

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD IZTAPALAPA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
POSGRADO EN BIOTECNOLOGÍA

TESIS

**“ESTABLECIMIENTO DE UN CONSORCIO MICROALGA
BACTERIA PARA LA REMOCIÓN DE CONTAMINANTES EN
AGUAS RESIDUALES”**

Para obtener el grado de:

MAESTRA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

IBI. Haiti Aixa Islas Pérez Negrón

Matrícula: 2223801896

Correo: haiti9605@gmail.com

Directora: Dra. María del Carmen Fajardo Ortiz

Co- director: Dr. Ulises Rojas Zamora

Asesores: Dra. Mónica Cristina Rodríguez Palacio

Dr. Ulises Durán Hinojosa

Presidente: Dra. Anne Claire Texier

Secretario: Dr. Ulises Durán Hinojosa

Vocal: Dra. Ruth Gabriela Ulloa Mercado

Vocal: Dr. Sergio Martínez Hernández

Iztapalapa, Ciudad de México, 17 de Enero del 2025

Agradecimientos

Agradezco a mis padres quienes son mi gran fortaleza, por su confianza y apoyo en este y todos mis proyectos personales, por su amor incondicional que ha sido el motor de mi vida.

A mis hermanos, por su compañía, por siempre motivarme y creer en mí, por sus palabras de apoyo, siempre me han impulsado a seguir adelante.

Agradezco a mi directora la Dra. Carmen Fajardo, por su gran disposición y tolerancia, sus conocimientos, consejos y orientación fueron pieza clave en este proyecto, al Dr. Ulises Rojas por compartir conmigo sus conocimientos, por su compromiso con este proyecto, ha sido esencial en mi formación académica, al Dr. Ulises Durán por su apoyo constante y comentarios enriquecedores para esta investigación, a la Dra. Mónica Rodríguez, pues sus comentarios y conocimientos fueron esenciales para este proyecto.

A mis compañeras y amigas de laboratorio, a la Dra. Tania por su apoyo incondicional, por su disposición para compartir conmigo sus conocimientos que siempre fueron de gran ayuda, a la Mtra. Diana por su tolerancia, apoyo y compañía aún en los momentos difíciles.

Agradezco al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnología (CONAHCYT) por el apoyo financiero otorgado a través de la beca de posgrado con número de apoyo 839403.

Resumen

El uso de consorcios sintróficos para el tratamiento de aguas residuales es una estrategia emergente para atacar las desventajas de los tratamientos convencionales, como son los de lodos activados, ya que requieren de grandes áreas de trabajo y elevados costos de operación debido a la aireación externa, lo que los hace ineficientes. Al acoplar lodos aerobios granulares con microalgas, se ha logrado reducir o inclusive eliminar la aireación externa y generar productos de valor añadido, como los biopolímeros; sin embargo, la estrategia para la selección de la relación volumétrica óptima no es clara. Por ello, el objetivo de este proyecto fue establecer las condiciones que permitan la formación de un consorcio lodo granular aerobio (LGA)/microalgas (MA) estable para la remoción de materia orgánica y amonio. Inicialmente se llevó a cabo la estabilización de los cultivos de MA de *Nostoc* sp. y LGA, una vez estables se probaron las relaciones volumétricas de 80/20, 70/30, 60/40 y 50/50 en cultivos en lote de 250 mL con un volumen útil de 150 mL y alimentados con agua residual sintética usando acetato como fuente de carbono. Los reactores fueron incubados por tres días en un agitador orbital a 120 rpm, expuestos a una fuente de iluminación de $200 \pm 10 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$, se les dio seguimiento a los perfiles de consumo de la DQO y NH_4^+ . Realizando ensayos por triplicado, la relación volumétrica de 60/40 dio los mejores resultados, mostrando tasas de consumo de $1.78 \pm 0.085 \text{ mg DQO}/\text{L}\cdot\text{min}$ y $0.090 \pm 0.04 \text{ mg NH}_4^+/\text{L}\cdot\text{min}$, respectivamente, mostrando una mejor interacción entre los microorganismos a esta relación LGA/MA.

Posteriormente, esta relación se utilizó en un fotobiorreactor SBR de 400 mL que funcionó en ciclos de 6 horas incluyendo periodos aeróbicos y anóxicos, se alimentó con aguas residuales sintéticas con cargas orgánicas de 1.8 y 2.6 g DQO/L-día, 117.4 mg de $\text{NH}_4^+/\text{L}\cdot\text{día}$, el SBR operó por 45 días, durante los cuales se evaluó la eficiencia de eliminación de contaminantes (DQO y NH_4^+), obteniéndose eficiencias de remoción de DQO y NH_4^+ de $95.8 \pm 3.9 \%$ y $92.15 \pm 3.13 \%$, respectivamente. Finalmente, se evaluó la acumulación de biopolímeros de los cultivos independientes (LAG, MA y LAG/MA), los resultados revelaron que LAG acumuló un 7.99 % de PHB/PSC, *Nostoc* sp. acumuló un 9.73 % de PHB/PSC y el consorcio LAG/MA acumuló un 21.35 % de PHB/PSC. Según estos resultados, el consorcio de LAG/MA presentó un incremento en la acumulación de biopolímeros con respecto a LAG y MA de Manera independiente

Abstract

Syntrophic consortia for wastewater treatment is an emerging strategy to address the disadvantages of conventional treatments, such as activated sludge, due to the need for extensive work areas and high operating costs due to external aeration, making them inefficient. By coupling granular aerobic sludge with microalgae, it has been possible to reduce or even eliminate external aeration and generate value-added products, such as biopolymers; however, the strategy for selecting the optimal volumetric ratio needs to be clarified.

Therefore, the objective of this project was to establish the conditions that allow the formation of a stable aerobic granular sludge (AGS)/microalgae (AM) consortium to remove organic matter and ammonium. Once stable, the two cultures were combined in different volumetric ratios (80/20, 70/30, 60/40, and 50/50) and tested in batch cultures carried out in 250 mL flasks using an operation volume of 150 mL and fed with synthetic wastewater. The reactors were incubated for three days in an orbital shaker at 120 rpm, exposed to a light source of $200 \pm 10 \mu\text{mol/m}^2\text{s}$, and the consumption profiles of COD and NH_4^+ were monitored. The 60/40 volumetric ratio gave the best results, showing rates of 1.78 mg COD/L-min and 0.090 mg NH_4^+ /L-min, respectively.

This ratio was subsequently used in a 400 mL SBR photobioreactor operating in 6 h cycles, including aerobic and anoxic periods, fed with synthetic wastewater with organic loads of 1.8 and 2.6 g COD/L-day, 117.4 mg NH_4^+ /L-day, which operated for 45 days, during which the pollutant removal efficiency was evaluated, obtaining efficiencies for COD and NH_4^+ of $95.8 \% \pm 3.9$ and $92.15 \% \pm 3.13$, respectively. Finally, the biopolymer accumulation of independent cultures (i.e., AGS, MA, and AGS/MA) was evaluated. The results revealed that AGS accumulated 7.99% of PHB/PSC, *Nostoc* sp. accumulated 9.73% of PHB/PS, and AGS/MA accumulated 21.35% of PHB/PSC. According to these results, the AGS/MA consortium showed a twofold increase in biopolymer accumulation compared to AGS and MA.

Índice

1. Introducción.....	1
2. Marco teórico	3
2.1 Situación del agua en México.....	3
2.1.1 Estrés hídrico.....	3
2.2 Sistemas convencionales para el tratamiento de aguas residuales.....	4
2.2.1 Desventajas del sistema de lodos activados	5
2.3 Sistemas avanzados para el tratamiento de aguas residuales	6
2.4 Cultivos microalga-bacteria.....	7
2.4.1 Metabolismo de consorcios microalga-bacteria.....	8
2.4.2 Cultivos microalga-bacteria en el tratamiento de aguas residuales	10
2.4.3 Estrategia para establecer consorcios granulares bacteria- microalga	11
2.4.4 Variables de influencia en la formación de lodos granulares aerobios estables	14
2.4.5 Producción de compuestos de valor agregado por consorcios bacteria- microalga.....	14
3. Justificación.....	18
4. Hipótesis	19
5. Objetivos	19
5.1 general	19
5.2 específicos.....	19
6. Metodología.....	20
6.1 Cultivo de microalgas	21
6.2 Cultivo de lodos granulares aerobios.....	21
6.3 Ensayos para determinar las condiciones para establecimiento de un consorcio microalga bacteria.....	24
6.3.1 Selección de la concentración de DQO para el crecimiento de <i>Nostoc</i> sp. en el cultivo sintrófico.....	24
6.3.2 Establecimiento de relación lodo granular aerobio/microalga (LGA/MA)..	24
6.4 Técnicas analíticas.....	26
6.5 Establecimiento del consorcio LGA/ MA en un fotobiorreactor para remoción de contaminantes en aguas residuales	26
6.6 Análisis estadístico	28
7. Resultados y discusión	29
7.1 Reactor de microalgas	29
7.2 Cultivo de lodos granulares aerobios.....	31

7.2.1 Proceso de granulación	31
7.2.2 Desempeño del reactor en la remoción de contaminantes.....	35
7.2.3 Perfiles cinéticos del SBR.....	37
7.3 Establecimiento de las condiciones para el cultivo sintrófico.....	40
7.3.1 Selección de la concentración de DQO para el crecimiento de Nostoc sp. en el cultivo sintrófico.....	40
7.3.2 Establecimiento de relación lodo granular aerobio/microalga (LGA/MA)..	41
7.4 Establecimiento del consorcio LGA/ MA en un fotobiorreactor para la remoción de contaminantes en agua residual sintética.....	46
7.4.1 Eficiencia de remoción de contaminantes en el fotobiorreactor	47
7.4.2 Propiedades de la biomasa dentro del reactor	49
7.4.3 Acumulación de biopolímeros en el cultivo de Nostoc, LGA y consorcio LGA/MA	53
Conclusiones	56
Recomendaciones	57
Referencias	58
Anexos.....	66
Anexo 1. Medio Ácido Húmico de Lombriz (AC-H)	66
Anexo 2. Técnicas analíticas.....	66
2.1 Concentración celular	66
2.2 Cuantificación de pigmentos de acuerdo con Arredondo Vega, (1997).....	67
2.3 Determinación de Sustancias poliméricas extracelulares (EPS)	68
2.4 Cuantificación gravimetría de PHB de acuerdo con Gobi y Vadivelu (2015) 68	
2.5 Identificación de PHB por espectrometría de infrarrojo	69

1.Introducción

Uno de los problemas sociales y ambientales de mayor impacto en la actualidad es la escasez de agua potable y la contaminación de cuerpos de agua superficiales y subterráneos, lo que afecta la calidad de vida humana y de los ecosistemas. Una de las alternativas más viables para solventar dicha problemática es el tratamiento de aguas residuales mediante procesos biológicos, con lo que es posible obtener agua tratada con potencial de reúso y diferentes subproductos de valor, con una consecuente reducción en el estrés hídrico.

Los procesos de tratamiento convencionales incluyen la tecnología de lodos activados, filtros de biopelícula, lecho fluidizado aeróbico, entre otros (Ji et al., 2020) siendo el proceso de lodos activados el más utilizado. Las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) basadas en esta tecnología integran diferentes unidades de proceso como: sedimentación primaria, reacción y sedimentación secundaria. En general, estas PTAR presentan altas demandas de área para su instalación y altos requerimientos de energía para la aeración, generando altos costos de operación y la emisión de grandes cantidades de CO₂ (Ranjit et al., 2021). Además, su eficiencia de remoción de contaminantes suele ser menor al 90% y su desempeño se ve perturbado por choques de carga o alteraciones en la concentración de oxígeno disuelto. Debido a ello, se han desarrollado nuevas tecnologías con mejores características, entre las que resaltan los sistemas basados en lodos aerobios granulares, en estos los microorganismos se agrupan en estructuras altamente densas y compactas, generando gránulos con altas velocidades de sedimentación y mejores tasas de remoción de contaminantes orgánicos y nutrientes. Sin embargo, al tratarse de procesos aerobios, presentan aún el inconveniente de requerir altos consumos de energía (Zhang et al., 2020). Como resultado, recientemente se ha propuesto el desarrollo de sistemas basados en consorcios mixtos lodos aerobios granules-microalga, en los cuales las microalgas proveen a las bacterias de los gránulos el oxígeno necesario para la oxidación de materia orgánica, disminuyendo así la demanda de aeración externa. Adicionalmente, las altas tasas de asimilación

de nutrientes de los microorganismos fotosintéticos permiten mejorar las eficiencias de remoción (Plöhn et al., 2021).

Con base en lo anterior, resulta relevante desarrollar tecnologías sostenibles de tratamiento de aguas residuales, caracterizadas por presentar altas eficiencias de remoción de contaminantes, bajos consumos de energía, y baja producción de gases de efecto invernadero, y que además permitan la recuperación de subproductos de valor. Los consorcios microalga-bacteria son una alternativa sostenible y rentable en el tratamiento de aguas residuales, ya que aprovechan la capacidad de las microalgas para fijar CO₂, produciendo el O₂ necesario para el metabolismo oxidativo de las bacterias, además, de presentar una alta producción de biomasa, altas eficiencias de remoción de materia orgánica, fósforo y nitrógeno (Fallahi et al., 2021). Como referencia, para remover 1 Kg de demanda bioquímica de oxígeno (DBO) en un proceso de lodos activados se requiere 1 kWh de electricidad para la aireación, y se produce 1 Kg de CO₂ (Sebastian et al., 2020). Estos impactos se ven considerablemente abatidos cuando se usan consorcios mixtos, pues la sintrofia entre microalgas y bacterias permite disminuir la aireación mecánica. En este sentido, el presente proyecto evalúa las condiciones adecuadas como relación v/v y carga orgánica para el desarrollo de un cultivo microalga-bacteria con capacidad de remover materia orgánica y nutrientes y de acumulación de biopolímeros como subproductos de valor agregado.

2. Marco teórico

2.1 Situación del agua en México

2.1.1 Estrés hídrico

El estrés hídrico es el indicativo del estado de escasez de agua. Se define como la relación entre el total de agua dulce extraída y el total de recursos hídricos renovables disponibles; sirve como indicador para evaluar la sostenibilidad de la extracción de este recurso a largo plazo (Berger & Finkbeiner, 2010), este parámetro es una medida de la vulnerabilidad del país o de una región particular frente a la escasez de agua (SEMARNAT, 2021). La escala en el grado de estrés hídrico va desde muy alto, alto, medio, bajo y libre de estrés, un porcentaje mayor a 40% representa un grado de estrés alto.

En México se experimenta un nivel de estrés bajo a nivel nacional, sin embargo, en las zonas norte y centro del país hay regiones que tienen niveles muy altos de estrés hídrico (Tabla 1), y para el año 2023 se alcanzó un grado de presión hídrica del 21.5% a nivel nacional y en regiones como el Valle de México se superó el 100% de estrés hídrico.

Tabla 1. Estrés Hídrico por región en México (CONAGUA, 2022)

Región hidrológico-administrativa	Grado de presión (%)	Clasificación del grado de presión
Península de Baja California	89.94	Alto
Noroeste	83.2	Alto
Pacífico Norte	40.51	Alto
Balsas	48.4	Alto
Pacífico Sur	5.45	Sin estrés
Río Bravo	75.02	Alto
Cuencas Centrales del Norte	83.03	Alto
Lerma Santiago Pacífico	45.91	Alto
Golfo Norte	21.02	Medio
Golfo Centro	6.42	Sin estrés
Frontera Sur	1.7	Sin estrés
Península de Yucatán	19.15	Bajo
Aguas del Valle de México	128.58	Muy Alto

El estrés hídrico es causado por el crecimiento demográfico, el aumento en la calidad de vida y fenómenos naturales, tales como cambios naturales en la cantidad

de agua disponible, retrasos de las temporadas de lluvias, deshielos y la sobreexplotación de recursos hídricos (Spring & Cohen, 2012).

Una de las alternativas más viables para reducir el estrés hídrico y los problemas ambientales y sociales que de este se derivan es el tratamiento de las aguas residuales. Cuando las aguas residuales municipales e industriales se descargan sin tratamiento, la calidad del agua de los cuerpos receptores se ve severamente afectada, generando el deterioro de los ecosistemas, y riesgos para la salud humana por los agentes tóxicos e infecciosos que se liberan. Por otro lado, cuando las aguas son tratadas a partir de sistemas eficientes, se produce agua de calidad que puede ser reusada en diferentes áreas, como agricultura, industria, urbanización, entre otras (Valdes et al., 2019), reduciendo así la demanda de agua potable y la consecuente sobreexplotación de los cuerpos superficiales y subterráneos.

2.2 Sistemas convencionales para el tratamiento de aguas residuales

El tratamiento convencional de aguas residuales consiste en una combinación de procesos y operaciones físicas, químicas y biológicas para eliminar contaminantes orgánicos y nutrientes en forma disuelta y suspendida (Figura 1) (Sangamnere et al., 2023).

El proceso biológico de lodos activados es uno de los más utilizados en las PTAR en el mundo. Este se basa en la utilización de agregados microbianos dispersos, conocidos como flóculos, los cuales degradan los contaminantes orgánicos contenidos en las aguas residuales a partir de metabolismos oxidativos, requiriendo por lo tanto de una fuente externa de oxígeno (Hamza et al., 2022).

La mayoría de las instalaciones de tratamiento basadas en el proceso de lodos activados son sistemas de operación continua, en los cuales el tratamiento consiste en un tanque de sedimentación primario, en el que se remueven los sólidos gruesos, un tanque de aireación en el que ocurren las reacciones de eliminación de materia orgánica y nutrientes, y un tanque de sedimentación secundaria, donde se separan los flóculos del agua tratada (Nancharaiyah & Reddy, 2018).

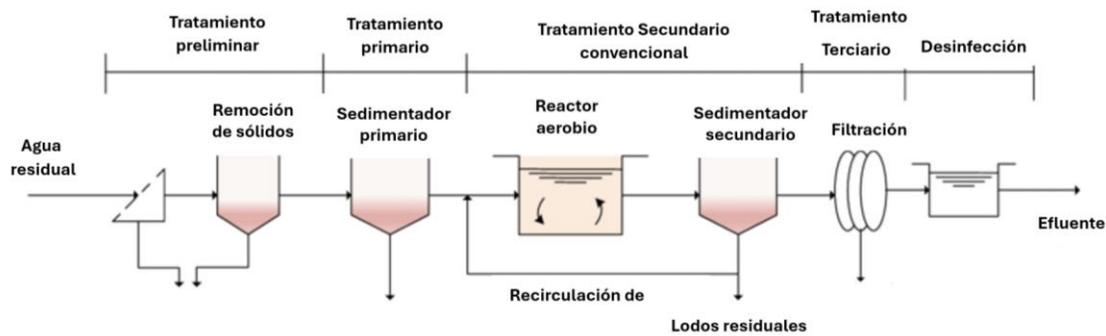


Figura 1. Diagrama del proceso de tratamiento convencional de tratamiento de aguas residuales (adaptado de Snowden-Swan et al., 2017)

2.2.1 Desventajas del sistema de lodos activados

El proceso de lodos activados ha sido aplicado para el tratamiento de aguas residuales durante más de 100 años (Ji et al., 2020), sin embargo, las PTAR basadas en esta tecnología presentan una alta demanda de área para la instalación de las diferentes unidades de proceso, cada una de las cuales requiere de un tanque independiente. Adicionalmente, la operación del reactor aerobio involucra altos costos debido a la demanda de energía para la aireación mecánica requerida para el proceso (Baker et al., 2021). Otra desventaja son las emisiones de gases efecto invernadero, principalmente CO₂. Por tanto, se puede inferir que este proceso no cumple con las metas de recuperación de recursos y secuestro de carbono, consideradas en el concepto de economía circular.

Adicionalmente, la biomasa en los sistemas de lodos activados está constituida por flóculos, los cuales presentan una conformación dispersa que resulta en bajas velocidades de sedimentación, por lo que se requiere de tiempos prolongados para lograr la separación eficiente del agua tratada (Ranjit et al., 2021). Otra de las desventajas que presenta este sistema es la excesiva producción de lodos, estos lodos deben ser estabilizados para mitigar los impactos ambientales producidos por su disposición, generando costos adicionales en el proceso (Motlagh & Goel, 2014). Por lo antes expuesto, en los últimos años se han buscado diferentes alternativas tecnológicas que permitan reducir las desventajas técnicas, ambientales y

económicas relacionadas con la operación del sistema convencional de lodos activados (Wang & Hong, 2022).

2.3 Sistemas avanzados para el tratamiento de aguas residuales

Tomando como referencia las deficiencias de los sistemas convencionales de tratamiento se han desarrollado diferentes tecnologías basadas en procesos más eficientes y robustos, conocidas generalmente como sistemas de tratamiento avanzado. El desarrollo de estos resulta imprescindible para la preservación de la salud pública, la remediación de los cuerpos de agua y la generación de agua tratada de alta calidad (Semaha et al., 2023). Estas tecnologías tienen diversas ventajas, como ser de fácil operación, baja producción de lodos, bajo consumo energético, ser compatibles con el medio ambiente (Baker et al., 2021) y permitir la recuperación de subproductos de valor.

Entre las tecnologías avanzadas de mayor aplicación se encuentran procesos químicos de oxidación avanzada y electro-Fenton, métodos físicos de filtración por membrana y diversos métodos biológicos como tecnologías de celdas de electrólisis microbiana, lodos granulares aerobios, y métodos *in situ*, que actualmente se encuentran en etapas de desarrollo y despliegue (Sangamnere et al., 2023).

Dentro de estas tecnologías, el estudio de los sistemas basados en lodos aerobios granulares recientemente ha ganado interés, considerándose como un reemplazo potencial del proceso convencional de lodos activados. Este interés se debe a una serie de cualidades que han sido observadas en los lodos granulares, entre las que resaltan su capacidad de remoción simultánea de materia orgánica y nutrientes, su estructura compacta que les proporciona una buena velocidad de sedimentación y densidad, lo que facilita la separación sólido-líquido, y una alta actividad microbiana, que resulta en altas tasas de remoción de contaminantes (Hamza et al., 2022). Por lo tanto, en un futuro cercano, se espera que la tecnología de lodos granulares aerobios se pueda aplicar como la unidad de proceso central en las plantas de tratamiento de aguas residuales (Huang et al., 2015).

La obtención de los lodos aerobios granulares se lleva a cabo comúnmente en reactores de secuenciación por lotes (SBR), en los cuales el proceso de tratamiento se desarrolla en ciclos integrados por 4 etapas: llenado, reacción aerobia, sedimentación y descarga. Todas estas se llevan a cabo dentro del mismo sistema, lo que permite una reducción significativa en la demanda de área, en comparación con el sistema de lodos activados (Dutta & Sarkar, 2015). Sin embargo, esta tecnología sigue teniendo como desventajas altas emisiones de CO₂. El proceso de formación de los gránulos involucra la autoadhesión de los microorganismos, inducida a partir de condiciones de estrés generadas por medio de la aplicación de altas fuerzas hidrodinámicas de corte, lo que se logra a partir de la aplicación de altas velocidades ascensionales de flujo de aire (Liu et al., 2023). Por ello, resulta de gran importancia el desarrollo de estrategias que permitan reducir la demanda energética asociada a los altos flujos de aireación.

Las microalgas han despertado gran atención en el ámbito del saneamiento de aguas residuales, gracias a su elevada capacidad de absorción de nutrientes y su capacidad para producir oxígeno, lo que podría proporcionar un método alternativo de aireación para aquellos procesos de tratamiento de aguas residuales que lo requieren. Por tanto, es de gran interés el análisis de la simbiosis entre microalgas y bacterias, con la finalidad de utilizar las ventajas de ambos microorganismos para generar una nueva alternativa para el tratamiento de aguas residuales (Huang et al., 2015).

2.4 Cultivos microalga-bacteria

Dentro de los ecosistemas, los microorganismos desarrollan naturalmente interacciones ecológicas; a esta asociación se le denomina consorcio (Qian et al., 2020). Algunos microorganismos agrupados en consorcios excretan metabolitos fundamentales para el crecimiento de otros microorganismos; el consumo de estos metabolitos por microorganismos receptores puede acelerar el crecimiento de los microorganismos donantes, generando condiciones sintróficas. En todos los casos, la actividad sintrófica produce un conjunto de metabolitos que son diferentes de los que se podrían producir por cada microorganismo en condiciones de aislamiento.

Los beneficios de esta interacción metabólica a menudo se obtienen a costa de un bajo consumo energético (Kouzuma et al., 2015). Los consorcios microalga-bacteria conforman un ejemplo de sistemas en los que se generan relaciones sintróficas.

El término microalga no es término taxonómico, dentro de él se incluyen de forma general dos grupos importantes, organismos eucariontes y organismos procariontes (cianobacterias)(Richmond, 2013), este término se usa por los rasgos que comparten estos microorganismos, como la fotosíntesis y el tamaño microscópico (Caroppo & Pagliara, 2022). Estos organismos se encuentran ampliamente distribuidos en ambientes acuáticos naturales, en los que se asocian con bacterias heterótrofas como productores primarios. Las microalgas sintetizan y liberan materia orgánica al medio, que es asimilada y degradada por las bacterias heterótrofas. En este sentido, las bacterias heterótrofas afectan el comportamiento de las microalgas en varios aspectos, como lo es la estimulación del crecimiento (Zhang et al., 2020).

Las interacciones entre microalgas y bacterias existen en los hábitats naturales; por lo que es común que las microalgas unicelulares crezcan en presencia de bacterias. Debido a ello, la evolución de las algas y las bacterias no puede entenderse correctamente si se estudian de forma aislada, pues influyen conjuntamente en los ecosistemas y representan todos los modos concebibles de interacciones mutualistas (Santos & Reis, 2014). Algas y bacterias afectan sinérgicamente su fisiología y metabolismo, aunque las bacterias a menudo se han considerado como contaminación de cultivos de algas, hoy en día, las interacciones algas-bacterias se consideran prometedoras en biotecnología (Fuentes et al., 2016). Las interacciones de microalgas y bacterias tienen gran significado ecológico, ya que se consideran la base del flujo de nutrientes, ciclos biogeoquímicos y ensamblaje de comunidades acuáticas (Zhang et al., 2020).

2.4.1 Metabolismo de consorcios microalga-bacteria

Las interacciones dentro de la estructura de un consorcio microalga-bacteria facilitan la formación de una comunidad estable y el mantenimiento de funciones ecológicas sostenibles como grupo. Las microalgas pueden sustentar el crecimiento

bacteriano proporcionando oxígeno, mientras que el consumo de O_2 y la liberación de CO_2 por las bacterias reducirá la tensión de oxígeno fotosintético y aumentará la concentración de CO_2 , respectivamente, lo que resulta en un mayor crecimiento de microalgas. De acuerdo con Ji et al., (2020) del carbono que es alimentado a un sistema microalga-bacteria 49% es oxidado por las bacterias produciendo CO_2 , 41%.

Adicionalmente, las bacterias además de descomponer la materia orgánica y excretan metabolitos extracelulares como auxinas y vitamina B12, que son esenciales para las microalgas (Figura 2a) (Liu et al., 2017).

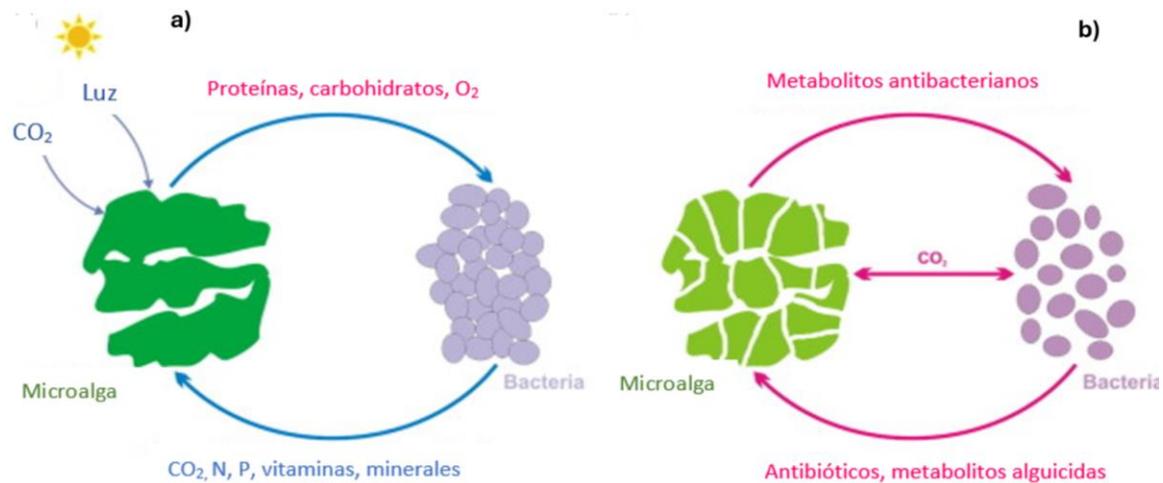


Figura 2. (a) Interacciones cooperativas entre las microalgas y bacterias, e (b) Interacciones competitivas entre las microalgas adheridas y bacterias (adaptado de Liu et al., 2017))

Las bacterias tienen efectos estimulantes e inhibidores sobre el crecimiento de las microalgas, con efectos particulares en la formación de biomasa y la eliminación de nutrientes. Con un suministro limitado de nutrientes, a menudo hay competencia entre las bacterias y microalgas (Figura 2b). Bajo estas condiciones, algunas bacterias liberan enzimas como glucosidasas, quitinasas y celulasas, que en conjunto disminuyen la tensión superficial, mientras que las celulasas rompen las paredes celulares de las microalgas, lo que conduce a procesos de lisis celular. Adicionalmente, las bacterias pueden producir antibióticos que interfieren con la fotosíntesis o los metabolitos alguicidas, inhibiendo el crecimiento de microalgas. Los compuestos intracelulares de las microalgas, después de su lisis, son utilizados

por las bacterias. El proceso antagónico se presenta cuando las microalgas secretan sustancias antibacterianas y antifúngicas, entre otras (Jiang et al., 2022).

Existe comunicación entre células, la cual se lleva a cabo mediante el intercambio intercelular de pequeñas moléculas de señalización, que están involucradas en la coordinación de la expresión génica y en la regulación del comportamiento fisiológico de las bacterias y microalgas. Este tipo de comunicación se conoce como quórum. Los mecanismos de señalización en cultivos de microalgas-bacterias se pueden clasificar en tres tipos: a) señalización basada en lípidos, b) señalización bacteriana y c) aleloquímicos de microalgas, como flavonoides y ectocarpeno, que tienen estructuras y funcionalidades similares, lo cual representa varias ventajas significativas, como la formación de biopelículas o agregados que generan resistencia ante condiciones adversas, optimización del metabolismo mediante intercambio de nutrientes, respuesta coordinada al estrés mediante señales químicas, entre otras (B. Zhang et al., 2020).

2.4.2 Cultivos microalga-bacteria en el tratamiento de aguas residuales

El tipo de microalgas presentes en los consorcios es uno de los factores principales que afectan el proceso de tratamiento de aguas residuales por consorcios microalga-bacteria, es por esto que resulta de gran importancia la selección de las microalgas apropiadas. Se han utilizado varias cepas para el tratamiento de aguas residuales (Tabla 2), *Chlorella* sp., *Tetrademus obliquus*, *Chlamydomonas* sp., *Botryococcus braunii*, *Limnospira platensis*, *Phormidium* spp., *Nostoc muscorum*, *Anabaena subcylindrica*, *Chroococcus* sp, entre otras, de las cuales *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* son las más utilizados (Jiang et al., 2022).

La selección de algas y sus cepas también es esencial para garantizar la estabilidad durante el crecimiento y la aclimatación del cultivo a las fluctuaciones en la concentración de sustrato en las aguas residuales. Varios estudios han informado que es posible tener una mayor producción de biomasa algal en las aguas residuales utilizando cepas autóctonas, por ejemplo, en un cultivo microalga-bacteria, utilizando microalgas autóctonas se alcanzó eficiencias de remoción de DQO mayores al 90 % (López-Patiño et al., 2024).

Tabla 2. Cianobacterias utilizadas para el tratamiento de aguas residuales

Cianobacterias	Influyente	% remoción de DQO	Autor
<i>Nostoc muscorum</i> y <i>Anabaena subcylindrica</i>	Aguas residuales industriales	96.4	(El-Sheekh et al., 2014)
<i>Synechocystis</i> sp.	Aguas residuales de fermentación acidogénica	60.0	(Trentin et al., 2019)
<i>Nostoc</i> sp. <i>LS04</i>	Agua residual municipal	95.17	(Silambarasan et al., 2021)
<i>Synechococcus elongatus</i>	Efluentes lácteos	92.0	(Pishbin et al., 2021)
<i>Limnospira platensis</i>	Aguas residuales de cervecería	90.0	(Papadopoulos et al., 2022)

El uso de cultivos microalga- bacteria representa una alternativa prometedora para cumplir con los objetivos del tratamiento de aguas residuales a partir de procesos sostenibles, pues gracias a las relaciones sinérgicas que se establecen, se logran disminuir los requerimientos de aireación externa y las emisiones de dióxido de carbono (C. Zhang et al., 2021). Otra ventaja de los consorcios microalga-bacteria, es la disminución o eliminación de aireación mecánica, gracias a la sintrofia entre estos microorganismos, Ji et al., (2020) reportaron altas eficiencias de remoción de DQO y Fósforo 92.7 % y 87.2 %, respectivamente, aun en condiciones anóxicas.

Dong et al., (2021) reportaron una eficiencia de remoción de DQO de hasta 96 % utilizando un cultivo granular microalga-bacteria, usando un fotobiorreactor alimentado con un influente sintético. Por otro lado, otros investigadores se han enfocado en la remoción de nitrógeno y fósforo en consorcios microalga-bacteria, logrando eficiencias de remoción de 96.84 % y 97 %, respectivamente (Guo et al., 2021).

2.4.3 Estrategia para establecer consorcios granulares bacteria- microalga

Las microalgas y bacterias pueden formar biopelículas sobre cualquier superficie sólida sumergida en agua en presencia de luz fotosintéticamente activa, es decir que esté dentro del intervalo de longitudes de onda de la luz que pueda ser utilizado

por las microalgas para realizar la fotosíntesis, y nutrientes esenciales (X. Wang & Hong, 2022).

La luz es uno de los parámetros importantes que determinan el proceso de formación de consorcios microalga-bacteria, pues afecta la concentración de oxígeno disuelto y el proceso de nitrificación, de tal forma que la actividad de las algas aumenta con el aumento de la intensidad de la luz hasta el punto de saturación para la fotosíntesis (Fallahi et al., 2021). Sin embargo, intensidades de luz altas (2500 Lux) afectan la eliminación de amonio y la formación de gránulos, mientras que, a niveles de luz bajos o intermedios aumenta la concentración de las sustancias poliméricas extracelulares que inducen la adhesión de las células (Jia & Yuan, 2018).

Los consorcios bacteria/microalga generalmente forman flóculos, sin embargo, recientemente algunos autores han logrado producir estructuras granulares. Para la formación de gránulos de bacteria/microalgas existen dos diferentes mecanismos (Jiang et al., 2022)

En el primer mecanismo, se producen gránulos de microalgas y bacterias partiendo de una muestra de lodos aerobios granulares previamente cultivados. Estos son alimentados con aguas residuales y expuestos a emisores de luz de diodo en condiciones aeróbicas. Después de aproximadamente un mes, los gránulos de microalgas-bacterias maduran gradualmente, adquiriendo un típico color verde y alcanzando un tamaño promedio de 1.30 mm (Ji et al., 2020). Aunque los consorcios ricos en especies se obtienen fácilmente a través de la colonización natural, este es un proceso lento que puede dar lugar a muchas especies no deseadas y que afectan la eliminación de nutrientes. Por otro lado, la inoculación artificial consiste en el cultivo de una cepa específica de microalgas, lo cual promueve el crecimiento de un consorcio con especies de alto rendimiento (Liu et al., 2017). El segundo mecanismo se basa en la inoculación simultánea de cultivos de microalgas y lodo activado; usando agitación o aireación para proporcionar fuerzas de corte para formar partículas de lodo granular bacteria-microalga.

En general, las estrategias utilizadas con sistemas SBR para el cultivo de lodos aerobios granulares bacterianos, como la reducción gradual del tiempo de residencia hidráulico, tiempos cortos de sedimentación y descarga, proporcionan un proceso selectivo para formar gránulos de microalgas-bacterias (Arcila & Buitrón, 2016).

En un consorcio granular microalga-bacteria, hay eliminación simultánea de materia orgánica y nutrientes gracias a la estructura del gránulo. El carbono, especialmente en forma de compuestos complejos como carbohidratos, fenoles e hidrocarburos poliaromáticos, es eliminado por algunas bacterias heterótrofas, como *Bacillus* y *Pseudomonas*, en la zona aerobia (externa) del gránulo; por su parte, las microalgas pueden asimilar moléculas pequeñas como glucosa para promover la eliminación de carbono orgánico total. El nitrógeno amoniacal, es un contaminante típico en las aguas residuales, que tanto microalgas como bacterias (zona anóxica) pueden eliminar utilizándolo como nutriente. El nitrógeno amoniacal puede cruzar la citomembrana hacia el entorno intracelular de la microalga, donde se convierte en componentes importantes de proteínas y ácidos nucleicos (Figura 3) (Wang & Hong, 2022).

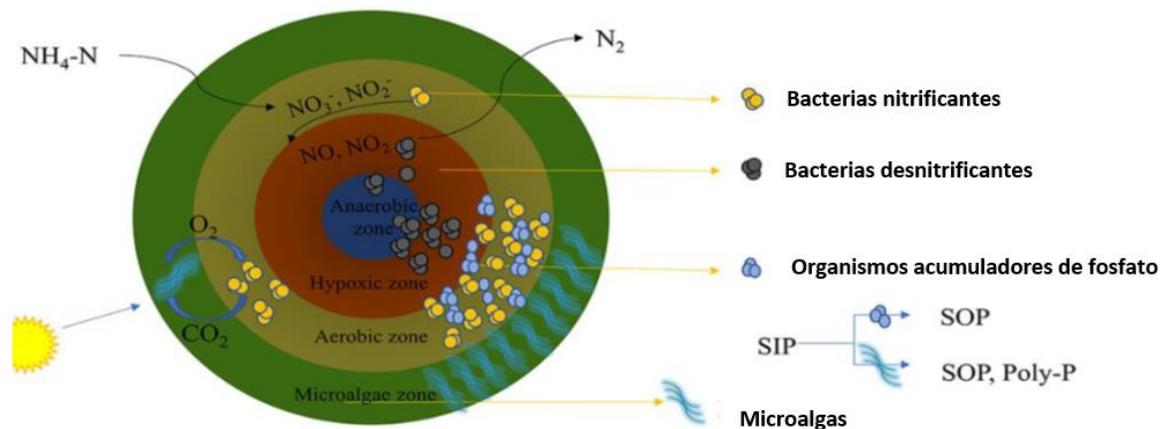


Figura 3. Estructura de un gránulo Microalga-Bacteria (adaptado de Jiang et al., 2022).

2.4.4 Variables de influencia en la formación de lodos granulares aerobios estables

Existen diferentes variables que influyen en la formación de lodos granulares aerobios, de las cuales depende la estabilidad de los gránulos, incluyendo tiempo de sedimentación, fuerza cortante, carga orgánica entre otras (Han et al., 2022)

La reducción gradual del tiempo de sedimentación en los ciclos de operación y el establecimiento de tiempos de sedimentación relativamente cortos es una presión de selección esencial para la formación de LGA estables, pues mediante esta estrategia se lava el lodo floculento que tiene características de sedimentación deficientes, permaneciendo en el reactor la biomasa más compacta induciendo así a la formación de gránulos estables (Pronk et al., 2015)

Otro parámetro de gran importancia es la disponibilidad de materia orgánica, pues la deficiencia de carbono causada por la falta de materia orgánica es una condición de estrés para los microorganismos, lo cual genera que estos ajusten sus vías metabólicas como medio de adaptación al entorno, esto influye en la formación de sustancias poliméricas extracelulares (EPS). El aumento de la hidrofobicidad de la superficie promueve la formación de LGA, así como el establecimiento de largos periodos de ayuno resultan ser algunas de las estrategias más comunes para el establecimiento de cultivos de LGA estables (Wan et al., 2022).

La fuerza cortante es otro de los factores importantes en la formación de LGA, las columnas de burbujas producidas por el flujo de aire permiten la interacción partícula-partícula, lo cual promueve la formación de gránulos, existen diferentes factores que afectan la fuerza cortante, por ejemplo; la relación altura/diámetro la cual se recomienda sea mayor a 8, el flujo de aire, la velocidad ascensional (1-1.5 cm/s), entre otros (Han et al., 2022).

2.4.5 Producción de compuestos de valor agregado por consorcios bacteria-microalga

Diversas tecnologías basadas en el uso de cultivos de microalgas con capacidad de acumulación de lípidos se han aplicado en la producción de biodiésel. Este proceso no necesariamente exige cultivos puros, pero los requisitos de un precio bajo y un

proceso neutro en dióxido de carbono son de gran importancia (Santos & Reis, 2014).

Los consorcios microalga-bacteria, se han utilizado para la recuperación de nutrientes y recursos de valor agregado a partir de aguas residuales (Bhatia et al., 2022). Se ha reportado que a partir de estos sistemas es posible obtener biocombustibles, recuperar y valorizar el fósforo y producir biopolímeros (Jiang et al., 2022).

Los biopolímeros se han propuesto como una solución a la problemática ambiental generada por los plásticos de origen fósil, por su alta degradabilidad al final de su vida útil. Los polihidroxicanoatos (PHA) son ejemplos de estos biopolímeros, con adecuadas propiedades mecánicas y alta biodegradabilidad. Están constituidos por moléculas de poliésteres y son considerados como uno de los grupos de biopolímeros que puede sustituir de forma eficaz a los plásticos de origen fósil convencionales (Sabapathy et al., 2020).

Los PHA son biopolímeros acumulados por varios tipos de microorganismos; que se pueden sintetizar a partir de aguas residuales ricas en carbono y con concentraciones limitantes de nutrientes, como nitrógeno.

La comercialización de PHA actualmente se ve afectada por distintos factores, de los cuales el principal es su costo de fabricación, ya que si se producen a partir de cultivos puros que requieren de condiciones de operación completamente estériles. Además, los sustratos utilizados para su producción son muy costosos, representando más del 40% del costo total de su producción (Liu et al., 2023).

Sin embargo, utilizar cultivos microbianos mixtos resuelve esta problemática, ya que estos pueden llegar a ser tan eficientes como los sistemas de cultivo puro; es por ello que, varias investigaciones han explorado el potencial de diferentes recursos de desecho como materia prima, para la producción de PHA, incluyendo aguas residuales (Sabapathy et al., 2020).

La capacidad de los microorganismos para acumular PHA está relacionada con la resistencia al estrés y condiciones ambientales no ideales (Mannina et al., 2020),

pues acumulan estos biopolímeros como reserva de carbono y energía intracelular (Winnacker, 2019). Aplicar una alimentación intermitente provoca estrés en los microorganismos por la disponibilidad intermitente en los aceptores de electrones (Sabapathy et al., 2020).

La producción de PHA en cultivos mixtos generalmente se lleva a cabo mediante la estrategia de alimentación dinámica aerobia, que consiste en el establecimiento de periodos saciedad/ayuno (De Donno Novelli et al., 2021), que permite la selección de los microorganismos acumuladores de PHA. En periodos cortos de disponibilidad de carbono (saciedad) y periodos largos de indisponibilidad (ayuno), en condiciones aerobias, los microorganismos capaces de acumular PHA absorben el carbono durante el periodo de saciedad, acumulándolo en gránulos de PHA, estos microorganismos pueden posteriormente en la etapa de ayuno, utilizar el biopolímero acumulado como fuente de energía (Mannina et al., 2020).

Se ha reportado la eficiencia de acumulación de PHA en distintas cepas de cianobacterias (Tabla 3), además, también se ha probado acumulación de biopolímeros en lodos granulares aerobios. Por tanto, la aplicación de consorcio granular microalga-bacteria, resulta ser una alternativa viable para potenciar la acumulación de estos biopolímeros.

Tabla 3. Bacterias y cianobacterias acumuladoras de PHA

Cianobacterias	Fuente de carbono	%PHA peso seco celular	Autor
<i>Nostoc ellipsosporum</i> , <i>Arthrospira platensis</i> <i>Cyanobium</i>	Medios básicos siendo <i>Nostoc ellipsosporum</i> , <i>Limnospira platensis</i> las de mejor rendimiento	19.27 - 20.62	(Martins et al., 2017)
<i>Limnospira platensis MUR126</i>	Diferentes sustratos (acetato, formiato, oxalato y glicerol)	3.0	(Nematollahi et al., 2020)
<i>Synechocystis sp. PCC 6803</i>	γ -butirolactona	37.6	(Tanweer & Panda, 2020)
<i>Nostoc muscorum</i>	Residuos de la industria del biodiesel con glicerol	31.3	(Shetye & Mendhulkar, 2022b)
<i>Synechococcus elongatus</i>	Residuos de la industria láctea, azucarera, frutícola y de la industria del biodiesel	9.8	(Shetye & Mendhulkar, 2022a)
<i>Rhodopseudomonas sp. S16-VOGS3</i>	Butirato	34.4	(Carlozzi et al., 2019)
<i>Rhodopseudomonas sp. S16-VOGS3</i>	Acetato de sodio	44.0	(Guerra-Blanco et al., 2018)
<i>Rhodobacter sphaeroide</i>	Acetato de sodio, propionato y butirato	29.0	(Montiel-Corona et al., 2015)

3. Justificación

Las tecnologías de tratamiento biológico de aguas residuales actuales, como la de lodos activados, presentan ciertas desventajas como bajas velocidades de sedimentación de la biomasa y bajas velocidades de remoción de contaminantes, así como la demanda de grandes áreas de trabajo. Es por esto que resulta de gran interés el uso de sistemas basados en lodos aerobios granulares, los cuales se caracterizan por ser altamente compactos, con elevadas velocidades de sedimentación, la cual además presenta la capacidad de soportar la operación a altas cargas orgánicas. Sin embargo, los sistemas basados en gránulos aerobios requieren de un gran gasto energético por la aireación mecánica necesaria para la oxigenación, generando como consecuencia grandes emisiones de CO₂. Debido a ello, recientemente se ha propuesto el uso de consorcios bacteria-microalga, en los cuales tanto las bacterias como las microalgas asimilan los nutrientes; las microalgas proporcionan, a través de la fotosíntesis, el oxígeno necesario para sustentar el metabolismo de las bacterias, lo que se traduce en una disminución de los costos en energía. Por tanto, los cultivos sintróficos microalga-bacteria son una alternativa de bajo costo que permite reducir los impactos ambientales asociados con la operación de los sistemas de tratamiento.

Adicionalmente, un cultivo de bacterias-microalga tiene un gran potencial para generar productos de valor agregado (Jiang et al., 2022), destacando su capacidad para almacenar fósforo y acumular lípidos y biopolímeros (Ji et al., 2020). Por ejemplo, se han reportado rendimientos en acumulación de PHA en lodos granulares aerobios de más de 50 % (peso seco celular) (Liu et al., 2011), y mayores a 60 % en cultivos de microalgas (Costa et al., 2019). Por tanto, la implementación de estos consorcios para el tratamiento de aguas residuales es una tecnología innovadora que permite eliminar los contaminantes de las aguas residuales abatiendo los impactos ambientales asociados al proceso.

4. Hipótesis

Se ha reportado la eficiencia en eliminación de contaminantes en aguas residuales y acumulación de biopolímeros por microalgas y bacterias, por lo tanto, establecer un consorcio granular bacterias-microalga permitirá aumentar la eficiencia de remoción de contaminantes y la acumulación de PHA gracias a la interacción sintrófica entre estos microorganismos.

5. Objetivos

5.1 General

Establecer las condiciones que permitan la formación de un consorcio bacteria-microalgas estable para la remoción de materia orgánica y amonio.

5.2 Específicos

1. Producir un cultivo granular aerobio utilizando aguas residuales sintéticas como medio de alimentación.
2. Establecer un cultivo de *Nostoc* sp. en su medio básico.
3. Establecer el consorcio lodos granulares aerobios-*Nostoc* sp. para el tratamiento de un agua residual sintética.
4. Evaluar la capacidad de acumulación de PHA en el consorcio mixto bacteria-microalga previamente establecido.

6. Metodología

Las actividades desarrolladas se muestran en el siguiente diagrama:

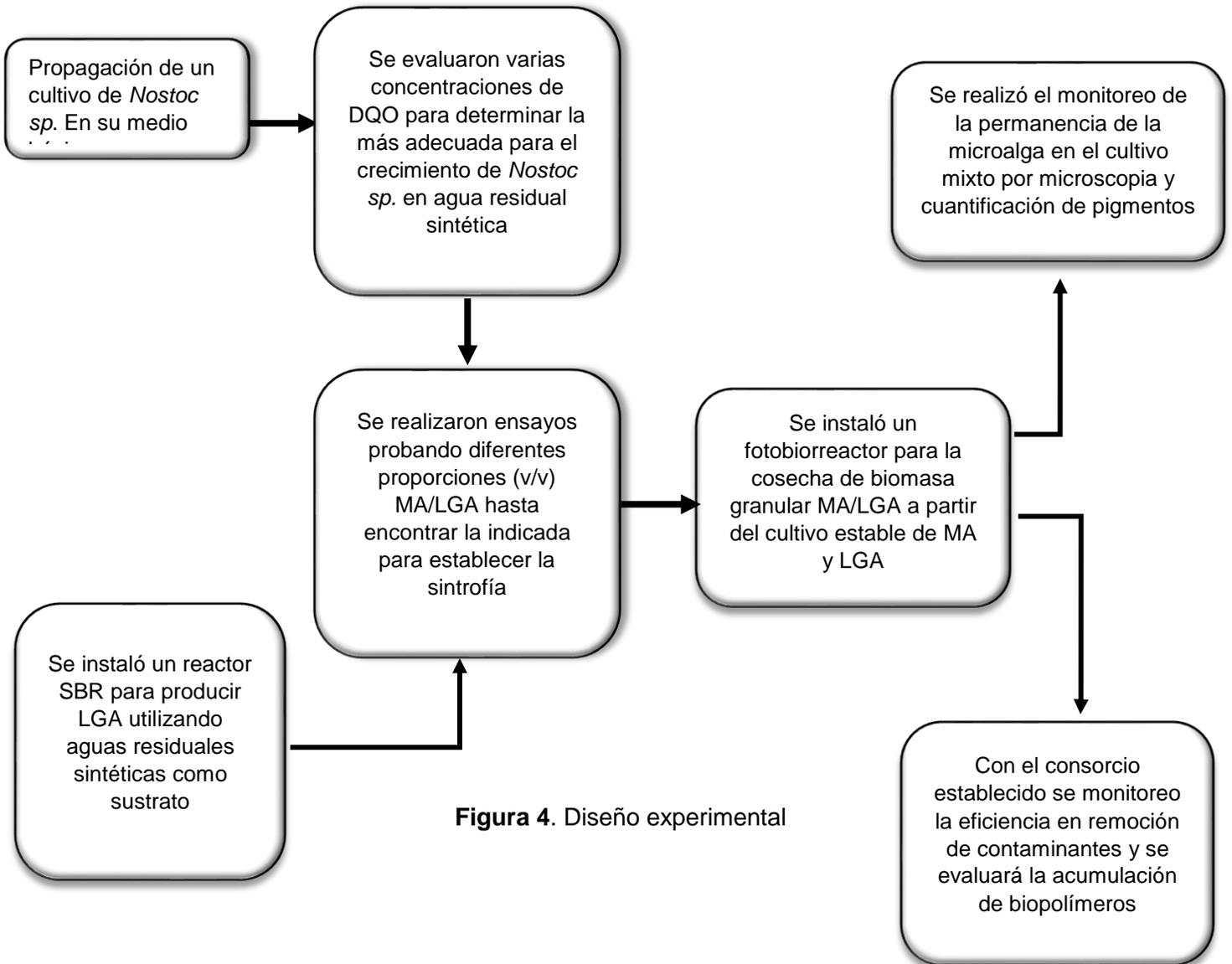


Figura 4. Diseño experimental

6.1 Cultivo de microalgas

La cianobacteria que se utilizó en este proyecto es la microalga *Nostoc* sp. de la colección de cultivos del laboratorio de Fisiología Aplicada de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa.

Se inocularon dos reactores en lote de 2 L con 3.3×10^5 /mL de células de *Nostoc* sp., equivalente al 10% del volumen total del reactor; las condiciones de operación se muestran en la tabla 4. Los reactores fueron alimentados con medio básico, lombricomposta (Anexo 1). Se realizó una curva de crecimiento en cámara de Sedgwick-Rafter (Anexo 2) tomando muestras por duplicado para calcular la fase exponencial de crecimiento. Se monitoreó el crecimiento celular y pigmentos (Ficocianina y Ficoeritrina) tres veces por semana. Al llegar a la fase exponencial se transfirieron ambos cultivos a un reactor de 16 L. Así mismo, se analizó la producción de PHB (Gobi & Vadivelu, 2015) por el cultivo de *Nostoc* en la etapa exponencial.

Tabla 4. Condiciones de operación del reactor para cultivo de *Nostoc* sp.

Volumen	2 L
Temperatura	22-25 °C
pH	> 9
flujo de aireación	2 L/min
Iluminación	$200 \pm 10 \mu\text{mol/m}^2\text{s}$

6.2 Cultivo de lodos granulares aerobios

Para el cultivo de lodos granulares se utilizó un reactor de secuenciación por lotes (SBR por sus siglas en inglés) de 2.8 L de volumen útil (Figura 5). Como inóculo se utilizaron 4.8 g-SSV/L de lodos activados, provenientes de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Cerro de la Estrella. El SBR se alimentó con un agua residual sintética de acuerdo con Ji et al., (2020), quienes utilizaron este medio para el establecimiento de un consorcio microalga-bacteria, cuya composición se muestra en la Tabla 5.

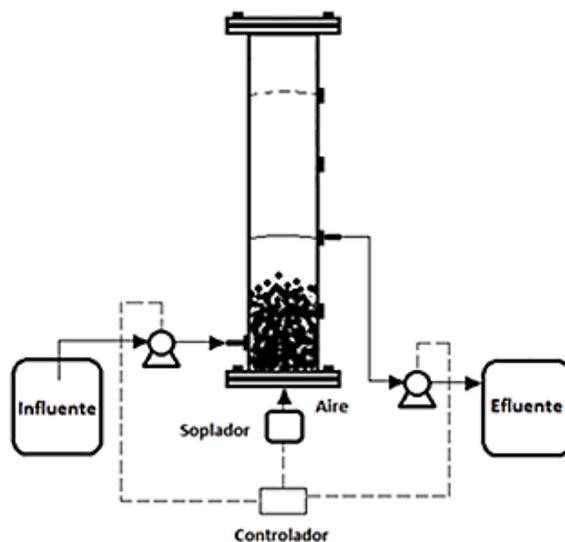


Figura 5. Esquema general del SBR para el cultivo de lodos granulares

Tabla 5. Composición del agua residual sintética y solución de elementos traza, de acuerdo con Ji et al. (2020).

Compuesto	Concentración (mg/L)
$C_2H_3NaO_2$	1000
NH_4Cl	99.4
KH_2PO_4	13.2
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	50
$CaCl_2$	10
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	10
$NaHCO_3$	20
Elementos traza	1ml/L
Solución elementos traza	
Compuesto	Concentración (mg/L)
EDTA	10
H_3BO_3	150
$MnSO_4 \cdot H_2O$	100
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	30
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	120
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	60
KI	180
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	150

Para mantener la oxigenación, el sistema fue aireado desde el fondo mediante un difusor de piedra porosa conectado a un compresor de aire (VIVOSUN 950) (Figura 5). Las condiciones de operación del reactor se muestran en la tabla 6. El flujo de

aireación aplicado fue de 3 L/min, que equivale a una velocidad superficial de flujo de aire de 1.3 cm/s. Este valor se encuentra en el intervalo recomendado por Nancharaiah & Reddy, (2018) para el cultivo y mantenimiento de biomasa granular aerobia estable, así mismo se estableció una relación de intercambio volumétrico del 50 %. El reactor trabajó con dos cargas orgánicas, 6 g de DQO/L ·día (día 1-40) y 4 g de DQO/L ·día (día 41-150).

El SBR fue operado en ciclos consecutivos de 4 h integrados por etapas de alimentación anaerobia, reacción aerobia, sedimentación y descarga. La duración de las etapas de alimentación y descarga fue fijada en 10 minutos mientras que la etapa de reacción aerobia se mantuvo entre 215-218 minutos, por la reducción gradual del tiempo de sedimentación como estrategia de granulación los primeros 8 días de operación el tiempo de sedimentación se mantuvo en 5 minutos, de los 9 días de operación en adelante el tiempo de sedimentación fue de dos minutos (Tabla 6).

Tabla 6. Configuración de los ciclos de operación del SBR alimentado con agua residual sintética

Configuración de los ciclos de operación	
Ciclo (h)	4
Llenado (min)	10
Reacción aerobia (min)	215-218
Sedimentación (min)	5-2
Descarga (min)	10
Carga orgánica (g DQO/L día)	6 y 4

Durante el desarrollo del experimento se evaluaron las propiedades de la biomasa granular (índice volumétrico de lodos, velocidad de sedimentación y sustancias poliméricas extracelulares) y la eficiencia de remoción de DQO, NH₄⁺ y fosfatos (Tabla 9).

6.3 Ensayos para determinar las condiciones para establecimiento de un consorcio microalga bacteria

6.3.1 Selección de la concentración de DQO para el crecimiento de *Nostoc* sp. en el cultivo sintrófico

Para el establecimiento del consorcio sintrófico se realizaron dos experimentos preliminares. En el primer experimento se cambió el medio de alimentación de las microalgas de lombricomposta a agua residual. En esta etapa se estableció la concentración de DQO que asegurará la permanencia de la microalga en el cultivo sintrófico aun con el cambio en el medio de alimentación. Se evaluaron los valores de DQO mostrados en la tabla 7, utilizando matraces de 250 mL, adicionando 10 mL de inóculo y 100 mL de agua residual sintética. Se realizaron curvas de crecimiento para cada una de las concentraciones ensayadas mediante conteo celular.

Tabla 7. Porcentajes de DQO ensayados para el cultivo sintrófico LGA/MA.

%	Concentración (mg de DQO/L)
100	666
70	466
50	333
20	133

6.3.2 Establecimiento de relación lodo granular aerobio/microalga (LGA/MA)

Una vez establecida la concentración de DQO a utilizar para el establecimiento de la simbiosis (466 mg de DQO/L), se realizaron ensayos en lote con diferentes relaciones lodo granular aerobio/microalga (% v/v) (Tabla 8) con el objetivo de determinar qué relación microalga-bacteria aseguraría el establecimiento de la simbiosis entre lodos granulares aerobios y microalgas.

Tabla 8. Relación LGA/MA para el establecimiento del cultivo sintrófico

% LGA	% MA
80	20
70	30
60	40
50	50

Previo a probar las distintas relaciones LGA/MA, se realizó una cinética con los lodos granulares para identificar su comportamiento en condiciones anóxicas. Este ensayo se realizó por duplicado, en matraces de 250 mL utilizando un volumen útil de 150 mL, del cual el 30% (v/v) correspondía al inóculo y el restante al agua residual sintética. Los reactores fueron incubados por tres días en un agitador orbital a 120 rpm, expuestos a una fuente de iluminación de $200 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La misma metodología fue usada para las distintas relaciones LGA/MA.

En todas las cinéticas se siguió el consumo de amonio y DQO, así como observaciones por microscopia para identificar el acoplamiento de las microalgas al gránulo.

6.4 Técnicas analíticas

Las referencias de las técnicas analíticas utilizadas para el análisis de las muestras se muestran en la siguiente:

Tabla 9. Técnicas analíticas

Parámetro	Referencia o instrumento
Pigmentos	(Arredondo Vega, 1997)
Concentración celular (microalgas)	(Arredondo Vega, 1997)
DQOt, DQOs, P-PO ₄ ³⁻ , SST, N-NH ₄ ⁺	(APHA , 2017)
Índice volumétrico de lodos (IVL)	(APHA , 2017)
Velocidad de sedimentación	(APHA , 2017)
EPS (SMP-eEPS)	(Le-clech et al., 2006)
Microscopía óptica	Microscopio Óptico (Olympus, CX31)
Acumulación de PHB	(Gobi & Vadivelu, 2015)
Oxígeno disuelto y pH	Multiparamétrico portátil (WTW MultiLine®, Multi 3430 IDS)

En el Anexo 2 se muestran las técnicas analíticas utilizadas.

6.5 Establecimiento del consorcio LGA/ MA en un fotobiorreactor para remoción de contaminantes en aguas residuales

Una vez establecida la relación microalga-bacteria que favoreció el establecimiento de la sintrofia, se procedió a obtener un consorcio LGA/MA para inocular el fotobiorreactor. Se inocularon 4 matraces de 250 mL, con un volumen útil de 150 mL y con la relación LGA/MA 60/40. Las condiciones de operación se presentan en la tabla 10. Este cultivo se mantuvo por una semana hasta el establecimiento de la sintrofia.

Tabla 10. Configuración de los reactores para probar las relaciones LGA/MA

TRH	48 h
Fotoperiodos	12h luz /12h oscuridad
Agitación	120 rpm
Volumen	150 mL
Inóculo	45 mL

Una vez establecida la simbiosis, se concentró la biomasa de dos matraces (90mL) para inocular un SBR de 500 mL, con un volumen útil de 400 mL. Se sometió a fotoperiodos de luz/oscuridad (12/12), y se operó con una relación de intercambio del 50 %, suministrando aire en la etapa de reacción a una velocidad superficial de 0.86 cm/s. La configuración del ciclo de operación se presenta en la Tabla 11. El tiempo de sedimentación se estableció en 8 minutos, posteriormente se redujo a 3 minutos para drenar del reactor la biomasa que no presentaba buenas propiedades de sedimentación, además, se incluyeron etapas anóxicas en las cuales las microalgas contribuirían proporcionando oxígeno para que las bacterias oxidaran la materia orgánica presente.

Semanalmente se realizaron los perfiles cinéticos para determinar las constantes cinéticas, q_{DQO} y $q_{NH_4^+}$.

Tabla 11. Configuración de los ciclos de operación del fotobiorreactor

Configuración de los ciclos (Arranque, día 0)		Configuración de los ciclos (Estabilización, día 2-45)	
Etapas	Minutos	Etapas	Minutos
Alimentación	10		
Sin aireación	120	Alimentación	10
Aireación	226	Sin aireación	110
Sin aireación	120	Aireación	227
Aireación	226	Sedimentación	3
Sedimentación	8	Drenado	10
Drenado	10		

Los parámetros analizados durante la operación del SBR y cinéticas se presentan en la tabla 9.

6.6 Análisis estadístico

Para la identificación de la relación LGA/MA con mejor desempeño en velocidad de consumo de DQO y NH_4^+ se realizó un análisis estadístico por medio de un ANOVA de un solo factor para identificar si hay diferencia significativa entre las medias de las velocidades de consumo de DQO en las diferentes relaciones LGA/MA probadas, utilizando el análisis de datos del software Microsoft Excel, con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$, a continuación, se presentan la hipótesis nula (H_0) y la hipótesis alterna (H_a):

$$H_0: \mu_{20/80} = \mu_{30/70} = \mu_{40/60} = \mu_{50/50}$$

$$H_a: \mu_{20/80} \neq \mu_{30/70} \neq \mu_{40/60} \neq \mu_{50/50}$$

7. Resultados y discusión

7.1 Reactor de microalgas

Para el establecimiento del cultivo de *Nostoc* sp. se operó un reactor en lote alimentado con medio básico, con iluminación de $200 \pm 10 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$, y un flujo de aireación de 2 L/min. Durante su operación se monitoreó el crecimiento, realizando conteos celulares cada tercer día. Los resultados obtenidos se muestran en la figura 6, en la que se puede apreciar que el máximo crecimiento se registró a los 15 días de operación, con un conteo aproximado de $2.0 \times 10^6/\text{mL}$ células y una tasa específica de crecimiento de 0.2 día^{-1} este resultado coincide con (Mouga et al., 2024) quienes reportaron una tasa específica de crecimiento de 0.222 día^{-1} , usando como medio de cultivo BG-11.

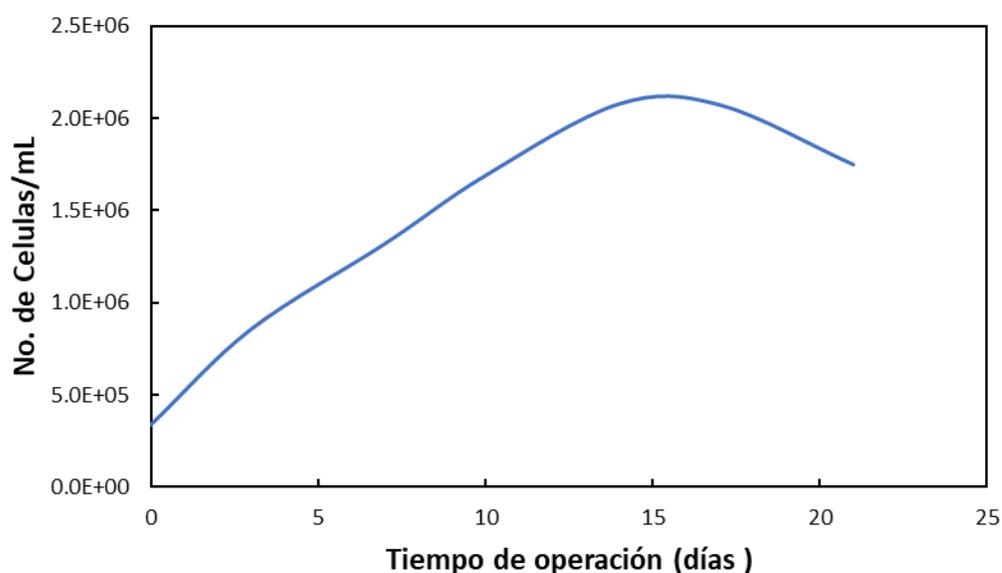


Figura 6. Curva de crecimiento del cultivo de *Nostoc* sp.

Otro de los parámetros que se monitoreó fue la evolución en la concentración de pigmentos, ficocianinas (FC) y ficoeritrina (FE); los resultados se presentan en la figura 14. Como se puede observar, la ficoeritrina fue el pigmento en mayor concentración, obteniendo un valor máximo aproximado de 0.16 mg/mL. Este se encuentra por encima de los valores reportados por Basheva et al., (2018), quienes obtuvieron concentraciones de FE de entre 0.018 y 0.035 mg/mL y de FC de 0.08-0.020 mg/L, cultivando *Nostoc* sp. en su medio básico (BG 11).

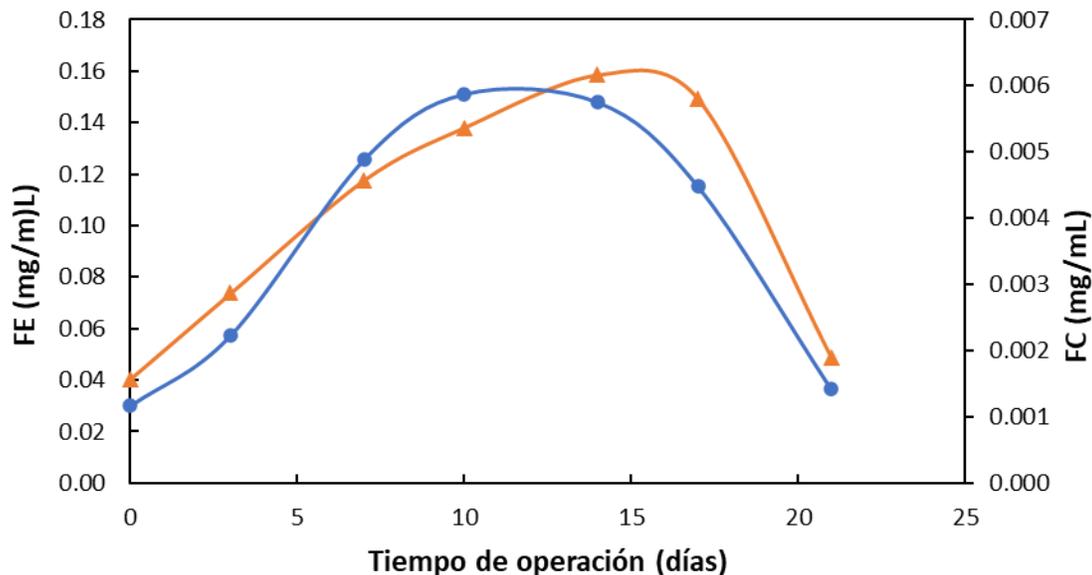


Figura 7. Concentración de pigmentos durante el tiempo de operación, FE (▲) y FC (●)

Ambos pigmentos evolucionaron siguiendo el comportamiento de la concentración celular, Alves De Oliveira et al., (2014), menciona que en condiciones controladas de luz la concentración de pigmentos está directamente relacionada a la concentración de celular. Por tanto, al hacer una suma de ambos pigmentos y correlacionar esta concentración con el número de células (Figura 8), se obtendría una ecuación que permite saber la concentración celular de *Nostoc* sp. mediante la concentración de pigmentos totales en el cultivo sintrofico.

Graficando el total de pigmentos contra número de células, se obtiene la siguiente ecuación:

$$\text{No. de células/mL} = \frac{\text{Pigmentos (mg/mL)} - 0.0183}{7^{-08}}$$

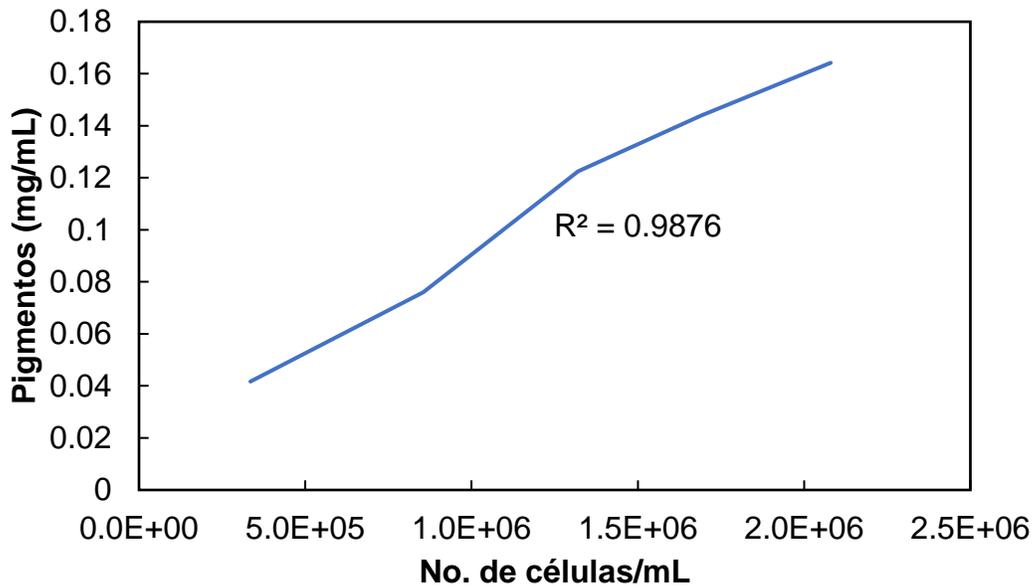


Figura 8. Correlación pigmentos vs número de células

Con esta metodología se siguió el crecimiento de *Nostoc* en el cultivo sintrófico.

7.2 Cultivo de lodos granulares aerobios

7.2.1 Proceso de granulación

Durante los primeros días de operación (1-47) se observó una disminución en la concentración de biomasa de 4.8 a 1.8 g-SSV/L (Figura 9). Esto se debió a la reducción gradual en el tiempo de sedimentación como presión de selección, de 5 a 2 min que provocó el lavado de las partículas de biomasa más ligeras, con las menores velocidades de sedimentación (Figura 10a), permitiendo que la biomasa con buenas propiedades de sedimentación permaneciera dentro del reactor.

Sin embargo, la disminución en el tiempo de sedimentación y la alta velocidad ascensional no fue suficiente para la formación de los gránulos, por tanto, se optó por disminuir la carga orgánica a 4 g DQO/L-día (día 40) esto aumentó el periodo de ayuno (Figura 14), y aparecieron los primeros gránulos (Día 47) (Figura 10b). Se ha reportado que la formación de gránulos se da entre 25- 35 días (Han et al., 2022), sin embargo, el cambio en la carga orgánica dio el resultado esperado.

El lavado de biomasa continuó, resultando en una pérdida de biomasa llegando a concentraciones menores a 1 g-SSV/L. Conforme la biomasa granular se

estabilizaba (día 80), el diámetro de los gránulos fue incrementando lo cual es representativo del proceso de granulación, obteniendo gránulos de diámetro promedio de 1 mm, lo cual es consistente con lo mencionado por (Purba et al., 2020), pues la biomasa se considera granular cuando tiene un diámetro mayor a 0.2 mm (Figura 10c) y una concentración de biomasa de aproximadamente 2.7 ± 0.67 g-SSV/L.

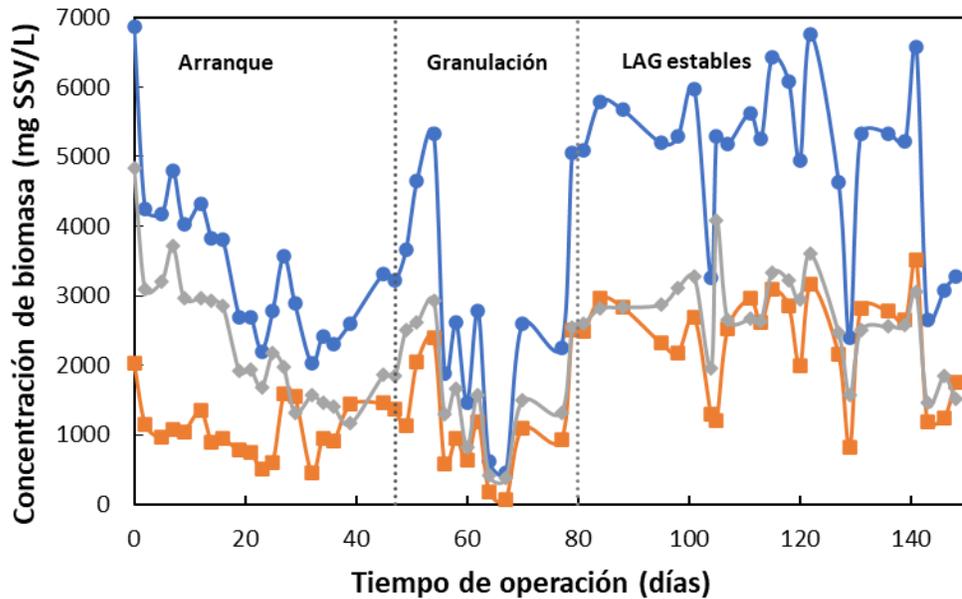


Figura 9. Perfil de sólidos dentro del reactor: sólidos suspendidos volátiles (SSV) (◆), sólidos suspendidos fijos (SSF) (■) y sólidos suspendidos totales (SST) (●).

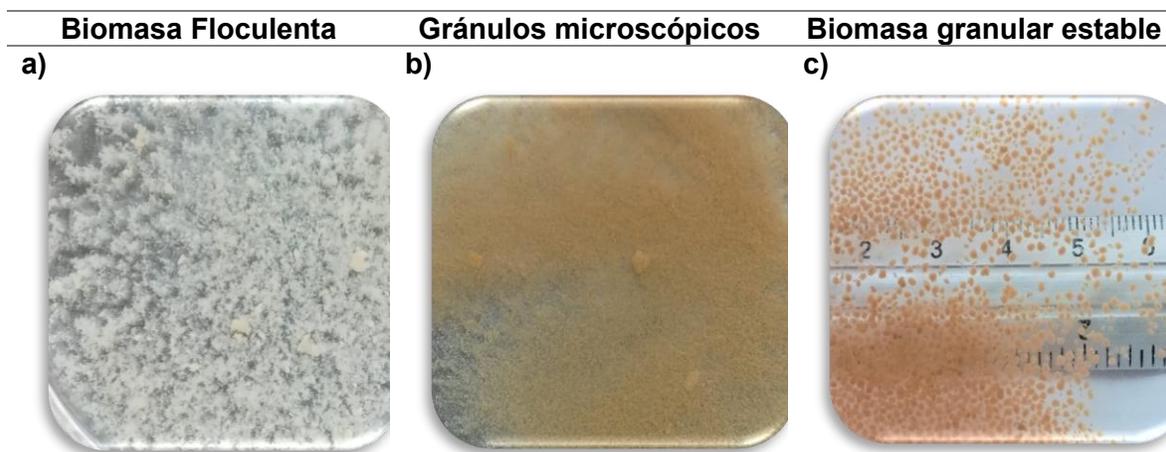


Figura 10. a) Biomasa correspondiente al día 43 de operación, b) Primera biomasa granular al día 47 de operación, y c) biomasa granular estable al día 102 de operación

Por otra parte, se monitoreó el índice volumétrico de lodos (IVL) durante los días de operación (Figura 11), ya que es uno de los parámetros más importantes en el proceso de granulación, que indica la evolución en el nivel de compactación de la biomasa. El IVL del inóculo fue de 69.9 mL /g-SST, este parámetro disminuyó considerablemente durante el proceso de granulación, obteniendo un valor de 26.84 mL/g-SST a los días 100 de operación, siendo este el comportamiento esperado al pasar de lodos floculentos dispersos a lodos granulares estables altamente compactos. Estos datos coinciden con los reportados por Wang et al., (2018), quienes obtuvieron biomasa granular aerobia con un IVL de 35 mL /g-SST, utilizando agua residual sintética.

Otro de los parámetros que caracteriza la biomasa granular aerobia es la velocidad de sedimentación. El inóculo de lodos activados presentó una velocidad de sedimentación baja, de 5.55 m/h. Este parámetro evolucionó favorablemente durante la formación y estabilización de la biomasa granular aerobia, aumentando a un valor promedio de 25.67 ± 3.7 m/h a los 80 días. De acuerdo con lo reportado por Shameem & Sabumon (2023), los LGA estables presentan velocidades de sedimentación de entre 20 y 80 m/h.

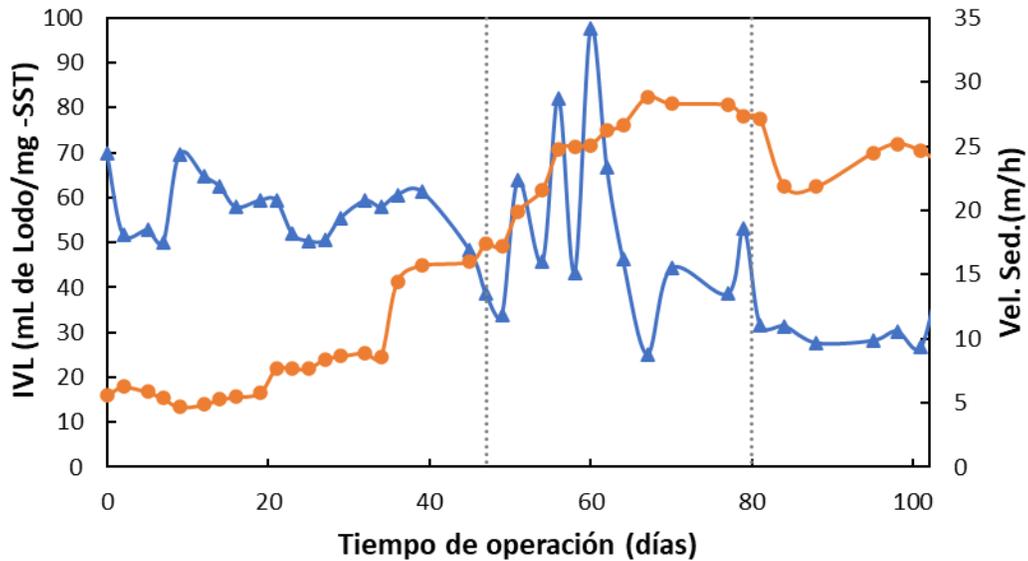


Figura 11. Perfiles de índice volumétrico de lodos (▲) vs velocidad de sedimentación (●), durante el tiempo de operación del reactor.

Como parámetro complementario a la evaluación de las propiedades físicas de la biomasa, se determinó la evolución en la síntesis de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) durante el proceso de granulación. Estas sustancias son de gran importancia en la formación de gránulos, ya que promueven la adhesión entre las células, generando agregados estables. Las EPS son sintetizadas cuando la biomasa es sometida a condiciones de estrés, como largos periodos de ayuno, altas fuerzas de corte y reducción gradual del tiempo de sedimentación. Las EPS segregadas por microorganismos, están compuestas principalmente de proteínas y carbohidratos, que pueden estar solubles (SMP) en el licor mezclado o adheridos al gránulo (eEPS) (Shi & Liu, 2021).

Como se puede observar en la Figura 12, las de SMP y EPS en el inóculo estaban presentes casi en la misma concentración, con valores de 109.49 y 127.26 mg/g-SSV, respectivamente. Posteriormente con la aplicación de las presiones de selección la concentración de eEPS presentó una tendencia ascendente. De acuerdo con la literatura, el incremento en la concentración de EPS favorece la formación de gránulos (Liu et al., 2004).

El aumento más notable en este parámetro se presentó precisamente cuando se formaron los primeros gránulos, a partir del día 47 de operación, alcanzando el

máximo en las EPS totales en el día 60, con una concentración de 284.83 mg/g-SSV, sufriendo una ligera caída en los días subsecuentes para mantenerse en 146.84 ± 20.29 en los últimos 25 días de operación. (Liu et al., 2022), reportaron un comportamiento similar, iniciando con una concentración de EPS en el inóculo de 212 mg/g-MLSSV, la cual aumentó gradualmente durante la maduración de los lodos, hasta alcanzar un valor de 333 mg/g-MLSSV cuando el lodo se consideró estable.

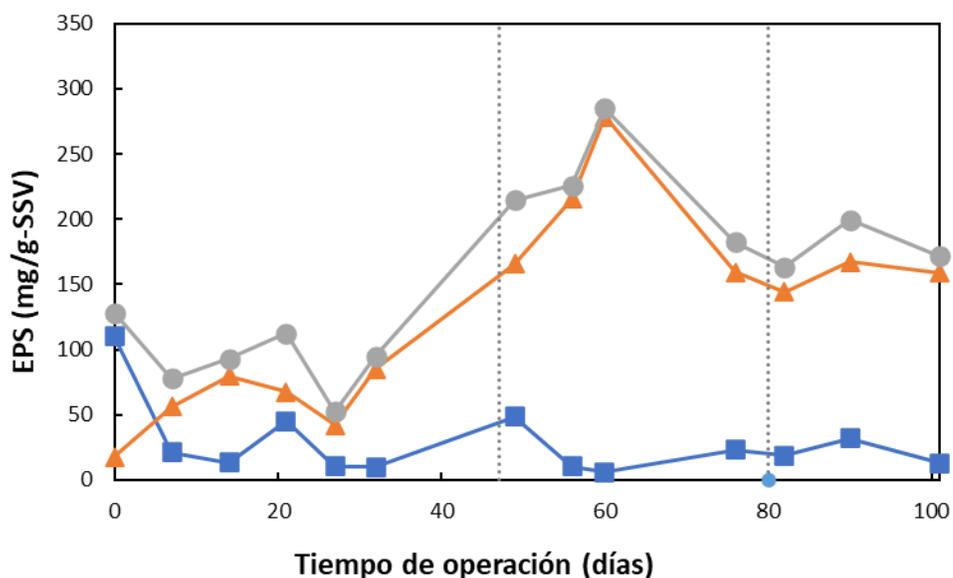


Figura 12. Sustancias poliméricas extracelulares (EPS) durante el periodo de operación, EPS totales (●), sEPS (▲) y SMP (■),

7.2.2 Desempeño del reactor en la remoción de contaminantes.

El reactor operó por un periodo de 148 días, durante el cual se monitoreó la eficiencia en la remoción de contaminantes (Figura 13).

La operación del reactor se describe en tres etapas. La primera etapa, corresponde al arranque del reactor (47 días), operando a una carga de 6 g DQOs/L d (día 1-40). Durante esta etapa la biomasa consistió esencialmente de flóculos, de tal forma que aún no se lograba la granulación. Las eficiencias de remoción de DQOs, fosfatos y amonio fueron de 95.3 ± 9.11 %, 80.72 ± 9.11 % y 91.68 ± 8.03 %, respectivamente. En la segunda etapa que fue a partir de la formación de los primeros gránulos (día 47-80) se modificó la carga orgánica a 4 g DQO/L d (a partir

del día 40) y las eficiencias de remoción de DQOs, fosfatos y amonio, fueron $96.58 \pm 2.86 \%$, $88.16 \pm 9.03 \%$ y $85.16 \pm 5.59 \%$, respectivamente. Durante la etapa 3 (día 81- 148) la biomasa ya era completamente granular y se alcanzaron las siguientes eficiencias de remoción, $95.11 \pm 2.56 \%$, $96.58 \pm 2.31 \%$ y $92.62 \pm 4.17 \%$, para DQOs, NH_4^+ y fosfatos respectivamente.

Los datos indican que la biomasa granular presentó una mayor eficiencia de remoción de materia orgánica, nitrógeno y fósforo que la biomasa floculenta que predominó durante la etapa 1. La estructura de los gránulos desempeña un papel fundamental en la eficiencia de remoción de contaminantes, pues permite la eliminación simultánea de los mismos (De Kreuk et al., 2005). De acuerdo con (Rout et al., 2021) cuando en el proceso de tratamiento de aguas residuales en un SBR se agregan periodos anóxicos se propicia la presencia de microorganismos desnitrificantes anóxicos y organismos facultativos acumuladores de fosfato, induciendo la remoción biológica de nutrientes. Adicionalmente, durante la etapa de llenado el sustrato orgánico particulado se adsorbe en la superficie de los gránulos. Si esta etapa se lleva a cabo de forma anaerobia, las partículas son hidrolizadas, generando subproductos solubles que se difunden al interior de los gránulos, brindando estabilidad a los agregados y altas eficiencias de remoción, posteriormente, cuando inicia la aireación en la capa externa los heterótrofos consumen la mayor parte de la DQO y en las capas internas ocurre la nitrificación y desnitrificación (De Kreuk et al., 2005).

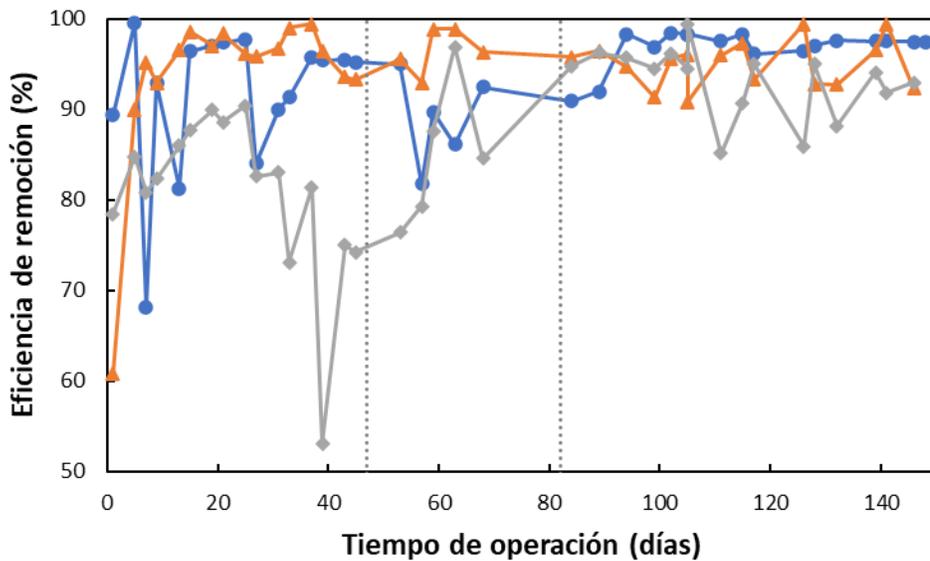


Figura 13. Eficiencias de remoción de contaminantes durante el tiempo de operación, DQO (▲), NH₄⁺ (●) y fosfatos (◆).

7.2.3 Perfiles cinéticos del SBR

Se llevaron a cabo diferentes análisis cinéticos para evaluar las velocidades de remoción de materia orgánica en el SBR de lodos aerobios granulares, así como la duración de los periodos de saciedad y ayuno.

La primera cinética se llevó a cabo en el día 3 de operación para establecer la duración de los ciclos de operación (Figura 14a). El análisis reveló que el mayor consumo de materia orgánica se presenta en los primeros 20 minutos de la etapa de aeración, obteniéndose una velocidad específica de consumo de 4.15 g-DQO/g-SSV día. A partir del minuto 100 se observó el aumento en la concentración de oxígeno disuelto hasta la saturación, lo que indica el comienzo de la fase de ayuno.

A partir de esta información, se infiere que la fase de saciedad y la de ayuno tuvieron una duración aproximada de 100 min y 140 min, respectivamente. Cabe resaltar que durante los primeros días de operación la biomasa era predominantemente floculenta, por lo que en el día 40 de operación se decidió disminuir la carga orgánica de 6 a 4 g-DQO/ L d, apareciendo así los primeros gránulos (día 47, Etapa 2) debido al incremento en la duración de los periodos de ayuno.

Está reportado que someter a la biomasa floculenta a periodos largos de ayuno es una de las estrategias que favorecen la granulación, ya que provoca estrés en los microorganismos y segregan una mayor cantidad de EPS indispensables en el proceso de granulación (Serafim et al., 2004).

Con la nueva carga se realizó una cinética, en la cual se observó aumento en la velocidad específica de consumo de DQOs ($7.28 \text{ g-DQO/g-SSV día}$) con respecto a la primera cinética, así como en la duración de los periodos de ayuno (190 min) (Figura 14b), este indica que el aumento en los periodos de ayuno fue la estrategia clave para la formación de los gránulos.

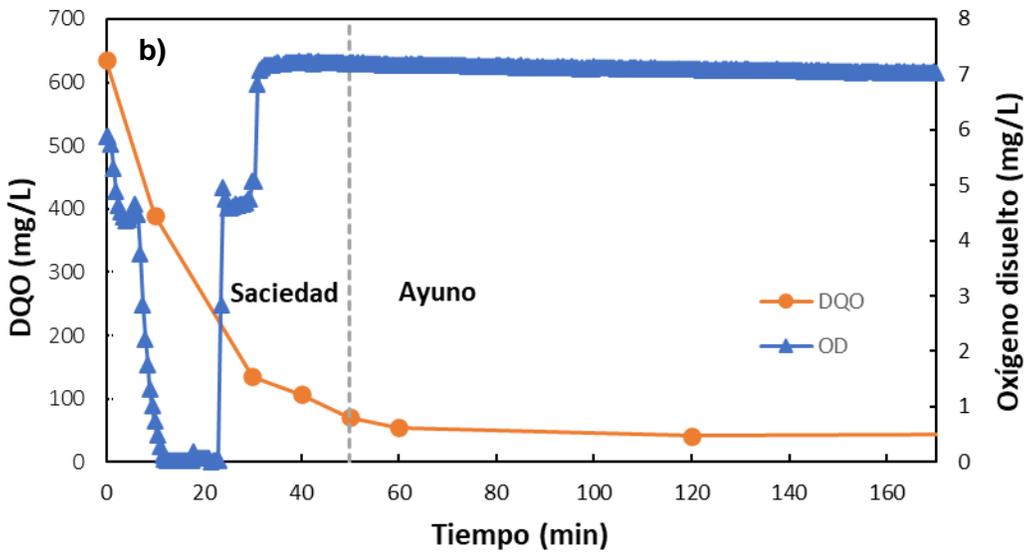
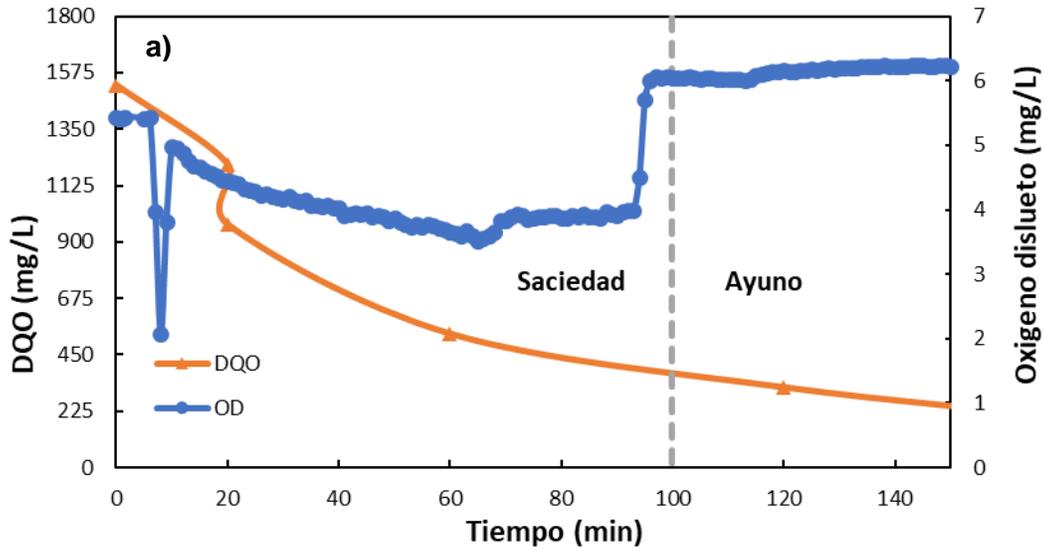


Figura 14. Perfiles cinéticos a dos ciclos de operación del reactor SBR: a) carga orgánica 6.0 g DQO/ L·día y b) carga orgánica 4 g DQO/ L·día, DQO (●) y OD (▲).

7.3 Establecimiento de las condiciones para el cultivo sintrófico

7.3.1 Selección de la concentración de DQO para el crecimiento de *Nostoc* sp. en el cultivo sintrófico

Con el objetivo de identificar la concentración de DQO adecuada para el crecimiento de las microalgas en el cultivo sintrófico, se evaluaron las siguientes concentraciones de DQO: 666 mg DQO/L, que es la concentración utilizada en el reactor de biomasa granular, 466, 333 y 133 mg/L. Como se puede observar en la figura 15, los perfiles de crecimiento celular para las concentraciones entre 333 – 666 mg DQO/L no exceden $1.5 \text{ E}+6$ células/mL, mientras que con la concentración de 133 mg DQO/L se obtuvo el mayor crecimiento celular ($2.5 \text{ E}+6$ células/mL) y una velocidad específica de 0.08 días^{-1} (Tabla 12). Sin embargo, la DQO de 133 mg/L representa sólo el 20% de la concentración de materia orgánica con la que se alimentaba el reactor de lodos granulares, por lo que al seleccionar esta concentración para la operación del cultivo sintrófico probablemente se afectaría el crecimiento de las bacterias en los lodos granulares por concentraciones limitantes de sustrato. Debido a ello, se decidió utilizar la concentración de 466 mg DQO/L para asegurar la adaptación de *Nostoc* sp. en el consorcio sintrófico y evitar afectar el mantenimiento de los gránulos bacterianos.

Tabla 12. Tasa específica de crecimiento (μ) de *Nostoc* sp. a diferentes concentraciones de DQO

mg-DQO/L	μ (día ⁻¹)
133	0.080
333	0.051
466	0.062
666	0.065

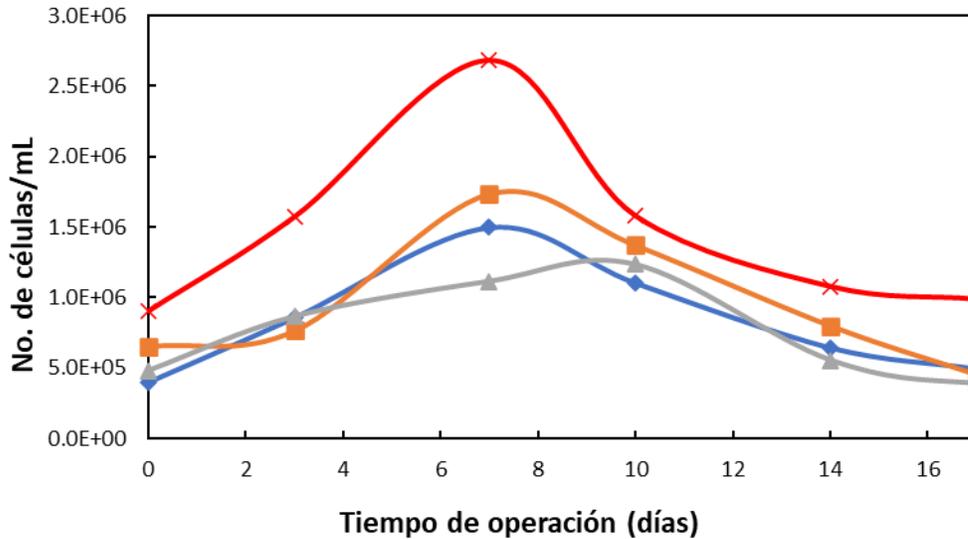


Figura 15. Curvas de crecimiento de Nostoc a diferentes concentraciones de DQO (mg/L), 666 (◆), 466 (■), 333 (▲) y 133 (x).

7.3.2 Establecimiento de relación lodo granular aerobio/microalga (LG/MA)

Para el establecimiento del cultivo sintrófico se probaron distintas relaciones lodo granular aerobio/microalga (LG/MA), con la finalidad de evaluar la relación a la cual se establece mejor la sintrofía. Inicialmente se realizó una cinética anóxica (Figura 16) con los lodos granulares, identificando así su velocidad de consumo del cultivo bacteriano bajo estas condiciones. Posteriormente se iniciaron los ensayos anóxicos con los consorcios LG/MA a diferentes proporciones.

Las figuras 17 y 18 muestran los perfiles cinéticos de DQO y NH_4^+ respectivamente, a las diferentes proporciones probadas. Con estos perfiles se pudo determinar el comportamiento de la biomasa. Las velocidades de consumo de DQOs y amonio fueron de 1.44 mg de DQOs/L min y 0.07 mg de NH_4^+ /L min, respectivamente. La velocidad específica de consumo de DQOs (1.88 g-DQO/g-SSV día) fue 4 veces menor a la obtenida en condiciones aerobias en el SBR de lodos aerobios granulares (7.28 g-DQO/g-SSV día) (Figura 14 a y b). Esta cinética permitió establecer que el sustrato se consume a muy baja velocidad en la etapa anóxica debido a la deficiencia de OD.

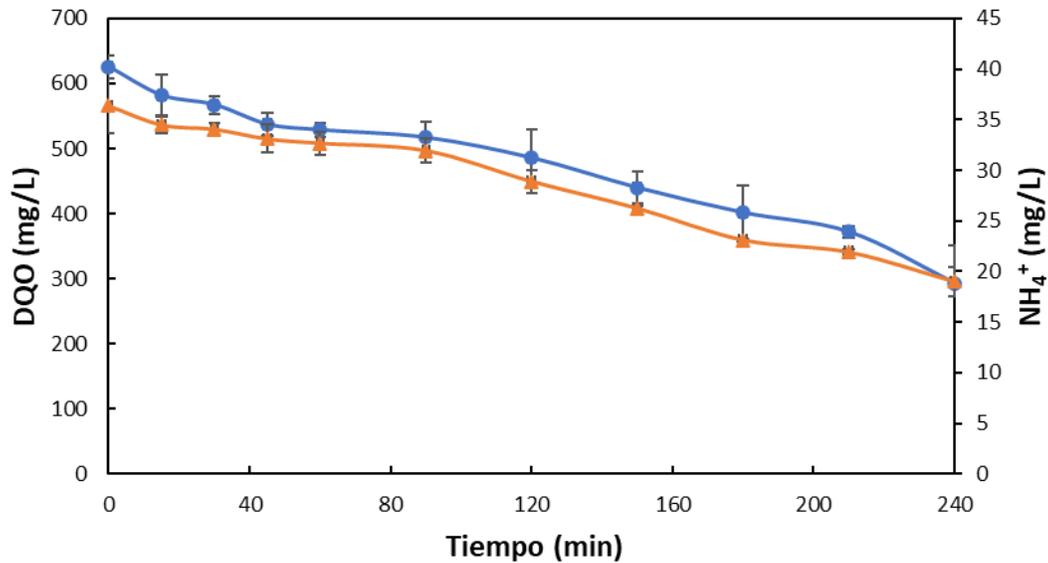


Figura 16. Cinética de consumo de amonio (▲) y DQO (●) en lodos granulares aerobios en condiciones anóxicas.

Posteriormente se realizaron cinéticas a distintas relaciones LGA/MA, 80/20, 70/30, 60/40 y 50/50%, evaluando el consumo de NH_4^+ y DQOs. Así mismo, se tomaron microfotografías en cada día de operación (Figura 19), en donde fue evidente la adhesión de las microalgas a la capa externa de los gránulos, confirmando el establecimiento de la simbiosis.

Los perfiles de consumo de DQOs y NH_4^+ se presentan en las figuras 17 y 18, respectivamente. En estas se puede observar un comportamiento similar en la remoción para las diferentes relaciones LGA/MA.

En cuanto a los perfiles de DQOs, se puede observar que con la relación de 50/50 el sustrato se consumió casi en su totalidad, con una eficiencia de remoción del 99%, mientras que para el resto de las relaciones la eficiencia de remoción fue cercana a 95% (Figura 17). Estos resultados son semejantes a los reportados por Su et al., (2012), para distintas proporciones MA/B.

Mientras que la eficiencia de remoción de amonio fue en el intervalo de 45-59% (Figura 18). Las bajas eficiencias de remoción de NH_4^+ se puede atribuir a que el tiempo de incubación no fue suficiente para que las microalgas consumieran por

completo el nitrógeno. Por otro lado, es probable que el oxígeno aportado por las microalgas no fuera suficiente para que los LGA absorbieran y asimilaran el NH_4^+ disponible.

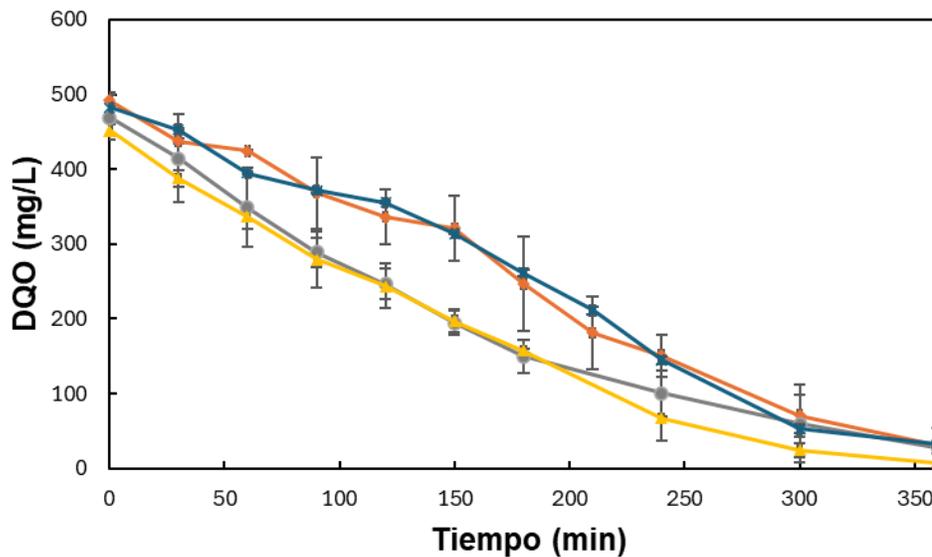


Figura 17. Cinéticas de consumo de DQO relación LGA/MA 80/20 (*), 70/30 (◆), 60/40 (●) y 50/50 (▲).

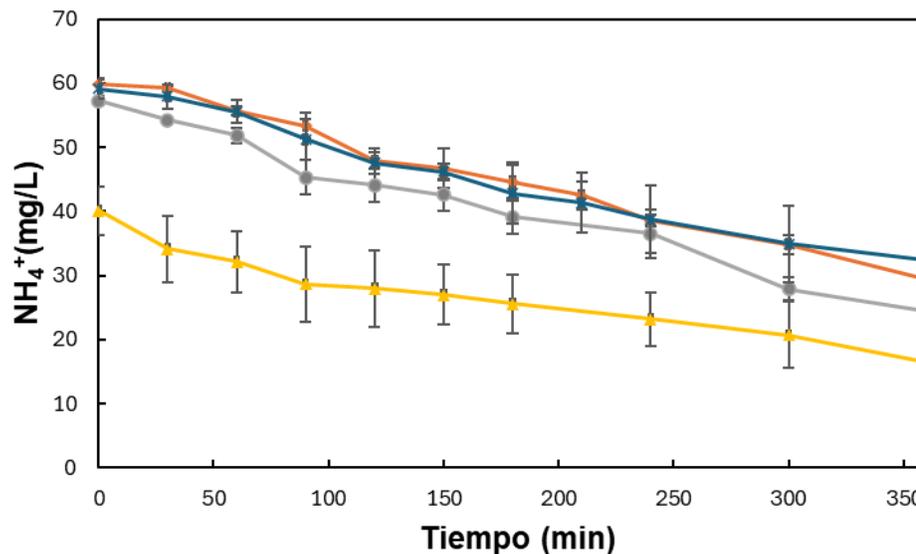


Figura 18. Cinética de consumo de NH_4^+ a diferentes relaciones LGA/MA, 80/20 (*), 70/30 (◆), 60/40 (●) y 50/50 (▲).

Con estos perfiles se calculó la velocidad de consumo de DQOs ($q\text{DQOs}$) y amonio ($q\text{NH}_4^+$) para cada relación. La tabla 13 muestra los resultados obtenidos, se puede

observar que el LGA al ser sometido a condiciones anóxicas se ve fuertemente afectado en su velocidad específica de consumo, la cual disminuye con respecto a la exposición del mismo cultivo bajo condiciones aerobias de 12.57 a 3.40 mg DQOs/mg-SSV día. Por otro lado, la presencia de microalgas mejoró ligeramente la velocidad de consumo de q_{DQOs} , alcanzando su valor máximo con la relación 60/40, 1.78 mg DQOs/L min, coincidiendo con la máxima $q_{NH_4^+}$, 0.09 mg NH_4^+ /L min. Esto indica que las microalgas proporcionaron oxígeno a los LGA.

El análisis estadístico no presentó diferencia significativa ($\alpha=0.829$) entre las medias de las velocidades de consumo de las diferentes relaciones probadas. La relación que presentó mayor velocidad de consumo de DQOS y NH_4^+ fue la relación 60/40, por lo cual se decidió utilizar esta proporción para el establecimiento fotobiorreactor.

Tabla 13. Velocidades de consumo de DQO y amonio en la cinética de LGA en condiciones anóxicas y las relaciones LGA/MA

MA/LGA	q_{DQO} (mg de DQO/ L·min)	$q_{NH_4^+}$ (mg de NH_4^+ /L·min)
LGA (aerobio)	16.07	—
LGA (anóxico)	1.44	0.070
80/20	1.41± 0.56	0.079±.009
70/30	1.53±0.02	0.087±.004
60/40	1.78±0.08	0.090±.041
50/50	1.56±.15	0.055±.007

La figura 19 muestra las micrografías para las distintas relaciones ensayadas. Se puede confirmar que la sintrofia se estableció a los 3 días de incubación en todas las relaciones LGA/MA.

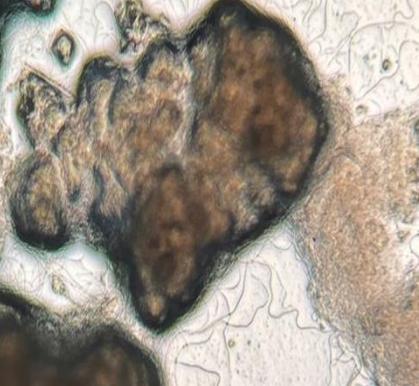
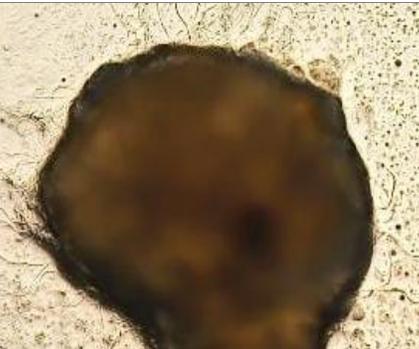
Relación LGA/MA	Día 1	Día 3
80/20	 Micrograph showing a dense, brownish, irregular mass on a light background, with some greenish structures at the bottom.	 Micrograph showing a dense, brownish mass with a network of fine, fibrous structures extending from the top right.
70/30	 Micrograph showing a large, dark brown, irregular mass with a blueish-green stain on the left side.	 Micrograph showing a dense, brownish mass with a network of fine, fibrous structures extending from the top left.
60/40	 Micrograph showing a large, dark brown, irregular mass on a light background.	 Micrograph showing a dense, brownish mass with a network of fine, fibrous structures extending from the top left.
50/50	 Micrograph showing a large, dark brown, irregular mass on a light background.	 Micrograph showing a dense, brownish mass with a network of fine, fibrous structures extending from the top left.

Figura 19. Micrografías relación LGA/MA por tres días de operación.

7.4 Establecimiento del consorcio LGA/ MA en un fotobiorreactor para la remoción de contaminantes en agua residual sintética

Como una etapa preliminar al arranque del fotobiorreactor se inocularon 4 matraces de 250 mL con la relación preseleccionada LGA/MA de 60/40 %. Esto se llevó a cabo con la finalidad de establecer la simbiosis en lote. Posteriormente, el cultivo simbiótico se utilizó como inóculo para arrancar un SBR de 400 mL de volumen útil, operado bajo las condiciones reportadas en la tabla 11.

En el arranque del fotobiorreactor se realizó un análisis cinético para evaluar la velocidad de consumo del cultivo simbiótico previamente establecido (Figura 20). Las eficiencias de remoción de DQOs y NH_4^+ de este cultivo fueron de 94.91 % y 98.51 %, y las velocidades q_{DQO} y $q_{\text{NH}_4^+}$ de 2.08 mg DQO/L·min y 0.08 mg de NH_4^+ /L·min, respectivamente. Estos resultados permitieron definir la carga que se aplicaría al reactor, la cual fue de 1.8 g-DQO/L·d, adicionalmente se monitoreo la concentración de oxígeno disuelto durante 6 horas de operación, observándose que en la etapa anóxica se alcanzó una concentración máxima de 4 mg-OD/L lo cual se le atribuye a la contribución de las microalgas.

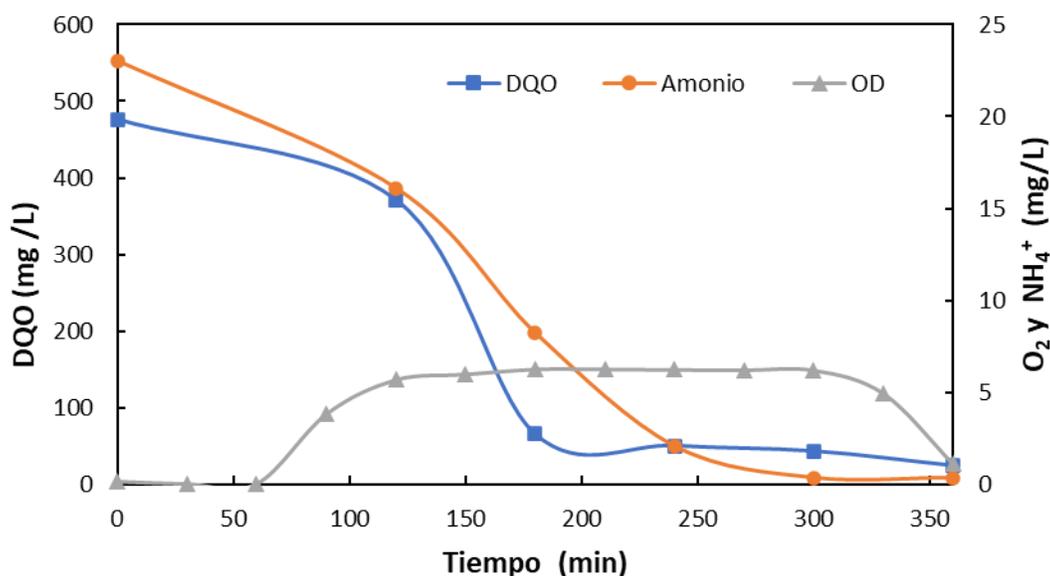


Figura 20. Perfil cinético de arranque, DQOs (■), amonio (●) y Oxígeno disuelto (▲) al arranque del fotobiorreactor simbiótico.

7.4.1 Eficiencia de remoción de contaminantes en el fotobiorreactor

El fotobiorreactor operó por un periodo de 45 días a dos cargas. En el arranque este fue alimentado con una carga orgánica de 1.8 g-DQO/L·d (Etapa 1, 30 días), con ciclos de operación de 6 horas (Tabla 11) que incluían dos etapas anóxicas y dos etapas aerobias. Bajo estas condiciones se registraron eficiencias de 91.35 % para DQOs y 94.84 % para NH_4^+ (Figura 21).

En el día 30 se aumentó la carga a 2.6 g DQOs/L d. Este incremento no afectó el desempeño del reactor, manteniéndose altas eficiencias de remoción, DQOs de 95.8 ± 3.9 % y NH_4^+ de 92.15 ± 3.13 %. Estos valores son cercanos a los reportados por Ji et al., (2020), quienes usaron acetato de sodio como fuente de carbono para alimentar un consorcio LGA/MA. Las altas eficiencias de remoción de amonio en este tipo de consorcios se deben a que tanto las microalgas y las bacterias heterótrofas pueden aprovecharlo, ya sea como fuente de electrones en el proceso de nitrificación o asimilándolo para el crecimiento de biomasa (Sepehri & Sarrafzadeh, 2018), por la baja concentración de NH_4^+ podemos inferir que la mayor parte de éste se utilizó para crecimiento para ambos grupos de microorganismos.

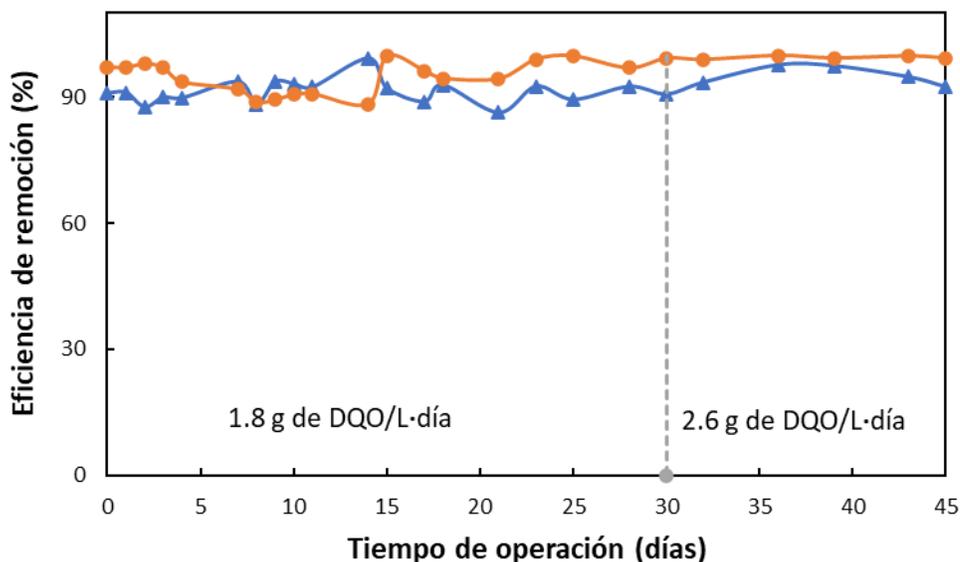


Figura 21. Eficiencias de remoción de contaminantes en el fotobiorreactor durante el tiempo de operación, DQO (▲) y amonio (●).

En los ciclos de operación se estableció una etapa anóxica y una aerobia, en ambas se evaluó la qDQOs, (Figura 22 a y b), se observa que la qDQOs en el periodo anóxico fue inferior a la registrada en la etapa aerobia, lo que indica que la mayor parte de la materia orgánica se removía en la etapa aerobia, A pesar de este comportamiento, la eficiencia de remoción no se vio afectada, manteniéndose en valores de 95.19 % y 99.43 %, respectivamente.

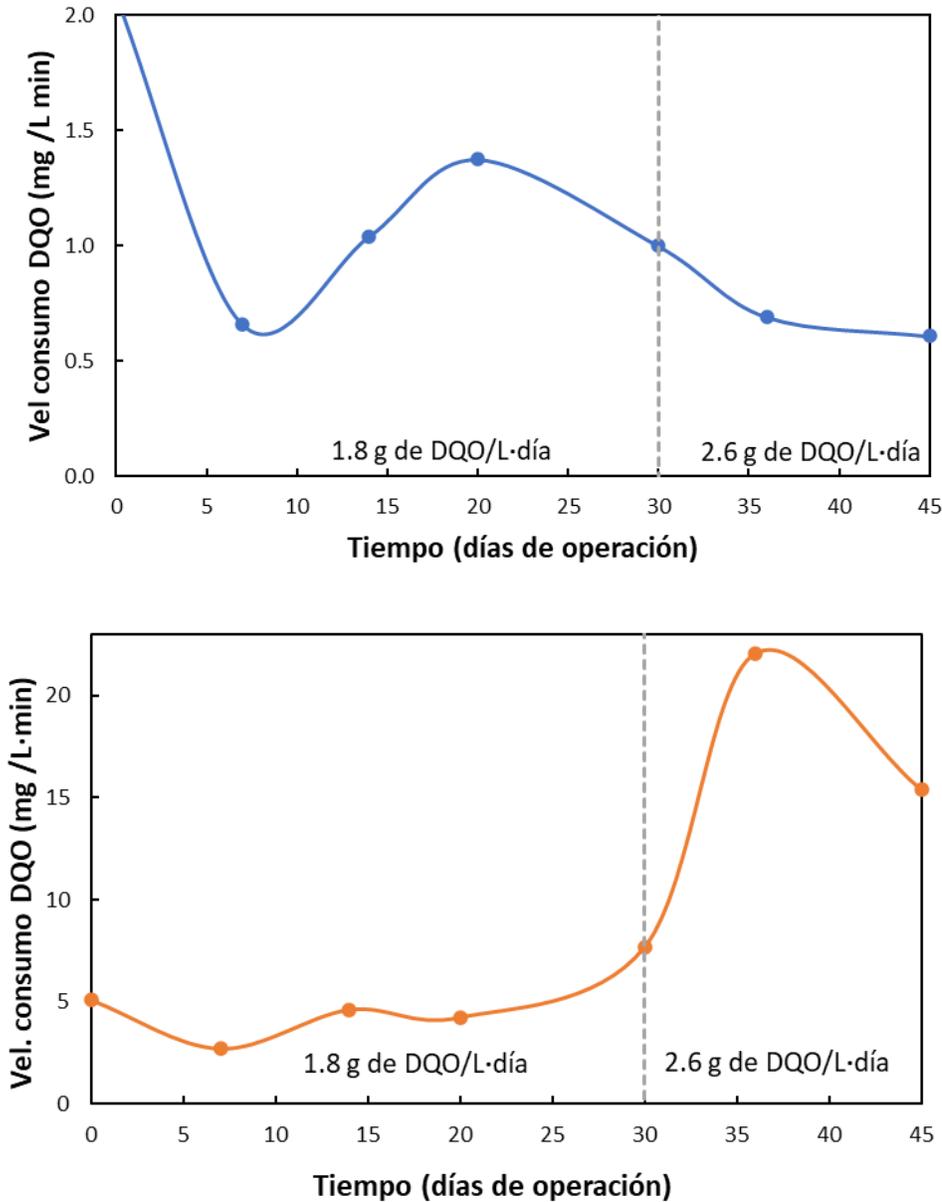


Figura 22. Velocidades de consumo de DQO, durante el periodo de operación, qDQOs en la etapa anóxica a) (●) DQO etapa aerobia b) (●).

En el día 30 de operación se aumentó la carga orgánica a 2.6 g de DQO/L·día, lo cual incrementó la q_{DQO} en la etapa aerobia y la disminuyó en la etapa anóxica, indicando que este aumento en la carga orgánica afectó la sintrofia pues las microalgas ya no estaban proporcionando el O_2 necesario para las bacterias.

7.4.2 Propiedades de la biomasa dentro del reactor

Durante la operación del fotobiorreactor se analizaron de forma periódica las propiedades físicas de la biomasa (Tabla 14). El periodo de operación se dividió en dos etapas, tomando como referencia las cargas aplicadas.

Durante la operación se evaluó la concentración de microalgas dentro del reactor y se comparó con la velocidad de consumo de DQOs (Figura 23). Como se puede observar en el gráfico las microalgas presentaron un aumento considerable en los primeros 10 días de operación, $4.7 \text{ E}+6/\text{mL}$, posteriormente presentó un decaimiento alcanzando un valor de $3 \text{ E}+6/\text{mL}$, recuperándose ligeramente al final de la segunda etapa para caer abruptamente hasta $1.4 \text{ E}+6/\text{mL}$. Esto se pudo deber a que las microalgas no se adaptaron a la nueva carga orgánica. Al disminuir la población algal, la cantidad de oxígeno no fue suficiente para el LGA, afectando la velocidad de consumo de DQOs, la cual alcanzó su valor máximo en el día 20 de operación ($1.37 \text{ mg DQOs/L min}$), y fue disminuyendo gradualmente hasta alcanzar un valor de $0.6 \text{ mg DQOs/L min}$.

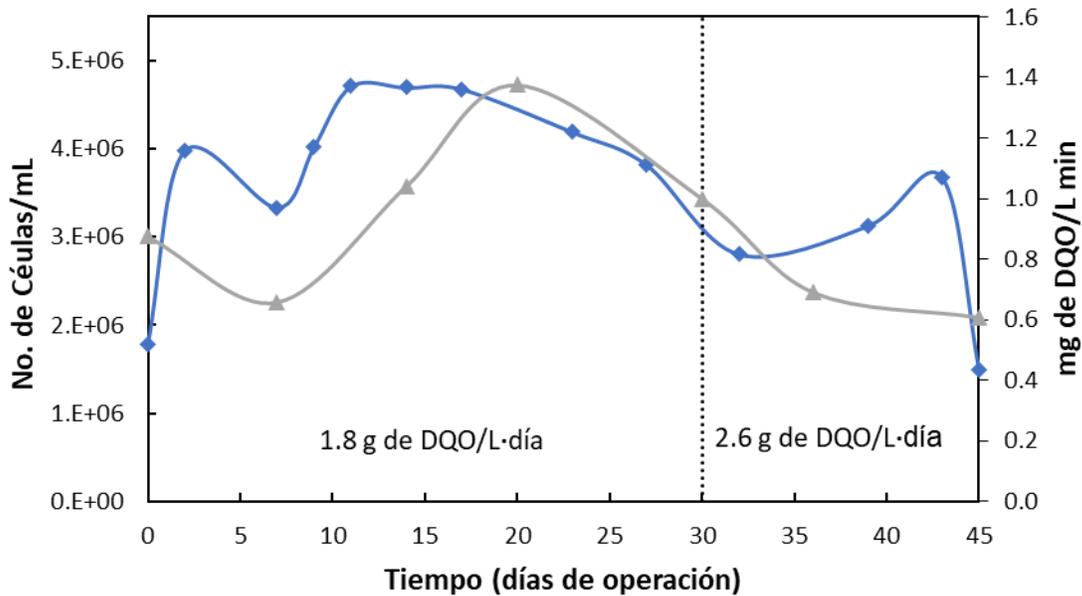


Figura 23. Perfil de concentración celular de MA y velocidad de consumo de DQO, MA (◆), velocidad de consumo DQO (▲)

Por otro lado, la biomasa total (LGA+MA) incrementó su concentración desde el arranque, la cual alcanzó una concentración máxima de 4.2 g-SSV/L a los 37 días de operación (Figura 24). Sin embargo, aproximadamente en el día 40 de operación la concentración de SSV disminuyó de manera considerable, hasta registrar un valor de 2.9 g-SSV/L. Esto se puede atribuir a la disminución en el conteo celular de microalgas, que afectó la sintrofia del consorcio, de tal forma que el O₂ producido por las microalgas en la etapa anóxica no fue suficiente para el sostenimiento del metabolismo oxidativo de las bacterias en los gránulos, lo cual generó un estrés que derivó en la disminución en la concentración de biomasa en el consorcio. En este sentido, Wang et al., (2020) también reportaron disminución en la biomasa durante en la fase del establecimiento de la sintrofia, utilizando microalgas autóctonas, en ciclos de operación con una etapa anóxica y una aerobia, atribuyendo la disminución de la biomasa al estrés generado por las condiciones de operación.

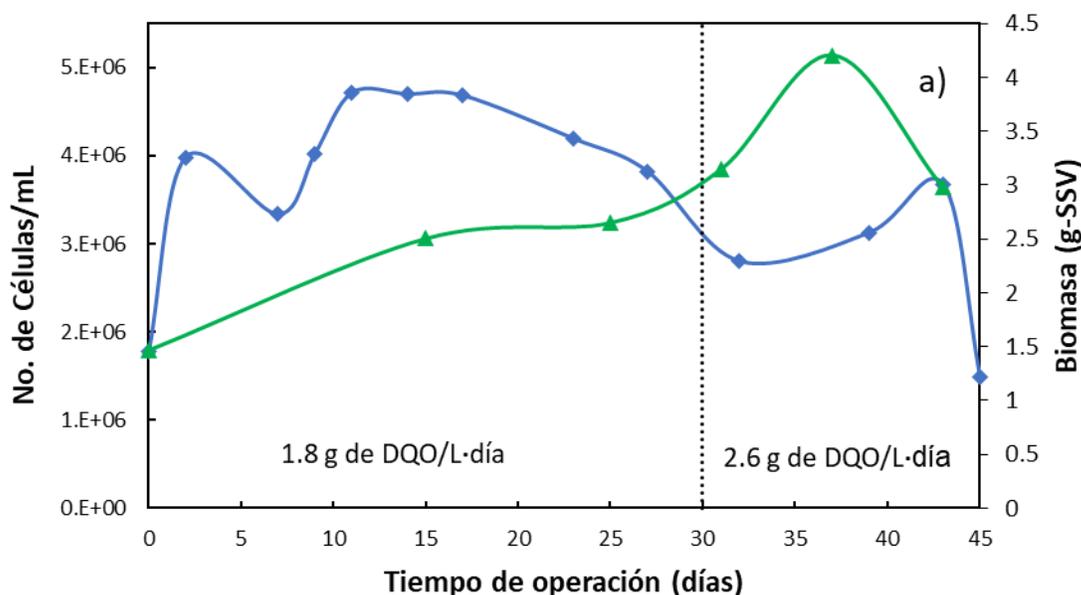


Figura 24. Biomasa dentro del reactor LGA/MA. No. de células (♦) y SSV (▲)

El reactor se inoculó con el cultivo sintrófico previamente establecido, con una concentración de 1.466 g-SSV/L (Tabla 14). La concentración inicial de EPS totales fue de 297.33 mg/g-SSV, la cual, está dentro del intervalo en lodos granulares. A lo largo del periodo de operación, las EPS presentaron una tendencia descendente, cayendo hasta un valor de 152.29 mg/g-SSV al final de la operación. Wang et al., (2020), reportaron un comportamiento similar en un consorcio MA/LGA con una concentración inicial de 241.80 ± 7.44 mg/g-SSV y al final un contenido de EPS de 184.80 ± 9.30 mg/g-SSV, lo cual lo atribuye a la disminución en la biomasa. Por tanto, en el presente estudio la disminución en la concentración de EPS se puede atribuir a la disminución en la concentración celular de microalgas.

Tabla 14. Características de consorcio LGA/MA

Parámetro	Valor inicial	Valor final
SSV (g/L)	1.466	2.9
EPS (SMP) (mg/g-SSV)	84.21	9.51
EPS (eEPS) (mg/g.SSV)	213.12	142.78
EPSt mg (mg/g-SSV)	297.33	152.29

En el gráfico (Figura 25) se puede observar que, en los primeros 15 días de operación, las EPS adheridas (eEPS) presentaron una disminución en su concentración de 213.12 a 92.50 mg/g-SSV, mientras que las solubles (SMP) se mantuvieron estables en 92.02 ± 11 mg/g-SSV. Posteriormente, aproximadamente en el día 18 de operación las SMP disminuyeron, cayendo hasta una concentración de 9.51 mg/g-SSV al final de la operación, mientras que las eEPS fueron aumentando para mantenerse constantes el resto de la operación en 134.66 ± 16.5 mg/g-SSV, este comportamiento favoreció al establecimiento de la simbiosis gracias a la adhesión de las células algales a la periferia de los gránulos, pues las EPS actuaron como pegamento favoreciendo el proceso de adhesión. Se ha reportado que las microalgas se adhieren a la periferia debido a que en esta zona están en contacto directo con la luz lo que les permite realizar la fotosíntesis (Jiang et al., 2022).

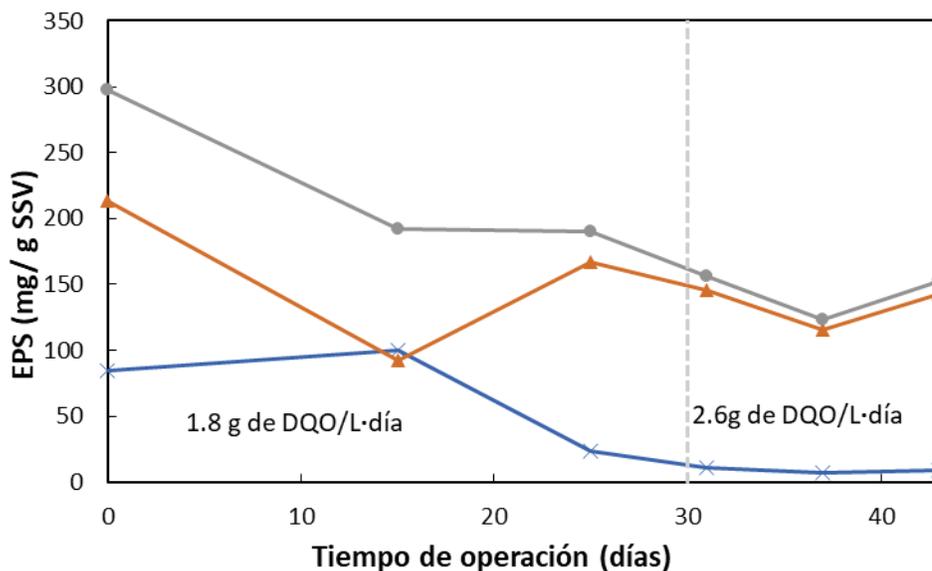


Figura 25. Sustancias poliméricas extracelulares (EPS) durante el periodo de operación, SMP (x), eEPS (▲) y EPS totales (●).

7.4.3 Acumulación de biopolímeros en el cultivo de *Nostoc*, LGA y consorcio LGA/MA

Se evaluó la acumulación de polihidroxibutirato (PHB) por gravimetría en el cultivo de *Nostoc* sp., en los LGA, en los cultivos sintróficos en lote y en el fotobiorreactor (Tabla 15). Se ha reportado que *Nostoc* sp. es una microalga con una eficiencia en acumulación de biopolímeros de hasta 8.6 % (PHB/PSC) (PSCpeso seco celular), cuando es cultivada en su medio básico (BG 11) (Bhati & Mallick, 2015). En este trabajo, el cultivo de microalgas presentó una acumulación de 9.73 % de PHB/PSC, este resultado es superior a lo reportado. Por otro lado, los lodos granulares presentaron un porcentaje de acumulación del 7.99 % PHB/PSC, lo cual está por debajo de lo reportado (Catherine et al., 2022), quienes obtuvieron un 20 %PHB/PSC en un cultivo de lodos granulares alimentado con acetato de sodio.

En los ensayos sintróficos en lote con una relación LGA/MA del 60/40 se obtuvo una acumulación de 16.64 % PHB/PSC, lo cual significa que el establecimiento de la sintrofia favorece la acumulación de biopolímero. Estos resultados coinciden con los reportados por Fradinho et al., (2013) quienes reportan una acumulación de PHB del 13.2 % PHB/PSC con un cultivo fotosintético microalga- bacteria, sin especificar la especie de microalga.

Al arranque en el fotorreactor (día 1-29) con una carga orgánica de 1.6 g de DQO/L·día se obtuvo una acumulación de PHB ligeramente inferior a la encontrada en los ensayos en lote, 10.01 % de PHB/PSC, lo cual puede ser atribuible al cambio de condiciones de operación. En el día 30 se incrementó la carga orgánica a 2.8 g de DQO/L·día, bajo estas condiciones se mejoró significativamente la producción de biopolímero alcanzado una acumulación de 21.35 % de PHB/PSC. Aunque el resultado fue favorable, en este periodo de tiempo (día 30-45), la concentración de MA disminuyó, *Nostoc* sp. no se adaptó al cambio en la carga orgánica, por tanto, la sintrofia ya no era estable, por lo que se puede atribuir la acumulación de PHA a los LGA.

Tabla 15. Acumulación de PHB en los cultivos

Muestra	% de PHB/PSC
Microalgas	9.73
LGA	7.99
Matraces (Lote) (60/40)	16.64
Fotobiorreactor sintrófico LGA/MA	
1.6 g de DQO/L·día	10.01
2.8 g de DQO/L·día	21.35

Se realizó la identificación de biopolímero mediante espectrometría de infrarrojo (Figura 26). En el espectro de IR se puede observar que las bandas características de Polihidroxibutirato son: el estiramiento del carbonilo del éster, el cual se encuentra alrededor de $1720-1740\text{ cm}^{-1}$, siendo esta la banda más distintiva, posteriormente los estiramientos simétrico y asimétrico del CH_2 se encuentran alrededor de 2850 y 2920 cm^{-1} respectivamente. Mientras que el estiramiento de CH_3 se encuentra alrededor de 2960 cm^{-1} . Por otro lado, las flexiones simétricas de CH_3 y asimétrica de CH_2 se encuentran alrededor de 1370 y 1450 cm^{-1} respectivamente, mientras que el esqueleto del éster presenta una banda entre 1050 y 1250 cm^{-1} (Larkin, 2017). Con estos resultados es posible confirmar que el biopolímero sintetizado fue el Polihidroxibutirato, además otros autores (Rojas Fernández et al., 2016; Sawant et al., 2014) hicieron identificación de PHB obteniendo espectros de IR similares al espectro obtenido (Figura 26).

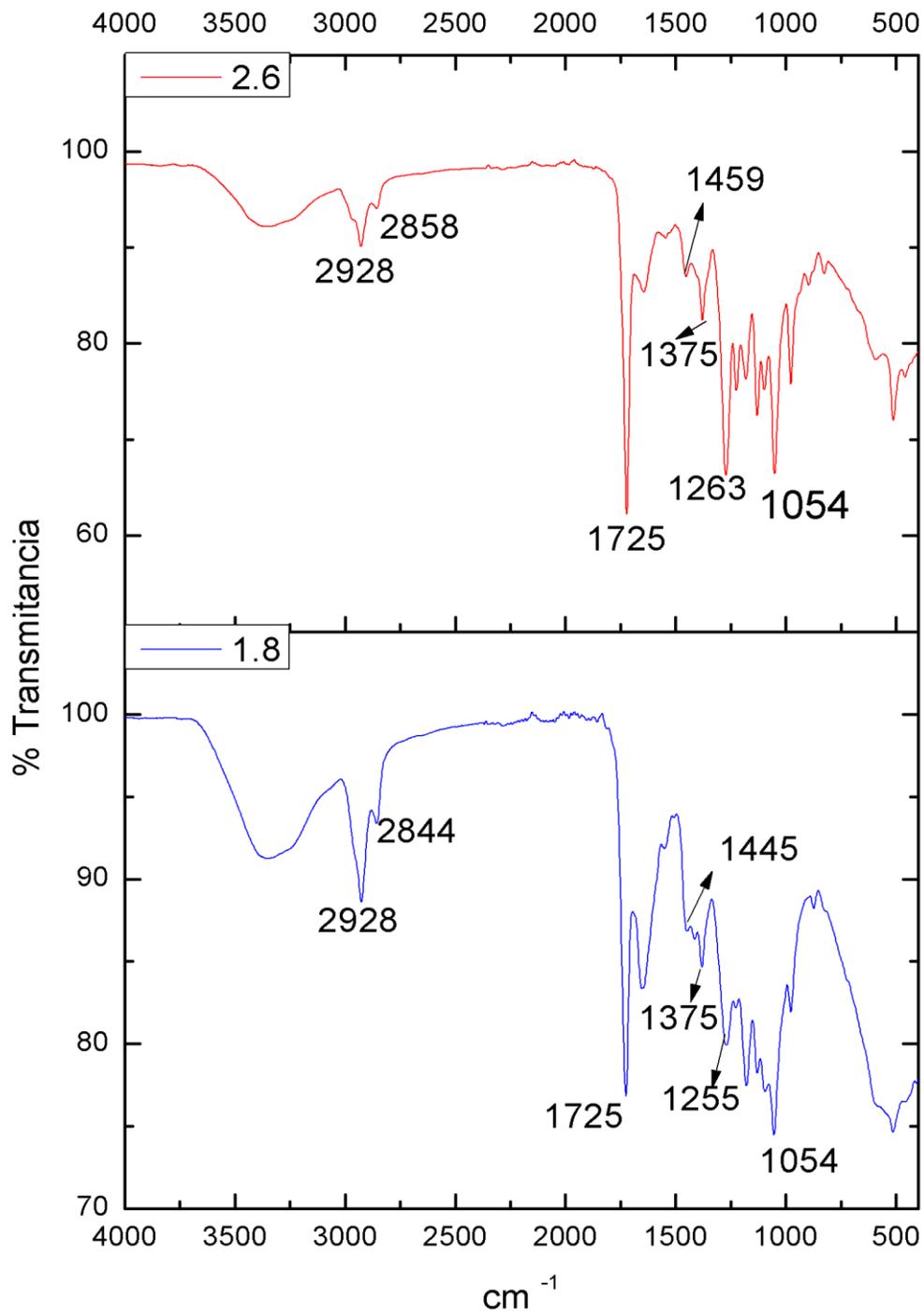


Figura 26. Espectros de IR para la identificación de PHB, carga orgánica 1.8 g de DQO/L·día (-), carga orgánica 2.6 g de DQO/L·día (-).

Conclusiones

Con la metodología implementada a partir de dos cultivos estables (LGA+ *Nostoc* sp) se consiguió el establecimiento de la simbiosis LGA/MA para el tratamiento de aguas residuales en un fotobiorreactor, identificando la adhesión de las células de microalgas a la superficie los lodos granulares al tercer día de operación, por tanto, esta es una estrategia eficaz para el establecimiento de consorcios LGA/MA

En todas las relaciones LGA/MA se logró establecer la simbiosis al tercer día de operación, sin embargo, la relación LGA/MA 60/40 fue la que presentó las mejores velocidades de consumo de DQOs y NH_4^+ , 1.78 mg de DQOs/L·min y 0.090 mg de NH_4^+ /L·min, lo que indicaba que a esta relación había mayor interacción entre microalgas y bacterias, por tanto, con este cultivo se inoculó el fotobiorreactor.

El fotobiorreactor presentó altas eficiencias de remoción de DQOs y NH_4^+ de 95.8 ± 3.9 % y NH_4^+ de 92.15 ± 3.13 % respectivamente, esto indicó el establecimiento de la simbiosis entre los LGA y *Nostoc* sp., sin embargo, al aumentar la carga orgánica la simbiosis se vio afectada, aunque la eficiencia de remoción permaneció arriba del 90 % tanto para DQOs como para NH_4^+ .

En la evaluación de la acumulación de PHB en los diferentes cultivos; para *Nostoc* sp. se obtuvo una eficiencia de 9.73 %PHB/PS mostrando así que esta cianobacteria es eficiente para la acumulación de PHB, por otro lado el cultivo de LGA presentó una acumulación de 7.99 %PHB/PSC lo cual es un bajo rendimiento para este tipo de cultivos, sin embargo, el cultivo simbiótico LGA/MA demostró que la interacción entre MA y LGA favorece la acumulación de biopolímeros presentando una acumulación máxima de PHB de 21.35 %PHB/PSC.

Recomendaciones

Mejorar el diseño del fotobiorreactor, aumentando la relación altura diámetro para asegurar que, aun teniendo un bajo flujo de aireación, éste permita que la biomasa dentro del reactor permanezca homogénea durante el periodo aerobio y de esta forma las microalgas estarían expuestas a la luz de manera uniforme promoviendo así el establecimiento de la sintrofía, además, instalar la fuente de luz de manera que se asegure que la difusión será homogénea.

Arrancar el reactor con lodos activados y *Nostoc* sp, para que mediante el proceso de granulación la cianobacteria se adapte al medio además que mediante las presiones de selección el estrés generado en los microorganismos podría beneficiar al establecimiento de la sintrofía mediante la producción de EPS, por otra parte, el establecimiento de largos periodos de ayuno para inducir a la granulación aumentaría la acumulación de PHB de manera simultánea.

Operar el fotobiorreactor con aguas residuales reales resultaría de gran interés pues se demostró que el cultivo granular LGA/MA presentó buena eficiencia en remoción tanto de DQO como de NH_4^+ .

Realizar análisis metabolómicos para identificar el intercambio de metabolitos que ocurre por la sintrofía entre bacterias y microalgas.

Referencias

- Alves De Oliveira, C., De Castro Oliveira, W., Machado, S., Ribeiro, R., Stringheta, P. C., & Galvão Do Nascimento, A. (2014). EFFECT OF LIGHT INTENSITY ON THE PRODUCTION OF PIGMENTS IN NOSTOC SPP. In *European Journal of Biology and Medical Science Research* (Vol. 2, Issue 1). www.ea-journals.org
- Arcila, J. S., & Buitrón, G. (2016). Microalgae-bacteria aggregates: effect of the hydraulic retention time on the municipal wastewater treatment, biomass settleability and methane potential. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 91(11), 2862–2870. <https://doi.org/10.1002/jctb.4901>
- Arredondo Vega, B. O. , C. E. B. , H. C. y A. J. (1997). *Manual de Técnicas Bioquímicas Aplicadas en Ficología. Manual de Prácticas del I er. Curso Teórico Práctico: Aplicaciones Biotecnológicas del Cultivo de Microalgas. .*
- Baird, Rodger., Eaton, A. D. ., Rice, E. W. ., & Bridgewater, Laura. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association.
- Baker, B. R., Mohamed, R., Al-Gheethi, A., & Aziz, H. A. (2021). Advanced technologies for poultry slaughterhouse wastewater treatment: A systematic review. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 42(6), 880–899. <https://doi.org/10.1080/01932691.2020.1721007>
- Basheva, D., Moten, D., Stoyanov, P., Belkinova, D., Mladenov, R., & Teneva, I. (2018). Content of phycoerythrin, phycocyanin, allophycocyanin and phycoerythrocyanin in some cyanobacterial strains: Applications. *Engineering in Life Sciences*, 18(11), 861–866. <https://doi.org/10.1002/elsc.201800035>
- Berger, M., & Finkbeiner, M. (2010). Water Footprinting: How to Address Water Use in Life Cycle Assessment? *Sustainability*, 2(4), 919–944. <https://doi.org/10.3390/su2040919>
- Bhati, R., & Mallick, N. (2015). Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) copolymer production by the diazotrophic cyanobacterium *Nostoc muscorum* Agardh: Process optimization and polymer characterization. *Algal Research*, 7, 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2014.12.003>
- Carlozzi, P., Giovannelli, A., Traversi, M. L., Touloupakis, E., & Di Lorenzo, T. (2019). Poly-3-hydroxybutyrate and H₂ production by *Rhodospseudomonas* sp. S16-VOGS3 grown in a new generation photobioreactor under single or combined nutrient deficiency. *International Journal of Biological Macromolecules*, 135, 821–828. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.220>
- Caroppo, C., & Pagliara, P. (2022). Microalgae: A Promising Future. In *Microorganisms* (Vol. 10, Issue 8). MDPI. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10081488>
- Catherine, M.-C., Guwy, A., & Massanet-Nicolau, J. (2022). Effect of acetate concentration, temperature, pH and nutrient concentration on polyhydroxyalkanoates (PHA) production by glycogen accumulating organisms.

- Bioresource Technology Reports*, 20, 101226.
<https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101226>
- Costa, S. S., Miranda, A. L., de Moraes, M. G., Costa, J. A. V., & Druzian, J. I. (2019). Microalgae as source of polyhydroxyalkanoates (PHAs) — A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 131, 536–547.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.099>
- De Donno Novelli, L., Moreno Sayavedra, S., & Rene, E. R. (2021). Polyhydroxyalkanoate (PHA) production via resource recovery from industrial waste streams: A review of techniques and perspectives. In *Bioresource Technology* (Vol. 331). Elsevier Ltd.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124985>
- De Kreuk, M. K., Heijnen, J. J., & Van Loosdrecht, M. C. M. (2005). Simultaneous COD, nitrogen, and phosphate removal by aerobic granular sludge. *Biotechnology and Bioengineering*, 90(6), 761–769.
<https://doi.org/10.1002/bit.20470>
- Dong, X., Zhao, Z., Yang, X., Lei, Z., Shimizu, K., Zhang, Z., & Lee, D.-J. (2021). Response and recovery of mature algal-bacterial aerobic granular sludge to sudden salinity disturbance in influent wastewater: Granule characteristics and nutrients removal/accumulation. *Bioresource Technology*, 321, 124492.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124492>
- Dutta, A., & Sarkar, S. (2015). Sequencing Batch Reactor for Wastewater Treatment: Recent Advances. *Current Pollution Reports*, 1(3), 177–190.
<https://doi.org/10.1007/s40726-015-0016-y>
- El-Sheekh, M. M., El-Shouny, W. A., Osman, M. E., & El-Gammal, E. W. (2014). Treatment of sewage and industrial wastewater effluents by the cyanobacteria *Nostoc muscorum* and *Anabaena subcylindrica*. *Journal of Water Chemistry and Technology*, 36(4), 190–197. <https://doi.org/10.3103/S1063455X14040079>
- Fallahi, A., Rezvani, F., Asgharnejad, H., Khorshidi, E., Hajinajaf, N., & Higgins, B. (2021). Interactions of microalgae-bacteria consortia for nutrient removal from wastewater: A review. In *Chemosphere* (Vol. 272). Elsevier Ltd.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129878>
- Fradinho, J. C., Domingos, J. M. B., Carvalho, G., Oehmen, A., & Reis, M. A. M. (2013). Polyhydroxyalkanoates production by a mixed photosynthetic consortium of bacteria and algae. *Bioresource Technology*, 132, 146–153.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.050>
- Fuentes, J., Garbayo, I., Cuaresma, M., Montero, Z., González-del-Valle, M., & Vilchez, C. (2016). Impact of Microalgae-Bacteria Interactions on the Production of Algal Biomass and Associated Compounds. *Marine Drugs*, 14(5), 100.
<https://doi.org/10.3390/md14050100>

- Gobi, K., & Vadivelu, V. M. (2015). Dynamics of polyhydroxyalkanoate accumulation in aerobic granules during the growth–disintegration cycle. *Bioresource Technology*, *196*, 731–735. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.083>
- Guerra-Blanco, P., Cortes, O., Poznyak, T., Chairez, I., & García-Peña, E. I. (2018). Polyhydroxyalkanoates (PHA) production by photoheterotrophic microbial consortia: Effect of culture conditions over microbial population and biopolymer yield and composition. *European Polymer Journal*, *98*, 94–104. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.11.007>
- Guo, D., Zhang, X., Shi, Y., Cui, B., Fan, J., Ji, B., & Yuan, J. (2021). Microalgal-bacterial granular sludge process outperformed aerobic granular sludge process in municipal wastewater treatment with less carbon dioxide emissions. *Environmental Science and Pollution Research*, *28*(11), 13616–13623. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11565-7>
- Hamza, R., Rabii, A., Ezzahraoui, F., Morgan, G., & Iorhemen, O. T. (2022). A review of the state of development of aerobic granular sludge technology over the last 20 years: Full-scale applications and resource recovery. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, *5*, 100173. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2021.100173>
- Han, X., Jin, Y., & Yu, J. (2022). Rapid formation of aerobic granular sludge by bioaugmentation technology: A review. In *Chemical Engineering Journal* (Vol. 437). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.134971>
- Huang, W., Li, B., Zhang, C., Zhang, Z., Lei, Z., Lu, B., & Zhou, B. (2015). Effect of algae growth on aerobic granulation and nutrients removal from synthetic wastewater by using sequencing batch reactors. *Bioresource Technology*, *179*, 187–192. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.024>
- Ji, B., Zhang, M., Gu, J., Ma, Y., & Liu, Y. (2020). A self-sustaining synergetic microalgal-bacterial granular sludge process towards energy-efficient and environmentally sustainable municipal wastewater treatment. *Water Research*, *179*, 115884. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115884>
- Jia, H., & Yuan, Q. (2018). Ammonium removal using algae–bacteria consortia: the effect of ammonium concentration, algae biomass, and light. *Biodegradation*, *29*(2), 105–115. <https://doi.org/10.1007/s10532-017-9816-7>
- Jiang, Q., Chen, H., Fu, Z., Fu, X., Wang, J., Liang, Y., Yin, H., Yang, J., Jiang, J., Yang, X., Wang, H., Liu, Z., & Su, R. (2022). Current Progress, Challenges and Perspectives in the Microalgal-Bacterial Aerobic Granular Sludge Process: A Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *19*(21), 13950. <https://doi.org/10.3390/ijerph192113950>
- Kant Bhatia, S., Ahuja, V., Chandel, N., Mehariya, S., Kumar, P., Vinayak, V., Saratale, G. D., Raj, T., Kim, S.-H., & Yang, Y.-H. (2022). An overview on microalgal-bacterial granular consortia for resource recovery and wastewater treatment. *Bioresource Technology*, *351*, 127028. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127028>

- Kouzuma, A., Kato, S., & Watanabe, K. (2015). Microbial interspecies interactions: Recent findings in syntrophic consortia. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 6, Issue MAY). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00477>
- Larkin, P. (2017). *Infrared and Raman Spectroscopy: Principles and Spectral Interpretation*. Elsevier.
- Le-clech, P., Chen, V., & Fane, T. A. G. (2006). Fouling in membrane bioreactors used in wastewater treatment. *Journal of Membrane Science*, 284, 17–53. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2006.08.019>
- Le-Clech, P., Chen, V., & Fane, T. A. G. (2006). Fouling in membrane bioreactors used in wastewater treatment. In *Journal of Membrane Science* (Vol. 284, Issues 1–2, pp. 17–53). <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2006.08.019>
- Liu, H., VanderGheynst, J. S., Darby, J. L., Thompson, D. E., Green, P. G., & Loge, F. J. (2011). Factorial Experimental Designs for Enhancement of Concurrent Poly(Hydroxyalkanoate) Production and Brewery Wastewater Treatment. *Water Environment Research*, 83(1), 36–43. <https://doi.org/10.2175/106143010X12681059116932>
- Liu, J., Han, X., Zhu, X., Li, J., Zhong, D., Wei, L., & Liang, H. (2023). A systemic evaluation of aerobic granular sludge among granulation, operation, storage, and reactivation processes in an SBR. *Environmental Research*, 235, 116594. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116594>
- Liu, J., Wu, Y., Wu, C., Muylaert, K., Vyverman, W., Yu, H.-Q., Muñoz, R., & Rittmann, B. (2017). Advanced nutrient removal from surface water by a consortium of attached microalgae and bacteria: A review. *Bioresour Technol*, 241, 1127–1137. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.054>
- Liu, X., Pei, Q., Han, H., Yin, H., Chen, M., Guo, C., Li, J., & Qiu, H. (2022). Functional analysis of extracellular polymeric substances (EPS) during the granulation of aerobic sludge: Relationship among EPS, granulation and nutrients removal. *Environmental Research*, 208, 112692. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.112692>
- Liu, Y. Q., Liu, Y., & Tay, J. H. (2004). The effects of extracellular polymeric substances on the formation and stability of biogranules. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 65, Issue 2, pp. 143–148). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1657-8>
- López-Patiño, A. M., Cárdenas-Orrego, A., Torres, A. F., Navarrete, D., Champagne, P., & Ochoa-Herrera, V. (2024). Native microalgal-bacterial consortia from the Ecuadorian Amazon region: an alternative to domestic wastewater treatment. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1338547>
- Mannina, G., Presti, D., Montiel-Jarillo, G., Carrera, J., & Suárez-Ojeda, M. E. (2020). Recovery of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from wastewater: A review.

- Bioresource Technology*, 297, 122478.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122478>
- Martins, R. G., Gonçalves, I. S., Morais, M. G. de, & Costa, J. A. V. (2017). New technologies from the bioworld: selection of biopolymer-producing microalgae. *Polímeros*, 27(4), 285–289. <https://doi.org/10.1590/0104-1428.2375>
- Montiel-Corona, V., Revah, S., & Morales, M. (2015). Hydrogen production by an enriched photoheterotrophic culture using dark fermentation effluent as substrate: Effect of flushing method, bicarbonate addition, and outdoor–indoor conditions. *International Journal of Hydrogen Energy*, 40(30), 9096–9105. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2015.05.067>
- Motlagh, A. M., & Goel, R. K. (2014). Sustainability of Activated Sludge Processes. In *Water Reclamation and Sustainability* (pp. 391–414). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411645-0.00016-X>
- Mouga, T., Pereira, J., Moreira, V., & Afonso, C. (2024). Unveiling the Cultivation of *Nostoc* sp. under Controlled Laboratory Conditions. *Biology*, 13(5), 306. <https://doi.org/10.3390/biology13050306>
- Nancharaiah, Y. V., & Kiran Kumar Reddy, G. (2018). Aerobic granular sludge technology: Mechanisms of granulation and biotechnological applications. *Bioresource Technology*, 247, 1128–1143. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.131>
- Nematollahi, M., Jalali-Arani, A., Golzar, K., & Modarress, H. (2020). Investigation of nanoparticle–polymer interaction in bio-based nanosilica-filled PLA/NR nanocomposites: molecular dynamics simulation. *Journal of Molecular Modeling*, 26(9), 230. <https://doi.org/10.1007/s00894-020-04431-3>
- Papadopoulos, K., Economou, C., Markou, G., Nicodemou, A., Koutinas, M., Tekerlekopoulou, A., & Vayenas, D. (2022). Cultivation of *Arthrospira platensis* in Brewery Wastewater. *Water*, 14(10), 1547. <https://doi.org/10.3390/w14101547>
- Pishbin, M., Sarrafzadeh, M.-H., & Faramarzi, M. A. (2021). Nitrate and Phosphate Removal Efficiency of *Synechococcus elongatus* Under Mixotrophic and Heterotrophic Conditions for Wastewater Treatment. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions of Civil Engineering*, 45(3), 1831–1843. <https://doi.org/10.1007/s40996-020-00514-6>
- Plöhn, M., Spain, O., Sirin, S., Silva, M., Escudero-Oñate, C., Ferrando-Climent, L., Allahverdiyeva, Y., & Funk, C. (2021). Wastewater treatment by microalgae. *Physiologia Plantarum*, 173(2), 568–578. <https://doi.org/10.1111/ppl.13427>
- Pronk, M., Abbas, B., Al-zuhairy, S. H. K., Kraan, R., Kleerebezem, R., & van Loosdrecht, M. C. M. (2015). Effect and behaviour of different substrates in relation to the formation of aerobic granular sludge. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(12), 5257–5268. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6358-3>
- Purba, L. D. A., Ibiyeye, H. T., Yuzir, A., Mohamad, S. E., Iwamoto, K., Zamyadi, A., & Abdullah, N. (2020). Various applications of aerobic granular sludge: A review.

- In *Environmental Technology and Innovation* (Vol. 20). Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101045>
- Qian, X., Chen, L., Sui, Y., Chen, C., Zhang, W., Zhou, J., Dong, W., Jiang, M., Xin, F., & Ochsenreither, K. (2020). Biotechnological potential and applications of microbial consortia. *Biotechnology Advances*, *40*, 107500.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107500>
- Ranjit, P., Jhansi, V., & Reddy, K. V. (2021). *Conventional Wastewater Treatment Processes* (pp. 455–479). https://doi.org/10.1007/978-981-15-8999-7_17
- Richmond, A. , & H. Q. (n.d.). *Handbook of microalgal culture: Applied phycology and biotechnology*. (Wiley-Blackwell, Ed.; 2nd ed.).
- Rojas fernández, E., Hoyos Concha, J. L., & Mosquera Sánchez, S. A. (2016). PRODUCCIÓN DE POLIHIDROXIALCANOATOS(PHAs) A PARTIR DE *Ralstonia eutropha* EN UN MEDIO CON HARINA DE YUCA COMO FUENTE DE CARBONO. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, *14*(1), 19. [https://doi.org/10.18684/BSAA\(14\)19-26](https://doi.org/10.18684/BSAA(14)19-26)
- Rout, P. R., Dash, R. R., Bhunia, P., Lee, E., & Bae, J. (2021). Comparison between a single unit bioreactor and an integrated bioreactor for nutrient removal from domestic wastewater. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, *48*, 101620. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2021.101620>
- Sabapathy, P. C., Devaraj, S., Meixner, K., Anburajan, P., Kathirvel, P., Ravikumar, Y., Zabed, H. M., & Qi, X. (2020). Recent developments in Polyhydroxyalkanoates (PHAs) production – A review. *Bioresource Technology*, *306*, 123132. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123132>
- Sangamner, R., Misra, T., Bherwani, H., Kapley, A., & Kumar, R. (2023). A critical review of conventional and emerging wastewater treatment technologies. *Sustainable Water Resources Management*, *9*(2).
<https://doi.org/10.1007/s40899-023-00829-y>
- Santos, C. A., & Reis, A. (2014). Microalgal symbiosis in biotechnology. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 98, Issue 13, pp. 5839–5846). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5764-x>
- Sawant, S. S., Salunke, B. K., & Kim, B. S. (2014). A Laboratory Case Study of Efficient Polyhydroxyalkanoates Production by *Bacillus cereus*, a Contaminant in *Saccharophagus degradans* ATCC 43961 in Minimal Sea Salt Media. *Current Microbiology*, *69*(6), 832–838. <https://doi.org/10.1007/s00284-014-0664-y>
- Sebastian, J., Kumar, P., Hegde, K., Brar, S. K., Verma, M., & Surampalli, R. Y. (2020). Sustainability and Energy Management in Facilities for Wastewater Treatment and Reuse. In *Sustainability* (pp. 553–581). Wiley.
<https://doi.org/10.1002/9781119434016.ch26>
- Semaha, P., Lei, Z., Yuan, T., Zhang, Z., & Shimizu, K. (2023). Transition of biological wastewater treatment from flocculent activated sludge to granular sludge

- systems towards circular economy. *Bioresource Technology Reports*, 21, 101294. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101294>
- Sepehri, A., & Sarrafzadeh, M.-H. (2018). Effect of nitrifiers community on fouling mitigation and nitrification efficiency in a membrane bioreactor. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 128, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2018.04.006>
- Serafim, L. S., Lemos, P. C., Oliveira, R., & Reis, M. A. M. (2004). Optimization of polyhydroxybutyrate production by mixed cultures submitted to aerobic dynamic feeding conditions. *Biotechnology and Bioengineering*, 87(2), 145–160. <https://doi.org/10.1002/bit.20085>
- Shameem, K. S., & Sabumon, P. C. (2023). A Review on the Stability, Sustainability, Storage and Rejuvenation of Aerobic Granular Sludge for Wastewater Treatment. *Water*, 15(5), 950. <https://doi.org/10.3390/w15050950>
- Shetye, L., & Mendhulkar, V. D. (2022a). Environment improvement through valorization of organic industrial waste by synthesis of poly- β -hydroxybutyrate (PHB) using *Synechococcus elongatus*. *Vegetos*, 36(3), 1025–1036. <https://doi.org/10.1007/s42535-022-00486-0>
- Shetye, L., & Mendhulkar, V. D. (2022b). Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) synthesis in *Nostoc muscorum* from biodiesel industry waste: a sustainable model of bioplastic production. *Journal of Applied Phycology*, 34(3), 1377–1387. <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02716-z>
- Shi, Y., & Liu, Y. (2021). Evolution of extracellular polymeric substances (EPS) in aerobic sludge granulation: Composition, adherence and viscoelastic properties. *Chemosphere*, 262, 128033. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128033>
- Silambarasan, S., Logeswari, P., Sivaramakrishnan, R., Incharoensakdi, A., Cornejo, P., Kamaraj, B., & Chi, N. T. L. (2021). Removal of nutrients from domestic wastewater by microalgae coupled to lipid augmentation for biodiesel production and influence of deoiled algal biomass as biofertilizer for *Solanum lycopersicum* cultivation. *Chemosphere*, 268, 129323. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129323>
- Snowden-Swan, L. J., Zhu, Y., Bearden, M. D., Seiple, T. E., Jones, S. B., Schmidt, A. J., Billing, J. M., Hallen, R. T., Hart, T. R., Liu, J., Albrecht, K. O., Fox, S. P., Maupin, G. D., & Elliott, D. C. (2017). *Conceptual Biorefinery Design and Research Targeted for 2022: Hydrothermal Liquefaction Processing of Wet Waste to Fuels*. <https://doi.org/10.2172/1415710>
- Spring, Ú. O., & Cohen, I. S. (2012). *Water Resources in Mexico: A Conceptual Introduction* (pp. 3–17). https://doi.org/10.1007/978-3-642-05432-7_1
- Su, Y., Mennerich, A., & Urban, B. (2012). Synergistic cooperation between wastewater-born algae and activated sludge for wastewater treatment: Influence

- of algae and sludge inoculation ratios. *Bioresource Technology*, 105, 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.11.113>
- Tanweer, S., & Panda, B. (2020). Prospect of *Synechocystis* sp. PCC 6803 for synthesis of poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate). *Algal Research*, 50, 101994. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101994>
- Trentin, G., Bertucco, A., & Sforza, E. (2019). Mixotrophy in *Synechocystis* sp. for the treatment of wastewater with high nutrient content: effect of CO₂ and light. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 42(10), 1661–1669. <https://doi.org/10.1007/s00449-019-02162-1>
- Valdes Ramos, A., Aguilera Gonzalez, E. N., Tobón Echeverri, G., Samaniego Moreno, L., Díaz Jiménez, L., & Carlos Hernández, S. (2019). Potential Uses of Treated Municipal Wastewater in a Semiarid Region of Mexico. *Sustainability*, 11(8), 2217. <https://doi.org/10.3390/su11082217>
- Wan, C., Fu, L., Li, Z., Liu, X., Lin, L., & Wu, C. (2022). Formation, application, and storage-reactivation of aerobic granular sludge: A review. In *Journal of Environmental Management* (Vol. 323). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116302>
- Wang, J., Lei, Z., Wei, Y., Wang, Q., Tian, C., Shimizu, K., Zhang, Z., Adachi, Y., & Lee, D.-J. (2020). Behavior of algal-bacterial granular sludge in a novel closed photo-sequencing batch reactor under no external O₂ supply. *Bioresource Technology*, 318, 124190. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124190>
- Wang, L., Liang, W., Chen, W., Zhang, W., Mo, J., Liang, K., Tang, B., Zheng, Y., & Jiang, F. (2018). Integrated aerobic granular sludge and membrane process for enabling municipal wastewater treatment and reuse water production. *Chemical Engineering Journal*, 337, 300–311. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.12.078>
- Wang, X., & Hong, Y. (2022). Microalgae Biofilm and Bacteria Symbiosis in Nutrient Removal and Carbon Fixation from Wastewater: a Review. *Current Pollution Reports*, 8(2), 128–146. <https://doi.org/10.1007/s40726-022-00214-x>
- Winnacker, M. (2019). Polyhydroxyalkanoates: Recent Advances in Their Synthesis and Applications. In *European Journal of Lipid Science and Technology* (Vol. 121, Issue 11). Wiley-VCH Verlag. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201900101>
- Zhang, B., Li, W., Guo, Y., Zhang, Z., Shi, W., Cui, F., Lens, P. N. L., & Tay, J. H. (2020). Microalgal-bacterial consortia: From interspecies interactions to biotechnological applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 118, 109563. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109563>
- Zhang, C., Li, S., & Ho, S.-H. (2021). Converting nitrogen and phosphorus wastewater into bioenergy using microalgae-bacteria consortia: A critical review. *Bioresource Technology*, 342, 126056. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126056>

Anexos

Anexo 1. Medio Ácido Húmico de Lombriz (AC-H)

Tabla I. Medio Ácido Húmico de Lombriz (AC-H)

COMPONENTE	CANTIDAD (ppm)	COMPONENTE	CANTIDAD (ppm)
Materia Orgánica	60.12	Ácidos húmico y fúlvico	17.80
Nitrógeno total (N)	8.68	Potasio asimilable (K ₂ O)	3.27
Fosforo asimilable (P ₂ O ₅)	2.5	Calcio	7.21
Fito reguladores naturales	600	Magnesio	0.48
Azufre	3100	Fierro	1500
Zinc	70	Manganeso	1500
Cobre	152	Boro	30
Molibdeno	50	Cobalto	2

A 1L de agua esterilizada se le agregaron 5 ml de Ácido Húmico de Lombriz

Anexo 2. Técnicas analíticas

2.1 Concentración celular

Tasas de crecimiento

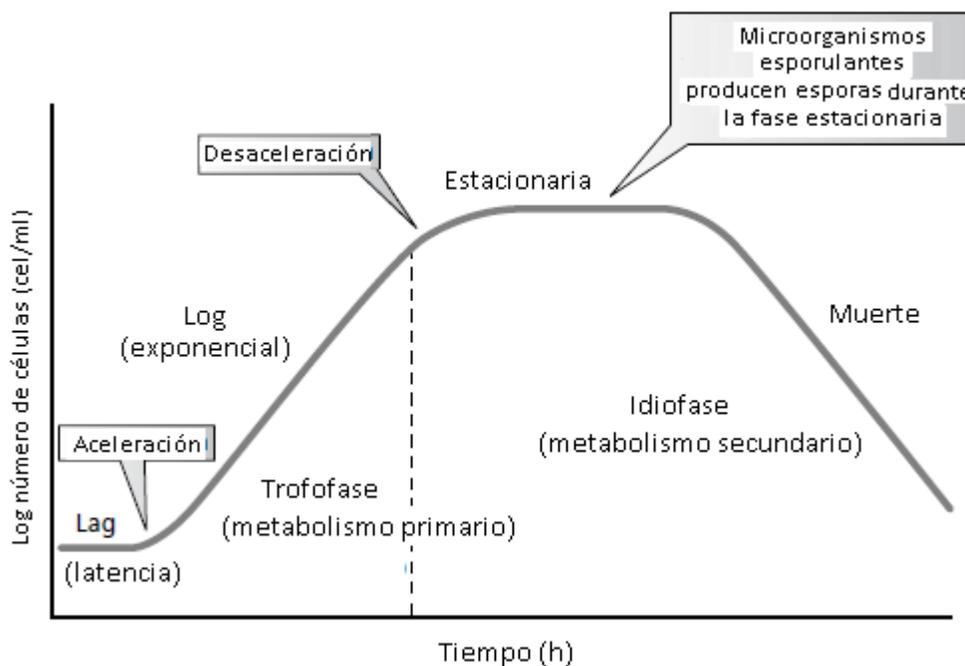


Figura I. Fases de crecimiento celular (Martínez, 2010).

Para las cianobacterias se utilizará la cámara Sedgwick-Rafter que consta de un portaobjetos con una regilla de 20 columnas y 50 líneas.

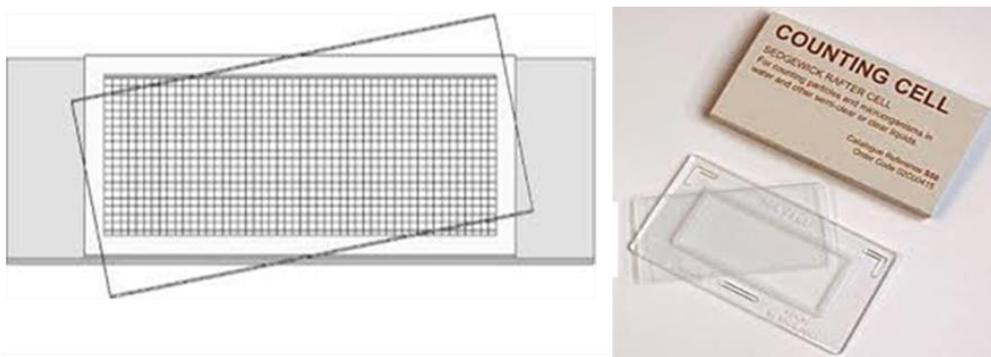


Figura II. Cámara de Sedgwick-Rafter a detalle.

La concentración celular en la cámara de Sedgwick-Rafter se calcula de acuerdo con la fórmula:

Cámara de S-R tiene aproximadamente:

50 mm de longitud

20 mm de ancho

1 mm de profundidad

Área del fondo es de 1000 mm²

Volumen es 1000 mm³

$$N^{\circ} \text{ de células por mL} = \frac{C \times 1000 \text{ mm}^3}{A \times D \times F}$$

En donde:

C: número de organismos contados

A: Área (cubre objeto) en mm²

D: profundidad en mm de la cámara de Sedgwick-Rafter

F: número de campos contados (Arredondo-Vega y Votolina, 2007).

2.2 Cuantificación de pigmentos de acuerdo con Arredondo Vega, (1997).

Se tomaron 5 mL del cultivo los cuales fueron filtrados en filtro GF-C, se añadieron al filtro 200 microlitros de glicerol, se homogenizó en un vortex y se congeló por una hora, posteriormente se añadieron 4 mL de agua destilada y se volvieron a congelar y descongelar los tubos 3 veces. Finalmente, se recogió y filtró el sobrenadante y se midió el extracto a 562, 615, 652 nm. para ficoeritrina (FE), ficocianina (FE) y aloficocianina (AFC) respectivamente. Mediante las siguientes ecuaciones se obtuvieron las concentraciones de cada uno de los pigmentos:

$$FC \text{ (mg/mL)} = (A_{615} - 0.474 (A_{652}))/5.34$$

$$AFC \text{ (mg/mL)} = (A652 - 0.208(A615))/5.09$$

$$FE \text{ (mg/mL)} = (A562 - 2.41(FC) - 0.849(AFC))/9.62$$

2.3 Determinación de Sustancias poliméricas extracelulares (EPS)

El contenido de EPS se determinó en dos fracciones, EPS ligadas a la estructura del gránulo (eEPS) y solubles (SMP) según Le-Clech et al., (2006).

Cada muestra se acidificó con 0.1 mL de ácido sulfúrico 4M para inhibir la actividad microbiana, posteriormente se centrifugaron en viales por 25 min a 3000 rpm, separando el sobrenadante por filtración a través de filtros de 1.2 µm de tamaño de poro. La fracción filtrada fue utilizada para determinar las SMP, mientras que el pellet formado se suspendió adicionando agua destilada hasta el mismo volumen inicial, y se agitó por 10 min en agitador orbital. Posteriormente, se calentaron los viales por 10 min a 80°C para extraer las EPS ligadas a la estructura del gránulo, se enfriaron y centrifugaron por 25 min a 3000 rpm. Finalmente se filtró el sobrenadante para la determinación de las eEPS.

Las EPS son determinadas en ambos casos a partir de la concentración de proteínas (PN) y carbohidratos (PS), según las metodologías de Lowry et al (1951) y Dubois et al (1956), respectivamente.

2.4 Cuantificación gravimetría de PHB de acuerdo con Gobi y Vadivelu (2015)

Se fijó la muestra con una solución de formaldehído al 7 %, se secó a 150°C por 24 horas, se raspó y molió la muestra hasta obtener un polvo fino del cual se pasaron por duplicado muestras de 160 mg, se transfirieron a botellas cerologicas y para la digestión celular se les agregó 1.1 mL de hipoclorito y 1 mL de cloroformo por cada 20 mg, se sellaron con teflón, parafilm y una segunda capa de teflón. Se agitaron en un agitador orbital (Shiping Temperature, SPH-200D) por 2.5 horas a 200 rpm a 30°C. Se transfirió a tubos de centrífuga y se centrifugaron por 15 min a 6000 rpm, se recuperó la fase de cloroformo y se transfirió a una botella serológica a peso constante adicionando gotas de metanol hasta formar un precipitado, se sellaron con teflon, parafilm y una segunda capa de teflón, se refrigeraron por 24 horas, posteriormente se agregaron 2 gotas de metanol se agotaron y calentaron a baño maría a 60°C hasta llegar a evaporación, finalmente se pesaron y mediante las siguientes ecuaciones se obtuvo el porcentaje de PHB (p/p) .

$$(B_{mc}) - (B_{pc}) = PHB \quad EC_1$$

$$\frac{PHB \times 100}{PSC} = \% PHB/PSC \quad EC_2$$

Donde:

B_{ms} : Botella con precipitado (mg)

B_{pc}: Botella a peso constante (mg)

PHB: plihidroxitirato (mg)

PSC: peso seco celular (mg)

2.5 Identificación de PHB por espectrometría de infrarrojo

Tras la extracción del biopolímero, las muestras secas se dejaron en una estufa a 30 °C por 24 h para eliminar humedad y se colocaron directamente sobre el cristal ATR para sus mediciones. Los espectros FITR se obtuvieron en un espectrofotómetro Perkin Elmer (Spectrum 100, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) realizando escaneos en un rango de 4000 - 500 cm⁻¹, con una resolución espectral de 2 cm⁻¹.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00322

Matrícula: 2223801896

Establecimiento de un consorcio microalga bacteria para la remoción de contaminantes en aguas residuales.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 12:00 horas del día 17 del mes de enero del año 2025 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. ANNE CLAIRE TEXIER
DRA. RUTH GABRIELA ULLOA MERCADO
DR. SERGIO MARTINEZ HERNANDEZ
DR. ULISES DURAN HINOJOSA

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOTECNOLOGÍA

DE: HAITI AIXA ISLAS PEREZ NEGRON

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



HAITI AIXA ISLAS PEREZ NEGRON
ALUMNA

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS

DR. JOSE LUIS GOMEZ OLIVARES

PRESIDENTA

DRA. ANNE CLAIRE TEXIER

VOCAL

DRA. RUTH GABRIELA ULLOA MERCADO

VOCAL

DR. SERGIO MARTINEZ HERNANDEZ

SECRETARIO

DR. ULISES DURAN HINOJOSA