



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Tratamiento terciario de aguas residuales
domésticas con fotobiorreactores de *Chlorella*
vulgaris

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G O

PRESENTA:

Luis Ángel Cortés Salazar

Director de tesis:

Dr. Justo Salvador Hernández Avilés

Ciudad de México, 2023





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.

Agradecimientos institucionales

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza a través del Laboratorio de investigación de Limnoecología de la Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza (UMIEZ) por mi desarrollo como biólogo.

A mi asesor de tesis el Dr. Justo Salvador Hernández Avilés por todo su apoyo académico y personal durante mi desarrollo en laboratorio, que ayudó a formarme como científico y cultivar el interés por la investigación.

A mis sinodales, la Mtra. Maricela Arteaga Mejía, la Dra. Eloísa Adriana Guerra Hernández, al Mtro. Eliseo Cantellano de Rosas y a la Dra. Francisca Leonora Sánchez y García Figueroa por sus observaciones, comentarios y sugerencias, así como el tiempo que se tomaron para la revisión de esta tesis.

Al Dr. Miroslav Macek por su apoyo y asesoramiento con el microscopio de epifluorescencia, en la Unidad de Investigación Interdisciplinaria en Ciencias de la Salud y la Educación (UIICSE) de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA), UNAM a través de la Beca de Licenciatura otorgada por el Programa de Apoyo a Proyectos para Innovar y Mejorar la Educación (PAPIME), con el proyecto “Desarrollo de material didáctico dentro de las tecnologías de la información y comunicación para la enseñanza en línea o mixta de la Ecología Acuática en la Carrera de Biología (PE208021)”.

A la Dirección General de Orientación y Atención Educativa (DGOAE), UNAM a través de la Beca de Titulación-Egresados Alto Rendimiento 2022-2023.

Agradecimientos personales

Agradezco enormemente a mis padres, Luis y Lulu, y a mi hermana, Gaby, por estar conmigo durante toda la carrera, y más aún, en esta parte final de mi formación académica, ya que su amor, apoyo y cariño me motivaron a llegar a lo que soy hoy en día.

Al Dr. Salvador Hernández por todo el conocimiento, apoyo, risas y calidez humana que compartió conmigo, tanto en el ámbito de trabajo de laboratorio y campo, como en la parte personal, le agradezco mucho haberme aceptado como su alumno.

A todos los chicos de laboratorio, José Luis, Jessi, Mahetzi, Leo, Trejo, Erick, Anette, Liss, Clau, Neft, Gabriel y Andy, por su amistad, compañía, apoyo y momentos divertidos, especialmente a Artemio, quien ha sido un gran compañero de trabajo y amigo.

A Zule y Amaury por ser parte importante en mi crecimiento académico y personal durante toda la carrera.

A mi abuela, Rosa, mi tía, Susan, y mi prima, Ximena, por sus palabras de aliento y compañía durante la pandemia.

A mi abuelo, Manuel, que él siempre supo que sería limnólogo desde que entre a la carrera.

Y finalmente, Junior, mi mascota, que siempre estuvo a mi lado durante cada noche de desvelo.

Índice

Resumen	1
Introducción	3
Marco teórico	4
Antecedentes	8
Planteamiento del problema y justificación	9
Preguntas de investigación e hipótesis	10
Objetivos	11
Método	
De campo	12
De laboratorio	13
De gabinete	17
Resultados	
Establecimiento de proporciones	19
Remoción de nutrientes, M.O. y coliformes totales	20
Microalgas, bacterias y rotíferos	27
Discusión	
Proporción agua residual–cultivo microalgal	39
Remoción de nutrientes, M.O. y coliformes totales	40
Microalgas, bacterias y rotíferos	45
Conclusiones	48
Referencias	50

Resumen

Las descargas de aguas residuales han provocado problemas de eutrofización, contaminación y salud pública. En el caso de México, el tratamiento de aguas residuales municipales se emplean principalmente tratamientos primarios y secundarios, a pesar de ello, es poco eficiente. El uso de tratamientos terciarios puede mejorar la calidad del agua del agua residual, no obstante, por su alto costo económico y energético es limitado su empleo. Sin embargo, el empleo de fotobiorreactores puede emplearse para eficientizar su tratamiento. En esta investigación se evaluó experimentalmente la eficiencia de la microalga *Chlorella vulgaris* para remover nutrientes (nitrógeno y fósforo), DQO, DBO y coliformes totales en aguas residuales domésticas. Además, se determinó la proporción adecuada entre el agua residual y el medio de cultivo para un óptimo crecimiento de la microalga, así como su interacción biológica con la comunidad bacteriana y población de rotíferos presente. El agua residual utilizada se obtuvo de dos compartimentos, una con tratamiento primario (mezcla de aguas negras y grises) y otro con secundario a la salida de un humedal artificial de flujo subsuperficial en una Asociación Civil en Puebla, México. Se utilizó las siguientes proporciones medio de cultivo: agua residual para determinar cuál era la óptima: 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4 y 7:3. Posteriormente se realizaron dos tratamientos y un control a microescala durante 15 días bajo las siguientes condiciones: $23\pm 3^{\circ}\text{C}$, 24 h luz y aireación por bombeo. La proporción 5:5 presentó el mayor crecimiento y biomasa microalgal. La prueba con agua del tratamiento primario fue mayor la biomasa y el crecimiento de *C. vulgaris*, que el control y el tratamiento secundario. El amonio en ambos tratamientos se redujo un 77.8-89%, mientras el nitrato y el nitrito aumentaron un 79-95%. Los ortofosfatos y el fósforo total tuvieron una mayor remoción en el tratamiento secundario (70.3% y 63.7%), mientras que el tratamiento primario fue más eficiente para reducir la DBO y DQO (56% y 66.9%). Los coliformes totales tuvieron una remoción >93% en los dos tratamientos. Comparando la alta eficiencia de remoción de *C. vulgaris* con He et al., 2013, Mayhead et al., 2018 y Monsenpour et al., 2021, se observó que tiene una mayor preferencia de asimilar el amonio que a los nitratos, además el cultivo no axénico favorece el proceso de nitrificación, explicando el aumento de los nitratos y nitritos en el experimento. La presencia de una alta abundancia de rotíferos (tratamiento secundario–agua de humedal subsuperficial) disminuyó el crecimiento de *C.*

vulgaris y la abundancia bacteriana. Se observó que entre la microalga y la comunidad bacteriana (Spearman $\rho = -0.6$, $P = 0.017$) se puede estar llevando a cabo una relación de competencia, mientras que entre los rotíferos favorecen de manera indirecta el crecimiento bacteriano. A pesar de que la presencia de los rotíferos afecta negativamente a *C. vulgaris*, el tratamiento secundario presentó una mayor eficiencia de tratamiento, indicando que el efecto de depredación está jugando un papel importante en el desempeño de la microalga y la comunidad bacteriana para tratar el agua. En conclusión, *C. vulgaris* es una alternativa viable para el tratamiento terciario de aguas residuales domésticas.

Introducción

A nivel mundial la contaminación de los cuerpos de agua es un problema que afecta de manera negativa tanto al medio ambiente como el desarrollo humano. Las descargas de aguas residuales son un factor importante en el deterioro de la calidad del agua superficial y subterránea en todo el mundo, limitando su uso para otras actividades y su consumo, aumentando la carga de nutrientes, organismos patógenos y contaminantes remanentes (WWAP, 2017; Newton y McClary, 2019; Vasistha y Ganguly, 2020,).

Mazari y Noyola (2018) reconocen que México presenta problemas asociados con la gestión de la calidad del agua, ya que el manejo de las aguas residuales es poco eficiente y/o no son tratadas. Principalmente, es el más empleado como el tratamiento más empleado es el uso de lodos activados (tratamiento biológico), sin embargo, aún quedan presentes ciertos contaminantes (SEDEMA, 2018; SEDEMA, 2019; CONAGUA, 2021).

Para esto es necesario implementar un tratamiento terciario, en el cual, se utilizan procesos físico-químicos (electrodialisis, intercambio iónico, ultrafiltración, ozonificación, etc). No obstante, su costo energético y monetario es muy alto, por lo que es necesario desarrollar nuevas soluciones con una perspectiva renovadora (Boeriu et al., 2013; Department of Environment and Conservation, 2016; Mishra et al., 2018).

El tratamiento de aguas residuales con fotobiorreactores ha surgido como una opción viable, ya que la actividad metabólica de los microorganismos fotosintéticos (microalgas y/o cianobacterias) resulta en una mayor eficiencia en la remoción de contaminantes, patógenos y materia orgánica, además de tener un menor costo energético (Fazal et al., 2018).

Marco teórico

La problemática de las aguas residuales

Las aguas residuales son la combinación de una o más aguas de composición variada, como efluentes domésticos (aguas negras y grises), agua de establecimientos comerciales e instituciones, efluentes industriales y escurrimientos urbanos, agrícolas, hortícolas y acuícolas. Se caracterizan por estar compuestas por un 99% de agua y un 1% de sólidos disueltos, coloidales o suspendidos; contienen residuos de productos de aseo personal y doméstico, disolventes industriales, plaguicidas y microorganismos patógenos (coliformes fecales) (WWAP, 2017; Mazari y Noyola, 2018).

En el nivel mundial, es probable que más del 80% de las aguas residuales sean vertidas al medio ambiente si un tratamiento adecuado (WWAP, 2017). En México, la Comisión Nacional de Agua en 2015 registró un total de 2 477 plantas de tratamiento con una capacidad de 177 973.6 L/s y un caudal tratado de 120 902.2 L/s, alcanzando una cobertura nacional en el saneamiento de las aguas residuales municipales del 52.72%. Esta cifra está por debajo de la media nacional alcanzada en otros países de América Latina (Sánchez, 2017). Más del 50% de las plantas de tratamiento municipales en México presentan una calificación global de pésimo a mal funcionamiento (Mazari y Noyola, 2018).

Composición del agua residual

El agua residual es el término utilizado para referirse al agua que ha sido previamente usada por el ser humano, sufriendo alteraciones en su composición física, química y biológica que resultan en una disminución de su calidad (WWAP, 2017).

La característica fundamental del agua residual radica en presentar una concentración elevada de nutrientes (específicamente nitrógeno y fósforo) y materia orgánica, además de contener patógenos como virus, bacterias y parásitos, así como otros contaminantes como fármacos, solventes, pesticidas, entre otros. Cabe destacar que la composición del agua residual varía según el uso que se le haya dado (Acién et al., 2016; Li et al., 2019).

Además de la presencia de sustancias químicas, partículas y otros materiales que conforman al agua residual, se encuentra una gran comunidad biológica microscópica conformada por distintos grupos de organismos

Principalmente se encuentran bacterias, amebas y protozoarios flagelados, ya que son dominantes al utilizar la materia orgánica particulada y disuelta. Luego, aumenta la cantidad de zooflagelados y ciliados de movilidad libre, quienes se alimentan de las poblaciones bacterianas en crecimiento. Finalmente, los ciliados sésiles y los rotíferos se vuelven más numerosos, alimentándose de la materia orgánica floculada (Mihelcic y Zimmerman, 2011).

Tratamiento de aguas residuales

El tratamiento de aguas residuales consiste en remover nutrientes inorgánicos (NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ , NH_3 y PO_4^{3-}), materia orgánica, sólidos suspendidos, contaminantes emergentes (fármacos, colorantes, pesticidas, etc.) y patógenos mediante procesos físicos, químicos y biológicos, los cuales se divide principalmente en cuatro etapas: pretratamiento, tratamiento primario, secundario y terciario (Abdel et al., 2012; Mohsenpour et al., 2020).

El pretratamiento remueve sólidos y objetos de gran tamaño mediante procesos físicos (filtración y/o cribado). Posteriormente, el tratamiento primario se encarga de sedimentar partículas más pequeñas por acción de la gravedad, disminuyendo la carga de sólidos sedimentables suspendidos (Abdel et al., 2012; Ación et al., 2016).

El tratamiento secundario consiste en la degradación de la materia orgánica por la actividad microbiana de bacterias heterótrofas, disminuyendo la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), la concentración de nutrientes y la carga de patógenos (Crini y Lichtfouse, 2019; Mohsenpour et al., 2020). En esta etapa puede ser posible emplear procesos tanto biológicos como químicos.

Por último, el tratamiento terciario remueve iones orgánicos, contaminantes remanentes y patógenos, esto mediante procesos fisicoquímicos y/o biológicos como adsorción con carbón activado, floculación, intercambio iónico, filtración por membrana, destrucción electroquímica, ozonización, cloración e irradiación UV, esto con la finalidad de mejorar

aún más la calidad del agua. Sin embargo, la mayoría de estos procesos son costosos y consumen mucha energía (Fazal et al., 2018).

Por otra parte, se ha estudiado el uso que pueden tener algunos microorganismos (algas, bacterias, hongos, etc.) en el tratamiento de aguas residuales, y se ha observado que son métodos eficientes para remover contaminantes y que además son más económicos que algunos métodos empleados en el tratamiento terciario (Akpor y Muchie, 2010; Li et al., 2011; Fazal et al., 2018;). Una opción viable es el uso de microorganismos fotosintéticos, como microalgas y/o cianobacterias para mejorar la calidad del agua.

Ficorremediación

Las microalgas poseen una capacidad depuradora conocida como ficorremediación, definida como el uso de microalgas-bacterias para la eliminación o biotransformación de contaminantes (Abdel et al., 2012).

La biorremediación de aguas residuales con microalgas puede ocurrir de dos maneras: bioconversión y bioacumulación.

Durante el proceso de bioconversión, las microalgas utilizan la alta carga de nutrientes en el agua residual para su crecimiento, como nitrógeno y fósforo, convirtiéndolos en metabolitos. También son capaces de utilizar materia orgánica como fuente de carbono además del dióxido de carbono. Para el mecanismo de bioacumulación, algunos contaminantes son absorbidos por las microalgas, siendo degradados posteriormente por acción enzimática (Cuellar-Bermúdez et al., 2017; Brar et al., 2017; Kaloudas et al., 2021).

En la remoción de nutrientes, las microalgas utilizan principalmente formas inorgánicas de nitrógeno y fósforo bajo condiciones autotróficas, como amonio (NH_4^+), nitratos (NO_3^-), nitritos (NO_2^-) y ortofosfatos (PO_4^{3-}) para la síntesis de aminoácidos, poliaminas, pigmentos fotosintéticos y nucleótidos, además de generar energía (ATP). Sin embargo, cuando se ve favorecido un medio con condiciones heterotróficas (limitación de N y P inorgánico y exposición lumínica), algunas especies son capaces de utilizar compuestos orgánicos, como urea, proteínas, glucosa, glicerol y/o cadenas cortas de carbono como fuente de C, N y P. Debido a esto, tienen la capacidad de cambiar su metabolismo

dependiendo de las condiciones del medio (Cuellar – Bermúdez et al. 2017; Mohsenpour et al., 2020). Para el caso de la reducción de materia orgánica, se aumenta la concentración de oxígeno aportado por el cultivo microalgal (fotosíntesis), favoreciendo así los procesos de oxidación y degradación de la M.O.

Además de la remoción de nutrientes y materia orgánica, también se ha reportado que el tratamiento de agua residual con microalgales es capaz de reducir la presencia de microorganismos patógenos (coliformes fecales), como *Escherichia coli* y *Salmonella*. Esto debido a un cambio en el pH del medio ocasionado por el proceso de fotosíntesis (Hernández-Pérez y Labbé, 2014).

Por otra parte, en el tratamiento de aguas residuales con microalgas existe una relación simbiótica con las bacterias heterótrofas presentes, ya que el CO₂ utilizado por los microorganismos fotosintéticos es convertido en O₂ mediante el proceso de fotosíntesis, siendo utilizado para oxidar la materia orgánica, generando CO₂ y formas oxidadas de nitrógeno y fósforo. El desecho de un organismo es la fuente principal de carbono y energía para el otro, siendo un sistema sinérgico positivo. Sin embargo, el crecimiento de las microalgas puede verse afectado por la presencia de depredadores, como protozoarios, rotíferos, entre otros, disminuyendo su crecimiento, actividad biológica y eficiencia de tratamiento (Acién et al., 2016; Li et al., 2019).

Fotobiorreactores

Un fotobiorreactor es un sistema cerrado que permite el crecimiento controlado de microorganismos fotosintéticos, como microalgas, cianobacterias, entre otros. Se caracterizan por utilizar materiales transparentes, como vidrio o plástico, para permitir el paso de luz natural o artificial, además de controlar con mayor eficiencia las condiciones de crecimiento, como la concentración de nutrientes, pH, temperatura, CO₂ administrado, O₂ removido, densidad celular e intensidad lumínica (Suh y Lee, 2003; Li et al., 2019; Kunjapur y Eldridge, 2010).

Para un óptimo funcionamiento además de considerar las condiciones de crecimiento, es importante el diseño del fotobiorreactor, ya que, dependiendo de la forma y tamaño de este, varía su relación superficie/volumen. A mayor área expuesta a la luz, mayor será

el crecimiento y biomasa producida por los microorganismos fotosintéticos (Vasumathi et al. 2012).

Asimismo, otros factores que puede alterar el desempeño de un cultivo microalgal, son la presencia de organismos depredadores, como protozoos, rotíferos y copépodos; el tipo de agua residual y la carga de nutrientes que presenta, ya que cargas muy altas de ciertos contaminantes pueden inhibir el crecimiento de ciertas microalgas; y densidad celular, ya que a mayor densidad de microalgas, mejor crecimiento y mayor eficiencia de eliminación de nutrientes (Abdel et al., 2012; Brar et al., 2017)

Antecedentes

Algunos autores como Azarpira et al. (2014), Cuellar – Bermúdez et al. (2017), Fazal et al. (2018) y Patel et al. (2019) reportaron varios géneros de cianobacterias y microalgas con una alta eficiencia en la remoción de contaminantes, así como una alta resistencia a condiciones adversas en cultivos con agua residual, tanto de tipo doméstica como industrial. Los más frecuentes son *Chlorella*, *Spirogyra*, *Oscillatoria*, *Nostoc*, *Scenedesmus*, *Synechococcus*, *Thermosynechococcus*, *Phormidium* y *Galdieria*.

Wu et al. (2017) realizaron un trabajo de biorremediación con *Chlorella sp.* bajo distintos parámetros ambientales para optimizar la remoción de contaminantes en agua residual textil, reportando que bajo condiciones de aeración (concentración de CO₂ al 10%), un pH con valor de 9 y la adición de K₂HPO₄ (8 mg/L) y urea (1 mg/L) tuvo una mayor eficiencia de remoción de DQO y N–NH₄⁺ (75%).

Li et al. (2011) reportaron en aguas residuales municipales tratadas con *Chlorella sp.* una eficiencia de remoción de nitrógeno total, fósforo total y DQO entre el 80.9% y 93.9%. Además, estos autores reportan que algunas especies del género *Chlorella* son mixotróficas, lo que significa que pueden utilizar simultáneamente luz y fuente orgánica como fuentes de energía y asimilar CO₂ y glucosa o ácidos simples como fuentes de carbono. *Chlorella pyrenoidosa* y *Chlorella sp.* (Cepa VC79) pueden crecer de forma autótrofa y heterótrofa.

Perez-Garcia et al. (2011) encontraron que se favorecía el crecimiento heterótrofo de *Chlorella vulgaris* al suministrar acetato de sodio y D–glucosa como una fuente de

carbono orgánico en cultivos con agua residual municipal, además de tener una eficiencia de remoción del amonio del 70%.

Wang et al. (2010) evaluaron el crecimiento y la eficiencia de remoción de nitrógeno, fósforo, DQO y iones metálicos de *Chlorella vulgaris* en cuatro compartimentos diferentes de una planta de tratamiento municipal, encontrando que esta especie puede adaptarse sin ningún problema, aunque tuvo un mayor crecimiento en la muestra obtenida en el compartimento que tenía mayor carga de nutrientes y materia orgánica.

Tejido et al. (2020) reportaron que la presencia de protozoarios y rotíferos afectaba el crecimiento de *Chlorella vulgaris* en un co-cultivo, favoreciendo a su vez la comunidad bacteriana presente en el agua residual. Sin embargo, mencionaron que esto solo se observó en el fotobiorreactor realizado a escala piloto.

Planteamiento del problema

En 1993 la Asociación Civil Mateo Quinto, ubicada en el estado de Puebla, México, se construyó un Sistema Unitario de Tratamiento y Reúso de Agua, Nutrientes y Energía (SUTRANE) para poder tratar aguas residuales domésticas con un enfoque ecotecnológico. Arredondo (2017) realizó el tratamiento de aguas residuales con cultivos mixtos de *Cyperus papyrus* (papiro), *Zantedeschia aethiopica* (alcatraz) y *Typha domingensis* (espadaña), reportando que el tratamiento con los cultivos incrementó la concentración de oxígeno disuelto (0.64 mg/L), además de que la DBO y la DQO tuvieron una remoción del 36.7% y 72.3% en el tratamiento con espadaña-alcatraz. Sin embargo, aunque estos dos parámetros disminuyeron, la DBO se encontraba por encima de los LMP de la NOM-001-SEMARNAT-1996, y la DQO y DBO, según el Índice de Calidad de Agua, se clasificó el agua tratada como fuertemente contaminada. Asimismo, la concentración de coliformes estaba por encima de la NOM-003-ECOL-1997.

Justificación

En el caso particular del SUTRANE de la Asociación Civil Mateo Quinto, a pesar de lograr cierto nivel de tratamiento del agua residual doméstica generada, sigue presentando limitaciones en la disminución de la DQO, la DBO y los coliformes, dando a entender que

el tratamiento que reciben estas aguas residuales no es eficiente, limitando su reúso para el riego de árboles frutales y pastos de conservación dentro de la asociación.

Por esta razón, se propone implementar el uso de la microalga *Chlorella vulgaris* a través de fotobiorreactores como un tratamiento terciario para mejorar la calidad del agua en la Asociación Civil Mateo Quinto, ya que se ha observado en la literatura que este microorganismo presenta altas tasas de remoción de nutrientes y otros contaminantes, tanto en aguas residuales de tipo doméstica como industrial.

Preguntas de investigación

1. ¿El empleo de fotobiorreactores con *Chlorella vulgaris* como tratamiento terciario efficientizará el realizado en el agua residual doméstica de un SUTRANE en el compartimento de salida del humedal de flujo subsuperficial en cuanto a la reducción de los nutrientes, DBO, DQO y coliformes totales?
2. ¿Qué proporción del cultivo y agua residual serán óptimas para obtener un mayor crecimiento y biomasa de *Chlorella vulgaris* en los fotobiorreactores del agua obtenida de la canaleta del humedal de flujo subsuperficial del SUTRANE?
3. ¿Qué papel desempeñan los rotíferos y las bacterias en el tratamiento del agua residual en los fotobiorreactores con *Chlorella vulgaris*?

Hipótesis

1. El cultivo de *Chlorella vulgaris* como tratamiento terciario del agua residual del humedal de flujo subsuperficial del SUTRANE reducirá de manera significativa la carga de materia orgánica, la concentración de nutrientes y coliformes totales.
2. El crecimiento y la biomasa de *Chlorella vulgaris* será mayor en cultivos que tengan una proporción de entre el 50% y 60% con respecto al agua residual.
3. Los rotíferos tendrán un efecto negativo en el crecimiento de *Chlorella vulgaris*, favoreciendo el crecimiento de bacterias, alterando la eficiencia del tratamiento de los fotobiorreactores.

Objetivo

General

Evaluar la eficiencia de fotobiorreactores a escala de laboratorio con *Chlorella vulgaris* como tratamiento terciario de aguas residuales domésticas.

Particular

Determinar las proporciones de cultivo microalgal y agua residual para un óptimo crecimiento de *Chlorella vulgaris*.

Evaluar la eficiencia de remoción de nutrientes, DQO, DBO y coliformes totales con *Chlorella vulgaris* en el tratamiento de aguas residuales domésticas.

Cuantificar la concentración de biomasa producida y el crecimiento de *Chlorella vulgaris*.

Determinar la abundancia y el crecimiento de los rotíferos y las bacterias en los cultivos, así como su interacción con *Chlorella vulgaris*.

Método

Trabajo de campo

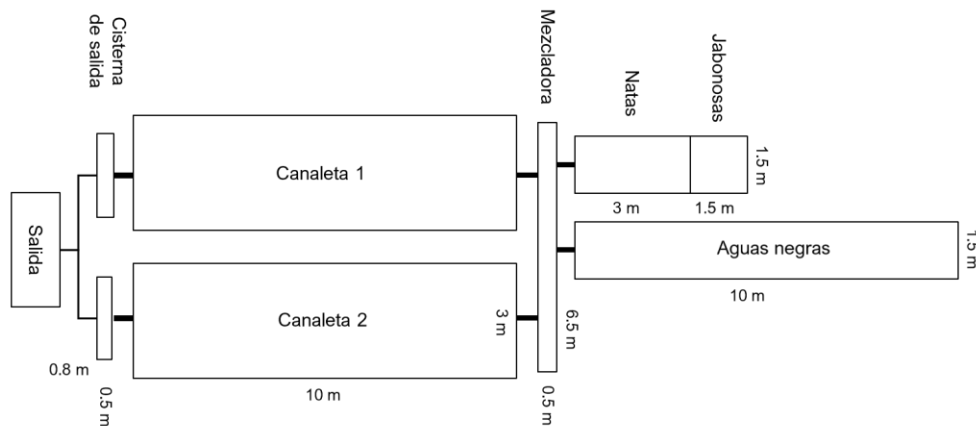


Figura 1. Esquema del SUTRANE de la Asociación Civil Mateo Quinto.

Se trabajó en la planta de tratamiento ecotecnológica de la Asociación Civil Mateo Quinto, ubicada en el municipio de Amozoc en el estado de Puebla, entre las coordenadas 19°02' y 19°03' latitud norte y 98°03' y 98°04' latitud oeste.

El tipo de clima presente es templado subhúmedo con lluvias en verano (C(w)) con una temperatura media anual de 14 a 16 °C y una precipitación total anual de 800 a 1000 mm (INEGI, 2017).

La planta de tratamiento, conocida como SUTRANE, está conformada por un sedimentador cerrado para aguas negras (10 m x 1.5 m), un depósito de aguas jabonosas (1.5 m x 1.5 m) conectado a una trampa de natas (3 m x 1.5 m). Ambos depósitos se conectan a un compartimento (0.5 m x 6.5 m) donde se mezclan el agua negra y jabonosa, teniendo la función de un tratamiento primario. Posteriormente el agua entra a dos canaletas (10 m x 3 m cada una), la cuales cuentan con un humedal de flujo subsuperficial, que cuenta con un sustrato tezontle y un tiempo de retención de 6 días además de presentar diferente especies vegetales (C1:alcatraz; C2:alcatraz–papiro), y una cisterna (0.5 m x 0.8 m) para almacenar el agua al final de cada canaleta, funcionando como un tratamiento secundario. Por último, el agua almacenada pasa a un

compartimento de salida. Tanto el humedal de flujo subsuperficial como los depósitos de agua jabonosas y la trampa de natas cuentan con invernaderos (figura 1).

Los parámetros de campo que se analizan son pH, conductividad y total de sólidos disueltos (TDS), así como alcalinidad total, dureza total y dureza de calcio.



Figura 2. Toma de muestras en la planta de tratamiento de la A.C. Mateo Quinto en de la salida de la canaleta 2 (A) conformada por un humedal de flujo subsuperficial (B) y en el compartimento de mezcla de aguas jabonosas y negras (C).

Las muestras de agua residual se tomaron sólo en dos secciones del SUTRANE, la mezcladora (tratamiento primario) y la salida de la canaleta 2 (tratamiento secundario) (figura 2), se conservaron en botellas de polietileno de 1 L y 500 mL, y botellas ámbar de vidrio de 125 mL a una temperatura de 4° C.

Trabajo de laboratorio

Proporción agua residual – cultivo microalgal

Para determinar la proporción adecuada entre el cultivo de *Chlorella vulgaris* en medio Basal Bold y agua residual tratada, se realizó una serie de cultivos con diferentes proporciones (tabla 1), observando el crecimiento de la microalga durante un periodo de 14 días, al inicio (día 0), intermedio (día 7) y final (día 14).

Tabla 1. Proporciones entre agua residual y cultivo microalgal.

Proporción C.M.:A.R.¹	Cultivo microalgal (C.M.) (mL)	Agua residual (A.R.) (mL)
1:9	10	90
2:8	20	80
3:7	30	70
4:6	40	60
5:5	50	50
6:4	60	40
7:3	70	30

Diseño y condiciones de los fotobiorreactores

Se prepararon tres medios de cultivo en matraces Erlenmeyer de 250 mL, el primero contuvo medio Basal Bold como control del experimento, el segundo, agua residual obtenida de la mezcladora (tratamiento primario) y el tercero, agua del compartimento de salida de la canaleta 2 (tratamiento secundario). Se llevaron a cabo tres repeticiones para todos los cultivos.

Los cultivos se mantuvieron a temperatura ambiente ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) con un fotoperiodo de 24h luz (artificial), además, estuvieron conectados a un sistema de aireación con un flujo de 6 L/min, compuesto por tres bombas de aire conectadas a un tubo de PVC (1 pulgadade diámetro x 70 cm de largo), el cual, contó con nueve llaves de paso para regular el flujo de aire para cada cultivo. Por último, el experimento tuvo una duración de 14 días (figura 3).

¹ C.M.:A.R. = Cultivo microalgal : Agua residual

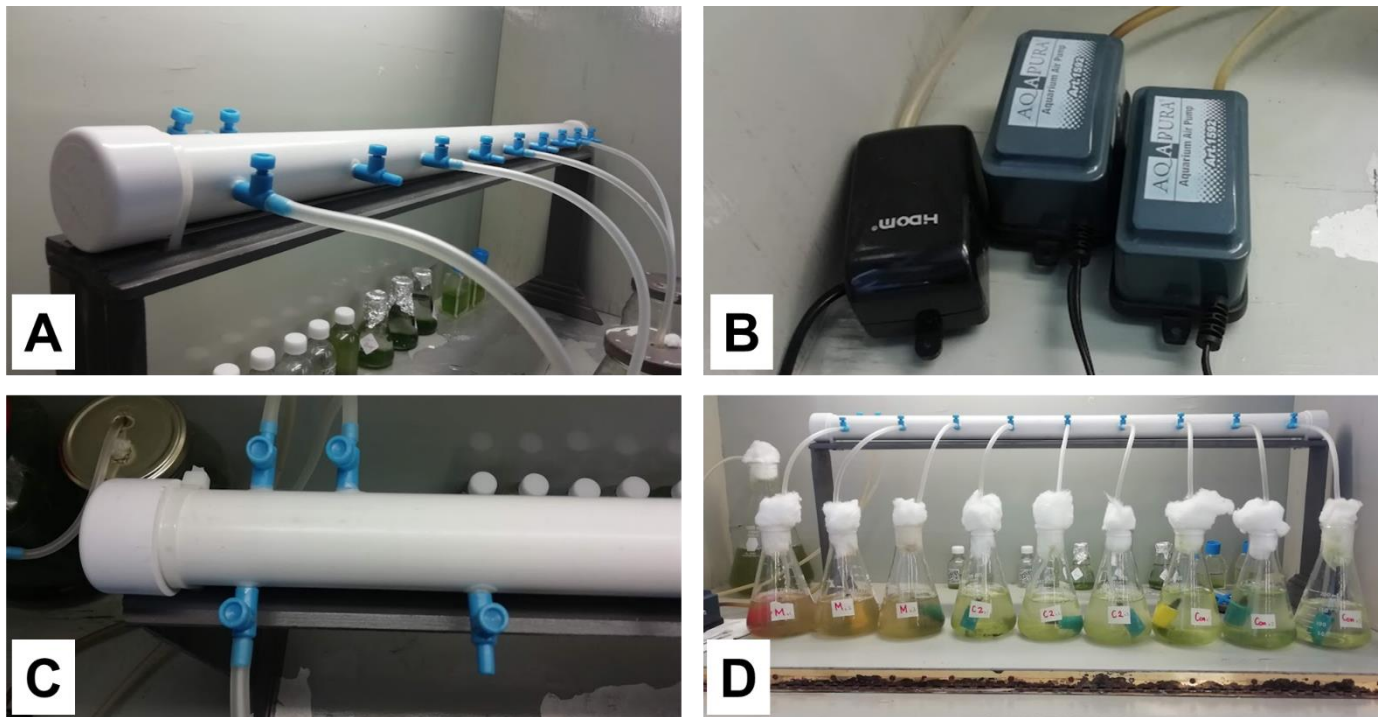


Figura 3. (A) Sistema de aireación conectado a (B) tres bombas de aireación, cuenta con (C) llaves de regulación para controlar el flujo de aire. (D) Diseño general de fotobiorreactores a escala de laboratorio..

Crecimiento microalgal y remoción de nutrientes

Para el monitoreo del crecimiento de las microalgas, se colectaron 5 mL por cultivo cada 24 h y se analizaron en un espectrofotómetro a una densidad óptica (DO) de 625 nm, se utilizó la curva de calibración de Frumento et al. (2013) para determinar la concentración de biomasa y la ecuación de Gonçalves et al. (2016) para obtener la tasa de crecimiento específico.

Para determinar el porcentaje de remoción de DBO, DQO y nutrientes, se evaluó su concentración al inicio (día 0), intermedio (día 7) y al final (día 14) del experimento. En el caso de los coliformes totales solo se evaluó al inicio y al final

Tabla 2. Pruebas químicas para el análisis de nutrientes, materia orgánica y coliformes.

Prueba	Método	Referencia
Ortofosfatos	Método del fosfomolibdato	A.P.H.A. 2012
Fósforo total	Método por digestión y fosfomolibdato	A.P.H.A. 2012
Nitratos	Método de reducción por cadmio	HACH 2019
Nitritos	Método de diazonización	A.P.H.A. 2012
Amonio	Método del azul de indofenol	A.P.H.A. 2012
DQO	Tubo sellado	NMX-AA-030/2-SCFI-2012
DBO₅	Incubación de DBO en 5 días	NMX-AA-028-SCFI-2001
Coliformes totales	Número más probable (NMP)	NMX-AA-042-SCFI-2015

El volumen que se colectó para realizar cada prueba se representa en la siguiente tabla:

Tabla 3. Volumen utilizado para pruebas químicas.

Parámetro	Volumen
Nitratos	10 mL
Nitritos	5 mL
Amonio	5 mL
Ortofosfatos	5 mL
Fósforo total	10 mL
DQO	0.5 mL (mezcladora) 1 mL (salida)
DBO₅	3 mL (mezcladora) 5 mL (salida)

Abundancia de rotíferos y bacterias

Se contó cada tercer día el número de rotíferos por mililitro con ayuda de un microscopio óptico, mientras que, para las bacterias, se realizó el conteo mediante la técnica de tinción DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol) en un microscopio de fluorescencia (Porter y Feig, 1980).

Trabajo de gabinete

Se determinó la densidad celular y concentración de biomasa microalgal producida, mediante espectrofotometría, utilizando una longitud de onda de 625 nm, convirtiendo la densidad óptica (DO) en gramos en peso seco sobre litro (g_{dw}/L) mediante la siguiente curva de calibración (Frumento et al., 2013).

$$X = 0.2379 (DO_{625nm})$$

donde: X = Concentración de biomasa (g_{dw}/L)

Para determinar la tasa de crecimiento específico de *Chlorella vulgaris* en los medios de cultivos se aplicó la siguiente ecuación (Gonçalves et al., 2016):

$$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1}$$

donde: μ = Tasa de crecimiento específico

X_1 = Concentración inicial

X_2 = Concentración final

t_1 = Tiempo inicial (días)

t_2 = Tiempo final (días)

Para determinar la tasa de remoción se usó la siguiente fórmula (Gonçalves et al., 2016):

$$\%R = \frac{S_i - S_f}{S_i} \cdot 100$$

donde: $\%R$ = Remoción de nutrientes, DBO, DQO, y coliformes

S_i = Concentración inicial

S_f = Concentración final

Pruebas estadísticas

Para la determinación de la eficiencia de remoción de nutrientes y materia orgánica, se aplicó una ANOVA de dos vías con una prueba de Tukey. En el caso de que los datos no cumplieran con los supuestos de normalidad (Shapiro–Wilk) y homocedasticidad (Levene), se volvió a comprobar los supuestos con los residuales de los datos, como sugiere Kozak y Piepho (2017).

Para los datos que no cumplieron los supuestos, se utilizó la prueba no paramétrica de Friedman como alternativa a la prueba de ANOVA de 2 vías

La relación entre rotíferos, bacterias y microalgas se evaluó mediante regresiones lineales y correlaciones para determinar su interacción y función en los fotobiorreactores.

Los análisis estadísticos se realizaron con ayuda del programa IBM® SPSS® Statistics versión 21 y Past 4.04 (Paleontological Statistics software).

Resultados

Establecimiento de proporciones

La proporción cultivo microalgal:agua residual 5:5 presentó el mayor crecimiento de *Chlorella vulgaris*, alcanzando una densidad máxima de 3.59×10^6 cél./mL y una biomasa de 0.1796 g/L. También se observó que la proporción 4:6 y 7:3 tuvo un crecimiento positivo pero menor (2.5×10^6 cél./mL y 0.12 g_{p.s.}²/L en biomasa) (figura 4).

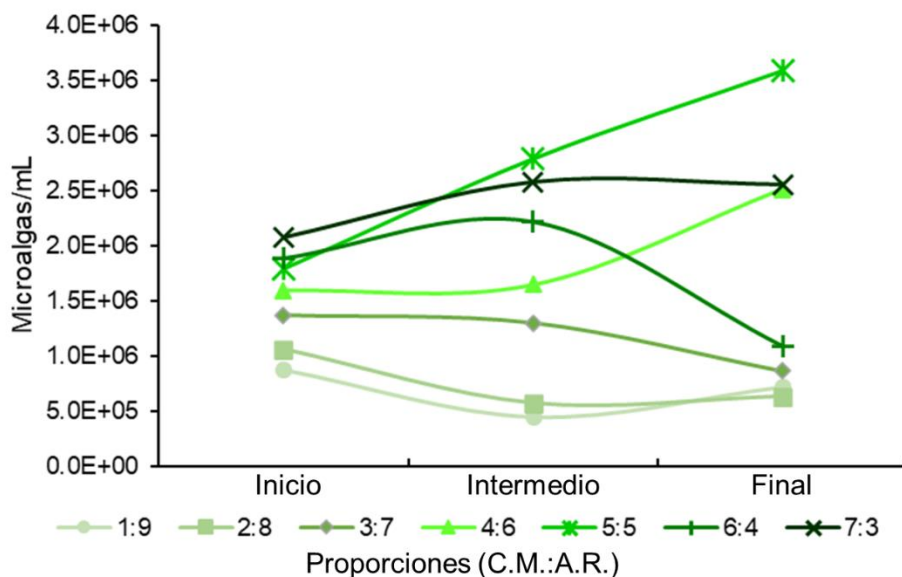


Figura 4. Crecimiento de *Chlorella vulgaris* en diferentes proporciones entre cultivo microalgal y agua residual (C.M.:A.R.) (Inicio=día 0, Intermedio=día 7, Final=día 14)

Por otra parte, se observó que, las proporciones 1:9, 2:8 y 3:7 presentaron las más bajas densidades celulares (6.28×10^5 - 8.61×10^5 cél./mL), mientras que la proporción 6:4 presentó un incremento al intermedio y un decaimiento al final del experimento en la densidad celular (figura 4).

² p.s.: Peso seco

Remoción de nutrientes, M.O. y coliformes totales

- Nitratos

Se observó que, a lo largo del experimento la concentración de nitratos (figura 5) aumentó un 86% en el tratamiento primario (5.8 a 41.9 mg/L N-NO_3^-) y un 79.4% en el tratamiento secundario (9.6 a 46.7 mg/L N-NO_3^-).

Se registraron diferencias significativas en la concentración de nitratos (N-NO_3^-), tanto entre los tratamientos ($F_{(1)} = 11.13$, P-value = 0.006) como en el tiempo ($F_{(2)} = 77.38$, P-value < 0.000).

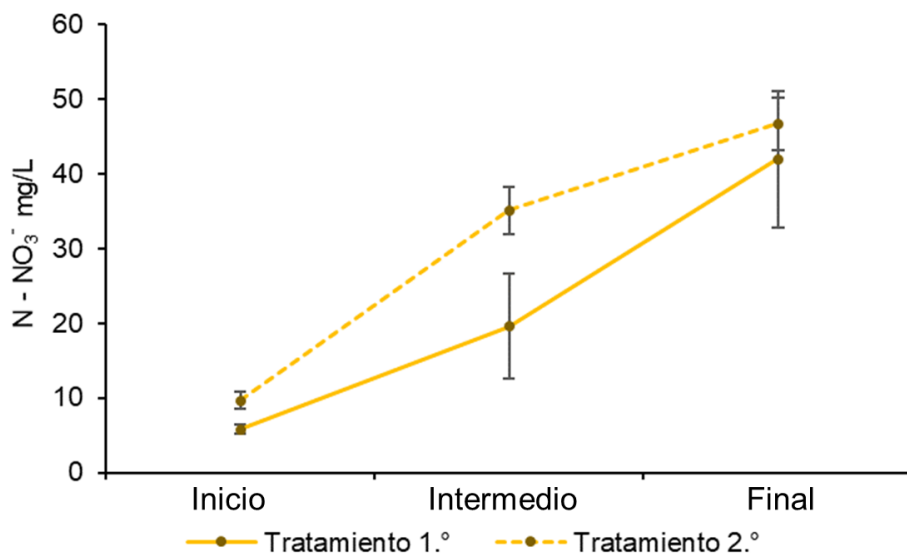


Figura 5. Concentración media (\pm D.E.) de N-NO_3^- durante el experimento.

La prueba de Tukey demostró que no hubo diferencias significativas al inicio ($Q = 1.31$, P-value = 0.880) y al final ($Q = 1.60$, P-value = 0.784) del experimento en la concentración de nitratos (N-NO_3^-) entre el tratamiento primario y secundario. Únicamente se observó diferencia significativa al intermedio del experimento ($Q = 5.25$, P-value = 0.020).

- Nitritos

Al igual que los nitratos, la concentración de nitritos incrementó a lo largo del experimento, aumentando un 95.7% en el tratamiento primario (0.08 a 1.653 mg/L N-NO₂⁻) y un 95.1% en el tratamiento secundario (0.098 a 1.993 mg/L N-NO₂⁻) (figura 6).

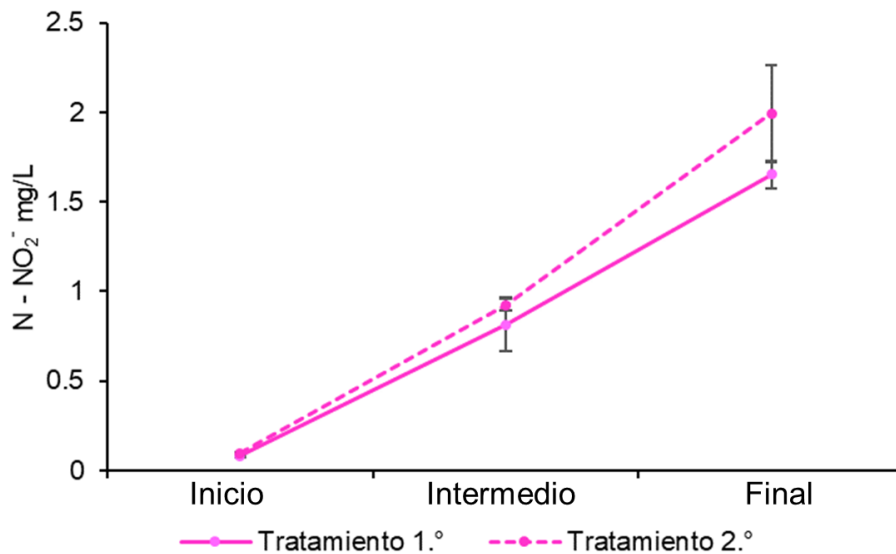


Figura 6. Concentración media (\pm D.E.) de N-NO₂⁻ durante el experimento.

A partir de la ANOVA de 2 vías se obtuvo que tanto el tiempo ($F_{(2)} = 264$, P-value < 0.000) y los tratamientos ($F_{(1)} = 6.35$, P-value = 0.0268) tuvieron diferencias significativas sobre la concentración de nitritos (N-NO₂⁻).

Sin embargo, en la prueba de Tukey se observó que la concentración de N-NO₂⁻ entre el tratamiento primario y secundario no presentaron diferencias significativas al inicio ($Q = 0.22$, P-value = 0.999) y al intermedio ($Q = 1.45$, P-value = 0.836) del experimento, aunque se observó que al final del experimento se alcanzó un valor de $Q = 4.49$, P-value = 0.05.

- Amonio

Se observó que la concentración de amonio disminuyó con respecto al tiempo, reduciendo un 77.8% en el tratamiento primario (3.69 a 0.82 mg/L N-NH_4^+) y un 89.1% en el tratamiento secundario (3.13 a 0.34 mg/L N-NH_4^+) (figura 7).

Además, a partir de la ANOVA de 2 vías, se determinó que hubo diferencias significativas en la concentración de amonio (N-NH_4^+) con respecto al tiempo ($F_{(2)} = 65.84$, P-value < 0.000) y los tratamientos ($F_{(1)} = 21.54$, P-value < 0.000).

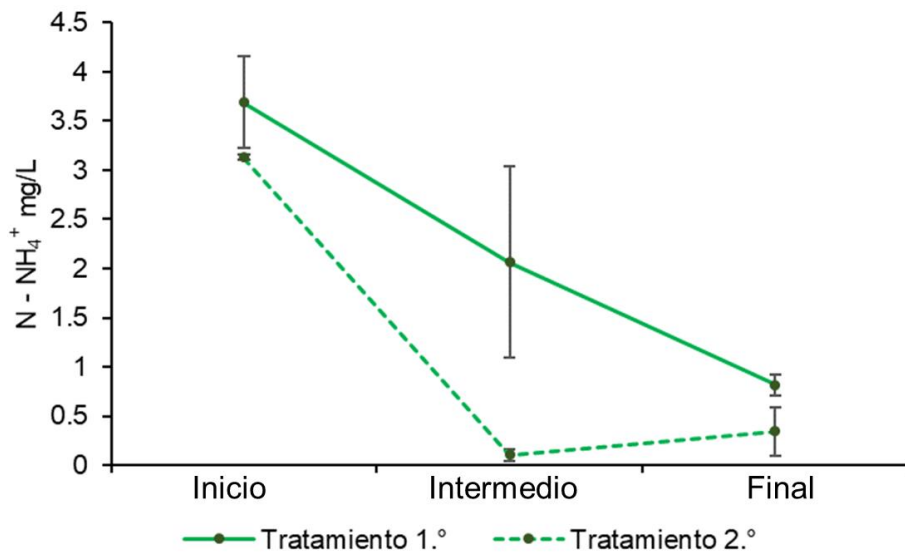


Figura 7. Concentración media (\pm D.E.) de N-NH_4^+ de durante el experimento.

La prueba de Tukey demostró que la concentración de N-NH_4^+ entre el tratamiento primario y secundario al inicio ($Q = 2.11$, P-value = 0.582) y al final ($Q = 1.80$, P-value = 0.710) del experimento no presentaron diferencias significativas. No obstante, al intermedio del experimento se encontró que hubo diferencia significativa ($Q = 7.45$, P-value = 0.001).

- Ortofosfatos

La concentración de ortofosfatos disminuyó con respecto al tiempo en ambos tratamientos, teniendo una eficiencia de remoción del 56.6% en el tratamiento primario (24.68 a 10.7 mg/L P-PO₄³⁻) y un 70.9% en el tratamiento secundario (22.01 a 6.40 mg/L P-PO₄³⁻) (figura 8).

Hubo diferencias significativas en la ANOVA de 2 vías con respecto al tiempo ($F_{(2)} = 255.1$, $p\text{-value} < 0.000$) y a los tratamientos ($F_{(1)} = 42.21$, $p\text{-value} < 0.000$) sobre la concentración de ortofosfatos (P-PO₄³⁻).

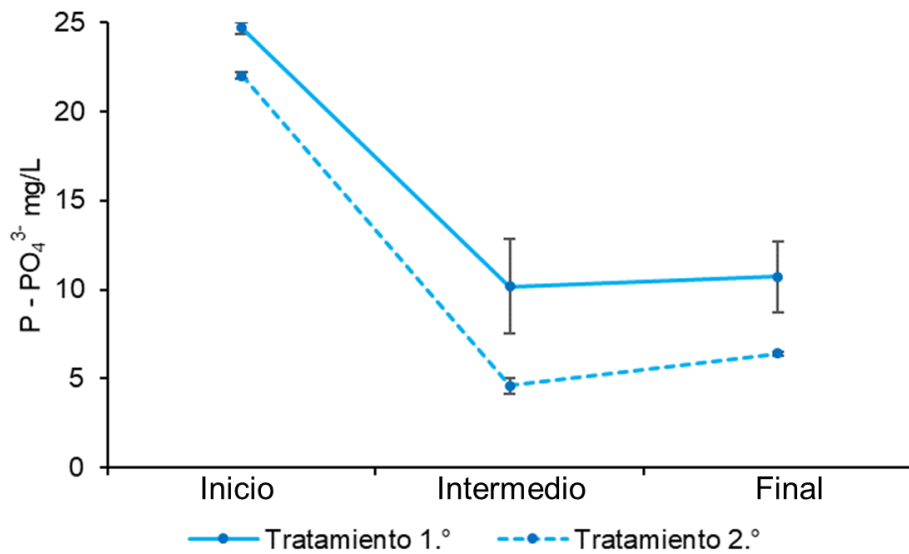


Figura 8. Concentración media (\pm D.E.) de P-PO₄³⁻ durante el experimento.

A partir de la prueba de Tukey se determinó que la concentración de P-PO₄³⁻ entre el tratamiento primario y secundario al inicio del experimento no presento diferencia significativa ($Q = 3.38$, $P\text{-value} = 0.183$), aunque al intermedio ($Q = 7.07$, $P\text{-value} = 0.002$) y al final ($Q = 5.45$, $P\text{-value} = 0.015$) del experimento se observaron diferencias significativas.

- Fósforo total

Al igual que los ortofosfatos, el fósforo total disminuyó, observándose que el tratamiento secundario tuvo una mayor remoción, pasando de 38.39 a 13.93 mg/L P, teniendo una eficiencia del 63.7%. Por otra parte, el tratamiento primario solo redujo un 38.8% (42.84 a 26.21 mg/L P) (figura 9).

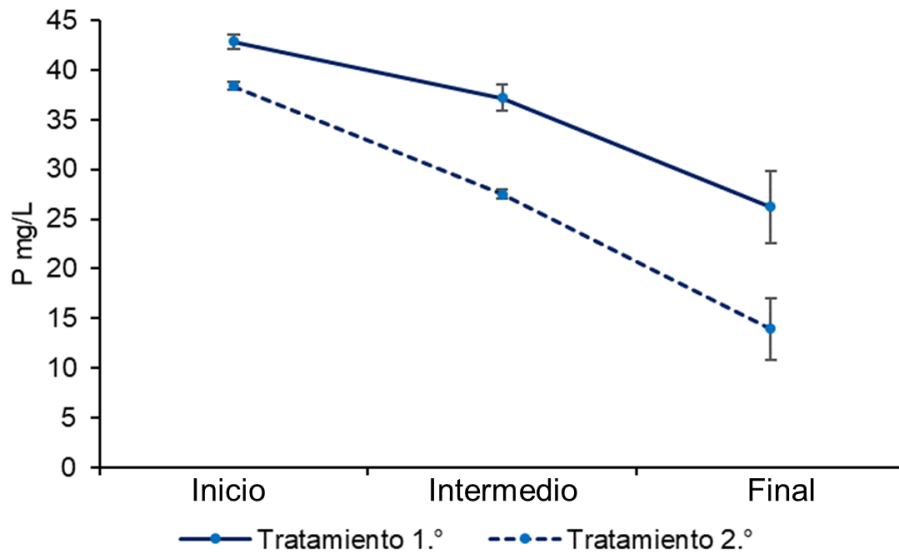


Figura 9. Concentración media (\pm D.E.) de fósforo durante el experimento.

La ANOVA de 2 vías demostró diferencias significativas en la concentración de fósforo total en el tiempo ($F_{(2)} = 148.7$, $P\text{-value} < 0.000$) y entre los tratamientos ($F_{(1)} = 81.09$, $P\text{-value} < 0.000$).

Con la prueba de Tukey se observó que únicamente al inicio ($Q = 3.71$, $P\text{-value} = 0.126$) del experimento la concentración de P no presentó diferencia significativa en ambos tratamientos (primario y secundario). Los valores que presentaron al intermedio y al final del experimento fueron $Q = 8.11$, $P\text{-value} < 0.000$ y $Q = 10.23$, $P\text{-value} < 0.000$.

- Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)

La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) presentó un comportamiento similar a la de la DQO, en el tratamiento con agua de la mezcladora la concentración disminuyó un 56% (229.67 a 101.04 mg/L DBO), mientras que en la canaleta 2 aumentó un 9% (61.12 a 67.17 mg/L DBO). (figura 10).

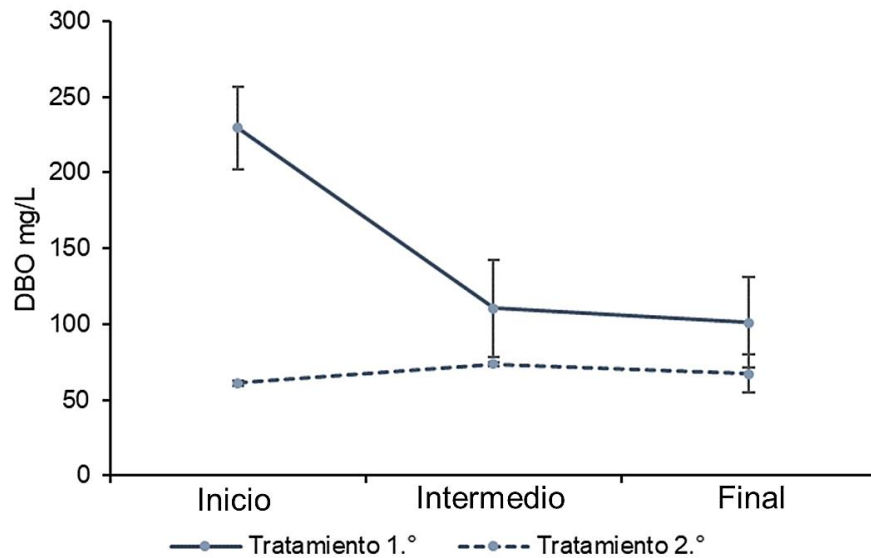


Figura 10. Concentración media (\pm D.E.) de la DBO durante el experimento.

La prueba de Friedman demostró diferencias significativas ($\chi^2 = 13.67$, p-value = 0.018) en la concentración de DBO entre el inicio de ambos tratamientos (P-value = 0.034).

- Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Se observó que la concentración de DQO disminuyó en el tratamiento primario, pasando de 626.67 a 207.33 mg/L (remoción del 66.9%). Sin embargo, el tratamiento secundario fue opuesto, aumentando de 70.07 a 100.33 mg/L (incremento del 29.6%) (figura 11).

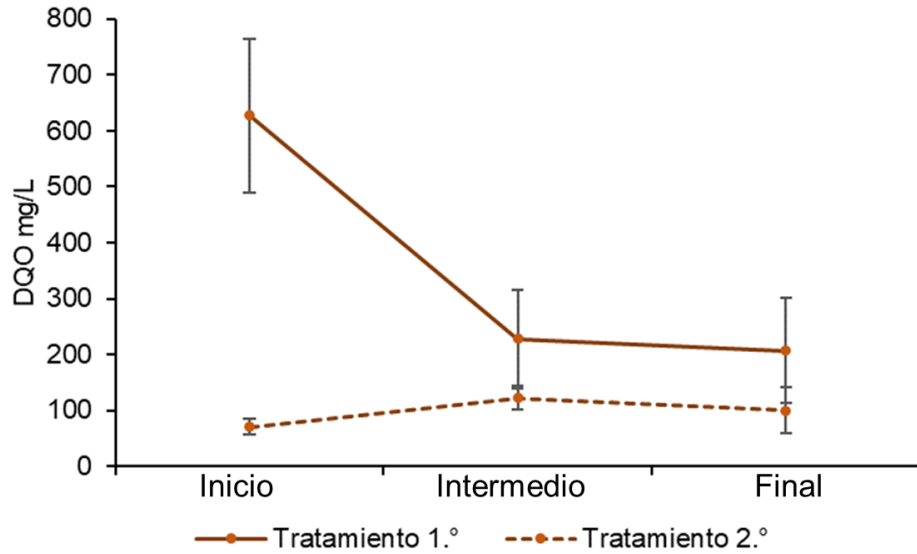


Figura 11. Concentración media (\pm D.E.) de la DQO durante el experimento.

La prueba de Friedman demostró diferencias significativas ($\chi^2 = 13.90$, P-value = 0.015) en la concentración de DQO entre el inicio de ambos tratamientos (P-value = 0.023).

- Coliformes totales

Se puede observar que tanto el tratamiento con agua de la mezcladora como con la canaleta 2, los coliformes totales disminuyeron hasta alcanzar un valor menor a 3 en el NMP/100 mL (figura 12), la eficiencia de remoción fue del 99.8 a 93.2%.

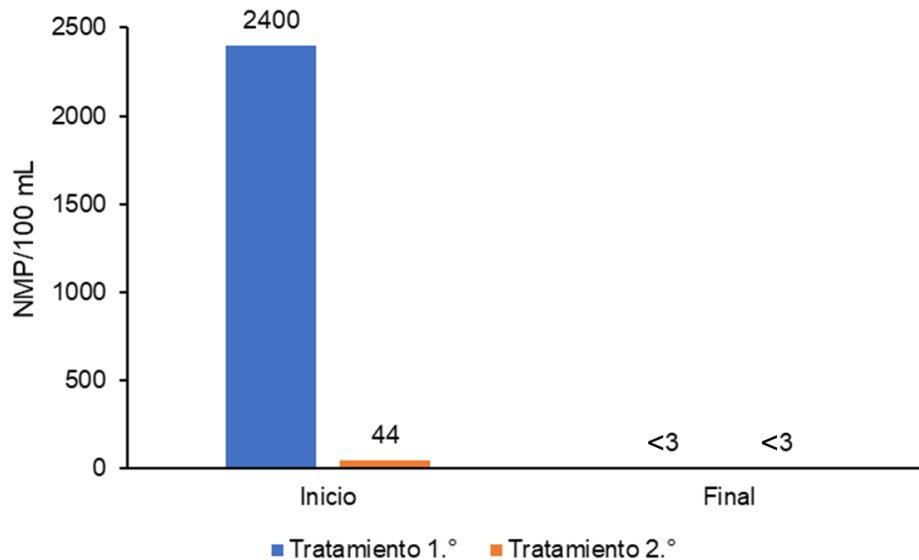


Figura 12. Número más probable (NMP) de coliformes totales en 100mL durante el experimento.

Microalgas, bacterias y rotíferos

- Biomasa microalgal

Durante el experimento, el tratamiento con agua de la mezcladora obtuvo una biomasa de *C. vulgaris* en peso seco de 0.0546 a 0.0324 g/L, siendo mayor que la producida en el control (0.0313 a 0.0191 g/L). Por otra parte, se observó que el tratamiento con canaleta 2 tuvo la menor concentración de biomasa a pesar de que al comienzo fue mayor que el control (0.0371 a 0.0147 g/L) (figura 13).

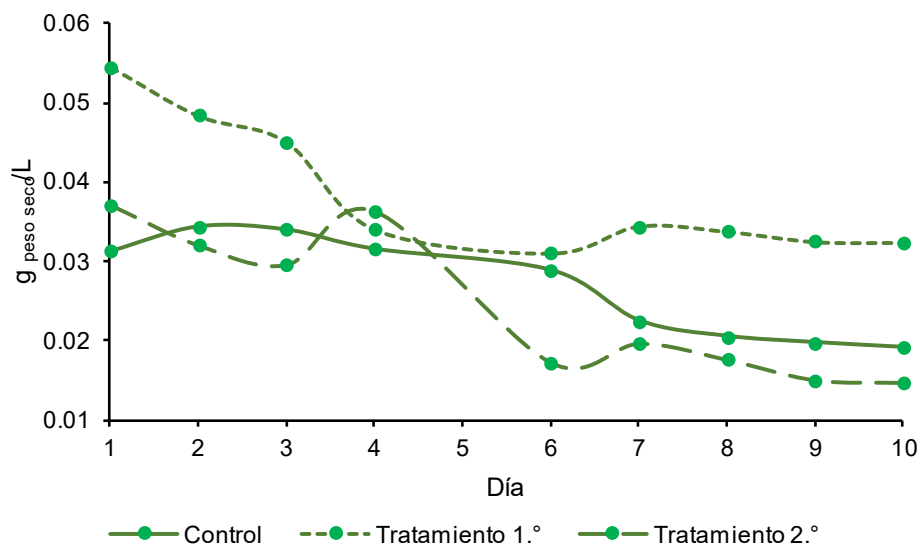


Figura 13. Biomasa microalgal promedio en peso seco (g /L) de *Chlorella vulgaris* producida durante el experimento.

- Tasa de crecimiento específica

C. vulgaris presentó valores negativos a largo de todo el experimento en ambos tratamientos, así como en el control, sin embargo, el control (μ : 0.09 a -0.05 día⁻¹) fue mayor que el tratamiento primario (μ : -0.12 a -0.05 día⁻¹) y el tratamiento secundario (μ : 0.14 a -0.10 día⁻¹) (figura 14).

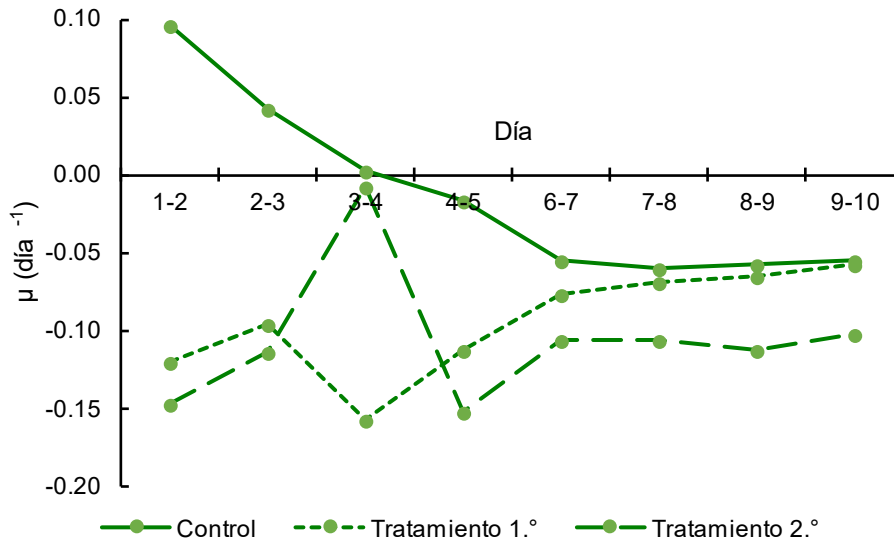


Figura 14. Tasa de crecimiento específico (μ día⁻¹) de *Chlorella vulgaris* durante el experimento.

- Crecimiento microalgal, zooplanctónico (rotíferos) y bacteriano

En la figura 15, que corresponde el crecimiento de *C. vulgaris* y rotíferos, se observa un crecimiento positivo y un incremento en la abundancia de los rotíferos en el tratamiento secundario, aumento de 356 ind./mL en el día 1 a 1222 ind./mL en el día 10. Por otro lado, la microalga presentó un crecimiento negativo, disminuyendo su abundancia a lo

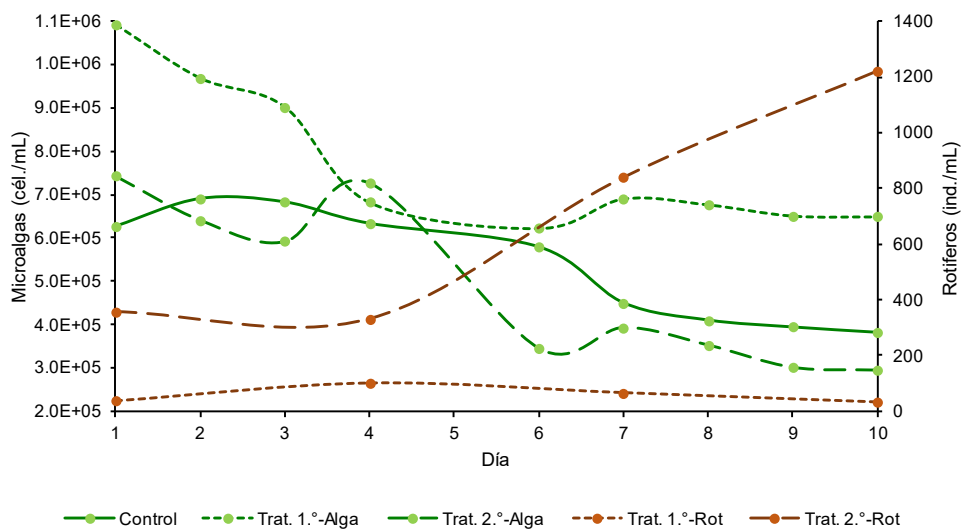


Figura 15. Crecimiento de *Chlorella vulgaris* y rotíferos promedio durante el experimento.

largo del experimento (7.42×10^5 cél./mL, día 1– 2.94×10^5 cél./mL, día 10). Además, se observó que, en el tratamiento primario, los rotíferos presentaron una baja abundancia y un crecimiento nulo (37 ind./mL, día 1–33 ind./mL, día 10), mientras que la microalga tuvo una mayor abundancia y un mejor crecimiento ($1,09 \times 10^6$ cél./mL, día 1– 6.54×10^5 cél./mL, día 10).

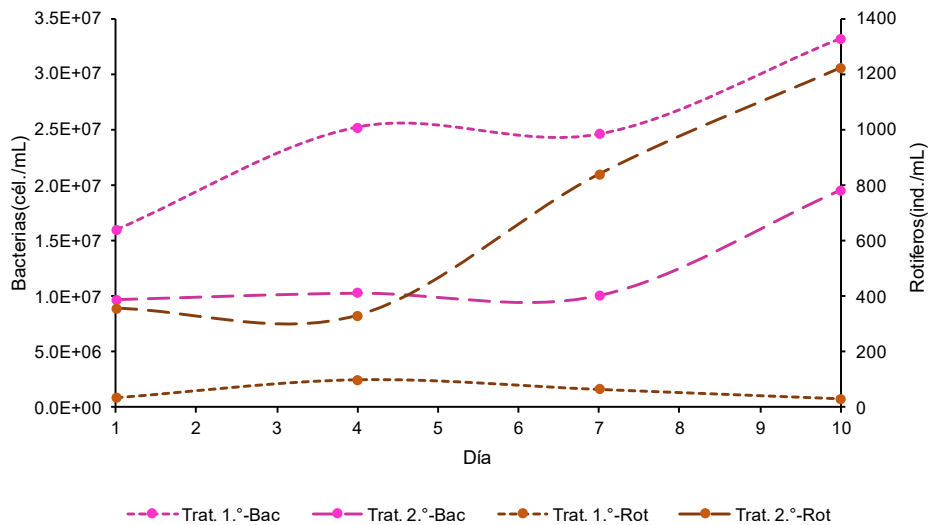


Figura 16. Crecimiento de bacterias y rotíferos promedio durante el experimento.

En el caso de la figura 16, se observa un crecimiento positivo de la densidad bacteriana en los dos tratamientos, sin embargo, en el tratamiento primario, la abundancia de bacterias es mayor, pasando de 1.59×10^7 cél./mL en el día 1 a 3.33×10^7 cél./mL en el día 10, a comparación con el tratamiento secundario (9.76×10^6 cél./mL día 1– 1.96×10^7 cél./mL día 10).

La composición morfológica de bacterias estuvo compuesta por cocos, bacilos y vibrios, de los cuales, los cocos y los bacilos fueron más abundantes.

Como se puede observar en la figura 17, el tratamiento primario (color amarillo) tuvo un mayor número de cocos (1.13×10^7 a 1.11×10^7 cél./mL), bacilos (4.35×10^6 a 2.11×10^7 cél./mL) y vibrios (2.45×10^5 a 1.04×10^6 cél./mL) a comparación del tratamiento

secundario (color azul) (cocos: 6.57×10^6 a 1.21×10^7 cél./mL; bacilos: 3.07×10^6 a 6.93×10^6 cél./mL; vibrio: 1.25×10^5 a 5.69×10^5 cél./mL). Sin embargo, del día 7 al 10 hubo un cambio en la dominancia de bacterias en el tratamiento primario, siendo más abundantes los bacilos que los cocos, lo cual esto no suceden en el tratamiento secundario.

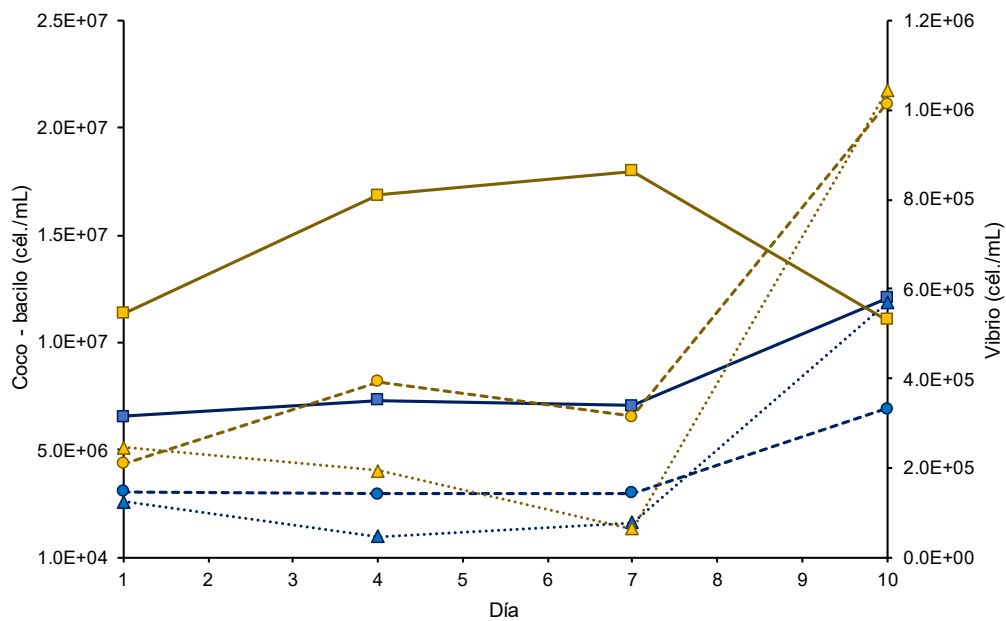


Figura 17. Crecimiento promedio de (■) cocos, (●) bacilos y (▲) vibrios durante el experimento en el tratamiento primario (líneas amarillas) y el tratamiento secundario (líneas azules).

Se observó en el tratamiento secundario la formación de conglomerados de materia orgánica, así como la agrupación de bacterias en estos a lo largo del experimento. En la figura 18 se observa que en el día 1(A) y 4(B) las bacterias se encuentran dispersas en el medio, en cambio, en el día 7(C) y 10(D) hay presencia de conjuntos de bacterias y materia orgánica.

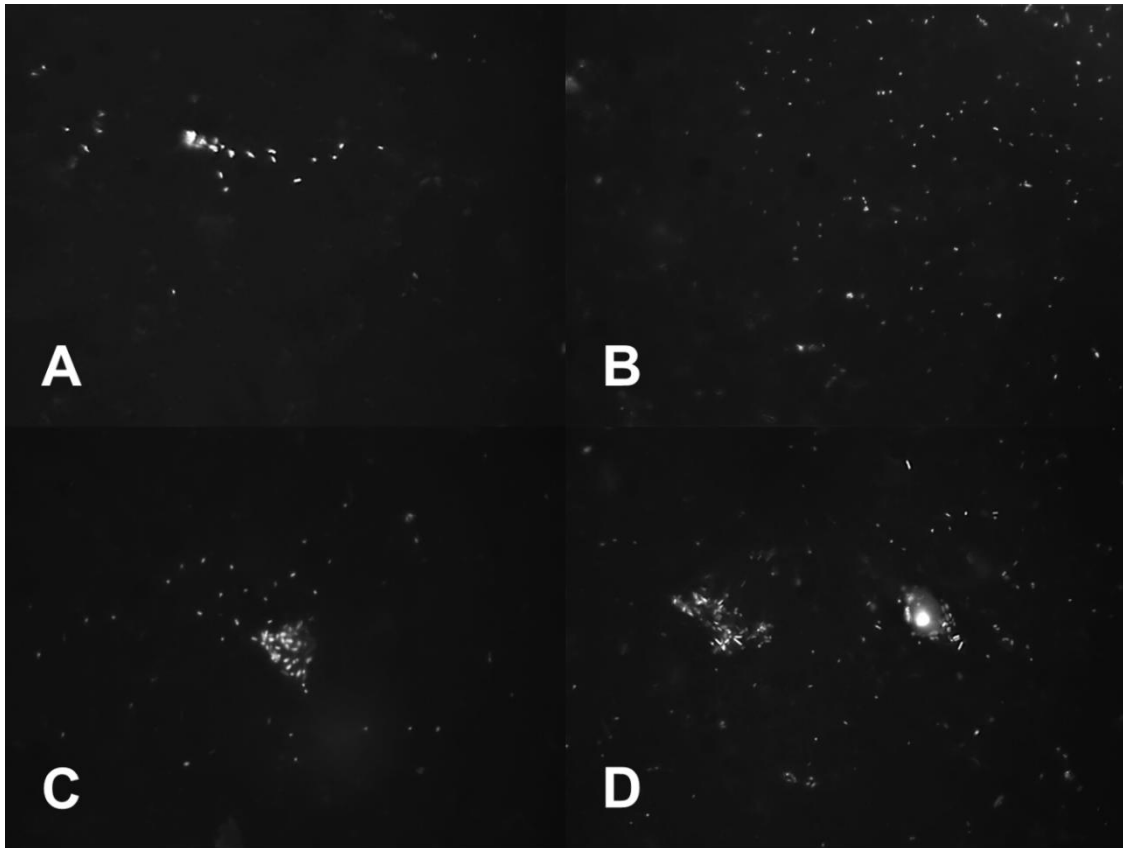


Figura 18. Crecimiento de la comunidad bacteriana en el tratamiento secundario. (A) Día 1, (B) día 3, (C) día 7 y (D) día 10.

- Interacciones biológicas

En el tratamiento primario, el análisis de correlación de Spearman dio como resultado coeficientes con valores negativos y bajos, además de presentar un valor de significancia mayor al 0.05. (tabla 4). Por otra parte, el análisis de varianza en la regresión lineal entre microalgas–rotíferos (figura 19) y bacterias–rotíferos (figura 20) no fue significativa, presentando un P-value del 0.318 y 0.684, mientras que la regresión entre microalgas–bacterias (figura 21) fue significativa (P-value = 0.021).

Tabla 4. Correlación de Spearman sobre microalgas, rotíferos y bacterias en el tratamiento con agua primario.

Correlaciones

			Bacterias Mezcla	Rotiferos Mezcla	Microalga Mezcla
Rho de Spearman	Bacterias Mezcla	Coefficiente de correlación	1.000	-.084	-.573
		Sig. (bilateral)	.	.795	.051
		N	12	12	12
	Rotiferos Mezcla	Coefficiente de correlación	-.084	1.000	-.077
		Sig. (bilateral)	.795	.	.812
		N	12	12	12
	Microalga Mezcla	Coefficiente de correlación	-.573	-.077	1.000
		Sig. (bilateral)	.051	.812	.
		N	12	12	12

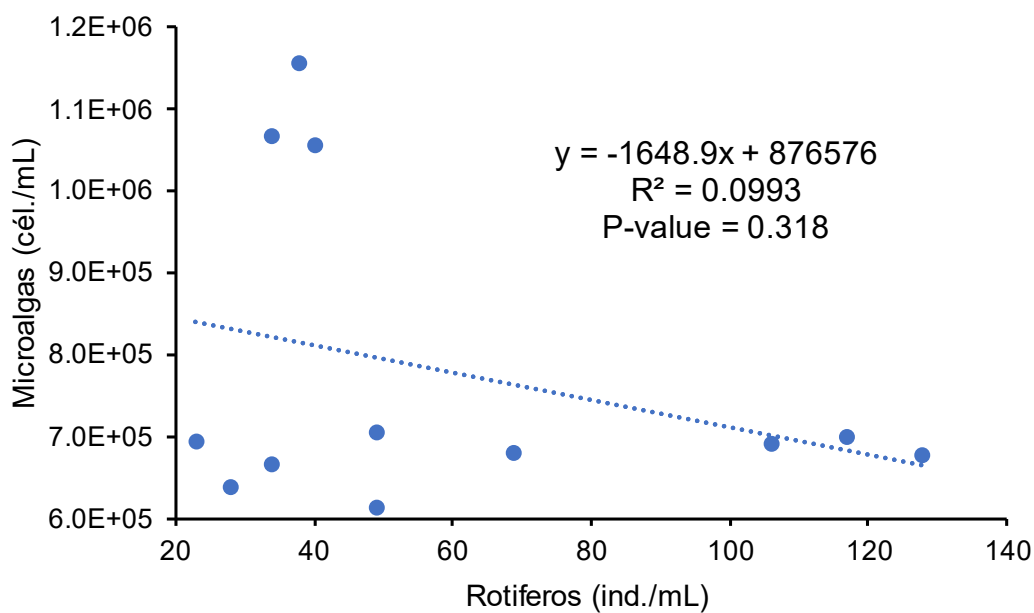


Figura 19. Regresión lineal y coeficiente de determinación de microalgas–rotíferos en el tratamiento primario.

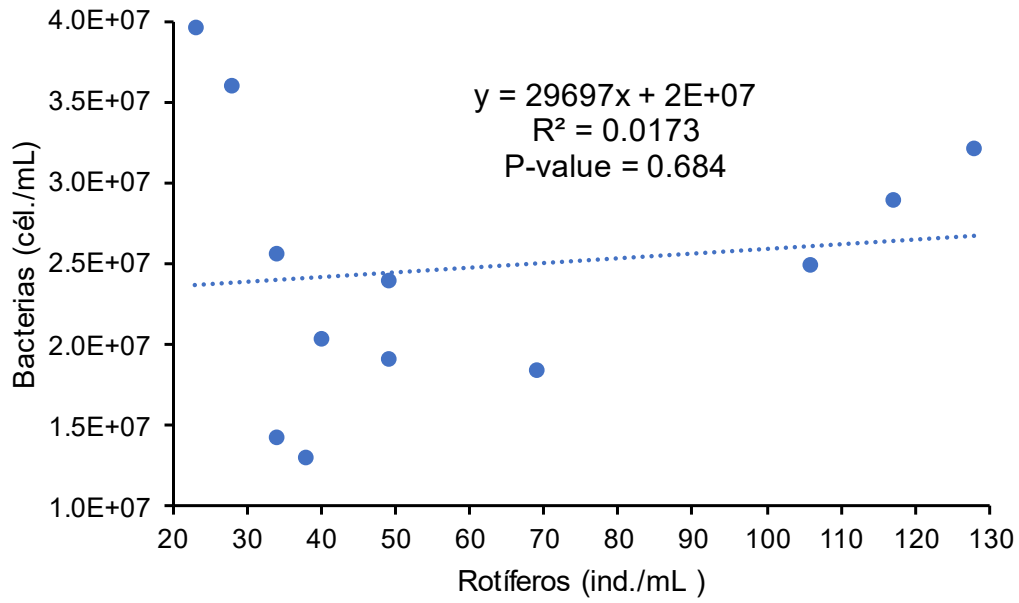


Figura 20. Regresión lineal y coeficiente de determinación de bacterias–rotíferos en el tratamiento primario.

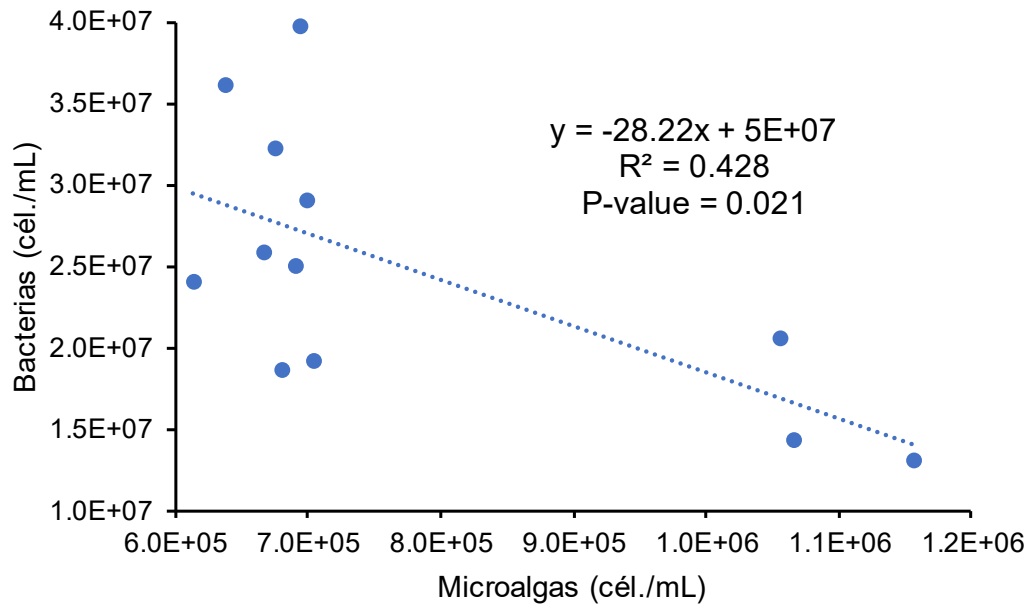


Figura 21. Regresión lineal y coeficiente de determinación de microalgas–bacterias en el tratamiento primario.

A partir de las regresiones lineales se propuso el siguiente esquema que representan las interacciones biológicas en el tratamiento primario (agua de la canaleta) (figura 22).

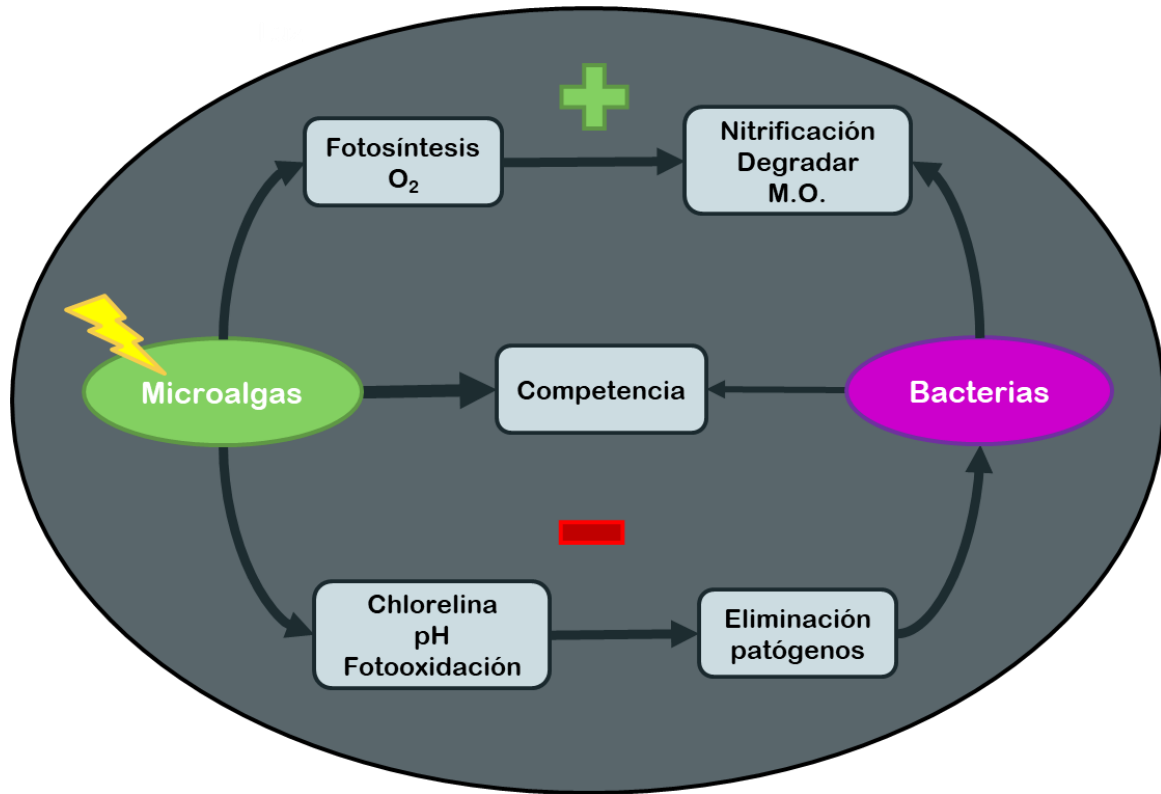


Figura 22. Interacciones biológicas en el tratamiento primario entre *Chlorella vulgaris* (color verde) y la comunidad bacteriana (color violeta) en donde se muestran las (+) relaciones positivas y (-) negativas.

En el caso del tratamiento secundario, el análisis de correlación de Spearman dio coeficientes con mayor magnitud (0.6–0.8), una correlación positiva y dos negativas, y valores de significancia menores a 0.05 (tabla 5). Además, el análisis de varianza en las tres regresiones lineales realizadas, fueron significativas (microalgas–rotíferos, P-value = 0.001; bacterias – rotíferos, P-value = 0.003; microalgas–bacterias, P-value = 0.023) (figura 23–25).

Tabla 5. Correlación de Spearman sobre microalgas, rotíferos y bacterias en el tratamiento con agua de la canaleta 2.

Correlaciones

			Bacterias Canal	Rotíferos Canal	Microalga Canal
Rho de Spearman	Bacterias Canal	Coefficiente de correlación	1.000	.690	-.669
		Sig. (bilateral)	.	.013	.017
		N	12	12	12
Rotíferos Canal	Rotíferos Canal	Coefficiente de correlación	.690	1.000	-.853
		Sig. (bilateral)	.013	.	.000
		N	12	12	12
Microalga Canal	Microalga Canal	Coefficiente de correlación	-.669	-.853	1.000
		Sig. (bilateral)	.017	.000	.
		N	12	12	12

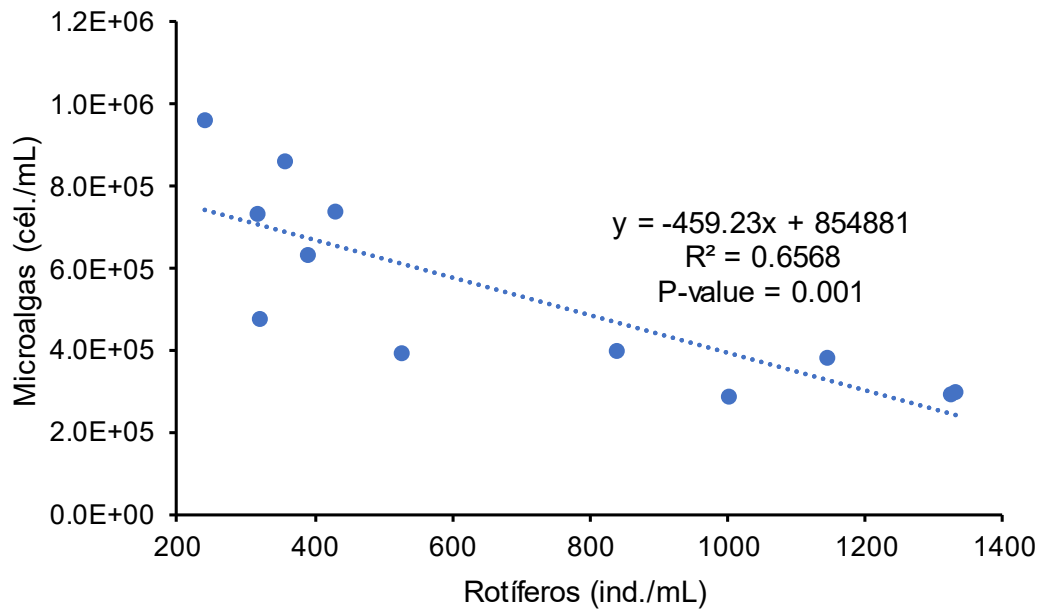


Figura 23. Regresión lineal y coeficiente de determinación de microalgas–rotíferos en el tratamiento secundario.

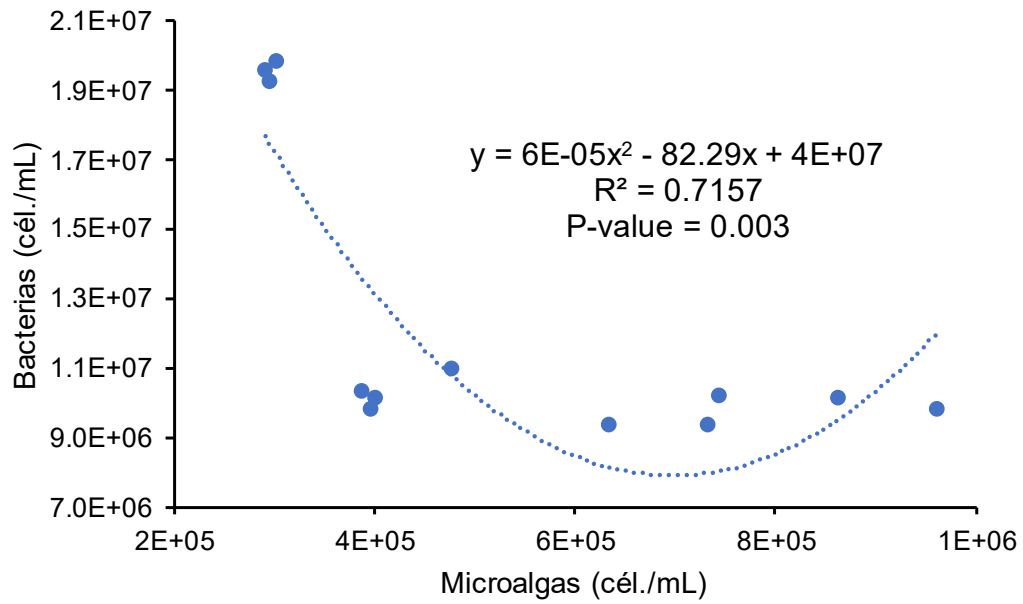


Figura 24. Regresión lineal y coeficiente de determinación de microalgas–bacterias en el tratamiento secundario.

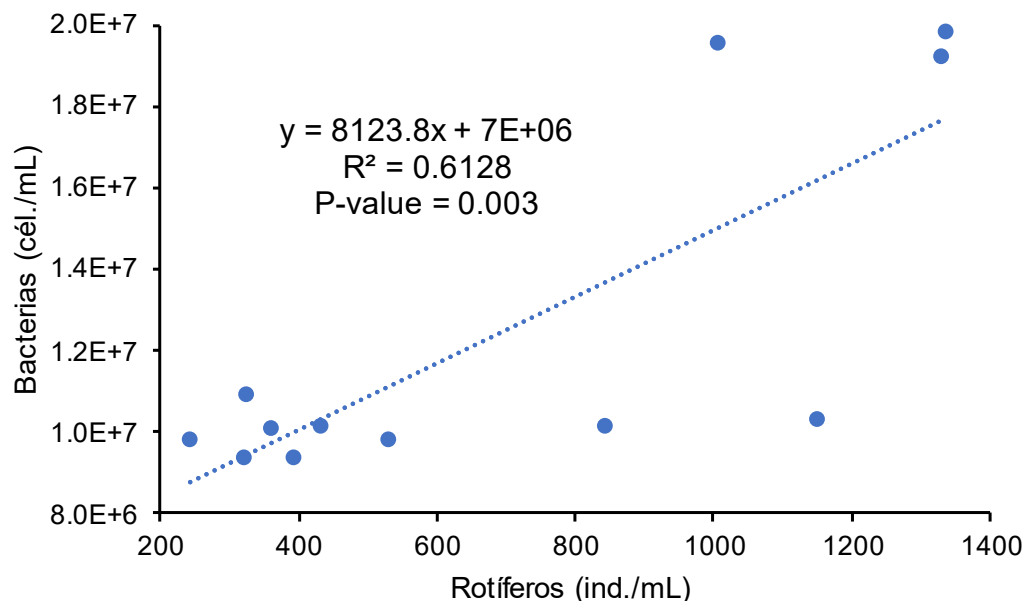


Figura 25. Regresión lineal y coeficiente de determinación de bacterias–rotíferos en el tratamiento secundario.

A partir de las regresiones lineales se propuso el siguiente esquema que representan las interacciones biológicas en el tratamiento secundario (agua de la canaleta) (figura 26).

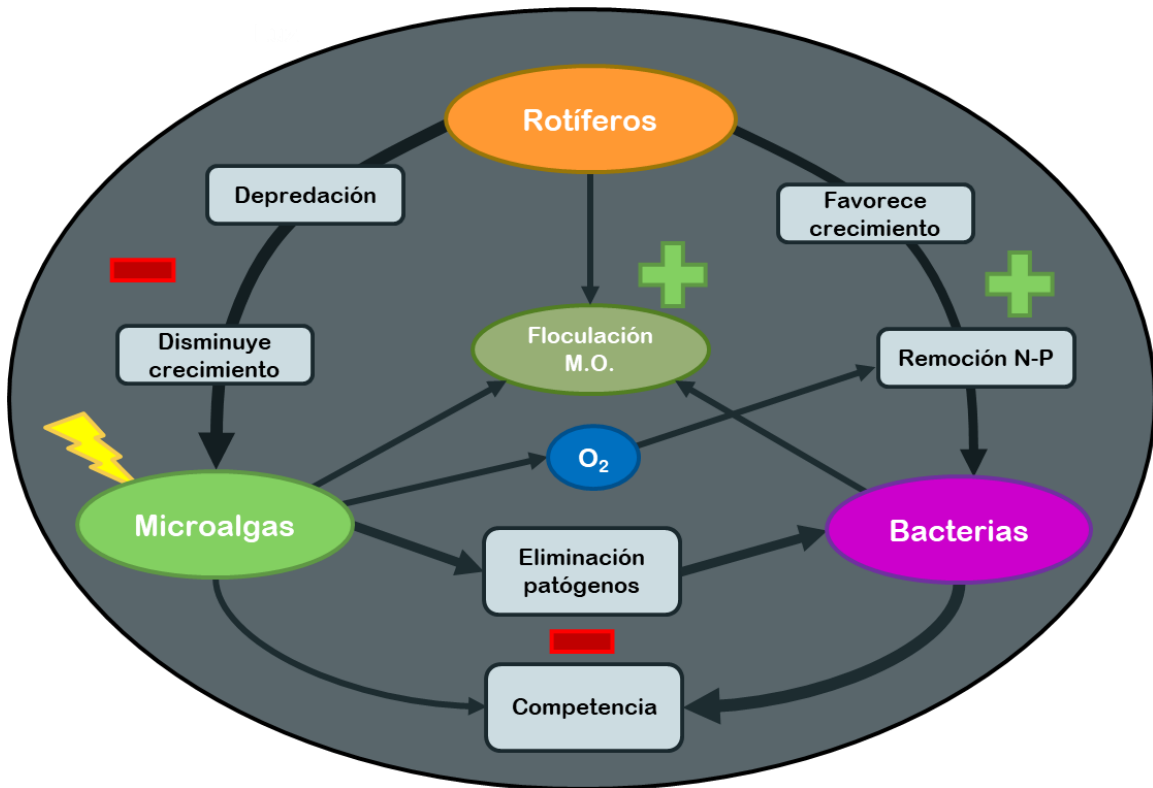


Figura 26. Interacciones biológicas en el tratamiento secundario entre *Chlorella vulgaris* (color verde), la comunidad bacteriana (color violeta) y los rotíferos (color naranja) en donde se muestran las (+) relaciones positivas y (-) negativas.

- Determinación de la población rotífera

Se determinó, de acuerdo con Fontaneto et al. (2008) y Ricci y Melone (2000), que el rotífero presente en el experimento pertenece a la familia Philodinidae. Para la determinación a nivel de especie se consultó la clave taxonómica de Song y Lee (2020), resultando la especie *Philodina acuticornis* Murray, 1902 (figura 27).

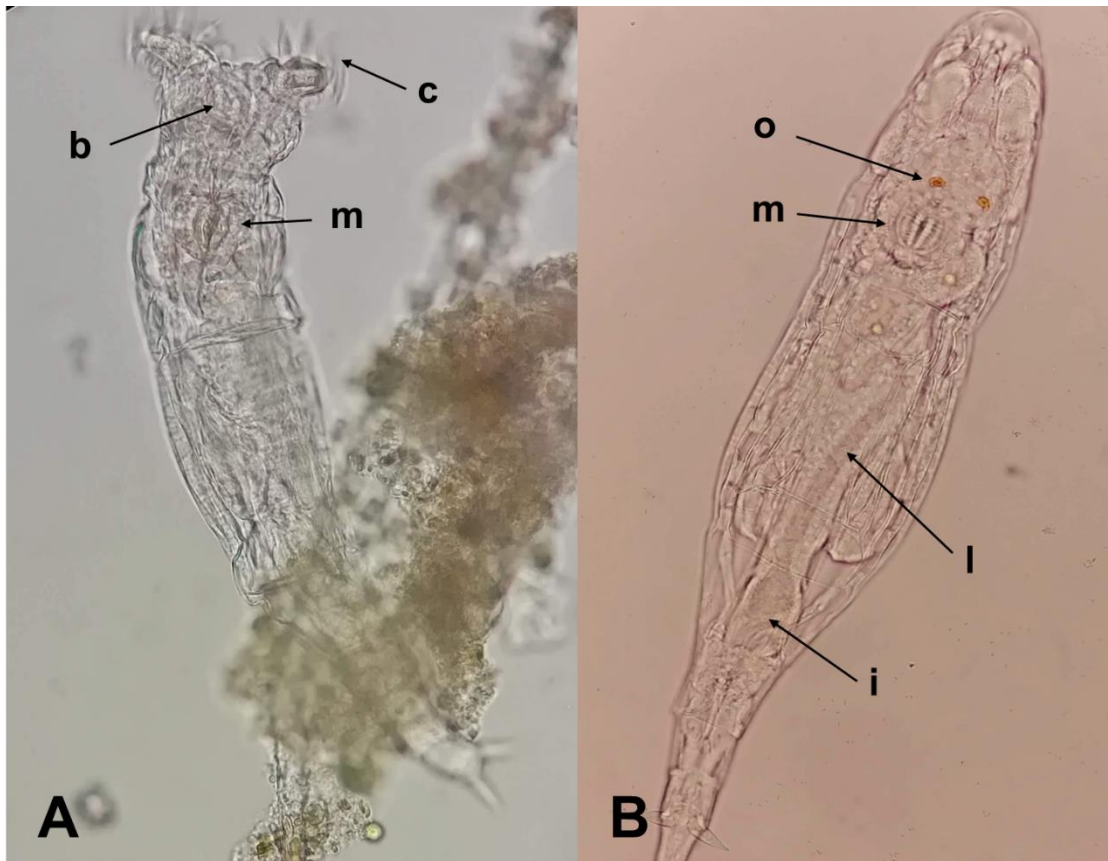


Figura 27. *Philodina acuticornis* con corona expuesta (A) y contraída (B). Boca (b), corona (c), intestino (i), lumen (l), mastax (m) y ojos (o).

Discusión

Proporción agua residual–cultivo microalgal

La proporción 5:5 (cultivo microalgal:agua residual) presentó los valores más altos de crecimiento (densidad celular) y biomasa microalgal en peso seco, con 3.59×10^6 cél./mL y 0.1796 g_{p.s.}/L. Estos resultados coinciden con lo reportado por Wang et al. (2013), en el cual, obtuvieron los valores máximos de densidad celular y biomasa de *Chlorella* sp. de entre 3.54×10^6 y 4.25×10^6 cél./mL y 0.258 y 0.278 g_{p.s.}/L en cultivos con una proporción del 50% de agua residual municipal.

Sin embargo, otros autores como Onay (2019) y Wang et al. (2021), quienes trabajaron con *C. vulgaris* y *Hindakia tetrachotoma*, observaron que en proporciones menores (20–40%) de agua residual (municipal y porcícola) el crecimiento y la producción de biomasa de ambas especies obtuvieron los valores más altos.

La razón de esta variación al determinar la proporción óptima puede deberse a la composición química y biológica del agua residual relacionada con su origen.

En proporciones pequeñas de agua residual, se reduce la concentración de nitrógeno y fósforo, por lo que, se consumen rápidamente por la población microalgal y la comunidad microbiana, resultando en una limitación de cualquiera de estos dos nutrientes. Aunque, la carga de estos nutrientes puede variar con respecto al tipo de agua residual (Singh et al., 2017; Chamberlin et al., 2018; Moondra et al., 2020).

Por otra parte, si se aumenta la proporción de agua residual, la carga de nutrientes incrementa sobrepasando la capacidad de tolerancia de la microalga. Se ha reportado que en concentraciones elevadas de amonio (>140 mg/L N-NH_4^+) se inhibe el crecimiento microalgal (Chen et al., 2018; Wirth et al., 2020).

Además, la ausencia o presencia de depredadores en el agua residual, como ciliados, rotíferos y amibas, es otro factor importante, ya que pueden ejercer una presión de depredación sobre la comunidad microalgal, alterando su crecimiento y desarrollo (He et al., 2022).

Remoción de nutrientes, M.O. y coliformes totales

- Nitrógeno (Nitratos, nitritos y amonio)

Con respecto a la concentración de nitratos y nitritos, los resultados obtenidos en el experimento mostraron un aumento del 79–86% de N-NO_3^- y 95% de N-NO_2^- en ambos tratamientos. Sin embargo, varios autores han reportado que *C. vulgaris* bajo condiciones experimentales es capaz de remover un 60–99% estas dos formas oxidadas de nitrógeno en agua residual de tipo doméstica y municipal (He et al., 2013; Liu et al., 2017; Asadi et al., 2019), e inclusive bajo condiciones heterotróficas y mixotróficas (Ge et al., 2018; Ferro et al., 2019).

Este incremento en la concentración de nitratos y nitritos puede deberse a que se favorecen los procesos de nitrificación realizados por la comunidad bacteriana, esto a consecuencia de la producción de oxígeno por la actividad fotosintética de *Chlorella vulgaris* y el aporte de aire por el sistema de aireación del experimento.

Esta suposición coincide con lo reportado por Liu et al. (2022) y Wang et al. (2023), en el cual, encontraron que la presencia de *C. sorokiniana*, *Auxenochlorella prototheicoides* y *Chlorococcum robustum* en aguas residuales avícolas y mineras aumentó un 11–40% la concentración nitratos y nitritos, así como la abundancia de genes de bacterias nitrificantes (gen *amoA*, *nxb-1* y *nxb-169*). También mencionan que la tasa de nitrificación es 2.7–9 veces mayor que en cultivos sin tratamiento con microalgas.

En cuanto al favorecimiento de la nitrificación por procesos de aireación, Cheng y Liu (2001) y Guo et al. (2009) observaron que la concentración de nitratos y nitritos en agua residual de tipo doméstica y porcícola, que estuvo bajo condiciones de aireación intermitente, alcanzó concentraciones de entre 3 y 60 mg/L de N-NO_3^- y 6–38 mg/L de N-NO_2^- . En el caso del experimento realizado en este estudio, las concentraciones de nitratos y nitritos (41.9–46.7 mg/L N-NO_3^- y 1.65–1.99 mg/L N-NO_2^-) son similares a los reportados en la literatura, sustentando también la suposición ya mencionada.

Por otra parte, se observó que la concentración de amonio (NH_4^+) disminuyó en ambos tratamientos, no obstante, cabe recalcar que el tratamiento secundario logró remover en un menor tiempo el amonio que en el tratamiento primario, ya que al intermedio del

experimento se logró reducir casi completamente el NH_4^+ (0.1 mg/L de N- NH_4^+), además de ser significativamente diferente a la concentración del otro tratamiento (2 mg/L de N- NH_4^+).

Con respecto a los porcentajes de remoción, en los dos tratamientos se obtuvo una remoción de entre 77.8% (tratamiento primario) y 89.1% (tratamiento secundario) de N- NH_4^+ . Estos valores coinciden con lo reportado por Kim et al. (2010), Mayhead et al. (2018) y Sevugamoorthy y Rangarajan (2023), en el que observaron que *C. vulgaris* puede remover un 55–95% de N- NH_4^+ en cultivos con agua residual doméstica, municipal y agrícola (sintética).

También, se ha reportado que *C. vulgaris* es capaz disminuir la concentración de amonio en condiciones heterotróficas y mixotróficas (Ge et al., 2018; Ferro et al., 2019), así como en diferentes concentraciones de CO_2 (Liu et al., 2017) y proporciones de agua residual–cultivo microalgal (Wang et al., 2013; Mujtaba y Lee, 2017). Esto indica que *C. vulgaris* tiene una mayor afinidad a asimilar formas reducidas de nitrógeno (NH_4^+ y NH_3) que oxidadas (NO_3^- y NO_2^-).

Asimismo, se ha observado que *C. vulgaris* y otras microalgas, como *Scenedesmus quadricauda* y *Chlorococcum robustum*, eliminan mediante asimilación en un sistema aireado el 13–43% de N- NH_4^+ , mientras que las bacterias solo asimilan el 1.7–7%. Sin embargo, el proceso de nitrificación realizado por bacterias nitrificantes contribuye el 42–85% de eliminación de N- NH_4^+ (Karya et al., 2013; Wirth et al., 2020; Liu et al., 2022; Li et al., 2023).

Mayhead et al. (2018) y Mohsenpour et al. (2021) mencionan que, entre las formas de nitrógeno inorgánicas, las microalgas tienen una mayor preferencia al amonio (NH_4^+), ya que es incorporado directamente a la célula sin requerir un gasto energético, a diferencia del nitrato y nitrito, que necesitan ser transportados y reducidos, implicando un mayor gasto energético. Sin embargo, una vez agotado el NH_4^+ en el medio, las formas oxidadas de nitrógeno comienzan a ser asimiladas, resultando en la disminución de NO_3^- y NO_2^- (He et al., 2013).

Esta afinidad al amonio puede explicar también el aumento en la concentración de nitratos y nitritos y la disminución de amonio en el experimento.

- Fósforo (Ortofosfatos y fósforo total)

Los resultados de la remoción de ortofosfatos (PO_4^{3-}) y fósforo total (PT) en el experimento mostraron que el tratamiento secundario es más eficiente para remover este nutriente, ya que la concentración final de PO_4^{3-} y PT fue más baja (6 mg/L P- PO_4^{3-} y 13 mg/L P) que el tratamiento primario (10 mg/L P- PO_4^{3-} y 26 mg/L P), que fueron significativamente diferentes. Asimismo, el porcentaje de remoción fue mayor en el tratamiento secundario (63–70%) que en el tratamiento primario (38–56%).

Al comparar los resultados de remoción del experimento con la literatura, estos son mayores a los que obtuvieron Choi y Lee (2012) y Parra y Villanueva (2012) al emplear *C. vulgaris* y *Scenedesmus incrassatulus* para tratar agua residual municipal y sintética, consiguiendo remover solo el 48 y 36% de PO_4^{3-} y PT. Sin embargo, otros autores han reportado eficiencias de remoción del 90 al 100% utilizando también *C. vulgaris* en aguas residuales domésticas, municipales y acuícolas (He et al., 2013; Wang et al., 2013; Gao et al., 2016; Chen et al., 2018; Mayhead et al., 2018; Ortiz-Villorta et al., 2018; Ferro et al., 2019), siendo igual de eficiente que el uso de cultivos mixtos de microalgas (Delgadillo-Mirquez et al., 2016; Almomani et al. 2019; Katam y Bhattacharyya, 2019).

Katam y Bhattacharyya (2019) mencionan que un sistema microalga-bacteria, las bacterias nitrificantes compiten con las microalgas por el amonio, reduciendo la capacidad de las microalgas de asimilar fósforo, ya que la asimilación de P depende de la disponibilidad de N y viceversa. Esto puede explicar por qué no se logró una mayor eficiencia en el experimento para eliminar P.

No obstante, además de la eliminación del fósforo por parte de *C. vulgaris* (proceso de asimilación) en el experimento, pueden estar participando Betaproteobacterias y Gammaproteobacterias (*Acinetobacter*, *Moraxella*, *Pseudomonas* y *Alcaligenes*) en la acumulación de PO_4^{3-} mediante procesos de adsorción (Benammar et al., 2015). Asimismo, la actividad fotosintética de *C. vulgaris* ocasiona un incremento del pH en el

medio, lo cual resulta en la precipitación de fósforo, formando principalmente sales de fosfato de calcio (Li et al., 2011; AlMomani y Örmeci, 2016).

Asimismo, la eficiencia de remoción de fósforo (tratamientos secundarios: 63–70%) en el experimento puede compararse con algunos tratamientos terciarios, como la electrocoagulación y la coagulación química, que presentan porcentajes de remoción de entre 79–99% (Tran et al., 2012; Nguyen et al., 2014; Kuokkanen et al., 2015).

La eficacia en la remoción de amonio (NH_4^+) y fósforo (PO_4^{3-} y PT) en el tratamiento secundario del experimento realizado puede estar relacionada con una presión de depredación sobre la comunidad bacteriana y *C. vulgaris* ejercida por la presencia de rotíferos en el medio. Burian et al. (2021) descubrieron que la estructura de las comunidades bacterianas en lodos activados es determinada por la intensidad de depredación de protozoarios, observando que al reducir la presión de depredación se afectó negativamente la mayoría de los taxones relacionados con la eliminación de nitrógeno y fósforo, disminuyendo la eficiencia del tratamiento de aguas residuales.

- Materia orgánica (DBO y DQO)

Observando la figura 8 y 9, solo el tratamiento primario logró remover la carga de DBO (56%) y DQO (67%), mientras que en el tratamiento secundario aumento un 9 y 29%.

Sin embargo, comparando la eficiencia de remoción del tratamiento primario (agua de mezcladora) con algunas investigaciones, como Choi y Lee (2012), Kshirsagar (2013) Ummalya y Sukumaran (2014), El-Sheekh et al. (2015), Herrera et al. (2018), Znad et al. (2018), Moondra et al. (2020), Sevugamoorthy y Rangarajan (2023), *C. vulgaris*, así como otras microalgas (*C. salina*, *Chlorococcum* sp., *Scenedesmus quadricauda*, *S. obliquus* y *Desmococcus* sp.), han logrado remover más del 70 – 80% de la DBO y DQO, en aguas residuales domésticas, municipales, industriales (producción de lácteos) y agrícolas (sintéticas), respectivamente.

Shangguan et al. (2015) reportan que Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria y Gammaproteobacteria son las principales encargadas de reducir la DQO en aguas residuales, siendo *Pseudomonas* y *Acinetobacter* las más importantes, aunque se ha encontrado que Deltaproteobacteria (*Bdellovibrio*), Sphingobacteria y Firmicutes

(*Flavobacterium* y *Bacillus*) también participan en la eliminación de la DQO y la DBO (Ali et al., 2020; Zhang et al., 2023). Esto puede indicar que la presencia *C. vulgaris* favorece aún más la eliminación de materia orgánica, ya que el oxígeno que produce es utilizado por estas comunidades bacterianas.

Por otro lado, la nula remoción e incremento de la DBO y la DQO en el tratamiento secundario (agua de la canaleta) puede deberse a la acumulación de compuestos orgánicos no degradables originados por la senescencia de la microalga. Se ha reportado que *C. vulgaris*, *C. sorokiniana* y algunos géneros de *Nannochloropsis* liberan, a partir de la lisis celular, diferentes carbohidratos de composición compleja, como celulosa y hemicelulosa, además de ácido glicólico (Lima et al., 2020; Zahmatkesh y Pirouzi, 2020).

No obstante, otro factor importante que afecta negativamente la reducción de materia orgánica es la presencia de los rotíferos, ya que al depredar a *C. vulgaris* alteran la concentración de oxígeno disponible en el medio, afectando directamente las poblaciones bacterianas encargadas de degradar la materia orgánica (Burian et al., 2021).

- Coliformes totales

En cuanto a la eliminación de coliformes totales, ambos tratamientos fueron altamente eficientes, alcanzando porcentajes de remoción del 93–99%. Estos resultados coinciden con lo reportado por Slompo et al. (2010), Marchello et al. (2015) y Cordero et al. (2023), en el que lograron remover el 69–99% de coliformes totales, así como coliformes fecales (100%) y *E. coli* (99%), utilizando *C. sorokiniana* y consorcios microalgales en aguas residuales domésticas.

Otras investigaciones han encontrado que *C. vulgaris* también tiene una alta eficiencia para eliminar patógenos específicos, como *Salmonella* spp., *Enterococcus* spp., *Bacteroides* spp., *Clostridium perfringens* y *Staphylococcus* spp. (Belluci et al., 2019; Ruas et al., 2023).

El mecanismo de remoción de coliformes puede deberse principalmente al aumento del pH y la generación de especies reactivas de oxígeno (fotooxidación) por la actividad fotosintética de *Chlorella vulgaris* (Silva et al., 2022), ocasionando daño celular a los

patógenos. También se ha reportado que *C. vulgaris* puede producir compuestos orgánicos con capacidad antimicrobiana, como la chlorelina (Alwathnani y Perveen, 2017; Wirth et al., 2020; Ruas et al., 2023).

Además, la eficiencia de remoción de coliformes en el experimento es idéntica a la que presenta tratamientos terciarios realizados con luz ultravioleta (UV), ozonización y cloración, que van desde un 93–100% (Xu et al., 2002; Thompson et al., 2003; Illueca-Muñoz et al., 2008; Park et al., 2016).

Microalgas, rotíferos y bacterias

Contrario a lo que se esperaba, la densidad celular y biomasa de *Chlorella vulgaris* disminuyó en el experimento, además de presentar tasas de crecimiento específico negativas (figura 13 y 14), aunque se observó que el tratamiento primario fue superior al control en cuanto a biomasa (0.0324 g/L) y densidad celular (6.54×10^5 cél./mL). Adicionalmente, a partir del día 10, los cultivos comenzaron a decaer, perdiendo completamente la coloración verde.

Sin embargo, varios estudios reportan incrementos en la densidad celular, biomasa y tasa de crecimiento específico de diferentes especies microalgales, como *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Tetradesmus*, *Tribonema*, *Hindakia*, *Spirulina* y *Desmococcus*, logrando alcanzar valores de hasta 0.16–1.05 g/L, 4×10^7 cél./mL, y 1.34 – 4.89 día⁻¹, tratando aguas residuales municipales, agrícolas y de curtiembre (Wang et al., 2013; Ajayan et al., 2015; Ortiz-Villorta et al., 2018; Liu et al., 2017; Asadi et al., 2019; Ferro et al., 2019; Robles et al., 2020; Onay et al., 2019; Sevugamoorthy y Rangarajan, 2023; Xu et al., 2023).

Una posible explicación al decrecimiento de *Chlorella vulgaris* en ambos tratamientos puede ser la inoculación de la microalga durante su fase de crecimiento exponencial, alcanzando rápidamente durante el experimento la fase estacionaria y de decaimiento, y la interacción entre la comunidad bacteriana y el rotífero, *Philodina acuticornis*, en el agua residual, ya que se ha observado que estos organismos pueden alterar el crecimiento microalgal (Utz y Bohrer-Morel, 2008; Adhikaria et al., 2017; Jiang et al., 2021, Villaró et al., 2022).

En el caso del tratamiento primario, se observó que la baja abundancia de *P. acuticornis* no afectó significativamente el crecimiento de *C. vulgaris* (tabla 4, figura 19). Por otra parte, en el tratamiento secundario, se registró una fuerte relación entre *P. acuticornis* y *C. vulgaris*, ya que, al incrementar la abundancia de los rotíferos, disminuyó la microalga (tabla 5, figura 23 y 26), coincidiendo con Deruyck et al. (2019) y He et al. (2022), quienes estudiaron los efectos de los rotíferos, *Brachionus calyciflorus* y *Habrotrocha* sp., sobre *C. vulgaris* en dos tipos de sistemas de cultivo (fotobiorreactor y estanque abierto). Esto indica que, entre *P. acuticornis* y *C. vulgaris*, hubo una relación de depredación, lo cual puede explicar porque en el tratamiento primario la densidad de *C. vulgaris* fue mayor a comparación del otro tratamiento y el control.

De igual manera, se observó entre las bacterias y *C. vulgaris* en ambos tratamientos una relación negativa moderada, a medida que incrementaba la abundancia de bacterias, disminuía *C. vulgaris* (tabla 4 y 5, figura 21, 22, 24 y 26). Este patrón coincide con el trabajo de Huo et al. (2020), en el que encontraron que las bacterias, *Bacillus firmus* y *Beijerinckia flumensis*, son capaces de inhibir el crecimiento de *Chlorella* sp. en aguas residuales de producción de vinagre. Se presupone que la causa de este fenómeno es la competencia por nutrientes entre la microalga y la comunidad bacteriana, ya que se ha reportado que pueden competir por ácidos orgánicos volátiles, nitrógeno y hierro (Wirth et al., 2020; Jiang et al., 2021).

Sin embargo, a pesar de que puedan competir *C. vulgaris* y las bacterias por recursos en el experimento, varias investigaciones han reportado que la implementación de microalgas y/o cianobacterias en el tratamiento de aguas residuales pueden cambiar la composición taxonómica de la comunidad bacteriana, favoreciendo el crecimiento de las poblaciones bacterianas encargadas de remover nitrógeno, fósforo y materia orgánica (Meerbergen et al., 2016; Shchegolkova et al., 2016; Higgins et al., 2018), y disminuyendo aquellas que son perjudiciales para la salud (principalmente Gammaproteobacteria) (McLellan et al., 2010; Zhang et al., 2023).

De acuerdo con Tang et al. (2018), Wirth et al. (2020), Villaró et al. (2022) y Purba et al. (2023), Proteobacteria (Alphaproteobacteria y Betaproteobacteria), Bacteroidetes, Planctomycetota, Actinobacteria y Firmicutes son los principales filos con mayor

abundancia reportados en el tratamiento de aguas residuales con cultivos microalgales. Esta composición taxonómica puede explicar dominancia de cocos sobre los bacilos y vibrios en la morfología bacteriana observada en el experimento (figura 17).

Además de lo ya mencionado, se observó un comportamiento interesante entre la abundancia de *P. acuticornis* y la comunidad bacteriana en el tratamiento secundario, ya que se esperaba que disminuyera el número de bacterias al igual que *C. vulgaris* por efecto de depredación de *P. acuticornis*, dado que se ha reportado que otras especies de rotíferos, como *Lecane tenuiseta*, *L. decipiens*, *L. pyriformis* y *L. inermis*, son capaces de reducir el crecimiento de bacterias filamentosas en aguas residuales municipales (Kocerba-Soroka et al., 2013; Pajdak-Stós et al., 2017). No obstante, a pesar de que la abundancia de bacterias fue menor a comparación del tratamiento primario, el número de bacterias incremento con respecto al tiempo (figura 20 y 25).

Esto puede significar que la presencia del rotífero favoreció de manera indirecta el crecimiento bacteriano, dado que *P. acuticornis* prefiere consumir a *C. vulgaris* que, a las bacterias en el agua residual, resultando en una mayor disponibilidad de recursos para la comunidad bacteriana. Además de esto, Burian et al. (2021) descubrieron la presencia de depredadores (principalmente protozoos) en lodos activados favorecía el desarrollo de bacterias encargadas de remover el N, incrementando la eficiencia del tratamiento del agua residual.

Así mismo, se observó que el incremento de *P. acuticornis* en el tratamiento secundario favoreció la floculación y sedimentación de la materia orgánica en el agua residual (figura 18). Esto coincide con Ding et al. (2017), quienes descubrieron que el rotífero, *P. erythrothalma*, incremento de la floculación de material suspendido en agua residual sintética, mediante secreción de un compuesto químico que tiene la función de promover el crecimiento bacteriano y la producción de sustancias exopoliméricas extracelulares (EPS).

Conclusiones

La proporción 5:5 de cultivo microalgal:agua residual favoreció la mayor abundancia de *C. vulgaris*.

El empleo de fotobiorreactores con *C. vulgaris* a microescala como tratamiento terciario de aguas residuales domésticas eficientizó la remoción de amonio, ortofosfatos, fósforo total y coliformes totales.

El tratamiento secundario (agua residual tratada) presentó una mayor eficiencia para eliminar amonio (89%), ortofosfatos (70%) y fósforo total (63%) a comparación de tratamiento primario (agua residual sin tratar). En cuanto a los coliformes totales, ambos tratamientos fueron igual de eficientes para su eliminación (93–99%).

En el caso de los nitratos y nitritos, la concentración de ambos nutrientes aumento un 79–95% en los dos tratamientos, esto debido a que se favoreció el proceso de nitrificación por el aporte de oxígeno del sistema de aireación a los medios y la actividad fotosintética.

Con respecto a la carga de materia orgánica, solo se observó la reducción de la DBO (56%) y DQO (67%) en el tratamiento primario. Sin embargo, en el tratamiento secundario, se percató que la materia orgánica se sedimentó al fondo de cada matraz, indicando un proceso de floculación.

El crecimiento de *C. vulgaris* en todos los tratamientos disminuyó con respecto al tiempo (tasas de crecimiento negativas), aunque fue mayor la concentración de biomasa y densidad celular en el tratamiento primario.

La población de *P. acuticornis* incrementó solo en el tratamiento secundario, mientras en el tratamiento primario no se observaron cambios en su crecimiento.

Las bacterias tuvieron un crecimiento positivo en ambos tratamientos, presentando la mayor abundancia en el tratamiento primario.

En el tratamiento secundario se encontró que hubo una mayor complejidad ecológica a comparación del tratamiento primario. Entre *P. acuticornis* y *C. vulgaris* se observó una

relación de depredación, afectando el rotífero el crecimiento de la microalga, mientras que entre *P. acuticornis* y la comunidad bacteriana se percató que el rotífero favoreció el crecimiento de las bacterias.

Entre la comunidad bacteriana y *C. vulgaris* se observó una relación de competencia por los nutrientes en ambos tratamientos.

Desde el punto de vista funcional, se observó que la interacción microalga–bacteria–rotífero en el tratamiento Canaleta 2, incrementó la eficiencia de remoción de nutrientes y coliformes en el agua residual doméstica, indicando una mejora importante en el tratamiento.

Sin embargo, se desconocen con precisión los mecanismos que existen entre las comunidades bacterianas, fitoplanctónicas y zooplanctónicas en el tratamiento de aguas residuales, por lo cual, se requieren más estudios para profundizar las relaciones entre ellas.

Referencias

- A.P.H.A., A. W. W. A., W.P.C.F., y W.E.F (2012). *Standard Methods for the examination of water and wastewater* (22 ed.). American Public Health Association.
- Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A. y Ibraheem, I. (2012). Microalgae and wastewater treatment. *Saudi journal of biological sciences*, 19(3), 257-275. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005>
- Acién, F. G., Gómez-Serrano, C., Morales-Amaral, M. d. M., Fernández-Sevilla, J. M. y Molina-Grima, E. (2016). Wastewater treatment using microalgae: how realistic a contribution might it be to significant urban wastewater treatment? *Applied microbiology and biotechnology*, 100(21), 9013-9022. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7835-7>
- Adhikari, S., Roy Goswami, A., y Mukhopadhyay, S. K. (2017). Diversity of zooplankton in municipal wastewater-contaminated urban pond ecosystems of the lower Gangetic plains. *Turkish journal of zoology*, 41(3), 464–475. <https://doi.org/10.3906/zoo-1601-12>
- Ajayan, K. V., Selvaraju, M., Unnikannan, P., y Sruthi, P. (2015). Phycoremediation of tannery wastewater using microalgae *Scenedesmus* species. *International Journal of Phytoremediation*, 17(10), 907–916. <https://doi.org/10.1080/15226514.2014.989313>
- Akpor, O. y Muchie, M. (2010). Bioremediation of polluted wastewater influent: phosphorus and nitrogen removal. *Scientific Research and Essays*, 5(21), 3222-3230.
- Al Ali, A. A., Naddeo, V., Hasan, S. W., y Yousef, A. F. (2020). Correlation between bacterial community structure and performance efficiency of a full-scale wastewater treatment plant. *Journal of Water Process Engineering*, 37(101472), 101472. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101472>
- AlMomani, F. A., y Örmeci, B. (2016). Performance Of *Chlorella Vulgaris*, *Neochloris Oleoabundans*, and mixed indigenous microalgae for treatment of primary effluent, secondary effluent and centrate. *Ecological Engineering*, 95, 280–289. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.06.038>
- Almomani, F., Al Ketife, A., Judd, S., Shurair, M., Bhosale, R. R., Znad, H., y Tawalbeh, M. (2019). Impact of CO₂ concentration and ambient conditions on microalgal growth and nutrient removal from wastewater by a photobioreactor. *The Science of the Total Environment*, 662, 662–671. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.144>
- Alwathnani, H., y Perveen, K. (2017). Antibacterial activity and morphological changes in human pathogenic bacteria caused by *Chlorella vulgaris* extracts. *Biomedical research (Aligarh, India)*, 28(4), 1610–1614. <https://www.alliedacademies.org/abstract/antibacterial-activity-and-morphological-changes-in-human-pathogenic-bacteria-caused-by-chlorella-vulgaris-extracts-6577.html>
- Arredondo, I. A. (2017). *Comparación del tratamiento de aguas residuales domésticas en un humedal de flujo subsuperficial con cultivos mixtos de *Cyperus papyrus* - *Zantedeschia aethiopica* y *Typha domingensis* - *Zantedeschia aethiopic**. [Tesis de licenciatura,

- Asadi, P., Rad, H. A., y Qaderi, F. (2019). Comparison of *Chlorella vulgaris* and *Chlorella sorokiniana* pa.91 in post treatment of dairy wastewater treatment plant effluents. *Environmental Science and Pollution Research International*, 26(28), 29473–29489. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06051-8>
- Azarpira, H., Behdarvand, P., Dhumal, K. y Pondhe, G. (2014). Potential use of cyanobacteria species in phycoremediation of municipal wastewater. *Int J Biosci*, 4(4), 105-111. <http://dx.doi.org/10.12692/ijb/4.4.105-111>
- Bellucci, M., Marazzi, F., Naddeo, L. S., Piergiacomo, F., Beneduce, L., Ficara, E., y Mezzanotte, V. (2019). Disinfection and nutrient removal in laboratory-scale photobioreactors for wastewater tertiary treatment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 95(4), 959-966. <https://doi.org/10.1002/jctb.6010>
- Benammar, L., Menasria, T., Ayachi, A., y Benounis, M. (2015). Phosphate removal using aerobic bacterial consortium and pure cultures isolated from activated sludge. *Process Safety and Environmental Protection: Transactions of the Institution of Chemical Engineers, Part B*, 95, 237–246. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2015.03.011>
- Boeriu, L. M., Cirstolovean, I. L., Fratu, M., y Nastac, C. (2013). The tertiary treatment stage of wastewater. *Bulletin of the Transilvania University of Braşov*, 6(55), 207–212. <http://aspekt.unitbv.ro/jspui/bitstream/123456789/1594/1/01%20boieriu.pdf>
- Burian, A., Pinn, D., Peralta-Maraver, I., Sweet, M., Mauvisseau, Q., Eyice, O., Bulling, M., Röthig, T., y Kratina, P. (2022). Predation increases multiple components of microbial diversity in activated sludge communities. *The ISME Journal*, 16(4), 1086–1094. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01145-z>
- Brar, A., Kumar, M., Vivekanand, V. y Pareek, N. (2017). Photoautotrophic microorganisms and bioremediation of industrial effluents: current status and future prospects. *3 Biotech*, 7(1), 18. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0600-5>
- Chamberlin, J., Harrison, K., y Zhang, W. (2018). Impact of nutrient availability on tertiary wastewater treatment by *Chlorella vulgaris*. *Water Environment Research: A Research Publication of the Water Environment Federation*, 90(11), 2008–2016. <https://doi.org/10.2175/106143017X15131012188114>
- Chen, X., Li, Z., He, N., Zheng, Y., Li, H., Wang, H., Wang, Y., Lu, Y., Li, Q., y Peng, Y. (2018). Nitrogen and phosphorus removal from anaerobically digested wastewater by microalgae cultured in a novel membrane photobioreactor. *Biotechnology for Biofuels*, 11(1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1190-0>
- Cheng, J., y Liu, B. (2001). Nitrification/denitrification in intermittent aeration process for swine wastewater treatment. *Journal of Environmental Engineering*, 127(8), 705–711. [https://doi.org/10.1061/\(asce\)0733-9372\(2001\)127:8\(705\)](https://doi.org/10.1061/(asce)0733-9372(2001)127:8(705))

- Choi, H. J., y Lee, S. M. (2012). Effects of microalgae on the removal of nutrients from wastewater: Various concentrations of *Chlorella vulgaris*. *Environmental Engineering Research*, 17(1), 3–8. <https://doi.org/10.4491/eer.2012.17.s1.s3>
- Crini, G. y Lichtfouse, E. (2019). Advantages and disadvantages of techniques used for wastewater treatment. *Environmental Chemistry Letters*, 17(1), 145-155.
- CONAGUA. (2021). *Inventario Nacional de Plantas Municipales de Potabilización y de Tratamiento de Aguas Residuales en Operación*. Subdirección General de Agua Potable, Drenaje y Saneamiento. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/759492/Inventario_2021.pdf
- Cordero, A. P., Montes Vergara, D. E., y Mendoza, Y. A. (2023). Remediation of wastewater from the semi-artisanal tanning process using microalgal consortium. *Journal of Positive Psychology and Wellbeing*, 7(1), 620–625. <https://www.journalppw.com/index.php/jppw/article/view/15608>
- Cuellar-Bermudez, S. P., Aleman-Nava, G. S., Chandra, R., Garcia-Perez, J. S., Contreras-Angulo, J. R., Markou, G., Muylaert, K., Rittmann, B. E. y Parra-Saldivar, R. (2017). Nutrients utilization and contaminants removal. A review of two approaches of algae and cyanobacteria in wastewater. *Algal research*, 24, 438-449. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.08.018>
- Delgadillo-Mirquez, L., Lopes, F., Taidi, B., y Pareau, D. (2016). Nitrogen and phosphate removal from wastewater with a mixed microalgae and bacteria culture. *Biotechnology Reports*, 73(3), 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.04.003>
- Department of Environment and Conservation. (2016). *Design criteria for sewage works*. https://www.tn.gov/content/dam/tn/environment/water/documents/wr-wq_pub_design-criteria-complete.pdf
- Deruyck, B., Thi Nguyen, K. H., Decaestecker, E., y Muylaert, K. (2019). Modeling the impact of rotifer contamination on microalgal production in open pond, photobioreactor and thin layer cultivation systems. *Algal Research*, 38(101398), 101398. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.101398>
- Ding, G., Li, X., Lin, W., Kimochi, Y., y Sudo, R. (2017). Enhanced flocculation of two bioflocculation-producing bacteria by secretion of *Philodina erythropthalma*. *Water Research*, 112, 208–216. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.044>
- El-Sheekh, M. M., Farghl, A. A., Galal, H. R., y Bayoumi, H. S. (2016). Bioremediation of different types of polluted water using microalgae. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, 27(2), 401–410. <https://doi.org/10.1007/s12210-015-0495-1>
- Fazal, T., Mushtaq, A., Rehman, F., Khan, A. U., Rashid, N., Farooq, W., Rehman, M. S. U. y Xu, J. (2018). Bioremediation of textile wastewater and successive biodiesel production using microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 82, 3107-3126. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.10.029>
- Ferro, L., Colombo, M., Posadas, E., Funk, C., y Muñoz, R. (2019). Elucidating the symbiotic interactions between a locally isolated microalga *Chlorella vulgaris* and its co-occurring

- bacterium *Rhizobium* sp. in synthetic municipal wastewater. *Journal of Applied Phycology*, 31(4), 2299–2310. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-1741-1>
- Fontaneto, D., De Smet, W. H., y Melone, G. (2008). Identification key to the genera of marine rotifers worldwide. *Meiofauna Marina*, 16(1), 75-99. https://www.researchgate.net/publication/235764837_Identification_key_to_the_genera_of_marine_rotifers_worldwide
- Frumento, D., Casazza, A. A., Al Arni, S. y Converti, A. (2013). Cultivation of *Chlorella vulgaris* in tubular photobioreactors: a lipid source for biodiesel production. *Biochemical engineering journal*, 81, 120-125. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2013.10.011>
- Gao, F., Li, C., Yang, Z.-H., Zeng, G.-M., Feng, L.-J., Liu, J.-Z., Liu, M., y Cai, H.-W. (2016). Continuous microalgae cultivation in aquaculture wastewater by a membrane photobioreactor for biomass production and nutrients removal. *Ecological Engineering*, 92, 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.03.046>
- Ge, S., Qiu, S., Tremblay, D., Viner, K., Champagne, P., y Jessop, P. G. (2018). Centrate wastewater treatment with *Chlorella vulgaris*: Simultaneous enhancement of nutrient removal, biomass and lipid production. *Chemical Engineering Journal*, 342, 310–320. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.02.058>
- Gonçalves, A. L., Rodrigues, C. M., Pires, J. C. y Simões, M. (2016). The effect of increasing CO2 concentrations on its capture, biomass production and wastewater bioremediation by microalgae and cyanobacteria. *Algal research*, 14, 127-136. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.01.008>
- Guo, J. H., Peng, Y. Z., Wang, S. Y., Zheng, Y. N., Huang, H. J., y Ge, S. J. (2009). Effective and robust partial nitrification to nitrite by real-time aeration duration control in an SBR treating domestic wastewater. *Process Biochemistry (Barking, London, England)*, 44(9), 979–985. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.04.022>
- He, P. J., Mao, B., Lü, F., Shao, L. M., Lee, D. J., y Chang, J. S. (2013). The combined effect of bacteria and *Chlorella vulgaris* on the treatment of municipal wastewaters. *Bioresource Technology*, 146, 562–568. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.07.111>
- He, Y., Liu, J., Shen, C., Yi, X., Li, X., Huang, X., Oh, K., y Ding, G. (2022). Innovative method of culturing bdelloid rotifers for the application of wastewater biological treatment. *Frontiers of Environmental Science y Engineering*, 16(4). <https://doi.org/10.1007/s11783-021-1477-4>
- Hernández-Pérez, A., y Labbé, J. I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de biología marina y oceanografía*, 49(2), 157-173. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>
- Herrera, J. A. S., Malo, B. O. M., Arévalo, J. C. C., y Fernández, D. R. (2018). Evaluación a nivel laboratorio de la capacidad de remoción de materia orgánica de *Chlorella vulgaris* en las aguas residuales de la PTAR Salitre. *Revista Mutis*, 8(1), 34-42. <https://doi.org/10.21789/22561498.1368>

- Higgins, B. T., Gennity, I., Fitzgerald, P. S., Ceballos, S. J., Fiehn, O., y VanderGheynst, J. S. (2018). Algal–bacterial synergy in treatment of winery wastewater. *Npj Clean Water*, 1(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41545-018-0005-y>
- Huo, S., Kong, M., Zhu, F., Qian, J., Huang, D., Chen, P., y Ruan, R. (2020). Co-culture of *Chlorella* and wastewater-borne bacteria in vinegar production wastewater: Enhancement of nutrients removal and influence of algal biomass generation. *Algal Research*, 45(101744), 101744. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101744>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2017). *Anuario estadístico y geográfico de Puebla*. https://www.datatur.sectur.gob.mx/ITxEF_Docs/PUE_ANUARIO_PDF.pdf
- Illueca-Muñoz, J., Mendoza-Roca, J. A., Iborra-Clar, A., Bes-Piá, A., Fajardo-Montañana, V., Martínez-Francisco, F. J., y Bernácer-Bonora, I. (2008). Study of different alternatives of tertiary treatments for wastewater reclamation to optimize the water quality for irrigation reuse. *Desalination*, 222(1–3), 222–229. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2007.01.157>
- Jiang, L., Li, Y., y Pei, H. (2021). Algal–bacterial consortia for bioproduct generation and wastewater treatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 149(111395), 111395. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111395>
- Kaloudas, D., Pavlova, N. y Penchovsky, R. (2021). Phycoremediation of wastewater by microalgae: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 1-16. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01203-0>
- Karya, N. G. A. I., van der Steen, N. P., y Lens, P. N. L. (2013). Photo-oxygenation to support nitrification in an algal-bacterial consortium treating artificial wastewater. *Bioresource Technology*, 134, 244–250. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.02.005>
- Katam, K., y Bhattacharyya, D. (2019). Simultaneous treatment of domestic wastewater and bio-lipid synthesis using immobilized and suspended cultures of microalgae and activated sludge. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 69, 295–303. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2018.09.031>
- Kim, J., Lingaraju, B. P., Rheaume, R., Lee, J. Y., y Siddiqui, K. F. (2010). Removal of ammonia from wastewater effluent by *Chlorella vulgaris*. *Tsinghua science and technology*, 15(4), 391-396. [https://doi.org/10.1016/S1007-0214\(10\)70078-X](https://doi.org/10.1016/S1007-0214(10)70078-X)
- Kocerba-Soroka, W., Fiałkowska, E., Pajdak-Stós, A., Klimek, B., Kowalska, E., Drzewicki, A., Salvadó, H., y Fyda, J. (2013). The use of rotifers for limiting filamentous bacteria Type 021N, a bacteria causing activated sludge bulking. *Water Science and Technology: A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 67(7), 1557–1563. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.028>
- Kozak, M., y Piepho, H. P. (2018). What's normal anyway? Residual plots are more telling than significance tests when checking ANOVA assumptions. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 204(1), 86–98. <https://doi.org/10.1111/jac.12220>

- Kshirsagar, A. D. (2013). Bioremediation of wastewater by using microalgae: An experimental study. *International Journal of Life Science Biotechnology and Pharma Research*, 2(3), 339–346.
<https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&ytype=pdf&doi=ec405a5363b6f8457998b5d2e47403160a2ff062>
- Kunjapur, A. M. y Eldridge, R. B. (2010). Photobioreactor design for commercial biofuel production from microalgae. *Industrial y engineering chemistry research*, 49(8), 3516-3526.
<https://doi.org/10.1021/ie901459u>
- Kuokkanen, V., Kuokkanen, T., Rämö, J., Lassi, U., y Roininen, J. (2015). Removal of phosphate from wastewaters for further utilization using electrocoagulation with hybrid electrodes – Techno-economic studies. *Journal of Water Process Engineering*, 8, e50–e57.
<https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2014.11.008>
- Li, Q., Xu, Y., Liang, C., Peng, L., y Zhou, Y. (2023). Nitrogen removal by algal-bacterial consortium during mainstream wastewater treatment: Transformation mechanisms and potential N₂O mitigation. *Water Research*, 235, 119890.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.119890>
- Li, K., Liu, Q., Fang, F., Luo, R., Lu, Q., Zhou, W., Huo, S., Cheng, P., Liu, J. y Addy, M. (2019). Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery: A review. *Bioresource technology*, 291, 121934. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121934>
- Li, Y., Chen, Y.-F., Chen, P., Min, M., Zhou, W., Martinez, B., Zhu, J. y Ruan, R. (2011). Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. *Bioresource technology*, 102(8), 5138-5144. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.091>
- Lima, S., Villanova, V., Grisafi, F., Caputo, G., Brucato, A., y Scargiali, F. (2020). Autochthonous microalgae grown in municipal wastewaters as a tool for effectively removing nitrogen and phosphorous. *Journal of Water Process Engineering*, 38(101647), 101647.
<https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101647>
- Liu, X., Ying, K., Chen, G., Zhou, C., Zhang, W., Zhang, X., Cai, Z., Holmes, T., y Tao, Y. (2017). Growth of *Chlorella vulgaris* and nutrient removal in the wastewater in response to intermittent carbon dioxide. *Chemosphere*, 186, 977–985.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.160>
- Liu, Z., Cui, D., Liu, Y., Wang, H., Yang, L., Chen, H., Qiu, G., Xiong, Z., Shao, P., y Luo, X. (2023). Enhanced ammonia nitrogen removal from actual rare earth element tailings (REEs) wastewater by microalgae-bacteria symbiosis system (MBS): Ratio optimization of microalgae to bacteria and mechanism analysis. *Bioresource Technology*, 367(128304), 128304. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128304>
- Marchello, A. E., Lombardi, A. T., Dellamano-Oliveira, M. J., y de Souza, C. W. O. (2015). Microalgae population dynamics in photobioreactors with secondary sewage effluent as culture medium. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(1), 75–84.
<https://doi.org/10.1590/S1517-838246120131225>

- Mayhead, E., Silkina, A., Llewellyn, C., y Fuentes-Grünewald, C. (2018). Comparing nutrient removal from membrane filtered and unfiltered domestic wastewater using *Chlorella vulgaris*. *Biology*, 7(1), 12. <https://doi.org/10.3390/biology7010012>
- Mazari, M., y Noyola, A. (2018). Problemática y política del agua. En L. Merino, A. Velázquez, y S. Buratti (Eds.), *Agenda Ambiental 2018 Diagnósticos y Propuestas* (pp. 13–23). SUSMAI. <https://susmai.unam.mx/agenda-ambiental-2018/>
- McLellan, S. L., Huse, S. M., Mueller-Spitz, S. R., Andreishcheva, E. N., y Sogin, M. L. (2010). Diversity and population structure of sewage-derived microorganisms in wastewater treatment plant influent. *Environmental Microbiology*, 12(2), 378–392. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02075.x>
- Meerbergen, K., Van Geel, M., Waud, M., Willems, K. A., Dewil, R., Van Impe, J., Appels, L., y Lievens, B. (2017). Assessing the composition of microbial communities in textile wastewater treatment plants in comparison with municipal wastewater treatment plants. *MicrobiologyOpen*, 6(1), 1–23. <https://doi.org/10.1002/mbo3.413>
- Mihelcic, J., y Zimmerman, J. (2011). *Ingeniería ambiental: fundamentos, sustentabilidad, diseño*. Alfaomega. https://www.academia.edu/40183655/Ingenier%C3%ADa_ambiental_fundamentos_sustentabilidad_dise%C3%B1o_Autores_y_Editores_Autores_Colaboradores
- Mishra, P., Mandake, M., y Shingare, S. P. (2018). Tertiary waste water treatment: A review. *International Journal of Creative Research Thoughts*, 6(1), 730–741. <https://ijcrt.org/papers/IJPUB1801117.pdf>
- Mohsenpour, S. F., Hennige, S., Willoughby, N., Adeloje, A. y Gutierrez, T. (2021). Integrating micro-algae into wastewater treatment: A review. *Science of The Total Environment*, 142168. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142168>
- Moondra, N., Jariwala, N. D., y Christian, R. A. (2020). Sustainable treatment of domestic wastewater through microalgae. *International Journal of Phytoremediation*, 22(14), 1480–1486. <https://doi.org/10.1080/15226514.2020.1782829>
- Mujtaba, G., y Lee, K. (2017). Treatment of real wastewater using co-culture of immobilized *Chlorella vulgaris* and suspended activated sludge. *Water Research*, 120, 174–184. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.078>
- Newton, R. J. y McClary, J. S. (2019). The flux and impact of wastewater infrastructure microorganisms on human and ecosystem health. *Current opinion in biotechnology*, 57, 145-150.
- Nguyen, D. D., Ngo, H. H., y Yoon, Y. S. (2014). A new hybrid treatment system of bioreactors and electrocoagulation for superior removal of organic and nutrient pollutants from municipal wastewater. *Bioresource Technology*, 153, 116–125. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.11.048>
- Onay, M. (2019). Bioethanol production via different saccharification strategies from *H. tetracontoma* ME03 grown at various concentrations of municipal wastewater in a flat-photobioreactor. *Fuel*, 239, 1315–1323. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.11.126>

- Ortiz-Villota, M. T., Romero-Morales, M. A., y Meza-Rodríguez, L. D. (2018). La biorremediación con microalgas (*Spirulina máxima*, *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris*) como alternativa para tratar la eutrofización de la laguna de Ubaque, Colombia. *Revista de Investigación Desarrollo e Innovación*, 9(1), 163–176. <https://doi.org/10.19053/20278306.v9.n1.2018.8153>
- Pajdak-Stós, A., Kocerba-Soroka, W., Fyda, J., Sobczyk, M., y Fiałkowska, E. (2017). Foam-forming bacteria in activated sludge effectively reduced by rotifers in laboratory- and real-scale wastewater treatment plant experiments. *Environmental Science and Pollution Research International*, 24(14), 13004–13011. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8890-z>
- Palacios, O. A., López, B. R., y de-Bashan, L. E. (2022). Microalga Growth-Promoting Bacteria (MGPB): A formal term proposed for beneficial bacteria involved in microalgal–bacterial interactions. *Algal Research*, 61(102585), 102585. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102585>
- Park, K.-Y., Choi, S.-Y., Lee, S.-H., Kweon, J.-H., y Song, J.-H. (2016). Comparison of formation of disinfection by-products by chlorination and ozonation of wastewater effluents and their toxicity to *Daphnia magna*. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 215, 314–321. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.04.001>
- Parra, A. L. R., y Villanueva, R. O. C. (2012). Bioremediación de aguas con fosfatos y nitratos utilizando *Scenedesmus incrassatulus* inmovilizado. *Bistua: Revista de La Facultad de Ciencias Básicas*, 10(1), 71–79. <https://www.redalyc.org/pdf/903/90326398006.pdf>
- Patel, A., Matsakas, L., Rova, U. y Christakopoulos, P. (2019). A perspective on biotechnological applications of thermophilic microalgae and cyanobacteria. *Bioresource technology*, 278, 424-434. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.063>
- Perez-García, O., Bashan, Y. y Puente, M. (2011). Organic carbon supplementation of sterilized municipal wastewater is essential for heterotrophic growth and removing ammonium by the microalgae *Chlorella vulgaris*. *J. Phycol*, 47, 190-199. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2010.00934.x>
- Porter, K. G., y Feig, Y. S. (1980). The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnology and Oceanography*, 25(5), 943–948. <https://doi.org/10.4319/lo.1980.25.5.0943>
- Purba, L. D. A., Zahra, S. A., Yuzir, A., Iwamoto, K., Abdullah, N., Shimizu, K., Lei, Z., y Hermana, J. (2023). Algal-bacterial aerobic granular sludge for real municipal wastewater treatment: Performance, microbial community change and feasibility of lipid recovery. *Journal of Environmental Management*, 333(117374), 117374. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.117374>
- Ricci, C., y Melone, G. (2000). Key to the identification of the genera of bdelloid rotifers. *Hydrobiologia*, 418(1), 73–80. <https://doi.org/10.1023/a:1003840216827>
- Robles, Á., Capson-Tojo, G., Galès, A., Ruano, M. V., Sialve, B., Ferrer, J., y Steyer, J.-P. (2020). Microalgae-bacteria consortia in high-rate ponds for treating urban wastewater:

- Elucidating the key state indicators under dynamic conditions. *Journal of Environmental Management*, 261(110244), 110244. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110244>
- Ruas, G., Farias, S. L., dos Reis, B. A. B., Serejo, M. L., da Silva, G. H. R., y Boncz, M. Á. (2023). Removal of *Clostridium perfringens* and *Staphylococcus* spp. in Microalgal–Bacterial Systems: Influence of Microalgal Inoculum and CO₂/O₂ Addition. *Water*, 15(1), 5. <https://doi.org/10.3390/w15010005>
- Sánchez, J. d. (2017). Saneamiento descentralizado y reutilización sustentable de las aguas residuales municipales en México. *Sociedad y ambiente*(14), 119-143. https://ecosur.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1017/818/1/0000323651_documento.pdf
- SEDEMA. (2018). *Reporte de plantas de tratamiento de aguas residuales Ciudad de México 2015*. <https://www.sedema.cdmx.gob.mx/storage/app/media/uploaded-files/RPTAR%202015%20OP%202.pdf>
- SEDEMA. (2019). *Reporte de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Ciudad de México 2016*. <https://www.sedema.cdmx.gob.mx/storage/app/media/RPTAR%20%202016.pdf>
- Sevugamoorthy, D., y Rangarajan, S. (2023). Comparative analysis of biodegradation and characterization study on agal-assisted wastewater treatment in a bubble column photobioreactor. *Environmental Challenges*, 10(100659), 100659. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2022.100659>
- Shangguan, H., Liu, J., Zhu, Y., Tong, Z., y Wu, Y. (2015). Start-up of a spiral periphyton bioreactor (SPR) for removal of COD and the characteristics of the associated microbial community. *Bioresource Technology*, 193, 456–462. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.151>
- Shchegolkova, N. M., Krasnov, G. S., Belova, A. A., Dmitriev, A. A., Kharitonov, S. L., Klimina, K. M., Melnikova, N. V., y Kudryavtseva, A. V. (2016). Microbial community structure of activated sludge in treatment plants with different wastewater compositions. *Frontiers in Microbiology*, 7(90). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00090>
- Silva, L. M. L., F. Santiago, A., da Silva, G. A., De Lima, L. B., Amaral, L. P., y Nascimento, R. S. L. (2023). Inactivation of *Escherichia coli* in photobioreactors with microalgae and illuminated by light emitting diodes. *International Journal of Environmental Science and Technology: IJEST*, 20(1), 63–74. <https://doi.org/10.1007/s13762-022-03990-7>
- Singh, R., Birru, R., y Sibi, G. (2017). Nutrient Removal Efficiencies of *Chlorella vulgaris* from Urban Wastewater for Reduced Eutrophication. *Journal of Environmental Protection*, 08(01), 1–11. <https://doi.org/10.4236/jep.2017.81001>
- Slopmo, N. D. M., Quartaroli, L., Fernandes, T. V., Silva, G. H. R. da, y Daniel, L. A. (2020). Nutrient and pathogen removal from anaerobically treated black water by microalgae. *Journal of Environmental Management*, 268(110693), 110693. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110693>

- Song, M. O. K., y Lee, C. H. (2020). Descriptions of two new species of Philodina (Rotifera, Bdelloidea), with notes on seven rare bdelloids from Korea. *Zootaxa*, 4772(2), 253–276. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4772.2.2>
- Suh, I. S. y Lee, C. G. (2003). Photobioreactor engineering: design and performance. *Biotechnology and bioprocess engineering*, 8(6), 313. <https://doi.org/10.1007/BF02949274>
- Tang, C. C., Tian, Y., He, Z. W., Zuo, W., y Zhang, J. (2018). Performance and mechanism of a novel algal-bacterial symbiosis system based on sequencing batch suspended biofilm reactor treating domestic wastewater. *Bioresource Technology*, 265, 422–431. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.033>
- Tejido-Nuñez, Y., Aymerich, E., Sancho, L., y Refardt, D. (2020). Co-cultivation of microalgae in aquaculture water: interactions, growth and nutrient removal efficiency at laboratory-and pilot-scale. *Algal Research*, 49, 101940. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101940>
- Thompson, S. S., Jackson, J. L., Suva-Castillo, M., Yanko, W. A., El Jack, Z., Kuo, J., Chen, C.-L., Williams, F. P., y Schnurr, D. P. (2003). Detection of infectious human adenoviruses in tertiary-treated and ultraviolet-disinfected wastewater. *Water Environment Research: A Research Publication of the Water Environment Federation*, 75(2), 163–170. <https://doi.org/10.2175/106143003x140944>
- Tran, N., Drogui, P., Blais, J.-F., y Mercier, G. (2012). Phosphorus removal from spiked municipal wastewater using either electrochemical coagulation or chemical coagulation as tertiary treatment. *Separation and Purification Technology*, 95, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2012.04.014>
- Ummalyma, S. B., y Sukumaran, R. K. (2014). Cultivation of microalgae in dairy effluent for oil production and removal of organic pollution load. *Bioresource Technology*, 165, 295–301. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.028>
- Utz, L. R. P., Beatriz, M., y Bohrer-Morel, C. (2008). Characterization of the zooplankton community of the secondary wastewater treatment system of an oil refinery in southern Brazil. *BIOCIÊNCIAS*, 16(1), 1–14. <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&ytype=pdf&doi=3323334bdc5f50244609dcb69b361a5ff9dbb738>
- Vasistha, P. y Ganguly, R. (2020). Water quality assessment of natural lakes and its importance: an overview. *Materials Today: Proceedings*, 32, 544-552. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.02.092>
- Vasumathi, K., Premalatha, M. y Subramanian, P. (2012). Parameters influencing the design of photobioreactor for the growth of microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(7), 5443-5450. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2012.06.013>
- Wang, L., Min, M., Li, Y., Chen, P., Chen, Y., Liu, Y., Wang, Y. y Ruan, R. (2010). Cultivation of green algae *Chlorella* sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant. *Applied biochemistry and biotechnology*, 162(4), 1174-1186. <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8866-7>

- Villarro, S., Sánchez-Zurano, A., Ciardi, M., Alarcón, F. J., Clagnan, E., Adani, F., Morillas-España, A., Álvarez, C., y Lafarga, T. (2022). Production of microalgae using pilot-scale thin-layer cascade photobioreactors: Effect of water type on biomass composition. *Biomass y Bioenergy*, 163(106534), 106534. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2022.106534>
- Wang, C., Yu, X., Lv, H., y Yang, J. (2013). Nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater by the green alga *Chlorella* sp. *Journal of Environmental Biology*, 34(2), 421–425. http://www.jeb.co.in/journal_issues/201304_apr13_supp/paper_18.pdf
- Wang, J., Song, A., Huang, Y., Liao, Q., Xia, A., Zhu, X., y Zhu, X. (2021). Domesticating *Chlorella vulgaris* with gradually increased the concentration of digested piggery wastewater to bio-remove ammonia nitrogen. *Algal Research*, 60(102526), 102526. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102526>
- Wang, Q., Childree, E., Box, J., López-Vela, M., Sprague, D., Cheronos, J., y Higgins, B. T. (2023). Microalgae can promote nitrification in poultry-processing wastewater in the presence and absence of antimicrobial agents. *ACS ESyT Engineering*, 3(4), 568–579. <https://doi.org/10.1021/acsestengg.2c00360>
- Wirth, R., Pap, B., Böjti, T., Shetty, P., Lakatos, G., Bagi, Z., Kovács, K. L., y Maróti, G. (2020). *Chlorella vulgaris* and its phycosphere in wastewater: Microalgae-bacteria interactions during nutrient removal. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 557572. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.557572>
- Wu, J.Y., Lay, C.H., Chen, C.C. y Wu, S.Y. (2017). Lipid accumulating microalgae cultivation in textile wastewater: Environmental parameters optimization. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 79, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2017.02.017>
- WWAP. (2017). *Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2017. Aguas residuales: El recurso desaprovechado*. UNESCO. <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000247647>
- Xu, P., Janex, M.-L., Savoye, P., Cockx, A., y Lazarova, V. (2002). Wastewater disinfection by ozone: main parameters for process design. *Water Research*, 36(4), 1043–1055. [https://doi.org/10.1016/s0043-1354\(01\)00298-6](https://doi.org/10.1016/s0043-1354(01)00298-6)
- Xu, H., Tang, Z., Yang, D., Dai, X., y Chen, H. (2023). Enhanced growth and auto-flocculation of *Scenedesmus quadricauda* in anaerobic digestate using high light intensity and nanosilica: A biomineralization-inspired strategy. *Water Research*, 235(119893), 119893. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.119893>
- Zahmatkesh, S., y Pirouzi, A. (2020). Effects of the microalgae, sludge and activated carbon on the wastewater treatment with low organics (weak wastewater). *International Journal of Environmental Science and Technology: IJEST*, 17(5), 2681–2688. <https://doi.org/10.1007/s13762-020-02661-9>
- Zhang, C., Chen, X., Han, M., Li, X., Chang, H., Ren, N., y Ho, S.-H. (2023). Revealing the role of microalgae-bacteria niche for boosting wastewater treatment and energy reclamation in response to temperature. *Environmental Science and Ecotechnology*, 14(100230), 100230. <https://doi.org/10.1016/j.es.2022.100230>

Znad, H., Al Ketife, A. M. D., Judd, S., AlMomani, F., y Vuthaluru, H. B. (2018). Bioremediation and nutrient removal from wastewater by *Chlorella vulgaris*. *Ecological Engineering*, 110, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.10.008>