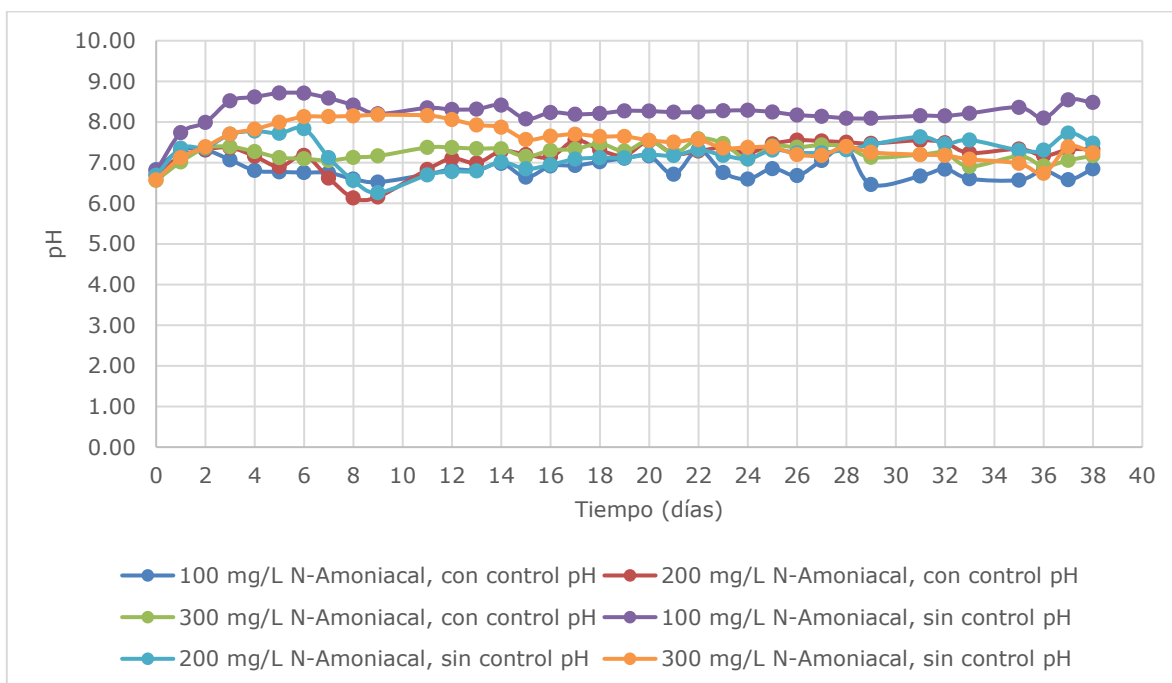
El objetivo del diseño de experimentos previamente planteado es evaluar si el control del pH permite utilizar una mayor cantidad de lixiviado sin que exista inhibición en el crecimiento microalgal.

Es bien sabido que el NH<sub>3</sub> es un gas que puede solubilizarse en agua, y formar el siguiente equilibrio (Hales and Drewes 1979):



Al disolverse en agua, el  $\text{NH}_3$  actúa como una base débil debido a que no se disocia completamente para formar  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{OH}^-$ , sino que una fracción de este compuesto permanece en su forma molecular en la disolución. Una medida cuantitativa de la fuerza de las bases está dada mediante la constante de disociación de la base ( $K_b$ ), donde valores pequeños de  $K_b$  (menores que la unidad) significan que la base se disocia poco. Para el caso del  $\text{NH}_3$ , el valor de la  $K_b$  a 25 °C es  $1.8 \times 10^{-5}$ . De igual forma, es importante tener en cuenta que las concentraciones relativas de ambas especies ( $\text{NH}_3$  y  $\text{NH}_4^+$ ) dependen también de la temperatura y el pH (Körner et al. 2001).

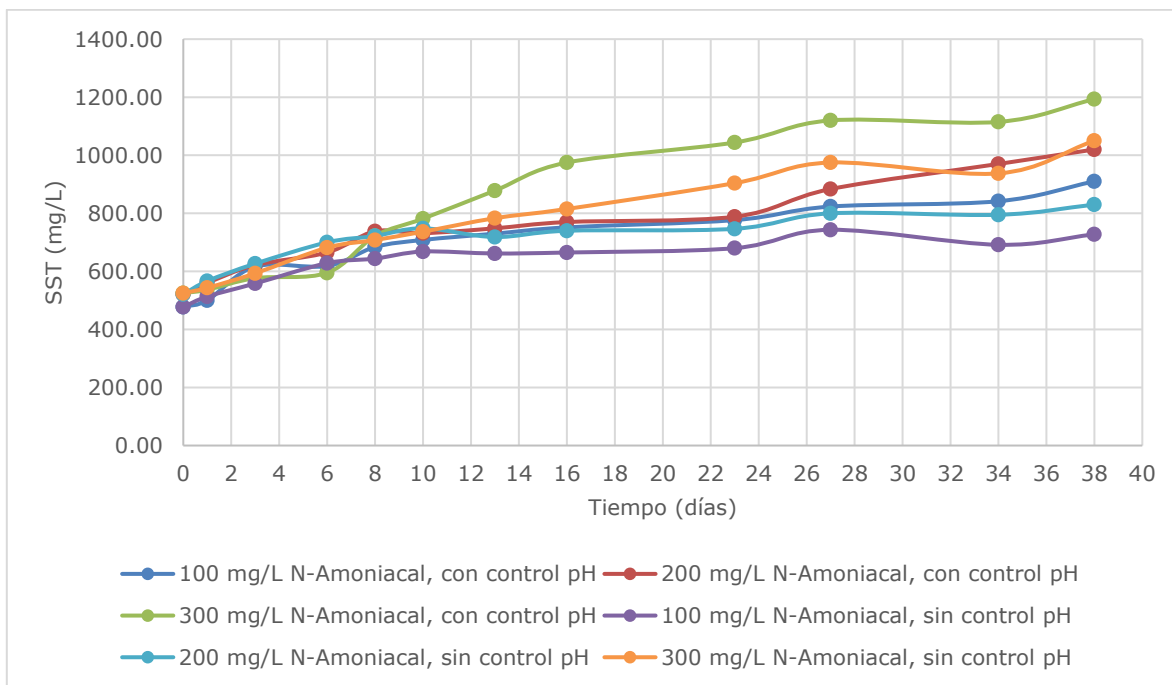
Es importante mencionar que la inhibición en el crecimiento microalgal puede deberse tanto a la toxicidad del  $\text{NH}_3$  como a la del  $\text{NH}_4^+$ . El  $\text{NH}_3$  es más tóxico debido a su par de electrones libres y a la facilidad con la que atraviesa las membranas celulares, lo cual incrementa el pH interno de las células hasta un nivel (pH 8) que resulta inhibitorio (Abeliovich and Azov 1976). Por tal motivo, en el presente trabajo se controló el pH en un intervalo de 6.5 a 7.5 adicionando una mezcla de aire/ $\text{CO}_2$  al 5%. Se eligió este intervalo de pH ya que algunos estudios sugieren que bajo condiciones de pH neutro, la mayoría de nitrógeno amoniacal se encuentra en forma de amonio, el cual es menos tóxico para las microalgas (Edmundson and Wilkie 2013). El control de pH efectuado en el presente trabajo experimental durante el cultivo de microalgas se muestra en la gráfica de la Figura 10. Debido a que el pH de los experimentos en los que se controló este parámetro está por debajo de 8, se asume que en estos no existió inhibición en el crecimiento microalgal.



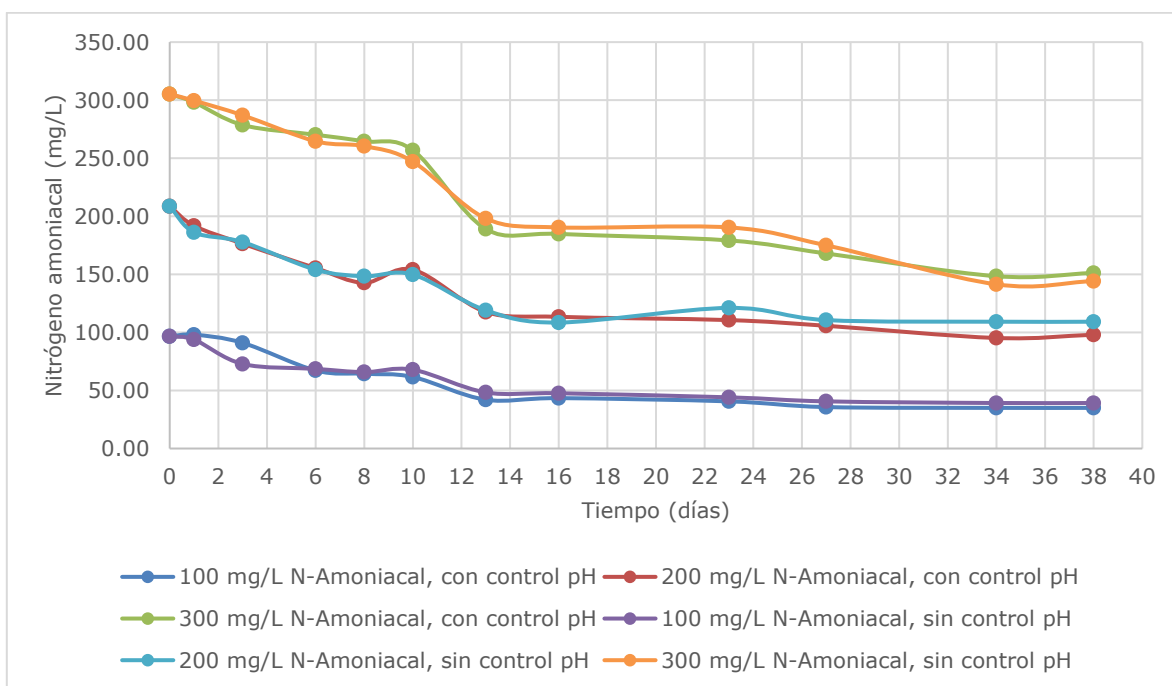
**Figura 10. Comportamiento del pH durante el cultivo de microalgas.**



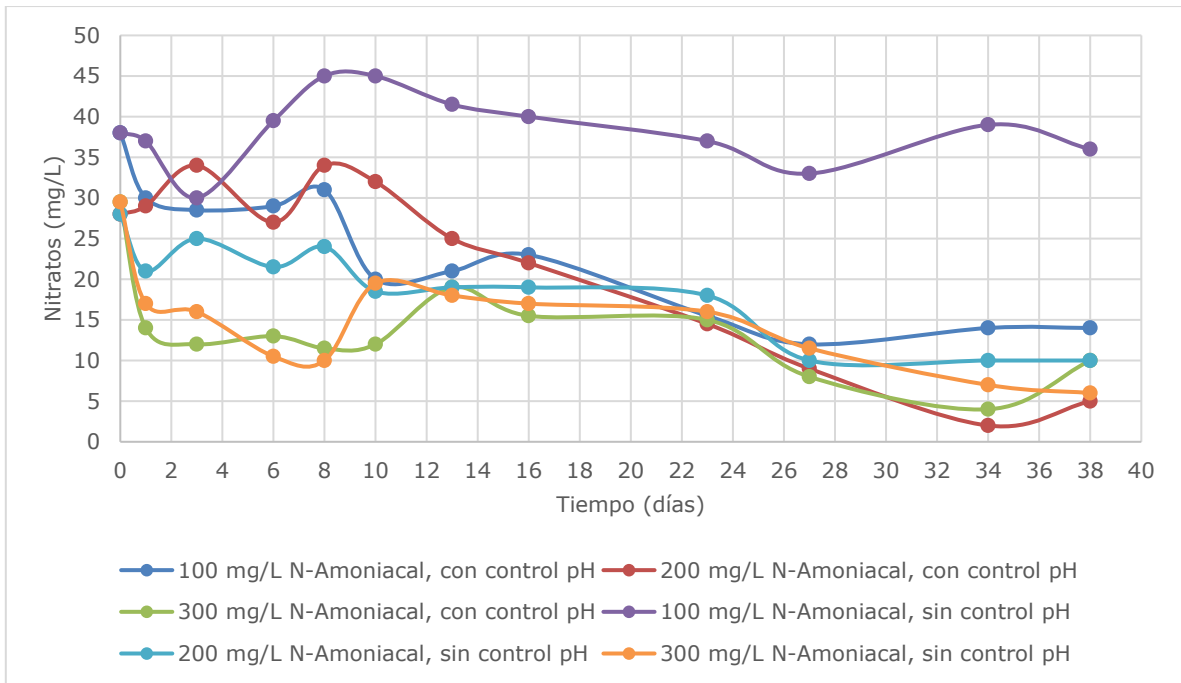
Los resultados obtenidos en este diseño de experimentos respecto al crecimiento de biomasa y remoción de nutrientes se muestran en las gráficas de las siguientes figuras.



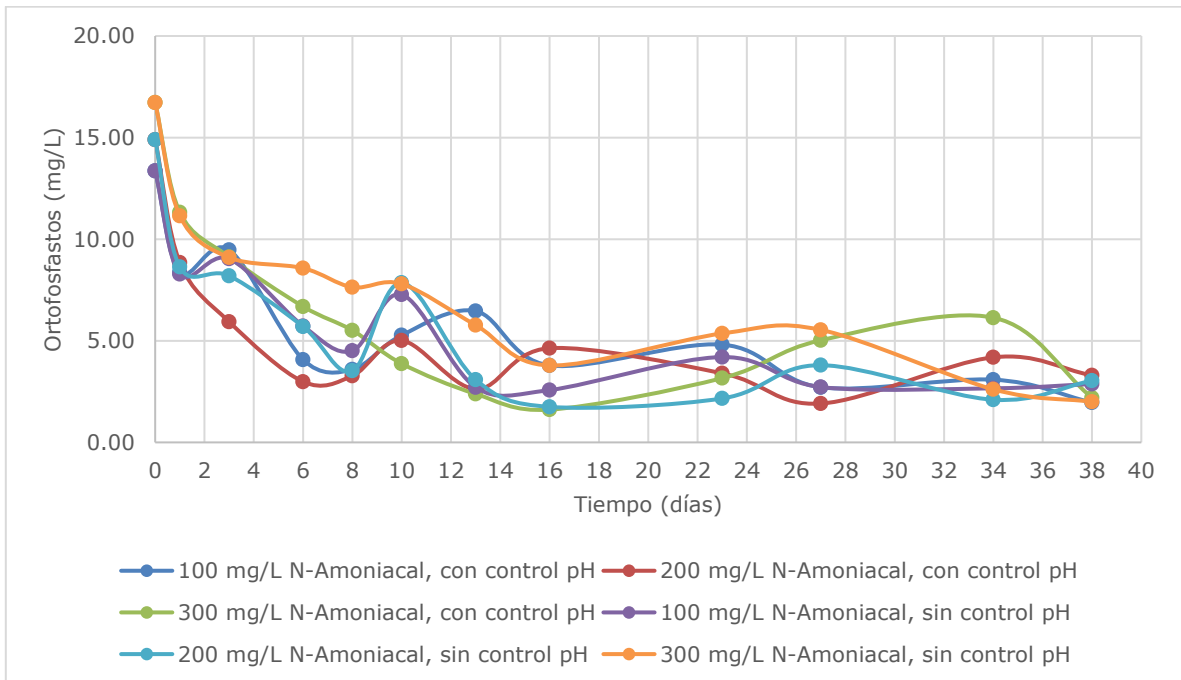
**Figura 11. Crecimiento de microalgas medido como SST.**



**Figura 12. Remoción de nitrógeno amoniacal durante el cultivo de microalgas.**



**Figura 13. Remoción de nitratos durante el cultivo de microalgas.**



**Figura 14. Remoción de ortofosfastos durante el cultivo de microalgas.**

Los resultados obtenidos de la remoción de nutrientes se resumen en la Tabla 12.

**Tabla 12. Remoción de nutrientes.**

Condición	Nitrógeno amoniacal				Nitratos				Ortofosfatos				
	Inicial (mg/L)	Final (mg/L)	Remoción (mg/L)	Remoción (%)	Inicial (mg/L)	Final (mg/L)	Remoción (mg/L)	Remoción (%)	Inicial (mg/L)	Final (mg/L)	Remoción (mg/L)	Remoción (%)	
Control pH	100 mg/L N-Amoniacal	96.60 ± 5.94	35.00 ± 0.05	61.60	63.77	38.00 ± 1.41	14.00 ± 0.71	24.00	63.16	13.36 ± 0.51	1.96 ± 0.02	11.40	85.31
	200 mg/L N-Amoniacal	208.60 ± 5.94	95.20 ± 0.00	113.40	54.36	28.00 ± 1.41	5.00 ± 0.71	23.00	82.14	14.90 ± 0.88	3.30 ± 0.57	11.60	77.85
	300 mg/L N-Amoniacal	305.20 ± 3.96	148.40 ± 3.96	156.80	51.38	29.50 ± 0.71	10.00 ± 1.41	19.50	66.10	16.73 ± 0.74	2.20 ± 0.04	14.53	86.85
Sin control pH	100 mg/L N-Amoniacal	96.60 ± 5.94	39.20 ± 0.00	57.40	59.42	38.00 ± 1.41	36.00 ± 1.41	2.00	5.26	13.36 ± 0.51	2.88 ± 0.00	10.49	78.48
	200 mg/L N-Amoniacal	208.60 ± 5.94	109.20 ± 3.96	99.40	47.65	28.00 ± 1.41	10.00 ± 0.00	18.00	64.29	14.90 ± 0.88	3.04 ± 0.02	11.86	79.61
	300 mg/L N-Amoniacal	305.20 ± 3.96	141.40 ± 1.98	163.80	53.67	29.50 ± 0.71	6.00 ± 0.00	23.50	79.66	16.73 ± 0.74	2.00 ± 0.04	14.73	88.04

**Tabla 13. Velocidad de consumo de nutrientes.**

Condición	Nitrógeno amoniacal	Nitratos	Ortofosfatos	
	Velocidad consumo (mg/L·día)	Velocidad consumo (mg/L·día)	Velocidad consumo (mg/L·día)	
Control pH	100 mg/L N-Amoniacal	1.62	0.63	0.30
	200 mg/L N-Amoniacal	2.91	0.61	0.31
	300 mg/L N-Amoniacal	4.05	0.51	0.38
Sin control pH	100 mg/L N-Amoniacal	1.51	0.05	0.28
	200 mg/L N-Amoniacal	2.62	0.47	0.31
	300 mg/L N-Amoniacal	4.24	0.62	0.39

De igual forma, se calcularon las velocidades de consumo de nutrientes a los 38 días para las seis condiciones de operación (Tabla 13). En dicha tabla se observa que las mayores velocidades de consumo de nitrógeno amoniacal y ortofosfatos se obtienen utilizando los mayores porcentajes de lixiviado, es decir, utilizando la concentración más alta de nitrógeno amoniacal (300 mg/L). De igual forma, a estas concentraciones de nitrógeno amoniacal se obtiene la mayor cantidad de biomasa: 1,193.33 mg/L con control de pH y 1,050.00 mg/L sin control, lo cual se puede constatar en la Figura 11.

Es interesante señalar que, tomando en cuenta las velocidades de remoción de la Tabla 13, se puede calcular el tiempo al cual la concentración de nutrientes es cero.

Respecto a los nitratos, es importante mencionar que no se observa un comportamiento uniforme en las mediciones realizadas durante los primeros 13 días de cultivo. El incremento en la concentración de nitratos indicaría actividad de bacterias nitrificantes (nitrosomonas y nitrobacter). Cabe destacar que de acuerdo a la literatura, las bacterias nitrificantes pueden ser inhibidas por el ion amonio a partir concentración de 150 mg/L de nitrógeno amoniacal (Anthonisen et al. 1976). Esto explica en parte el comportamiento irregular de los nitratos obtenido durante los primeros 13 días, ya que las concentraciones de nitrógeno amoniacal utilizadas están por encima de ese valor, exceptuando la más baja que fue de 100 mg/L. A partir del día 14, se observa una tendencia de disminución de nitratos en todas las condiciones evaluadas.

Los resultados obtenidos se compararon con los reportados por otros autores. De acuerdo a la Tabla 14, se observa que los porcentajes de remoción de nitrógeno amoniacal y ortofosfatos se encuentran dentro del rango publicado; sin embargo, se llegan a reportar remociones de hasta el 100% de nitrógeno

amoniaco utilizando concentraciones del orden de 300 mg/L (Zhao et al. 2014), mientras que en el presente trabajo se obtuvo una remoción del 48%. De igual forma, respecto a ortofosfatos se obtuvieron remociones 10% menores a las reportadas en la literatura (Zhao et al. 2014; Sforza et al. 2015).

La baja remoción de nitrógeno amoniacal y ortofosfatos se puede atribuir al género de microalga empleada y a las condiciones de cultivo utilizadas durante los experimentos de acuerdo a lo publicado (Tabla 14). En cuanto al tipo de microalga, es posible que algunos géneros de microalgas se puedan adaptar más fácilmente al lixiviado. En relación a las condiciones de cultivo, se observa que otros autores utilizaron condiciones de laboratorio controladas respecto a la temperatura, agitación y aireación, mientras que en el presente trabajo predominaron las condiciones ambientales, a excepción del fotoperiodo.

**Tabla 14. Comparación de resultados de remoción de nutrientes con lo reportado por otros autores.**

Microalga	Medio	Lixiviado (%)	Tiempo de cultivo (días)	Nitrógeno amoniacal			Ortofosfatos			Referencia
				Inicial (mg/L)	Final (mg/L)	Remoción (%)	Inicial (mg/L)	Final (mg/L)	Remoción (%)	
<b>Consortio microalgal con predominio de <i>Scenedesmus obliquus</i></b>	Lixiviado filtrado y neutralizado	6	38	96.60 ± 5.94	35.00 ± 0.05	63.76	13.36 ± 0.51	1.96 ± 0.02	85.31	Este trabajo*
		13	38	208.60 ± 5.94	95.20 ± 0.00	54.36	14.90 ± 0.88	3.30 ± 0.57	77.85	
		20	38	305.20 ± 3.96	148.40 ± 3.96	48.62	16.73 ± 0.74	2.20 ± 0.04	86.85	
<b><i>Acutodesmus obliquus</i></b>	Lixiviado crudo	10	SD	216.81	5.60	97.00	0.36	0.01	97.00	(Sforza et al. 2015)
		25	SD	542.03	191.96	65.00	0.89	0.03	97.00	
		34	SD	780.89	SD	SD	1.21	0.04	97.00	
		50	SD	1084.05	763.16	30.00	1.78	0.12	93.00	
		100	SD	2168.10	SD	SD	3.56	SD	SD	
<b><i>Chlorella pyrenoidosa</i></b>	Lixiviado filtrado y diluido con agua residual	0	12	33.70	~ 0.00	100.00	2.50	~ 0.12	> 95.00	(Zhao et al. 2014)
		5	12	~ 110.00	~ 0.00	100.00	~ 2.60	~ 0.13	> 95.00	
		10	12	183.20	0.80	99.00	~ 2.70	~ 0.13	> 95.00	
		15	12	~ 250.00	~ 25.00	90.00	~ 2.80	~ 0.14	> 95.00	
		20	12	338.00	~ 0.00	100.00	~ 3.00	~ 0.15	> 95.00	

\*Resultados obtenidos de los experimentos donde se utilizó CO<sub>2</sub> para controlar el pH.

SD: Sin datos.

**Tabla 15. Condiciones de operación reportadas por otros autores.**

<b>Microalga</b>	<b>Origen</b>	<b>Reactor</b>	<b>Aireación</b>	<b>Agitación</b>	<b>Intensidad luminosa</b>	<b>Fotoperiodo</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Referencia</b>
<b><i>Scenedesmus obliquus</i></b>	Cepa adaptada a agua residual doméstica	Reactores de 5 L (volumen de trabajo de 3.50 L)	Con CO <sub>2</sub> al 5% (1 L/min) para controlar el pH, una vez por día	Manual, una vez por día	105 $\mu\text{mol}$ fotones/m <sup>2</sup> s	24:0 (luz:oscuridad)	No controlada	Este trabajo
<b><i>Acutodesmus obliquus</i></b>	Cepa aislada de muestras de lixiviado	Botellas de vidrio de 0.25 L	Con CO <sub>2</sub> al 5% (0.01 L/min) como fuente extra de carbono, continua	Agitación magnética continua	100 $\mu\text{mol}$ fotones/m <sup>2</sup> s	24:0 (luz:oscuridad)	Controlada	(Sforza et al. 2015)
<b><i>Chlorella pyrenoidosa</i></b>	Cepa cultivada en medio BG11	Matraces de 0.50 L	Con aire (0.10 L/min), continua	Sólo la provista por la aireación	112 $\mu\text{mol}$ fotones/m <sup>2</sup> s	20:4 (luz:oscuridad)	Controlada a 25 °C	(Zhao et al. 2014)

**Tabla 16. Remoción de materia orgánica.**

	Condición	DBO <sub>5</sub>			DQO		
		Inicial (mg/L)	Final (mg/L)	Remoción (%)	Inicial (mg/L)	Final (mg/L)	Remoción (%)
Control pH	100 mg/L	210.00 ±	150.00 ±	28.57	337.50 ±	218.50 ±	53.41
	N-Amoniacal	14.14	14.14		33.23	18.38	
	200 mg/L	290.00 ±	180.00 ±	37.93	718.50 ± 9.19	523.00 ±	47.38
N-Amoniacal	14.14	28.28	62.23				
Control pH	300 mg/L	340.00 ±	210.00 ±	38.24	1147.50 ±	634.00 ± 5.66	50.81
	N-Amoniacal	28.28	14.14		44.55		
	Sin control pH	100 mg/L	210.00 ±	160.00 ±	23.81	336.00 ±	202.00 ±
N-Amoniacal		14.14	14.14	41.01		15.56	
200 mg/L		290.00 ±	195.00 ±	32.76	742.50	549.00 ±	49.61
N-Amoniacal	14.14	7.07	±14.85		35.36		
Sin control pH	300 mg/L	340.00 ±	205.00 ±	39.71	1116.00 ±	661.50 ± 0.71	50.17
	N-Amoniacal	28.28	7.07		29.70		



Por otro lado, las remociones más altas tanto de DBO<sub>5</sub> como de DQO, se alcanzaron utilizando la mayor concentración de nitrógeno amoniacal (Tabla 16). Dichos resultados indican la presencia de bacterias heterótrofas aerobias.

Por otro lado, con el objetivo de dar un aprovechamiento a la biomasa microalgal resultante del tratamiento del lixiviado como materia prima para la generación de bioetanol y/o biodiesel, se midió el contenido de lípidos y carbohidratos obtenidos durante el cultivo en esta fase experimental (Tabla 17).

Al comparar los resultados obtenidos en cuanto a lípidos y carbohidratos con los reportados por otros autores (Tabla 17), se observa que estos están dentro del rango.

**Tabla 17. Contenido de lípidos y carbohidratos presentes en la biomasa microalgal.**

<b>Especie de microalga</b>	<b>Lípidos (%)</b>	<b>Carbohidratos (%)</b>	<b>Referencia</b>
<b>Consorcio microalgal con predominio de <i>Scenedesmus obliquus</i></b>	10.00	29.00	Este trabajo*
<b><i>Scenedesmus falcatus</i></b>	3.37 – 7.83	2.73 – 6.83	(Idrissi Abdelkhalek et al. 2016)
<b><i>Scenedesmus protuberans</i></b>	25.40 – 45.05	20.95 – 29.21	
<b><i>Scenedesmus quadricauda</i></b>	4.38 – 9.55	3.67 – 24.76	
<b><i>Scenedesmus sp.</i></b>	3.45 – 11.21	2.51 – 12.95	

## 6.4 Análisis estadístico

Con los resultados obtenidos en el diseño de experimentos y con ayuda del programa estadístico RStudio, se realizó un análisis de varianza (ANOVA), cuyos resultados se encuentran representados en la Figura 15.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
pH	1	94679	94679	2.878	0.0920 .
Concentración	2	291738	145869	4.434	0.0136 *
pH:Concentración	2	14147	7074	0.215	0.8068
Residuals	138	4539413	32894		
---					
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1					

Figura 15. ANOVA.

Es importante mencionar que en los diseños factoriales, como es el caso del presentado en este trabajo, es más importante conocer la interacción entre los factores que los efectos principales.

Así bien, las hipótesis a probar en este modelo son:

$$H_{0_1}: \gamma_{ij} = 0 \quad \forall i, j$$

$$H_{0_2}: \tau_i = 0 \quad \forall i$$

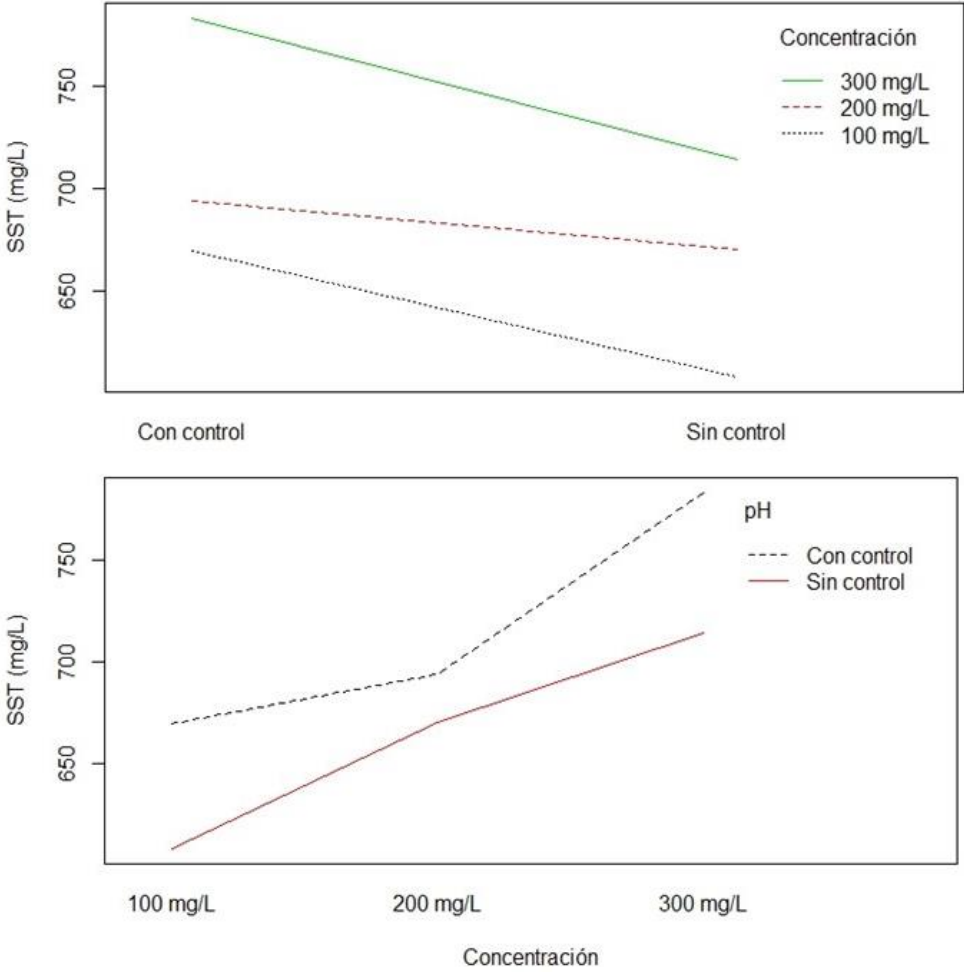
$$H_{0_3}: \beta_j = 0 \quad \forall j$$

Al probar la primera hipótesis se puede concluir que no existe interacción entre los factores evaluados (control de pH y concentración de nitrógeno amoniacal), ya que el p-value es mayor al nivel de significancia ( $0.8068 > 0.05$ ), por lo cual se acepta la hipótesis nula  $H_{0_1}$ .

Al revisar la hipótesis  $H_{0_2}$ , se observa que existe diferencia significativa, ya que el p-value es menor al nivel de significancia ( $0.0136 < 0.05$ ), lo que quiere decir que hay una cierta concentración de nitrógeno amoniacal a la cual se obtiene mayor cantidad de biomasa.

Finalmente, al revisar la hipótesis  $H_{0_3}$ , se observa que no existe diferencia significativa, lo que significa que el control de pH no afecta. El hecho de que no haya existido diferencia significativa puede deberse a que el control del pH fue manual, por lo que, posiblemente, si este parámetro se hubiera "automatizado", se hubiera podido notar algún cambio.

Posteriormente, se realizaron las gráficas de interacción (Figura 16). En estas gráficas se observa que la concentración más alta de nitrógeno amoniacal (300 mg/L) es con la que se obtiene mayor cantidad de biomasa. De igual forma, se observa que a pesar de que el control de pH no presentó diferencia significativa, al controlar esta variable se obtiene mayor biomasa.



**Figura 16. Gráficas de interacción.**

## 6.5 Cultivo de microalgas en mezclas de agua residual y lixiviado en un reactor de alta tasa

El reactor de alta tasa fue operado, en primer lugar, por lote utilizando agua residual como fuente de nutrientes, y posteriormente en continuo, utilizando mezclas de agua residual y lixiviado. Los resultados obtenidos se describen a continuación.

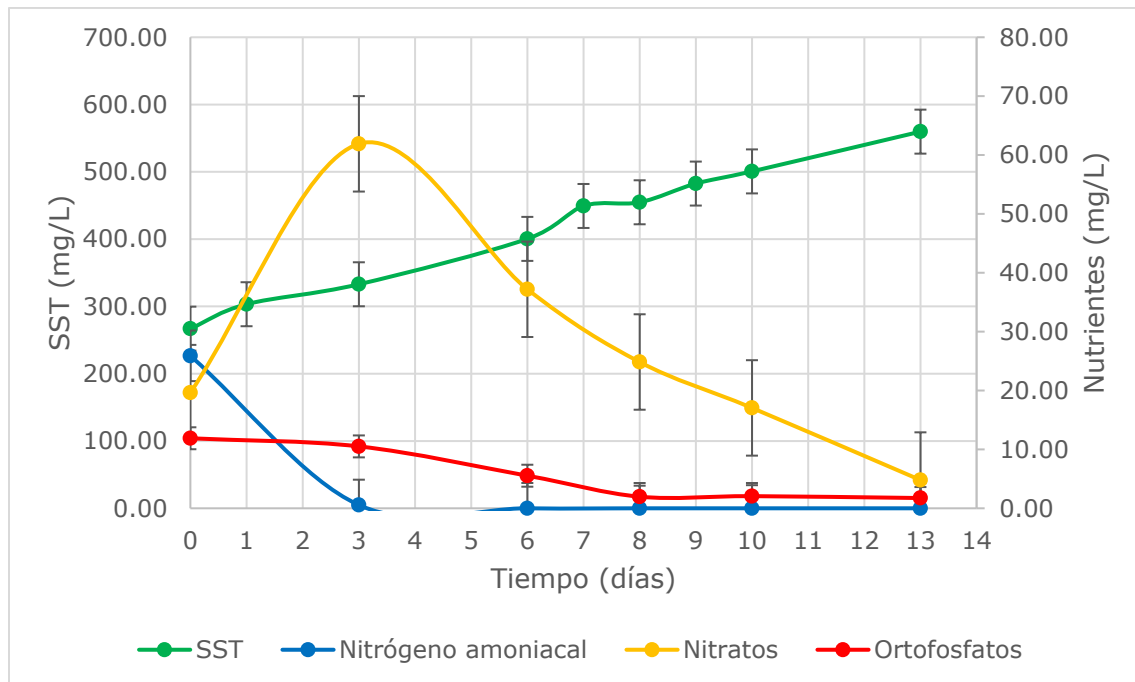
### 6.5.1 Operación por lote

La operación por lote del reactor de alta tasa inició a mediados de agosto de 2016, y se mantuvo en operación por periodos de 13 días. Se utilizó como fuente de nutrientes agua residual, en una relación 50:50 (14 L de inóculo y 14 L de agua residual). Se realizaron mediciones de los parámetros de control, alternando los días hasta que la remoción de nutrientes alcanzó un máximo.

En la Tabla 18 se presentan los resultados obtenidos en la operación del reactor por lote referentes a la remoción de nutrientes y al crecimiento de la biomasa microalgal, los cuales se pueden ver de forma gráfica en la Figura 17.

**Tabla 18. Remoción de nutrientes y crecimiento de biomasa microalgal en la operación por lote del HRAP (promedio de tres ciclos de operación).**

<b>Tiempo (días)</b>	<b>Nitrógeno amoniacal (mg/L)</b>	<b>Nitratos (mg/L)</b>	<b>Ortofosfatos (mg/L)</b>	<b>SST (mg/L)</b>
<b>0</b>	25.90 ± 0.99	19.65 ± 0.21	11.90 ± 0.04	267.00 ± 1.41
<b>1</b>	-	-	-	303.28 ± 5.66
<b>3</b>	0.56 ± 0.79	61.90 ± 0.99	10.52 ± 0.02	332.93 ± 10.61
<b>6</b>	0.00	37.20 ± 0.14	5.54 ± 0.05	400.36 ± 9.90
<b>7</b>	-	-	-	449.29 ± 25.46
<b>8</b>	0.00	24.85 ± 0.07	1.98 ± 0.01	454.77 ± 22.63
<b>9</b>	-	-	-	482.58 ± 22.63
<b>10</b>	0.00	17.05 ± 0.07	2.07 ± 0.02	500.68 ± 19.80
<b>13</b>	0.00	4.80 ± 0.01		559.76 ± 28.28



**Figura 17. Remoción de nutrientes y crecimiento de biomasa microalgal en la operación por lote del HRAP.**

En la Figura 17 se observa que las microalgas asimilan tanto nitrógeno amoniacal como nitratos; sin embargo, se prefiere el nitrógeno amoniacal ya que puede ser usado de manera más directa en la biosíntesis de aminoácidos. La conversión de nitrato en amonio requiere energía, además de la presencia de la enzima nitrato reductasa (Graham and Wilcox 2000). De igual forma, la reducción de nitrógeno amoniacal en reactores de alta tasa no se da solamente por el consumo por parte de las microalgas, sino también por el proceso de desorción o "stripping". En el caso de la desorción del nitrógeno amoniacal en un reactor de alta tasa, algunos autores señalan que este proceso es el mecanismo principal de la remoción de nitrógeno (Shelef, Azov, and Moraine 1982; El Halouani et al. 1993); aunque existen nuevos estudios cuyos resultados indican que el consumo de este nutriente por medio de las algas, es el primero que se lleva a cabo y posteriormente ocurre la desorción (Garcia, Mujeriego, and Hernandez-Marine 2000).

Asimismo, se observa que hay formación de nitratos debido a que las condiciones del reactor de alta tasa respecto a pH y temperatura (8.5 y 27.1 °C) son las ideales para que las bacterias nitrificantes realicen ese proceso, con base a lo reportado en la literatura (8.4 y 30 °C, respectivamente) (Wild, Sawyer, and McMahon 1971). Igualmente, se observa que el consumo de nitratos empieza hasta que el nitrógeno amoniacal ha sido consumido, lo cual es consistente con lo reportado por algunos autores (Larsdotter 2006). Es importante mencionar que la remoción de nitratos se puede atribuir

principalmente al consumo de las microalgas, ya que la desnitrificación es un proceso que ocurre en ausencia de oxígeno, el cual no se ve favorecido en el cultivo de microalgas en un reactor de alta tasa.

Otro de los principales nutrientes requeridos por las microalgas es el fósforo, el cual es utilizado para la producción de ATP, ADN y fosfolípidos. En el agua residual, el fósforo se encuentra presente en varias formas como ortofosfato, polifosfato, pirofosfato, metafosfato y sus formas orgánicas (Markou, Vandamme, and Muylaert 2014). El fósforo es absorbido por las células en forma de ortofosfato; sin embargo, otras formas de fósforo orgánico e inorgánico también pueden ser utilizadas por las microalgas (Markou, Vandamme, and Muylaert 2014).

La Tabla 19 muestra las remociones finales que se obtuvieron durante la operación por lote del reactor.

**Tabla 19. Porcentaje de remoción de nutrientes en la operación por lote del HRAP.**

<b>Nutriente</b>	<b>Remoción (%)</b>
<b>Nitrógeno amoniacal</b>	100.00
<b>Nitratos</b>	92.25
<b>Ortofosfatos</b>	85.33

### 6.5.2 Operación en continuo

Con los resultados obtenidos de la operación del reactor de alta tasa por lote, se procedió a calcular la tasa de crecimiento ( $\mu$ ) para poder operar el sistema en modo continuo. Para dicho fin se utilizó el balance de materia de un biorreactor, en el cual se supone que:

- Existe un sustrato y una biomasa.
- La biomasa consume el sustrato y crece.
- Existe una reacción y dos componentes.
- Cinética tipo Monod.

$$\mu(S) = \mu_{m\acute{a}x} \frac{S}{K_s + S}$$

El balance de materia de la biomasa y sustrato respectivamente, se expresa de acuerdo a las ecuaciones (1) y (2):

$$\frac{dX}{dt} = \mu(S)X + (X_{in} - X)D_{in} \quad X(0) = X_0 \quad (1)$$

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y}\mu(S)X + (S_{in} - S)D_{in} \quad S(0) = S_0 \quad (2)$$

Donde:

$X$ : Biomasa (mg/L).

$X_{in}$ : Biomasa en la entrada (mg/L).

$S$ : Sustrato (mg/L).

$S_{in}$ : Sustrato en la entrada (mg/L).

$D_{in}$ : Tasa de dilución a la entrada (1/día).

$\mu$ : Tasa de crecimiento (1/día).

$Y$ : Coeficiente de conversión (mg X/mg S)

En estado estacionario no existe acumulación, entonces:

$$\mu(S)X + (X_{in} - X)D_{in} = 0 \quad (3)$$

$$-\frac{1}{Y}\mu(S)X + (S_{in} - S)D_{in} = 0 \quad (4)$$

Como no existe entrada de biomasa, solamente de sustrato, de (3):

$$\mu(S)X + X_{in}D_{in} = XD_{in} \quad (5)$$

$$\mu(S)X = XD_{in} \quad (6)$$

De la ecuación 6 se obtiene que en estado estacionario, la tasa de crecimiento es igual a la tasa de dilución:

$$\mu(S) = D_{in} \quad (7)$$

Tomando en cuenta que la acumulación de biomasa está dada solamente por el término de generación:

$$\frac{dX}{dt} = \mu(S)X \quad (8)$$

Integrando (8) se obtiene:

$$\int_{X_0}^{X(t)} \frac{dX}{X} = \mu(S) \int_{t_0}^t dt$$

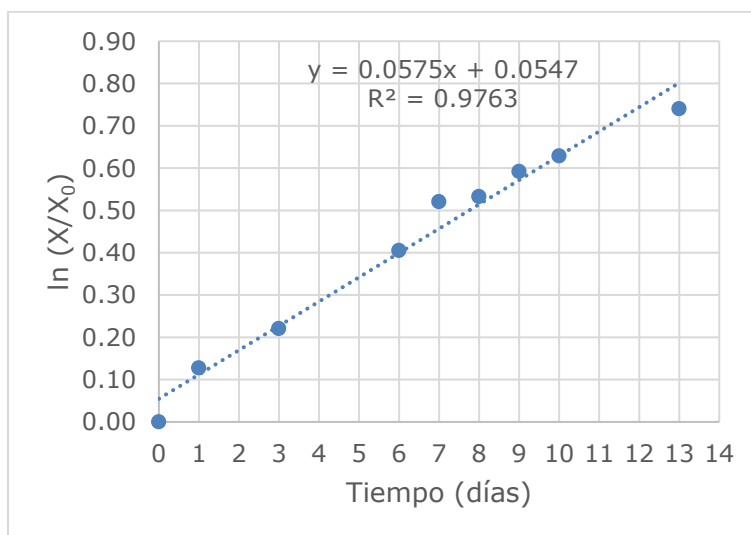
$$\ln\left(\frac{X}{X_0}\right) = \mu(S)(t - t_0) \quad (9)$$

Se observa que la ecuación 9 es una ecuación lineal de la forma  $y = mx + b$ .

Para calcular la tasa de crecimiento se utilizaron los datos experimentales obtenidos de la operación por lote, los cuales se muestran en la Tabla 20.

**Tabla 20. Tasa de crecimiento.**

Tiempo (días)	SST (mg/L)	ln (X/X <sub>0</sub> )
0	267.00	0.00
1	303.28	0.13
3	332.93	0.22
6	400.36	0.41
7	449.29	0.52
8	454.77	0.53
9	482.58	0.59
10	500.68	0.63
13	559.76	0.74



**Figura 18. Gráfica de ln(x/x<sub>0</sub>) VS tiempo.**



De la linealización de la ecuación 9 (Figura 18), se obtiene que:

$$y = 0.0575x + 0.0547$$

Donde:

$$\mu = 0.0575 \text{ día}^{-1}$$

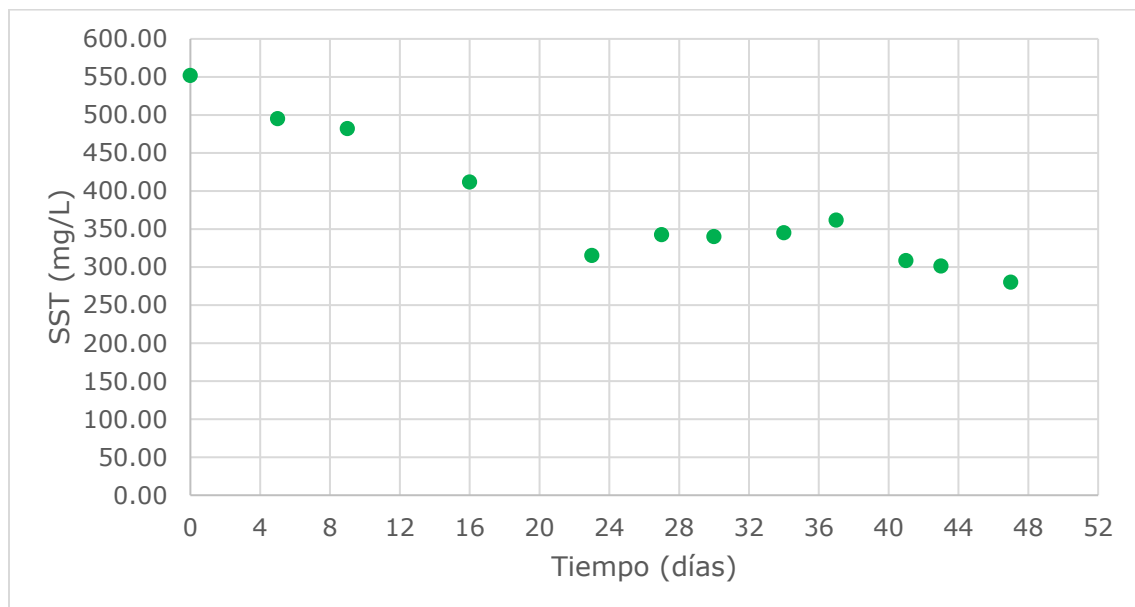
De la ecuación 7 se tiene que:

$$TRH = \frac{1}{D_{in}} = \frac{1}{\mu} = \frac{1}{0.0575 \text{ día}^{-1}} = 17.39 \text{ días}$$

$$TRH = \frac{V}{Q}$$

$$Q = \frac{V}{TRH} = \frac{28 \text{ L}}{17.39 \text{ días}} = 1.61 \frac{\text{L}}{\text{día}}$$

Así bien, con los datos de tiempo de retención hidráulico (TRH) y flujo estimados, se empezó a operar el reactor en modo continuo, utilizando como fuente de nutrientes una mezcla de agua residual - lixiviado, con una concentración de 100 mg/L de nitrógeno para adaptar el cultivo de microalgas, y posteriormente utilizar la concentración más alta de nitrógeno amoniacal (300 mg/L). Los resultados obtenidos en cuanto a cantidad de biomasa obtenida como SST se muestran en la gráfica de la Figura 19.



**Figura 19. Biomasa obtenida durante la operación en continuo del HRAP.**

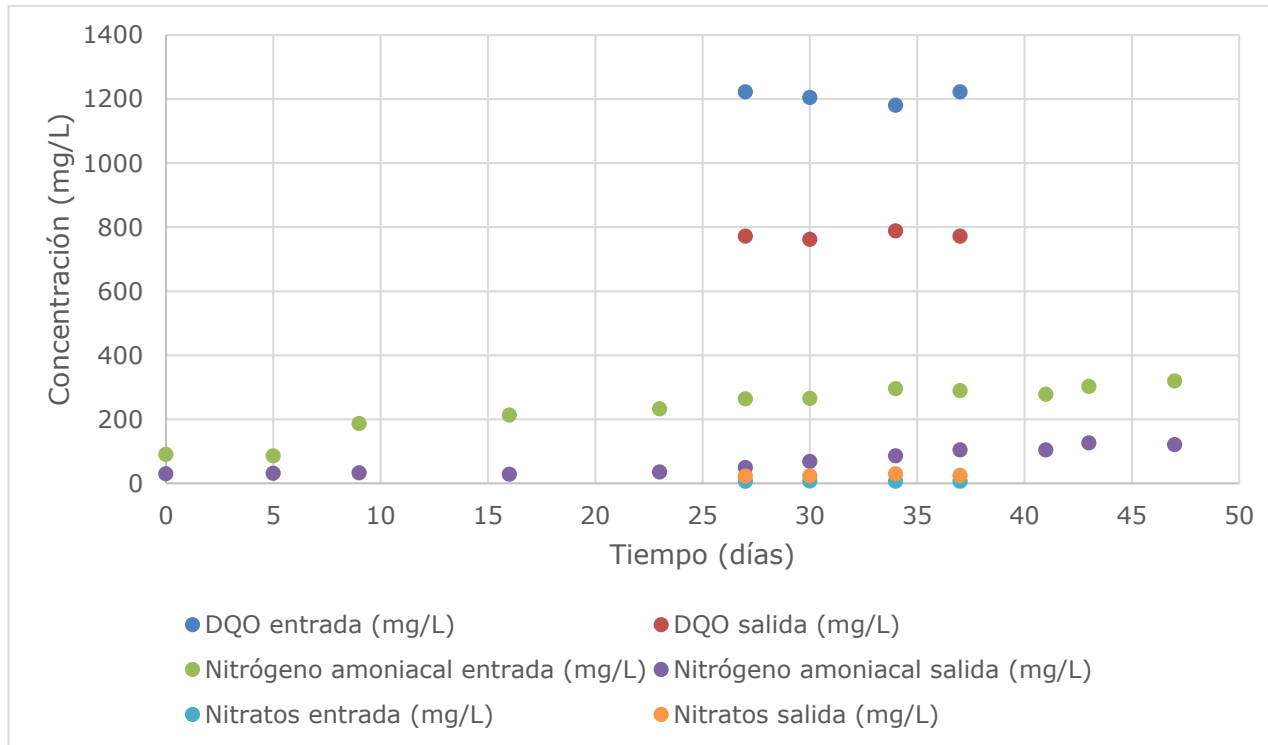
De acuerdo a la Figura 19 y Figura 20, se observa que el estado estacionario se alcanzó al día 23, y que al día 43 el cultivo empezó a decrecer posiblemente debido a una contaminación por clorofitas y protozoarios, de acuerdo a observaciones del cultivo realizadas en el microscopio.

La Tabla 21 muestra los resultados obtenidos durante la operación en continuo del HRAP cuando el reactor alcanzó el estado estacionario. Se puede apreciar que, en promedio, se alcanzaron remociones de más del 50% para DQO, NTK y nitrógeno amoniacal. Es importante mencionar que en el caso de los nitritos y nitratos, en ambos casos existió generación, por lo que se puede concluir que en el sistema existen bacterias que interactúan con las microalgas.

**Tabla 21. Remoción de nutrientes durante la operación del HRAP.**

Tiempo (días)	SST (mg/L)	DQO			Nitrógeno Total Kjeldahl			Nitrógeno Amoniacal			Nitritos			Nitratos		
		Entrada (mg/L)	Salida (mg/L)	Remoción (%)	Entrada (mg/L)	Salida (mg/L)	Remoción (%)	Entrada (mg/L)	Salida (mg/L)	Remoción (%)	Entrada (mg/L)	Salida (mg/L)	Remoción (%)	Entrada (mg/L)	Salida (mg/L)	Generación (%)
27*	342.50 ± 3.54	1181.50 ± 65.76	605.50 ± 243.34	48.75	301.00 ± 1.98	128.80 ± 3.96	57.21	263.20 ± 1.98	48.65 ± 1.48	81.52	2.05 ± 0.07	1.81 ± 0.06	11.71	6.75 ± 0.35	24.00 ± 1.41	71.88
30*	340.00 ± 9.43	1075.00 ± 35.36	475.00 ± 246.98	55.81	302.40 ± 3.96	131.6 ± 7.92	56.48	264.6 ± 5.94	67.90 ± 0.99	74.34	1.80 ± 0.11	1.40 ± 0.47	35.84	6.50 ± 0.71	23.00 ± 0.00	71.74
34*	345.00 ± 16.50	1111.00 ± 19.80	551.00 ± 235.94	50.41	331.10 ± 8.91	105.70 ± 0.99	68.08	295.40 ± 1.98	85.40 ± 1.98	71.09	1.83 ± 0.04	1.58 ± 0.05	16.19	6.00 ± 0.00	29.50 ± 0.71	79.66
37*	361.67 ± 2.36	1222.50 ± 12.02	771.50 ± 257.45	36.89	322.70 ± 0.99	131.60 ± 3.96	59.22	289.10 ± 0.99	103.60 ± 3.96	64.16	1.70 ± 0.04	1.31 ± 0.11	29.39	6.00 ± 0.00	24.50 ± 0.71	75.51
41	308.33 ± 2.36	1460.00 ± 469.52	858.00 ± 294.02	41.23	309.40 ± 5.94	114.80 ± 3.96	62.9	277.90 ± 0.99	103.60 ± 0.00	62.72	0.50 ± 0.07	0.80 ± 0.01	-	7.00 ± 0.00	15.50 ± 2.12	54.84
43	301.25 ± 1.77	1368.50 ± 389.62	562.50 ± 88.01	58.9	317.80 ± 33.66	128.80 ± 3.96	59.47	302.40 ± 3.96	126.00 ± 3.96	58.33	0.07 ± 0.01	1.91 ± 0.11	-	6.00 ± 0.00	17.50 ± 4.95	65.71
47	280.00 ± 3.54	1640.50 ± 115.26	605.50 ± 125.16	63.09	350.00 ± 3.96	145.60 ± 3.96	58.4	319.20 ± 3.96	120.40 ± 0.00	62.28	0.04 ± 0.01	0.84 ± 0.03	-	6.50 ± 0.71	18.50 ± 2.12	64.86

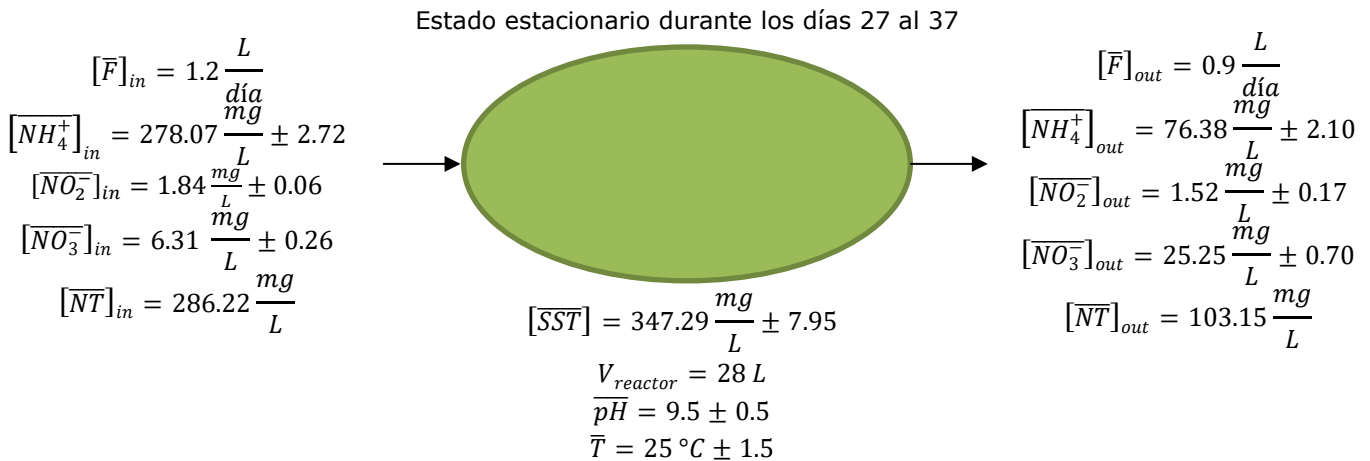
\* Los resultados señalados con asterisco son los obtenidos durante la operación en estado estacionario.



**Figura 20. Remoción de nutrientes durante la operación del HRAP.**

## 6.6 Balance de nitrógeno durante la operación en continuo

Con los resultados obtenidos durante el estado estacionario en la operación en continuo, se procedió a realizar un balance de nitrógeno para determinar cuánto nitrógeno es asimilado por las microalgas, cuánto se nitrifica y cuánto se pierde por desorción. El esquema general del balance está representado en la Figura 21.



**Figura 21. Esquema del balance de nitrógeno**

El balance de materia general está representado en la ecuación (1):

$$Acumulación = Entrada + Generación - Salida - Consumo \quad (1)$$

En estado estacionario no existe la acumulación, entonces de (1):

$$Entrada + Generación = Salida + Consumo \quad (2)$$

Para el  $NH_4^+$  no existe generación, entonces de (2):

$$Consumo = Entrada - Salida \quad (3)$$

Realizando el balance en términos de carga másica:

$$Q_{cons}^{NH_4^+} = Q_{in}^{NH_4^+} - Q_{out}^{NH_4^+} \quad (4)$$

Calculando la carga másica de entrada y salida del  $NH_4^+$ :

$$Q_{in}^{NH_4^+} = \frac{\bar{F}_{in} [NH_4^+]_{in}}{V_{reactor}} = \frac{\left(1.2 \frac{L}{día}\right) \left(278.07 \frac{mg NH_4^+}{L}\right)}{28 L} = 11.91 \frac{mg NH_4^+}{L \cdot día}$$

$$Q_{out}^{NH_4^+} = \frac{\bar{F}_{out}[NH_4^+]_{out}}{V_{reactor}} = \frac{\left(0.9 \frac{L}{día}\right) \left(76.38 \frac{mg NH_4^+}{L}\right)}{28 L} = 2.45 \frac{mg NH_4^+}{L \cdot día}$$

Calculando la carga másica de  $NH_4^+$  consumida:

$$Q_{cons}^{NH_4^+} = (11.91 - 2.45) \frac{mg NH_4^+}{L \cdot día} = 9.46 \frac{mg NH_4^+}{L \cdot día}$$

Se sabe que el consumo del  $NH_4^+$  que entra al HRAP se puede deber a:

- Asimilación
- Nitrificación
- Desorción

### 1. Asimilación

De acuerdo a Grobbelaar (Grobbelaar 2007), la cantidad de nitrógeno dentro de la biomasa puede ser del 1-10%. Tomando un estimado de 5%, se calculó cuánto  $NH_4^+$  que se consumió fue asimilado por las microalgas:

$$Q_{asim}^{NH_4^+} = \frac{Q_{cons}^{NH_4^+}}{[SST]} (0.05) = \frac{9.46 \frac{mg NH_4^+}{L \cdot día}}{347.29 \frac{mg biomasa}{L}} (0.05) = 4.86 \times 10^{-5} \frac{mg NH_4^+}{mg biomasa \cdot L \cdot día}$$

### 2. Nitrificación

Debido a que  $[NO_3^-]_{out} > [NO_3^-]_{in}$ , se asume que solamente existió generación de este compuesto, entonces de (2):

$$\text{Generación} = \text{Salida} - \text{Entrada} \quad (5)$$

$$Q_{gen}^{NO_3^-} = Q_{out}^{NO_3^-} - Q_{in}^{NO_3^-} \quad (6)$$

$$Q_{out}^{NO_3^-} = \frac{\bar{F}_{out}[NO_3^-]_{out}}{V_{reactor}} = \frac{\left(0.9 \frac{L}{día}\right) \left(25.25 \frac{mg NO_3^-}{L}\right)}{28 L} = 0.81 \frac{mg NO_3^-}{L \cdot día}$$

$$Q_{in}^{NO_3^-} = \frac{\bar{F}_{in}[NO_3^-]_{in}}{V_{reactor}} = \frac{\left(1.2 \frac{L}{día}\right) \left(6.31 \frac{mg NO_3^-}{L}\right)}{28 L} = 0.27 \frac{mg NO_3^-}{L \cdot día}$$

$$Q_{gen}^{NO_3^-} = (0.81 - 0.27) \frac{mg NO_3^-}{L \cdot día} = 0.54 \frac{mg NO_3^-}{L \cdot día}$$

Para saber cuánto  $NH_4^+$  se nitrificó, se realizó un cálculo con base a la estequiometría de la reacción de nitrificación:



$$\bar{M}_{NH_4^+} = 18 \frac{g}{mol}$$

$$\bar{M}_{NO_3^-} = 62 \frac{g}{mol}$$

$$Q_{nitr}^{NH_4^+} = 0.54 \frac{mg NO_3^-}{L \cdot día} \left( \frac{1 g NO_3^-}{1000 mg NO_3^-} \right) \left( \frac{1 mol NO_3^-}{62 g NO_3^-} \right) \left( \frac{1 mol NH_4^+}{1 mol NO_3^-} \right) \left( \frac{18 g NH_4^+}{1 mol NH_4^+} \right) \left( \frac{1000 mg NH_4^+}{1 g NH_4^+} \right)$$

$$Q_{nitr}^{NH_4^+} = 0.1567 \frac{mg NH_4^+}{L \cdot día}$$

### 3. Desorción

De acuerdo a la gráfica de la Figura 22, a valores de pH y temperatura de 9.5 y 25 °C, el 70% del NH<sub>4</sub><sup>+</sup> se encuentra en forma de NH<sub>3</sub>, así bien:

$$Q_{des}^{NH_4^+} = Q_{cons}^{NH_4^+} (0.7) = 9.46 \frac{mg NH_4^+}{L \cdot día} (0.7) = 6.62 \frac{mg NH_4^+}{L \cdot día}$$

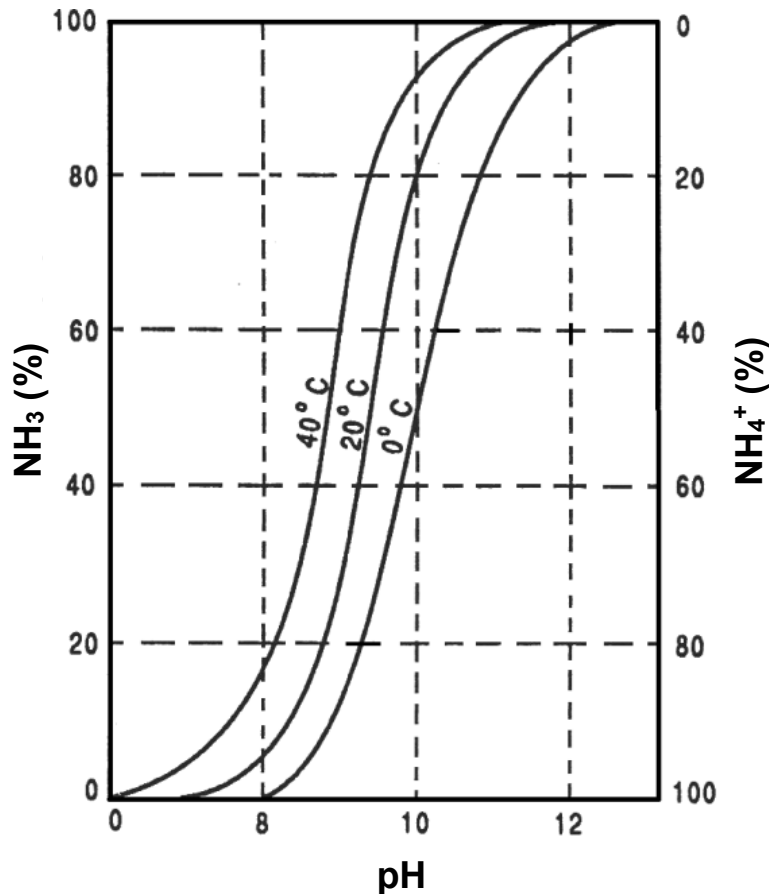


Figura 22. Fracción de amoníaco en función de la temperatura y el pH (Capodaglio, Hlavínek, and Raboni 2014).

Finalmente, al sumar el  $\text{NH}_4^+$  que fue consumido:

$$Q_{\text{cons}}^{\text{NH}_4^+} = Q_{\text{asim}}^{\text{NH}_4^+} + Q_{\text{nitr}}^{\text{NH}_4^+} + Q_{\text{des}}^{\text{NH}_4^+} \quad (7)$$

$$Q_{\text{cons}}^{\text{NH}_4^+} = (4.86 \times 10^{-5} + 0.1567 + 6.62) \frac{\text{mg NH}_4^+}{\text{L} \cdot \text{día}} = 6.77 \frac{\text{mg NH}_4^+}{\text{L} \cdot \text{día}}$$

El  $\text{NH}_4^+$  consumido experimentalmente:

$$Q_{\text{cons}}^{\text{NH}_4^+} = 9.46 \frac{\text{mg NH}_4^+}{\text{L} \cdot \text{día}}$$

Se calculó el porcentaje de error entre ambos valores:

$$\%Error = \left| \frac{\text{Valor teórico} - \text{Valor experimental}}{\text{Valor teórico}} \right| \times 100$$

$$\%Error = \left| \frac{6.77 - 9.46}{6.77} \right| \times 100 = 39.73\%$$

Como se observa, el error obtenido es muy grande. Una posible causa de esto podría deberse a errores experimentales durante la medición de este parámetro.



## 6.7 Perfil lipídico del consorcio microalgal en lixiviado

Con la biomasa obtenida durante la operación en continuo del reactor de alta tasa, se realizó la correspondiente extracción de lípidos y su posterior reacción de transesterificación.

El contenido de lípidos en base seca fue de 13% para el cultivo de microalgas en mezclas de agua residual y lixiviado, mientras que el porcentaje de lípidos obtenido cuando fueron alimentadas solamente con agua residual fue de 9%. De igual forma, algunos estudios sugieren que para incrementar el contenido lipídico, las microalgas pueden ser sometidas a condiciones de estrés metabólico mediante la modificación de la intensidad luminosa, la temperatura o la limitación de nutrientes (Minhas et al. 2016).

Adicionalmente fue determinado el perfil de ácidos grasos y su abundancia relativa, lo cual se muestra en la Tabla 22.

**Tabla 22. Perfil de ácidos grasos y abundancia relativa del consorcio microalgal utilizado.**

<b>Ácido graso</b>	<b>Abundancia relativa (%)</b>
<b>Ácido mirístico C14:0</b>	1.17
<b>M-13-metiltetradecanoato C14:0</b>	0.82
<b>M-4, 7, 10, 13-hexadecatetranoato C16:4</b>	17.95
<b>M-7,10-hexadecadienoato C16:2</b>	2.68
<b>M-7,10,13-hexadecatrienoato C16:3</b>	5.12
<b>Ácido palmítico C16:1</b>	6.63
<b>M-palmitato C17:0</b>	23.23
<b>Ácido palmítico C16:0</b>	2.17
<b>M-estearidonato C18:4</b>	3.86
<b>Ácido alfa linolénico C18:3</b>	22.01
<b>Ácido esteárico C18:0</b>	2.18
<b>Saturados</b>	29.59
<b>Monoinsaturados</b>	6.63
<b>Poliinsaturados</b>	51.63

Las algas sintetizan ácidos grasos como bloques de construcción para la formación de diversos lípidos. Los ácidos grasos más comúnmente sintetizados tienen longitudes de cadena que van de C16 a C18 (Hu et al. 2008). En el presente trabajo (Tabla 22), los ácidos grasos con mayor abundancia relativa fueron el metil palmitato (C17) y el alfa linolénico (C18).

De acuerdo a datos reportados en la literatura, se ha determinado que una composición de ácidos grasos óptima para la producción de biodiesel debe contener bajos niveles de ácidos saturados y poliinsaturados, y altos niveles de ácidos monoinsaturados (Hoekman et al. 2012). El perfil obtenido en el presente trabajo indica que la abundancia relativa de los ácidos monoinsaturados representa solamente el 6% del total, por lo que no es favorable para la generación de biodiesel.

Por otro lado, es importante mencionar que en la industria, el M-palmitato es usado en la preparación de detergentes y emulsificantes, mientras que el ácido alfa linolénico está presente en las grasas omega 3, por lo que esta biomasa podría ser utilizada para fabricar alimento para los animales.

## 7. CONCLUSIONES

- Se acepta la hipótesis de estudio, y se concluye que es posible el tratamiento de la mezcla agua residual y lixiviado mediante el consorcio de microalgas - bacterias, logrando remociones significativas de materia orgánica medida como DQO, nitrógeno y fósforo, con la respectiva producción de biomasa microalgal.
- La concentración de nitrógeno amoniacal mostró diferencia significativa en el tratamiento de lixiviado y en el crecimiento de las microalgas. Respecto al control de pH, esta variable no presentó diferencia significativa bajo las condiciones evaluadas en este trabajo.
- En los reactores por lote, se encontró que la mayor concentración de biomasa microalgal (1.2 g SST/L) fue lograda utilizando 300 mg/L de nitrógeno amoniacal en la mezcla agua residual - lixiviado, con remociones de nitrógeno amoniacal y ortofosfatos de 49% y 87%, respectivamente.
- Del tratamiento de agua residual en el reactor de alta tasa operado por lote, se concluye que es posible remover el 100% de nitrógeno amoniacal y 85% de ortofosfatos, con una tasa de crecimiento ( $\mu$ ) del consorcio microalgas - bacteria de 0.058 días<sup>-1</sup>, y tiempo de retención hidráulico de 17 días.
- Para la operación en continuo del reactor de alta tasa, y utilizando la mezcla agua residual - lixiviado como fuente de nutrientes, con una concentración inicial de 300 mg/L de nitrógeno amoniacal, se obtuvieron remociones mayores del 50% de materia orgánica medida como DQO, NTK y nitrógeno amoniacal
- Para las condiciones experimentales evaluadas en el presente estudio, el principal proceso de remoción de nitrógeno en el reactor de alta tasa fue la desorción.
- Respecto al perfil de lípidos de la biomasa microalgal obtenida de la operación en continuo del reactor de alta tasa, se encontró un contenido del 13% en base seca, con una abundancia en ácidos grasos poliinsaturados de 51.6% y saturados de 29%.

## **PERSPECTIVAS**

Se requiere mayor trabajo de investigación en cuanto a mejorar la productividad microalgal durante el tratamiento de mezclas de agua residual y lixiviado. De igual forma, es posible que un mejor control en el pH y un pretratamiento que ayude a remover el color del lixiviado, favorezca una mayor remoción de nutrientes (N y P), además de la obtención de más biomasa microalgal.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Raouf, N., A. A. Al-Homaidan, and I. B.M. Ibraheem. 2012. "Microalgae and Wastewater Treatment." *Saudi Journal of Biological Sciences* 19 (3). King Saud University:257–75. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005>.
- Abeliovich, A., and Y. Azov. 1976. "Toxicity of Ammonia to Algae in Sewage Oxidation Ponds." *Applied and Environmental Microbiology* 31 (6):801–6.
- Alcántar Negrete, René Francisco. 2015. "Evolución de Las Características Físicoquímicas Del Lixiviado Generado En El Relleno Sanitario Bordo Poniente."
- Alkalay, D., L. Guerrero, J. M. Lema, R. Mendez, and R. Chamy. 1998. "Review: Anaerobic Treatment of Municipal Sanitary Landfill Leachates: The Problem of Refractory and Toxic Components." *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 14 (3):309–20. <https://doi.org/10.1023/A:1008876107787>.
- Anthonisen, A, R Loehr, T. Prakasam, and E. Srinath. 1976. "Inhibition of Nitrification by Ammonia and Nitrous Acid." *Journal of the Water Pollution Control Federation* 48 (5):835–52. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- APHA. 1992. *Métodos Normalizados Para El Análisis de Aguas Potables Y Residuales*.
- Arango Muñoz, Liz. 2015. "Remoción de Materia Orgánica Y Nutrientes de Aguas Residuales, Purines de Cerdo Y Digestato Anaerobio Utilizando Un Consorcio de Microalgas-Bacterias."
- Barnes, H., and J. Blackstock. 1973. "Estimation of Lipids in Marine Animals and Tissues: Detailed Investigation of the Sulphophosphanilun Method for 'Total' Lipids." *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 12 (1):103–18. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(73\)90040-3](https://doi.org/10.1016/0022-0981(73)90040-3).
- Bastos Sousa, João Alexandre. 2010. "Landfill Leachate Treatment: A New Photobioreactor Technology."
- Beuckels, Annelies, Erik Smolders, and Koenraad Muylaert. 2015. "Nitrogen Availability Influences Phosphorus Removal in Microalgae-Based Wastewater Treatment." *Water Research* 77. Elsevier Ltd:98–106. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.03.018>.
- Bligh, E. G., and W. J. Dyer. 1959. "A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification." *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37.
- Capodaglio, Andrea, Petr Hlavínek, and Massimo Raboni. 2014. "Physico-Chemical Technologies for Nitrogen Removal from Wastewaters: A Review." *Revista Ambiente E Agua* 9 (3):445–58. <https://doi.org/10.4136/1980-993X>.

- Cheung, K. C., L. M. Chu, and M. H. Wong. 1993. "Toxic Effect of Landfill Leachate on Microalgae." *Water, Air, & Soil Pollution* 69 (3-4):337-49. <https://doi.org/10.1007/BF00478169>.
- Couto, Rafael Schirmer de Paula, Aline Faria Oliveira, Alcides Wagner Serpa Guarino, Daniel Vidal Perez, and Mónica Regina da Costa Marques. 2017. "Removal of Ammonia Nitrogen from Distilled Old Landfill Leachate by Adsorption on Raw and Modified Aluminosilicate." *Environmental Technology (United Kingdom)* 38 (7):816-26. <https://doi.org/10.1080/09593330.2016.1212935>.
- Craggs, R, J Park, S Heubeck, and Sutherland. 2014. "High Rate Algal Pond Systems for Low-Energy Wastewater Treatment, Nutrient Recovery and Energy Production." *New Zealand Journal of Botany* 52 (1):60-73. <https://doi.org/10.1080/0028825X.2013.861855>.
- Dubois, Michel, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and Fred Smith. 1956. "Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances." *Analytical Chemistry* 28 (3):350-56. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>.
- Edmundson, Scott J, and Ann C Wilkie. 2013. "Landfill Leachate – a Water and Nutrient Resource for Algae-Based Biofuels." <https://doi.org/10.1080/09593330.2013.826256>.
- Fallowfield, H. J, N. J Cromar, and L. M. Evison. 1996. "Coliform Die-off Rate Constants in a High Rate Algal Pond and the Effect of Operational and Environmental Variables." *Water Science and Technology* 34 (11):141-47.
- Franco-Morgado, Mariana, Cynthia Alcántara, Adalberto Noyola, Raúl Muñoz, and Armando González-Sánchez. 2017. "A Study of Photosynthetic Biogas Upgrading Based on a High Rate Algal Pond under Alkaline Conditions: Influence of the Illumination Regime." *Science of the Total Environment* 592. Elsevier B.V.:419-25. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.077>.
- García, Dimas, Cynthia Alcántara, Saúl Blanco, Rebeca Pérez, Silvia Bolado, and Raúl Muñoz. 2017. "Enhanced Carbon, Nitrogen and Phosphorus Removal from Domestic Wastewater in a Novel Anoxic-Aerobic Photobioreactor Coupled with Biogas Upgrading." *Chemical Engineering Journal* 313:424-34. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.12.054>.
- García, Dimas, Esther Posadas, Saúl Blanco, Gabriel Acién, Pedro García-Encina, Silvia Bolado, and Raúl Muñoz. 2017. "Evaluation of the Dynamics of Microalgae Population Structure and Process Performance during Piggery Wastewater Treatment in Algal-Bacterial Photobioreactors." *Bioresource Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.079>.
- Garcia, J, R Mujeriego, and M Hernandez-Marine. 2000. "High Rate Algal Pond Operating Strategies for Urban Wastewater Nitrogen Removal." *Applied Phycology* 12:331-39. <https://doi.org/10.1023/a:1008146421368>.

- Gotvajn, Andreja Žgajnar, and Aleksander Pavko. 2015. "Perspectives on Biological Treatment of Sanitary Landfill Leachate" 3. <http://www.intechopen.com/books/wastewater-treatment-engineering>.
- Graham, L, and L. Wilcox. 2000. "The Roles of Algae in Biogeochemistry." In *Algae*, 22–39.
- Grobbelaar, Johan U. 2007. "Algal Nutrition – Mineral Nutrition." *Handbook of Microalgal Culture*, 95–115. <https://doi.org/10.1002/9780470995280.ch6>.
- Hales, Jeremy M., and Dennis R. Drewes. 1979. "Solubility of Ammonia in Water at Low Concentrations." *Atmospheric Environment* 13 (8):1133–47. [https://doi.org/10.1016/0004-6981\(79\)90037-4](https://doi.org/10.1016/0004-6981(79)90037-4).
- Halouani, H. El, B. Picoti, C. Casellas, G. Pena, and J. Bontoux. 1993. "Elimination de L'azote et Du Phosphore Dans Un Lagunage À Haut Rendement." *Revue Des Sciences de L'eau* 6 (1):47. <https://doi.org/10.7202/705165ar>.
- Hende, Sofie Van Den, Erwan Carré, Elodie Cocard, Veerle Beelen, Nico Boon, and Han Vervaeren. 2014. "Treatment of Industrial Wastewaters by Microalgal Bacterial Flocs in Sequencing Batch Reactors." *Bioresource Technology* 161. Elsevier Ltd:245–54. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.057>.
- Hoekman, S. Kent, Amber Broch, Curtis Robbins, Eric Cenicerros, and Mani Natarajan. 2012. "Review of Biodiesel Composition, Properties, and Specifications." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16 (1). Elsevier Ltd:143–69. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.07.143>.
- Hu, Qiang, Milton Sommerfeld, Eric Jarvis, Maria Ghirardi, Matthew Posewitz, Michael Seibert, and Al Darzins. 2008. "Microalgal Triacylglycerols as Feedstocks for Biofuel Production: Perspectives and Advances." *Plant Journal* 54 (4):621–39. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03492.x>.
- Idrissi Abdelkhalek, El A, B Mohamed, A.-M Mohammed, and A Lotfi. 2016. "Growth Performance and Biochemical Composition of Nineteen Microalgae Collected from Different Moroccan Reservoirs." *Medit. Mar. Sci* 17 (1):323–32. <https://doi.org/10.12681/mms.1320>.
- Komolafe, Oladapo, Sharon B. Velasquez Orta, Ignacio Monje-Ramirez, Isaura Yañez Noguez, Adam P. Harvey, and Maria T. Orta Ledesma. 2014. "Biodiesel Production from Indigenous Microalgae Grown in Wastewater." *Bioresource Technology* 154. Elsevier Ltd:297–304. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.048>.
- Körner, Sabine, Sanjeev K. Das, Siemen Veenstra, and Jan E. Vermaat. 2001. "The Effect of pH Variation at the Ammonium/ammonia Equilibrium in Wastewater and Its Toxicity to Lemna Gibba." *Aquatic Botany* 71 (1):71–78. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(01\)00158-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(01)00158-9).
- Kumar, Kanhaiya, Sanjiv K. Mishra, Anupama Shrivastav, Min S. Park, and Ji

- Won Yang. 2015. "Recent Trends in the Mass Cultivation of Algae in Raceway Ponds." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 51. Elsevier:875–85. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.06.033>.
- Larsdotter, Karin. 2006. "Wastewater Treatment with Microalgae – a Literature Review." *Vatten* 62:31–38.
- Lin, L., G. Y S Chan, B. L. Jiang, and C. Y. Lan. 2007. "Use of Ammoniacal Nitrogen Tolerant Microalgae in Landfill Leachate Treatment." *Waste Management*. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2006.09.001>.
- Markou, G, D Vandamme, and K Muylaert. 2014. "Microalgal and Cyanobacterial Cultivation: The Supply of Nutrients." *Water Research*, 186–202.
- Mehrabadi, Abbas, Mohammed M. Farid, and Rupert Craggs. 2016. "Variation of Biomass Energy Yield in Wastewater Treatment High Rate Algal Ponds." *Algal Research* 15. Elsevier B.V.:143–51. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.02.016>.
- Mendoza, J. L., M. R. Granados, I. de Godos, F. G. Acién, E. Molina, S. Heaven, and C. J. Banks. 2013. "Oxygen Transfer and Evolution in Microalgal Culture in Open Raceways." *Bioresource Technology* 137. Elsevier Ltd:188–95. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.127>.
- Mennaa, Fatima Zahra, Zouhayr Arbib, and José Antonio Perales. 2015. "Urban Wastewater Treatment by Seven Species of Microalgae and Analgal Bloom: Biomass Production, N and P Removal Kinetics Andharvestability." *Water Research* 83:42–51. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.06.007>.
- Metcalf&Eddy. 2002. *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*.
- Minhas, Amritpreet K., Peter Hodgson, Colin J. Barrow, and Alok Adholeya. 2016. "A Review on the Assessment of Stress Conditions for Simultaneous Production of Microalgal Lipids and Carotenoids." *Frontiers in Microbiology* 7 (MAY):1–19. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00546>.
- Mishra, Sanjiv K., William I. Suh, Wasif Farooq, Myounghoon Moon, Anupama Shrivastav, Min S. Park, and Ji Won Yang. 2014. "Rapid Quantification of Microalgal Lipids in Aqueous Medium by a Simple Colorimetric Method." *Bioresource Technology* 155. Elsevier Ltd:330–33. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.077>.
- Monje Ramírez, I. 2004. "Ozonación de Lixiviados Estabilizados de Rellenos Sanitarios Para Transformar Materia Orgánica Recalcitrante Soluble." Universidad Nacional Autónoma de México.
- Morais, Josmaria Lopes De, and Patricio Peralta Zamora. 2005. "Use of Advanced Oxidation Processes to Improve the Biodegradability of Mature Landfill Leachates." *Journal of Hazardous Materials* 123 (1–3):181–86. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.03.041>.
- Muñoz, Raul, and Benoit Guieysse. 2006. "Algal-Bacterial Processes for the



- Treatment of Hazardous Contaminants: A Review." *Water Research* 40 (15):2799–2815. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.011>.
- Mustafa, Emienour Muzalina, Siew Moi Phang, and Wan Loy Chu. 2012. "Use of an Algal Consortium of Five Algae in the Treatment of Landfill Leachate Using the High-Rate Algal Pond System." *Journal of Applied Phycology*. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9716-x>.
- Oswald, W. J. 1988. "Micro-Algae and Waste-Water Treatment." In *Micro-Algal Biotechnology*, 305–28.
- Oswald, W.J., A. M. Asce, H. B. Gotaas, and M. Asce. 1955. "Photosynthesis in Sewage Treatment." *American Society of Civil Engineers*.
- Oswald, W.J., H.B. Gotaas, C.G. Golueke, W.R. Kellen, E.F. Gloyna, and E.R. Hermann. 1957. "Algae in Waste Treatment [ with Discussion ]." *Water Environment Federation* 29 (4):437–57. <https://doi.org/10.2307/25033322>.
- Peccia, Jordan, Berat Haznedaroglu, James Gutierrez, and Julie B. Zimmerman. 2013. "Nitrogen Supply Is an Important Driver of Sustainable Microalgae Biofuel Production." *Trends in Biotechnology* 31 (3). Elsevier Ltd:134–38. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.01.010>.
- Picot, B., H. El Halouani, Claude Casellas, S. Moersidik, and J. Bontoux. 1991. "Nutrient Removal by High Rate Pond System in a Mediterranean Climate (France)." *Water Science and Technology* 23 (1963):1535–41. [http://apps.webofknowledge.com/full\\_record.do?product=UA&search\\_mode=GeneralSearch&qid=23&SID=V2IMBjjRAI6C1fmi39b&page=1&doc=2](http://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=UA&search_mode=GeneralSearch&qid=23&SID=V2IMBjjRAI6C1fmi39b&page=1&doc=2).
- Posadas, Esther, David Marín, Saúl Blanco, Raquel Lebrero, and Raúl Muñoz. 2017. "Simultaneous Biogas Upgrading and Centrate Treatment in an Outdoors Pilot Scale High Rate Algal Pond." *Bioresource Technology* 232. Elsevier Ltd:133–41. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.071>.
- Qasim, S, and W Chiang. 1994. *Sanitary Landfill Leachate: Generation, Control, and Treatment*.
- Razzak, Shaikh Abdur, Saad Aldin M. Ali, Mohammad Mozahar Hossain, and Hugo deLasa. 2017. "Biological CO<sub>2</sub> Fixation with Production of Microalgae in Wastewater – A Review." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 76 (February). Elsevier Ltd:379–90. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.02.038>.
- Renou, S., J. G. Givaudan, S. Poulain, F. Dirassouyan, and P. Moulin. 2008. "Landfill Leachate Treatment: Review and Opportunity." *Journal of Hazardous Materials* 150 (3):468–93. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.09.077>.
- Rhee, G-Yull. 1978. "Effects of N : P Atomic Ratios and Nitrate Limitation on Algal Growth , Cell Composition , and Nitrate Uptake." *Limnology and Oceanography* 23 (1):10–25. <http://www.jstor.org/stable/2835687>.

- Richards, R. G., and B. J. Mullins. 2013. "Using Microalgae for Combined Lipid Production and Heavy Metal Removal from Leachate." *Ecological Modelling*. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2012.07.004>.
- Rojas Valencia, María Neftalí. 2007. "Técnicas Para El Tratamiento de Lixiviados Generados En Rellenos Sanitarios." In .
- SEDEMA. 2015. "Inventario de Residuos Sólidos de La Ciudad de México.," 11–33. <http://www.sedema.df.gob.mx/sedema/images/archivos/temas-ambientales/programas-generales/residuos-solidos/inventario-residuos-solidos-2014/IRS-2014.pdf>.
- Sforza, Eleonora, Mohammed-Hassan Khairallah, Al Emar, Adel Sharif, and Alberto Bertucco. 2015. "Exploitation of Urban Landfill Leachate as Nutrient Source for Microalgal Biomass Production." *CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS* 43.
- Shelef, G, Y Azov, and R Moraine. 1982. "Nutrients Removal and Recovery in a Two-Stage High - Rate Algal Wastewater Treatment System."
- Weissman, Joseph C., Raymond P. Goebel, and John R. Benemann. 1988. "Photobioreactor Design: Mixing, Carbon Utilization, and Oxygen Accumulation." *Biotechnology and Bioengineering* 31 (4):336–44. <https://doi.org/10.1002/bit.260310409>.
- Wild, Harry E, Clair N Sawyer, and Thomas C McMahon. 1971. "Factors Affecting Nitrification Kinetics." *Journal (Water Pollution Control Federation)* 43 (9):1845–54. <http://www.jstor.org/stable/25037179>.
- Wiszniewski, J., D. Robert, J. Surmacz-Gorska, K. Miksch, and J. V. Weber. 2006. "Landfill Leachate Treatment Methods: A Review." *Environmental Chemistry Letters* 4 (1):51–61. <https://doi.org/10.1007/s10311-005-0016-z>.
- Young, P., M. Taylor, and H. J. Fallowfield. 2017. "Mini-Review: High Rate Algal Ponds, Flexible Systems for Sustainable Wastewater Treatment." *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 33 (6). Springer Netherlands:117. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2282-x>.
- Yu, Kai Ling, Pau Loke Show, Hwai Chyuan Ong, Tau Chuan Ling, John Chi-Wei Lan, Wei Hsin Chen, and Jo Shu Chang. 2017. "Microalgae from Wastewater Treatment to Biochar – Feedstock Preparation and Conversion Technologies." *Energy Conversion and Management* 150 (July). Elsevier:1–13. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.07.060>.
- Zhao, Xin, Yan Zhou, Sheng Huang, Duanyang Qiu, Lance Schideman, Xiaoli Chai, and Youcai Zhao. 2014. "Characterization of Microalgae-Bacteria Consortium Cultured in Landfill Leachate for Carbon Fixation and Lipid Production." *Bioresour. Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.112>.