



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA DE UN
CONSORCIO MICROALGAL EN PRESENCIA DE
AMONÍACO EN UN FOTOBIORREACTOR TUBULAR
CERRADO BAJO CONDICIÓN ALCALINA**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO
DE:
INGENIERO QUÍMICO**

P R E S E N T A:

VÍCTOR GABRIEL ÁNGELES FLORES



**DIRECTOR DE TESIS:
DR. ARMANDO GONZÁLEZ SÁNCHEZ**

2016

CIUDAD DE MÉXICO



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.

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM que cuenta con la certificación en ISO 9001:2008 otorgada por el Instituto Mexicano de Normalización y Certificación A.C. (IMNC) con registros RSGC 960 de fecha 11 de enero del 2016, vigente al 11 de enero del 2019.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres por todo el apoyo que me han brindado,
al Dr. Armando le agradezco por aceptarme en su grupo de trabajo y ser el
asesor para este trabajo escrito,

a Mariana por el apoyo que me ha dado para concluir este proceso, también
a Claudia, Elisa, Jorge, Isaac por aguantarme.

Agradezco también a los sinodales por las observaciones que hicieron para
la mejora de este trabajo.

Agradezco a CONACyT por el apoyo económico.

Si se me olvido agregar a alguien más en esta sección que también requiera
un agradecimiento o un no agradecimiento, pues gracias también para ti.

ABREVIATURAS

CAM	Consortio alcalófilo microalgal
CID	Carbono inorgánico disuelto
DBO	Demanda bioquímica de oxígeno
DO	Densidad óptica
DQO	Demanda química de oxígeno
FBRt	Fotobiorreactor
HRAP	Reactor de lagunaje de alta carga
N _T	Nitrógeno total
OD	Oxígeno disuelto
SST	Sólidos suspendidos totales

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 1.1. Límites máximos permisibles de nitrógeno y fosforo en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales	6
Tabla 1.2. Características químicas de vinazas de destilerías.....	7
Tabla 1.3. Características químicas generales de los efluentes de destilería no tratados y tratados anaeróbicamente.....	8
Tabla 1.4. Sistemas biológicos empleados para el tratamiento anaerobio de vinazas de destilería	12
Tabla 1.5. Tratamientos físicos-químicos empleados para el tratamiento anaerobio de vinazas de destilería.....	13
Tabla 3.1. Características de los diferentes tipos de fotobiorreactores	34
Tabla 4.1. Tipos de vinazas	42
Tabla 4.1. Reactores para tratamientos anaerobios	49
Tabla 5.1a. Reactivos empleados en el medio mineral salino	58
Tabla 5.1b. Reactivos empleados para los elementos traza (aforados a 1L).....	58
Tabla 5.2. Tabla de diluciones, SST y densidad óptica.....	60
Tabla 5.3. Volumen agregado a diferentes concentraciones de NH_4^+ (g/L) mediante NH_4Cl	63
Tabla 6.1. Tiempo de crecimiento del CAM, concentración de biomasa, oxígeno disuelto (OD) y pH en el fotobiorreactor 1 (izquierda) y el fotobiorreactor 2 (derecha)	67
Tabla 6.2. Determinación de NH_3 en el sistema microalgal de 560 mg/L, velocidad obtenida de las ecuaciones lineales a diferentes concentraciones de NH_4Cl	79
Tabla 6.3. Determinación de NH_3 en el sistema microalgal de 720 mg/L, velocidad obtenida de las ecuaciones lineales a diferentes concentraciones de NH_4Cl	80

Tabla 6.4. Determinación de NH_3 en el sistema microalgal de 415 mg/L, velocidad obtenida de las ecuaciones lineales a diferentes concentraciones de NH_4Cl	80
Tabla 6.5. Determinación de la eficiencia fotosintética ψ de las pruebas experimentales.....	81
Tabla 6.6. Valores de las constantes determinadas para la ecuación 6.15	85

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1.1. Simbiosis microalga-bacteria para la remoción de CO ₂ y H ₂ S.	11
Figura 2.1. Consumo de carbono inorgánico.....	19
Figura 2.2. Efecto de pH y temperatura en la concentración de amoniaco libre y la relación de amoniaco libre (FA) con amoniaco total (TA).	22
Figura 2.3. Cambio de amonio con respecto al pH y temperatura, expresado en porcentaje.....	24
Figura 2.4. Vías de asimilación de nitrato y amoniaco protonado de las cianobacterias.....	28
Figura 2.5. Efecto del NH ₃ libre en relación con las velocidades de crecimiento (V:V _{máx}).....	29
Figura 2.6. Efecto del pH de cultivo en la concentración de (NH ₄ ⁺ + NH ₃)	30
Figura 3.1. Esquema de un fotobiorreactor de tanque agitado.	36
Figura 3.2. Esquema de un fotobiorreactor de columna de burbuja y de puente aéreo	36
Figura 3.3. Esquema de un fotobiorreactor tubular horizontal.....	37
Figura 3.4. Esquema de un fotobiorreactor de panel plano.	37
Figura 5.1. Reactor de lagunaje de alta carga (HRAP).....	55
Figura 5.2. Diagrama de flujo de un fotobiorreactor tubular cerrado.	56
Figura 5.3. Fotobiorreactor tubular cerrado en funcionamiento.....	57
Figura 5.3. Concentración de biomasa vs densidad óptica.....	61
Figura 6.1. Crecimiento de la biomasa microalgal en el fotobiorreactor 1 y 2.....	69
Figura 6.2. Cálculo de la velocidad específica de crecimiento (μ) microalgal	71

Figura 6.3. Comportamiento de la producción de OD del CAM en el fotobiorreactor antes y después de la adición de NH_4Cl	74
Figura 6.4. Producción de oxígeno disuelto al agregar diferentes concentraciones de NH_4Cl durante 120 segundos	75
Figura 6.5. Producción de oxígeno disuelto al agregar diferentes concentraciones de NH_4Cl durante 120 segundos	76
Figura 6.6. Producción de oxígeno disuelto al agregar diferentes concentraciones de NH_4Cl durante 120 segundos.....	77
Figura 6.7. Datos experimentales y datos del modelo ajustado de la producción de OD del CAM vs el aumento de NH_3	87

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
OBJETIVO GENERAL	5
OBJETIVOS PARTICULARES.....	5
CAPÍTULO 1 GENERALIDADES	6
1.1 Aguas residuales de destilerías	6
1.2 El biogás	10
1.3 El digestato y su tratamiento	11
1.3.1 Tratamiento simultáneo de biogás y digestato	14
CAPÍTULO 2 CARBONO Y NITRÓGENO	17
2.1 Nutrientes de microalgas	17
2.1.1 Carbono.....	18
2.1.1.1 Fijación y consumo de carbono	18
2.1.2 Nitrógeno	20
2.1.2.1 Amonio/amoniaco	21
2.1.2.2 Efecto del amoniaco protonado en la velocidad de crecimiento de las microalgas	25
2.1.2.3 Transporte celular de amoniaco protonado y energetico	25
2.1.2.4 Efectos de inhibición del amonio.....	26
2.1.2.5 Efectos directos del amoniaco protonado.....	26
El efecto más espectacular de mucho amoniaco protonado es la lisis celular donde las microalgas explotan inmediatamente por ejemplo con valores de 26.75 a 53.5 mg/L de NH ₄ Cl (Nagasoe et al., 2010).	26
2.1.2.6 Efectos indirectos.....	27

2.1.2.7 Remoción de amoníaco en estanques de tratamiento de agua residual	28
CAPÍTULO 3 FOTOBIORREACTORES	31
3.1 Tipos de fotobiorreactores	33
3.2 Consideraciones en los Fotobiorreactores	38
3.2.1 Utilización de la luz	38
3.2.2 Mezclado.....	38
CAPÍTULO 4 VINAZAS	40
4.1 Caracterización de la vinaza.....	41
4.2 Tratamientos sólidos solubles de las vinazas.....	45
4.3 Tratamientos físicos-químicos	46
4.3.1 Adsorción	46
4.3.2 Coagulación-floculación.....	46
4.3.3 Proceso de ozonación	46
4.3.4 Proceso de oxidación electroquímica	47
4.3.5 Electro-coagulación.....	47
4.4 Tratamientos anaerobios.....	48
4.5 Tratamientos aerobios.....	52
4.5.1 Bacteriales.....	52
4.5.2 Hongos	53
4.5.3 Consorcio mezclado	53
4.5.4 Microalgas.....	53
CAPÍTULO 5 MÉTODO EXPERIMENTAL	55
5.1 Sistema 1: Fotobiorreactor HRAP	55
5.2 Sistema 2: Fotobiorreactor tubular.....	56
5.3 Cinética de crecimiento	57
5.3.1 Curva de calibración.....	59

5.4 Evaluación del efecto de NH ₃ sobre la actividad fotosintética del CAM	61
5.4.1 Determinación de NH ₃ /NH ₄ ⁺ en equilibrio.....	64
CAPÍTULO 6 RESULTADOS.....	67
CONCLUSIONES.....	88
GLOSARIO.....	90
REFERENCIAS.....	95
APÉNDICES	102

RESUMEN

Las microalgas son microorganismos que predominan en el plancton de lagos y los océanos, tienen capacidad fotosintética, es decir que por medio de energía luminosa y CO_2 sintetizan compuestos orgánicos, crecen y conllevan a la liberación de oxígeno molecular, este proceso las ha llevado a estar en asociaciones con otros microorganismos para el consumo de nutrientes llamados consorcio. Además debido a su alimentación, tolerancia a pHs altos, cambios de temperatura, salinidad han sido empleadas en sistemas biotecnológicos para la solución de problemas por ejemplo, ambientales, como el tratamiento de residuos orgánicos, donde degradan la materia orgánica la cual usan como alimento, y con el oxígeno liberado oxidan materia orgánica o lo emplean otros microorganismos que están en consorcio para llevar a cabo sus funciones nutricionales.

Con la finalidad de evaluar la actividad de estos microorganismos, la cual se ve reflejada en la producción de oxígeno, se tomaron muestras de un consorcio microalgal en medio alcalino de un reactor de lagunaje de alta carga empleando amonio (NH_4^+) como sustrato, el cual se sabe es un nutriente presente en residuos orgánicos y que en pH mayores básicos está en un sistema amoniaco/amonio donde predomina el amoniaco (NH_3) que es un compuesto volátil y tóxico para las microalgas.

Considerando la volatilidad del amoniaco, las pruebas experimentales se llevaron a cabo en un fotobiorreactor tubular cerrado iluminado con luces LED, cuya intensidad lumínica fue de $105 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$, en donde se hicieron cinéticas de crecimiento para obtener la velocidad específica de crecimiento del consorcio microalgal, después el consorcio se adaptó en un medio mineral con ausencia de nitrógeno para luego agregar volúmenes definidos con concentraciones de NH_4Cl que iban de 10 a 600 mg/L que se sabe son concentraciones conocidas de efluentes de vinazas. La adición de las concentraciones fue de manera acumulada, es decir que primero se agregaron 10 mg/L de concentración en un volumen definido y para agregar 20 mg/L solo se agregó la diferencia, y así sucesivamente. El oxígeno producido por las microalgas disminuyó conforme se aumentaban las

concentraciones de NH_4Cl lo cual se representó en unas gráficas. Con unas ecuaciones se determinó la cantidad de nitrógeno que era asimilado por el consorcio microalgal y el nitrógeno que quedaba como amoníaco, en donde del nitrógeno agregado al consorcio en forma de amonio solo el 18% es asimilado por el consorcio, mientras que el 82% se volatiliza en forma de amoníaco. Con la velocidad específica de crecimiento, la concentración de biomasa microalgal, el valor de rendimiento biomasa-oxígeno y las gráficas se ajustó un modelo cinético de forma hiperbólica, el cual describe la actividad fotosintética del consorcio alcalófilo microalgal en presencia de amoníaco, se hizo una prueba estadística para comprobar que el modelo no tuviera una diferencia significativa con respecto a los resultados experimentales obtenidos, sin embargo el modelo si se ajustó a los datos experimentales.

INTRODUCCIÓN

Los residuos acuosos que se generan de las industrias de las destilerías de alcohol, llamadas vinazas, y las aguas residuales tratadas presentan alto contenido de materia orgánica, que antes de ser desechados al exterior, se deben tratar previamente. Estos desechos contienen nutrientes como el nitrógeno en altas concentraciones que no pueden ser desechados directamente a los cuerpos de agua, pues provocarían eutrofización así como también alterarían sus propiedades fisicoquímicas de los suelos como el color, pH, conductividad eléctrica (EC) debido a la lixiviación de los iones orgánicos e inorgánicos. De acuerdo a la NOM-001-SEMARNAT-1996 la concentración mínima necesaria de nitrógeno para ser descargado está entre 40 a 60 mg/L para ríos, aguas costeras, lagos, suelos nacionales, así como fosforo total de aproximadamente 30 mg/L.

La digestión anaerobia es una alternativa para el tratamiento de residuos procedentes de las destilerías de alcohol (vinazas) (Mohana et al., 2009), ya que una de las grandes ventajas que tienen estos procesos es la generación de biogás, sin embargo la concentración de los nutrientes en el efluente líquido (NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-}) no es disminuida ya que es un proceso no asimilativo. Para hacer frente a este problema, la digestión aerobia es una alternativa posterior a la digestión anaerobia empleada para disminuir los nutrientes que no fueron asimilados previamente, tal tecnología biotecnológica de microalgas y bacterias fotosintéticas ha sido utilizada ampliamente debido a las ventajas ambientales que esta representa, ya que los microorganismos por medio de la fotosíntesis, la cual se define como un proceso físico-químico-biológico en el que plantas, algas, bacterias fotosintéticas emplean la energía de la luz y el CO_2 atmosférico, así como el CO_2 contenido en el biogás producido por digestión anaerobia, para la síntesis de compuestos orgánicos y además conlleva a la liberación de oxígeno (Pérez y Carril, 2009), el consorcio microalgal utiliza además los nutrientes residuales de los efluentes anaerobios para su crecimiento.

El nitrógeno puede ser consumido por los microorganismos en los sistemas aerobios en forma inorgánica de nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), óxido nítrico (NO),

amonio (NH_4^+), y en algunos casos nitrógeno molecular (N_2), pero también en forma orgánica como urea o amino ácidos. Los cultivos microalga-bacteria prefieren la fuente de energía que les ocasione el menor gasto de energía posible para su consumo. Por lo tanto, la fuente de nitrógeno preferida para las microalgas es la forma $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ porque su consumo y asimilación emplea menos energía comparada a otras fuentes de nitrógeno (Perez-Garcia, et al., 2010).

Una limitación grave cuando se utiliza amoniaco/amonio es el potencial toxico. El amoniaco libre (NH_3) tiene efectos perjudiciales en las microalgas en relativamente bajas concentraciones (2mM, 0.034 g/L) (Abeliovich & Azov, 1976; Azov & Goldman, 1982). Otro de los principales factores que afectan la toxicidad es el pH del medio de cultivo, ya que este determina si la forma toxica del amoniaco es dominante o predomina el amonio (Azov & Goldman, 1982).

Las diferentes formas de administración de nitrógeno influyen el pH del medio de cultivo. Por ejemplo, si se aplica NH_4^+ como la fuente de nitrógeno, el pH puede caer debido a la liberación de H^+ durante la asimilación. Pero una restricción de utilizar amoniaco como suministro de nitrógeno es que se puede perder del medio de cultivo debido a la volatilización, específicamente en altos valores de pH (Markou, et al., 2014).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El nitrógeno presente en los efluentes anaerobios se encuentra predominantemente en forma de NH_4^+ con pH 7.5. Si este efluente fuera alimentado a un fotobiorreactor abierto, donde hay un consorcio microalgal cuyo pH > 9, el NH_3 predominaría en el sistema $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ desconociendo de ese modo el NH_4^+ que es aprovechado por el consorcio microalgal. Además los nutrientes del efluente funcionarían como fuente de alimento para el consorcio microalgal, el cual reducirá los niveles de nutrientes antes de ser desechados a algún cuerpo acuático o al ambiente.

Una de las formas de saber la cantidad de NH_4^+ aprovechado por las microalgas es por medio de la actividad fotosintética, que consta del oxígeno liberado por estas, como resultado del proceso de la fotosíntesis, agregando diferentes concentraciones de NH_4Cl y además por las correspondientes determinaciones de concentración de biomasa, pH, velocidad de producción de oxígeno disuelto microalgal.. El trabajo experimental se realizó en presencia de NH_3 en un fotobiorreactor tubular cerrado bajo condición alcalina, donde se pretende conocer la concentración (mg/L) de NH_3 que es tóxica para el consorcio microalgal.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto del amoníaco sobre la actividad fotosintética de un consorcio de microalgas en medio alcalino en un fotobiorreactor de tubos cerrado

OBJETIVOS PARTICULARES

Describir el sistema de equilibrio amonio/amoniaco en medio alcalino

Evaluar experimentalmente la actividad fotosintética de un consorcio alcalófilo microalgal en presencia de concentraciones de amoníaco representativas de efluentes de digestores anaerobios.

Definir un modelo cinético del efecto del amonio sobre la actividad fotosintética.

CAPÍTULO 1 GENERALIDADES

1.1 Aguas residuales de destilerías

Los residuos acuosos que se generan de las industrias de las destilerías de alcohol, llamadas vinazas, y las aguas residuales tratadas presentan alto contenido de materia orgánica, que antes de ser desechados al exterior, se deben tratar previamente (España-Gamboa et al., 2011); porque estos desechos contienen componentes cuyas cantidades sobrepasan los niveles normados para desecharse al ambiente. Ver Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Límites máximos permisibles de nitrógeno y fosforo en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales

LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES PARA CONTAMINANTES BÁSICOS										
Parámetros	RÍOS						EMBALSES NATURAL Y ARTIFICIALES			
mg/L	Uso riego agrícola (A)		Uso público urbano (B)		Protección vida acuática (C)		Uso riego agrícola (B)		Uso público urbano (c)	
	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.
Nitrógeno Total	40	60	40	60	15	25	40	60	15	25
Fósforo Total	20	30	20	30	5	10	20	30	5	10
Parámetros	AGUAS COSTERAS						SUELO			
mg/L	Explotación pesquera, navegación, etc. (A)		Recreación (B)		Estuarios (B)		Uso riego agrícola (A)		Humedales naturales (B)	
	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.
Nitrógeno Total	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	15	25	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
Fósforo Total	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	5	10	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
P.D.= Promedio diario			P.M.=Promedio mensual			N.A.= No Aplicable				
(A), (B), (.C): Tipo de cuerpo receptor según Ley Federal de Derechos										

Referencia: NOM-001-SEMARNAT-1996

Por otro lado estos residuos acuosos orgánicos se pueden aprovechar para obtener productos con un valor agregado, tal como la biomasa que sirve como alimento para ganado, o el biogás que puede satisfacer las necesidades energéticas de las sociedades (Meier et al., 2014).

Estos residuos de las destilerías tienen alta demanda biológica de oxígeno (DBO) y demanda química de oxígeno (DQO). La cantidad de sustancias inorgánicas como; nitrógeno, potasio, fosfatos, calcio, sulfatos también es muy alta para ser desechada al ambiente. Para resumir lo dicho anteriormente, se muestran en las tablas 1.2 y 1.3 las características químicas de los residuos acuosos orgánicos.

Tabla 1.2. Características químicas de vinazas de destilerías

Parámetro	Agua residual de destilería	Agua residual de destilería de vino	Vinaza de caña de azúcar	Vinaza de melazas de caña	Vinaza de uvas (vino)	Vinaza de agave (tequila)
pH	3.0-4.1	3.53-5.4	4.04	4.46-4.8	3-4.2	3.4
DQO (mg/l)	100-120	3.1-40	30400	84900-95000	26000-50200	55200-66300
DBO (mg/l)	-	0.21-8	16700	39500	14540-16300	20600
NT (g/l)	-	0.1-64	0.102-0.628	0.153-1.23	0.1049-0.65	-
NH ₄ ⁺ (mg/l)	-	140	-	-	-	-
NO ₃ ⁻ (mg/l)	4900	-	-	-	-	-
PT (g/l)	-	-	0.071-0.13	0.001-0.19	0.065-0.1184	0.041
PO ₄ ⁻³ (mg/l)	-	0.24-65.7	-	-	-	-
Referencia	(Rajasundari & Murugesan, 2011)	(España-Gamboa et al., 2011)	(España-Gamboa et al., 2011)	(España-Gamboa et al., 2011)	(España-Gamboa et al., 2011)	(España-Gamboa et al., 2011)
Parámetro	Vinaza de sorgo dulce	Vinaza de melaza de remolacha	Vinaza cruda	Agua residual de melazas	Vinaza de bagazo	
pH	4.5	4.3-5.35	5.2	3.8	9.86	
DQO (mg/l)	79900	55500-91100	37.5	80.5	-	
DBO (mg/l)	46000	27500-44900	-	-	20	
NT (g/l)	0.8	1.8-4.75	2.02	1.8	1.53	
NH ₄ ⁺ (mg/l)	-	-	125400 [N-NH ₃]	-	45.1	
NO ₃ ⁻ (mg/l)	-	-	-	-	-	
PT (g/l)	1.99	0.16-0.163	0.24	-	4.28	
PO ₄ ⁻³ (mg/l)	-	-	139	-	-	
Referencia	(España-Gamboa et al., 2011)	(España-Gamboa et al., 2011)	(Ramana et al., 2002)	(Rajasundari & Murugesan, 2011)	(Rajasundari & Murugesan, 2011)	

Tabla 1.3. Características químicas generales de los efluentes de destilería no tratados y tratados anaeróbicamente

Parámetros	Efluentes	Efluentes tratados anaeróbicamente
pH	3.0 – 4.5	7.5 - 8
DBO (mg/L)	50,000 – 60,000	8000 – 10,000
DQO (mg/L)	110,000 – 190,000	45,000 – 52,000
Fosfato (mg/L)	2500 - 2700	1500 - 1700
Nitrógeno (mg/L)	5000 – 7000	4000 - 4200

Ref. (Mohana et al., 2009)

La naturaleza recalcitrante (difícil biodegradación) que presentan las vinazas es debido a la presencia de polímeros marrones, melanoidinas, que se forman por la reacción amino carbonil de Maillard. Dichos compuestos contienen propiedades antioxidantes, que los hacen tóxicos para muchos microorganismos como los que se encuentran presentes en los procesos de tratamiento de aguas residuales (Kumar et al., 1997). Aunque hay otros compuestos presentes en los residuos aparte de las melanoidinas que afectan en la disposición al ambiente como el caramelo, la variedad de productos de descomposición del azúcar, antocianinas, taninas, y más compuestos que ocasionan que el efluente contenga un olor desagradable y otros compuestos sulfurados que no son descompuestos de manera efectiva por las levaduras durante la destilación (Sharma et al., 2007).

Por tanto, la disposición de vinazas al ambiente es peligrosa porque contiene altos niveles de contaminantes que afectan el sistema ambiental; por ejemplo, la alta demanda química de oxígeno (DQO), el alto contenido de nitrógeno total y de fosfato total del efluente puede resultar en la eutrofización de los cuerpos de agua naturales, además los altos componentes coloreados que contiene el efluente reducen la penetración de la luz del sol en ríos, lagos o lagunas, que a su vez disminuyen tanto la actividad fotosintética y la concentración de oxígeno disuelto afectando la vida en dichos cuerpos de agua (Kumar et al., 1997).

También si dicho efluente se desecha al suelo sin previo tratamiento, afecta la calidad de este alterando sus propiedades fisicoquímicas como el color, pH, conductividad eléctrica (EC) debido a la lixiviación de los iones orgánicos e inorgánicos (Jain et al., 2005).

Se han explorado varias tecnologías para reducir la carga de contaminantes de los efluentes de la destilería; como los tratamientos anaerobios y los tratamientos aerobios. Los tratamientos de digestión anaerobia constituyen una gran alternativa para el tratamiento de aguas residuales con alto contenido de materia orgánica, dichos tratamientos anaerobios se efectúan primero que los tratamientos aerobios en los sistemas de tratamiento de efluentes de la destilería. El sistema de digestión anaerobia se puede ver como un sistema complejo en el que varios grupos de microorganismos operan e interactúan unos con otros en asociación simbiótica, competitiva y antagonista, en el que dicho proceso se genera metano y dióxido de carbono (Mohana et al., 2009)

El tratamiento con procesos anaerobios es una tecnología que presenta ventajas interesantes comparadas con el clásico tratamiento aerobio. Ya que tiene la capacidad de degradar sustancias concentradas y resistentes, también produce muy pocos lodos, requiere menos energía para su operación y además es provechosa porque genera biogás como valor agregado (Mohana et al., 2009).

Las vinazas tratadas anaeróticamente contienen todavía altas concentraciones de contaminantes orgánicos como NH_3 , NO_3 , PO_4^- , que no se pueden descargar directamente, además de ser efluentes coloreados que se les impide la descarga directa a ríos, lagos o cualquier cuerpo de agua (Nandy et al., 2002).

Las aguas residuales de la destilería son ácidas y su alto contenido orgánico puede causar considerable contaminación ambiental (Keyser et al., 2003). También han sido caracterizadas por los metales pesados, por ejemplo, hierro y zinc, iones metálicos tales como Ca^{+2} , K^+ y Na^+ y sulfatos, más otros nutrientes como nitratos y fosfatos que hacen problemática la descarga de las aguas residuales de la destilería en los cuerpos acuáticos, ya que provocan la eutrofización y otros efectos ambientales como bloquear la entrada de la luz del sol a las capas inferiores de los

ríos y arroyos, por lo tanto reducen la oxigenación del agua bloqueando la fotosíntesis y haciéndolo perjudicial para la vida acuática (Rajasundari & Murugesan, 2011).

Se deben buscar tratamientos para los efluentes antes de ser desechados al ambiente y que no superen los límites máximos permisibles de sus componentes establecidos por las normas oficiales, como en la tabla 1.1 mostrada anteriormente, dónde en este escrito se enfoca al tratamiento del nitrógeno. Uno de los procedimientos seguidos para la disposición del efluente de destilería es utilizarla para la producción de biomasa microalgal. La conversión de gran parte de las cargas orgánicas del efluente de destilería a biomasa microalgal tiene especial relevancia ya que funciona como suplemento de alimentación, como el forraje para ganado, etc. (Mohana et al., 2009)

1.2 El biogás

El biogás, producto de la digestión anaerobia de las vinazas, de la industria de la destilación y materias primas renovables (como los residuos sólidos orgánicos y municipales), es un gas rico en CH₄ (40-75%) y CO₂ (25-60%), con otros componentes, tales como H₂S (0.005-2%), N₂ (0-2%), O₂ (0-1%) y NH₃ (<1%) presente en concentraciones inferiores (Ryckebosch et al., 2011). La remoción de CO₂ del biogás implicará una disminución en sus costos de compresión y de transporte, mientras que la remoción de H₂S podría reducir su naturaleza tóxica, corrosiva y maloliente (Kao et al., 2012).

La remoción simultánea de CO₂ y H₂O del biogás se puede hacer por separación de membranas y/o por depuración química, pero dichos procesos físicos-químicos exhiben altos impactos ambientales y altos costos de operación (Tippayawong & Thanompongchart, 2010), por tanto, las tecnologías físicas-químicas presentan desventajas para ser utilizadas, lo que abre paso a las tecnologías por tratamientos biológicos que se encargan de dicha problemática cuyos procesos comparados a los convencionales son de bajo costo y amigables con el ambiente, además de que son innovadores para la remoción del CO₂ y H₂S, por medio de una simbiosis microalga-bacteria (Bahr et al., 2014). Entendamos

simbiosis desde el enfoque ecológico, en el cual, cualquier organismo cuyo hábitat normal durante toda su vida o parte de ella, es otro organismo vivo (huésped); pero si el organismo afecta a su huésped, se llamará parasitismo, sin embargo, si la integración microbiológica beneficia a ambas partes se llamará mutualismo (Smith, 1978). En este caso, las microalgas consumen el CO_2 por medio de la fotosíntesis y después producen oxígeno, el cual es empleado por las bacterias para fijar H_2S y producirlo como sulfatos (SO_4^{2-}). Ver figura 1.1.

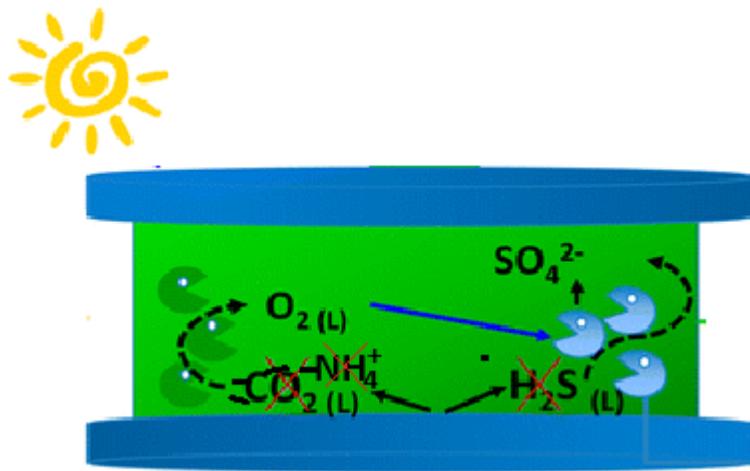


Figura 1.1. Simbiosis microalga-bacteria para la remoción de CO_2 y H_2S .

Tomada de (Bahr et al., 2014)

1.3 El digestato y su tratamiento

Tanto el digestato (vinazas) como el biogás deben de ser tratados por procesos físicos-químicos o biológicos. En las tablas 1.4 y 1.5 se presentan algunos tratamientos biológicos y físicos-químicos para las vinazas respectivamente.

Tabla 1.4. Sistemas biológicos empleados para el tratamiento anaerobio de vinazas de destilería

Tipos de sistemas	Tratamientos	Tipo de cultivo	Referencia
Sistemas de hongos	Producen gran variedad de proteínas extracelulares, ácidos orgánicos y se adaptan a varias restricciones ambientales. Utilizan su actividad microbial para la decoloración de vinazas de melaza.	<i>Aspergillus</i> <i>sps.</i> , <i>Aspergillus</i> <i>fumigatus</i> G-2-6, <i>Aspergillus niger</i>	(Mohana et al., 2009)
Sistemas bacteriales	Capaces de hacer proceso de biorremediación y decolorizar las vinazas de destilería tratadas anaeróbicamente.	<i>Bacillus</i> <i>sp.</i> , <i>Lactobacillus</i> <i>hilgardii</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>fluorescence</i> , <i>Xanthomonas</i> <i>fragariae</i> , <i>B.</i> <i>megaterium</i> , <i>B.</i> <i>cereus</i> .	(Mohana et al., 2009)
Sistemas microalga/cianobacteria	Son ideales para el tratamiento de efluentes de destilerías, aparte de que degradan los polímeros también oxigenan los cuerpos de agua, de este modo reducen los niveles de DQO y DBO.	<i>Chlorella</i> <i>vulgaris/Lemma</i> <i>minuscula</i> .	(Mohana et al., 2009)

Tabla 1.5. Tratamientos físicos-químicos empleados para el tratamiento anaerobio de vinazas de destilería

Tecnología	Tratamiento	Compuesto químico empleado	Referencia
Adsorción	Es ampliamente empleado para la remoción de color y contaminantes orgánicos específicos.	Carbón activado (buen adsorbente debido a su extendida área superficial, estructura microporosa y alto grado de reactividad de superficie). Bagazo modificado químicamente.	(Mohana et al., 2009)
Coagulación y floculación	Coagulación es la desestabilización de coloides neutralizando las fuerzas que los mantienen separados, las partículas coloides forman grandes partículas (flóculos). La floculación es la acción de los polímeros para formar puentes entre los flóculos, y unir las partículas en grandes aglomerados o grumos.	$FeCl_3$, $Fe_2(SO_4)_3$, $Al_2(SO_4)_3$, CaO , $CaCl_2$	(Mohana et al., 2009)
Procesos de oxidación	Se utiliza ozono que se disuelve en agua, reaccionando con compuestos orgánicos en dos diferentes maneras: oxidación directa como ozono molecular o reacción indirecta a través de la formación de oxidantes secundarios como especies de radicales libres.	Ozonación, oxidación electroquímica (dióxido de grafito recubierto con titanio, dióxido de rutedio recubierto con titanio)	(Mohana et al., 2009)

Unos de los procesos por tratamientos biológicos son los sistemas microalga/cianobacteria, ya que las cianobacterias se consideran ideales para el tratamiento del efluente de destilerías, porque aparte de degradar los polímeros también oxigenan cuerpos de agua, por lo tanto reducen los niveles de DBQ y DQO (Mohana et al., 2009)

1.3.1 Tratamiento simultáneo de biogás y digestato

La simbiosis microalga-bacteria en fotobiorreactores representa una oportunidad para la remoción simultánea de ambos contaminantes de biogás en un impacto de bajo costo de energía y ambiental. En tales sistemas microalga-bacteria pueden utilizar la energía del sol para fijar CO₂ del biogás por medio de la fotosíntesis, con la producción de oxígeno (Bahr et al., 2014). El O₂ generado se utiliza por bacterias, en este caso bacterias sulfo-oxidantes para oxidar H₂S a sulfato (Mun & Guieysse, 2006).

Los valores altos de pH en que se encuentran las bacterias sulfo-oxidantes y microalgas tolerantes a pH alto, puede mejorar de manera significativa el transporte de masa de los gases H₂S ácidos y CO₂ del biogás al cultivo microalga-bacteria, permitiendo así un mejoramiento del biogás (González-Sánchez & Revah, 2007).

Una ventaja adicional de este sistema biotecnológico es que se pueden utilizar nutrientes residuales de los efluentes para el crecimiento del consorcio microalga-bacteria, y por tanto se producirán cantidades significantes de biomasa. Por ejemplo, algunos de los microorganismos a emplear para la decoloración de vinazas de destilería son la cianobacterias ya que estas tienen la capacidad de utilizar melanoidinas (carbohidratos + proteínas) como fuente de carbono y nitrógeno (Kalavathi et al., 2001).

A pesar de las ventajas mencionadas anteriormente sobre esta tecnología del consorcio microalga-bacteria para la remoción de H₂S y CO₂ del biogás, así como la eliminación de algunos nutrientes del agua residual o de los efluentes del digestato (vinazas) que han sido explorados (Bahr et al., 2014), los nutrientes, como el nitrógeno y el fosforo, contenido en los efluentes no pueden ser expuestos al ambiente a las concentraciones en que vienen en los digestatos (tabla 1.2) por las causas ya mencionadas, de acuerdo a la norma oficial mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996 que establece los límites máximos permisibles de estos componentes contaminantes en las descargas de aguas residuales y bienes nacionales (tabla 1.1). Por consiguiente, la tecnología del sistema del consorcio microalga-bacteria puede aprovechar estos nutrientes como fuente de alimento, sin

que afecte su actividad fotosintética que es útil para su función de remoción de gases ácidos del biogás.

Nutrientes como el nitrógeno contenido en el digestato, deben ser suministrados en el consorcio microalgal (contenido en un fotobiorreactor tubular) a concentraciones óptimas que permitan una alta actividad fotosintética del consorcio en medio alcalino ($\text{pH} > 9.0$, por las razones ya mencionadas) ya que también este elemento en vez de resultar benéfico, puede ser perjudicial para el consorcio microalgal inhibiendo su crecimiento (Azov & Goldman, 1982).

El nitrógeno se puede consumir en forma inorgánica de nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), óxido nítrico (NO), amonio (NH_4^+), y en algunos casos nitrógeno molecular N_2 , pero también en forma orgánica como urea o aminoácidos. El nitrato (NO_3^-) es la forma de nitrógeno mineral más comúnmente utilizado para el cultivo de microalgas y cianobacterias en el medio sintético (Markou et al., 2014). El nitrato se consume por mecanismos activos (mecanismos de transporte de membrana de la célula, bombas) y por lo tanto consume energía (Markou et al., 2014). Lo ideal para los cultivos microalgales y cianobacteriales es el consumo de moléculas cuyo consumo de energía sea el mínimo. Por lo tanto, la fuente de nitrógeno preferida para las microalgas es la forma amoniaco/amonio porque su consumo y asimilación consume menos energía comparada a otras fuentes de nitrógeno (Perez-garcia et al., 2010).

Una limitación grave cuando se utiliza amoniaco/amonio es el potencial tóxico. El amoniaco libre (NH_3) tiene efectos perjudiciales en las microalgas en relativamente bajas concentraciones (2mM, 0.034 g/L) (Abeliovich & Azov, 1976; Azov & Goldman, 1982). Otro de los principales factores que afectan la toxicidad es el pH del medio de cultivo, ya que este determina si la forma tóxica del amoniaco es dominante o predomina el amonio no tóxico. El amoniaco afecta el sistema fotosintético y en particular induce el foto-daño del fotosistema II (Azov & Goldman, 1982; Drath et al., 2008). Por lo tanto el amoniaco debería ser considerado como el principal factor tóxico que afecta la viabilidad de las células. El grado de toxicidad se relaciona a la diferencia entre los valores de pH intracelular y extracelular (medio). Para evitar el efecto negativo del NH_3 , se pueden regular los valores de pH

y mantenerlos bien por debajo del pK del sistema $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ con la finalidad de limitar la concentración de amoníaco (Azov & Goldman, 1982); otra estrategia es diluir el agua residual o las vinazas para evitar una concentración de amoníaco inhibitoria o para que se pueda utilizar un modo de cultivo fed-batch, en el que el amoníaco se agrega gradualmente al medio de cultivo (Markou et al., 2014).

Las diferentes formas de administración de nitrógeno influyen en el pH del medio de cultivo. Por ejemplo, si se aplica NH_4^+ como la fuente de nitrógeno, el pH puede caer debido a la liberación de H^+ durante la asimilación. Pero una restricción de utilizar amoníaco como suministro de nitrógeno es que se puede perder del medio de cultivo debido a la volatilización, específicamente en altos valores de pH (Markou et al., 2014).

CAPÍTULO 2 CARBONO Y NITRÓGENO

Los microorganismos son capaces de sustentarse (alimentarse) al menos de dos formas diferentes de conseguir sus nutrientes: por autotrofia y heterotrofia (Grobbelaar, 2013). Los microorganismos autótrofos obtienen su energía por medio de la absorción de la energía de la luz por la reducción de CO_2 mediante la oxidación de sustratos, como el agua, para liberar O_2 , entre este grupo también se encuentran los microorganismos fotoautótrofos, los cuales son aquellos que necesitan iones minerales para su crecimiento, los microorganismos quimioheterótrofos son un grupo pequeño de microalgas que oxidan compuestos inorgánicos para obtener energía; el otro grupo de microorganismos son los heterótrofos, los cuales obtienen su energía a partir de compuestos orgánicos, las microalgas tienen la capacidad de pertenecer a los dos grupos, autótrofos y heterótrofos. (Grobbelaar, 2013).

2.1 Nutrientes de microalgas

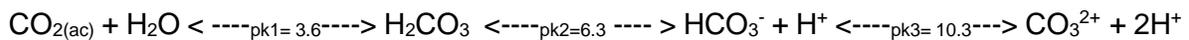
Las microalgas durante la fotosíntesis utilizan radiación solar y también varios nutrientes esenciales (C, N, P, S, K, Fe), de los cuales necesitan cantidades específicas de tales elementos esenciales con la finalidad de producir biomasa, ya que una posible falta o deficiencia de esos elementos causará reducción en su crecimiento. Considerando la relación C: N: P de Redfield de 106:16:1 de la composición de fitoplancton elemental estos elementos esenciales tienen que estar presentes en relaciones apropiadas, y en composiciones químicas disponibles en el medio de cultivo para que el crecimiento de las microalgas no sea limitado (Markou et al., 2014).

De los nutrientes esenciales para los microorganismos, este apartado enfocará una revisión bibliográfica solamente en los dos nutrientes más importantes, carbono (C) y nitrógeno (N) ya que de ellos parte el rendimiento de las microalgas.

2.1.1 Carbono

El carbono es el principal elemento de biomasa microalgal, que va de 65% aproximadamente de peso seco, aunque el contenido varía entre las especies de microalgas que van de 17.5 a 65% de peso seco (Markou et al., 2014), aunque la mayoría de las especies contienen aproximadamente 50% de carbono (Grobbelaar, 2013).

El carbono se consume principalmente por microorganismos fotosintéticos en forma inorgánica CO_2 . Sin embargo, la mayoría de las microalgas son microorganismos acuáticos que se encuentran en hábitats líquidos, el CO_2 se disuelve en ambiente acuático. Cuando el CO_2 se disuelve en agua, reacciona con las moléculas H_2O y forma un sistema búfer ácido-base débil:



El equilibrio anterior depende del pH de la disolución, lo que significa que la cantidad relativa de las especies de carbono inorgánico disuelto (DIC) se relaciona estrictamente al pH de la solución. La mayoría de las microalgas crecen en el intervalo de pH de entre 6.5 y 10, por tanto, la forma de carbono dominante es HCO_3^- (Markou et al., 2014).

2.1.1.1 Fijación y consumo de carbono

El carbono inorgánico se fija dentro de las células y se convierte en forma orgánica por medio del ciclo de Calvin, donde el primer paso es la asimilación de CO_2 incorporándose en un compuesto de tres carbonos. Dicha asimilación se cataliza por Ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa oxigenasa (Rubisco) que solo puede utilizar CO_2 y por lo tanto CO_2 es el último sustrato para la fijación de carbono (Price et al., 2008). Aunque la utilización de la forma preferida de carbono es dependiente de las especies, muchos microorganismos pueden consumir tanto CO_2 y HCO_3^- , algunas solo pueden consumir CO_2 o HCO_3^- (Markou et al., 2014).

El consumo de carbono se puede realizar, ya sea pasivamente o activamente. El CO_2 puede ser consumido pasivamente por medio de la difusión de membranas, cruzando e insertándose en la célula como CO_2 libre, o activamente a través de

mecanismos de transportes de membranas (bombas). El HCO_3^- se emplea solo activamente por medio de mecanismos de transporte; sin embargo el HCO_3^- se puede convertir por la metaloenzima carbonica anhidrasa (CA) a CO_2 , el cual se puede utilizar ya sea pasivamente o activamente (Pérez & Carril, 2009).

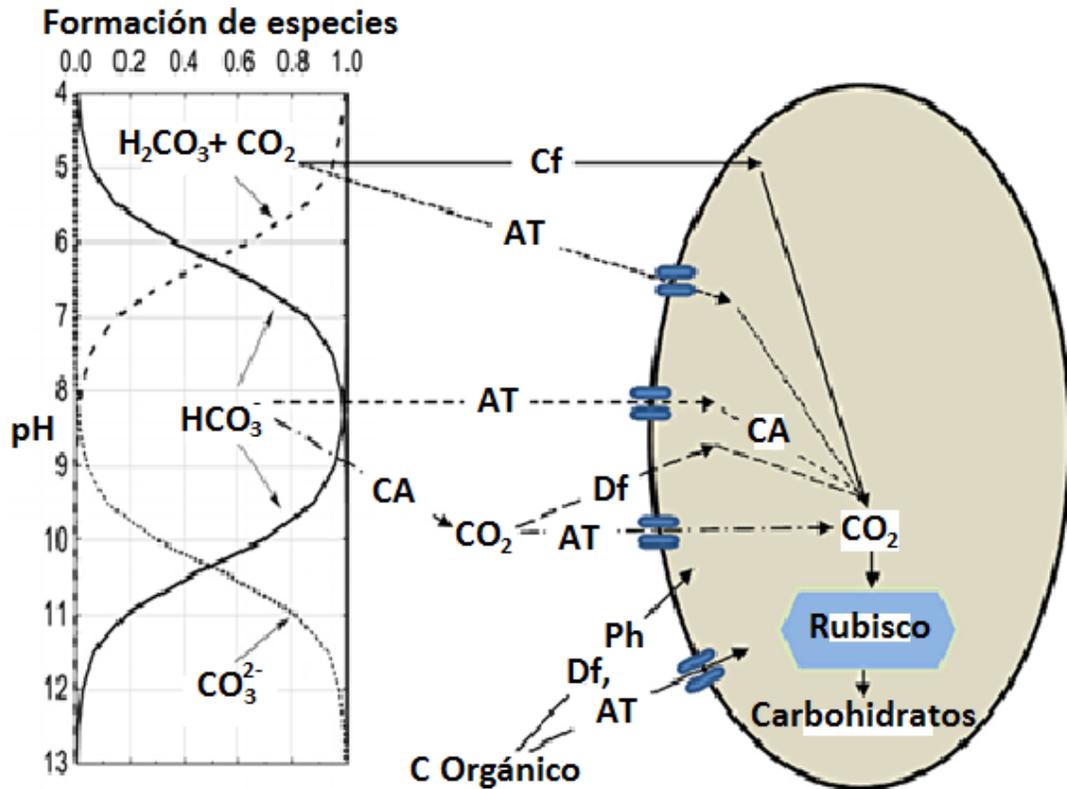


Figura 2.1. Consumo de carbono inorgánico

Df: Difusión, AT: Transporte activo, CA: Anhidrasa carbónica, Ph: Fosforilación. Tomada de (Markou et al., 2014)

El pH del medio de cultivo afecta el tipo de consumo de carbono (Fig. 2.1), dicha figura muestra la forma de carbono que emplean las microalgas a diferentes pH, ya que el transporte activo de carbono inorgánico es un proceso que gasta energía, se prefiere un transporte donde se emplee el menor gasto de energía como el transporte de difusión, sin embargo, en ambientes alcalinos la actividad de transporte activo extracelular es baja, y en ambientes marinos el uso de carbono

ocurre principalmente por el transporte activo de HCO_3^- o CO_2 que de difusión de CO_2 (Markou et al., 2014)

Sin embargo, se ha encontrado que las microalgas y cianobacterias excretan iones H^+ para regular su pH intracelular, entonces el H^+ excretado puede reaccionar con HCO_3^- para dar CO_2 , el cual puede ser consumido por difusión (Price et al., 2008).

La actividad fotosintética, y en particular la conversión intracelular y/o extracelular de bicarbonato a dióxido de carbono $\text{HCO}_3^- \xrightarrow{-\text{CA}-} \text{CO}_2 + \text{OH}^-$, produce OH^- , que causa gradualmente un aumento del pH del medio, que incluso puede alcanzar un valor de 11. En contraste, parece que el consumo pasivo de CO_2 no alcaliniza por sí mismo el medio debido a que no deja iones hidroxilo durante su utilización y fijación (Chi et al., 2011). Un aumento gradual del pH del medio puede afectar de manera negativa el crecimiento de las microalgas, ya sea por el ambiente alcalino por sí mismo o debido a la baja disponibilidad de carbono útil disponible, ya que el CO_3^{2-} se convierte gradualmente como la forma de carbono inorgánico disuelto (CID) dominante disponible, por lo tanto, el control de pH es una cuestión significativa para mantener el crecimiento microalgal. Una estrategia para controlar el aumento de pH, es acidificar el medio, ya sea suministrando CO_2 o el uso de ácidos orgánicos o inorgánicos (Grobbelaar, 2004).

2.1.2 Nitrógeno

El nitrógeno (N) es el elemento que generalmente limita el crecimiento del fitoplancton en muchas aguas costeras y océanos, es el segundo elemento más abundante en la biomasa microalgal, cuyo contenido va desde 1% hasta 14% (típicamente alrededor de 5-10%) de peso seco (Grobbelaar, 2004). El nitrógeno participa en los compuestos bioquímicos esenciales de biomasa, tales como los ácidos nucleicos (DNA, RNA), amino ácidos (proteínas) y pigmentos, como clorofilas y ficocianinas. El nitrógeno puede ser consumido en forma inorgánica de nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), óxido nítrico (NO), amonio (NH_4^+) y en algunos casos nitrógeno molecular (N_2), pero también en forma orgánica (aminoácidos, bases nitrogenadas

de nucleótidos y muchos otros compuestos orgánicos con N) (Perez-garcia et al., 2010).

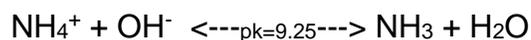
La mayor parte del nitrógeno natural disponible está en forma inorgánica, como amoníaco (NH_3), nitratos (NO_3^-) o N_2 . La mayoría de las bacterias son capaces de utilizar amoníaco (NH_3) como única fuente de nitrógeno, y otras muchas pueden ser nitratos (NO_x). El nitrato (NO_3^-) es la forma de nitrógeno mineral más utilizada comúnmente para el cultivo de microalgas y cianobacterias en medio sintético, aunque el nitrato se consume por mecanismos activos y por lo tanto consume energía (Grobbelaar, 2004).

El óxido nítrico (NO) puede ser considerado como una forma de nitrógeno interesante cuando se utilizan gases de combustión, sin embargo, el óxido nítrico tiene una muy baja solubilidad en el medio de cultivo, y se considera como el factor limitante de velocidad para suministrar NO a los cultivos microalgales (Jin et al., 2008). El óxido nítrico disuelto se oxida a nitrito (NO_2^-) o nitrato (NO_3^-) en la presencia de oxígeno disuelto, que pueden ser consumidos por las microalgas (Nagase et al., 1997). Sin embargo, debido a que el óxido nítrico es una molécula pequeña y no polar, esta se difunde directamente en las células y se oxida intracelularmente a nitrito/nitrato. Pero, aunque el nitrito puede ser consumido y utilizado como una fuente de nitrógeno, en altas concentraciones este tiene efectos tóxicos (Chen et al., 2012).

Se ha observado que una concentración de nitrito de 4 mM extiende la fase de latencia en los cultivos microalgales, mientras que una concentración de 8 mM causan la inhibición total del crecimiento microalgal (Yang et al., 2004).

2.1.2.1 Amonio/amoniaco

El amoníaco protonado (NH_4^+) es una molécula cuya solubilidad es alta (casi 35% p/p a 25 °C) (Markou et al., 2014). Cuando el amoníaco protonado se disuelve en agua, este reacciona con ella para formar un sistema búfer de amoníaco protonado/amoniaco:



El equilibrio de amoníaco protonado (NH_4^+) y amoníaco (NH_3) depende principalmente del pH (Fig. 2.1). En valores mayores que 9.25 ($=\text{pK}$ a 25°C) la especie dominante es el amoníaco (NH_3); aunque la temperatura también tiene un efecto significativo en el equilibrio de especies amonio/amoníaco (Markou et al., 2014).

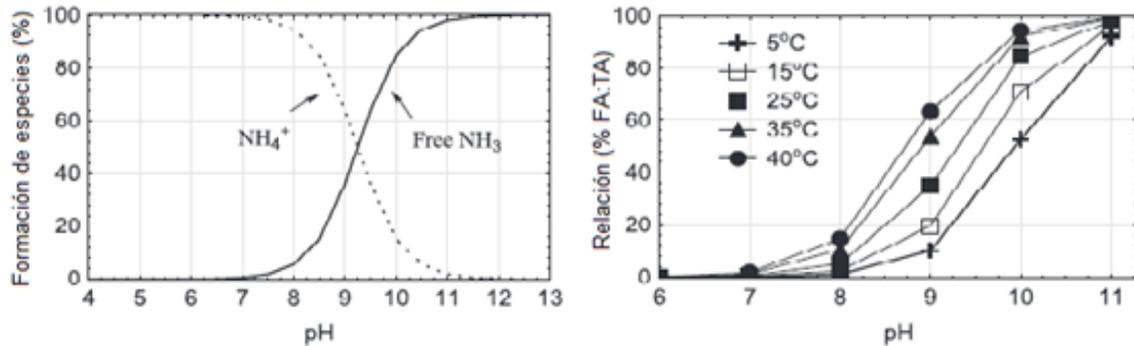


Figura 2.2. Efecto de pH y temperatura en la concentración de amoníaco libre y la relación de amoníaco libre (FA) con amoníaco total (TA).

Tomada de (Markou et al., 2014).

El amoníaco protonado/amoníaco es la fuente de nitrógeno preferida por las microalgas/cianobacterias debido por su consumo y asimilación emplea menos energía comparada a otras fuentes de nitrógeno (Perez-garcia et al., 2010). Aunque una limitación grave cuando se utiliza amoníaco protonado/amoníaco es la toxicidad potencial, ya que el amoníaco tiene efectos perjudiciales en las microalgas en relativamente bajas concentraciones (2 mM) (Abeliovich & Azov, 1976; Azov & Goldman, 1982). El principal factor que afecta la toxicidad es el pH del medio de cultivo, que determina si la forma tóxica del amoníaco es dominante o el amonio es el dominante. La toxicidad del amonio en agua puede ser debido a los efectos, tanto del amoníaco (NH_3) y el amoníaco protonado (NH_4^+). De hecho, se considera al amoníaco ser la forma más tóxica porque no tiene carga y es soluble en lípidos y se difunde fácilmente a través de las membranas. Ya que es un gas, es volátil y se puede perder a la atmósfera, especialmente en cultivos aireados activamente. En

contraste al amoníaco, la carga en la membrana obstaculiza el paso del ion amonio cargado (Yves Collos & Harrison, 2014).

No hay método químico que pueda medir estas dos formas por separado. Los métodos analíticos presentes miden tanto las formas que a menudo se denominan “amoníaco total” ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$). La concentración relativa de cada forma es fuertemente dependiente del pH y en menor medida de la temperatura, y la salinidad tiene solo una menor influencia (Spotte & Adams, 1983).

En general, el pH del agua de mar a 8.0 y 20°C, solo aproximadamente del 10% del amoníaco total está presente como la forma más tóxica, amoníaco. Conforme el pH aumenta, la concentración de amoníaco aumenta dramáticamente en un sistema cerrado. En la figura 2.3 se puede observar como la proporción de amoníaco aumenta en función del pH y la temperatura.

Para poder determinar la proporción de amoníaco en una muestra de agua, se dibuja una línea desde el eje x (pH) hasta la línea que está más cerca a la temperatura del agua de muestra, de este punto se dibuja una línea hasta interceptar con el eje vertical. El punto es un estimado del amoníaco en una muestra de agua, ahora se multiplica el porcentaje de amoníaco por la concentración total de amoníaco para estimar la concentración total de amoníaco. Tomar en cuenta que “amoníaco total” se refiere a la concentración de amoníaco protonado (NH_4^+) más la concentración de amoníaco (NH_3), ya que el amoníaco en agua es un sistema amoníaco protonado/amoníaco y las tecnologías para medir la concentración de amoníaco total es la suma de ambas formas. (Hargreaves & Tucker, 2004).

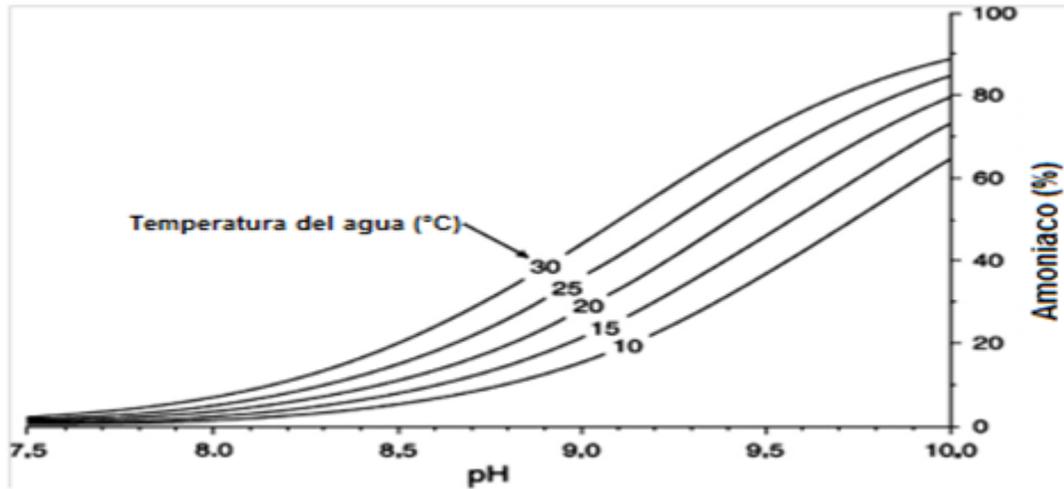


Figura 2.3. Cambio de amonio con respecto al pH y temperatura, expresado en porcentaje.

Tomada de (Hargreaves & Tucker, 2004)

La relación de amoníaco (NH_3) para el amoníaco protonado (NH_4^+) aumenta aproximadamente 10 veces para cada aumento de unidad en el pH y solo 2 veces por cada 10°C de aumento en la temperatura sobre el intervalo $0\text{-}30^\circ\text{C}$. Un aumento en la fuerza iónica de la disolución (por ejemplo, aumento en salinidad o dureza del agua en agua fresca) causa solo una muy pequeña disminución en el $\%\text{NH}_3$. Por ejemplo, el aumento de 20 a >34 causa pequeña disminución de 3.41 a 2.98 de $\%\text{NH}_3$.

La constante de disociación (pK_a) de reacción de amoníaco protonado/amoníaco es de aproximadamente 9.3 dependiendo de la salinidad, temperatura, etc. La toxicidad del amoníaco casi se atribuye únicamente al NH_3 en $\text{pHs} \approx 9$ y en $\text{pH} < 8$. Durante el crecimiento de las microalgas en el amonio, el pH disminuye debido a la liberación de iones H^+ al medio. En contraste el crecimiento en nitrato causa un aumento en el pH debido a la liberación de iones OH^- (Collos & Harrison, 2014).

2.1.2.2 Efecto del amoniaco protonado en la velocidad de crecimiento de las microalgas

Regularmente se utilizan tres categorías de concentraciones de amoniaco protonado; optimo, inhibitorio, y tóxico para diferentes estudios sobre el crecimiento de microorganismos. Las concentraciones “óptimas” son aquellas que conducen al crecimiento máximo de microalgas y se determinan experimentalmente midiendo las velocidades de crecimiento sobre un intervalo de concentraciones de amoniaco protonado (Collos & Harrison, 2014). Se ha observado frecuentemente que hay una fase de retraso en el crecimiento que aumenta conforme la concentración inicial de amoniaco protonado aumenta en los cultivos batch (Nagasoie et al., 2010) sin afectar la velocidad de crecimiento que se alcanza después del periodo de aclimatación. Las concentraciones inhibitorias reducen significativamente la velocidad de crecimiento comparada a las concentraciones optimas y se representaron por EC₅₀ (la concentración efectiva en donde la velocidad de crecimiento se reduce por 50% aproximadamente), mientras que la concentración tóxica es la concentración en la cual no se observa crecimiento (Collos & Harrison, 2014). Se establece un ranking de seis clases de microalgas en terminos de sus tolerancias a altos niveles de amonio que es como sigue:

Chlorophyceae > Cyanophyceae > Diatomophyceae > Raphidophyceae > Prymnesiophyceae > Dinophyceae (Collos & Harrison, 2014).

2.1.2.3 Transporte celular de amoniaco protonado y energetico

La molecula de amoniaco protonado y el amoniaco no disociado es soluble en lípidos y por lo tanto entra facilmente a través de la membrana y las altas concentraciones intracelulares pueden despolarizar la membrana y posiblemente inhibir el transporte de aniones y afectar el metabolismo de las celulas. Pero, por el

otro lado las membranas son relativamente impermeables al amoniaco protonado (Collos & Harrison, 2014).

Desde un punto de vista energetico, el amoniaco protonado debería mejorar el crecimiento en relación al nitrato, especialmente en luz baja ($\approx 29 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$). Sin embargo, pese a las expectativas se ha mostrado que la mayor velocidad de crecimiento solo ocurre en luz alta donde la energía no es limitante (Thompson et al., 1989). Aunque algunos autores han afirmado que es posible que el costo metabólico inferior previsto del amoniaco protonado comparado al nitrato en terminos de la asimilación de solo nitrógeno se compensa por los mayores costos en terminos de la reparación del sistema fotosintético II fotodañado y los procesos como la detoxificación de radicales de oxígeno (Bendixen et al., 2001).

2.1.2.4 Efectos de inhibición del amonio

El amoniaco protonado parece ser la fuente de N ideal ya que su estado de oxidación elimina la necesidad para su reducción en la célula y por lo tanto se puede utilizar inmediatamente para la síntesis de aminoácidos. Sin embargo, si la concentración de amonio es demasiado alta, este puede ser tóxico y resultar en crecimiento reducido, por ejemplo para *Chlorella vulgaris* AA y A23 se reportó un EC_{50} de 3.57 mg/L y 9.554 mg/L respectivamente a un pH de 7 (Collos & Harrison, 2014).

2.1.2.5 Efectos directos del amoniaco protonado

El efecto más espectacular de mucho amoniaco protonado es la lisis celular donde las microalgas explotan inmediatamente por ejemplo con valores de 26.75 a 53.5 mg/L de NH_4Cl (Nagasoe et al., 2010).

De algunos estudios hechos hace algunos años, se han visto grandes aumentos en la respiración sobre la adición de amoniaco protonado a las células

hambrientas de nitrógeno, y el oxígeno absorbido se correlacionó con el consumo de amoníaco protonado (Syrett & Morris, 1962; Hattori, 1958).

En la luz, las adiciones de amoníaco protonado para cultivos hambrientos o limitados de amoníaco protonado frecuentemente llevan a una supresión fotosintéticamente transitoria por unas cuantas horas dichas supresiones se observaron generalmente en escalas de tiempo de 15 min a 6 horas y esto es seguido luego por una estimulación de fijación de carbono (Collos & Harrison, 2014).

De los altos niveles de amoníaco protonado suministrado a las microalgas, queda amoníaco protonado libre interno que no se consumió, por lo tanto este amonio libre es considerado como una fuente de estrés (Giordano et al., 2003), esto conlleva a un disturbio del pH intracelular, pero dicho disturbio apunta a un fotodaño del fotosistema II debido a la unión de amoníaco al complejo Mn (Drath et al., 2008).

2.1.2.6 Efectos indirectos

Las causas de los cambios de pH en medios de cultivo durante el crecimiento microalgal son un tanto complejos y pueden ser posiblemente debido al consumo de CO_2/HCO_3 (Carvalho et al., 2004).

Las causas para la toxicidad de amoníaco protonado incluyen, extrusión de protón, desplazamiento de la perturbación de pH citosólico de cationes cruciales, y desplazamiento en estatus de carbohidratos. Debido a eso, la alta concentración de amoníaco protonado, que resulta tóxica para las microalgas, se bombea de las células causando un alto costo energético (por ejemplo, un 40% en aumento en la respiración de raíz) el cual puede ser responsable para la reducción del crecimiento (Collos & Harrison, 2014).

Se ha encontrado que el amoníaco tiene una concentración efectiva (EC_{50}) de 2.4 μM (0.034 mg/L), mientras que para el amoníaco protonado el EC_{50} es de aproximadamente 224 μM (4.032 mg/L) en las microalgas (clorofita *Nephroselmis pyriformis*), del que dicho estudio se concluye que hay un efecto conjunto de toxicidad (por ejemplo tanto amoníaco protonado y amoníaco), aunque el amoníaco

protonado es menos tóxico, posiblemente porque el transporte de este ion a través de la membrana está restringido, comparado a la entrada pasiva de la molécula de amoníaco no cargada (Källqvist & Svenson, 2003) como se muestra en la Fig. 2.4.

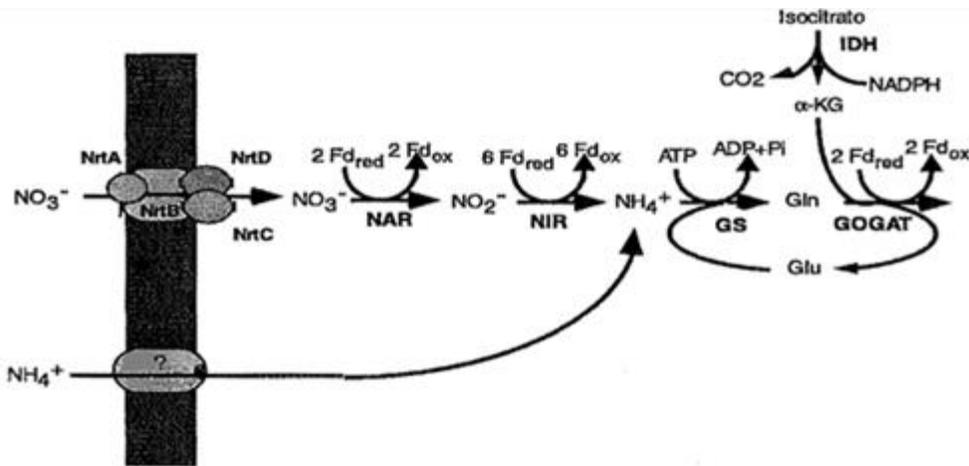


Figura 2.4. Vías de asimilación de nitrato y amoníaco protonado de las cianobacterias.

Tomada de (Flores, 1999).

2.1.2.7 Remoción de amoníaco en estanques de tratamiento de agua residual

Una microalga, que es particularmente tolerante al amoníaco protonado es *Chlorella vulgaris* y por lo tanto tiene un rol potencial en la remoción de amoníaco protonado del efluente de agua residual ya que crece en concentraciones que van hasta 20,000 μM (Kim et al., 2012).

Se ha observado que cuando el pH se eleva a pH 9.5 a 25 °C, 2000-3000 μM de amoníaco total llevan a un 50-90% de reducción en la fotosíntesis. En temperaturas mayores de 25°C, solo se requiere un tercio del amoníaco total para producir el mismo amoníaco libre como en 10°C y 15 veces menos amoníaco total se requiere en pH 10 o como en pH 8 (Azov & Goldman, 1982).

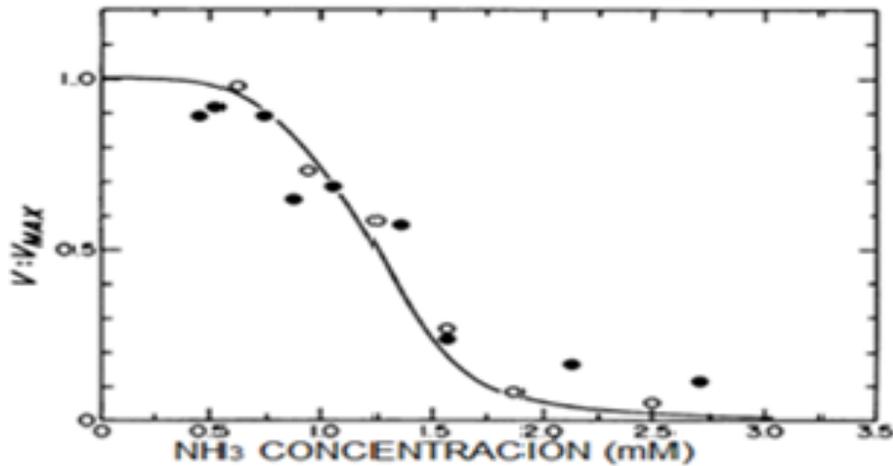


Figura 2.5. Efecto del NH₃ libre en relación con las velocidades de crecimiento ($V:V_{\text{máx}}$). Curva sólida es la inhibición para *S. obliquus* y los símbolos: c. negro: *P. tricornotum*; c. blanco: *D. tertiolecta*. (Azov & Goldman, 1982).

Cuando se utilizan sistemas microalgales para el tratamiento de agua residual y la fuente de N no se puede regular, es necesario el control de pH para evitar la toxicidad de amoníaco en las microalgas (Azov & Goldman, 1982). Las figuras 2.3 y 2.6 lo muestran. En la figura 2.6 se observa el efecto del pH de cultivo en la concentración de ($\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$) que se requiere para inhibir fotosíntesis de microalgas crecidas a 25°C a 10%, 50% y 90% de inhibición como se determinó por NH₃ libre requerido para causar los niveles de toxicidad antes mencionados.

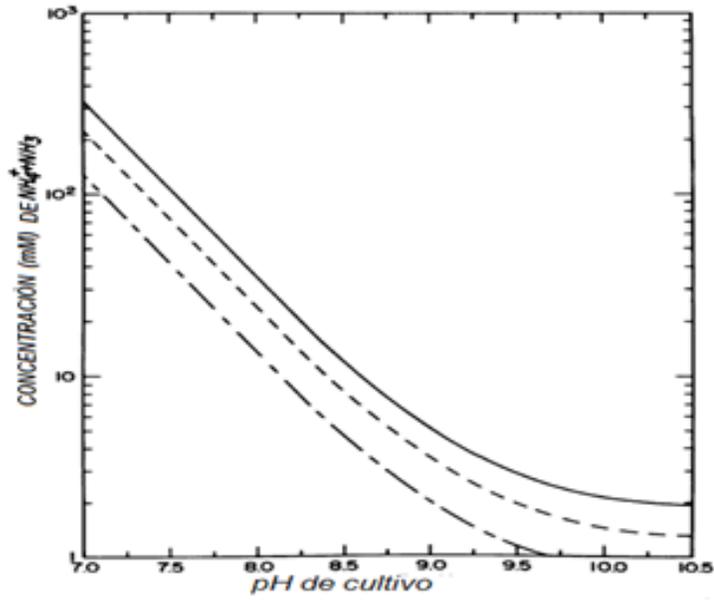


Figura 2.6. Efecto del pH de cultivo en la concentración de $(\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3)$ por nivel de 10% (curva rota), 50% (curva discontinua), y 90% (línea sólida). Tomada de (Azov & Goldman, 1982).

CAPÍTULO 3 FOTOBIORREACTORES

Los organismos fotosintéticos (bacterias fotosintéticas, cianobacterias y microalgas rojas, verdes o marrones) pueden transformar el CO_2 en macromoléculas constitutivas de la biomasa, mediante la utilización de una fuente de energía luminosa y un compuesto donador de electrones (H_2O , H_2S , compuestos orgánicos sencillos). Un fotobiorreactor se define como un recipiente cerrado para la producción fototrófica, donde la energía se suministra por medio de luces eléctricas (Anderson, 2005). El diseño de un fotobiorreactor debe utilizar la luz eficientemente; la iluminación debe ser uniforme, reducir el sombreado mutuo y debe proporcionar una rápida transferencia de masa de CO_2 y O_2 . Un Fotobiorreactor consta de un sistema de cuatro fases: fase sólida (células microalgales), fase líquida (medio de crecimiento), fase gaseosa (CO_2 y O_2) y el campo de radiación de luz impuesto (Posten, 2009).

Los fotobiorreactores se pueden agrupar en tres grandes grupos en función de su aplicación:

- Producción de biomasa para consumo en acuicultura como suplemento para la alimentación humana o animal y como aditivo alimentario (fuente de proteínas).
- Producción de metabolitos de alto valor añadido: pigmentos, antioxidantes, ácidos grasos, moléculas de interés farmacéutico y de polisacáridos.
- Aplicaciones medioambientales: depuración (eliminación de metales pesados, fijación de CO_2 , etc.), inóculos para el suelo, producción de biomasa, regeneración de la atmosfera en sistemas cerrados, etc.

Los fotobiorreactores deben reunir unas condiciones adecuadas para favorecer la actividad de los microorganismos fotosintéticos. La velocidad de crecimiento de estos microorganismos, depende de la eficacia del sistema de

iluminación utilizado (solar, lámparas halógenas o fluorescentes, etc.). Se puede emplear la luz solar directamente, se tratará entonces de reactores exteriores solares abiertos (balsas, canales, películas sobre planos inclinados, etc.) o cerrados (reactores tubulares o rectangulares). Por otro lado, se puede aplicar la luz artificial producida por lámparas, y se denominarán entonces, fotobiorreactores artificiales (Casablanca & Santín, 1998).

El funcionamiento de un fotobiorreactor depende, para una determinada cepa de microorganismos, de la velocidad volumétrica, máxima absorción de la luz en el reactor, por lo que deberán proveerse de una elevada superficie específica para la transferencia de energía luminosa y una intensidad luminosa incidente no limitante. Por otro lado, la concentración de biomasa debe ser lo suficientemente elevada para absorber la totalidad de la radiación luminosa transferida al seno del biorreactor para evitar problemas de saturación y foto-inhibición que reducirán el rendimiento del sistema.

Los reactores artificiales permiten un buen control de las condiciones de operación y de la calidad del producto obtenido, pueden ser esterilizados (se pueden emplear cepas puras), presentan productividades de 2 a 4 veces superiores que los reactores exteriores y pueden ser iluminados en continuo, aunque su gasto energético es mucho más elevado (Casablanca & Santín, 1998).

Uno de los objetivos de cualquier fotobiorreactor es reducir los costos de producción de la biomasa. Aunque los fotobiorreactores son ampliamente usados y tienen varias ventajas, todavía existen algunos inconvenientes principales que no los hacen económicos para productos terminales de bajo costo. En volúmenes operacionales mayores a los 100 L, hay una difusión limitada de luz, lo cual resulta en el crecimiento ineficiente de las microalgas (Gupta & Choi, 2015). Una preocupación importante es el desarrollo de bio-películas microalgales en la superficie del Fotobiorreactor (FBR), por lo tanto limita la penetración de luz. En adición, la inversión inicial, operacional y el costo de mantenimiento del FBR es alto, el cual eventualmente aumenta el costo de producción de biomasa. Por lo tanto, hay una necesidad de superar estos desafíos y desarrollar FBRs factibles para la generación de biomasa microalgal de bajo costo (Gupta & Choi, 2015).

Por lo tanto, con la finalidad de diseñar un FBR eficiente, se requiere un entendimiento de la interacción compleja entre la producción de la biomasa y los parámetros ambientales asociados (por ejemplo, dinámica de fluidos y transferencia de luz) además del suministro de sustratos y/o nutrientes. Con base en la forma de la superficie iluminada, los FBRs se categorizan como de placa plana, tubular, y de columna. Con base en sus modos de flujo líquido, los FBRs pueden ser agrupados como de tipo agitado, columna de burbujas y reactores de transporte aéreo. Los Fotobiorreactores ideales deberían tener mayor superficie transparente, mínimas partes no iluminadas, altas velocidades de transferencia y deben alcanzar alto crecimiento de biomasa (Gupta & Choi, 2015).

3.1 Tipos de fotobiorreactores

A continuación se explica brevemente las características de algunos fotobiorreactores, sus ventajas y desventajas con la siguiente tabla:

Tabla 3.1. Características de los diferentes tipos de fotobiorreactores

Sistema de cultivo	Características	Ventajas	Desventajas
Estanques abiertos	La idea se deriva del uso de lagunas artificiales y los estanques de oxidación en los tratamientos de agua residual	Con diseño simple y flexible, además son económicos, son buenos para el cultivo de masa. Tienen alta relación superficie-volumen.	Baja productividad de biomasa, control casi nulo sobre las condiciones de cultivo, son susceptibles a contaminación, ocupan gran espacio de tierra, pérdida de CO ₂ y agua debido a evaporación, la agitación mecánica requiere energía extra, encareciendo el proceso.
FBRs de tanque agitado	Es el biorreactor aireado convencional dónde la mezcla se logra por agitación mecánica, su principal componente es el agitador que realiza funciones como la transferencia de masa, aireación, y mezcla para homogenización (Fig. 3.1).	Buena transferencia de calor y masa, buena dispersión de la luz, bajos problemas de contaminación, son de diseño simple, productividad moderada de biomasa	Baja relación superficie-volumen, puede presentar problemas de calentamiento por la agitación, y por tanto, dicha agitación requiere energía extra, generando costos adicionales. Baja relación superficie-volumen.
FBRs tubulares verticales	Son los más adecuados para el cultivo de masa exterior, porque tienen gran área superficial, estos además pueden ser agrupados en FBRs de columna de burbujas y de puente aéreo. Ver Fig. 3.3.	Alta transferencia de masa, no hay estructura interna, carencia de partes de movimiento, buen mezclado con bajo esfuerzo de corte, son de baja fotoinhibición.	Tienen baja área superficial para iluminación, requieren material costoso para construcción, escala limitada debido a restricciones de diseño, presentan problemas por efecto de sombreado, tienen baja relación superficie-volumen.

(Continuación)

FBRs tubulares horizontales	Se constituye de tubos dispuestos en múltiples orientaciones, que trabajan en la misma manera, dichos tubos no tienen diámetros tan grandes (10-60 mm) para lograr alta relación superficie-volumen. Ver Fig. 3.3.	Alta relación superficie-volumen, bajo estrés hidrodinámico, adecuados para el cultivo al aire libre, buena productividad de biomasa, resultan económicos, bajo efecto de sombreado mutuo, tienen alta relación superficie-volumen.	Oxígeno disuelto acumulado, son susceptibles a la fotoinhibición, ensuciamiento debido al crecimiento microalgal, gran necesidad de espacio, pobre regulación de temperatura.
FBRs de panel plano	Es un marco cubierto por una placa transparente, tienen alta relación de superficie-volumen, y reducen la profundidad de penetración de la luz a través de la superficie de cultivo. Ver Fig. 3.4.	Alta relación superficie-volumen, poca necesidad de espacio, alta eficiencia fotosintética, baratos, baja acumulación de oxígeno	Poca profundidad de penetración de la luz, no son escalables, requieren de muchos componentes, problemas de ensuciamiento frecuente y de limpieza, pobre regulación de temperatura.

Tomada de (Gupta & Choi, 2015).

ALGUNOS TIPOS DE FOTOBIOREACTORES RESPECTO A LA TABLA

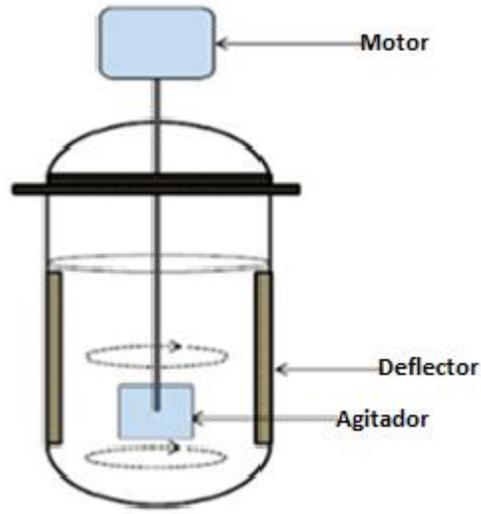


Figura 3.1. Esquema de un fotobiorreactor de tanque agitado.

Tomada de (Gupta & Choi, 2015)

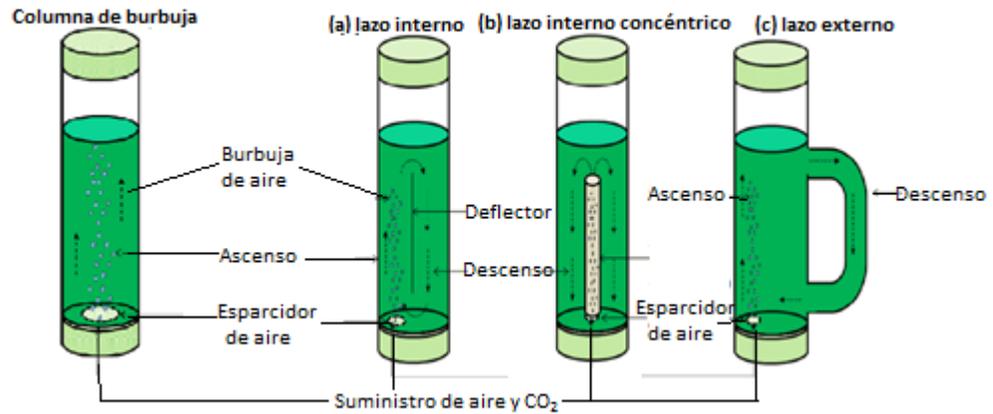


Figura 3.2. Esquema de un fotobiorreactor de columna de burbuja y de puente aéreo

(a, b y c). Tomada de (Gupta & Choi, 2015)

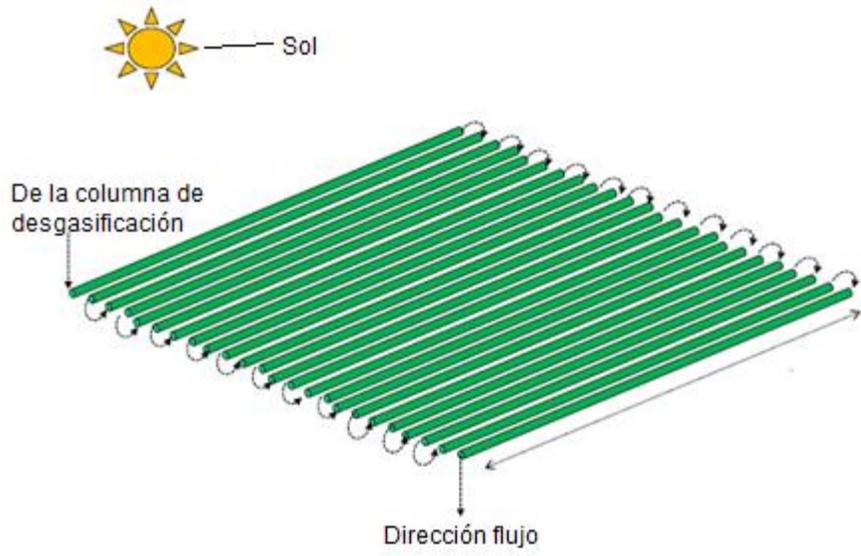


Figura 3.3. Esquema de un fotobiorreactor tubular horizontal.
Tomada de (Gupta & Choi, 2015).

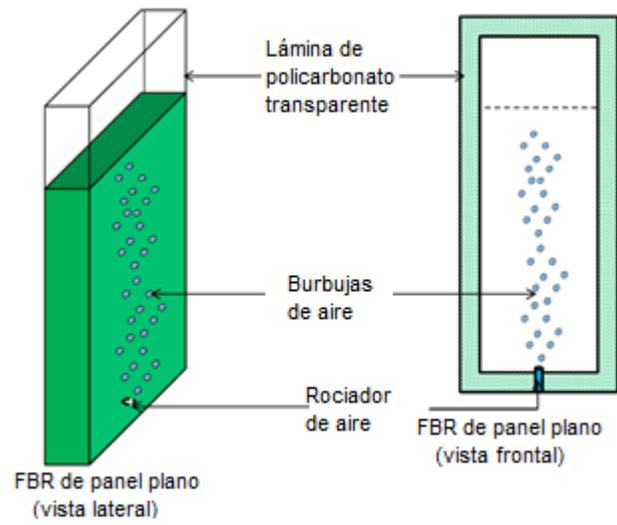


Figura 3.4. Esquema de un fotobiorreactor de panel plano.
Tomada de (Gupta & Choi, 2015)

3.2 Consideraciones en los Fotobiorreactores

3.2.1 Utilización de la luz

El empleo de la luz es un factor crítico que afecta la productividad de los cultivos de microalgas. En general, cultivos menos profundos y más ligeros pueden alcanzar mayor densidad celular y, últimamente, mayor productividad ya que los efectos de auto-sombreado se minimizan. Sin embargo, en cultivos densos, se reduce el uso de la luz debido al efecto de sombreado (Gupta et al., 2015).

Para aprovechar de manera efectiva la luz en los fotobiorreactores se puede emplear material transparente y transmitir la luz por medio de fibras ópticas, y usar lámparas LED. Otro objetivo de los fotobiorreactores es lograr eficiencias fotosintéticas máximas que estén cercanas a los valores teóricos, para que de este modo se logren mayores concentraciones de biomasa con el mínimo de energía y bajos costos de inversión (Gupta et al., 2015).

En los fotobiorreactores de tubos que se utilizan actualmente, se aplican diámetros menores a 4 cm, ya que los diámetros de tubos estrechos aparte de mejorar la eficiencia del empleo de la luz, también proporcionan mayor mezclado, el cual mejora el crecimiento (Gupta et al., 2015).

3.2.2 Mezclado

El mezclado y la suspensión de cultivo es esencial en el diseño de fotobiorreactores, porque el este mantiene las células de las algas en suspensión, elimina la estratificación térmica (estratificación de las masas de agua en función de su temperatura), permite la mejor distribución de los nutrientes, y mejora la transferencia de masa gas-líquido para prevenir la acumulación de O₂ (Gupta et al., 2015).

Otra de las funciones importantes del mezclado es que transfiere las células de las algas entre las zonas de luz cerca a las superficies de iluminación y las regiones interiores oscuras, resultando en ciclos de luz/oscuridad periódicos de mezclado inducido, el cual es benéfico para el crecimiento de las algas (Zebib T., 2008).

Pero también hay que tener en cuenta que el mezclado en exceso puede dañar las células de las microalgas, para esto el impulsor y los deflectores determinan la efectividad de mezclado, y la transferencia de O_2 en los fotobiorreactores agitados. Mientras que en los fotobiorreactores accionados por aire, el rociador juega un papel directo en lograr mezclado y transferencia de O_2 . Las columnas de burbujas y los sistemas de transporte aéreo tienen mezclados moderados, con bajo esfuerzo de corte, mientras que el rociador y los deflectores son difíciles de limpiar y reparar porque los deflectores están conectados directamente con la pared del reactor y las fibras huecas presentes en el rociador poseen un alto riesgo de contaminación biológica. La circulación es otra manera de asegurar el buen mezclado, por ejemplo aplicando aparatos de circulación como bombas peristálticas, o bombas accionadas por motores (Gupta et al., 2015).

CAPÍTULO 4 VINAZAS

En las industrias de producción de etanol también se generan grandes cantidades de residuos, mayormente conocidos como vinazas, jarabes de vinote o melazas. En una columna de destilación ideal, la producción superior será principalmente etanol y el agua de vinaza será el principal producto inferior (España-Gamboa et al., 2011).

Las características de las vinazas dependen principalmente de la materia prima utilizada para la producción de bio-etanol. El maíz, cebada y trigo tienen una alta proporción de sólidos insolubles, los cuales se separan por centrifugación y se mezclan con jarabe obtenido de los sólidos solubles. Las vinazas con altas concentraciones de sólidos solubles se pueden obtener cuando se utilizan la caña de azúcar, la remolacha azucarera, uva, agaves o sorgo dulce. De estos insumos, se puede obtener de 9 a 14 L de agua residual por litro de alcohol; estas aguas residuales son ácidas, su pH 3.5-5, tienen un color marrón oscuro y además presentan un alto contenido orgánico con valores de la demanda química de oxígeno (DQO) de 50-150 g/L (España-Gamboa et al., 2011).

Aunque las vinazas pueden ser utilizadas como fertilizante debido a su contenido de nutrientes, principalmente calcio y potasio y su alto contenido de material orgánico, su disposición directa en el ambiente puede contaminar el suelo y las aguas subterráneas debido, como ya se mencionó a su alto contenido orgánico y sólidos disueltos, los cuales son tóxicos (España-Gamboa et al., 2011).

El alto contenido orgánico puede causar problemas en el agua subterránea por medio de un aumento en el suministro de nutrientes. El enriquecimiento de nutrientes, o eutrofización conlleva a cambios altamente indeseables en la estructura y función del ecosistemas (España-Gamboa et al., 2011). Una pequeña fracción excedente de nitrógeno agrícola total requerido a la tierra puede: 1) acumularse en los suelos; 2) moverse de la tierra a las superficies de agua; 3) migrar dentro de las aguas subterráneas; 4) entrar a la atmosfera por medio de

volatilización de amoníaco y la producción de óxido nitroso (Carpenter et al., 1998; España-Gamboa et al., 2011).

Además, hay que tomar en cuenta que la quema de los combustibles fósiles causa una emisión adicional mayor a 20 millones de toneladas de N en la atmosfera, una fracción significativa en la cual regresa subsecuentemente a la tierra y superficie del océano por medio de deposición húmeda y seca. La deposición atmosférica de N puede tener fuertes efectos en la estructura y función de tanto los ecosistemas marinos como los terrestres. Es por esto que es necesario que haya un tratamiento previo a la disposición final en los residuos. Hasta la fecha, hay muchas propuestas para los tratamientos biológicos y físicos-químicos para las vinazas, en los cuales las sustancias tóxicas contaminantes se reducen por medio de la degradación de sustancias tóxicas orgánicas y su transformación en residuos biodegradables. Los tratamientos físicos-químicos utilizan por lo general muchas reacciones para oxidar los contaminantes orgánicos, mientras que los tratamientos biológicos se conocen por ser métodos efectivos para el tratamiento de diferentes tipos de aguas residuales industriales altamente contaminadas. Los tratamientos se pueden clasificar en sistemas anaerobios y aerobios (España-Gamboa et al., 2011).

4.1 Caracterización de la vinaza

El etanol se puede producir de cuatro materias primas principalmente: carbohidratos fermentables ($(C_6H_{12}O_6)_n$), almidones ($(C_6H_{10}O_5)_n$), celulosa ($C_6H_{10}O_5$) e inulina ($C_{6n}H_{10n+2}O_{5n+1}$). La sacarosa es la más común ya que los azúcares se encuentran en forma simple de carbohidratos fermentables, los cuales se encuentran en cultivos como caña de azúcar, remolacha de azúcar, uva, y sorgo dulce (España-Gamboa et al., 2011).

La tabla 4.1 da una clasificación de los tipos de vinazas, así como también una breve descripción en cuanto a su composición y características de las mismas.

Tabla 4.1. Tipos de vinazas

Tipo de vinaza	Características	Composición y rendimiento de vinazas
Vinaza de caña de azúcar	<p>Las melazas de caña de azúcar son un producto de concentración de jugo y precipitación de azúcar y algunas impurezas sin azúcar separadas por reactivos químicos como azufre o cal, debido al proceso de cristalización estas vinazas tienen altas concentraciones de potasio, fosfatos, sulfatos, calcio, hierro, sodio, cloruros, fuente de carbono y otros elementos traza distintos al jugo de caña de azúcar.</p> <p>$N_T = 102-628 \text{ mg/L}$, $P_T = 71-130 \text{ mg/L}$, $K = 1733-1952 \text{ mg/L}$, $S_T=1356\text{mg/L}$, $pH = 4.04-4.6$</p>	<p>Las vinazas de jugo de caña tienen concentraciones menores de materia orgánica 19.5 g/L, 0.13-1.54 g/L CaO, y 0.20-0.49 g/L de MgO, que las vinazas obtenidas de las melazas. El nitrógeno en las vinazas viene de la biomasa microbial y también depende del origen de melazas, ya que las vinazas de caña se componen de melazas y las vinazas del jugo de caña de azúcar.</p> <p>Componentes de melazas:</p> <p>$N_T = 153-1230 \text{ mg/L}$, $P_T = 1-190 \text{ mg/L}$, $K = 4893-11000 \text{ mg/L}$, $S_T= 1500-3480 \text{ mg/L}$, $pH = 4.46-4.8$</p>
De remolacha de azúcar	<p>Utilizadas para la producción de sacarosa, y también para producir etanol, los extractos contienen alta concentración de betaína ($C_5H_{11}NO_2$), que es rica en nitrógeno.</p>	<p>Tienen altas concentraciones de nitrógeno y menores relaciones carbono-nitrógeno; el nitrógeno orgánico es aproximadamente del 40% del contenido de nitrógeno total.</p> <p>$N_T = 1800-4750 \text{ mg/L}$, $P_T = 160-163 \text{ mg/L}$, $K = 10000-10030 \text{ mg/L}$, $S_T= 3500-3720 \text{ mg/L}$, $pH = 4.3-5.35$.</p>

(Continuación)

<p>Vinazas de uva (vino)</p>	<p>Esta vinaza es un caldo con alto contenido de azúcar y sus pasos de fermentación y clarificación en los procesos de fabricación de vino producen vinazas con alto contenido de materia orgánica, sin embargo tienen bajo contenido de nitrógeno total comparado a otras vinazas, pero sus niveles de potasio son altos por las sales tartáricas por la difusión acida.</p>	<p>N_T = 104.9-650 mg/L, P_T = 65-118.4 mg/L, K = 118-800 mg/L, S_T= 120 mg/L, pH = 3-4.2</p>
<p>Vinazas de agave</p>	<p>Se compone de sustancias no volátiles, tienen menos cantidad de fosfato y potasio que las vinazas de caña de azúcar, lo que las hace fácil de biodegradar ya que las altas cantidades de potasio inhiben la actividad microbiana anaerobia.</p>	<p>N_T= no, P_T= 41 mg/L, K= 240-345 mg/L, S_T= 780-880 mg/L, pH=3.4</p>
<p>Vinazas de sorgo dulce</p>	<p>Contiene dos tipos de carbohidratos: azúcares y almidón, pero los azúcares del jugo del vástago son la principal fuente para el bioetanol, por 1 L de etanol se producen 16 L de vinazas</p>	<p>N_T= 800 mg/L, P_T= 1990 mg/L, K =no, S_T= no, pH= 4.5.</p>
<p>Vinazas de maíz</p>	<p>Las fracciones sólidas y líquidas sobrantes de la destilación que contiene fibra, aceite y componentes de proteína de grano, antes de vender el producto se procesa en destilado ligero, cuya fracción de ~15-30% se recircula con sólidos restantes llamados granos destilados solubles húmedos (DWGS), cuya humedad de 10-12% se elimina para obtener granos destilados solubles secos (DDGS).</p>	<p>K = no, P = 3100 (mg/L), N_T = 12000. La mayoría del nitrógeno se puede encontrar como aminoácidos y péptidos en lugar de proteínas, así como trazas de aminoácidos y contiene también altos niveles de alanina y prolina.</p>
<p>Vinazas de cebada</p>	<p>Tienen alto contenido de nitrógeno, probablemente por el alto contenido de proteína (≈241 g/Kg) cuyo nivel es suficiente para producir niveles inhibitorios de amoníaco en efluentes. Al igual que las vinazas de trigo, estas se someten a proceso como las vinazas de maíz para obtener vinazas delgadas y DDGS (granos destilados solubles secos).</p>	<p>Vinazas delgadas (g/Kg peso fresco): almidón= 13, proteína cruda= 308, proteína soluble = 174. DDGS (g/Kg peso fresco): almidón= 6, proteína cruda= 201, proteína soluble = 36. Otros compuestos encontrados son pentosas, beta-glucanos, cenizas, así como glicerol y ácidos orgánicos</p>

(Continuación)

Vinazas de trigo	Los granos de destilación de trigo contienen menos del 2% de almidón y contenidos de fibra y proteína son mayores que los de vinazas de maíz.	N _T =4090-8800 mg/L, vinazas finas (g/Kg de peso fresco), almidón= 30, proteína cruda= 366, proteína soluble= 237. DDGS (g/Kg peso fresco), almidón= 24, proteínas solubles=275 proteínas solubles=40 (España-Gamboa et al., 2011).
Vinazas de celulosa	Sus fuentes más importantes son biomasa de madera y herbácea que consisten de una mezcla de polímeros carbohidratos (celulosa y hemicelulosa, C ₆ H ₁₀ O ₅), lignina, extraíbles y cenizas. Los compuestos extraíbles. Son las vinazas más oscuras debido a la presencia de compuestos fenólicos liberados durante la degradación de lignina y melanoidinas, azúcar sobre calentada, más furfural (C ₅ H ₄ O ₂).	Contienen mayor nivel de metales pesados que las vinazas de azúcar o almidón, debido al proceso de hidrólisis ácida aplicado y presencia de inhibidores inusuales, como los compuestos fenólicos y extraíbles, dichos compuestos extraíbles son terpenos y esteroides (C ₅ H ₈), grasas, constituyentes fenólicos y compuestos inorgánicos.

Tomada de (España-Gamboa et al., 2011)

4.2 Tratamientos sólidos solubles de las vinazas

Algunos de los principales problemas de las vinazas se refieren al color de las aguas residuales, que tienen usualmente un color tipo marrón oscuro, esto se debe principalmente por la presencia de compuestos de fenol, tales como ácido tánico, ácido húmico, melanoidinas de la reacción de Maillard de los azúcares (carbohidratos) con proteínas del grupo amino, caramelos de azúcares sobrecalentados y furfurales de la hidrólisis ácida (España-Gamboa et al., 2011).

Desde los años 70s los sólidos solubles presentes en las vinazas se han dispuesto directamente en el suelo y aguas subterráneas porque poseen ciertos valores como los fertilizantes. Sin embargo su alta carga orgánica, la putrefacción generada, olores desagradables generados y los contaminantes son los problemas principales que surgen de esta práctica. Por eso se ha indicado que la disposición directa en el suelo contamina la tierra y el agua subterránea (España-Gamboa et al., 2011).

Debido a esto, se han utilizado o tomado en cuenta diferentes tecnologías para reducir los contaminantes de las vinazas. Primero se probaron los tratamientos anaeróbicos como el primer paso en el tratamiento, ya que han resultado ser más efectivos en reducir sus compuestos contaminantes (España-Gamboa et al., 2011; Mohana et al., 2009). Mientras que se han probado tratamientos aerobios y métodos físicos-químicos tales como adsorción, coagulación-floculación, ozonización, oxidación electroquímica, y electrocoagulación que son adecuados como pre-tratamientos y post-tratamientos de refinación del color y el contenido de la materia orgánica (España-Gamboa et al., 2011) y a continuación se detallan.

4.3 Tratamientos físicos-químicos

4.3.1 Adsorción

Consiste en interacciones químicas entre el soluto y los grupos químicos en la superficie del carbón activado, que involucra interacciones electrostáticas, fuerzas de Van der Waals, enlaces de hidrógeno, intercambio de ligadura e interacciones hidrofóbicas, el tratamiento es costoso (España-Gamboa et al., 2011).

4.3.2 Coagulación-floculación

El tratamiento necesita la adición de sales de aluminio o hierro que producen un precipitado floculante que facilita la separación de los materiales suspendidos en el efluente. Un aumento en el floculante provoca un aumento en la turbidez y en el contenido de carbono orgánico total. Cuando se utiliza un floculante inorgánico comercial que comprende un polímero de hidroxisulfato de hierro para el tratamiento de vinazas diluidas que puede ser un reactivo de Fenton que involucra una reacción homogénea aceptable ambientalmente (una mezcla de peróxido de hidrógeno y sales de hierro; Fe^{2+} o Fe^{3+}), la cual produce radicales hidroxilo, se logra un remoción del 74% de DQO, lo que significa que dicha reducción depende de las concentraciones iniciales de peróxido de hidrógeno y sal de hierro en el reactivo (España-Gamboa et al., 2011).

4.3.3 Proceso de ozonación

El ozono es una molécula de tres moléculas de oxígeno (O_3), soluble en agua y de reacción inmediata con los compuestos orgánicos que hay en el agua cuando este está en radiación UV y peróxido de hidrógeno, aumenta su eficiencia de ozonación ya que se generan radicales libres (OH^\cdot), los cuales son oxidantes y reaccionan muy rápido. La oxidación por ozono puede lograr el 80% de decoloración en el agua residual biológicamente tratada previamente, con una reducción parcial de DQO del 15 al 25% (España-Gamboa et al., 2011).

4.3.4 Proceso de oxidación electroquímica

El proceso consiste en que los contaminantes son destruidos por cualquier proceso de oxidación, ya sea directo o indirecto. Por ejemplo, en un proceso de oxidación anódico directo, se absorben primero los contaminantes sobre la superficie del ánodo y enseguida son destruidos por el efecto de la reacción de transferencia de los electrones anódicos. En un proceso de oxidación indirecto, los oxidantes fuertes como hipoclorito/cloruro, ozono, y peróxido de hidrógeno se generan electroquímicamente. Los contaminantes se destruyen en la solución de volumen por la reacción de oxidación del oxidante generado, el proceso de tratamiento por oxidación electroquímica se ve influenciado por el tipo de ánodo empleado y la presencia de los agentes oxidantes que se utilizan (España-Gamboa et al., 2011).

4.3.5 Electro-coagulación

Este proceso consiste en la generación de coagulantes por oxidación que se lleva a cabo *in situ* por medio de la disolución de un ánodo de sacrificio. Los iones específicos reaccionan para formar flóculos, como, $\text{Fe}(\text{OH})_3$ y $\text{Al}(\text{OH})_3$. El aluminio o acero dulce (acero cuyo contenido de carbono es menor al 0.2%) que son los electrodos de sacrificio más comúnmente utilizados.

En la electrocoagulación de efluentes de los reactores metanogénicos, la decoloración y la reducción de la DQO aumentan conforme se aumenta el tiempo y la densidad actual. Otro proceso que puede ser complementario es la electro-floculación, en el que los contaminantes se remueven por burbujas de hidrógeno, las cuales transportan las partículas contaminantes aglomeradas y coaguladas a la superficie, donde se remueven fácilmente (España-Gamboa et al., 2011).

4.4 Tratamientos anaerobios

El alto contenido orgánico de vinazas hace que este tratamiento anaeróbico sea el más atractivo en comparación con el tratamiento aerobio, ya que este último no se recomienda en la primera etapa del tratamiento debido al alto consumo de energía para aireación y enfriamiento. Por tanto aproximadamente el 50% de la demanda química de oxígeno (DCO) se convierte en lodos; mientras que en la digestión anaerobia una parte significativa de DCO se puede convertir en biogás (>50%), el cual se considera un combustible renovable (España-Gamboa et al., 2011)

Los tratamientos anaerobios serían un paso eficiente por sus eficiencias de 90% de remoción de Demanda Química de Oxígeno y 85% a 90% de energía que se recupera como biogás, sin embargo, los niveles altos de potasio, metales pesados, compuestos de sulfato o compuestos fenólicos en las vinazas comprenden una deficiencia en la digestión anaerobia, por ejemplo, las melanoidinas que colorean las vinazas son difíciles de degradar por los tratamientos anaerobios, por lo tanto, se utilizan también tratamientos aerobios como tratamientos de refinación (España-Gamboa et al., 2011).

La tabla 4.1 muestra los reactores para los tratamientos anaerobios.

Tabla 4.1. Reactores para tratamientos anaerobios

Reactores	Características	Uso en vinazas
<p>Reactor de Flujo Ascendente de Manto de Lodos Anaerobios (UASB)</p>	<p>Es el digester de alta velocidad más popular para tratar varios tipos de aguas residuales industriales por su alta capacidad de tratamiento comparado con otros sistemas, su importancia radica en la densidad y la actividad de población microalgal metanogénica que son importantes para aumentar el rendimiento del proceso UASB, lo que dará un mejor comportamiento del reactor es una retención adecuada de la población microalgal metanogénica, es decir, en la remoción de DQO, lo que ayudará en la producción de más metano y una mayor calidad del efluente (Gupta & Choi, 2015); (España-Gamboa et al., 2011). Una manera de aumentar el tiempo de retención celular en el UASB es con la formación de lodo granular (biopelículas esféricas) anaerobio desarrollados por la auto-agregación de células microbiales (España-Gamboa et al., 2011)</p>	<p>Esta tecnología es adecuada en el tratamiento de vinazas solo cuando el proceso tiene un arranque exitoso y tiene operación estable; para que tenga un arranque exitoso, los reactores se deben operar en bajas cargas orgánicas (4.8 Kg DQO/m³*día), dicha carga orgánica se aumentará cuando se alcance 90% de remoción de DQO (Mohana et al., 2009).</p>
<p>Reactor de lecho fijo</p>	<p>En este tipo de reactores, los microorganismos se inmovilizan en algún lugar de soporte inerte para limitar la pérdida de biomasa y mejorar la actividad bacteriana por</p>	<p>Las características importantes de estos materiales son su alta porosidad y el área superficial grande que tienen, aunque una</p>

(Continuación)

	<p>unidad de volumen del reactor. Por otra parte proporciona mayor remoción de DQO en bajo tiempo de retención hidráulico (HRT) y mejor tolerancia a cargas de choque orgánico y tóxico (España-Gamboa et al., 2011).</p> <p>El soporte inerte o el material empacado dentro del reactor proporcionan una mayor superficie de contacto para el crecimiento de microalgas. El influente va a través del soporte y los microorganismos anaerobios se atacan unos a otros creando una capa delgada llamada bio-película, los materiales usados como soporte inerte están: poliuretano, ladrillo de arcilla, carbón granular activado (CGA), cloruro de polivinilo y medios de plástico (España-Gamboa et al., 2011).</p>	<p>desventaja de estos es que son bastante caros, sin embargo sus cualidades de absorción ayudan con la estabilidad del proceso (España-Gamboa et al., 2011).</p>
<p>Reactores de lecho fluidizado</p>	<p>Contenedor vertical con un material portador inorgánico, ya sea grava, arena, carbón activado, resinas de intercambio aniónico y catiónico. El reactor de lecho fluidizado usa las partículas fluidizadas que inducen la inmovilización celular, lo que permite que mantenga mayor biomasa microbiana en el reactor y aumente el tiempo de retención de las células.</p> <p>La técnica consiste en que el fluido pase a través del material portador que es donde ahí se adjuntan los microorganismos,</p>	<p>La remoción del DQO y la producción de metano son influenciadas por la carga orgánica, el nivel de fluidización y el tamaño de partícula (España et al., 2010)</p> <p>Entre esta tecnología del reactor de lecho fluidizado y la tecnología de película fija anaerobia de flujo ascendente, resulta ser más efectiva la primera, ya que se favorece</p>

(Continuación)

	<p>ya que estos están en el espacio de inter-partícula y sobre esta, lo que ocasiona, por tanto, un aumento en la densidad de población de los microorganismos retenida dentro del reactor (España-Gamboa et al., 2011).</p>	<p>el transporte de las células de microorganismos del volumen a la superficie y el mejoramiento del contacto entre las fases sustrato-microorganismos, por lo tanto, los reactores de columna empacada sirven para las vinazas que se degradan con mayor facilidad o donde la gran remoción del DQO no se requiere (España-Gamboa et al., 2011)</p>
--	--	--

4.5 Tratamientos aerobios

Después del tratamiento anaerobio de las vinazas, estas contienen todavía alto contenido orgánico, contaminantes y todavía presentan un color café oscuro, por lo tanto se requiere que se traten nuevamente antes de su disposición final (Mohana et al., 2009).

La decoloración biológica es una alternativa ambientalmente amigable y es competitiva en costos con la descomposición química, tales tratamientos parecen ser: la decoloración biológica utilizando varios tipos de microorganismos: hongos, hongos de podredumbre blanca, levaduras y bacterias. Resulta ser más efectivo un consorcio de microorganismos para decolorar las vinazas, ya que se mantienen los microorganismos y el co-metabolismo aumenta la eficiencia de la decoloración de la melanoidina (España-Gamboa et al., 2011).

La selección de estos microorganismos depende del sistema enzimático microbial, los nutrientes requeridos, el tipo y la estructura química de los compuestos recalcitrantes y las condiciones ambientales (Chandra et al. 2008).

Se mencionan algunos ejemplos de tipos y tratamientos aerobios de decoloración y remoción de DQO.

4.5.1 Bacteriales

El tratamiento de las vinazas con estos microorganismos resulta en la remoción de color y DQO, con biomasa, dióxido de carbono y ácidos volátiles como los mayores productos finales (Pant & Adholeya 2007).

Las melanoidinas (molécula producida por la reacción de un aminoácido y un carbohidrato) se pueden decolorar por la actividad de especies de oxígeno reactivas (O_2^- , H_2O_2) que se producen por las reacciones de catálisis de enzimas (Chandra et al. 2008).

4.5.2 Hongos

La finalidad de este tratamiento con hongos es la purificación de efluentes por el consumo de sustancias orgánicas y reducir la DQO y DBO. Aunque también han sido investigados debido a su capacidad de remover el color (Satyawali & Balakrishnan 2008). La inmovilización de los hongos en el tratamiento aerobio ofrece varias ventajas, como un menor tiempo de retención, la recuperación fácil de las células y el aumento de la actividad (Pant & Adholeya 2007).

Para los tratamientos de vinazas diluidas en un sistema de alimentación diluido a una absorbancia de 3.5 con una longitud de onda de 475 nm, se presentó una reducción de color del 70% (Sirianuntapiboon et al. 2004).

4.5.3 Consorcio mezclado

Este tratamiento mostró mayor eficiencia en comparación con un cultivo puro (Mohana et al. 2007). Se hicieron pruebas con tratamientos aerobios de vinazas diluidas provenientes de la producción de vino y se registraron eficiencias de remoción de DQO del 90% (Pant & Adholeya 2007).

4.5.4 Microalgas

El tratamiento con algas remueve los nutrientes, el material orgánico y el color del agua residual. Las algas más comúnmente utilizadas en este tipo de tratamientos son: *Chlorella vulgaris*, *Lemna minúscula*, *Oscillatoria boryana* (España-Gamboa et al., 2011).

Durante el tratamiento se ha encontrado que los microorganismos liberan peróxido de hidrogeno (H_2O_2), iones hidroxilo (OH^-) y el oxígeno molecular (O_2) durante la fotosíntesis, dando lugar a una decoloración del 60% de melanoidinas en las vinazas diluidas, sugiriendo que el uso de melanoidinas funcionan como una fuente de nitrógeno para las cianobacterias (España-Gamboa et al., 2011).

De este modo se ha empleado la simbiosis microalgal-bacterial como un modo para remover al mismo tiempo los contaminantes de biogás en un bajo costo energético y bajo impacto ambiental. Por ejemplo, las microalgas con la energía solar fijan CO_2 de biogás por medio de la fotosíntesis produciendo O_2 , el cual se utiliza por bacterias sulfooxidantes para oxidar H_2S a sulfatos (Posadas et al., 2015).

Las microalgas además son consideradas como alimentos funcionales que contienen cantidades de carbohidratos, lípidos, vitaminas, minerales, ácidos grasos poliinsaturados (omega 3 y omega 6) y antioxidante (carotenos) (Quevedo et al., 2008).

CAPÍTULO 5 MÉTODO EXPERIMENTAL

5.1 Sistema 1: Fotobiorreactor HRAP

En un reactor de lagunaje de alta carga (High Rate Algal Pond, HRAP) de 25 L (Fig. 5.1) se encuentra un consorcio alcalófilo microalgal (CAM) y un consorcio de bacterias alcalófilas sulfooxidantes (CBAS), los microorganismos presentes en el sistema son: *Halospirulina sp.* y *Picochlorum sp.* (de los Cobos-Vasconcelos, et al., 2016), a un pH de 9.3, alimentadas con un medio mineral salino (MMS) compuesto de (g/L): 44.96 Na₂CO₃, 151.88 NaHCO₃, 11.16 NaCl, 11.16 K₂HPO₄, 9.06 Na₂SO₄, 0.44 CaCl₂·2H₂O, 279 ml KNO₃, 11.16 ml MgCl₂·6H₂O, 22.32 ml de Elementos traza, 60 ml Na₂S₂O₃ (Sorokin et al., 2001), en estado estacionario, en el que se tomó inóculo de 1 L.



Figura 3.5.1. Reactor de lagunaje de alta carga (HRAP)

5.2 Sistema 2: Fotobiorreactor tubular

Para la cinética de crecimiento se emplearon 2 fotobiorreactores (FBTs) tubulares de vidrio Pyrex cuya capacidad total fueron de 600 mL y 550 mL respectivamente, iluminados con LEDs de luz blanca fría (AG-FSL-5050W300-N/W, México) con una intensidad de $100.686 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ y $105.06 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$, la disolución se mantuvo en movimiento con una bomba peristáltica (Cole Parmer/7553) a una velocidad de $0.72 \text{ ml}/\text{min}$. Se agregaron 550 mL y 530 mL de disolución (biomasa microalgal y medio mineral) a los fotobiorreactores en sistema cerrado. Cada uno de los fotobiorreactores tenía un electrodo polarográfico que se calibró previamente con agua saturada de oxígeno ($\sim 6.5 \text{ mg}/\text{L}$) para la medición de oxígeno disuelto de las microalgas. Figuras 5.2 y 5.3 muestran la estructura de los fotobiorreactores 1 y 2.

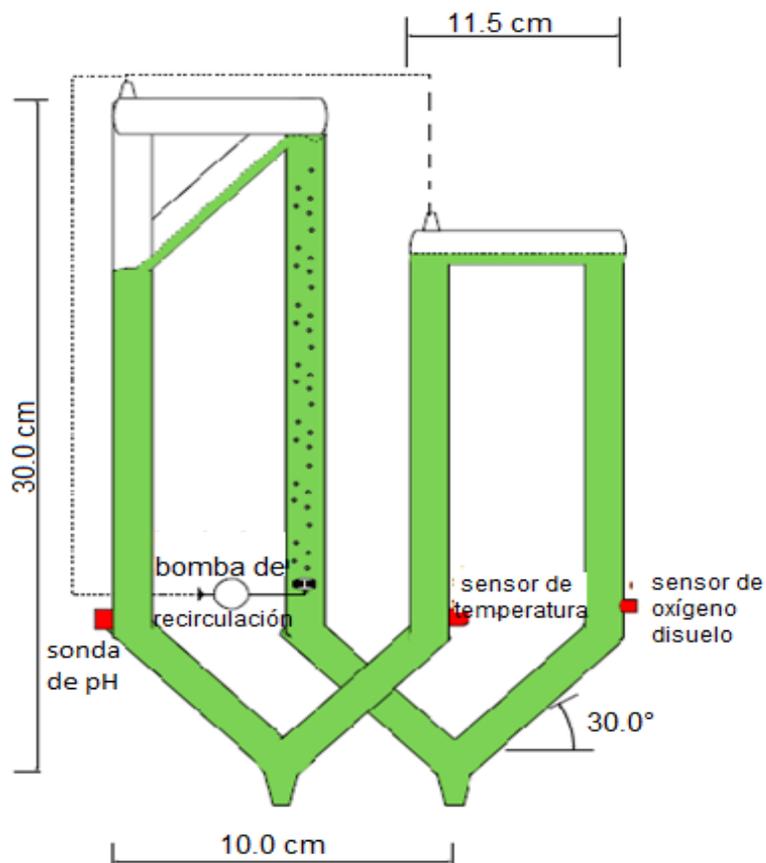


Figura 5.2. Diagrama de flujo de un fotobiorreactor tubular cerrado.

Tomada de (de los Cobos-Vasconcelos et al., 2016).

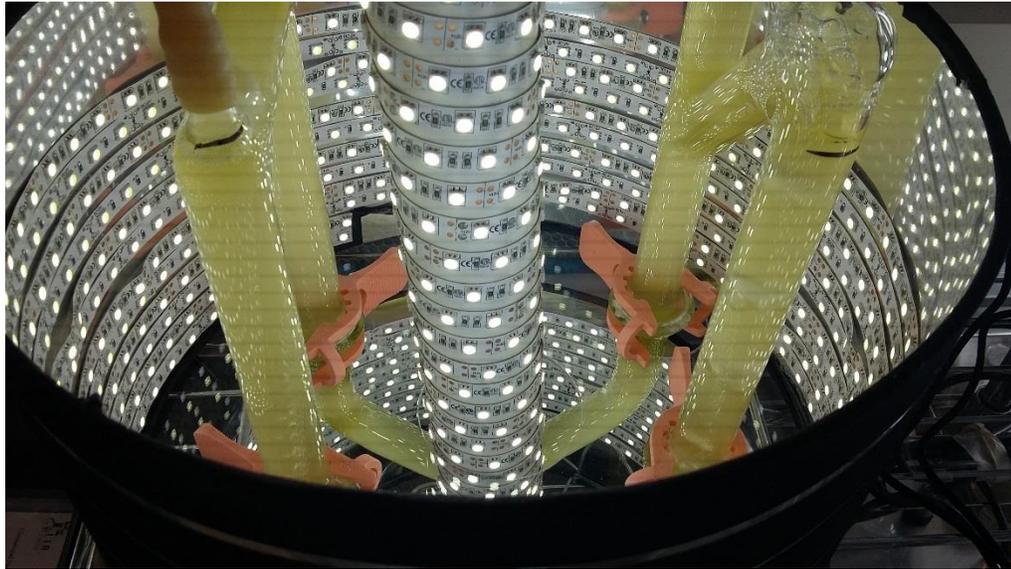


Figura 5.3. Fotobiorreactor tubular cerrado en funcionamiento.

Los dos fotobiorreactores se mantuvieron en movimiento con las luces encendidas por 24 horas durante 14 días. En los cuales se midió la cantidad de agua evaporada por día para luego reponerla y evitar pérdida de volumen, así como también se extrajo volumen pequeño (3.5 ml) de muestra para medir la absorbancia en un espectrofotómetro HACH DR 5000 y de este modo, determinar la concentración (g/L) de la biomasa para luego graficarla vs el tiempo (d) y obtener con ella la velocidad específica de crecimiento (μ).

5.3 Cinética de crecimiento

Del inoculo tomado en el reactor HRAP se realizó una dilución 10, por lo cual se tomaron 80 ml del inoculo y los 720 ml fueron de medio mineral salino (MMS) modificado de (Aiba & Ogawa, 1977) compuesto como lo muestran las tablas 5.1a y 5.1b:

Tabla 5.1a. Reactivos empleados en el medio mineral salino

Reactivo	Cantidad (g)
Na ₂ CO ₃	16.12
NaHCO ₃	54.44
NaCl	4
K ₂ HPO ₄	4
Na ₂ SO ₄	3.25
CaCl ₂ *2H ₂ O	0.16
KNO ₃	100 (g/L) [101 g/L]
MgCl ₂ *6H ₂ O	4 (g/L)
Elementos traza	8 (g/L)
Na ₂ S ₂ O ₃	21.5 (g/L)

*Las disoluciones de reactivos se aforaron a 1 L

Tabla 5.1b. Reactivos empleados para los elementos traza (aforados a 1L)

Elementos traza	Cantidad (mg)
EDTA 5	5
FeSO ₄ *7H ₂ O	2
ZnSO ₂ *7H ₂ O	100
MnCl ₂ *4H ₂ O	30
CoCl ₂ *6H ₂ O	200
NiCl ₂ *6H ₂ O	20
Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O	30
CuCl ₂ *2H ₂ O	10
H ₃ BO ₃	300
H ₂ O destilada	1000

Se hizo una tabla de cada día en que se dejó el consorcio microalgal en los fotobiorreactores por 14 días, en el que cada día aproximadamente a la misma hora se midió la densidad óptica en el espectrofotómetro (HACH DR 5000 USA) así como también se midió el pH y el oxígeno disuelto por el sensor de oxígeno disuelto.

Con la curva de calibración y la ecuación de correlación determinada por la curva de calibración se pudieron obtener los SST para cada muestra midiendo la densidad óptica y con ello hacer una gráfica de la biomasa (g/L) vs el tiempo (d) para la determinación de la velocidad específica de crecimiento del consorcio microalgal., así como también se determinó el tiempo de duplicación de la biomasa.

5.3.1 Curva de calibración

Se tomaron alícuotas del reactor HRAP para realizar una curva de calibración y con ella determinar los Sólidos Suspendidos totales (SST), que se llevaron a cabo de acuerdo a los Métodos Estándar (Camiro-Vargas et al., 2005), se tomaron 7 muestras con diluciones diferentes del medio mineral salino, para cada una de la muestra seleccionada formando un volumen total de cada una de las muestras de 15 ml; las diluciones para cada muestra fueron las siguientes: 0, 2, 4, 6, 10, 20, 30. Se determinaron SST para cada muestra y también se midió la densidad óptica (D.O.) tomando 3.5 ml de muestra en un espectrofotómetro (HACH DR 5000 USA) a una longitud de onda de $\lambda = 680$ nm en el espectro visible que permite cuantificar la biomasa fotosintéticamente activa, se usaron celdas de cuarzo para evitar interferencias (García-Cruz, 2015)

Se hizo una gráfica de los datos de SST (g/L) vs absorbancia para obtener una correlación lineal entre la densidad óptica y los sólidos suspendidos totales conforme a la ley de “Lambert-Beer”

$$Y = mx + b \quad (5.1)$$

Dónde:

Y= concentración de la biomasa (g/L)

m=pendiente

x= absorbancia

b= ordenada al origen

Se hicieron diluciones del consorcio microalgal, después se determinaron solidos suspendidos totales (SST) para medir Densidad Óptica (D.O.) y elaborar una gráfica de calibración.

$$Dilución = \frac{Vol.muestra+Vol.agua}{Vol.muestra} \quad (5.2)$$

$$SST = \frac{(w2-w1)}{Vol.Muestra} \quad (5.3)$$

Los resultados obtenidos de las diluciones, SST y D.O. se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 5.2. Tabla de diluciones, SST y densidad óptica.

Dil	w1 (g)	w2 (g)	Vol (L)	SST (g/L)	D.O
0	0.1286	0.139	0.01	1.04	2.107
2	0.1293	0.1332	0.01	0.39	1.176
4	0.1279	0.1299	0.01	0.20	0.585
6	0.1286	0.13	0.01	0.14	0.445
10	0.1291	0.1301	0.01	0.10	0.25
20	0.1292	0.1296	0.01	0.04	0.126
30	0.1301	0.1304	0.01	0.03	0.095

A continuación se grafican SST vs D.O.

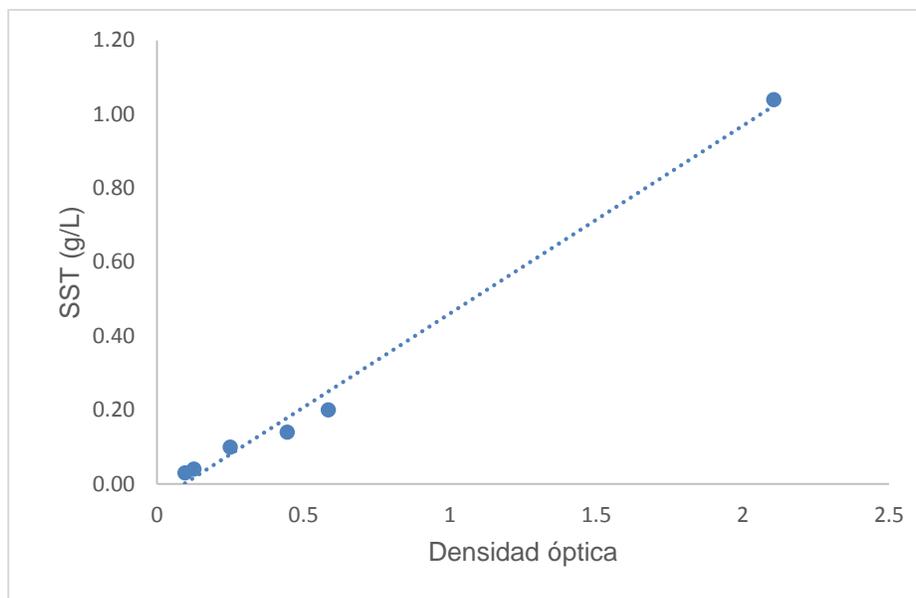


Figura 5.3. Concentración de biomasa vs densidad óptica

De la gráfica se obtuvo la ecuación lineal con una $r^2=0.9919$:

$$y = 0.5078*x - 0.047 \quad (5.4)$$

5.4 Evaluación del efecto de NH_3 sobre la actividad fotosintética del CAM

Se tomó 1L de inóculo del reactor HRAP, dicho inóculo se centrifugó (centrifuga Beckman Coulter Avanti J-26S XPI) durante 10 minutos a 2000 rpm con la finalidad de separar el medio mineral salino contenido en el HRAP el cual contiene nitrógeno disuelto en forma de nitrato. La biomasa centrifugada se adiciona a medio mineral salino sin nitrógeno a una dilución 2 dejándose en dicho medio aproximadamente 2 horas para que el consorcio se adapte y luego se agreguen al fotobiorreactor (Collos & Slawyk, 1984).

Se emplearon 2 fotobiorreactores tubulares de vidrio *Pyrex* descritos anteriormente. Se agregaron 640 mL y 570 mL de disolución (inoculo y medio mineral) al Fotobiorreactor; aunque la capacidad total de los fotobiorreactores es de 600 ml y 540 mL, sus volúmenes aumentaron debido al aumento de volumen de las mangueras que estaban conectadas a este y la bomba para mantener los fotobiorreactores cerrados.

Se taparon las salidas de los fotobiorreactores para tener el sistema cerrado y se registraron datos en el ordenador como el pH, oxígeno disuelto (mg/L) y temperatura; dichos datos de los sistemas eran registrados en el ordenador cada segundo por el tiempo que duraban las pruebas experimentales, 9 horas aproximadamente. Después se agregó con una jeringa de 5 ml cloruro de amonio NH_4Cl al fotobiorreactor a diferentes concentraciones (mg/L), 10, 20, 30, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, para medir así la actividad fotosintética de las microalgas, las concentraciones se prepararon con ayuda de la ecuación 5.6 y los datos se muestran en la tabla 5.3.

Para la administración de NH_4^+ por medio de cloruro de amonio (NH_4Cl) al sistema se preparó partiendo de una disolución estándar de 250 g/L de NH_4Cl , y a partir de esa solución se hicieron los cálculos para determinar el volumen en que se deben suministrar dichas concentraciones con ayuda de la siguiente formula:

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad (5.5)$$

$$V_1 = \frac{C_2V_2}{C_1} \quad (5.6)$$

Dónde:

C_1 = Concentración estándar de NH_4Cl (250 g/L)

V_1 = Volumen a ser determinado

C_2 = Concentración que se quiere suministrar de NH_4Cl

V_2 = Volumen del fotobiorreactor (0.57L).

En la siguiente tabla se muestran los cálculos de las concentraciones de NH_4Cl preparadas. Se agregaron varios pulsos (volúmenes con concentración conocida) aumentando las concentraciones de NH_4Cl en el fotobiorreactor, durante cada pulso se consideró la concentración agregada del pulso anterior y se agregó la diferencia en el pulso siguiente para tener las concentraciones deseadas en el fotobiorreactor.

Tabla 5.3. Volumen agregado a diferentes concentraciones de NH_4^+ (g/L) mediante NH_4Cl

NH_4^+ (mg/L)	NH_4Cl (g/L)	NH_4Cl (mM)	V_1 (mL)	$V_{1\text{acumulado}}$ (mL)
5	0.0148	0.2766	0.03374	0.0337
10	0.0297	0.8682	0.0677	0.0677
20	0.0594	1.736	0.1354	0.0677
30	0.08910	2.6	0.203	0.0676
50	0.1485	3.33	0.3385	0.1355
89	0.2643	8.67	0.6026	0.2641
100	0.2970	9.74	0.677	0.0744
200	0.5940	19.49	1.355	0.678
300	0.8910	29.24	2.032	0.677
400	1.1880	38.99	2.71	0.678
500	1.4850	48.74	3.386	0.676
600	1.7820	58.49	4.063	0.677

Se realizaron tres veces las corridas de pulsos con diferentes concentraciones de NH_4Cl (dos corridas en el fotobiorreactor 2 y una en el fotobiorreactor 1).

Los datos experimentales obtenidos son graficados en concentración vs el tiempo de corrida de la prueba experimental, las líneas de las gráficas resultantes son linealizadas para obtener las velocidades de producción de oxígeno disuelto

correspondientes. A partir de las velocidades de producción de oxígeno y de las concentraciones de NH_4Cl agregados al sistema se procede a la determinación de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ en el sistema del CAM tomando en cuenta el pH, volumen del sistema.

5.4.1 Determinación de $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ en equilibrio

Con las gráficas de las figuras anteriores se determinó la velocidad de producción de Oxígeno Disuelto de las microalgas a diferentes concentraciones de NH_4Cl , así como también se hizo la determinación del NH_3 presente en el sistema, tomando en cuenta las siguientes ecuaciones:

La ecuación 5.7 toma en cuenta el número de moles totales de nitrógeno que hay en el fotobiorreactor cerrado, tomando en cuenta el número de moles de nitrógeno que hay en la fase líquida ($\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$) más el número de moles de nitrógeno gaseoso presente como NH_3 dentro del sistema

$$n_N^T = n_N^L + n_{\text{NH}_3}^G \quad (5.7)$$

La ecuación 5.8 representa el número de moles totales de nitrógeno en fase líquida, el cual se encuentra en forma de NH_4^+ y en forma de NH_3

$$n_N^L = n_{\text{NH}_4}^L + n_{\text{NH}_3}^L \quad (5.8)$$

Con la ecuación 5.9 se pretende conocer el número de moles que corresponden al NH_3 en la fase líquida de los moles totales de nitrógeno que hay en la fase líquida con respecto al pH del sistema considerando el número de protones libres (H^+) y la constante de disociación (k)

$$\frac{n_{\text{NH}_3}^L}{n_N^L} = \frac{1}{1 + \frac{[\text{H}^+]}{K}} \quad (5.9)$$

La ecuación 5.10 es la constante de Henry adimensional

$$He = \frac{\frac{n_{NH_3}^G}{V_G}}{\frac{n_{NH_3}^L}{V_L}} = 5.61 \times 10^4 \quad (5.10)$$

Con las ecuaciones anteriores se determina la concentración de NH_3 que hay en el sistema

$$C_{NH_3}^L = \frac{C_N^T}{1 + \frac{He V_G}{V_L}} \quad (5.11)$$

Dónde:

$C_{NH_3}^L$: Concentración de NH_3 presente en medio microalgal

C_N^T : Concentración de nitrógeno en el sistema, presente en $N-NH_4Cl$ equivalente al 26.19% en peso de NH_4Cl como única fuente de nitrógeno.

He : Constante de Henry adimensional para NH_3/NH_4^+ igual a 5.61×10^{-4} (Metcalf & Eddy, 2003)

V_G : Volumen del gas en el fotobiorreactor (espacio de cabeza del fotobiorreactor) 5.41 ml.

V_L : Volumen de las microalgas en el fotobiorreactor equivalente a 640 ml.

Para la determinación de $[H^+]$

$$[H^+] = 10^{-pH} \quad (5.12)$$

La ecuación (5.7) describe el nitrógeno total que está presente en el sistema (fotobiorreactor), ya sea en NH_4^+ y NH_3 en la fase líquida, y el nitrógeno de NH_3 en fase gas que pertenece al espacio de cabeza del fotobiorreactor, la ecuación (5.8) se refiere al nitrógeno que está en fase líquida, mientras que la ecuación (5.9) establece la proporción del nitrógeno amoniacal con respecto al nitrógeno total correspondiente en fase líquida; la ecuación (5.10) se refiere a la constante de Henry la cual explica que a una temperatura constante la cantidad de gas que está disuelto en un líquido será directamente proporcional a la presión parcial del gas que ejerce sobre el líquido (Metcalf & Eddy, 2003), la ecuación (5.11) es para deducir la concentración de NH_3 que hay en todo el sistema del fotobiorreactor cerrado y la ecuación (5.12) es para determinar los protones disueltos (H^+) en el sistema líquido con ayuda del pH.

Al obtener las velocidades de producción de oxígeno disuelto, estas son graficadas contra su respectiva concentración de NH_3 que se determinó con la ayuda de las ecuaciones anteriores. A partir de los gráficos obtenidos se propone un modelo matemático, para lograr la obtención del modelo se utiliza un programa de PC (OriginPro 8) para ajustarlo con los datos experimentales. Después se realiza una calidad de ajuste de los datos del modelo con los datos experimentales (velocidades) cuantificándolo con la prueba estadística t-Student.

CAPÍTULO 6 RESULTADOS

Evaluación de la velocidad de crecimiento del CAM

En el fotobiorreactor 1 (640 ml) y en el fotobiorreactor 2 (570 ml) se agregó un inóculo de microalgas suspendido en medio mineral salino (10% de biomasa en medio mineral del volumen total del fotobiorreactor) en cada uno que se dejó durante 14 días dentro de estos fotobiorreactores para medir el crecimiento microalgal en sistema cerrado y en recirculación, pero en el fotobiorreactor 2 se dejó de medir su crecimiento después del día 11 debido a que las microalgas ya no presentaron crecimiento. Durante estos 14 días se tomó una muestra diariamente, así como también se les suministró agua destilada para reponer el volumen evaporado a los FBRts. De la muestra tomada se determinó su densidad óptica en el espectrofotómetro para después determinar los sólidos suspendidos totales con ayuda de la ecuación lineal obtenida de la gráfica de calibración. También durante cada día se midió la concentración de oxígeno disuelto y el pH de cada uno de los sistemas. Los datos registrados de cada fotobiorreactor se anotaron en la siguiente tabla.

Tabla 6.1. Tiempo de crecimiento del CAM, concentración de biomasa, oxígeno disuelto (OD) y pH en el fotobiorreactor 1 (izquierda) y el fotobiorreactor 2 (derecha)

Tiempo (d)	biomasa (g/L)	OD (mg/L)	pH
0	0.07	13	9.36
1	0.158	17.66	9.68
2	0.4	19.08	9.93
3	0.624	>20	10.18
6	0.954	-	10.85
7	0.915	20.61	11.11
8	1.034	9.6	11.26
9	1.132	20.62	11.3
10	1.037	9.64	11.23
13	0.979	8.21	11.28
14	0.931	8.36	11.22

Tiempo (d)	biomasa (g/L)	OD (mg/L)	pH
0	0.116	-	9.38
1	0.316	9.81	9.64
2	0.21	8.99	9.84
3	0.403	9.53	9.99
4	0.346	8.65	10.15
7	0.531	7.43	10.44
8	0.559	7.21	10.44
9	0.474	7.51	10.46
10	0.49	8.33	10.46
11	0.474	8.08	10.46
14	-	-	-

Lo que se observa en estas tablas es que conforme los días pasan la concentración de la biomasa, y el pH aumentan, hasta aproximadamente en el día 9 la concentración disminuye junto con el pH en el fotobiorreactor 1, en el fotobiorreactor 2 no se observa tanto eso; en cambio para el oxígeno disuelto para ambos fotobiorreactores no se aprecia un seguimiento ascendente o descendente en los datos obtenidos por cada día.

A continuación se grafica la biomasa vs tiempo de cada tabla para ver el comportamiento del consorcio microalgal en cada fotobiorreactor, también se tomó en cuenta el pH en las gráficas Figura 6.1.

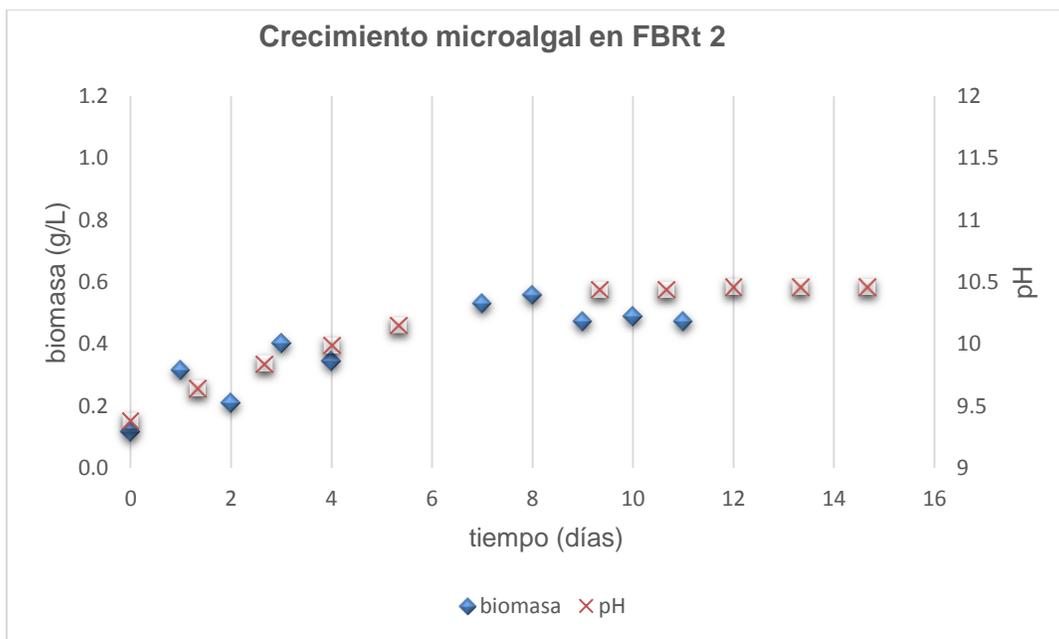
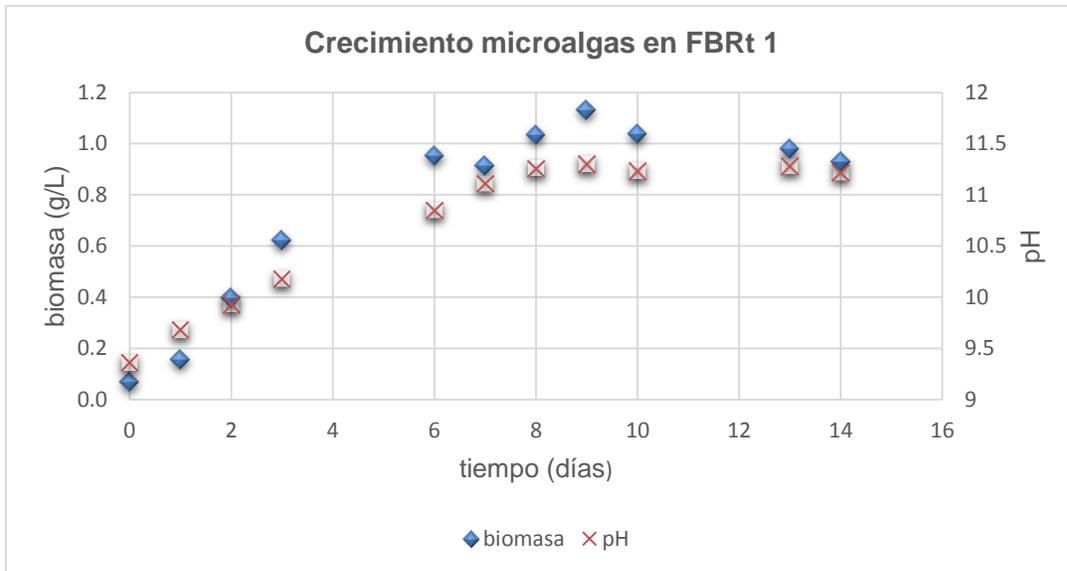


Figura 6.1. Crecimiento de la biomasa microalgal en el fotobiorreactor 1 y 2

Fotobiorreactor 1 (grafica superior) y fotobiorreactor 2 (grafica inferior), en la parte derecha de los gráficos se registró el pH medido para la cinética.

En las figuras anteriores se puede ver, por ejemplo en el fotobiorreactor 1 como la concentración de la biomasa aumenta con el tiempo ocurriendo el mismo comportamiento con el pH, este comportamiento llega a tope en el día 9, donde ya después el crecimiento microalgal empieza a inhibirse, la razón de este efecto es la falta de alimento en el consorcio; en el fotobiorreactor 2 se ve también un aumento de la biomasa y del pH, pero en el aumento de la biomasa no hay tal un seguimiento como en la biomasa del fotobiorreactor 1, sin embargo, el crecimiento de la biomasa cesa en el día 10, que es donde comienza a haber una inhibición del crecimiento, deteniendo por lo tanto las mediciones, el pH del sistema del fotobiorreactor 2 también aumentó, pero el aumento con respecto al de la biomasa no se vio relacionado como en el fotobiorreactor 1. Este problema pudo haber sido a causa de mala medición de la biomasa, o mala calibración del medidor de pH.

Tomando como referencia a la tabla del crecimiento microalgal en el FBRt 1 se toman los datos lineales de la gráfica del fotobiorreactor 1 para obtener la velocidad específica de crecimiento (μ) de las microalgas, usando la metodología descrita anteriormente.

La velocidad específica de crecimiento es el parámetro que relaciona la concentración de la biomasa con el tiempo y mide la cantidad de biomasa en gramos que es capaz de generar un gramo de biomasa en la unidad de tiempo. Expresándose de la siguiente manera:

$$\frac{dx}{dt} = \mu x \quad (6.1)$$

$$\frac{dx}{x} = \mu dt \quad (6.2)$$

Integrando la ecuación

$$\int_{x_0}^x \frac{dx}{x} = \mu \int_0^t dt \quad (6.3)$$

$$\ln x = \mu t + \ln x_0 \quad (6.4)$$

Agrupando los términos se obtiene

$$\ln \frac{x}{x_0} = \mu t \quad (6.5)$$

La ecuación resultante es un modelo de la ecuación lineal ($y = mx + b$), por lo que μ es una constante y se calcula linealizando los datos de crecimiento de la gráfica del crecimiento microalgal en el fotobiorreactor 1, mostrado en la siguiente figura.

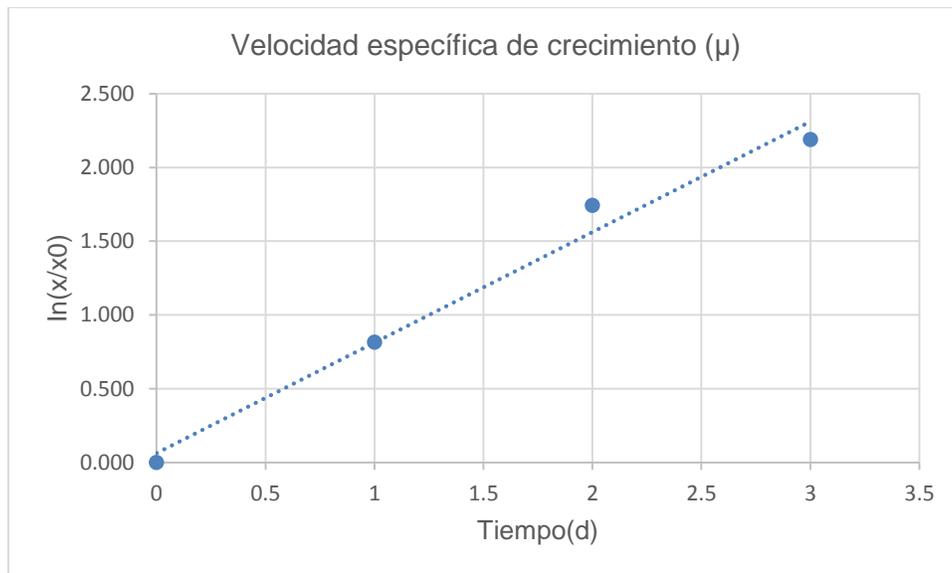


Figura 6.2. Cálculo de la velocidad específica de crecimiento (μ) microalgal

Obteniendo la ecuación lineal de la gráfica anterior con una $R^2=0.982$:

$$y = 0.7492x + 0.0625 \quad (6.6)$$

Y el tiempo de duplicación con la siguiente formula:

$$Td = \frac{\ln 2}{\mu} \quad (\text{Yeh et al., 2010}) \quad (6.7)$$

La velocidad específica de crecimiento (μ) es de 0.7492 d^{-1} o 0.031 h^{-1} con un tiempo de duplicación de 22.21 h. (García-Cruz, 2015) obtuvo una velocidad específica de crecimiento de 0.018 h^{-1} y un tiempo de duplicación de 45 h del mismo cultivo microalgal pero en matraces Erlenmeyer. Comparando los resultados de Garcia-Cruz con los obtenidos aquí, se observa que el tiempo de duplicación de García-Cruz es casi el doble al obtenido y la velocidad específica de crecimiento es mayor a la obtenida por Garcia-Cruz, 2015. Las diferencias a esto pueden deberse a los sistemas empleados para realizar la cinética de crecimiento, Garcia-Cruz empleó matraces Erlenmeyer, mientras que en este trabajo se utilizó el fotobiorreactor anteriormente mencionado, cuyas diferencias en ambos sistemas radican en la disponibilidad de la luz ocurriendo una mayor obstrucción de la luz en los matraces Erlenmeyer.

Se calcularon las diferentes concentraciones de amonio (NH_4^+) que se le suministraron al inoculo de microalgas en el fotobiorreactor, esto con la finalidad de evaluar la actividad fotosintética del CAM.

Para cada concentración de NH_4Cl agregado al fotobiorreactor se registró el comportamiento del CAM por medio de gráficas como la que a continuación se muestra, cuya finalidad de la gráfica es el control de la actividad fotosintética del CAM al agregar los pulsos. Por ejemplo, se fijó el nivel de oxígeno disuelto de aproximadamente 8 mg/L que es aproximado a la concentración de oxígeno disuelto (OD) en agua reportada por State Water Resources (Folleto informativo) como set point de oxígeno disuelto, después se encendieron las luces LED a la configuración

ya especificada, en respuesta a eso la concentración de oxígeno disuelto aumentó en el fotobiorreactor a aproximadamente 10 mg/L mostrando una línea casi recta, al llegar a ese valor se apagaron las luces y la concentración de OD disminuyó inmediatamente; el proceso se repitió antes de agregar las concentraciones de NH_4Cl y lo que se observó es una respuesta rápida de las CAM ante la presencia y ausencia de luz de los LED, por ejemplo, si se dejó a los microorganismos sin luz, estos se vieron obligados a que las utilicen el oxígeno disponible en el sistema en lugar de producirlo. Al agregar el pulso de NH_4Cl la respuesta de producción de OD no fue tan rápida comparada con las pruebas en ausencia de NH_4Cl ; para entender mejor esto, se muestra la siguiente figura 6.3 que explica lo mencionado. El control del comportamiento del CAM se hizo tres veces al inicio de cada una de las pruebas experimentales

Efecto de NH_3 sobre la actividad fotosintética del consorcio alcalofilo microalgal.

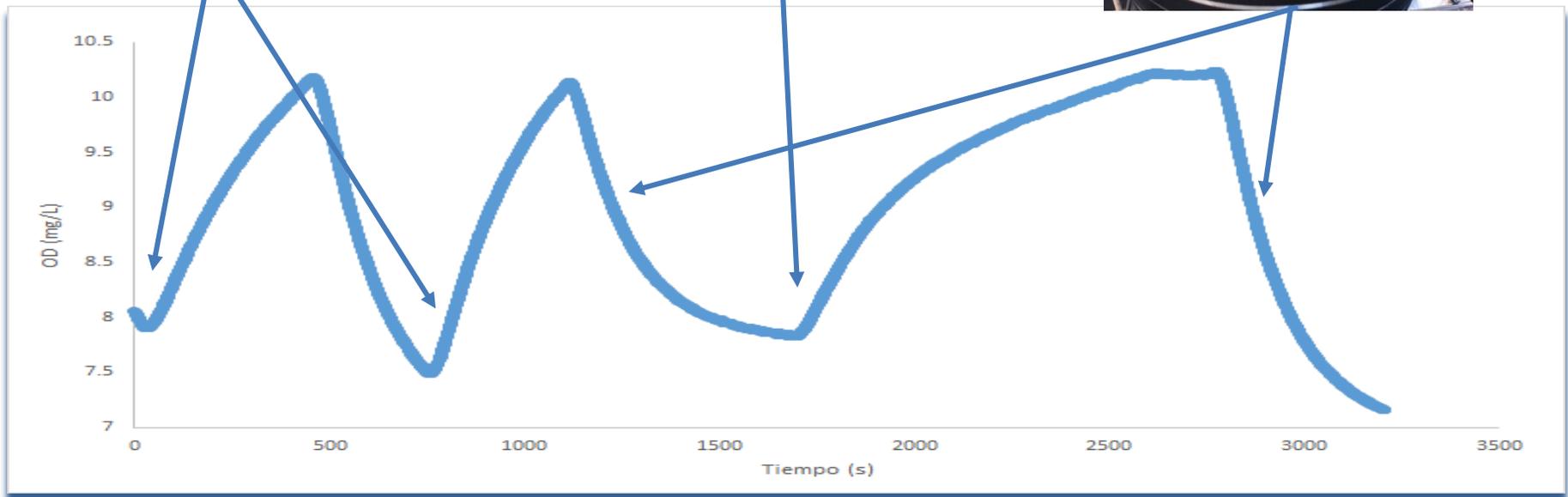
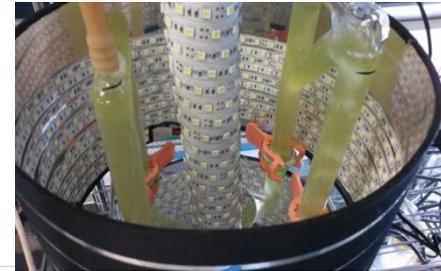
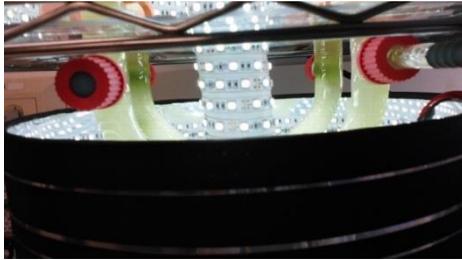


Figura 6.3. Comportamiento de la producción de OD del CAM en el fotobiorreactor antes y después de la adición de NH_4Cl

La gráfica anterior fue un ejemplo del efecto de NH_3 sobre la actividad fotosintética del CAM en donde las líneas con pendiente positiva muestran la velocidad de producción de oxígeno del CAM al agregar pulsos de NH_4Cl , dichas líneas de producción de oxígeno se agrupan, se linealizan y se grafican en otro grafico para observar más a detalle su comportamiento. Como lo muestran las siguientes gráficas.

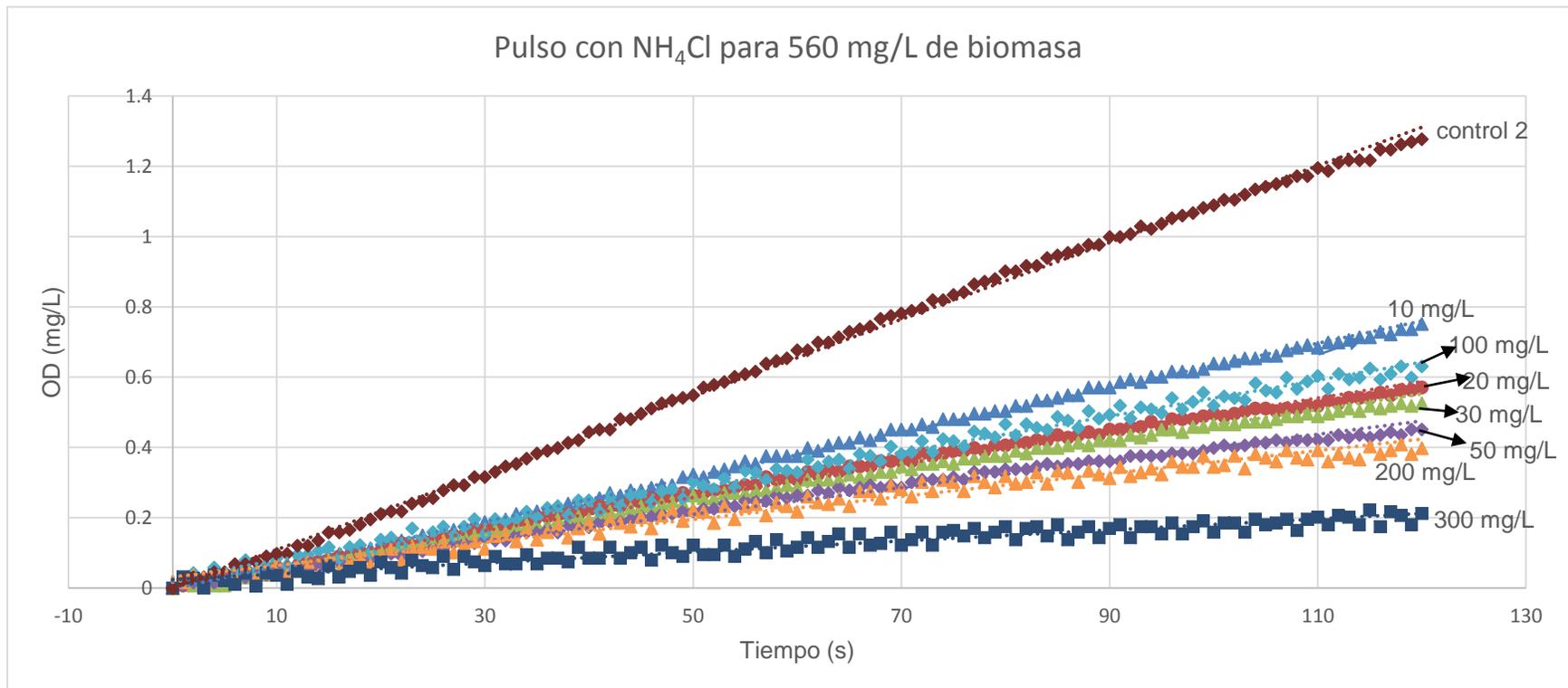


Figura 6.4. Producción de oxígeno disuelto al agregar diferentes concentraciones de NH_4Cl durante 120 segundos

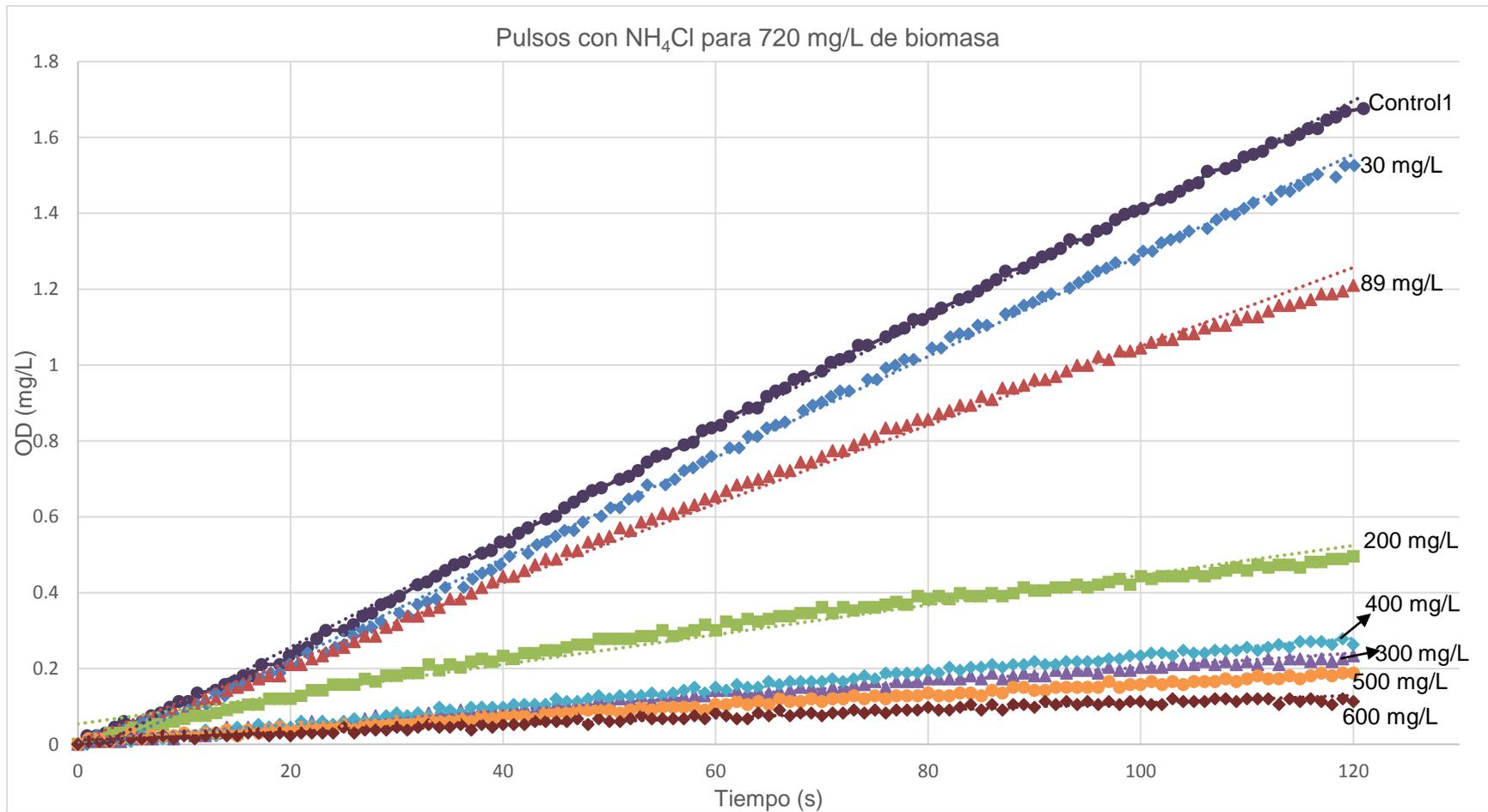


Figura 6.5. Producción de oxígeno disuelto al agregar diferentes concentraciones de NH_4Cl durante 120 segundos

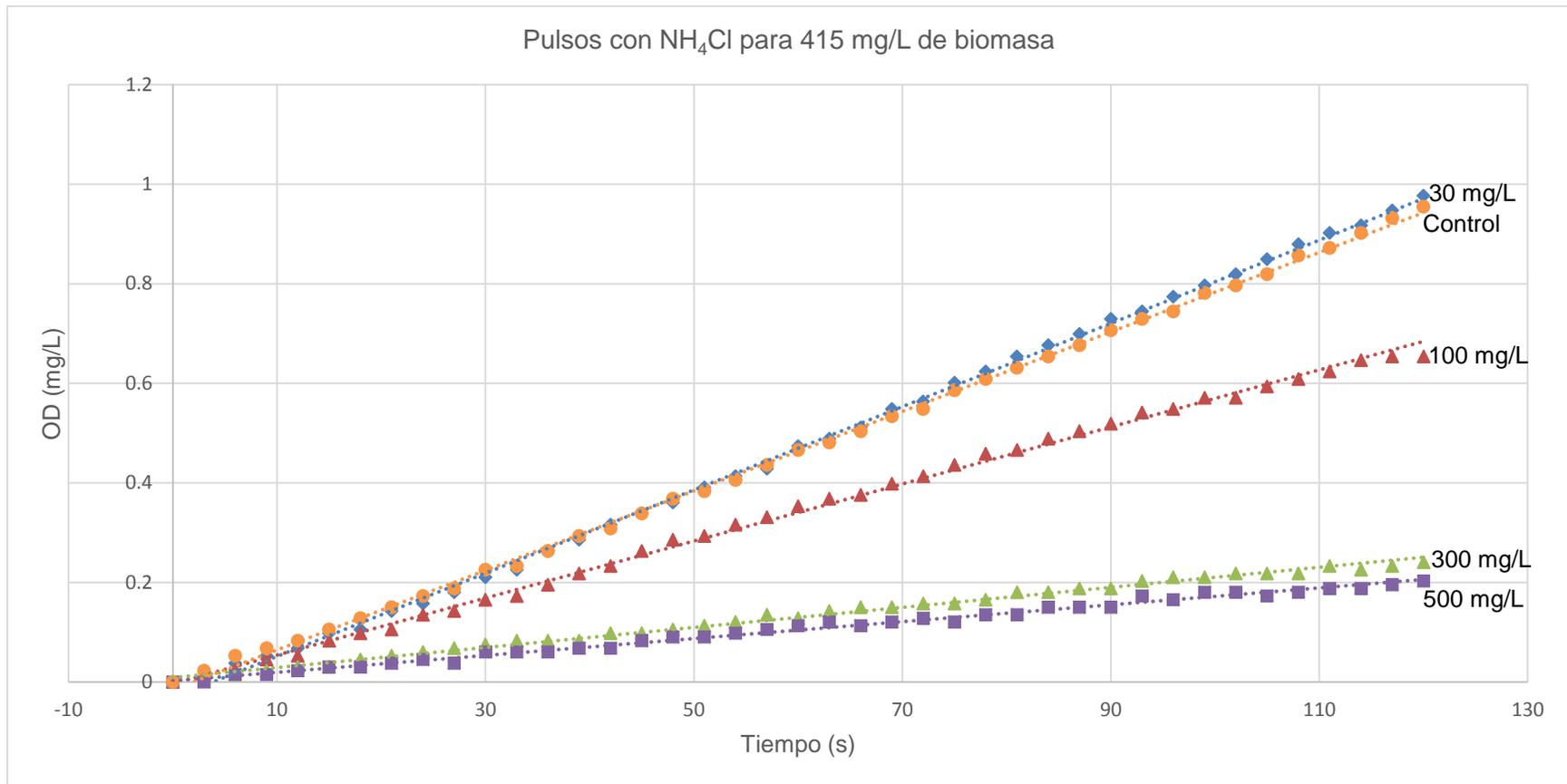


Figura 6.6. Producción de oxígeno disuelto al agregar diferentes concentraciones de NH_4Cl durante 120 segundos

Como se pudo observar en las gráficas anteriores, la velocidad de producción de oxígeno disminuye conforme aumenta la concentración de NH_4 en el fotobiorreactor, esto se observa con las líneas de las gráficas al ver como la pendiente va disminuyendo conforme hay un aumento de la concentración de NH_4 , siendo mayor la línea que representa el control de la actividad fotostintética del CAM en ausencia de NH_4 . Se toman los datos lineales para compararlos con las otras líneas de las gráficas a diferentes concentraciones de amonio con respecto a las líneas de control (ver figs. 6.4, 6.5, 6.6), obteniendo de cada línea la velocidad de producción de oxígeno disuelto, en la cual claramente se observa la disminución de la velocidad de producción de oxígeno contra el aumento de la concentración de NH_4 que se sabe está en equilibrio con NH_3 , y en pH mayores a 9 el NH_3 predomina en el equilibrio, el cual se conoce que es tóxico para las microalgas (Markou et al., 2014).

Después se calcula con ayuda de las ecuaciones 5.7 – 5.12 el equilibrio de $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ anotándolo en la siguiente tabla, así como las velocidades de producción de oxígeno correspondientes a cada concentración de NH_3 anotando los datos en las siguientes tablas para cada prueba experimental.

Tabla 6.2. Determinación de NH₃ en el sistema microalgal de 560 mg/L, velocidad obtenida de las ecuaciones lineales a diferentes concentraciones de NH₄Cl

Pulsos con NH ₄ Cl								
[N] asim.	[NH ₄ ⁺]	[N]	y = mx + b			[N]	[NH ₃]	rO ₂
(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	mgOD/L*s	pH prom.	[H ⁺]	(mg/L)	(mg/L)	mgOD/L*s
0	0	0	0	9.46	0.00	0	0	0
0.55	4	3.11	0.0109x - 0.0006	9.46	3.48E-10	2.56	3.11	0.0109
1.38	10	7.78	0.0064x - 0.0026	9.43	3.73E-10	6.40	7.78	0.0064
2.75	20	15.55	0.0047x + 0.022	9.44	3.61E-10	12.80	15.55	0.0047
4.13	30	23.33	0.0045x + 0.0166	9.46	3.44E-10	19.20	23.33	0.0045
6.88	50	38.89	0.0038x + 0.0196	9.47	3.40E-10	32.00	38.88	0.0038
13.77	100	77.77	0.0051x + 0.0276	9.36	4.34E-10	64.00	77.77	0.0051
27.53	200	155.54	0.0033x + 0.031	9.33	4.66E-10	128.01	155.54	0.0033
41.30	300	233.31	0.0016x + 0.0243	9.31	4.88E-10	192.01	233.31	0.0016

Tabla 6.3. Determinación de NH₃ en el sistema microalgal de 720 mg/L, velocidad obtenida de las ecuaciones lineales a diferentes concentraciones de NH₄Cl

Pulsos con NH ₄ Cl								
[N]asim.	[NH ₄ ⁺]	[N]	y = mx + b			[N]	[NH ₃]	rO ₂
(mg/L)	(mg/L)		mgOD/L*s	pH prom	[H ⁺]	(mg/L)		mgOD/L*s
0	0	0	0	9.37	4.247E-10	0	0	0
0.69	5	3.89	0.0144x - 0.032	9.37	4.24E-10	3.20	3.89	0.0144
4.13	30	23.33	0.0133x - 0.0434	9.39	4.09E-10	19.20	23.33	0.0133
12.25	89	69.22	0.0104x + 0.0108	9.35	4.50E-10	56.96	69.21	0.0104
27.53	200	155.54	0.0039x + 0.0542	9.31	4.93E-10	128.01	155.54	0.0039
41.30	300	233.31	0.0019x + 0.0141	9.28	5.26E-10	192.01	233.31	0.0019
55.06	400	311.08	0.0023x + 0.0067	9.27	5.32E-10	256.02	311.08	0.0023
68.83	500	388.85	0.0015x + 0.0122	9.25	5.67E-10	320.02	388.85	0.0015
82.59	600	466.62	0.001x + 0.0118	9.21	6.11E-10	384.03	466.62	0.001

Tabla 6.4. Determinación de NH₃ en el sistema microalgal de 415 mg/L, velocidad obtenida de las ecuaciones lineales a diferentes concentraciones de NH₄Cl

Pulsos con NH ₄ Cl								
[N]asim.	[NH ₄ ⁺]	[N]	y=mx + b			[N]	[NH ₃]	rO ₂
(mg/L)	(mg/L)		mgOD/L*s	pH prom	[H ⁺]	(mg/L)		mgOD/L*s
0	0	0	0	9.73	1.86E-10	0	0	0
1.10	8	6.22	0.008x - 0.0157	9.74	1.83E-10	5.12	6.22	0.008
4.13	30	23.33	0.0084x - 0.0323	9.72	1.88E-10	19.20	23.33	0.0084
13.77	100	77.77	0.0057x - 0.0032	9.69	2.03E-10	64.00	77.77	0.0057
41.30	300	233.31	0.002x + 0.0089	9.59	2.57E-10	192.01	233.31	0.002
68.83	500	388.85	0.0017x + 0.0027	9.39	4.04E-10	320.02	388.85	0.0017

Para determinar que tanto se aleja el rendimiento del CAM de sus valores óptimos iniciales conforme la concentración de NH₃ aumenta en su entorno, haciendo las condiciones menos favorables en este durante las pruebas experimentales, se determinó la eficiencia fotosintética, la cual expresa el número de fotones requeridos para liberar una molécula de O₂. La eficiencia fotosintética se determina como la relación del flujo de fotones absorbidos por el CAM y la tasa de producción de oxígeno por el CAM (Costache et al., 2013). El flujo de fotones absorbidos se obtiene por el producto de la irradiancia (I_{av}) promedio empleada en

el sistema y el coeficiente de extinción de biomasa ($k_a\lambda$), como lo describe la ecuación 6.8.

$$\psi = \frac{I_{av} * k_a \lambda}{r_{O_2}} \quad (6.8)$$

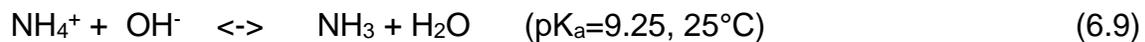
La irradiancia promedio empleada fue de 105.06 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ (sección 5.2) mientras que el coeficiente de extinción de la biomasa ($k_a\lambda$) es una constante de proporcionalidad que es específica de cada cromóforo (grupos funcionales de moléculas responsables de la absorción como C=N, N=N o triples enlaces) y que se obtiene por la ecuación de Lambert-Beer (ecuación 5.1), donde la pendiente (m) de la ecuación 5.4 ($0.5078 \text{ m}^3/\text{g}$) es el producto de $k_a\lambda$ y de la distancia que recorre la luz en la celda muestra del espectrofotómetro DR 5000 HACH empleado en la sección 5.2, cuya longitud de trayectoria es de 10 mm (0.01m) (Díaz et al.). El $k_a\lambda$ obtenido $0.05078 \text{ m}^2/\text{mg}$ se usa en la ecuación 6.8 y se obtiene la eficiencia fotosintética de cada valor de tasa de oxígeno producido de las tablas 6.2 – 6.4 tomando en cuenta las concentraciones de biomasa microalgal por cada prueba (560, 720 y 415 mg/L respectivamente), los datos de eficiencia fotosintética se reportan en la siguiente tabla:

Tabla 6.5. Determinación de la eficiencia fotosintética ψ de las pruebas experimentales

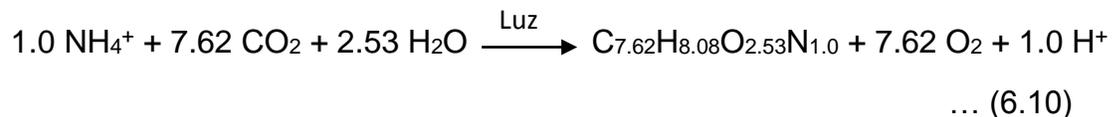
Prueba con 560 mg/L de biomasa			Prueba con 720 mg/L de biomasa			Prueba con 415 mg/L de biomasa		
r_{O_2}	$r_{O_2}/[X]$	ψ	r_{O_2}	$r_{O_2}/[X]$	ψ	r_{O_2}	$r_{O_2}/[X]$	ψ
$\text{mgO}_2/\text{L} \cdot \text{s}$	$\text{mgO}_2/\text{mg}[X]$	$\mu\text{mol}/\text{molO}_2$	$\text{mgO}_2/\text{L} \cdot \text{s}$	$\text{mgO}_2/\text{mg}[X]$	$\mu\text{mol}/\text{molO}_2$	$\text{mgO}_2/\text{L} \cdot \text{s}$	$\text{mgO}_2/\text{mg}[X]$	$\mu\text{mol}/\text{molO}_2$
0	0	-	0	0	-	0	0	-
0.0109	1.95E-05	8.77	0.0144	0.00002	8.54	0.008	1.93E-05	8.86
0.0064	1.14E-05	14.94	0.0133	1.8E-05	9.24	0.0084	2.02E-05	8.43
0.0047	8.39E-06	20.34	0.0104	1.4E-05	11.82	0.0057	1.37E-05	12.43
0.0045	8.04E-06	21.24	0.0039	5.4E-06	31.52	0.002	4.82E-06	35.42
0.0038	6.79E-06	25.16	0.0019	2.6E-06	64.69	0.0017	4.10E-06	41.68
0.0051	9.11E-06	18.75	0.0023	3.2E-06	53.44	-	-	-
0.0033	5.89E-06	28.97	0.0015	2.1E-06	81.94	-	-	-
0.0016	2.86E-06	59.75	0.001	1.4E-06	122.92	-	-	-

Se han reportado valores teóricos mínimos de ocho moles de fotones por molécula de oxígeno, el valor teórico óptimo para eficiencia fotosintética a una irradiancia de 148 $\mu\text{mol/molO}_2$ es de 10 moles de fotones/mol de O_2 (Costache & Fernández, 2013). Como se puede observar, los valores iniciales de eficiencia fotosintética están muy cercanos al valor óptimo teórico, mientras que conforme avanzan las pruebas de adición de amoníaco y la velocidad de producción de oxígeno disminuye, aumenta el flujo de fotones para producir un mol de O_2 aumentando la eficiencia fotosintética debido a la condición tóxica en que se encuentran las microalgas a causa del amoníaco (Azov & Goldman, 1982).

El sistema amoníaco protonado/amoniaco se expresa por medio de la ecuación 6.9:



En tanto que la ecuación 6.10 (Oswald et al., 1952) es una aproximación de la reacción representativa de la productividad de las microalgas, tomando en cuenta al amonio como la fuente de nitrógeno y la tasa de producción de oxígeno correspondiente



Para entender el sistema amoníaco protonado/amoniaco nos ayudamos de la ecuación 6.9 y de las ecuaciones 5.7 a 5.11 que ayudan a determinar el componente que predomina más, observando la dependencia del sistema $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ con respecto al pH (Azov & Goldman, 1982), anotando los resultados en las tablas 6.2, 6.3 y 6.4 lo que se observa es el predominio total de amoníaco sobre amonio a los pH's ahí registrados, asegurando así una inhibición para el crecimiento de las microalgas.

La inhibición apunta en la evidencia que el NH_3 desacopla el transporte de electrones en el fotosistema II del microorganismo por la descomposición de los

gradientes de protones necesarios para que se realice la fotofosforilación o habiendo una inhibición por medio de la competencia de NH_3 con H_2O en las reacciones de oxidación que conducen a la producción de O_2 (Azov & Goldman, 1982).

En un ambiente adecuado donde hay microorganismos de composición constante sin limitación de nutrientes y una concentración de alimento se usa una representación tipo, cuyo orden de reacción es 1:



En donde C es la concentración del microorganismo en el medio, A es un tipo de alimento, también llamado sustrato [S]. Si el alimento es adecuado, los microorganismos lo consumen, se multiplican y en el proceso producen un material de desecho llamado residual, R, o inhibidor, I.

La velocidad de crecimiento de las células, está dada por la siguiente ecuación de Monod como:

$$r_C = \frac{\mu_{\text{máx}}[S][X]}{[S] + k_s} \quad (6.12)$$

Donde

r_C = Velocidad de crecimiento de las células,

$\mu_{\text{máx}}$ = Es la velocidad máxima de crecimiento

[S] = Concentración del sustrato

[X] = Concentración de microorganismos

k_s = Constante de Monod, que es cuando la concentración de sustrato en la cual las células se reproducen a la mitad de su velocidad máxima.

A veces sucede que la presencia del residual R inhibe la acción de los microorganismos, no tomando en cuenta el alimento que aún queda disponible, llamándose este proceso como envenenamiento por el producto (Levenspiel, 2004).

Conforme se forman residuos R que perjudican el crecimiento de los microorganismos, llamándose también inhibidores [I], estos interfieren en que las células se multipliquen, de este modo la constante de velocidad de Monod que se observa disminuye con un aumento de [I]; por lo que la ecuación anterior de Monod se modifica con el siguiente término:

$$\mu_{obs} = \mu_{m\acute{a}x} \left(1 - \frac{[I]}{[I]^*}\right)^n \quad (6.13)$$

μ es la constante de velocidad en ausencia de la sustancia inhibidora, $[I]^*$ es la concentración del inhibidor en la que cesa toda actividad celular y n es el orden de la inhibición por producto. La ecuación, por lo tanto queda así:

$$r_C = \frac{\mu_{obs}[S][X]}{[S]+k_s} \quad (6.14)$$

Para la determinación del modelo cinético se toma como referencia la segunda ecuación del proceso de envenenamiento por producto, ya que al adicionar el sustrato NH_4^+ se genera en el medio NH_3 , por las razones expuestas anteriormente, que cesa la actividad de los microorganismos, por lo tanto NH_3 es considerado como el inhibidor.

Para ajustar la ecuación de velocidad de crecimiento de microorganismos a la velocidad de producción de O_2 se toma en cuenta el rendimiento de O_2 sobre biomasa microalgal $Y_{\text{O}_2/x}$ y la concentración [X] de biomasa microalgal. (Ver ecuación 6.15)

Con el uso del software OriginPro 8® se ajusta el modelo cinético propuesto así como también el valor de las constantes de la ecuación, obteniendo una ecuación hiperbólica tipo:

$$r_{O_2} = \mu_{m\acute{a}x} * \left(1 - \frac{[I]}{[I^*]}\right)^n * \left(\frac{[S]}{k_s + [S]}\right) * [X] * Y_{O_2/X} \quad (6.15)$$

Las constantes, valores de rendimiento y concentraciones de biomasa (X_1 , X_2 , X_3) por cada prueba, se reportan en la siguiente tabla en donde se especifican las constantes que fueron determinadas experimentalmente y las que fueron obtenidas por medio del ajuste de la ecuación:

Tabla 6.6. Valores de las constantes determinadas para la ecuación 6.15

Constantes	Valores	Unidades	Experimental	Ajuste
$Y_{O_2/X}$	1.47	(mgO ₂ /mgX)	X	
μ máx	8.67X10 ⁻⁶	(1/s)		X
$[X]_1$	560	(mg/L)	X	
$[X]_2$	720	(mg/L)	X	
$[X]_3$	415	(mg/L)	X	
k_s	0.01	(mg/L)		X
n	2			X
$[I^*]$	300	(mg/L)		X

Se hace uso de la ecuación cinética y las constantes obtenidas para comparar los resultados de las tres pruebas experimentales así como también se determinaron datos estadísticos como el promedio (\bar{x}), varianza (s^2) y desviación estándar (s) de las muestras con la finalidad de ver como las muestras están relacionadas, es decir, para ver la relación de la medias de las muestras de la ecuación ajustada con las medias de las muestras experimentales para observar la calidad del ajuste que describa la actividad fotosintética, para esto se utiliza el modelo t de Student para dos muestras; asumiendo una hipótesis donde no hay diferencia de medias:

$$H_0 = \mu_1 - \mu_2 = 0 = \Delta_0$$
$$H_a = \mu_1 - \mu_2 \neq 0 = \Delta_0$$

Con un nivel de confianza $(1-\alpha) = 0.99$, es decir con $\alpha = 0.01$ para emplear las ecuaciones para t de Student bilateral con grados de libertad: $n + n - 2 = 16$. Los resultados obtenidos entre el intervalo de confianza establecido para las tres pruebas experimentales afirma que los valores experimentales obtenidos se encuentran dentro del area de distribución normal, lo que ayuda a concluir a la hipótesis nula $H_0 = \mu_1 - \mu_2 = 0$, la cual afirma que si hay relación entre las dos poblaciones muestrales evaluadas (las muestras experimentales y las muestras de la ecuación ajustada), por tanto el modelo de ajuste describe la actividad fotosintética del CAM en presencia de amoníaco.

Para demostrar lo dicho anteriormente, se muestran las siguientes graficas donde se compara la relación de cada experimentación con los respectivos resultados obtenidos por el modelo cinetico ajustado.

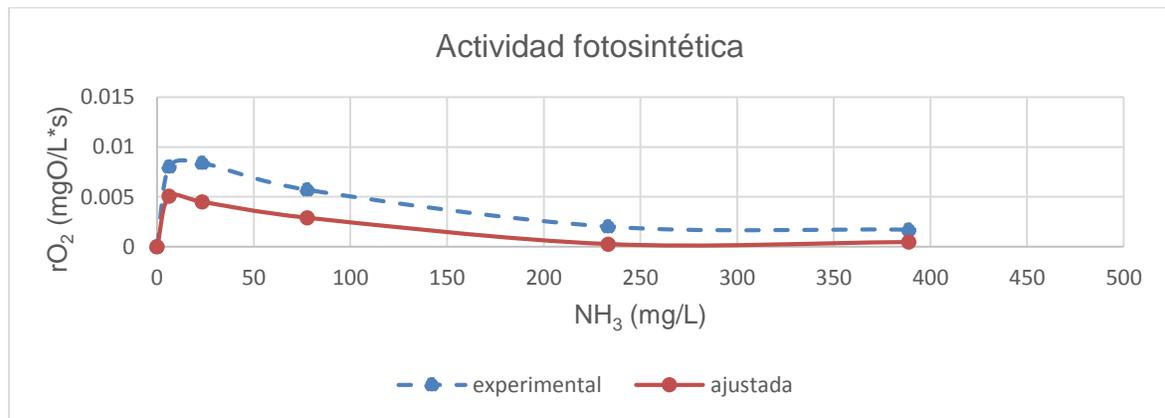
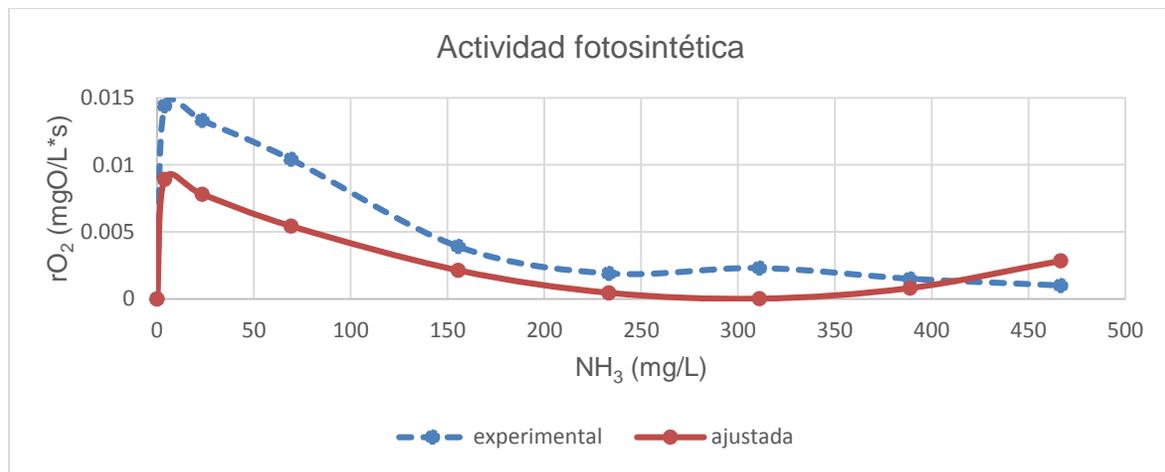
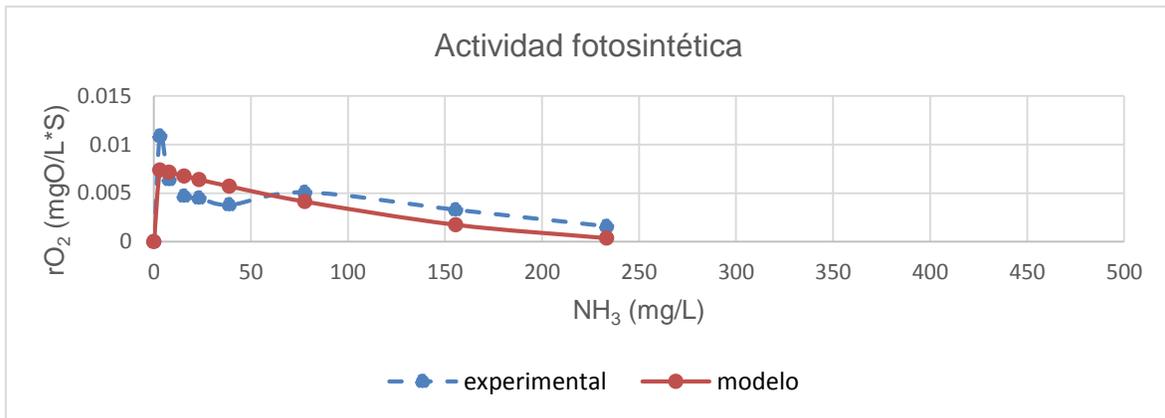


Figura 6.7. Datos experimentales y datos del modelo ajustado de la producción de OD del CAM vs el aumento de NH₃

CONCLUSIONES

- El amoníaco protonado contenido en efluentes de digestores anaerobios al llegar a un consorcio alcalófilo microalgal (CAM) de un reactor de lagunaje de alta carga (HRAP) llega al estado de equilibrio en el sistema amoníaco protonado/amoniaco en el que predominará el amoníaco pero este además de ser volátil en sistemas acuosos resulta perjudicial para el CAM; aproximadamente el 82% de nitrógeno disponible en el sistema acuoso por el amoníaco protonado está en forma de amoníaco en condiciones de pH mayores a 9, mientras que el 18% de nitrógeno es asimilado por el CAM.

- Con las pruebas experimentales hechas con base en concentraciones de NH_4^+ representativas de efluentes de digestores anaerobios en un sistema cerrado se observó que la actividad fotosintética del CAM disminuyó por concentraciones de amoníaco en un intervalo que va de 7.8 mg/L a 23 mg/L coincidiendo por lo reportado por (Nagasoe et al., 2010), así como también hubo un aumento en la eficiencia fotosintética debido a las condiciones adversas en el sistema causadas por el amoníaco.

- Se ajustó un modelo cinético con respecto a los experimentos para describir la actividad fotosintética del CAM ante la presencia del sistema $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ demostrando que el aumento de NH_4^+ inhibe la actividad fotosintética del consorcio microalgal en un sistema alcalino debido a la presencia de NH_3 .

- Se puede concluir que la mejor forma de administración de efluentes de digestores anaerobios con contenido amoniacal que descarguen en sistemas microalgales aerobios sería diluyendo los efluentes de digestatos y haciendo una descarga hacia el sistema aerobio del tipo batch para evitar problemas de toxicidad sobre el CAM.

Como perspectiva de este trabajo se puede emplear el modelo cinético ajustado para deducir el comportamiento de los microorganismos que sean expuestos a factores de alimentación parecidos al sistema $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$, cuyo sistema también resulta perjudicial para el CAM, es decir, a partir del modelo cinético se podría llegar a una velocidad de producción de los microorganismos deseada conociendo su comportamiento ante tales nutrientes, y que de este modo el modelo pueda funcionar para la especificación en el diseño de reactores biológicos, aunque habría que realizar más pruebas sobre su efectividad con otros microorganismos u otros nutrientes que actúen también como inhibidores en los sistemas microalgales.

GLOSARIO

Adsorción: Es el fenómeno de superficie que consta en la acumulación de un gran número de especies moleculares en la superficie de la fase sólida o líquida en comparación con el volumen, este proceso se da debido a la presencia de fuerzas residuales o no balanceadas en la superficie de la fase sólida o líquida, cuya tendencia de estas fuerzas es atraer y retener las especies moleculares con las que se ponen en contacto con la superficie.

Adsorption and its Types | Chemistry Learning. Chemistrilearning.com.
<http://www.chemistrylearning.com/adsorption/>

Amortiguadora, disolución (búfer): Es una disolución de un ácido débil o una base débil y su sal, dicha disolución tiene la capacidad de resistir los cambios de pH cuando se agregan pequeñas cantidades de ácido o de base. La disolución amortiguadora debe contener una concentración relativamente grande de ácido para reaccionar con los iones OH^- que se le añadan, y también debe tener una concentración semejante de base para neutralizar los iones H^+ que se le agreguen. (Chang & College, 2002)

Asociación simbiótica: Asociación de dos individuos con la finalidad de que ambos, o al menos uno de ellos, obtenga un beneficio de esta unión. Hay tres tipos de relaciones simbióticas: mutualismo, comensalismo y parasitismo.

Ejemplo de Simbiosis. ejemplode.com http://www.ejemplode.com/36-biologia/3677-ejemplo_de_simbiosis.html

Bagazo: Es un subproducto de la industria (cervecera, azucarera, etc.) que resulta del prensado y filtración del mosto obtenido después de ña sacarificación del grano de cereal (cebada, trigo, etc.), es un subproducto húmero, cuyo contenido en materia seca es de un 20-25%, y dicha materia es rica en proteínas (24-26% sobre materia seca).

Bagazo de cerveza húmero | FEDNA. Fundaciónfedna.org.
http://www.fundacionfedna.org/subproductos_fibrosos_humedos/bagazo-de-cerveza-h%C3%BAmedo

Betaina: ($\text{C}_5\text{H}_{12}\text{NO}_2$) es un trimetil derivado de la glicina y se extrae de la melaza de remolacha mediante proceso químico. Es utilizada por las células de los organismos vegetales como regulador de la presión osmótica.

Fuentes de betaína| FEDNA. Fundaciónfedna.org.
http://www.fundacionfedna.org/ingredientes_para_piensos/fuentes-de-betaina

Biorremediación: Es el proceso de emplear organismos para neutralizar o remover contaminantes de los desechos, la idea de este proceso es no utilizar sustancias químicas que sean tóxicas, las cuales son reemplazadas por microorganismos.

What is Bioremediation? – Conserve Energy Future. Conserve Energy Future.
<http://www.conserve-energy-future.com/what-is-bioremediation.php>

Cianobacterias: Son microorganismos acuáticos y fotosintéticos, tienen tanto características algales y bacteriales, es decir, como otras bacterias no tienen núcleo o sistemas de membrana internos son muy pequeñas y unicelulares usualmente, además de que tienen la distinción de ser los fósiles más viejos que se conocen.

Life History and Ecology of Cyanobacteria. Ucmp.berkeley.edu.
<http://www.ucmp.berkeley.edu/bacteria/cyanolh.html>

Consorcio (microbiología): Se hace referencia a comunidades microbianas capaces de colonizar determinados sistemas en conjunto, otorgándoles un beneficio a los microorganismos involucrados formando una relación simbiótica. (García-Cruz, 2015)

Demanda bioquímica de oxígeno (DBO): Estimación de la cantidad de oxígeno que requiere una población microbiana heterogénea para oxidar la materia orgánica de una muestra de agua en un periodo de 5 días. Ref (Nmx-Aa-028-Scfi, 2001)

Demanda química de oxígeno (DQO): La demanda química de oxígeno (DQO) determina la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la materia orgánica en una muestra de agua residual, bajo condiciones específicas de agente oxidante, temperatura y tiempo. Ref.(AWWA, 1999)

Depuración química: Son tecnologías para el control de olores, la tecnología consiste en que los compuestos mal olientes se absorben en el líquido depurador, donde se oxidan y/o eliminan del depurador como una corriente de exceso de flujo. Los químicos empleados en la solución líquida para oxidar son sulfuro de hidrógeno, hipoclorito de sodio (blanqueador) e hidróxido de sodio.

Chemical Scrubbers – Webster Environmental Associates, Inc. Webster Environmental Associates, Inc. <http://www.odor.net/chemical-scrubbers/>

Digestato: Es una sustancia rica en nutrientes producida por la digestión anaerobia y que se puede utilizar como fertilizante, los nutrientes que más predominan en el digestato son: nitrógeno, fósforo y potasio.

Digestate | Anaerobic Digestion. Biogas-info.co.uk. <http://www.biogas-info.co.uk/about/digestate/>

Espectrofotómetro: Es un equipo de laboratorio que mide la cantidad de luz que pasa por medio de una longitud de onda específica. La cantidad de luz absorbida por un medio es proporcional a la concentración del soluto presente, de este modo la concentración de un soluto colorido en disolución puede ser determinada en el laboratorio mediante la medición de su absorción de luz a una longitud de onda específica.

Espectrofotómetro óptica. Espectrofotómetro|espectrofotometría| Laboratorio de metrología. Calibración.com.mx <http://www.calibracion.com.mx/espectrofotometro.html>

Eutrofización (Eutroficación): Es un proceso provocado por un exceso de nutrientes en el agua, principalmente nitrógeno y fósforo, a un ritmo tal que no puede ser compensado por la mineralización total, de manera que la descomposición del exceso de materia orgánica produce una disminución de oxígeno en las aguas profundas.

Cricyt.edu.ar. <http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Eutrofizac.htm>

Homesotaxis: Característica de un sistema abierto o cerrado o conjugación entre ambos, especialmente en un sistema vivo, mediante la cual se regula el ambiente interno para mantener una condición estable y constante.

Definición. Objetos.unam.mx.

<http://objetos.unam.mx/biologia/homeostasis/sitio/definicion.html>

Lixiviación: Es el fenómeno de desplazamiento de sustancias solubles o dispersables (arcilla, sales, hierro, humus) causado por el movimiento de agua en el suelo, por lo tanto es característico de climas húmedos. El fenómeno provoca que algunas capas de suelo pierdan sus compuestos nutritivos, se vuelvan más ácidas y por tanto, en algunas veces se origine toxicidad.

The leaching process. Leaching.net. <http://www.leaching.net/leaching/the-leaching-process/>

Melanoidina: Compuestos poliméricos color café formados durante la última etapa de la reacción de Maillard, estos compuestos influyen en el color, sabor y textura de los alimentos sometidos a temperaturas altas, tienen actividad oxidante.

(Pérez-Hernández et al., 2012)

Melaza de caña: Es un líquido denso y negro que se constituye por el residuo que permanece en las cubas después de la extracción de la mayor parte de azúcares de remolacha y caña por cristalización y centrifugación. Son concentrados de carbohidratos.

Melazas de caña | FEDNA. Fundaciónfedna.org.

http://www.fundacionfedna.org/ingredientes_para_piensos/melazas-de-ca%C3%B1a

Microalgas: Es un grupo de microorganismos fotosintéticos que dependen de la energía luminosa para sintetizar sustratos inorgánicos como el CO₂ en carbohidratos, miden aproximadamente de 2 a 50 µm, dicho término no pertenece formalmente a una taxonomía (clasificación), ya que hace referencia a un grupo de organismos de linaje evolutivo diferente, ya sea procariontes o eucariontes. El término se encuentra ligado al desarrollo biotecnológico donde hace referencia a microorganismos que contienen clorofila *a* y otros pigmentos fotosintéticos, ya que son capaces de realizar fotosíntesis oxigénica. (García-Cruz, 2015)

Nitrógeno total: Es la suma de los nitrógenos amoniacal y orgánico presentes en la muestra, conocido como nitrógeno Kjeldahl.

Secretaría de comercio y fomento industrial. Protección del suelo-residuos sólidos municipales-Determinación de nitrógeno total. NMX-AA-24-1984. México. D.F., 1984.

Orden de reacción: Se refiere a las expresiones de velocidad determinadas experimentalmente, puede tener un valor fraccionario y no tiene por qué ser un número entero; es el exponente al que están elevadas las concentraciones en una expresión del tipo:

$-r_A = kC_A^a C_B^b \dots$ que sería de orden *a* con respecto a A y orden *b* con respecto a B.

Levenspiel Octave. Ingeniería de las reacciones químicas. Tercera edición. México. Limusa Wiley. 2004. P. 16

pK_a: Logaritmo negativo de la constante de ionización K_a, indica que tan fuertes o débiles son los ácidos, es decir, entre más fuerte sea el ácido, o sea, que entre más grande sea el valor de la constante de ionización K_a, menor será el pK_a. Estos valores provienen de la ecuación de la constante de equilibrio. (Raymond & College, 2002).

Reacción de Maillard: Es una reacción de pardeamiento (caramelización) no enzimática, responsable de la formación del sabor y aroma de los alimentos, tiene como base la interacción entre azúcares reductores y aminoácidos libres o grupos aminos

terminales de las proteínas. Este tipo de reacciones es influenciado por factores como temperatura, pH, tiempo, actividad del agua y concentración de reactantes.

(Miranda & Ventura, 2006)

Recalcitrante, compuestos: Compuestos no biodegradables o de degradación (rebajar) lenta para los microorganismos en la naturaleza, no sirven como fuente de carbono o de energía para el crecimiento microbiano.

Libros. Biblioweb.tic.unam.mx| <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap2/>

Sólidos Suspendidos Totales: Sólidos constituidos por sólidos sedimentables, sólidos en suspensión y sólidos coloidales, cuyo tamaño de partícula no pase del filtro estándar de fibra de vidrio.

Secretaría de gobernación. Análisis de agua. Determinación de sólidos. Norma oficial mexicana NOM-AA.34-1976. México. D.F. 1976.

REFERENCIAS

- Abeliovich, A., & Azov, Y. (1976). Toxicity of ammonia to algae in sewage oxidation ponds. *Applied and Environmental Microbiology*, 31(6), 801–806.
- Abril, N., Bárcena, J., Fernández, E., Galván, A., Jorrín, J., Peinado, J., Meléndez-Valdés, T., & Túnez, I. 8. Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas.
- Aiba, S., & Ogawa, T. (1977). Assessment of Growth Yield of a Blue-green Alga , *Spirulina platensis*, in Axenic and Continuous Culture. *Journal of General Microbiology*, 102(2), 179–182.
- Anderson, R. A. (2005). *Algal Culturing Techniques, 1st Edition. Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53). 1-596.
- American Water Work Association. Water Environment Federation. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Part 1000 AWWA. USA 1999.*
- Azov, Y., & Goldman, J. (1982). Free ammonia inhibition of algal photosynthesis in intensive cultures. *Applied and Environmental Microbiology*, 43(4), 735–739.
- Bahr, M., Ignacio, D., Dominguez, A., Gonza, A., & Mun, R. (2014). Microalgal-Biotechnology as a Platform for an Integral Biogas Upgrading and Nutrient Removal from Anaerobic Effluents. *Environmental Science & Technology*, 48, 573-581.
- Bendixen, R., Gerendás, J., Schinner, K., Sattelmacher, B., & Hansen, U. P. (2001). Difference in zeaxanthin formation in nitrate- and ammonium-grown *Phaseolus vulgaris*. *Physiologia Plantarum*, 111(2), 255–261.
- Camiro-Vargas, T. K., Hernández-Ayón, J. M., Valenzuela-Espinoza, E., Delgadillo-Hinojosa, F., & Cajal-Medrano, R. (2005). Dissolved inorganic carbon uptake by *Rhodomonas* sp. and *Isochrysis* aff. *galbana* determined by a potentiometric technique. *Aquacultural Engineering*, 33(2), 83–95.

- Carpenter, S. R., & N. F. Caraco, D. L. Correll, R. W. Howarth, A. N. Sharpley, V. H. S. (1998). Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecological Applications*, 8(1998), 559–568.
- Carvalho, J. C. M., Francisco, F. R., Almeida, K. A., Sato, S., & Converti, A. (2004). Cultivation of arthrospira (*spirulina*) by fed-batch addition of ammonium chloride at exponentially increasing feeding rates. *Journal of Phycology*, 40(3), 589–597.
- Casablanco, F., & López, J. Ingeniería Bioquímica. Editorial Síntesis. España. 1998. Pp. 79-88.
- Chang, R. & College, W. (2002). *Raymond Chang Química General 7ª Edición. México. McGrawHill.*
- Chen, W., Tong, H., & Liu, H. (2012). Effects of nitrate on nitrite toxicity to *Microcystis aeruginosa*. *Marine Pollution Bulletin*, 64(6), 1106–1111.
- Chi, Z., O'Fallon, J. V., & Chen, S. (2011). Bicarbonate produced from carbon capture for algae culture. *Trends in Biotechnology*, 29(11), 537–541.
- Collos, Y., & Harrison, P. J. (2014). Acclimation and toxicity of high ammonium concentrations to unicellular algae. *Marine Pollution Bulletin*, 80(1–2), 8–23.
- Collos, Y., & Slawyk, G. (1984). 13C and 15N uptake by marine phytoplankton. III Interactions in euphotic zone profiles of stratified oceanic areas. *Marine Ecology Progress Series*, 19, 223–231.
- de los Cobos-Vasconcelos, D., García-Cruz, E. L., Franco-Morgado, M., & González-Sánchez, A. (2016). Short-term evaluation of the photosynthetic activity of an alkaliphilic microalgae consortium in a novel tubular closed photobioreactor. *Journal of Applied Phycology*, 28(2), 795–802.
- Costache, T., Acién-Fernández, F., Morales, M., Fernández-Sevilla, J., Stamatini, I. & Molina, E., (2013). Comprehensive model of microalgae photosynthesis rate as a function of culture conditions in photobioreactors. *Appl Microbiol Biotechnol*, 97, 7627-7637.
- Drath, M., Kloft, N., Batschauer, A., Marin, K., Novak, J., & Forchhammer, K. (2008). Ammonia triggers photodamage of photosystem II in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *Plant Physiology*, 147(1), 206–15.

- España-Gamboa, E., Mijangos-Cortes, J., Barahona-Perez, L., Dominguez-Maldonado, J., Hernández-Zarate, G., & Alzate-Gaviria, L. (2011). Vinasses: characterization and treatments. *Waste Management & Research : The Journal of the International Solid Wastes and Public Cleansing Association, ISWA*, 29(12), 1235–50.
- Florencia, F. J. (1999). Biología molecular de la asimilación de amonio en cianobacterias. *Biotecnología Y Aplicaciones de Microorganismos Pigmentados*, 147–167.
- Francisca Kalavathi, D., Uma, L., & Subramanian, G. (2001). Degradation and metabolization of the pigment - Melanoidin in distillery effluent by the marine cyanobacterium *Oscillatoria boryana* BDU 92181. *Enzyme and Microbial Technology*, 29(4–5), 246–251.
- García-Cruz, E. L. (2015). *Evaluación del crecimiento de consorcios de microalgas alcalófilas en fotobiorreactores con potencial de aplicación en el enriquecimiento de biogas*. UNAM-Tesis Digitales.
- Giordano, M., Norici, A., Forssen, M., Eriksson, M., Raven, J. A., Marche, P., & Bianche, V. B. (2003). An Anaplerotic Role for Mitochondrial Carbonic Anhydrase in *Chlamydomonas reinhardtii* 1 (132), 2126–2134.
- González-Sánchez, A., & Revah, S. (2007). The effect of chemical oxidation on the biological sulfide oxidation by an alkaliphilic sulfoxidizing bacterial consortium. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(2), 292–298.
- Grobbelaar, J. U. (2013). Inorganic Algal Nutrition. *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*, 13-34.
- Gupta, P. L., & Choi, S. L. H. (2015). A mini review : photobioreactors for large scale algal cultivation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(9), 1409–1417.
- Hargreaves, J. A., & Tucker, C. S. (2004). Managing Ammonia in Fish Ponds. *Southern Regional Aquaculture Center*, (4603), 1-6.
- Hattori, A., (1958). STUDIES ON THE METABOLISM OF UREA AND OTHER NITROGENOUS COMPOUNDS IN II . CHANGES ON LEVELS OF AMINO

ACIDS AND AMIDES DURING THE ASSIMILATION OF AMMONIA AND UREA BY NITROGEN-STARVED CELLS *. *The Journal of Biochemistry*, 45(1), 57–65.

- Jain, N., Bhatia, a., Kaushik, R., Kumar, S., Joshi, H. C., & Pathak, H. (2005). Impact of post-methanation distillery effluent irrigation on groundwater quality. *Environmental Monitoring and Assessment*, 110(1–3), 243–255.
- Jin, H. F., Santiago, D., Park, J., & Lee, K. (2008). Enhancement of nitric oxide solubility using Fe(II)EDTA and its removal by green algae *Scenedesmus* Sp. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 13(1), 48–52.
- Källqvist, T., & Svenson, A. (2003). Assessment of ammonia toxicity in tests with the microalga, *Nephroselmis pyriformis*, Chlorophyta. *Water Research*, 37(3),
- Kao, C. Y., Chiu, S. Y., Huang, T. T., Dai, L., Hsu, L. K., & Lin, C. S. (2012). Ability of a mutant strain of the microalga *Chlorella* sp. to capture carbon dioxide for biogas upgrading. *Applied Energy*, 93, 176–183.
- Keyser, M., Witthuhn, R. C., Ronquest, L. C., & Britz, T. J. (2003). Treatment of winery effluent with upflow anaerobic sludge blanket (UASB)--granular sludges enriched with *Enterobacter sakazakii*. *Biotechnology Letters*, 25(22), 1893–1898.
- Kim, W., Min, J., Geun, P., Gim, H., Si, D. K., & Kim, W. (2012). Optimization of culture conditions and comparison of biomass productivity of three green algae, 19–27.
- Kumar, V., Wati, L., FitzGibbon, F., Nigam, P., Banat, I. M., Singh, D., & Marchant, R. (1997). Bioremediation and decolorization of anaerobically digested distillery spent wash. *Biotechnology Letters*, 19(4), 311–313.
- Levenspiel Octave. Ingeniería de las reacciones químicas. Tercera edición. México. Limusa Wiley. 2004. Pp. 631-661.
- Markou, G., Vandamme, D., & Muylaert, K. (2014). Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients. *Water Research*, 65, 186–202.
- Meier, L., Pérez, R., Azócar, L., Rivas, M., & Jeison, D. (2014). Photosynthetic CO₂ uptake by microalgae : An attractive tool for biogas upgrading. *Biomass and*

Bioenergy, 73(2015), 102-109.

- Miranda, G., & Ventura, J. (2006). Actividad citotóxica y antioxidante de los productos de la reacción de Maillard de los sistemas modelo D-glucosa – glicina y D-glucosa – L-lisina. *Rev Soc Quím Perú*, 73 (4), 215-225.
- Mohana, S., Acharya, B. K., & Madamwar, D. (2009). Distillery spent wash : Treatment technologies and potential applications. *Journal of Hazardous Materials*. 163 (2009), 12–25.
- Muñoz, R., & Guieysse, B. (2006). Algal – bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants : A review. *Water research*, 40(2006), 2799–2815.
- Nagase, H., Yoshihara, K. I., Eguchi, K., Yokota, Y., Matsui, R., Hirata, K., & Miyamoto, K. (1997). Characteristics of biological NOx removal from flue gas in a *Dunaliella tertiolecta* culture system. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 83(5), 461–465.
- Nagasoe, S., Shikata, T., & Yamasaki, Y. (2010). Effects of nutrients on growth of the red-tide dinoflagellate *Gyrodinium instriatum* Freudenthal et Lee and a possible link to blooms of this species, 225–238.
- Nandy, T., Shastry, S., & Kaul, S. N. (2002). Wastewater management in a cane molasses distillery involving bioresource recovery. *Journal of Environmental Management*, 65(1), 25–38.
- Nmx-Aa-028-Scfi. (2001). *Análisis De Agua - Determinación De La Demanda Bioquímica De Oxígeno En Aguas Naturales, Residuales (Dbo5) Y Residuales Tratadas - Método De Prueba (Cancela a La Nmx-Aa-028-1981) Water. Secretaria De Economía.*
- Pérez, E., & Carril, U. (2009). Fotosíntesis: Aspectos Básicos. *Serie Fisiología Vegetal*, 2(3), 1-47.
- Perez-Garcia, O., Escalante, F., Luz, E., & Bashan, Y. (2010). Heterotrophic cultures of microalgae : Metabolism and potential products. *Water Research*, 45(1), 11–36.
- Pérez-Hernández, L. M., Chávez-Quiroz, K., Medina-Juárez, L. Á., & Gámez Meza, N. (2012). Antioxidante de café verde y procesado de las especies *Coffea*

- arabica Y Coffea canephora. *Biotechnia*, 15, 51–56.
- Posadas, E., Serejo, M. L., Blanco, S., Pérez, R., García-encina, P. A., & Muñoz, R. (2015). Minimization of biomethane oxygen concentration during biogas upgrading in algal – bacterial photobioreactors. *ALGAL*, 12, 221–229.
- Posten, C. (2009). Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae. *Engineering in Life Sciences*, 9(3), 165–177.
- Price, G. D., Badger, M. R., Woodger, F. J., & Long, B. M. (2008). Advances in understanding the cyanobacterial CO₂ - concentrating-mechanism (CCM): functional components , Ci transporters , diversity , genetic regulation and prospects for engineering into plants, 59(7), 1441–1461.
- Quevedo, C., Morales, V., & Acosta, A., (2008). CRECIMIENTO DE Scenedesmus sp EN DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO PARA LA Scenedesmus sp GROWTH IN DIFFERENT CULTURE mediums. *Vitae, Revista de La Fac. de Medicina Farmaceutica*, 15(1), 25–31.
- Rajasundari, K., & Murugesan, R. (2011). Decolourization of Distillery Waste Water – Role of Microbes and their Potential Oxidative Enzymes (Review), 1(4), 54–68.
- Ramana, S., Biswas, A. K., Singh, A. B., & Yadava, R. B. R. (2002). Relative efficacy of different distillery effluents on growth, nitrogen fixation and yield of groundnut. *Bioresource Technology*, 81(2), 117–121.
- Ryckebosch, E., Drouillon, M., & Vervaeren, H. (2011). Techniques for transformation of biogas to biomethane. *Biomass and Bioenergy*, 35(5), 1633–1645.
- Sharma, S., Sharma, A., Singh, P. K., Soni, P., Sharma, S., Sharma, P., & Sharma, K. P. (2007). Impact of distillery soil leachate on haematology of Swiss albino mice (*Mus musculus*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 79(3), 273–277.
- Smith, D. C. (1978). From extracellular to intracellular: the establishment of a symbiosis. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 204, 115-130.
- Sorokin, D. Y., Lysenko, A. M., Mityushina, L. L., Tourova, T. P., Jones, B. E.,

- Rainey, F. A., & Kuenen, G. J. (2001). nov . and Thioalkalimicrobium sibericum sp . nov ., and Thioalkalivibrio versutus gen . nov ., sp . nov ., Thioalkalivibrio nitratis sp . nov . and Thioalkalivibrio denitrificans sp . nov ., novel obligately alkaliphilic and obligately chemolithoautotroph. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51, 565–580.
- Spotte, S., & Adams, G. (1983). Estimation of the allowable upper limit of ammonia in saline waters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 10(1978), 207–210.
- Syrett, P. J., & Morris, I. (1962). The inhibition of nitrate assimilation by ammonium in chlorella. *Biochimica et biophysica.acta*, 566, 1-4.
- Tarik, Z. (2008). Microalgae Grown in Photobioreactors for Mass Production of Biofuel. *Engineering*, 178–214.
- Thompson, P. A., Levasseur, M. E., & Harrison, P. J. (1989). Light-limited growth on ammonium vs . nitrate : What is the advantage for marine phytoplankton ?, 34(6), 1014–1024.
- Tippayawong, N., & Thanompongchart, P. (2010). Biogas quality upgrade by simultaneous removal of CO₂ and H₂S in a packed column reactor. *Energy*, 35(12), 4531–4535.
- Grobbelaar, J., (2004). Part II Mass Cultivation of Microalgae 6 Algal Nutrition Mineral Nutrition. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. 97-115
- Yang, S., Wang, J., Cong, W., Cai, Z., & Ouyang, F. (2004). Utilization of nitrite as a nitrogen source by *Botryococcus braunii*. *Biotechnology Letters*, 26(3), 239–243.
- Yeh, K. L., Chang, J. S., & Chen, W. M. (2010). Effect of light supply and carbon source on cell growth and cellular composition of a newly isolated microalga *Chlorella vulgaris* ESP-31. *Engineering in Life Sciences*, 10(3), 201–208.

APÉNDICES

NORMA MEXICANA

NORMA OFICIAL MEXICANA NO-001-SEMARNAT-1996, QUE ESTABLECE LOS LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE CONTAMINANTES EN LAS DESCARGAS DE AGUAS RESIDUALES EN AGUAS Y BIENES NACIONALES.

LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES PARA CONTAMINANTES BÁSICOS																					
PARÁMETROS (miligramos por litro, excepto cuando se especifique)	RÍOS						EMBALSES NATURALES Y ARTIFICIALES				AGUAS COSTERAS						SUELO		HUMEDALES NATURALES (B)		
	Uso en riego agrícola (A)		Uso público urbano (B)		Protección de vida acuática (C)		Uso en riego agrícola (B)		Uso público urbano (C)		Explotación pesquera, navegación y otros usos (A)		Recreación (B)		ESTUARIOS (B)		Uso en riego agrícola (A)		HUMEDALES NATURALES (B)		
	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	
Temperatura °C (1)	N.A.	N.A.	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	N.A.	N.A.	40	40
Grasas y Aceites (2)	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	15	25	
Materia Flotante (3)	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	
	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	
Sólidos Sedimentables (ml/l)	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	N.A.	N.A.	1	2	
Sólidos Suspendidos Totales	150	200	75	125	40	60	75	125	40	60	150	200	75	125	75	125	N.A.	N.A.	75	125	
Demanda Bioquímica de Oxígeno	150	200	75	150	30	60	75	150	30	60	150	200	75	150	75	150	N.A.	N.A.	75	150	
Nitrógeno Total	40	60	40	60	15	25	40	60	15	25	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	15	25	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	
Fósforo Total	20	30	20	30	5	10	20	30	5	10	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	5	10	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	

(1) Instantáneo

(2) Muestra Simple Promedio Ponderado

(3) Ausente según el Método de Prueba definido en la NMX-AA-006.

P.D. = Promedio Diario; P.M. = Promedio Mensual;

N.A. = No es aplicable.

(A), (B) y (C): Tipo de Cuerpo Receptor según la Ley Federal de Derechos.

FICHAS TÉCNICAS DE REACTIVOS

AMONIACO NH₃

FORMULA: NH₃

PESO MOLECULAR: 17.03 g/mol

COMPOSICION: N: 82.25 % y H: 17.75 %

GENERALIDADES:

El amoníaco es un gas incoloro con olor característico, muy soluble en agua. Sus disoluciones acuosas son alcalinas y tienen un efecto corrosivo frente a metales y tejidos.

El pH de disoluciones acuosas 0.1 M es de 11.2, característico de una base débil (pKa= 9.4).

El gas es más ligero que el aire, sin embargo en fugas, los vapores llenan por completo la parte cercana al suelo. En caso de fuga o descompresión rápida de este gas, existe el riesgo de congelamiento por contacto debido a que se almacena a presión como líquido. La fórmula química de la disolución acuosa de amoníaco que denominamos comúnmente "hidróxido de amonio", ha sido controvertida. Se ha demostrado experimentalmente que la fracción de NH₄OH es despreciable en dichas disoluciones. La forma correcta de escribir la fórmula es NH₃(ac). Sin embargo, por tradición, se sigue hablando de "hidróxido de amonio, NH₄OH", porque en esa forma es más fácil subrayar las propiedades alcalinas de las disoluciones de amoníaco.

La forma correcta de escribir la ionización del amoníaco en disoluciones acuosas, de acuerdo con el modelo de Brönsted es:



PROPIEDADES FÍSICAS Y TERMODINÁMICAS:

ANHIDRO:

Punto de ebullición: -33.35 oC

Punto de congelación: -77.7 oC

Densidad (líquido): 0.6818 (-33.35 oC y 1 atm);

0.6585 (-15 oC y 2.332 atm); 0.6386 (0 oC y 4.238 atm); 0.6175 (15 oC y 7.188 atm); 0.5875 (35 oC y 13.321 atm).

Densidad de vapor (aire= 1): 0.6

Presión de vapor (a 25.7 oC): 760 mm de Hg

Límites de explosividad: 16-25 %

Solubilidad: muy soluble en etanol, cloroformo y éter etílico

Solubilidad en agua (% en peso): 42.8 (0 oC), 33.1 (20 oC), 23.4 (40 oC), 14.1 (60 oC)

Temperatura crítica: 133 oC

Presión crítica: 11.425 KPa

Calor específico (J/Kg K): 2097.2 (0oC), 2226.2 (100 oC) y 2105.6 (200 oC)

Calor de formación del gas (KJ/mol): -39.222 (0 K) y -46.222 (298 K)

Calor de vaporización: 5.581 Kcal/mol

Capacidad calorífica (25 oC): 8.38 cal/mol/grado.

Tomado de: <http://www.quimica.unam.mx/IMG/pdf/18amoniaco.pdf>

COLORURO DE AMONIO (NH₄Cl)

Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

Forma	Polvo cristalino
Color	blanco
Olor	inodoro
Umbral olfativo	No aplicable
pH	aprox. 4,7 a 200 g/l 25 °C (Ficha de datos de Seguridad externa)
Punto de fusión	338 °C (sublimado), (Ficha de datos de Seguridad externa)
Punto /intervalo de ebullición	No aplicable
Punto de inflamación	No aplicable
Tasa de evaporación	No hay información disponible.
Inflamabilidad (sólido, gas)	El producto no es inflamable.
Límite de explosión, inferior	No hay información disponible.
Límite de explosión, superior	No hay información disponible.
Presión de vapor	66 hPa a 250 °C (Ficha de datos de Seguridad externa) 1,3 hPa a 30 °C
Densidad relativa del vapor	No hay información disponible.
Densidad	1,53 g/cm ³ a 25 °C
Densidad relativa	No hay información disponible.
Solubilidad en agua	372 g/l a 20 °C (Ficha de datos de Seguridad externa)
Coefficiente de reparto n-octanol/agua	log Pow: -3,2 (25 °C) (experimentalmente) (ECHA) No es de esperar una bioacumulación.

Possibilidad de reacciones peligrosas

Posibles reacciones violentas con:

hidróxidos alcalinos, ácidos

Peligro de ignición o de formación de gases o vapores combustibles con:

halogenuros de halógeno, Alcalis, sustancias alcalinas

Riesgo de explosión con:

nitratos, cloratos, Sales de metales pesados, nitritos, Ácido cianhídrico (cianuro de hidrógeno), Cloro, sal de plata, Agentes oxidantes fuertes

Condiciones que deben evitarse

información no disponible

Materiales incompatibles

Aluminio, Plomo, Hierro, Cobre, compuestos de cobre

Tomada de: www.merck-chemicals.com