



UNIVERSIDAD REGIONAL AMAZÓNICA IKIAM

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

**EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE NITRATOS, FOSFATOS Y AMONIO DE
AGUAS RESIDUALES PORCINAS MEDIANTE UN SISTEMA CONTINUO CON**

Arthrospira platensis

Proyecto de investigación previo a la obtención del Título de:

INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

AUTORES:

JOMELY ESTEFANÍA CUNGUÁN MORILLO

ISMAEL FELIPE PRADO GUEVARA

TUTOR: Ph.D. JORGE CELI

Tena - Ecuador

2024

Carrera de Biotecnología

Declaración de derecho de autor, autenticidad y responsabilidad

Tena, 28 de agosto de 2024

Yo, Jomely Estefania Cunguán Morillo, con documento de identidad 1724847122, declaro que los resultados obtenidos en la investigación que presento en este documento final, previo a la obtención del título “Evaluación de la remoción de nitratos, fosfatos y amonio de aguas residuales porcinas mediante un sistema continua con *Arthrospira platensis*”, son absolutamente inéditos, originales y personales.

En virtud de lo cual, el contenido, criterios, opiniones, resultados, análisis, interpretaciones, conclusiones, recomendaciones y todos los demás aspectos vertidos en la presente investigación son de mi autoría y de mi absoluta responsabilidad.

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized 'J' and 'C' that encircle the name 'JOMELY CUNGUÁN' written in capital letters.

Jomely Estefania Cunguán Morillo

C.I: 1724847122

Carrera de Biotecnología

Declaración de derecho de autor, autenticidad y responsabilidad

Tena, 28 de agosto de 2024

Yo, Ismael Felipe Prado Guevera, con documento de identidad 0402045520, declaro que los resultados obtenidos en la investigación que presento en este documento final, previo a la obtención del título “Evaluación de la remoción de nitratos, fosfatos y amonio de aguas residuales porcinas mediante un sistema continua con *Arthrospira platensis*”, son absolutamente inéditos, originales y personales.

En virtud de lo cual, el contenido, criterios, opiniones, resultados, análisis, interpretaciones, conclusiones, recomendaciones y todos los demás aspectos vertidos en la presente investigación son de mi autoría y de mi absoluta responsabilidad.



Ismael Felipe Prado Guevera

C.I: 0402045520

Carrera de Biotecnología

Autorización de Publicación en el Repositorio y Responsabilidad

Tena, 28 de agosto de 2024

Yo, Jomely Estefania Cungupan Morillo, con documento de identidad 1724847122 en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación título “Evaluación de la remoción de nitratos, fosfatos y amonio de aguas residuales porcinas mediante un sistema continua con *Arthrospira platensis*”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN, reconozco a favor de la Universidad Regional Amazónica Ikiam una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Así mismo autorizo a la Universidad Regional Amazónica Ikiam para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el Art. 114 de la Ley orgánica de Educación Superior.



Jomely Estefania Cunguan Morillo

C.I: 1724847122

Carrera de Biotecnología

Autorización de Publicación en el Repositorio y Responsabilidad

Tena, 28 de agosto de 2024

Yo, Ismael Felipe Prado Guevera, con documento de identidad 0402045520 en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación título “Evaluación de la remoción de nitratos, fosfatos y amonio de aguas residuales porcinas mediante un sistema continua con *Arthrospira platensis*”, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN, reconozco a favor de la Universidad Regional Amazónica Ikiam una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Así mismo autorizo a la Universidad Regional Amazónica Ikiam para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el Art. 114 de la Ley orgánica de Educación Superior.



Ismael Felipe Prado Guevera

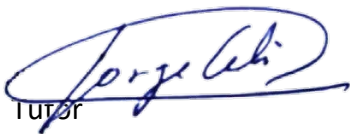
C.I: 0402045520

Carrera de Biotecnología

Certificado de Dirección de Trabajo Titulación

Certifico que el trabajo de titulación “Evaluación de la remoción de nitrato, fosfatos y amonio de aguas residuales porcinas mediante un sistema continuo con *Arthtospira platensis*”, aprobado bajo el mecanismo de titulación de: tesis, fue realizado por Jomely Estefania Cunguán Morillo e Ismael Felipe prado Guevara, bajo mi dirección.

El mismo ha sido revisado en su totalidad y analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto, cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad Regional Amazónica Ikiam, para su entrega y defensa



Jorge Emilio Celi Sangurima

C.I: 110266201

AGRADECIMIENTOS

Yo, Jomely

En primer lugar, quiero agradecer a la Universidad Regional Amazónica Ikiam quien me brindó la oportunidad de formarme como profesional.

Agradezco a Dios por permitirme llegar hasta este punto. A mi familia por su apoyo incondicional y constante. Agradezco inmensamente a mi tutor, Jorge Celi por confiar en mis conocimientos y ser mi mentor en cada paso de esta investigación. Sin su apoyo este proyecto no sería posible. Asimismo, al proyecto “reWater4Farm2: Biological treatment and reuse of wastewater originating from small scale farming in Ecuador” quienes fueron apoyo indispensable y brindaron los recursos económicos necesarios para la ejecución de esta tesis.

A Ismael, por ser mi compañero de este trabajo de investigación, por confiar plenamente en mis conocimientos y por compartir conmigo experiencias que ninguna otra persona ha podido.

A Carito y Marcela, por brindarme conocimientos adquiridos en base a su experiencia y sobre todo por la paciencia dedicada para salir adelante en esta investigación. Ustedes han sido parte fundamental en la trayectoria de este proyecto.

A mis amigos, Liz, Tati, Yanny, Brit, Adrián, Kevin, Ibeth e Ítalo, por las risas, alegrías y momentos inolvidables. Ustedes han sido parte fundamental para el desarrollo de mi vida y carrera. Gracias por enseñarme que no todas las personas llegan para quedarse.

A Don Klever y Doña Marce, porque se han convertido en un hogar en Tena donde un día pensé estar sola. Ustedes me han brindado el cariño necesario para ser fuerte dentro de una ciudad que un día fue completamente desconocida.

Finalmente, quiero agradecer a todos los profesores a lo largo de mi formación académica que de alguna u otra manera me brindaron conocimientos y enseñanzas que forjaron mi crecimiento profesional y académico.

AGRADECIMIENTOS

Yo, Ismael agradezco infinitamente a mi familia, mis padres y hermanos, quienes han trabajado arduamente para darme una educación de calidad y siempre han estado para apoyarme.

A Estefanía Cunguán, quién a lo largo de mi carrera universitaria ha sido una persona incondicional y me ha apoyado siempre para salir adelante y cumplir mis objetivos. Agradezco también a mis amigos quienes me han acompañado y compartido en la universidad y en mi vida personal.

A mis profesores, que han sido parte de mi formación académica y han impartido conocimientos para poder formarme como un profesional.

DEDICATORIA

Mi trabajo de investigación está dedicado en primer lugar a Dios, que me dio salud, fuerza, voluntad y bendición para concluir mis estudios y lograr mis objetivos.

A mis padres, Edmundo y Pamela, por su amor inquebrantable, sacrificios y apoyo constante que me ha fortalecido siempre para seguir adelante. Por sus consejos, valores y por instruirme para ser mejor persona a través de sus enseñanzas. Para mí es un orgullo y privilegio ser su hija, son los mejores padres.

A mis hermanas, Kimberly y Valentina, por su apoyo incondicional que ha sido fuente de constante fortaleza. Gracias por su confianza, amor y alegría esto me ha permitido ser un ejemplo para las dos.

A mi sobrino, Nicoláz, que con su inocencia y alegría me recuerda la persistencia y el amor para lograr mis metas. Nico, eres una luz en mis momentos de oscuridad.

Por último y no menos importante, a mi abuelito Jorge, por siempre estar pendiente y recordarme que no estoy sola en este camino. Que con su sabiduría ha logrado guiarme recordándome la importancia del amor y la dedicación.

A todos aquellos que de alguna u otra manera han formado parte y contribuido tanto en micrecimiento personal como profesional. Con su influencia y apoyo dejan en mi una huella imborrable.

Att, Jomely

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a mis padres y hermanos, quienes son las personas más importantes de mi vida, son ellos quienes se han esforzado para poder educarme desde pequeño, pasando por el bachillerato y hasta ahora, culminando mis estudios de pregrado.

Att, Ismael

TABLA DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE DERECHO DE AUTOR, AUTENTICIDAD Y RESPONSABILIDAD	ii
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO Y RESPONSABILIDAD.....	iv
CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DE TRABAJO TITULACIÓN	vi
AGRADECIMIENTOS.....	vii
DEDICATORIA	x
RESUMEN	xviii
ABSTRACT	xix
1.CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	1
1.1 Antecedentes	1
1.1.1 Ciclo de vida de espirulina	3
1.1.2 Fases de crecimiento	5
1.1.3 Sistemas abiertos.....	7
1.1.4 Sistemas cerrados.....	7
1.2 Planteamiento del problema	11
1.3 Justificación de la investigación	12
1.4 Objetivos de la investigación	13
1.4.1 <i>General</i>	13
1.4.2 <i>Específicos</i>	14
2.CAPÍTULO II: MARCO METODOLÓGICO	15
2.1 Área de estudio	16
2.2 Obtención de la cepa	17
2.3 Obtención del inóculo.....	17
2.4 Medios de Cultivo	18
2.5 Toma de muestras de aguas residuales porcinas	19
2.6 Caracterización iónica de las aguas residuales porcinas.....	20
2.7 Preparación de Agua Residual Porcina	20
2.8 Condiciones del cultivo	20
2.8.1 <i>Fase 1 de Adaptación</i>	20

2.9	Fase II de Adaptación	23
2.10	Implementación de un sistema continuo	24
2.11	Análisis de agua residual porcina por espectrofotometría.....	25
2.11.1	<i>Nitratos</i>	25
2.11.2	<i>Fosfatos</i>	26
2.11.3	<i>Amonio</i>	26
2.12	Análisis de Demanda Química de Oxígeno (DQO)	26
2.12.1	<i>Secado de biomasa</i>	27
2.13	Análisis de Biomasa	27
2.13.1	<i>Determinación de proteínas</i>	27
2.13.2	<i>Análisis de Carbono Orgánico Total (TOC)</i>	28
2.14	Análisis Estadístico.....	28
3.	CAPÍTULO III: PRESENTACIÓN DE DATOS Y RESULTADOS.....	29
3.1	Fase I de Adaptación al medio	29
3.2	Fase II de Adaptación al medio	36
3.3	Sistema Continuo	41
3.4	Análisis de Biomasa.....	48
3.4.1	<i>Análisis de extracción de proteínas</i>	48
3.4.2	<i>Análisis de Carbono Orgánico Total (TOC)</i>	49
3.5	Análisis estadístico	50
4.	CAPÍTULO IV: INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN	52
4.1	Caracterización de aguas residuales	52
4.2	Fase de Adaptación.....	52
4.3	Segunda Fase de Adaptación	55
4.4	Sistema continuo	57
4.5	Análisis bioquímico de la biomasa	59
4.5.1	<i>Proteínas</i>	59
4.5.2	<i>Carbono Orgánico Total (TOC)</i>	60
5.	CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	62
5.1	Conclusiones... ..	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1. Perspectivas Agrícolas, Estadísticas de la OCDE sobre agricultura.	2
Figura 1-2. Ciclo de vida y división celular de <i>Arthrospira platensis</i>	5
Figura 1-3. Etapas de crecimiento de las microalgas.	6
Figura 1-4. Sistema abierto para producción de biomasa microalgal.	7
Figura 1-5. Tipos de sistemas para cultivos de microalgas.....	9
Figura 2-1. Diagrama de flujo del proceso de la experimentación realizada de manera secuencial.	15
Figura 2-2. Fases de escalonamiento del cultivo de microalgas (<i>Arthrospira platensis</i>).	16
Figura 2-3. Mapa de ubicación de la Finca y sitio de muestreo del agua residual porcina. Localizada en Alto Tena, Napo, Ecuador.....	17
Figura 2-4. Parámetros in situ del agua residual porcina en el pozo séptico.....	19
Figura 2-5. Sedimentación de agua residual porcina día 0 (Izquierda) vs. Día 5 (Derecha).....	20
Figura 2-6. Sistema de tratamiento por lotes para la primera fase de adaptación de <i>A. platensis</i>	21
Figura 2-7. Medios de cultivo utilizado en la investigación: agua residual porcina (izquierda) y medio Zarrouk (derecha).	22
Figura 2-8. Sistema de tratamiento de aguas residuales porcinas en segunda fase de adaptación con <i>A. platensis</i>	24
Figura 2-9. Prototipo de un sistema continuo por gravedad para tratamiento de aguas residuales porcinas con <i>A. platensis</i>	25
Figura 3-1. Curvas de crecimientos de biomasa cada uno de los cultivos (C1, C2, C3, C4 Y C5) en la primera fase de adaptación.	30
Figura 3-2. Tasa de crecimiento de biomasa seca de la fase uno de adaptación con <i>A. platensis</i> en agua residual porcina.	31
Figura 3-3. Remoción de nutrientes por cultivos de la fase uno de adaptación al medio de cultivo con <i>A. platensis</i>	32

Figura 3-4. Eficiencia de remoción de contaminantes en aguas residuales porcinas de la primera fase de adaptación al medio con <i>A. platensis</i>	32
Figura 3-5. Concentraciones de DQO inicial vs. Final de la primera fase de adaptación al medio con <i>A. platensis</i>	35
Figura 3-6. Concentración final de DQO por cultivos de la primera fase de adaptación.	35
Figura 3-7. Agua Residual Tratada en la primera fase de adaptación con <i>A. platensis</i> (derecha) y biomasa fresca (izquierda).	36
Figura 3-8. Crecimiento de biomasa seca de los cultivos con agua residual y controles positivos con respecto al tiempo.	38
Figura 3-9. Concentración inicial vs. Final de Demanda Química de Oxígeno (DQO) de la segunda fase de adaptación del sistema de tratamiento de aguas residuales porcinas con <i>A. platensis</i>	40
Figura 3-10. Sistema de tratamiento de aguas residuales porcinas muerto de la segunda fase de adaptación al medio (recuadro rojo) con <i>A.</i>	40
Figura 3-11. Identificación de nuevas algas en el control negativo del sistema de tratamiento de la segunda fase de adaptación al medio con <i>A. platensis</i>	41
Figura 3-12. Prototipo del sistema continuo por gravedad que se implementó para el tratamiento de aguas residuales porcinas con <i>A. platensis</i>	42
Figura 3-13. Crecimiento de biomasa seca generada en el sistema continuo por gravedad de tratamiento de aguas residuales porcinas con <i>A. platensis</i>	43
Figura 3-14. Concentración de nutrientes en el tratamiento 1 del sistema continuo por gravedad con <i>A. platensis</i>	44
Figura 3-15. Concentración de nutrientes del tratamiento 3 de sistema continuo por gravedad.	45
Figura 3-16. Concentración de nutrientes en el tratamiento 2 del sistema continuo por gravedad.	45

Figura 3-17. Análisis de nitratos del sistema continuo, día 3.....	46
Figura 3-18. Análisis de fosfatos día 0 (medio) vs. día 3 (extremos).....	46
Figura 3-19. Análisis de amonio día 0 (tubos Falcón) vs. día 2 (balón de aforo).	47
Figura 3-20. Análisis de DQO tratamiento de aguas residuales en un sistema continuo por gravedad con A. platensis.	48
Figura 3-21. Curva de análisis de TOC para la biomasa seca de Arthrospira platensis del cultivo PF (Biomasa generada en la primera fase de adaptación).	49
Figura 3-22. Curva de análisis de TOC para la biomasa seca de Arthrospira platensis del cultivo SC (Sistema Continuo por gravedad).	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1. Composición del medio de cultivo convencional (Zarrouk) para la producción de biomasa microalgal.....	18
Tabla 3-1. Parámetros y concentraciones iniciales de agua residual porcina tomada en la Finca de Alto Tena, Tena.....	29
Tabla 3-2. Límites de descarga a un cuerpo de agua Dulce.	34
Tabla 3-3. Parámetros iniciales para el tratamiento de aguas residuales en la segunda fase de adaptación al medio con <i>A. platensis</i>	37
Tabla 3-4. Peso de biomasa seca de <i>A. platensis</i> en la segunda fase de adaptación al medio.	38
Tabla 3-5. Concentraciones iniciales vs. Finales y porcentajes de remoción de nutrientes de la segunda fase de adaptación al medio con <i>A. platensis</i>	39
Tabla 3-6. Concentración de biomasa microalgal en gramos del tratamiento en un sistema continuo por gravedad con <i>A. platensis</i>	43
Tabla 3-7. Concentración de nitratos, fosfatos y amonio en el tratamiento de aguas residuales porcinas en un sistema continuo por gravedad con <i>A. platensis</i>	45
Tabla 3-8. Concentración de DQO durante los 3 días de tratamiento del agua residual, de un sistema continuo por gravedad	47

RESUMEN

La producción de ganado porcino a pequeña y gran escala genera enormes cantidades de desechos, en especial las aguas residuales porcinas (ARP) que provienen de la mezcla de aseo de los establos, alimentación, orines y heces. Estas aguas residuales contienen altos niveles de contaminantes que, si no se tratan adecuadamente, pueden causar graves problemas ambientales como la eutrofización y contaminación tóxica de cuerpos de agua. En esta tesis, se evaluó la remoción de nitratos, fosfatos, amonio y la demanda química de oxígeno (DQO) mediante el uso de la microalga *Arthrospira platensis*. La investigación se dividió en tres fases: la primera y segunda fase fueron cultivos de adaptación por lote durante 28 días y 21 días respectivamente; y la tercera fase se utilizó un sistema de flujo continuo en estanque plástico tipo pecera. Se realizó dos tratamientos, uno con *A. platensis* y el otro solo ARP, ambos por triplicado. Se obtuvieron porcentajes de remoción de 73.55% para amonio, 45.63% para fosfatos, 57.63% para nitrato y un 22.92% para la DQO. La implementación de sistema continuo con *Arthrospira platensis* para tratar las ARP es un método viable para bajar la carga de contaminantes, pero se recomienda que las aguas residuales tengan uno o varios tratamientos previos al uso de tratamientos biológicos como las microalgas para así reducir aún más la carga de contaminantes y cumplan con la normativa ambiental. Además, la biomasa producida ofrece oportunidades para la valorización, contribuyendo a una producción porcina más sostenible y amigable con el ambiente.

Palabras claves: Biomasa, microalga, nutrientes, remoción, sistema continuo

ABSTRACT

Small- and large-scale pig production generates huge amounts of waste, especially piggery wastewater (PWW) which comes from the mixture of stable cleaning, feed, urine and manure. This wastewater contains high levels of pollutants that, if not treated properly, can cause serious environmental problems such as eutrophication and toxic contamination of water bodies. In this thesis, the removal of nitrates, phosphates, ammonium and chemical oxygen demand (COD) was evaluated using the microalga *Arthrospira platensis*. The research was divided into three phases: the first and second phase were batch adaptation cultures for 28 days and 21 days respectively; and the third phase used a continuous flow system in plastic fish tanks. Two treatments were carried out, one with *A. platensis* and the other without microalga, both in triplicate. Removal percentages of 73.55% for ammonium, 45.63% for phosphates, 57.63% for nitrate and 22.92% for COD were obtained. The implementation of a continuous system with *Arthrospira platensis* to treat ARP is a viable method to reduce the contaminant load, but it is recommended that wastewater have one or more treatments prior to the use of biological treatments such as microalgae to further reduce the contaminant load and comply with environmental regulations. In addition, the biomass produced offers opportunities for valorization, contributing to a more sustainable and environmentally friendly pig production.

Keywords: Biomass, microalgae, nutrients, removal, continuous system

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Antecedentes

Conforme avanza las economías mundiales y sus industrias también crece la lucha por poder acceder a agua de buena calidad ya sea para el consumo o para los diferentes procesos industriales, por lo que cada vez resulta más difícil garantizar el acceso de agua potable para todos (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, 2021). Se espera que para el año 2050, la población mundial sea de 9 500 millones de personas, más 2 000 millones de personas de las que existen hasta la fecha, esto provocará que la demanda de alimentos y agua aumente, y a su vez se dificulte garantizar una soberanía alimentaria y agua limpia para todos (Nagarajan et al., 2019). En vista a esto, la Organización de las Naciones Unidas (ONU) vela por la soberanía alimentaria y acceso de agua para todos, especialmente en las regiones más pobres del planeta. Garantizar el acceso a agua limpia forma parte de uno de los objetivos del Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible, precisamente en la Meta 6.3 establece que: *De aquí a 2030, mejorar la calidad del agua reduciendo la contaminación, eliminando el vertimiento y minimizando la emisión de productos químicos y materiales peligrosos, reduciendo a la mitad el porcentaje de aguas residuales sin tratar y aumentando considerablemente el reciclado y la reutilización sin riesgos a nivel mundial* (WWAP (Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos de las Naciones Unidas), 2017). Dentro del conjunto de industrias alimenticias, el sector porcícola es uno de los sectores con más demanda de producción de carne y uso de agua. Se estima que cada año se producen más de 100 millones de toneladas de carne de cerdo y se necesitan aproximadamente 4 500 litros de agua para producir 1 kilogramo (kg) de carne que se distribuyen para la crianza, alimentación, limpieza de los cabezas de ganado porcino, aseo de los establos y faenamiento (López-Pacheco et al., 2021). La producción de carne subirá un 0.6% del crecimiento anual para el 2032, esto representa unas 13 megatoneladas más a comparación con la producción de hace dos décadas (**Figura 1-1**) (OCDE & FAO, 2023). La producción porcina a nivel global se caracteriza por poseer dos sistemas de crianza y producción: los

sistemas tradicionales de subsistencias de pequeña escala y, por otro lado, los sistemas de crianza a gran escala (Martínez, 2020).

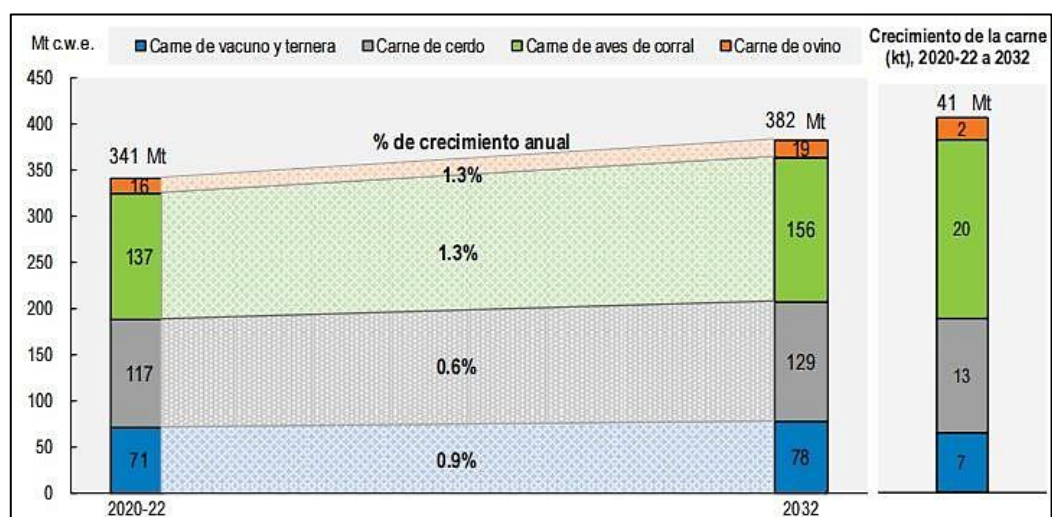


Figura 1-1. Perspectivas Agrícolas, Estadísticas de la OCDE sobre agricultura.

Fuente: OCDE/FAO (2023)

Los sistemas tradicionales de crianza de cerdos tienen como objetivo el consumo intrafamiliar o la venta en pie (Martínez, 2020). La falta de conocimiento en leyes ambientales y en el tratamiento de los desechos por parte de los porcicultores hace que los desechos producidos por los cerdos no tengan una disposición final bien definida, generalmente arrojando hacia un pozo séptico de tierra al aire libre, provocando la contaminación de los suelos y acuíferos aledaños a las zonas (Martínez, 2020). Por otro lado, en los sistemas de crianza a gran escala, los animales se encuentran distribuidos por establos, los desechos son eliminados por canaletas de descarga hacia el alcantarillado, o un posterior tratamiento (Martínez, 2020).

Las aguas residuales porcinas (ARP) se forman a partir de la descarga de agua para el aseo de los establos o comúnmente conocidas como “chancheras”, que se mezcla con las heces, orina, restos de alimentos, balanceados y medicamentos (Nagarajan et al., 2019). Estas aguas residuales contienen una alta carga de contaminantes como, por ejemplo: microorganismos, materia orgánica, sólidos, nutrientes hasta hormonas y antibióticos lo cual amerita a realizar uno o varios tratamientos antes de su descarga para que garantice

y cumpla con las leyes ambientales que amparan los recursos hídricos (Cheng et al., 2019; S.Li et al., 2022a). Las características fisicoquímicas de las ARP pueden variar, pero generalmente las concentraciones típicas de las ARP son de 500 a 15 000 mg/L para la demanda química de oxígeno (DQO), 268 a 1761 mg/L de amonio (NH_4^+), 200-2055 mg/L de nitrógeno (TN) total, 25-35 mg/L de ortofosfato ($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$) (Li et al., 2022b; Zheng et al., 2021).

Las ARP contienen altos niveles de nitrógeno (N – en forma de amonio, nitratos y nitritos) y fósforo (F - en forma de fosfatos y ortofosfatos), estos nutrientes en altas concentraciones producen eutrofización en ecosistemas acuáticos (Qu et al., 2021). En sistemas eutrofizados se da lugar a un incremento excesivo en el crecimiento de plantas acuáticas y algas, esta acumulación de plantas obstruye el paso de la luz solar alterando la disponibilidad de oxígeno en el agua lo que resulta en la muerte de especies acuáticas y desequilibrio entre los demás ecosistemas (Cheng et al., 2019; Ortiz-Villota et al., 2018).

Para poder mitigar estos problemas ambientales se han diseñado diversas metodologías biotecnológicas, con el objetivo de reducir y remediar el impacto de los contaminantes en los ecosistemas acuáticos. Un ejemplo es *Arthrospira platensis*, una microalga fotosintética de color verdeazulado, de tipo filamentoso y pluricelular, descubierta en 1940 por el psicólogo francés Dangeard (Barnett, 2005). Actualmente, *A. platensis* es conocida como *Spirulina* o *Espirulina*, nombre que se maneja para su comercialización. *A. platensis* es una microalga que crece en áreas con altos contenidos de salinidad y en aguas alcalinas, posee un rango de pH óptimo de crecimiento entre 9 a 11 y la temperatura óptima ronda entre los 29 y 32°C (Torres & Correa, 2008).

1.1.1 Ciclo de vida de espirulina

Existen diversos medios de cultivo para *A. plantensis* como el medio Zarrouk, medio BG11, el medio con urea y medios con fertilizantes que contengan nitrógeno, fósforo

y potasio (NPK). El medio Zarrouk se considera como el cultivo estándar para el crecimiento, pero su preparación a gran escala es costosa sumando a eso los costos de mantenimiento, por tal motivo se busca medios alternativos más baratos para el crecimiento de estas microalgas (Soni et al., 2019). Aunque existen diversos medios para el cultivo de *A. platensis*, el medio Zarrouk ha demostrado mayor producción de biomasa y aprovechamiento de nutrientes, pero el costo de producción a gran escala es alto debido al precio elevado de los reactivos químicos que se necesitan para preparar este medio, además mantenimiento de los cultivos. Por tal motivo, las investigaciones se han focalizado en la búsqueda de medios alternativos o compuesto más baratos para mejorar la producción de biomasa y reducir los costos de producción (Martínez, 2020). Las aguas residuales porcinas son una alternativa de bajo costo que puede servir como medio de cultivo para el crecimiento de *A. platensis* y una alternativa para tratar las ARP (López-Pacheco et al., 2021).

El estudio de las microalgas ha tomado un importante auge en los últimos tiempos debido a su potencial de aplicación en diversas ramas de la biotecnología. *Arthrospira platensis* ha demostrado su capacidad de poder desarrollarse en una amplia gama de condiciones ambientales y se destaca por su eficiencia de remoción de contaminantes de efluentes de aguas residuales (Avila-Leon et al., 2012). Entender el comportamiento del crecimiento de *A. platensis* en el tiempo en diferentes condiciones ambientales es primordial para poder examinar todos los factores que pueden influir en su crecimiento. Por otro lado, biológicamente la *spirulina* tiene un ciclo vital fundamental el cual depende de la ubicación taxonómica y las condiciones ambientales a la que sea sometido el cultivo (Avalos et al., 2017). Pero generalmente todas las células se disponen en filamentos que tiene facultad de multiplicarse por bipartición y su reproducción es binaria, ocurriendo frecuentemente en los extremos de los filamentos. *Arthrospira platensis* tiene un proceso de división celular peculiar que se resume en 3 etapas: 1. Fragmentación de tricoma, 2. Ampliación de las células del hormogonio y estadios de maduración, y 3. Alargamiento del tricoma (**Figura 1-2**) (Avalos et al., 2017).

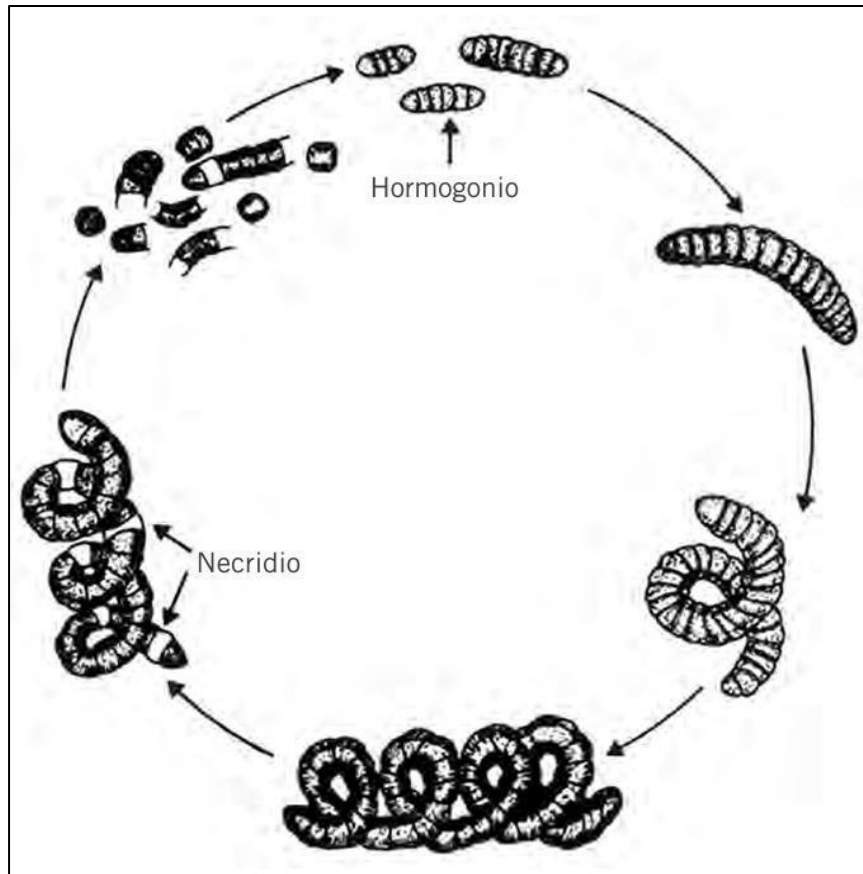


Figura 1-2. Ciclo de vida y división celular de *Arthrospira platensis*

Fuente: (Avalos et al., 2017)

1.1.2 Fases de crecimiento

El ciclo de vida de las microalgas puede dividirse en diferentes etapas:

1. Fase de latencia: En esta fase, las células experimentan una fase de adaptación al entorno en el que se encuentran. En este periodo, la microalga se aclimata a las condiciones ambientales y nutricionales del medio, ajustando su metabolismo y preparándose para la división celular. Esta fase es la más importante, ya que una adaptación eficiente y adecuada puede determinar el éxito del crecimiento subsecuente (Abalde Alonso et al., 1995; Delgado, 2022).
2. Fase exponencial: Durante esta fase, las células de las microalgas experimentan una división celular activa. En esta etapa, las condiciones del medio son óptimas, y la disponibilidad de nutrientes es alta, permitiendo a la microalga duplicar su biomasa

(Abalde Alonso et al., 1995; Delgado, 2022).

3. Fase estacionaria: En esta fase, la tasa de división celular disminuye y la biomasa alcanza un equilibrio constante. Durante esta fase los nutrientes empiezan a agotarse y los productos de desecho y biomasa muerta se acumulan. A pesar de que los nutrientes disminuyen, esta fase permite analizar la resistencia de la microalga a condiciones subóptimas (Abalde Alonso et al., 1995; Delgado, 2022).
4. Fase de muerte: En esta última fase, las condiciones llegan a su límite, donde la muerte celular es predominante sobre la división celular. Los nutrientes se agotan y se da un incremento en desechos tóxicos que inhiben la viabilidad celular (Abalde Alonso et al., 1995; Delgado, 2022).

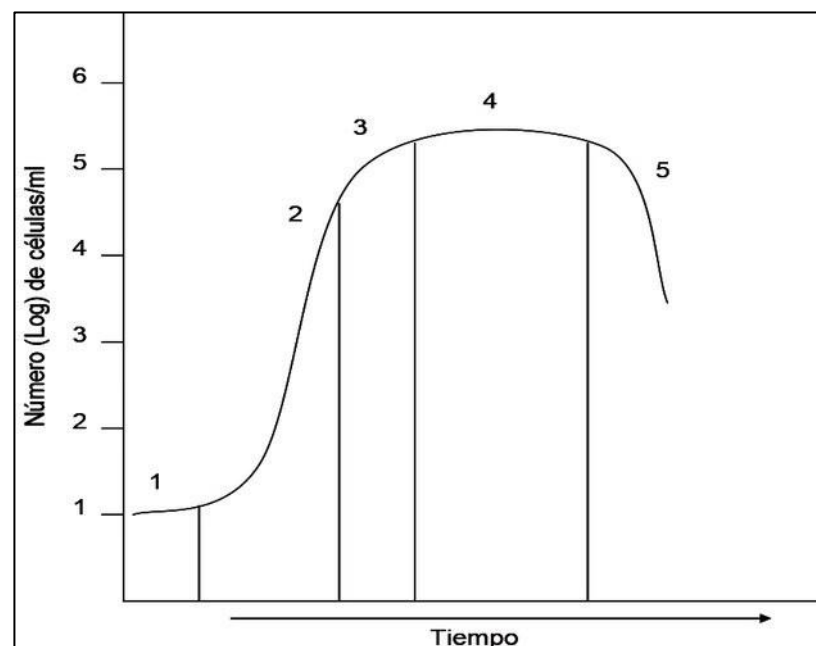


Figura 1-3. Etapas de crecimiento de las microalgas.

Fuente: Duque, 2017.

A lo largo del tiempo se han analizado diversas formas de cultivar microalgas, el sistema y las condiciones de cultivo dependerán de la especie y el producto final que se desee obtener de la biomasa algal, pero por lo general los métodos de cultivo se dividen en sistemas abiertos y sistemas cerrados (Hernández, Pérez & Labbé, 2014).

1.1.3 Sistemas abiertos

Los sistemas abiertos son los más construidos a nivel comercial debido a su fácil fabricación y el aprovechamiento de recursos naturales como la luz solar y viento. Los cultivos abiertos suelen ser estanques artificiales o estanques tipo raceway. Estos estanques rectangulares poseen curvaturas en las esquinas, de no más de 30 centímetros de profundidad para aprovechar al máximo la luz del sol (**Figura 1-4**) (Hernández, Pérez & Labbé, 2014). Tienen un muro de división en el centro lo cual hace que se forme dos canales que permite la circulación y agitación del medio de cultivo gracias a una ruleta giratoria con paletas (Qin et al., 2019). Aunque suelen ser los más usados debido a su fácil construcción y durabilidad, los estanques tipo raceway pueden presentar desventajas como contaminación y altas tasas de evaporación (Qin et al., 2019).



Figura 1-4. Sistema abierto para producción de biomasa microalgal.

Fuente: Maroneze, Herrera & Jiménez., 2001.

1.1.4 Sistemas cerrados

Los cultivos en sistemas cerrados o fotobiorreactores (FBT) proporcionan un mejor manejo de las condiciones de cultivo en el crecimiento de las microalgas como el pH, la

temperatura, la agitación o el CO₂ (Hernández, Pérez & Labbé, 2014). Se han diseñado diversas formas de FBT, dependiendo de la especie que se desea cultivar y de su producto final; estos pueden clasificarse como FBT tubulares, FBT tipo serpentín, y FBT de paneles.

1.1.4.1 FBT tubulares

Los reactores tubulares (Figura 1-5 (D)) son de diámetros pequeños, pero con una altura superior. La agitación en estos reactores se da mediante aireación desde la parte inferior del tanque, proporcionado por una bomba de aire (Qin et al., 2019).

1.1.4.2 FBT tipo serpentín

Los FBT de tipo serpentín suelen ser un conjunto de tubos dispuestos en diferentes formas o angulos (Figura 1-5(C)). El diámetro de los tubos no debe ser mayor a 0.1 metros para garantizar una productividad alta en biomasa, además estos sistemas deben tener una unidad de recolección, una columna de intercambio gaseoso, una unidad de enfriamiento y una bomba de circulación o aireación (Qin et al., 2019).

1.1.4.3 FBT tipo paneles

Estos reactores suelen ser como una caja o pecera aplanada, de material transparente para aprovechar al máximo la exposición de la luz solar (Figura 1-5(B)). La agitación del medio de cultivo se da desde la parte inferior del sistema proporcionado por una bomba de aire. Estos sistemas suelen ser más factibles de manejar y escalar a diferencia de los sistemas tubulares debido a que la estructura de los paneles es más fácil de manipular lo cual facilita su limpieza, monitoreo y traslado (Hernández-Pérez & Labbé, 2014; Qin et al., 2019).

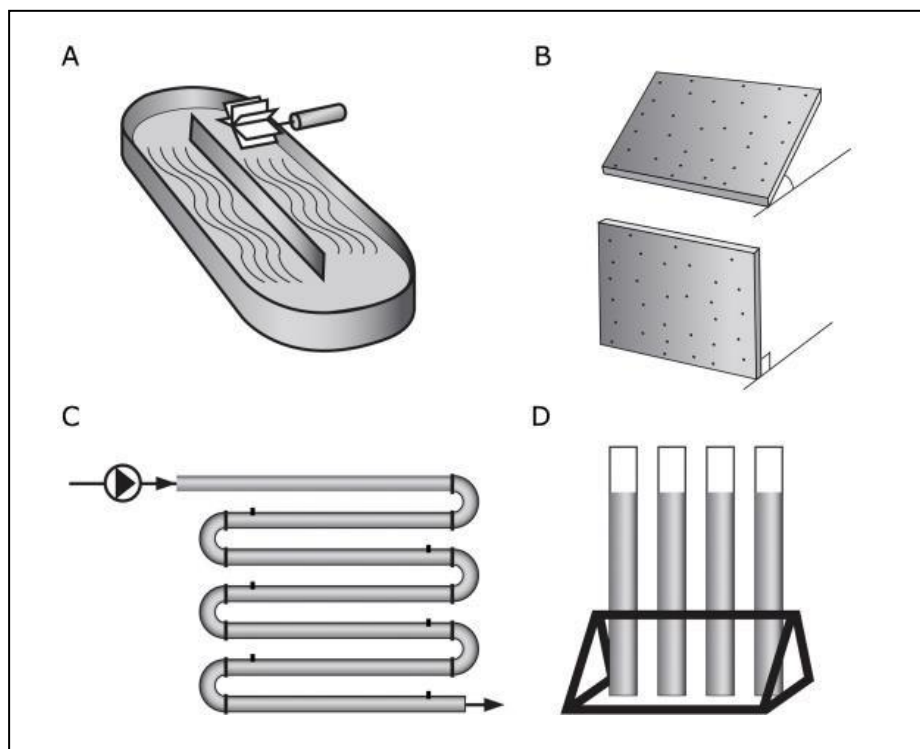


Figura 1-5. Tipos de sistemas para cultivos de microalgas.
Fuente: (Hernández-Pérez & Labbé, 2014)

Ahora bien, estos sistemas de cultivo se pueden llevar a cabo por diferentes estrategias o modos de cultivos. Las condiciones de cultivo dependerán de la especie y el producto final que se desee obtener.

1.1.4.4 Cultivo por Lote

El cultivo por lote se realiza en un sistema o recipiente cerrado, en el cual se inocula un volumen determinado de medio de cultivo y un inóculo de microalga que se deja crecer hasta obtener el resultado de biomasa deseada. No tiene adición ni retiro de medio de cultivo, lo cual resulta simple y económico de llevar a cabo (Fernández Sevilla, 2014).

1.1.4.5 Cultivo por Lote-alimentado

Un cultivo por lote-alimentado se lleva a cabo añadiendo un volumen inicial de medio de cultivo y microalgas al fotobiorreactor, cuando las microalgas hayan alcanzado la fase deseada se procede a cosechar la biomasa, se descarga el medio agotado y se

añade un nuevo medio de cultivo (Carvalho et al., 2013; Fernandez Sevilla, 2014).

1.1.4.6 Cultivo continuo

En un cultivo continuo existe la adición de medio fresco constantemente al igual que la cosecha de la biomasa, esto permite mantener un crecimiento constante de las microalgas, lo que ayuda a maximizar la productividad (Qin et al., 2019; Tang et al., 2012).

1.1.4.7 Cultivo semicontinuo

Un cultivo semicontinuo opera de manera similar a cultivo por lote, pero con características de un sistema continuo; se retira una parte del medio de cultivo para la cosecha en tiempos regulares y se repone con medio fresco (Fernandez Sevilla, 2014; López-Pacheco et al., 2021).

La biomasa producida puede utilizarse para diversos fines como la producción de pigmentos, lípidos, carotenos, suplemento para comida de animales, fertilizantes y producción de energía. Asimismo, el agua tratada puede ser reutilizada para los mismos procesos, lo cual reduce los costos de mantenimiento (Liu et al., 2015).

Las aguas residuales poseen grandes beneficios que deben ser aprovechados, con la implementación de metodologías biotecnológicas y las condiciones óptimas se puede lograr reducir la carga contaminante y recircular el agua, además de generar productos de valor agregado (Hena et al., 2018). Alargar la vida útil de los residuos y su reutilización contribuye a mantener una economía circular, que trata de generar un productor útil, rentable y sostenible con el objetivo de reducir la contaminación de los ecosistemas (You et al., 2021).

1.2 Planteamiento del problema

Para el 2050, se estima que la población sea de 9.9 billones de personas, una cifra que alarma a las autoridades gubernamentales debido a la imposibilidad de garantizar la soberanía alimentaria y el acceso a agua potable (Nagarajan et al., 2019). Este fenómeno poblacional ha provocado una elevada demanda de consumo de alimentos, lo que ha ocasionado que las industrias alimenticias y sus procesadoras incrementen su producción y expandan sus fábricas. Generando a su vez contaminación de los recursos hídricos, causado por los desechos y aguas residuales vertidas por las fábricas diariamente hacia las diversas fuentes de agua como ríos, lagos, lagunas, aguas subterráneas y el océano (Arahou et al., 2021).

Dentro de la industria alimenticia, uno de los alimentos más demandado es la carne de cerdo, preferida por su amplia variedad culinaria y contenido nutricional (Cheng et al., 2019). Para satisfacer la demanda existen y se construyen granjas de pequeña y grande escala que se dedican a la cría de cerdos o la crianza combinada de diferentes animales. Las granjas porcinas generan una gran cantidad de desechos y aguas residuales, que regularmente no son tratadas previamente antes de su descarga hacia los diferentes cuerpos de agua (Meng et al., 2023). Las aguas residuales porcinas contienen una gran cantidad de microorganismos patógenos como coliformes fecales y una alta concentración de compuestos orgánicos como nitrógeno y fósforo, estos compuestos generan eutrofización en el agua y alteran la proliferación de la vida en el agua y demás ecosistemas (You et al., 2021).

En el Ecuador, para el 2022 el número de cabezas de ganado porcino a nivel nacional fue de 943 249, donde la mayor producción se centró en la región Sierra con un 60% de la producción total de ganado porcino. En la región Amazónica, para el mismo año se contabilizaron un total de 33 635 cabezas de ganado porcino, 4 700 cabezas dentro de la provincia de Napo (Ipiales & Cuichán, 2023). A estos datos se suman las disposiciones finales de las aguas residuales que por lo regular no tienen un tratamiento adecuado. Para el año 2021, según estadísticas del INEC, el 74 % de los Gobiernos Autónomos

Descentralizados Municipales (GADM) realizaron un tratamiento previo a las aguas residuales antes de la descarga, y el 23% de GADM no realizó ningún tratamiento antes de la descarga. De las aguas residuales no tratadas, el 53.8% son arrojadas hacia los ríos, 32.9% hacia quebradas y el 14.3% hacia otras fuentes de agua (Terán et al., 2022). Estos datos indican un grave problema ambiental para la región amazónica, debido a que es una de las zonas con menos plantas de tratamiento a nivel nacional. A su vez posee un riesgo ambiental de alto impacto debido a la gran cantidad de cuencas hidrográficas que posee. Por lo tanto, se ha buscado metodologías que ayuden a remediar y tratar estas aguas residuales, especialmente la del sector agroganadero que es una economía en constante crecimiento.

1.3 Justificación de la investigación

El consumo de carne porcina se ha incrementado en las últimas décadas, según el reporte “Global Pork Meat Market 2017–2021”, la carne de cerdo es la más consumida a nivel mundial (Cheng et al., 2019). Con la constante demanda de la carne de cerdo, las industrias y granjas porcinas incrementan su trabajo de producción y la población de cerdos. Para producir 1 kg de carne se necesitan más de 4 500 litros de agua y según datos de la UNESCO, el sector agropecuario es quien más consume agua limpia para sus procesos (López-Pacheco et al., 2021). La alta demanda de la producción de carne conlleva también el uso de una gran cantidad de agua para los procesos de crianza y producción, lo cual también genera enormes cantidades de aguas residuales. Las aguas residuales porcinas contienen una gran cantidad de contaminantes como materia orgánica, sólidos suspendidos, sólidos disueltos, patógenos (*Salmonella*, *Campylobacter*, y *E. coli*), además de macronutrientes como N, P y K, principales causantes de la eutrofización en los cuerpos de agua (Lu et al., 2021).

En respuesta a la constante contaminación del ambiente y los escasos recursos, se ha optado por estrategias que ayuden a mitigar la contaminación y usar al máximo los desechos producidos en las granjas. Las ARP contienen una alta carga de contaminantes lo que conlleva un desafío ambiental en zonas agrícolas subdesarrolladas, donde la

infraestructura para el tratamiento de aguas residuales es deficiente o en la mayoría de los casos inexistentes.

Napo y sus alrededores, cuentan con comunidades indígenas que se dedican a la agricultura y a la crianza de cerdos. Los desechos de las chancheras contaminan las fuentes de agua aledañas a los establos. Napo se caracteriza por poseer varias fuentes hídricas que sirven para el turismo y recreación de las personas, por lo tanto, es de mucha importancia controlar las disposiciones finales de las granjas familiares y establecer un tratamiento antes de ser vertidas.

Arthrospira platensis tiene la capacidad de nutrirse de los compuestos presentes en las aguas residuales como el nitrógeno y fósforo, lo que reduce la carga de contaminantes como nitratos, nitritos, fosfatos y amonio en el agua. La biomasa producida por *A. platensis* serviría para generar productos de valor agregado como por ejemplo biofertilizantes, biocombustibles y suplementos alimenticios para animales, además el agua tratada podría ser usada como agua de riego (You et al., 2021).

La remoción de contaminantes de ARP mediante la microalga *A. platensis* promete una solución asequible para los agricultores, una actividad sostenible y que promueve una economía circular aprovechando los desechos para convertirlos en productos útiles para el agricultor. Además, ayudaría a proteger los recursos hídricos de Napo, fuente esencial de una economía turística que sustenta a muchas familias y comunidades.

1.4 Objetivos de la investigación

1.4.1 General

- Evaluar la capacidad de *Arthrospira platensis* para remover nitratos, fosfatos y amonio de aguas residuales porcinas

1.4.2 Específicos

- Implementar un sistema continuo de tratamiento de aguas residuales porcinas con *A. platensis* a escala piloto en estanques tipo pecera.
- Caracterizar la composición de las aguas residuales porcinas antes y después del tratamiento en un sistema continuo con *Arthrospira platensis*.
- Analizar la calidad de la biomasa de *Arthrospira platensis* producida en el sistema continuo y su potencial para generar subproductos.

CAPÍTULO II: MARCO METODOLÓGICO

En la **Figura 2-1** se muestra el flujograma del procedimiento que se realizó en esta investigación.

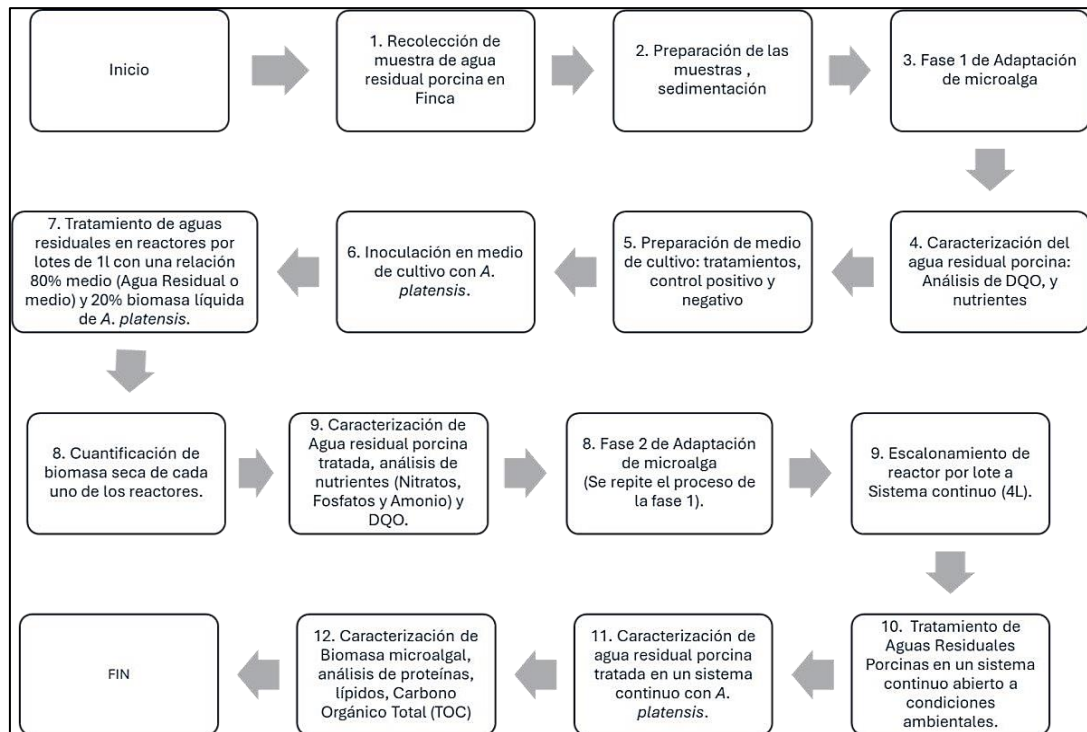


Figura 2-1. Diagrama de flujo del proceso de la experimentación realizada de manera secuencial.

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

Además, en esta investigación se buscó implementar un sistema de tratamiento a una escala mayor del inóculo inicial de *Spirulina*, mediante cultivos que van variando su volumen cuando éstos se encuentren en su fase exponencial o de crecimiento. El medio que se empleó fueron aguasresiduales porcinas con *spirulina* que va desde el inóculo hasta un sistema continuo por gravedad de 4L como se muestra en la **figura 2-2**.

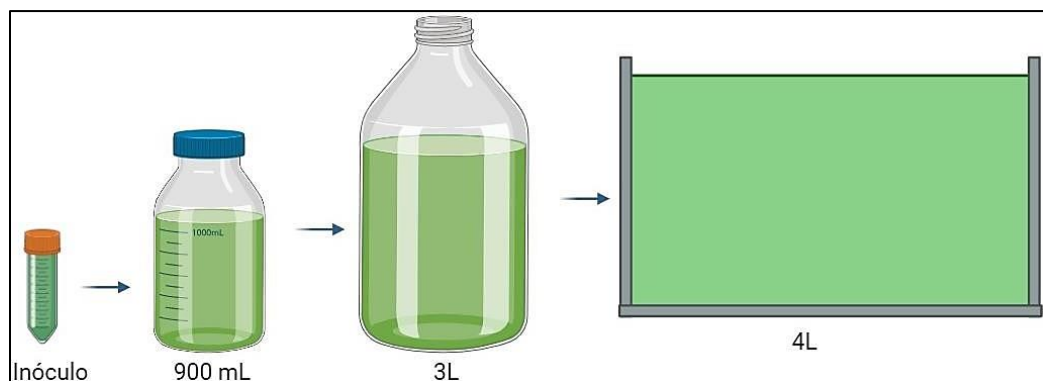


Figura 2-2. Fases de escalonamiento del cultivo de microalgas (*Arthrospira platensis*).

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

2.1 Área de estudio

Las muestras de aguas residuales porcinas para la ejecución de este trabajo de titulación se tomaron de un pozo séptico perteneciente a una finca dedicada a la crianza de ganado porcino, ubicada en el cantón Tena, provincia de Napo, Parroquia Muyuna, Alto Tena (**Figura2-3**). Todos los estudios y análisis tanto de la microalga como la biomasa se realizaron en el Laboratorio de Enseñanza de Química 2 y en el Laboratorio Nacional de Referencia del Aguade la Universidad Regional Amazónica Ikiam.

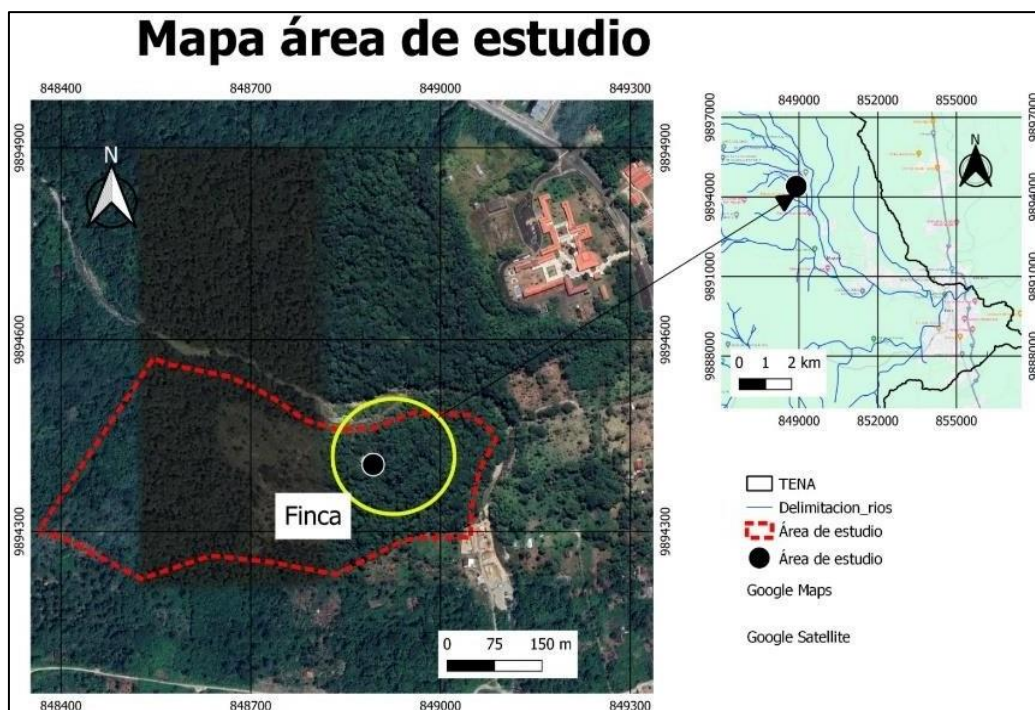


Figura 2-3. Mapa de ubicación de la Finca y sitio de muestreo del agua residual porcina. Localizada en Alto Tena, Napo, Ecuador.

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

2.2 Obtención de la cepa

Arthrospira platensis se obtuvo del Banco de microalgas de "The Belgian Coordinated Collection of Organisms" con ayuda de HoGent School, en colaboración con el proyecto "reWater4Farm2: Biological treatment and reuse of wastewater originating from small scale farming in Ecuador" de la Universidad Regional Amazónica Ikiam.

2.3 Obtención del inóculo

La cepa que se adquirió se mantuvo a condiciones no aptas para realizar un cultivo adecuado. Por lo que, se sometió a un subcultivo en un medio que permitió aumentar la concentración de *Arthrospira platensis*, con el fin de extraer el inóculo para realizar la siembra de *A. platensis* en diferentes medios de cultivo. Asimismo, al extraer los inóculos se realizó en frascos de 1000 mL en medio Zarrouk modificado. Las concentraciones finales de los componentes del medio se muestran en la **tabla 2-1, A**.

platensis se mantuvo en condiciones controladas, que fueron: fotoperiodo 12/12 (12 horas de luz y 12 horas de oscuridad), temperatura ambiente y aireación continua (Torres & Correa, 2008b).

Tabla 2-1. Composición del medio de cultivo convencional (Zarrouk) para la producción de biomasa microalgal.

Composición del Medio de Cultivo para la producción de biomasa algal (Zarrouk)		
Nombre del compuesto químico	Fórmula química del compuesto	Peso (g) (para 2L de medio)
Nitrato de sodio (S2)	NaNO ₃	5
Fosfato dipotásico (S1)	K ₂ HPO ₄	1
Bicarbonato de sodio (S1)	NaHCO ₃	50,4
Sulfato de potasio (S2)	K ₂ SO ₄	2.00
Cloruro de sodio (S2)	NaCl	2.00
Sulfato de magnesio (S2)	MgSO ₄ * 7H ₂ O	0.40
Cloruro de calcio (S2)	CaCl ₂ * 2H ₂ O	1.60
Ácido etilendiaminotetraacético, sal disódica, di-hidratado (S2)	EDTA Na ₂ * 2H ₂ O	2.00
Micronutrientes (S2)	Micronutrientes	2.00
Composición de Micronutrientes		
Nombre del compuesto químico	Fórmula química del compuesto	Peso (g) (para 2L)
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	5.72
Cloruro de manganeso	MnCl ₂ * 4H ₂ O	3.6
Sulfato de Zinc	ZnSO ₄ * 4H ₂ O	0.44
Molibdato de sodio	Na ₂ MoO ₄	0.036
Sulfato de cobre	CuSO ₄ * 2H ₂ O	0.20

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

2.4 Medios de Cultivo

Se utilizaron 2 medio de cultivos, uno que es estándar o convencional modificado y el otro medio de cultivo alternativo.

- Medio Zarrouk: Medio de cultivo estándar para microalgas (Zarrouk, 1966).
- Agua Residual Porcina: medio experimental propuesto y diseñado para microalgas, alto en nutrientes y materia orgánica.

2.5 Toma de muestras de aguas residuales porcinas

En la finca antes mencionada se realizó un muestreo del agua residual porcina que desemboca en un pozo séptico de 3 metros aproximadamente de profundidad, este se encuentra ubicado cerca de las chanceras. Se tomaron 60 litros de agua residual porcina en canecas de 20 L y luego se llevaron al Laboratorio para su posterior caracterización y tratamiento. En la **figura 2-4** se muestran los parámetros in situ del agua residual en el pozo séptico.

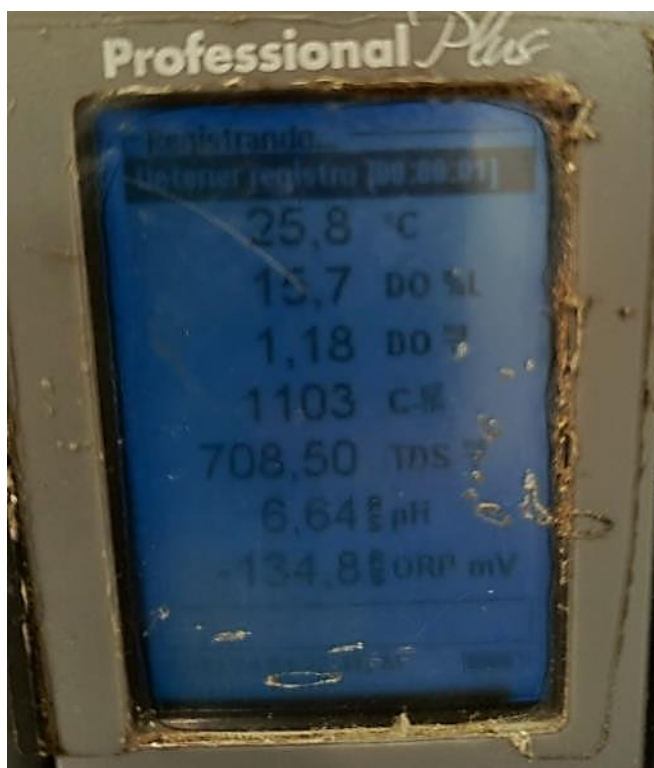


Figura 2-4. Parámetros in situ del agua residual porcina en el pozo séptico.

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

2.6 Caracterización iónica de las aguas residuales porcinas

La caracterización de las aguas se realizó mediante determinación de aniones por cromatografía de intercambio iónico. Con esto se determinó la concentración inicial (mg/L) de nitratos, fosfatos y amonio que contenía el agua residual. El agua residual porcina fue previamente filtrada en un filtro de poro 0.45 μm para evitar que los sólidos presentes en el agua causen afecciones en el equipo (Cabrera, 2020).

2.7 Preparación de Agua Residual Porcina

Antes de pasar al tratamiento de las aguas residuales, se filtró el agua por un tamiz de 250 μm para separar sólidos grandes y pequeños. Luego, se dejó sedimentar 6 litros por 5 días en probetas de 1000 mL (Figura 2-5), una vez lista se procedió a realizar su tratamiento (Torres & Correa, 2008a).

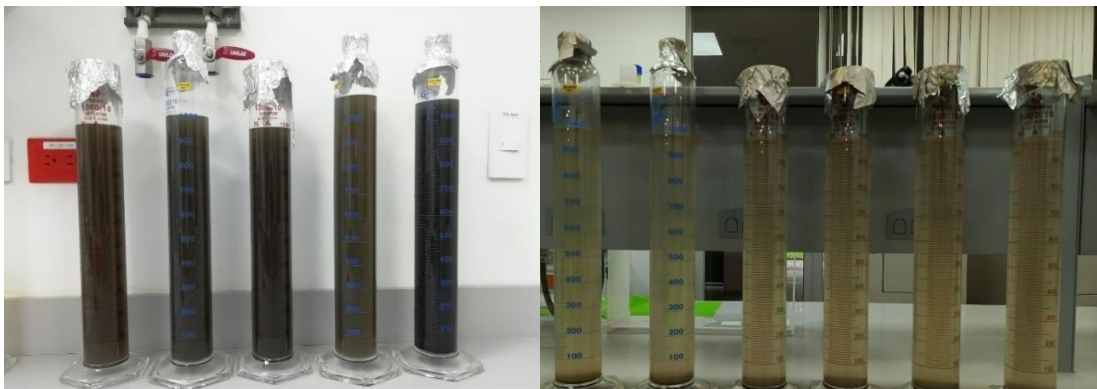


Figura 2-5. Sedimentación de agua residual porcina día 0 (Izquierda) vs. Día 5 (Derecha).

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024

2.8 Condiciones del cultivo

2.8.1 Fase 1 de Adaptación

Se implementó un sistema de cultivo por lotes, en el cual las aguas residuales porcinas fueron el medio de cultivo experimental. Los parámetros para estos cultivos fueron:

temperatura ambiente, fotoperiodo 12/12 (12 horas de luz y 12 horas de oscuridad) y aireación continua. Se mantuvo un cultivo en stock de medio Zarrouk + *Arthrospira platensis*, del cual se realizaron subcultivos en 5 lotes con agua residual porcina + *Arthrospira platensis* y 2 controles positivos y otro negativo (**Figura 2-6**). Un control positivo consistía en un medio Zarrouk + *A. platensis*, mientras que el control negativo únicamente agua residual porcina (**Figura 2-7**). Cada lote del experimento tenía un volumen final de 900mL, compuesto por 720 mL de agua residual porcina y 180 mL de inóculo. Se utilizó un 20% de concentración inicial de inóculo según bibliografía. Una vez listos los lotes, se tomó una muestra del cultivo para determinar la concentración inicial de biomasa de cada lote excepto el control negativo. Además, cada 7 días se tomó 10 mL de muestra de cada cultivo en cápsulas de crisoles previamente tamizados y se llevó a la estufa a 40 °C por 15 horas para determinar el crecimiento de la biomasa en seco. Una vez que se cumplieron los 28 días se escaló a un solo lote de 3L, para mantener un inóculo en agua porcina (Mezzomo et al., 2010).



Figura 2-6. Sistema de tratamiento por lotes para la primera fase de adaptación de *A. platensis*

Elaborado por: Cungián & Prado, 2024



Figura 2-7. Medios de cultivo utilizado en la investigación: agua residual porcina (izquierda) y medio Zarrouk (derecha).
Elaborado por: Cungián & Prado, 2024

Para el análisis del crecimiento de biomasa y la remoción de nutrientes se utilizaron las siguientes fórmulas:

- Velocidad específica de crecimiento (μ) (Lu et al., 2021):

$$\text{Ecuación (1). } \mu = \frac{\ln B_f - \ln B_o}{t}$$

Donde, B_f es peso seco final de biomasa, B_o es el peso seco inicial de biomasa y t es el tiempo de crecimiento

- Productividad de biomasa (P) (Lu et al., 2021):

$$\text{Ecuación (2). } P = \frac{B_f - B_o}{t}$$

Donde, B_f es peso seco final de biomasa, B_o es el peso seco inicial de biomasa y

t es el tiempo de crecimiento

Para el análisis de remoción de nutrientes se utilizó la siguiente ecuación: Porcentaje de remoción de nutrientes (R) (Lu et al., 2021):

$$\text{Ecuación (3). } R = \frac{C_f - C_o}{t} \times 100\%$$

Donde, donde C_o es Concentración inicial y C_f es concentración final de nutrientes y t es el tiempo.

2.8.2 Fase II de Adaptación

Una vez que se obtuvo escalado de 3 L se realizó dos subcultivos más para adaptar la microalga totalmente al agua porcina. Para esta fase de adaptación se obtuvieron 4 Lotes: 2 Tratamientos: 1. ARP1 (Agua Residual Porcina 1), 2. ARP2 (Agua Residual Porcina 2), 2 Controles positivos: 1. CP MZ1 (Control positivo Medio Zarrouk) y 2. CP MZ2 (Control Positivo Medio Zarrouk 2) y 2 controles negativos: CN 1 y CN2. Asimismo, como en la primera fase de adaptación se tomó 10 mL de muestra de los cultivos en cápsulas de crisol previamente pesados en una balanza analítica para después llevarlos a la estufa por 15 horas a 40°C para cuantificar el crecimiento de biomasa seca. En esta etapa también se incluyó un control positivo (medio Zarrouk + *A. platensis*) y un control negativo (Agua porcina), cada uno tenía 2 réplicas (**Figura 2-8**). Cada lote mantenía un volumen final de 900mL, en donde 720 mL era agua residual porcina y 180 mL de inóculo de *A. platensis*; es decir, una concentración inicial del 20% del volumen final de cultivo (Mezzomo et al., 2010).



Figura 2-8. Sistema de tratamiento de aguas residuales porcinas en segunda fase de adaptación con *A. platensis*.

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024

2.9 Implementación de un sistema continuo

Una vez que se realizó un escalonamiento de 3L, se implementó un sistema continuo. Se eligió un sistema de caída por gravedad, en contenedores plásticos de 4000 mL que asemejan a estanques tipo pecera, el volumen inicial de inóculo de microalga fue el 20% del volumen total. Se optó por este método debido a que en las instalaciones de la Universidad no se cuenta con una bomba peristáltica para poder administrar el flujo constante. El sistema continuo de remoción se compuso por un contenedor inicial que contuvo el medio fresco a proporcionarse (agua residual porcina). Esta agua residual cayó por una llave por goteo al siguiente contenedor en el cual se realizará el tratamiento con la microalga; y al final hubo otro contenedor el cual recogió el efluente tratado. El volumen constante del sistema se mantuvo mediante un rebosadero. Se implementó un sistema continuo por goteo debido a la falta de una bomba peristáltica en la Universidad y los parámetros del sistema continuo que son el caudal y el tiempo de retención se calcularon empíricamente. El caudal de la llave se utilizó en la mínima capacidad. Todo este sistema trabajó bajo condiciones ambientales como: fotoperiodo (12/12) y temperatura ambiente; una aireación continua por medio de una bomba de aire con una fuerza de 102 W, 110 V, una presión de 0.035 MPa y una frecuencia de 60 Hz.

(Figura 2-9) (Sassano et al., 2010a).



Figura 2-9. Prototipo de un sistema continuo por gravedad para tratamiento de aguas residuales porcinas con *A. platensis*.

Fuente: Cunguán & Prado, 2024

2.10 Análisis de agua residual porcina por espectrofotometría

2.10.1 Nitratos

Se tomó 10 mL de muestra del agua residual porcina ya tratada, se afora en un balón de aforo de 50 mL con agua tipo 1. Se usó un factor de dilución de 2 mL: 50 mL, ya que los niveles de nitratos en el agua residual fueron demasiados altos y no permitían ser leídos en el espectrofotómetro. Una vez que se crea la dilución se toma 10 mL de esta y se coloca en una cápsula de cerámica. Se coloca el reactivo marca Permachem Reagents, Cat. 2106169-LM pk/100, NitraVer 5 Nitrate Reactivo para muestra de 10 mL. Se agitó por 1 minuto, se espera la reacción por 5 minutos. Se lee el blanco que es una muestra de agua sin reactivo y finalmente se lee la muestra más el reactivo en el espectrofotómetro a 500 μm (Pedreros & Rodríguez, 2019).

2.10.2 Fosfatos

Asimismo, se tomó 10 mL de muestra de agua residual tratada, se afora en un balón de aforo de 50 mL con agua Tipo 1, se toma 10 mL de la muestra aforada y se colocó en una cápsula de cerámica o celda. En este caso se usó el reactivo marca Permachem Reagents Cat. 2106069-LM PK/10, PhosVer 3 Reactivo Fosfato para muestra de 10 mL. Se agitó por 3 minutos, se espera la reacción y que se torne color azul. Se lee el blanco de la muestra primero y se lee la muestra con el reactivo en el espectrofotómetro DR 1900 a una longitud de onda de $710\ \mu\text{m}$. En esta ocasión se realiza otra dilución 2mL: 50mL, debido a que los niveles de fosfatos que contiene la muestra son extremadamente altos es imposible leer para el espectrofotómetro. Se realizó el mismo proceso nuevamente y se lee la muestra (Pedreros & Rodríguez, 2019).

2.10.3 Amonio

En el caso del amonio, se tomó una muestra de 25 mL en tubos falcon de 50 mL en la mismase adicionó 3 gotas de estabilizador mineral. 3 gotas de agente dispersante de alcohol polivinílico y 1mL de reactivo de Nessler. Se esperó la reacción y se colocó en la cápsula decerámica para luego colocar en el espectrofotómetro DR 1900 a una longitud de onda de $425\ \mu\text{m}$ (Salbitani & Carfagna, 2021a).

2.11 Análisis de Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Para este análisis se requirió una muestra de 2 mL de cada tratamiento, se da vórtex a los viales de DQO rango 20-1500 mg/L antes de colocar la muestra por 30 segundos, se colocó los 2mL de muestra y se vuelve a dar vórtex para que esta se homogenice y se coloca en el digestor marca HACH DRB200 a una temperatura de 150°C por 120 minutos. Para determinar la cantidad de DQO en cada muestra, se lee en el espectrofotómetro a una longitud de onda de $620\ \mu\text{m}$ (Torres & Correa, 2008).

2.11.1 Secado de biomasa

Una vez que se realizaron todos los análisis químicos con los tratamientos, se procedió a secar la biomasa. Se centrifugó 45 mL de muestra en tubos falcón de 50 mL para separar la biomasa del agua, mediante centrifugación a 3000 rpm a 20°C por 15 minutos, así obteniendo la biomasa fresca lista para secar en una estufa a 40°C por 15 horas. Estas condiciones se ajustaron de acuerdo con experimentos de prueba anteriores.

2.12 Análisis de Biomasa

2.12.1 Determinación de proteínas

La metodología que se propuso para la determinación de proteínas fue tomada de (Association of Official Analytical Chemists, 1990) se utilizó el método Kjeldahl, es un método volumétrico que permitirá determinar diferentes tipos de nitrógeno presentes en la muestra. En donde se cuantificó el nitrógeno total, que es la suma del nitrógeno amoniacal (Nitrógeno en forma de amoniaco) y el orgánico. Este método consiste en tres etapas: Digestión, Destilación y Titulación Se empieza por obtener un gramo de muestra de agua residual tratada, una muestra control y un blanco. La muestra estuvo previamente seca y pulverizada, se añadió 3 gramos de catalizador (compuesto de óxido de titanio, Sulfato cúprico y sulfato de potasio). Se colocó 20 mL de ácido sulfúrico, se colocó la muestra y el catalizador en un balón de ebullición y se llevó a la manta calefactora análogo por 15 minutos a 100 °C. Después, se subió la temperatura a 400°C este proceso ocurrió por 2 horas y 30 minutos. Una vez que se obtuvo la muestra de la digestión, se colocó en un balón en un sistema de destilado previamente armado, se tomó 100 mL de agua ultrapura (Tipo 1) en una probeta graduada y se lavó el balón de ebullición al menos 3 veces hasta retirar los residuos. Fue necesario colocar un matraz Erlenmeyer receptor en la salida del sistema contenido de 30 mL de ácido bórico, este proceso duró aproximadamente 15 minutos a 100°C. Finalmente, una vez que se obtuvo 200 mL de la muestra destilada se llevó al sistema de destilación y se añadió HCl 0.2M hasta llegar a un pH de 4.65. Sin embargo, debido a que el equipo implementado tuvo

complicaciones y daños se optó por enviar a analizar las muestras en un laboratorio externo.

2.12.2 *Análisis de Carbono Orgánico Total (TOC)*

Este análisis se realizó por el método de combustión de muestras sólidas en un Analizador TOC-LCSH TOC y la Unidad de muestras sólidas SS-5000A. Se utilizó 40 mg de muestra sólida (Biomasa seca), el método que se utilizó es el Método NPOC en donde la muestra se mezcló con HCl en un recipiente de cerámica antes de ser medido, este proceso se llevó a cabo a 980°C (Shimadzu Corporation, 2019).

2.13 *Análisis Estadístico*

En este estudio, se utilizó la prueba de Mann-Whitney U para analizar las diferencias entre dos grupos independientes respecto a la variable de interés que se necesita analizar. La muestra consistió en 3 repeticiones de participantes divididos en Tratamiento 1 (Agua residual + Spirulina) y Tratamiento 2 (Agua residual). Debido a que los datos no cumplían con los supuestos de normalidad, se eligió este método no paramétrico. Se tomaron todos los datos obtenidos de todo el sistema continuo, se normalizaron los datos en este caso se optó por sacar logaritmos, se obtiene el promedio y la desviación estándar. Después se procedió a estandarizar todos los datos tomando el promedio y la desviación estándar. La hipótesis nula planteaba que no había diferencias significativas entre los grupos, mientras que la hipótesis alternativa sugería lo contrario. Se calculó el estadístico U y el valor p para determinar la significancia de las diferencias, utilizando un nivel de significancia de $\alpha=0.05$. El análisis fue realizado con el software Shapiro Wilks. Si el valor p resultaba menor que α , se considera que hay diferencias significativas (Gamarra et al., 2018).

CAPÍTULO III: PRESENTACIÓN DE DATOS Y RESULTADOS

Las condiciones que se establecieron para el crecimiento de *Arthrospira platensis* se consideraron ideales para obtener un rendimiento alto. El objetivo fue mantener un cultivo productivo y estable a nivel de laboratorio para luego escalar a un sistema continuo, libre de microalgas invasoras e insectos que afecten el cultivo.

El análisis químico del agua residual porcina que se utilizó como punto inicial para realizar el tratamiento y que se caracterizó para la inoculación con *A. platensis* se puede apreciar en la **tabla 3-1**.

Tabla 3-1. Parámetros y concentraciones iniciales de agua residual porcina tomada en la Finca de Alto Tena, Tena.

<i>Características iniciales de aguas residuales porcinas (mg/L)</i>	
<u>Parámetro</u>	<u>Concentración</u>
DQO	169
Nitratos	277
fosfatos	153
Amonio	737.48

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

3.1 Fase I de Adaptación al medio

En la **figura 3-1** se puede observar el crecimiento de biomasa microalgal de cada tratamiento y el control positivo. Es evidente que hay un crecimiento considerable en cada tratamiento. Los tratamientos C1, C2, C3, C4 y C5 comparados con el control hasta el día 28 tuvieron un crecimiento considerable, mientras que el C5 (control positivo) tuvo un descenso mayor.

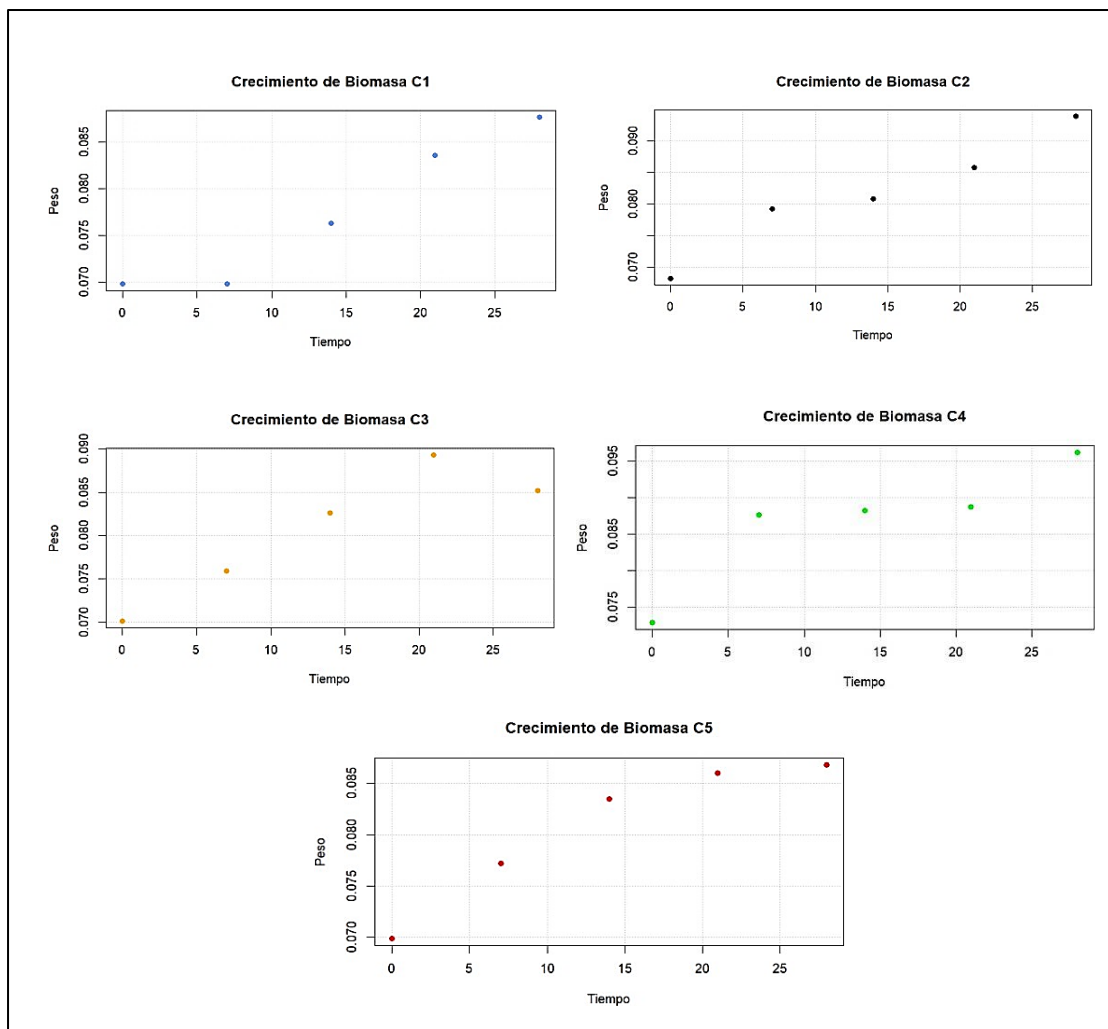


Figura 3-1. Curvas de crecimientos de biomasa cada uno de los cultivos (C1, C2, C3, C4 Y C5) en la primera fase de adaptación.

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

La curva de crecimiento de *Arthrospira platensis* se muestra en **figura 3-2** con respecto los días de cultivo, esto debido al crecimiento de biomasa (g/L), evidentemente se nota la buena correlación lineal que mantiene ($R^2=0.943$), demostrando condiciones favorables para *A. platensis*. Se constató cada una de las etapas de crecimiento de la microalga.

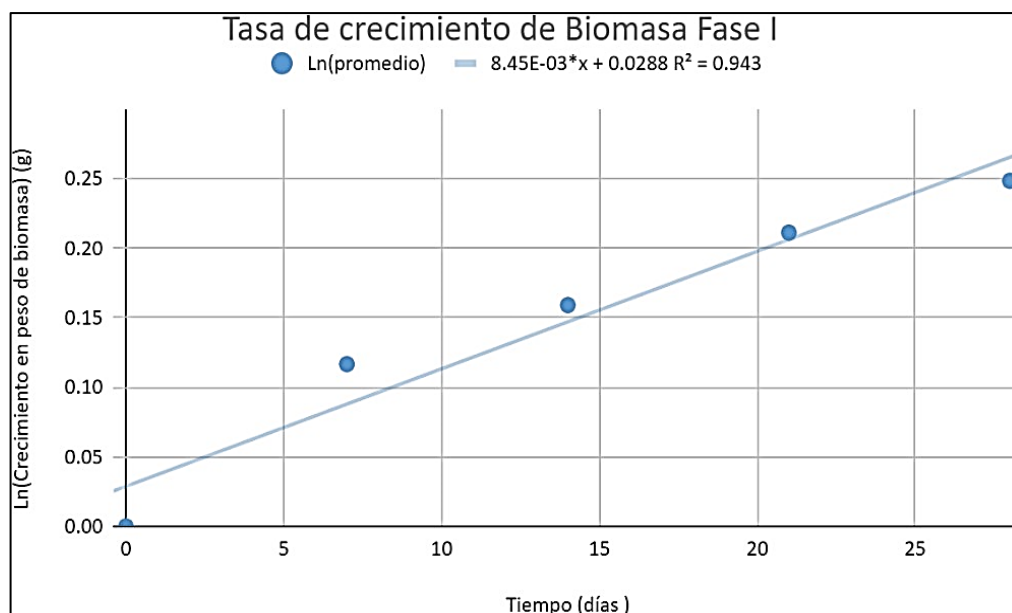


Figura 3-2. Tasa de crecimiento de biomasa seca de la fase uno de adaptación con *A. platensis* en agua residual porcina.

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

El crecimiento de la biomasa de *A. platensis* mostrado en la **figura 3-2** determinó la concentración de biomasa utilizada para los tratamientos, para la segunda fase de crecimiento y adaptación al medio. Cada uno de los biorreactores fue inoculado con una concentración inicial equivalente al 20% del volumen final, es decir, 180 g/L de *A. platensis*. En la **figura 3-3** se observa la eliminación de contaminantes en los tratamientos de la primera fase. El tratamiento C1 (C= cultivo) mostró una eficiencia negativa en la remoción de nitratos, lo que sugiere que el nitrógeno se transformó en otro contaminante, a diferencia de los tratamientos anteriores que lograron una remoción de nitratos, aunque mínima. Tanto el fosfato como el amonio estuvieron presentes como contaminantes, y en esta fase, la eficiencia de remoción del amonio fue la más significativa.

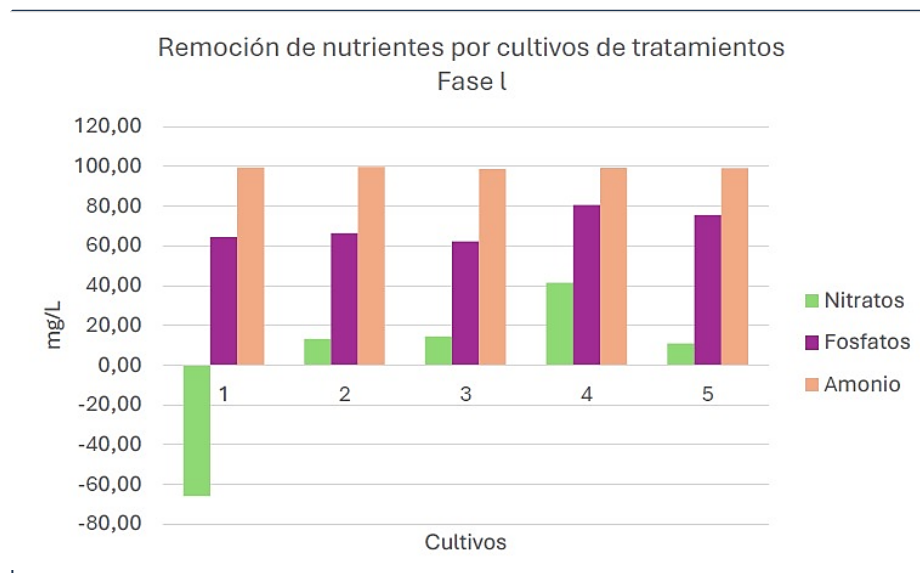


Figura 3-3. Remoción de nutrientes por cultivos de la fase uno de adaptación al medio de cultivo con *A. platensis*.
Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

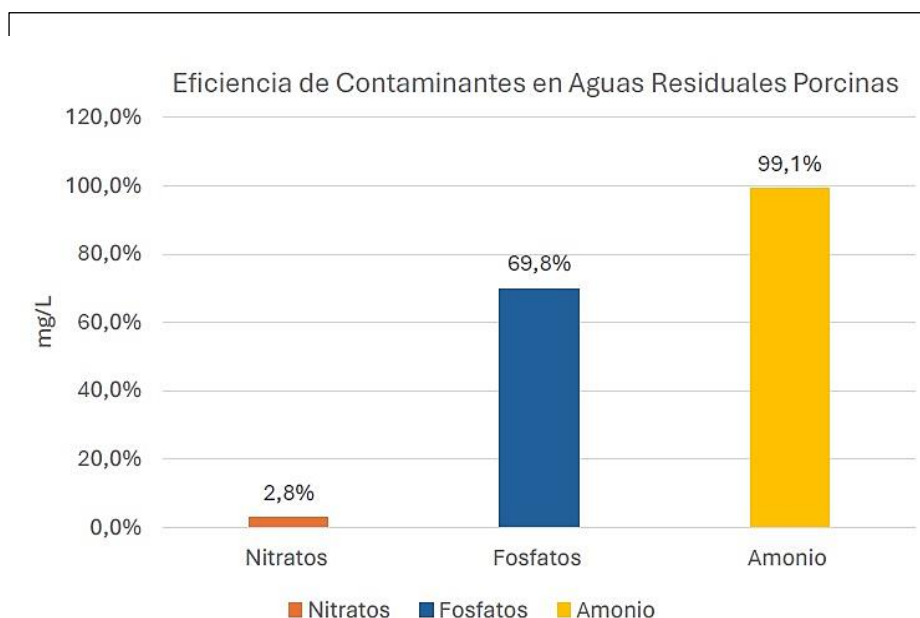


Figura 3-4. Eficiencia de remoción de contaminantes en aguas residuales porcinas de la primera fase de adaptación al medio con *A. platensis*.
Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

La investigación se centró en tratar el agua residual porcina utilizando *A. platensis*, durante 28 días. El principal objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad de *A. platensis* para eliminar ciertos contaminantes del agua residual, como nitratos, fosfatos y amonio. Tras el tratamiento con la microalga se observó que fue altamente efectiva en la reducción de estos contaminantes, logrando un alto rendimiento en su eliminación. Además, se pudo comprobar que *A. platensis* tiene un gran potencial para ser utilizada en proceso de biorremediación y tratamiento de aguas residuales. Se obtuvo como resultado un alto rendimiento de contaminantes. Los Nitratos obtuvieron una eficiencia de remoción del 2.8%, Fosfatos un 69.8% y Amonio un 99.1% (**Figura 3-4**). Esto demuestra que entre más alta sea la concentración de *A. platensis* al momento de inocular, mayor reducción de contaminantes se obtiene. La importancia de la implementación *A. platensis* se constata en este trabajo para regirse ante las normas medio ambientales de desfogue de aguas en Ríos principalmente en la ciudad de Tena en donde se realiza esta investigación. Cabe mencionar que estas normativas rigen en todo el país y los rangos establecidos se aprecia en la **tabla 3-2**. Asimismo, el DQO presentó un valor inicial de 169 mg/L, al pasar el tiempo de tratamiento de cada cultivo este incrementó con un promedio de todos los cultivos de 242 mg/L (**Figura 3-5 y 3-6**). El aumento de DQO se dio porque hubo presencia de materia orgánica en el medio de cultivo, además de que existe biomasa muerta que se descompone y libera componentes orgánicos que ayudan a la demanda química de oxígeno (Meng et al., 2023; Nguyen et al., 2022).

Tabla 3-2. Límites de descarga a un cuerpo de agua Dulce.

<i>Parámetro</i>	<i>Expresados como</i>	<i>Unidad</i>	<i>Criterio de calidad Agua Dulce</i>
Oxígeno Disuelto	OD	% de Saturación	>80
DBO	DBO	mg/L	20
DQO	DQO	mg/L	200
Sólidos Suspendidos Totales	SST	mg/L	máx. incremento de 10% de la condición natural
Potencial de Hidrógeno	pH	Unidad de pH	6,5-9
Nitratos	NO ₃	mg/L	10
Fosfatos	PO ₄	mg/L	0,1
Mercurio	Hg	mg/L	0,0002
Cadmio	Cd	mg/L	0,01
Plomo	Pb	mg/L	0,001
Amonio (Nitrógeno Amoniacal)	NH ₄	mg/L	30

Fuente: (Anexo 1. NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL Y DE DESCARGA DE EFLUENTES: RECURSO GUA., 2015)

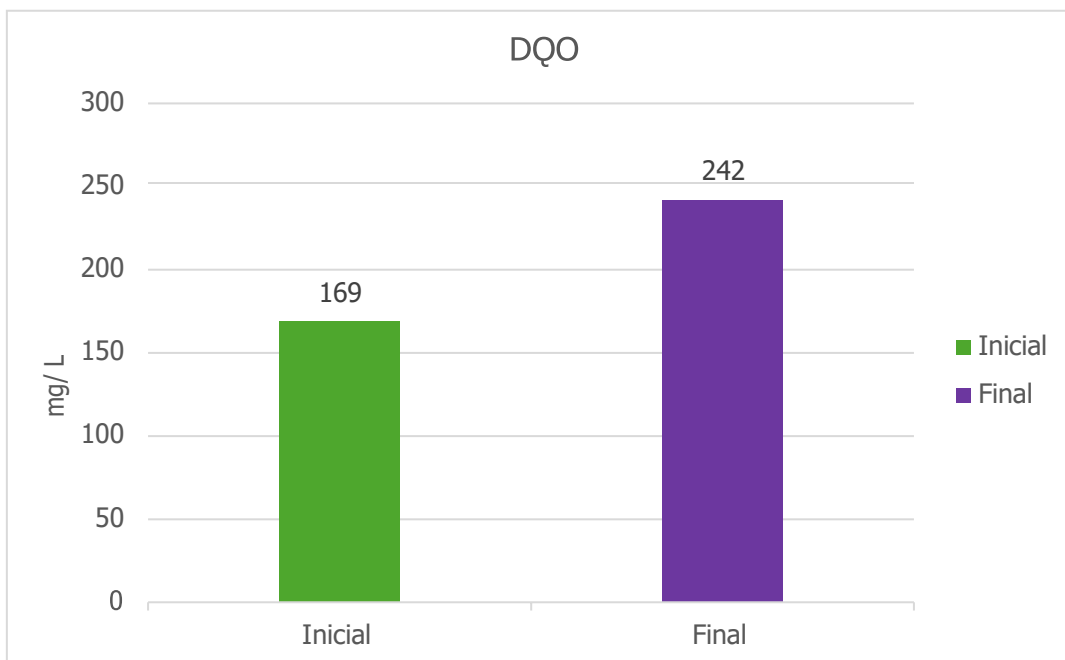


Figura 3-5. Concentraciones de DQO inicial vs. Final de la primera fase de adaptación al medio con *A. platensis*.

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

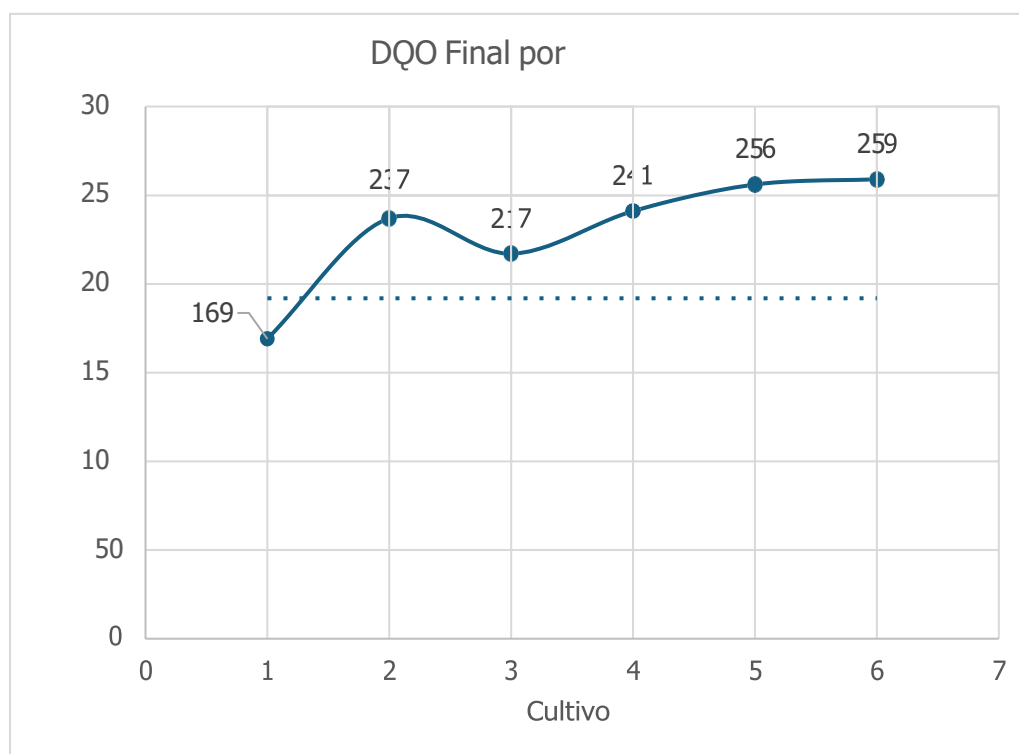


Figura 3-6. Concentración final de DQO por cultivos de la primera fase de adaptación.

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

Cabe aclarar que, al finalizar esta etapa de tratamiento el agua residual porcina tratada se presentó de manera incolora y ya no presentaba mal olor (**Figura 3-7**).



Figura 3-7. Agua Residual Tratada en la primera fase de adaptación con *A. platensis* (derecha) y biomasa fresca (izquierda).

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

3.2 Fase II de Adaptación al medio

Estos cultivos por lote se mantuvieron por 21 días, esto debido a que, presentó coloración verde amarillenta. Lo que quiere decir que, estaba en su fase de senescencia. Al igual que la fase anterior los tratamientos que se emplearon como medio de cultivo el agua residual porcina pasó por una caracterización fisicoquímica antes de ser inoculada con *A. platensis* (**Tabla 3-3**), los mismos que sobrepasan los límites permisibles de la Norma de Calidad Ambiental y Descarga de Efluentes: Recurso Agua (**tabla 3-2**).

Tabla 3-3. Parámetros iniciales para el tratamiento de aguas residuales en la segunda fase de adaptación al medio con *A. platensis*.

Parámetro	Concentración Inicial	Unidades de medida
DQO (Demanda Química de Oxígeno)	171	mg/L
Nitratos	253	mg/L
Fosfatos	160	mg/L
Amonio	350	mg/L

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

En la **tabla 3-4** y en la **figura 3-8** se aprecia como hay crecimiento de biomasa microalgal hasta el día 14 después de ese día se pudo notar un decrecimiento bastante notorio en los cultivos, a excepción de los controles positivos. Estos se mantuvieron en crecimiento constante hasta el día 21. Asimismo, en la **figura 3-8** se demuestra que el reactor con medio Zarrouk es el que mayor crecimiento de biomasa mantiene, esto debido a los componentes que contiene el medio. Mientras que el agua residual contiene nutrientes, pero su concentración puede variar o ser inadecuadas, estas presentan materia tóxica e inhibidora que afectan el crecimiento de la microalga o a su vez puede tener otros microorganismos que compiten por los nutrientes lo que minimiza la disponibilidad de estos (Crisanto & Yataco, 2018).

Tabla 3-4. Peso de biomasa seca de *A. platensis* en la segunda fase de adaptación al medio.

Peso Biomasa Seca (g)								
Tiempo (días)	ARP (1)	ARP (2)	Promedio ARP	Desviación estándar	MZ 1 Control Positivo	MZ 2 Control Positivo	Promedio MZ	Desviación estándar
0	0.0236	0.0234	0.0235	0.0001	0.2171	0.2151	0.2161	0.0005
7	0.0247	0.0251	0.0249	0.0002	0.3270	0.2226	0.2748	0.0261
14	0.0266	0.0253	0.02595	0.00065	0.2960	0.3712	0.3336	0.0188
21	0.0013	0.0021	0.0017	0.0004	0.3041	0.4148	0.3594	0.0276

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

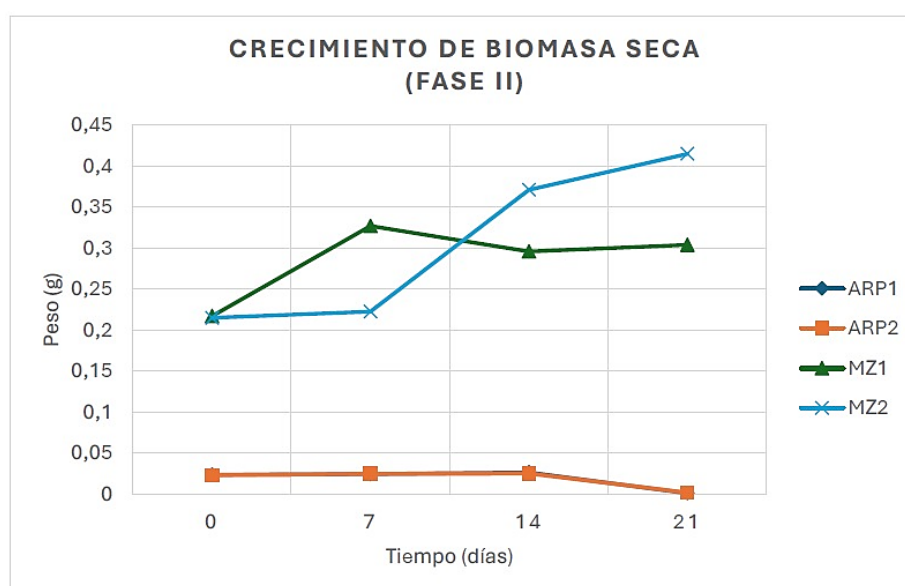


Figura 3-8. Crecimiento de biomasa seca de los cultivos con agua residual y controles positivos con respecto al tiempo.

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

En esta etapa se puede observar en la **tabla 3-5** que, el mayor porcentaje de remoción se presenta en el amonio con 46% de eficiencia, esto porque las aguas residuales al contener estiércol, el amonio puede presentarse en amoniaco desionizado, se convierte en gas en el cultivo y se libera como gas (Russell, 2012). En el caso de los fosfatos el porcentaje de remoción es de 31.25%, sin embargo, los niveles presentes de fosfatos el agua sigue siendo altos para los estándares permisivos del Texto Unificado de Legislación Secundaria de Medio Ambiente (TULSMA) como se mostró en la **tabla 3-2**. Los nitratos son los nutrientes contaminantes que menos porcentaje de remoción presentó con el 14.03% de eficiencia.

Tabla 3-5. Concentraciones iniciales vs. Finales y porcentajes de remoción de nutrientes de la segunda fase de adaptación al medio con *A. platensis*.

<i>Nutrientes</i>	<i>Concentración Inicial (mg/L)</i>	<i>Concentración final (mg/L)</i>	<i>Porcentaje de remoción</i>
Nitratos	253	217,5	14,03%
Fosfatos	160	110	31,25%
Amonio	350	189	46,00%

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

Como se demuestra en la **Figura 1-2**, la Demanda Química de Oxígeno (DQO) aumenta, esto se dio porque hubo una muerte de celular en los reactores de tratamiento de la segunda fase, se asume que fue por la saturación de nutrientes para la microalga y hubo mayor oxigenación porque se presentaron la existencia de nuevos microorganismos (Nguyen et al.,2022; Russell, 2012). Estos reactores primero presentaron coloración verde amarillenta, pero con el transcurso de los días se tornó completamente de color amarillo y *A. platensis* desapareció en su totalidad (**Figura 3-10**). Además, en la misma fotografía se puede observar que los controles negativos empiezan a tornarse de color verde, esto porque se evidencia la formación de un alga no identificada. El único que sobrevivió es el tratamiento con el medio convencional Zarrouk (**Figura 3-11**).

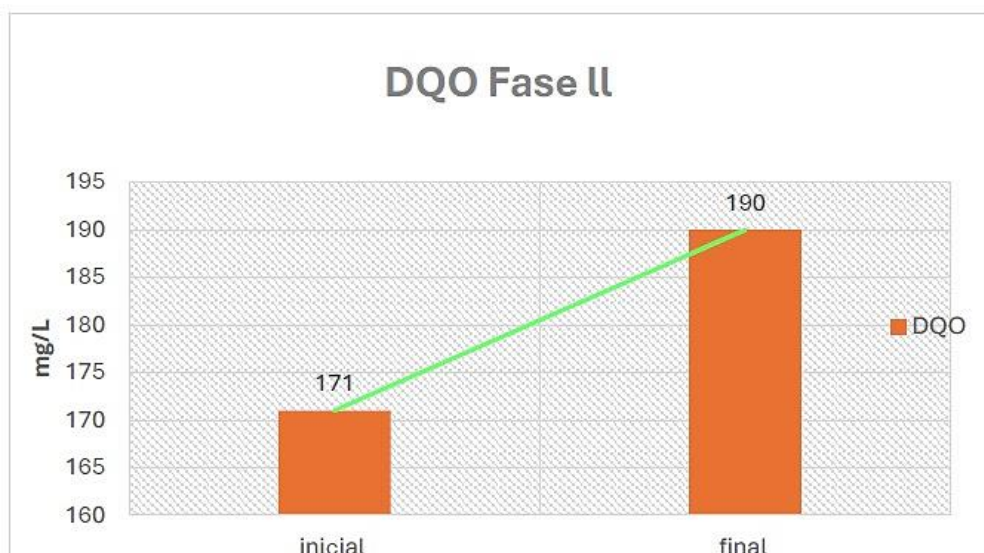


Figura 3-9. Concentración inicial vs. Final de Demanda Química de Oxígeno (DQO) de la segunda fase de adaptación del sistema de tratamiento de aguas residuales porcinas con *A. platensis*.

Elaborado por: Cunguán & Prado



Figura 3-10. Sistema de tratamiento de aguas residuales porcinas muerto de la segunda fase de adaptación al medio (recuadro rojo) con *A.*

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024

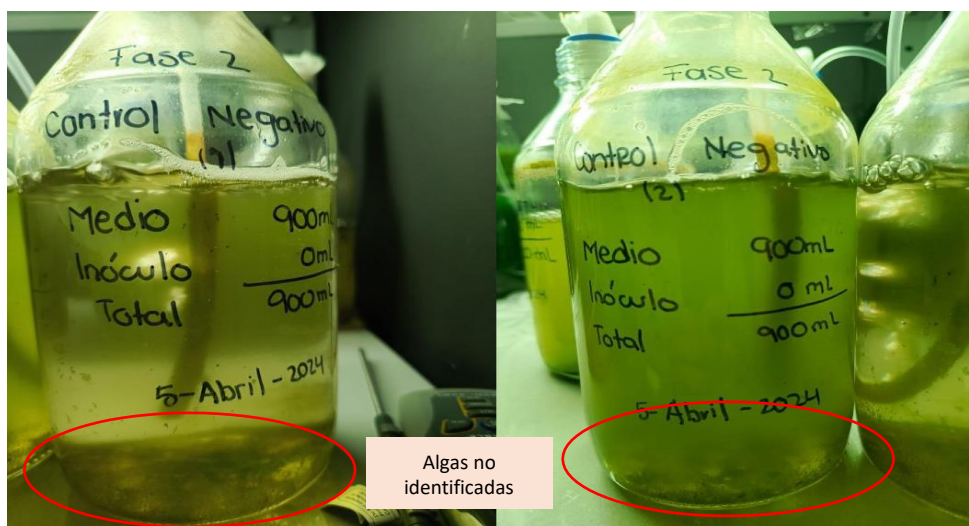


Figura 3-11. Identificación de nuevas algas en el control negativo del sistema de tratamiento de la segunda fase de adaptación al medio con *A. platensis*.
Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

3.3 Sistema Continuo

El sistema continuo contó con 3 niveles principales; el primer nivel era agua residual filtrada y sedimentada lista para un proceso de tratamiento, en el segundo nivel se encontraba el inóculo de *A. platensis* en donde ocurrió el tratamiento de las aguas residuales, en el tercer y último nivel se encontró el agua tratada lista para filtrar y secar la biomasa para análisis posteriores (**Figura 3-12**). En la segunda fase de adaptación al medio los tratamientos se murieron por lo que no se pudo calcular el caudal y el tiempo de retención adecuado. Sin embargo, el caudal se determinó mediante la capacidad mínima de goteo de la llave y su tiempo de retención fue de 66.6 horas. Debido a esto se optó por trabajar de manera empírica por la falta de tiempo y recursos.

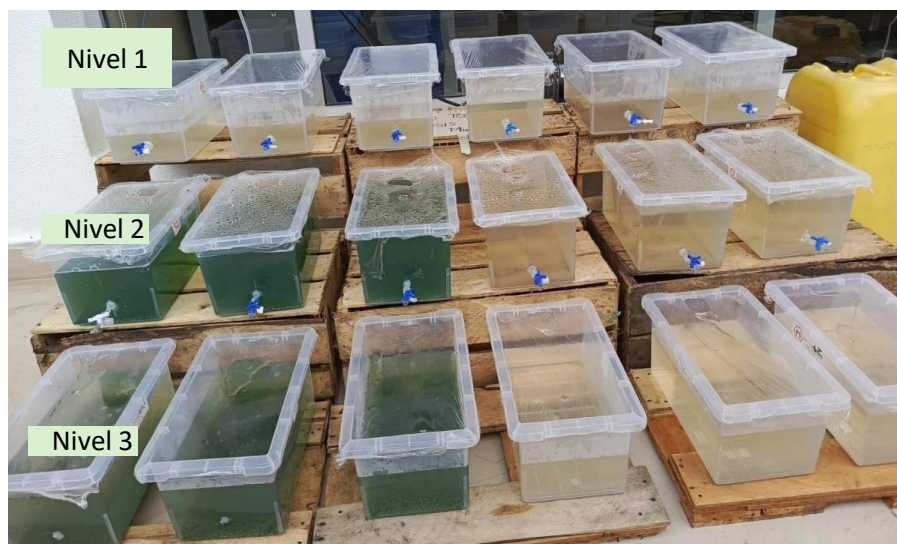


Figura 3-12. Prototipo del sistema continuo por gravedad que se implementó para el tratamiento de aguas residuales porcinas con *A. platensis*.

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

Asimismo, este sistema continuo cuenta con dos tratamientos y cada uno tiene sus réplicas. En la **tabla 3-6** se puede observar el aumento de biomasa con el transcurso de días. El Tratamiento 1 (Agua residual + Spirulina) muestra mayor crecimiento de biomasa. Mientras que el tratamiento 2 (control negativo) presentó un mínimo crecimiento de biomasa, pero se notó que no era biomasa sino pequeña sedimentación que presentaba al momento de secarse en la estufa. Lo mismo se puede apreciar en la **figura 3-13**, pero de manera gráfica donde es notorio que el control negativo mantiene estabilidad de biomasa debido a que en este control no ocurre ningún tipo de tratamiento, a diferencia del Tratamiento 1 que aumenta la biomasa y en este si ocurre un tratamiento del agua residual. Aunque su crecimiento no es favorable porque con el pasar de los días disminuye la reducción de contaminantes aumenta, es decir, la generación de biomasa no altera el tratamiento de contaminantes en el sistema continuo (**Figura 3-14, 3-15 y 3-16**).

Tabla 3-6. Concentración de biomasa microalgal en gramos del tratamiento en un sistema continuo por gravedad con *A. platensis*.

PESO SECO BIOMASA ALGAL (g)										
Tiempo (días)	Agua Residual Porcina + Spirulina					Agua residual Porcina (Control Negativo)				
	T1	T2	T3	Promedio ARP	Desviación Estándar	CN1	CN2	CN3	Promedio CN	Desviación Estándar
0	0.0697	0.0694	0.0686	0.0692	0.0005	0.0032	0.0033	0.0027	0.0031	0.0003
1	0.0586	0.0616	0.0570	0.0591	0.0019	0.0033	0.0031	0.0027	0.0030	0.0002
2	0.0369	0.036	0.0364	0.0364	0.0004	0.0038	0.0036	0.0036	0.0037	0.0001
3	0.0319	0.0314	0.0342	0.0325	0.0012	0.003	0.0030	0.0029	0.0030	0.0000

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

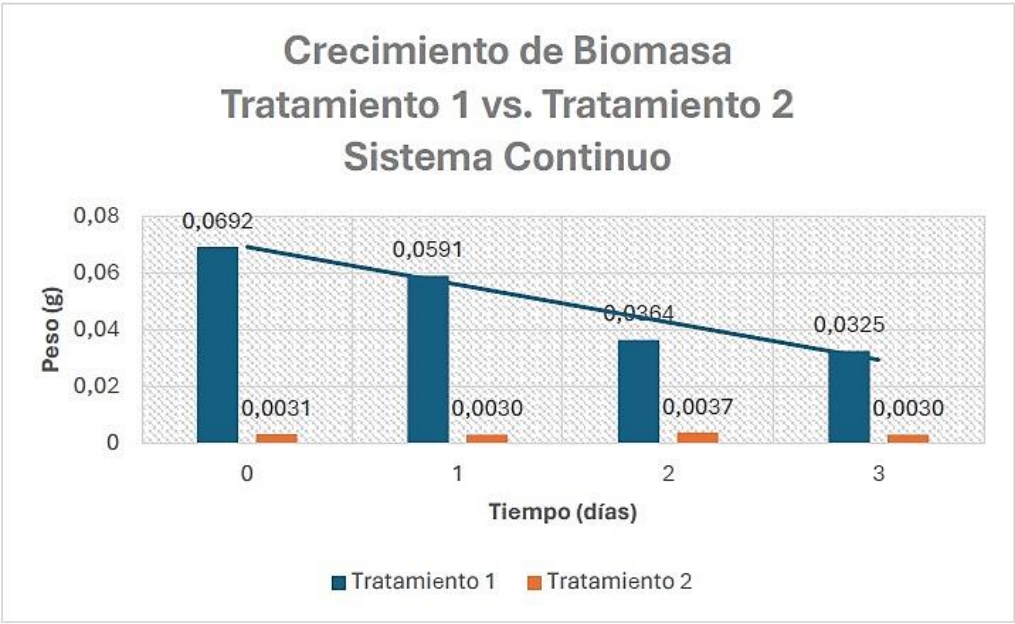


Figura 3-13. Crecimiento de biomasa seca generada en el sistema continuo por gravedad de tratamiento de aguas residuales porcinas con *A. platensis*.

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

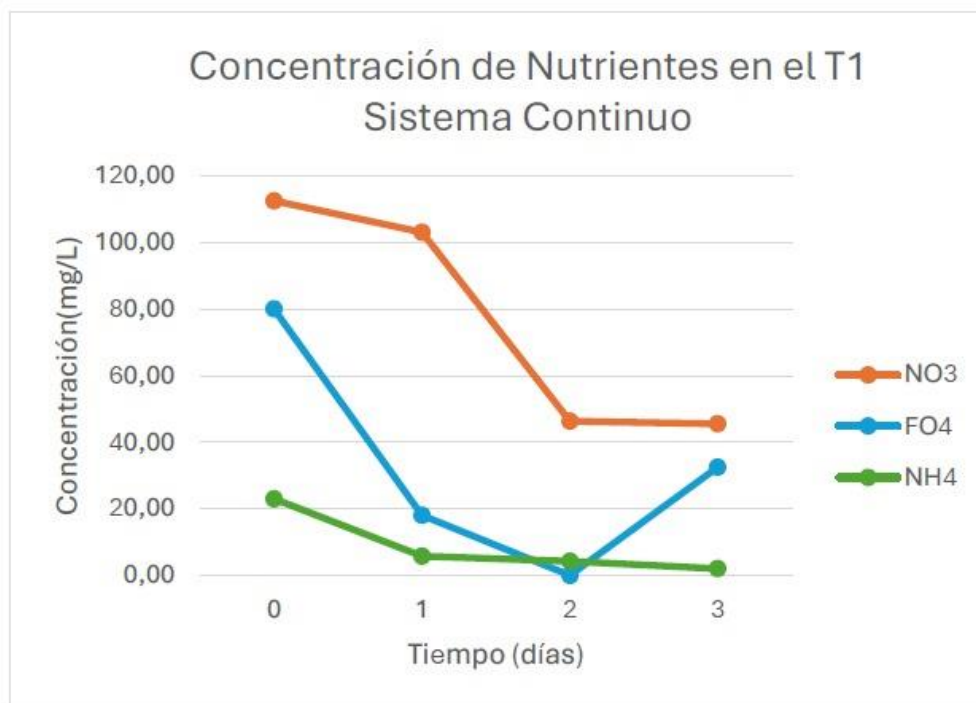


Figura 3-14. Concentración de nutrientes en el tratamiento 1 del sistema continuo por gravedad con *A. platensis*.

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024

Tabla 3-7. Concentración de nitratos, fosfatos y amonio en el tratamiento de aguas residuales porcinas en un sistema continuo por gravedad con *A. platensis*

CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES (mg/L)																		
Tiempo días	Agua Residual Porcina + <i>Spirulina</i>									Agua residual Porcina (Control Negativo)								
	T1			T2			T3			CN1			CN2			CN3		
	NO3	PO4	NH4	NO3	PO4	NH4	NO3	PO4	NH4	NO3	PO4	NH4	NO3	PO4	NH4	NO3	PO4	NH4
0	112.5	80	23	112.5	80	23	112.5	80	23	112.5	80	23	112.5	80	23	112.5	80	23
1	103	18	5.75	105	13.75	7.35	86	20.25	6.55	0.5	56	12.35	3.5	36.25	13.9	3.05	40.25	14.15
2	49.5	46.25	4.2	49	48	4.25	27	48.25	5.2	8	3	11.55	6	4.75	14.4	5	4	13.65
3	45.5	32.5	2	45.5	62	6.5	52	36	9.75	18	14.75	5.55	10.5	14.75	11.4	7	15.75	12.15

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024.

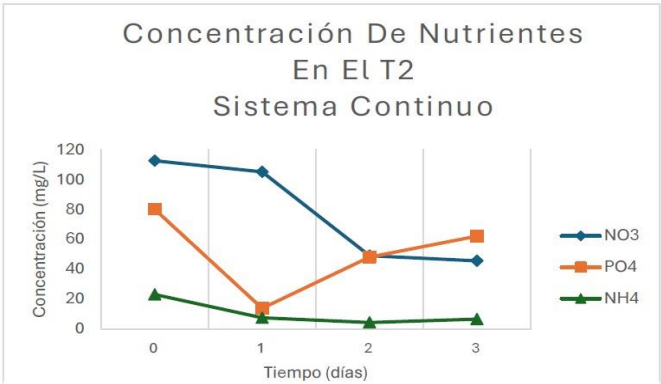


Figura 3-15. Concentración de nutrientes en el tratamiento 2 del sistema continuo por gravedad.

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024

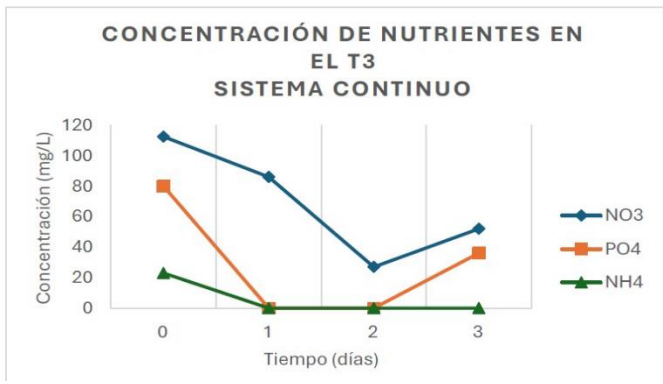


Figura 3-16. Concentración de nutrientes del tratamiento 3 de sistema continuo por gravedad.

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024

Se realizó análisis de cada contaminante por día, es decir, nitratos, fosfatos y amonio. Fue evidente que las concentraciones disminuyeron en comparación de los primeros días, se podía notar en la coloración del reactivo a la hora de realizar el análisis. Como se muestra en la **figura 3-18** los nitratos al primer día presentaban una coloración amarillenta, 3 días después su coloración desaparece, fue casi incolora. En el caso de los fosfatos, su coloración al día cero era azul intenso, en el día 3 su coloración bajo completamente que apenas se pudo notar el color azul en la muestra (**Figura 3-17**). Para el amonio fue de la misma manera, al principio su coloración era naranja intensa (**Figura 3-19**), al día 3 la tonalidad desapareció en su totalidad, es decir, que el agua tratada ya no presentaba niveles de amonio y estaba dentro de los límites permisivos de descarga en cuerpos de agua dulce. Aunque sus características físicas no son relevantes, es importante reconocer que si la coloración disminuye es porque los niveles de concentración han cambiado. En la **tabla 3-8** se observa como las concentraciones fueron disminuyendo con el pasar de los días.

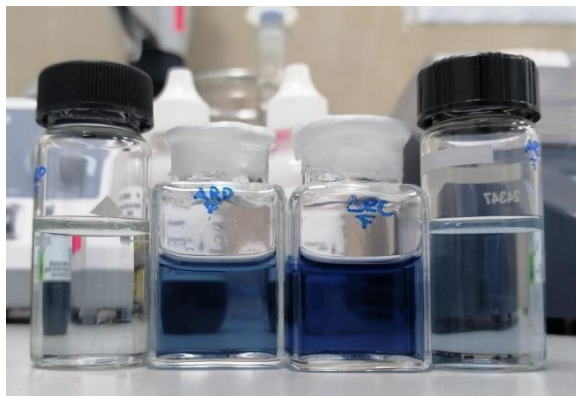


Figura 3-17. Análisis de fosfatos día 0 (medio) vs. día 3 (extremos).

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024

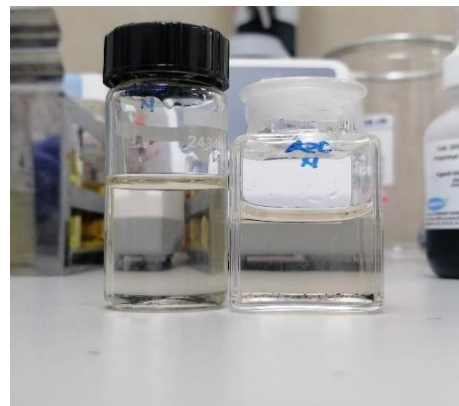


Figura 3-18. Análisis de nitratos del sistema continuo, día 3.

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024



Figura 3-15. Análisis de amonio día 0 (tubos Falcón) vs. día 2 (balón de aforo).
Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024

Para determinar el porcentaje de remoción de los nutrientes se midió la concentración inicial y periódicamente cada día de cada uno de los tratamientos del sistema continuo. Los porcentajes de remoción se puede en la **tabla 3-8** en donde el que más eficiencia tuvo fueron los controles negativos 1 y 2 con más del 30 % y el tratamiento C3 con 23.3 % de remoción de DQO. Sin embargo, los porcentajes de remoción son bajos para el DQO y se observa en la **figura 3-20** que en ciertas ocasiones este aumenta, el factor de esto puede ser que se tomó biomasa líquida al momento de tomar la muestra para medir el DQO.

Tabla 3-8. Concentración de DQO durante los 3 días de tratamiento del agua residual, de un sistema continuo por gravedad

Tiempo (días)	DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO) MG/L							
	Agua residual porcina + Spirulina				Agua residual Porcina (Control Negativo)			
	C1	C2	C3	Promedio	C1	C2	C3	Promedio
0	176	176	176	132	176	176	176	176
1	162	147	144	113,5	122	108	127	119
2	155	148	147	113	116	109	113	112,7
3	136	136	135	102,5	123	112	170	135
% Remoción	22,7%	22,7%	23,3%	22,3%	30,1%	36,4%	3,4%	23,3%

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024

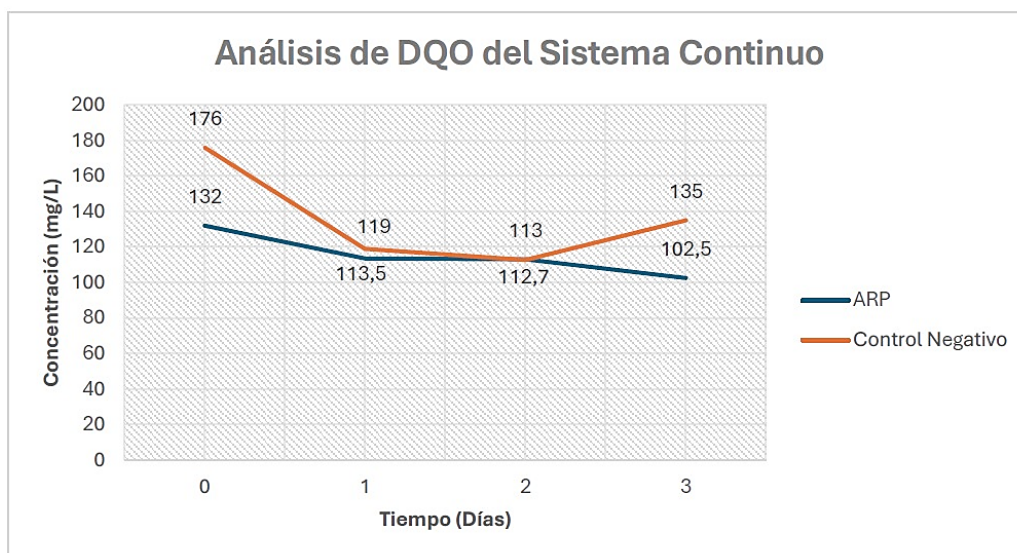


Figura 3-16. Análisis de DQO tratamiento de aguas residuales en un sistema continuo por gravedad con *A. platensis*.

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024

3.4 Análisis de Biomasa

3.4.1 Análisis de extracción de proteínas

Para el análisis de proteínas, se decidió hacer el análisis de las muestras en un laboratorio externo debido a que el equipo que se iba a utilizar en la Universidad presentó problemas y no se pudo continuar con el método. Se mandaron a analizar dos muestras de biomasa seca, una muestra fue del cultivo por lotes que se escaló a 3 litros y la otra muestra, fue una muestra compuesta de los 3 estanques del sistema continuo tratados con *A. platensis*.

Las muestras para analizar se realizaron por el método de extracción de nitrógeno total Kjeldahl, el cual se utiliza el factor de conversión que se basa en el supuesto de que el nitrógeno constituye aproximadamente el 16% de la masa de las proteínas, el valor de este factor es 6.25 (Association of Official Analytical Chemists, 1990).

Para la muestra de biomasa del cultivo escalado dio una concentración de proteínas de 1137.63 mg/L y para la muestra compuesta del sistema continuo dio una concentración de proteínas de 1488.91 mg/L.

3.4.2 Análisis de Carbono Orgánico Total (TOC)

La determinación del Carbono Orgánico Total se realizó de dos muestras principales que fueronde la biomasa seca generada en la primera fase de adaptación I (PF) y del sistema continuo (SC). Este análisis permitió determinar la concentración de carbono orgánico total, para ambas muestras que se muestras en la **figura 3-21**y en la **figura 3-22**. La concentración de la muestra PF es de 23.59 % y de la muestra SC les 32.95 %, influye mucho la edad del cultivo, en el caso de la biomasa PF tuvo un periodo de crecimiento 28 y la biomasa SC tuvo un periodo de crecimiento de 4 días. De cada muestra se tomó 40 mg. Este análisis se realizó porque se necesitaba saber el porcentaje de compuestos orgánicos que tuvo la biomasa generada, evitar además que se generan bacterias perjudiciales en la biomasa y así cumplir con las normativas que rigen según el Anexo TULSMA. La biomasa seca PF tuvo unaabsorbancia 9434 mg y la biomasa seca SC 13 180 mg, existe una gran diferencia entre cultivos evidenciando que SC mantiene más compuestos orgánicos que PF.

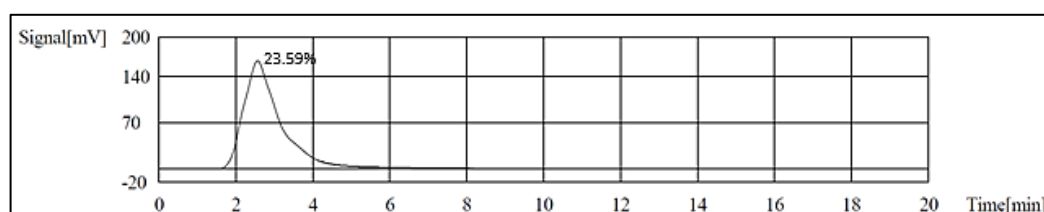


Figura 3-17. Curva de análisis de TOC para la biomasa seca de *Arthrospira platensis* del cultivo PF (Biomasa generada en la primera fase de adaptación).

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024

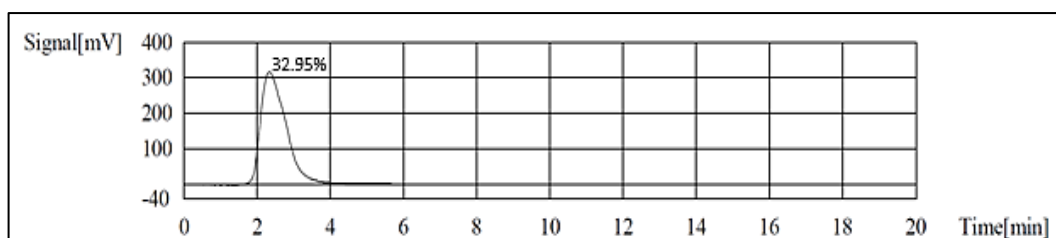


Figura 3-18. Curva de análisis de TOC para la biomasa seca de *Arthrospira platensis* del cultivo SC (Sistema Continuo por gravedad).

Elaborado por: Cunguán & Prado, 2024

3.5 Análisis estadístico

Se pretendió realizar un análisis estadístico Anova, pero hubo factores que impidieron este análisis como la limitación de datos y el tiempo.

Se verificó que los datos sean correctos, al momento de realizar la normalización se pudo notar que los datos no son normales. Entonces, se rechazó la hipótesis nula (H_0 : No hay diferencia en la distribución de las dos muestras) y no es normal porque $p < 0.5$. Por lo tanto, como los datos no son normales se utilizó Shapiro Wilks, utilizando Mann Whitney U una prueba no paramétrica para identificar diferencias significativas entre grupos donde los datos no son normales (Gamarra et al., 2018). Los resultados indican que, para los nitratos, se obtuvo un valor de $U=31.5$ en la prueba de Mann-Whitney, lo cual corresponde a un valor de $p=0.019$. Dado que $p < 0.05$, esto sugiere que hay una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos con *A. platensis* y el agua residual del grupo control negativo. De manera similar, en el caso del amonio, el valor de $U=36.5$ también indica una diferencia significativa en la distribución entre los tratamientos CN3 y T3. Sin embargo, para los demás contaminantes, no se encontraron diferencias estadísticas significativas. A pesar de ello, se observó un posible crecimiento de biomasa microalgal, lo que podría sugerir efectos positivos del tratamiento con *A. platensis* en este caso.

Aunque no es estadísticamente significativamente, a simple vista se puede apreciar que hay una tendencia mucho menor en el control negativo. Se pretendía que los tratamientos tengan mayor eficiencia en remoción de contaminantes, aunque si existe remoción se

esperaba que sea mayores los tratamientos que en el control. Pudieron existir muchos factores para que esto pasara como las condiciones del cultivo, en este caso las condiciones eran ambientales, es decir, al aire libre por lo que puede existir contaminación. El contaminante con mayor remoción en el tratamiento del sistema continuo con *A. platensis* es el amonio.

CAPÍTULO IV: INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN

5.1 Caracterización de aguas residuales

Las aguas residuales porcinas crudas tomadas en la finca tuvieron un DQO inicialmente bajo (169 mg/L) a comparación con las concentración típicas de las aguas residuales porcinas que van desde los 1 000 mg/L (Zheng et al., 2021), esta baja concentración pudo deberse a que las aguasresiduales dentro del pozo séptico estaban diluidas con agua lluvia; los días previos a la toma demuestra se suscitaron precipitaciones fuertes en la ciudad del Tena lo que pudieron causar unadilución mayor; además se supo que se usan volúmenes grandes de agua para lavar los establos. Por otro lado, los nutrientes presentaron concentraciones iniciales moderadas a diferencia de laconcentración de amonio, la cual presentó una concentración elevada con un valor de 737.48 mg/L (**Tabla 3-1**). Después de la filtración y la sedimentación, las concentraciones de DQO, nitratos, fosfatos y amonio redujeron, lo que demuestra que la sedimentación y la filtración de solidos resulta un pretratamiento viable para bajar la carga de contaminantes (López Vázquez et al., 2017). Esta disminución se debe a la eliminación de materia orgánica que generalmente forman parte de las partículas presentes en los sólidos suspendidos, mediante la sedimentaciónse logra eliminar partículas de lodo pequeñas, partículas coloidales y otras de mayor tamaño que por lo general suelen agruparse y flocularse (López Vázquez et al., 2017).

5.2 Fase de Adaptación

Para la primera fase de adaptación de la microalga, se cultivaron cinco FTB con agua residual porcina y un grupo control en medio Zarrouk para contrastar el crecimiento con un medio de cultivo estandarizado. Los cinco FTB presentaron un crecimiento constante, pero a un ritmo más lento a comparación con las microalgas que estaban creciendo en el medio Zarrouk. Hay una notable diferencia entre crecimiento en peso seco de biomasa en ARP y medio Zarrouk, esto debido a la disponibilidad de nutrientes en los diferentes medios y que el medio Zarrouk está optimizado para el crecimiento de

A. platensis. Después de los 28 días, los cultivos en lote no presentaron un crecimiento significativo a comparación con el control, por lo que la velocidad específica de crecimiento (Ecuación 1) fue de 0.01 d^{-1} , una tasa baja de crecimiento para permanecer dicho periodo de tiempo, aun así, las concentraciones de nutrientes se redujeron. Estudios similares como el de (Lu et al., 2021) se determinó una tasa de crecimiento para *A. platensis* cultivada en agua residual porcina de 0.14 d^{-1} en 15 días de cultivo. En este caso, los fotobiorreactores eran frascos Erlenmeyer con aireación continua, iluminados con lámparas led de 3000 lux, pero con un fotoperiodo de 24 horas de luz a comparación con nuestro estudio, que fue un fotoperiodo luz/oscuridad de 12h/12h. La exposición prolongada a la luz pudo haber influido significativamente en el crecimiento de biomasa y por ende tener una tasa de crecimiento más alta. Por otro lado, (Mezzomo et al., 2010) también evaluaron el crecimiento de *A. platensis* en ARP en fotobiorreactores acoplados en frascos Erlenmeyer de 2 litros, con aireación continua y fotoperiodo 12h/12h durante 30 días, y se obtuvieron tasas de crecimiento específico entre 0.2 a 0.4 d^{-1} . Mezzomo y sus colaboradores analizaron la influencia de la suplementación de bicarbonato de sodio en los cultivos, obteniendo así tasas de crecimiento altas.

De los cinco fotobiorreactores en ARP en lote, se obtuvo una remoción promedio del 99.1% en amonio, 69.8% de remoción en fosfatos y una baja remoción en nitratos con un 2.8%. En el estudio llevado a cabo por (Cheunbarn & Peerapornpisal, 2010) se obtuvieron porcentajes de remoción similares en amonio y fosfatos, con un 92% y 67% respectivamente. En este estudio, se analizó el crecimiento de *A. platensis* en diferentes diluciones de agua residual porcina tratada anaeróbicamente en contenedores de 20 litros con 5 litros de inóculo de microalga durante 14 días, y el resultado más favorable fue el tratamiento con una dilución de 10% de ARP con agua destilada. Este tratamiento resultó en una remoción del 49% en nitratos, 67% en remoción de fosfatos y un 92% de remoción en amonio. En contraste con el estudio de Cheunbarn & Peerapornpisal, las células de *Arthrospira platensis* de este presente estudio demostraron resistir y ser capaces de sobrevivir en agua residual porcina cruda sin diluir y alimentarse de los nutrientes logrando una reducción significativa de los contaminantes durante un periodo de tiempo más prolongado, aunque se ha demostrado que las ARP crudas

pueden tener altos niveles de contaminante y no representan un medio viable para las microalgas por lo que se recomienda una dilución o un pretratamiento (Baker et al., 2021).

Otro estudio llevado a cabo por (Pedreros & Rodríguez, 2019), evaluó el crecimiento de un cultivo mixto de microalgas en ARP y la remoción de nitratos y fosfatos, en dos diferentes sistemas por lote, uno en estanques abiertos tipo pecera y otro en sistema cerrado en botellas, con volúmenes finales de trabajo de 3 litros durante un periodo de tiempo de 15. Pedreros & Rodríguez, concluyeron que el tratamiento con 100% ARP en un sistema abierto, con fotoperiodo de 24 horas de luz, iluminados con lámparas led fue el óptimo para la remoción de contaminantes, logrando una remoción de 81.5% en nitratos y 55.7% para fosfatos. El fotoperiodo juega un papel importante en el cultivo de las microalgas, ya que está ligado estrechamente a la actividad fotosintética; al igual que en el estudio de (Lu et al., 2021), los tratamientos con exposición a 24 horas de luz presentaron los resultados óptimos.

Un aumento de la DQO después de los 28 días de cultivo se debe a la presencia de materia orgánica en el medio de cultivo. Durante el proceso de crecimiento de *Arthrospira platensis*, sus células producen desechos y metabolitos que pueden contribuir al aumento de la DQO, además existe la acumulación de biomasa muerta que se descompone, esto también liberan componentes orgánicos que contribuyen a la demanda química de oxígeno (Meng et al., 2023; Nguyen et al., 2022); Nguyen et al., 2022). A su vez, puede que haya en las ARP otras poblaciones microbianas que estén creciendo en el fotobiorreactor, estos microorganismos descomponen la materia orgánica aumentando la DQO (Qu et al., 2021).

Por otro lado, la concentración de nitratos no resultó del todo degradada, esto pudo deberse a que las células de *A. platensis* prefirieron el amonio antes que los nitratos, ya que las concentraciones de amonio inicialmente fueron altas, entonces las células comenzaron nutriéndose de amonio (S. Li et al., 2022). El NH_4 es preferido por las microalgas antes que los nitratos porque es más fácil de asimilar en aminoácidos, lo que

les permite generar biomasa. El amonio una vez dentro de las células es asimilado por dos vías: la glutamina sintetasa y la glutamina oxoglutarato aminotransferasa/glutamato sintasa (GS/GOGAT) o glutamato deshidrogenasa (GDH) (Nagarajan et al., 2019). La vía preferida para organismos fotosintéticos es la GS/GOGAT, en la cual primero la glutamina sintetasa produce glutamina, luego la glutamina es convertida a glutamato por la enzima glutamato sintasa. En cambio, por la otra vía, los organismos fotosintéticos incorporan el nitrógeno amoniacal directamente al glutamato gracias a la glutamato-deshidrogenasa (S. Li et al., 2022; Nagarajan et al., 2019). Además, la baja reducción en la concentración de nitratos también pudo deberse a que, antes de ser asimilados, los nitratos deben desnitrificarse para convertirse en amonio, y consumirlo resulta en menos gasto energético para las células (Russell, 2012). El amonio también tiene la capacidad de controlar o inhibir la asimilación de fuentes inorgánicas de nitrógeno gracias a la represión de los genes de las enzimas asimiladoras y las proteínas de captación (Nagarajan et al., 2019).

La remoción de fosfatos también resultó significativa, logrando un promedio de remoción entre los 5 cultivos del 69.8%. La asimilación de fosfatos por parte de las microalgas es esencial, ya que lo usan para la síntesis de ATP, importante para la transferencia de energía en procesos metabólicos. Los fosfatos al ser una fuente de fósforo, las microalgas también lo usan para la síntesis de ADN, ARN y fosfolípidos, convirtiendo así en un nutriente esencial para la supervivencia de *A. platensis* (Nagarajan et al., 2019).

5.3 Segunda Fase de Adaptación

Para la segunda de adaptación de las microalgas al ARP cruda, se escaló los cultivos de la primera fase a un solo cultivo, y de este se hicieron dos subcultivos en ARP, y además dos grupos control, uno positivo que era en medio Zarrouk y el negativo en ARP sin microalga. En esta etapa, las microalgas inoculadas en ARP no resistieron después del catorceavo día y empezaron a morir, llegando a perderse la totalidad de la biomasa. La muerte de la biomasa se debió a una saturación de nutrientes en especial por la alta

concentración de amonio. Las células de las microalgas habían consumido el 99% de amonio en la primera fase. Como resultado, las microalgas presentaron una saturación de amonio llegando a ser tóxica, aunque se usó la misma agua hubo un desbalance en los nutrientes lo que alteró el crecimiento de las microalgas (El- Sheekh et al., 2020).

El desbalance de nutrientes que presentó las células de *A. platensis* resultó en la pérdida total de la biomasa. Esto pudo deberse a diversos factores, pero se cree que el principal factor fue un desequilibrio iónico (Russell, 2012). Al haber abundancia en fuentes de nitrógeno en este caso en forma de ion amonio, las células de las microalgas acumularon demasiados iones amonio lo que pudo afectar la osmolaridad interna y provocando un influjo de agua haciendo que la célula se hinche o termine en muerte por lisis celular (Vonshak et al., 1982). Para mantener el equilibrio iónico, al estar asimilando NH_4^+ , las microalgas expulsan iones de hidrógeno (H^+) lo que hace que el pH del medio se reduzca, haciéndolo aún más ácido lo que resulta no viable para las microalgas; además para compensar ese desequilibrio iónico por acumulación de amonio, también pueden expulsar otros iones como potasio (K^+), calcio (Ca^{2+}) y sodio (Na^+), esto puede alterar los niveles de estos iones, que son esenciales para varios procesos metabólicos (Russell, 2012). El estudio llevado a cabo por (X. Li et al., 2019), en el cual evaluó los efectos de amonio en el crecimiento de *A. platensis* y su composición bioquímica, se confirmó que *A. platensis* no logra sobrevivir a concentraciones altas de amonio. Li y sus colaboradores, evaluaron diferentes concentraciones de amonio en cultivos autotróficos y mixotróficos; las microalgas crecieron en cultivos con medio Zarrouk en sistema por lote. Las investigaciones de Li y sus colegas demuestran que concentraciones por encima de los 100 mg/L mostraron una reducción de biomasa al segundo día. *A. platensis* presentó una mayor tolerancia a las altas concentraciones de amonio en las investigaciones en cultivos mixotróficos, los cuales fueron alimentados con glucosa diariamente. A contraste con el presente estudio, las microalgas permanecieron aproximadamente 30 días donde se dio una remoción del 99%, y exponerlas a tiempos más prolongados a concentraciones altas de amonio resulta ser tóxico para las microalgas lo cual inhibe su crecimiento (Salbitani & Carfagna, 2021b).

Por otro lado, el estudio de (Qu et al., 2021), se evaluó la simbiosis entre las microalgas *Chlorella* sp. MA1 y *Coelastrella* sp. KE4 y se encontró de que, de todas las bacterias solo *Arcobacter* sp. estuvo relacionada con la remoción de contaminantes. El trabajo simbiótico hecho por microalgas y bacterias en el estudio de Qu et al., 2021, mostraron eficiencias de remoción de hasta 99.52% en amonio y 96.06% en fosfatos en aguas residuales porcinas crudas. Estos estudios demuestran que la utilización de metodologías combinadas y una simbiosis entre organismos pueden ayudar a una mejor remoción de la DQO y contaminantes, además se debería realizar tratamientos previos del agua residual para reducir la carga de contaminantes, como un tratamiento anaeróbico en un biodigestor del cual también se podría obtener subproductos que pueden ser útiles para el agricultor.

5.4 Sistema continuo

Los resultados de segunda fase no resultaron favorables para poder escalar a un sistema continuo debido que la biomasa de la segunda fase de adaptación se murió, por lo tanto se trabajó de manera empírica y se decidió probar con el caudal mínimo que proporcionaba las llaves de goteo, que resultó ser 100 ml/h y el tiempo de retención se estableció que fuera el tiempo que duró en descargar los 4000 mL de medio fresco; además se realizó un revisión y análisis bibliográfico de investigaciones donde se haya usado un sistema continuo para la remoción de contaminantes en aguas residuales usando microalgas, y se encontró tiempos de retención similares a lo que se estableció con el caudal proporcionado por las llaves de goteo (Avila-Leon et al., 2012; Sassano et al., 2010b; Tang et al., 2012).

Los datos de crecimiento de biomasa seca en los tratamientos con *A. platensis* en el sistema continuo, presentaron una disminución en el crecimiento de biomasa (**Tabla 3-6**), debido a que los experimentos se realizaron en condiciones ambientales y no en condiciones controladas como se hace dentro de un laboratorio. A pesar de la poca productividad de biomasa, las microalgas lograron remover los nutrientes de las aguas residuales. Como ocurrió en la primera fase, las microalgas lograron una mayor remoción

en cuanto al contenido de amonio con un promedio de remoción del 73.55%, 57.63% en nitratos, 45.63% en fosfatos y un 22.92% en DQO. Cabe recordar, que la concentración de DQO inicial en la primera y segunda fase era menor a los límites máximos permisibles de descarga hacia un cuerpo de agua dulce (200 mg/L) (Anexo 1. Norma De Calidad Ambiental y De Descarga De Efluentes: Recurso Agua, 2015), igualmente en el sistema continuo se presentó una concentración inicial baja (176 mg/L), lo que sugiera que las concentraciones de la DQO cumplen con el límite máximo permisible, pero las concentraciones de nutrientes son elevadas y no pueden ser descargas hacia los cuerpos de agua dulce. En los tratamientos de ARP con *A. platensis* en el sistema continuo se tuvo una concentración inicial de nitrógeno total de 82.3 mg/L y 26.11 mg/L de fósforo total, y después del tratamiento con la microalga hubo una reducción en las concentraciones llegando a valores finales de 15.50 mg/L para nitrógeno y 14.20 mg/L para fósforo, lo que resulta en una eficiencia de remoción de 82.32% y 45.62% respectivamente. A pesar de que se ha logrado reducir los contaminantes en las aguas residuales, aun no serían aptas para descargar hacia las fuentes hídricas porque no cumplen con la normativa de descargar. Los límites máximos permisibles hacia un cuerpo de agua dulce del anexo 1 del Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente: Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes al recurso Agua (TULSMA), se encuentran en la **tabla 3-8** de dicho Anexo, en el cual se detalla que las concentraciones límites de descarga de DQO, nitrógeno amoniacal, y fósforo total, con valores de 200 mg/L, 30 mg/L y 10 mg/L respectivamente (Anexo 1. Norma De Calidad Ambiental y De Descarga De Efluentes: Recurso Agua, 2015). Como ya se había mencionado anteriormente, la concentración inicial de DQO fue baja debido a que presentaba una dilución con aguas lluvias, por lo tanto, los valores presentados en este estudio indican que el valor de la DQO en la ARP es óptimo para ser descargada. Por otro lado, la concentración final promedio de remoción de amonio (6.08 mg/L) resultó menor que las otras concentraciones, esta concentración está por debajo del límite permisible (30 mg/L), lo cual cumple con los límites máximos permisibles (**Tabla 3-2**) (Anexo 1. Norma De Calidad Ambiental Y De Descarga De Efluentes: Recurso Agua., 2015). De igual manera, la concentración promedio final de fosfato (43.50 mg/L) resultó reducida a la mitad en contraste con la inicial (80 mg/L); a partir de esta concentración

se puede obtener el fósforo total al final del tratamiento, teniendo una concentración de 14.19 mg/L, la cual es ligeramente mayor al límite máximo permisible (10 mg/L) (**Tabla 3-2**). Dado estos resultados, el tratamiento con *A. platensis* para ARP cumple con el límite permisible para concentraciones de DQO y fósforo.

La literatura es escasa en cuanto al tratamiento de aguas residuales porcinas con microalgas mediante un sistema continuo, aun así, se han llevado a cabo pocas investigaciones en las cuales se trata aguas residuales de animales de granja mediante sistemas biológicos, tal es el caso de (García, 2021), que en su investigación evaluó el tratamiento de un efluente de matadero avícola mediante el uso de la microalga *Chlorella vulgaris* en un biorreactor que estaba operado en modo continuo. García adaptó sus microalgas previamente en cultivos por lote, obteniendo una velocidad de crecimiento específica de 0.36 d^{-1} , una tasa de crecimiento óptima para poder escalar a un sistema continuo. En un tiempo de retención de 3.4 días y proporcionando un caudal constante de 0.84 mL/min mediante una bomba peristáltica con un volumen de trabajo de 4 000 mL, García alimentó sus cultivos continuamente y confirmó que la concentración de nutrientes se mantuvo constante, y la mayor reducción de nutrientes se produjo en el cultivo por lotes previo a escalar a un sistema continuo, pero el crecimiento de biomasa incrementó durante los 3.4 días. García logró la reducción en un 83% de la DQO, 58% en nitrógeno y 60% en fósforo (García, 2021).

5.5 Análisis bioquímico de la biomasa

5.5.1 Proteínas

Se decidió analizar dos muestras, una era la biomasa obtenida del escalonamiento de los cultivos de la primera fase a un solo cultivo, y la otra fue una muestra compuesta de los 3 tratamientos con *A. platensis* del sistema continuo; se usó una muestra compuesta debido a la falta de recursos y abaratar los costos. Los resultados fueron una concentración de proteínas para la biomasa seca del cultivo escalado de la primera fase fue de 1137.63 mg/L y para la biomasa del sistema continuo fue de 1488.91 mg/L. Es

evidente que la biomasa del sistema continuo contiene más proteínas, esto puede deberse a que en el sistema por lotes las células permanecieron por más tiempo, haciendo que la asimilación de nutrientes se vea afectada por un desbalance en los nutrientes y el aumento de la DQO. Se sabe que las microalgas necesitan de compuestos nitrogenados para la producción de proteínas, ácidos nucleicos y la síntesis de fosfolípidos, que son esenciales para el metabolismo de las microalgas (Zhu et al., 2013). Las ARP de este estudio contenían altas concentraciones de amonio y nitratos, lo cual les permitió a las microalgas nutrirse de suficientes compuestos nitrogenados y así generar altas concentraciones de proteínas. Estudios previos han reportado que el contenido de proteínas en microalgas puede estar entre un 43 y 70% en biomasa seca (López-Pacheco et al., 2021). Además, el contenido de proteínas proporciona una idea del valor nutricional y la calidad de la biomasa para poder usarse como suplemento alimenticio para animales.

5.5.2 Carbono Orgánico Total (TOC)

Se realizó el análisis de carbono orgánico total (TOC, por sus siglas en inglés) a dos muestras de biomasa seca de *A. platensis*, una muestra fue del cultivo escalado en la primera fase y la otra de una muestra compuesta proveniente de los 3 tratamientos con *A. platensis* del sistema continuo. La muestra del cultivo escalado denominada PF (**Figura 3-5**) dio como resultado un 23.59% de contenido de carbono orgánico en 40 mg de muestra y para la muestra compuesta proveniente del sistema continuo dio como resultado 32.95% de contenido de carbono orgánico, en la misma cantidad de muestra. El análisis de carbono orgánico total es una medida que permite calcular la eficiencia de remoción en cuanto a la carga de materia orgánica antes y después del tratamiento en aguas residuales, pero en este estudio se decidió analizar el TOC a las muestras finales de biomasa seca de los dos diferentes tratamientos, por lote y en sistema continuo. La muestra proveniente del sistema continuo tiene un mayor contenido de carbono orgánico a comparación con la de sistema por lotes, esto se debe al suministro constante de medio fresco, lo que les permitió a las células de las microalgas acumular más contenido de carbono orgánico; en cambio las células de los sistemas por lote

permanecieron por un tiempo más prolongado en los biorreactores, haciendo que la biomasa se degrade y reduciendo la carga de TOC.

Saber el contenido de TOC, puede dar una idea del valor de la biomasa y su potencial para ser usada como biofertilizante, como suplemento alimenticio o hasta para su producción de biocombustibles (Abou-Shanab et al., 2013). Además, conocer estos datos proporcionaría información primordial para los agricultores y porcicultores, saber si la biomasa de las microalgas es óptima para usarse como biofertilizantes en sus cultivos o como suplemento alimenticio para los cerdos u otros animales, lo cual ayudaría a reducir gastos en cuanto a fertilizantes químicos. A su vez, se incentivaría a los agricultores a generar una economía circular y sustentable en sus recintos agrícolas, utilizando al máximo los desechos de los animales y generando productos de valor agregado (López-Pacheco et al., 2021; Zhang et al., 2019).

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

- Se observó que los controles positivos en medio Zarrouk generaron mayor biomasa. Sin embargo, esto no implica que la biomasa producida en los tratamientos sea de baja calidad. De hecho, la biomasa obtenida contiene altos niveles de nutrientes como NPK (nitrógeno, fósforo y potasio), lo cual indica su potencial para la generación de subproductos valiosos como biofertilizantes o suplementos alimenticios.
- Durante la primera fase de adaptación, los cultivos en agua residual porcina lograron una remoción de amonio del 99.1%, fosfatos del 69.8% y una remoción baja de nitratos de solo el 2.8%.
- La segunda fase del proceso mostró una pérdida total de biomasa a partir del día 14 debido a la saturación de nutrientes, especialmente la alta concentración de amonio, que resultó ser tóxica para las microalgas, afectando la producción de biomasa.
- El uso de un sistema continuo para el tratamiento de aguas residuales porcinas demostró ser eficaz en la remoción de nutrientes. Sin embargo, se recomienda realizar un tratamiento previo de las aguas residuales antes de aplicar el tratamiento biológico. Un tratamiento anaerobio previo podría ser beneficioso para reducir la carga inicial de contaminantes y mejorar la eficiencia global del sistema.
- La biomasa rica en NPK obtenida puede ser utilizada directamente como biofertilizante, lo que puede reducir la dependencia de fertilizantes químicos en la agricultura, promoviendo prácticas más sostenibles y económicas para los agricultores y ganaderos.
- La utilización de microalgas, específicamente *Arthrospira platensis*, para el tratamiento de aguas residuales porcinas es una estrategia efectiva para la remoción de contaminantes. Esto resalta la importancia de seguir investigando y ajustando las condiciones del cultivo de microalgas para maximizar su capacidad

de remediar y contribuir al manejo sostenible de desechos agroanaderas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abalde Alonso, J. E., Cid Blanco, A., Fidalgo Paredes, J. P., Torres Vaamonde, J. E., & Herrero López, C. (1995). *Microalgas: Cultivo y aplicaciones*. Universidade da Coruña. Servizo de Publicacións. <https://doi.org/10.17979/spudc.9788497497695>
- Abou-Shanab, R. A. I., Ji, M.-K., Kim, H.-C., Paeng, K.-J., & Jeon, B.-H. (2013). Microalgal species growing on piggery wastewater as a valuable candidate for nutrient removal and biodiesel production. *Journal of Environmental Management*, 115, 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.11.022>
- Anexo 1. Norma De Calidad Ambiental Y De Descarga De Efluentes : RECURSO AGUA. , Acuerdo Ministerial 097-A. Anexo 1. (2015).
- Arahou, F., Hassikou, R., Arahou, M., Rhazi, L., & Wahby, I. (2021). Influence of culture conditions on *Arthrospira platensis* growth and valorization of biomass as input for sustainable agriculture. *Aquaculture International*, 29(5), 2009–2020. <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00730-5>
- Association of Official Analytical Chemists. (1990). *Official Methodos of Analysis* (15th Edition).
- Avalos, E., Cázarez, E., & Rodríguez, K. (2017). Spirulina. El potencial biotecnológico y alternativo de un alimento poco convencional. In *Spirulina* (Primera Edición). Consejo Editorial UCEM.
- Avila-Leon, I., Chuei Matsudo, M., Sato, S., & de Carvalho, J. C. M. (2012). *Arthrospira platensis* biomass with high protein content cultivated in continuous process using urea as nitrogen source. *Journal of Applied Microbiology*, 112(6), 1086–1094. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05303.x>
- Baker, M., Blackman, S., Cooper, E., Smartt, K., Walser, D., Boland, M., Kolar, P., Beck, A. E., & Chinn, M. S. (2021). Exploratory analysis of *Spirulina platensis* LB 2340 growth in varied concentrations of anaerobically digested pig effluent (ADPE). *Heliyon*, 7(9), e08065. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08065>
- Cabrera, M. (2020). *Manual para la determinación de aniones por cromatografía de intercambio iónico*. Carvalho, J. C. M., Bezerra, R. P., Matsudo, M. C., & Sato, S. (2013). Cultivation of *Arthrospira* (*Spirulina*)*platensis* by Fed-Batch Process. In *Advanced Biofuels and Bioproducts* (pp. 781–805). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3348-4_33
- Cheng, D. L., Ngo, H. H., Guo, W. S., Chang, S. W., Nguyen, D. D., & Kumar, S. M. (2019). Microalgae biomass from swine wastewater and its conversion to bioenergy. *Bioresource Technology*, 275, 109–122. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.019>
- Crisanto, G., & Yataco, K. (2018). *Efecto de diferentes concentraciones de aguas residuales del procesamiento primario de Engraulis ringens “anchoveta” en el crecimiento y contenidos de proteínas de Spirulina maxima*. Universidad Nacional Del Santa.

- Delgado, B. (2022). *Influencia Del Fotoperiodo, Intensidad Y Color De Luz En La Producción De Biomasa De Spirulina (Arthrospira Platensis) En Biorreactores Abiertos*. Universidad Nacional De San Agustín De Arequipa.
- El-Sheekh, M., Morsi, H., & Hassan, L. (2020). Growth Enhancement of *Spirulina platensis* through Optimization of Media and Nitrogen Sources. *Egyptian Journal of Botany*, 0(0), 0–0. <https://doi.org/10.21608/ejbo.2020.27927.1487>
- Fernandez Sevilla, J. María. U. de Almería. (2014). *Ingeniería de Procesos aplicada a la Biotecnología de Microalgas*.
- Gamarra, G., Pujay, O., & Ventura, M. (2018). Aplicación de las pruebas estadísticas de Wilcoxon y Mann-Whitney con SPSS. *Revista de Investigación Multidisciplinaria*.
- García, K. (2021). *Tratamiento Físicoquímico De Efluente Avícola Y Subsecuente Uso Para Cultivo De Microalgas Chlorella Vulgaris En Biorreactores Operado En Modo Continuo*.
- Hena, S., Znad, H., Heong, K. T., & Judd, S. (2018). Dairy farm wastewater treatment and lipid accumulation by *Arthrospira platensis*. *Water Research*, 128, 267–277. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.10.057>
- Hernández-Pérez, A., & Labbé, J. I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(2), 157–173. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>
- Li, S., Qu, W., Chang, H., Li, J., & Ho, S.-H. (2022). Microalgae-driven swine wastewater biotreatment: Nutrient recovery, key microbial community and current challenges. *Journal of Hazardous Materials*, 440, 129785. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129785>
- Li, X., Li, W., Zhai, J., Wei, H., & Wang, Q. (2019). Effect of ammonium nitrogen on microalgal growth, biochemical composition and photosynthetic performance in mixotrophic cultivation. *Bioresource Technology*, 273, 368–376. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.042>
- Liu, R., Guo, Q., Zheng, W., Chen, L., & Luo, J. (2015). Cultivation of an *Arthrospira platensis* with digested piggery wastewater. *Water Science and Technology*, 72(10), 1774–1779. <https://doi.org/10.2166/wst.2015.353>
- López Vázquez, C. M., Buitrón Méndez, G., García, H. A., & Cervantes Carrillo, F. J. (2017). Tratamiento biológico de aguas residuales: Principios, modelación y diseño. *Water Intelligence Online*, 16, 9781780409146. <https://doi.org/10.2166/9781780409146>
- López-Pacheco, I. Y., Silva-Núñez, A., García-Perez, J. S., Carrillo-Nieves, D., Salinas-Salazar, C., Castillo-Zacarías, C., Afewerki, S., Barceló, D., Iqbal, H. N. M., & Parra-Saldívar, R. (2021). Phyco-remediation of swine wastewater as a sustainable model based on circular economy. *Journal of Environmental Management*, 278, 111534. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111534>
- Lu, W., Liu, S., Lin, Z., & Lin, M. (2021). Enhanced Microalgae Growth for Biodiesel Production and Nutrients Removal in Raw Swine Wastewater by Carbon Sources Supplementation. *Waste and Biomass Valorization*, 12(4), 1991–1999. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01135-w>
- Martínez, L. (2020). *Análisis del manejo de efluentes porcinos en Ecuador, su biodigestión y gestión ambiental sustentable* [Tesis de Postgrado]. UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR .

- Meng, X., Jin, M., Feng, Q., Sha, A., Bai, S., & Zhao, X. (2023). Resource and Energy Utilization of Swine Wastewater Treatment: Recent Progress and Future Directions. *Separations*, 10(12), 591. <https://doi.org/10.3390/separations10120591>
- Mezzomo, N., Saggiorato, A. G., Siebert, R., Tatsch, P. O., Lago, M. C., Hemkemeier, M., Costa, J. A. V., Bertolin, T. E., & Colla, L. M. (2010). Cultivation of microalgae *Spirulina platensis* (Arthrospira platensis) from biological treatment of swine wastewater. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(1), 173–178. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000100026>
- Nagarajan, D., Kusmayadi, A., Yen, H.-W., Dong, C.-D., Lee, D.-J., & Chang, J.-S. (2019). Current advances in biological swine wastewater treatment using microalgae-based processes. *Bioresource Technology*, 289, 121718. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121718>
- Nguyen, M. T., Nguyen, T. P., Pham, T. H., Duong, T. T., Do, M. Van, Trinh, T. Van, Nguyen, Q. T. X., & Trinh, V. M. (2022). Removal of Nutrients and COD in Wastewater from Vietnamese Piggery Farm by the Culture of *Chlorella vulgaris* in a Pilot-Scaled Membrane Photobioreactor. *Water*, 14(22), 3645. <https://doi.org/10.3390/w14223645>
- Pedreiros, M., & Rodríguez, D. (2019). *Evaluación De Un Cultivo Mixto De Microalgas Para La Remoción De Nitratos (No3-) Y Fosfatos (Po4-3) En Aguas Residuales Porcinas*. Universidad De Cundinamarca .
- Qin, L., Alam, Md. A., & Wang, Z. (2019). Open Pond Culture Systems and Photobioreactors for Microalgal Biofuel Production. In *Microalgae Biotechnology for Development of Biofuel and Wastewater Treatment* (pp. 45–74). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-2264-8_3
- Qu, W., Zhang, C., Chen, X., & Ho, S.-H. (2021). New concept in swine wastewater treatment: development of a self-sustaining synergetic microalgae-bacteria symbiosis (ABS) system to achieve environmental sustainability. *Journal of Hazardous Materials*, 418, 126264. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126264>
- Russell, D. (2012). *Tratamiento de Aguas Residuales, un enfoque práctico*. . Editorial Reverté.
- Salbitani, G., & Carfagna, S. (2021a). Ammonium Utilization in Microalgae: A Sustainable Method for Wastewater Treatment. *Sustainability*, 13(2), 956. <https://doi.org/10.3390/su13020956>
- Salbitani, G., & Carfagna, S. (2021b). Ammonium Utilization in Microalgae: A Sustainable Method for Wastewater Treatment. *Sustainability*, 13(2), 956. <https://doi.org/10.3390/su13020956>
- Sassano, C. E. N., Gioielli, L. A., Ferreira, L. S., Rodrigues, M. S., Sato, S., Converti, A., & Carvalho, J. C. M. (2010a). Evaluation of the composition of continuously-cultivated *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* using ammonium chloride as nitrogen source. *Biomass and Bioenergy*, 34(12), 1732–1738. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.07.002>
- Sassano, C. E. N., Gioielli, L. A., Ferreira, L. S., Rodrigues, M. S., Sato, S., Converti, A., & Carvalho, J. C. M. (2010b). Evaluation of the composition of continuously-cultivated *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* using ammonium chloride as nitrogen source. *Biomass and Bioenergy*, 34(12), 1732–1738. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.07.002>
- Shimadzu Corporation. (2019). *Analysis of Microalgae Biomass by TOC and TG*.

- Tang, H., Chen, M., Simon Ng, K. Y., & Salley, S. O. (2012). Continuous microalgae cultivation in a photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 109(10), 2468–2474.
<https://doi.org/10.1002/bit.24516>
- Torres, B., & Correa, D. (2008a). *Diseño conceptual de un proceso de cultivo y obtención de Cyanobacteria Arthrospira Platensis*. Universidad EAFIT.
- Torres, Bernardo., & Correa, Daniel. (2008b). *Diseño Conceptual de un proceso de cultivo y obtención de Cyanobacteria Arthrospira Platensis*. Universidad EAFIT.
- Vonshak, A., Abeliovich, A., Boussiba, S., Arad, S., & Richmond, A. (1982). Production of spirulina biomass: Effects of environmental factors and population density. *Biomass*, 2(3), 175–185.
[https://doi.org/10.1016/0144-4565\(82\)90028-2](https://doi.org/10.1016/0144-4565(82)90028-2)
- You, K., Ge, F., Wu, X., Song, K., Yang, Z., Zhang, Q., Liu, Y., Ruan, R., & Zheng, H. (2021). Nutrients recovery from piggery wastewater and starch wastewater via microalgae-bacteria consortia. *Algal Research*, 60, 102551. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102551>
- Zarrouk, C. (1966). *Contribution a l'étude d'une cyanobacterie: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de Spirulina maxima (Setchell et Gardner) Geitler*. University of Paris.
- Zhang, Y., Zhao, Y., & Zhou, M. (2019). A photosynthetic algal microbial fuel cell for treating swine wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(6), 6182–6190.
<https://doi.org/10.1007/s11356-018-3960-4>
- Zheng, M., Dai, J., Ji, X., Li, D., He, Y., Wang, M., Huang, J., & Chen, B. (2021). An integrated semi-continuous culture to treat original swine wastewater and fix carbon dioxide by an indigenous *Chlorella vulgaris* MBFJNU-1 in an outdoor photobioreactor. *Bioresource Technology*, 340, 125703. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125703>
- Zhu, L., Wang, Z., Shu, Q., Takala, J., Hiltunen, E., Feng, P., & Yuan, Z. (2013). Nutrient removal and biodiesel production by integration of freshwater algae cultivation with piggery wastewater treatment. *Water Research*, 47(13), 4294–4302. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.05.004>