

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ingeniería



EVALUACIÓN Y SELECCIÓN DE FITOPLANCTON DEL
LAGO DE ATITLÁN PARA SU POTENCIAL USO EN
BIOFILMS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS
RESIDUALES

Trabajo de graduación presentado por
Ana Lucía de León Vargas
para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería en
Biotecnología Industrial.

Guatemala,
2021

EVALUACIÓN Y SELECCIÓN DE FITOPLANCTON DEL
LAGO DE ATITLÁN PARA SU POTENCIAL USO EN
BIOFILMS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS
RESIDUALES

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ingeniería



EVALUACIÓN Y SELECCIÓN DE FITOPLANCTON DEL
LAGO DE ATITLÁN PARA SU POTENCIAL USO EN
BIOFILMS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS
RESIDUALES

Trabajo de graduación presentado por
Ana Lucía de León Vargas
para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería en
Biotecnología Industrial.

Guatemala,
2021

Vo. Bo.:

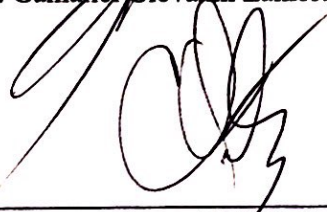
(f) 

Ing. Gamaliel Giovanni Zambrano, M. Sc.
Asesor


Tribunal Examinador:

(f) 

Ing. Gamaliel Giovanni Zambrano, M. Sc.

(f) 

Inga. Carmen Alicia Ortiz, M.A.

(f) 

Ing. Luis Ernesto Nuñez, M. Sc/MBA.

Fecha de aprobación: Guatemala 26 de febrero, 2021

PREFACIO

La elaboración de este trabajo tuvo lugar en medio de una pandemia. Las disposiciones y limitaciones presentadas a lo largo de este tiempo dieron lugar a una variación en el proceso de realización, sin embargo, en todo momento se mantuvo el enfoque por el que se decidió explorar el tema seleccionado.

En el plano personal, agradezco a todas aquellas personas que me han apoyado y acompañado a lo largo de mi vida universitaria. Principalmente agradezco a mi madre y mi padre por brindarme los recursos necesarios para cumplir esta meta, tanto de forma emocional como material, además de enseñarme lo que va más allá de lo académico y me ha formado como persona. La dedicación que imparten en cada aspecto de su vida es mi mejor ejemplo para superar cualquier obstáculo y llevar a cabo lo que me proponga, sabiendo que en todo momento contaré con su completo apoyo.

A mi hermano y a mi familia que estuvo siempre presente mostrando su apoyo, aún cuando no era posible reunirnos como antes, sus constantes palabras me daban ánimo para continuar. Además, agradezco a mi abuelo y abuelas, quienes confiaron en mí y me alentaron a lo largo de mi vida y trayecto educativo; a pesar de no estar presentes para observar el desenlace en esta etapa de mi vida, sepan que el cariño y motivación que me hicieron sentir aún permanece conmigo.

A mis amigas y amigos, quienes me alentaron a lo largo de todo el camino y siempre estuvieron presentes para animarme y escucharme cuando lo necesitaba. Su compañía a lo largo de tantos años me demuestra que una amistad va más allá de un simple compañerismo. Y a mi 'enana', por alejar la monotonía de mi vida y siempre hacer que mis días mejoren al estar junto a ella.

De igual forma, agradezco al Ing. Cristián Rossi, quien me asesoró a lo largo de todo el trabajo y aún cuando la pandemia cambió el método de apoyo, siempre se encontró dispuesto a guiarme y motivarme durante su realización hasta la entrega del trabajo final.

Cada día me demuestran lo afortunada que soy y por eso reitero mi agradecimiento hacia ustedes.

Dedico el trabajo a mi madre y padre, por ayudarme a llegar hasta este punto. También a mi hermano, primo y ahijada, para que sirva como inspiración para alcanzar sus metas, sabiendo que todo esfuerzo tiene su recompensa, y como recordatorio que cuentan siempre con todo el apoyo para llevarlas a cabo.

ÍNDICE

LISTA DE CUADROS	IX
LISTA DE FIGURAS	X
RESUMEN.....	XII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. JUSTIFICACIÓN.....	3
III. OBJETIVOS.....	6
A. General.....	6
B. Específicos.....	6
IV. METODOLOGÍA	7
A. Recolección de datos	7
B. Aplicación en la industria.....	7
V. MARCO TEÓRICO	10
A. Microalgas	10
B. Fitoplancton.....	10
1. Cianobacterias.....	11
2. Diatomeas	11
3. Clorofitas	12
4. Carofitas.....	13
5. Dinoflagelados	13
C. Eutrofización	14
D. Ecosistemas acuáticos guatemaltecos.....	15
1. Lago de Atitlán	15
a. Presencia de fitoplancton	16
E. Biorremediación	16
1. Biorremediación por microalgas.....	17
F. Biofilms.....	17
1. Biofilm en cuerpos de agua	18
2. Remoción de metales por biofilm.....	18
G. Recuperación de nutrientes en organismos fotosintéticos	19
1. Fósforo	19
2. Nitrógeno	20
3. Asimilación de nutrientes en microorganismos fotosintéticos en tratamiento de aguas residuales.....	21
H. Formación de biofilms microbianos.....	23
I. Tipos de biofilm por comunidad microbiana	24

1.	Consortio de microorganismos fotosintéticos	24
2.	Consortio de microalgas-bacterias	25
J.	Condiciones para crecimiento de biofilm microbiano.....	26
1.	Luz	26
2.	Temperatura	27
3.	pH.....	27
4.	Nutrientes.....	28
5.	Concentración de CO ₂	29
6.	Concentración de O ₂	30
7.	Tiempo de retención hidráulico (HRT)	30
8.	Sustancias poliméricas extracelulares (EPS)	30
9.	Matriz de sustrato.....	31
K.	Tipos de biorreactor para microorganismos fotosintéticos	32
1.	Sistemas de cultivo con células suspendidas	32
a.	Sistema de estanque abierto	32
b.	Fotobiorreactores cerrados	33
2.	Sistemas de cultivo con células inmovilizadas	37
a.	Fotobiorreactor “twin-layer”	37
L.	Tipos de aguas residuales	38
1.	Municipales.....	39
2.	Agricultura.....	40
3.	Industriales.....	41
M.	Tratamiento de aguas residuales	41
1.	Pretratamiento	42
2.	Tratamiento primario	42
3.	Tratamiento secundario.....	43
4.	Tratamiento terciario.....	43
VI.	ANTECEDENTES	44
VII.	RESULTADOS	47
VIII.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	61
A.	Especies a inmovilizar para formación de biofilm.....	61
B.	Matriz a emplear para la formación de biofilm microbiano.....	63
C.	Adhesión de cultivo microbiano	65
D.	Condiciones/parámetros para crecimiento de biofilm microbiano.....	67
E.	Remoción de nutrientes	71
F.	Sistema a emplear.....	73
IX.	CONCLUSIONES.....	77
X.	RECOMENDACIONES.....	79
XI.	BIBLIOGRAFÍA	81
XII.	ANEXOS.....	98
XIII.	GLOSARIO	115

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Caracterización de especies de fitoplancton presentes en el agua del Lago de Atitlán entre años 2013-2019.	47
Cuadro 2. Condiciones de temperatura y pH favorables para remoción de nutrientes por filos de fitoplancton presentes en el agua del Lago de Atitlán.	50
Cuadro 3. Remoción de fósforo, nitrógeno y azufre empleando distintas especies de fitoplancton presentadas en distintos estudios.	51
Cuadro 4. Comparación de consorcios microbianos, condiciones y material de matrices en sistemas de biofilm evaluando remoción de nutrientes y productividad de biomasa.	55
Cuadro 5. Selección de fitoplancton, tipo de empaque y sistema a emplear para el tratamiento secundario de aguas residuales por medio de biofilm.	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Asimilación de diferentes fuentes de nitrógeno inorgánico en algas eucariotas.....	20
Figura 2. Principales vías de asimilación de nitrógeno en las cianobacterias.	21
Figura 3. Mecanismo de asimilación de C, N y P en el tratamiento terciario de efluentes municipales.....	22
Figura 4. Funciones generales de algunos micronutrientes presentes en efluentes secundarios PTAR.....	22
Figura 5. Representación esquemática de los pasos involucrados en la formación del biofilm.....	23
Figura 6. Características de materiales comunes en matrices reportadas en literatura.....	32
Figura 7. Vista de RP a escala piloto en Instituto de Conversión Energética de Guangzhou, Academia China de Ciencias.	33
Figura 8. Diagramas de los diferentes tipos de VC-PBR.	34
Figura 9. Diagrama esquemático de un reactor T-PBR horizontal.....	35
Figura 10. Diagrama de FP-PBR en Instituto de Conversión Energética de Guangzhou, Academia China de Ciencias.....	36
Figura 11. Configuración de un sistema twin-layer para el tratamiento de aguas residuales.....	38
Figura 12. Fuentes de aguas residuales y su rango de concentración de N y P.....	39
Figura 13. Características y rango de contenidos típicos de aguas residuales municipales.	40
Figura 14. Límites máximos permisibles de descargas de aguas residuales a cuerpos receptores.....	98
Figura 15. Consumo de nitrógeno y fósforo durante crecimiento celular en <i>A. cf. carterae</i>	99
Figura 16. Consumo de nitrógeno y fósforo durante crecimiento celular en <i>C. monotis</i>	99
Figura 17. Porcentaje de remoción de fósforo por parte de las especies <i>N. pusilla</i> , <i>C. mexicana</i> , <i>S. obliquus</i> y <i>C. vulgaris</i>	100
Figura 18. Porcentaje de remoción de nitrógeno por parte de las especies <i>N. pusilla</i> , <i>C. mexicana</i> , <i>S. obliquus</i> y <i>C. vulgaris</i>	100
Figura 19. Remoción de nitrógeno (a) y fósforo (b) empleando distintas fuentes de nitrógeno en especies <i>C. simplex</i> y <i>C. curvisetus</i>	101
Figura 20. Concentración de fosfato durante período de cultivo de especies <i>C. vulgaris</i> (a), <i>S. obliquus</i> (b) y <i>O. minuta</i> (c).	101
Figura 21. Concentración de nitrato durante período de cultivo de <i>C. vulgaris</i> (a), <i>S. obliquus</i> (b) y <i>O. minuta</i> (c).	102
Figura 22. Concentración de sulfato durante período de cultivo de <i>C. vulgaris</i> (a), <i>S. obliquus</i> (b) y <i>O. minuta</i> (c).	102
Figura 23. Porcentaje de remoción de amonio (cuadrado) y fósforo (círculo) por parte de especie <i>C. sorokiniana</i>	102
Figura 24. Evolución en concentración de nitrógeno (A) y fósforo (B) en medio por parte de especies <i>S. salina</i> , <i>P. subcapitata</i> y <i>M. aeruginosa</i>	103
Figura 25. Remoción de nitrato a diferentes temperaturas por parte de especie <i>P. bohnneri</i>	103
Figura 26. Remoción de fosfato a diferentes temperaturas por parte de especie <i>P. bohnneri</i>	103
Figura 27. Remoción de nitrato a diferentes temperaturas por parte de especie <i>P. tenue</i> (O-120).	104
Figura 28. Remoción de fosfato a diferentes temperaturas por parte de especie <i>P. tenue</i> (O-120).....	104
Figura 29. Cambio en concentración de nitrato (A) y fosfato (B) en medio por parte de la especie <i>Synechococcus sp</i>	104
Figura 30. Esquema de fotobiorreactor con matrices microbianas empleado por Zamora, <i>et al.</i>	105
Figura 31. Velocidad (RR) y porcentaje de remoción (RE) de fosfato (A), amonio (B), nitrito (C) y nitrato (D) empleando biofilm de microalgas en cuatro ensayos diferentes.	105
Figura 32. Esquema de reactor Algadisk a escala laboratorio empleado por Blanken.....	106
Figura 33. Representación esquemática del sistema experimental empleado por Tonitelli, <i>et al.</i>	106
Figura 34. Diagrama de fotobiorreactor de membrana a escala laboratorio empleada por Gao, <i>et al.</i>	106
Figura 35. Esquematación del sistema de cultivo de biofilms de algas empleado por Schnurr, <i>et al.</i>	107

Figura 36. Esquematización de sistema de algas inmovilizadas empleada por Johnson y Wen.	107
Figura 37. Esquema de Sistema experimental horizontal empleado por Boelee, <i>et al.</i>	107
Figura 38. Concentración de nitrógeno (A) y fósforo (B) en el efluente con cuatro flujos distintos empleando biofilm microbiano.	108
Figura 39. Diagrama de sistema de biofilm algar empleado por Wei, <i>et al.</i>	108
Figura 40. Concentración de fósforo total (A), nitrógeno total y nitrato (B) en sistema de biofilm por lotes	108
Figura 41. Diagrama de depurador de algas (ATS) empleado por Mulbry y Wilkie.	109
Figura 42. Esquema de depurador de algas (ATS) escala laboratorio empleado por Kebede-Westhead, <i>et al.</i>	109
Figura 43. Esquema de cámara de flujo continuo con biofilm empleado por Irving y Allen.....	110
Figura 44. Diagrama de sistema ATS piloto en Maryland empleado por Mulbry, <i>et al.</i>	110
Figura 45. Esquema de fotobiorreactor vertical con biofilm empleado por Boeleen, 2014.	110
Figura 46. Esquema de dos módulos del prototipo de fotobiorreactor twin-layer empleado por Shi, <i>et al</i> y por Fernández.....	111
Figura 47. Rendimiento (a) y productividad (b) de biomasa en cultivo inicial y rebrote de células algares inmovilizadas en sistema empleado por Johnson y Wen.	112
Figura 48. Ficha técnica de material Polyfelt Geolon PE180 fabricado por Tencate Geosynthetics	112
Figura 49. Diagrama de bloques del proceso de cultivo y biorremediación del biofilm microbiano.....	113
Figura 50. Balance de masa y energía del proceso de biorremediación empleando fotobiorreactor twin- layer.....	114

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es proponer un sistema de biofilm de microalgas y cianobacterias identificadas en el Lago de Atitlán, como alternativa para el tratamiento secundario dentro del proceso de tratamiento de aguas residuales domésticas, con el propósito de que estos resultados sirvan como guía para posteriores estudios que evalúen experimentalmente las capacidades de remoción de nutrientes del fitoplancton en efluentes con distintas concentraciones.

El sistema de biofilm microbiano consiste en una propuesta práctica, rentable y ambientalmente compatible que lleva a cabo el proceso de biorremediación del agua de manera natural por los microorganismos fotosintéticos que conforman el biofilm. Al emplear un biorreactor con biofilms, a diferencia de los sistemas secundarios tradicionales de células suspendidas, se requerirá poca o ninguna separación de la biomasa y el agua previo a descargar el efluente. Además, se genera un aprovechamiento de los contaminantes de las aguas residuales, sirviendo como nutrientes para el crecimiento y desarrollo de los microorganismos, en lugar de ser desechados como ocurre en el tratamiento convencional.

Con revisiones bibliográficas, se seleccionó las microalgas de tipo diatomea y clorofita en conjunto con las cianobacterias para el consorcio del biofilm, con capacidad de remoción de 63 - 86 % de N y 85 - 98 % de P, a condiciones de 21 - 28 °C para temperatura, 100 a 500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ para irradiancia y pH de 7 - 9. La matriz de soporte seleccionada para el crecimiento del biofilm es Polyfelt Geolon PE180 y el sistema a emplear es el fotobiorreactor "twin-layer". Dada las concentraciones de nutrientes presentes en los distintos tipos de aguas residuales, se seleccionó las aguas residuales de tipo doméstico, que presentan un rango de 20 - 85 mg/L de N y 5 - 20 mg/L de P. Cada una de estas selecciones demostró ser la más adecuada para lograr un sistema de biofilm microalga-cianobacteria capaz de implementarse en el tratamiento secundario de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas con el fin de obtener una mejor calidad de efluentes. Dado que el trabajo consiste en una propuesta teórica, se recomienda realizar pruebas experimentales para evaluar la efectividad del sistema de biofilm propuesto como alternativa para el tratamiento secundario de los efluentes domésticos, empleando las mismas selecciones previamente mencionadas, tanto de microorganismos, condiciones y sistemas.

I. INTRODUCCIÓN

Las microalgas y cianobacterias son organismos unicelulares fotosintéticos que se clasifican en diferentes grupos taxonómicos de fitoplancton debido a su amplio rango de estructura, forma y tamaño (Colares, *et al*; 2013). Sintetizan diferentes sustancias orgánicas a través de la fijación de carbono, dando lugar a una potencial fuente de compuestos a utilizar en una amplia gama de aplicaciones biotecnológicas. Estas se presentan como un organismo modelo, pues se pueden encontrar en la mayoría de los ecosistemas, debido a su capacidad para adaptarse a diferentes entornos, además de poder tolerar una amplia gama de temperaturas, intensidades de luz y valores de pH (Bhalamurugan, *et al*; 2018).

La selección de estos microorganismos para este trabajo se debe a su importante interés ecológico porque son la base de la cadena trófica de los ecosistemas marinos y son responsables de la fijación de casi el 80% del CO₂ atmosférico. Su capacidad de rápida propagación, uso de energía solar de manera eficiente y su mayor producción de biomasa por hectárea que las plantas vasculares, asegura su capacidad de adaptarse a distintas condiciones (Allan, *et al*; 2019). Además, son considerados como agentes útiles para la eliminación de nitrógeno y fósforo de aguas de desecho, pues los emplean metabólicamente para la producción de una gran cantidad de biomoléculas (Martínez, 2019).

Actualmente existe un gran interés para su aplicación en el mercado, como productos farmacéuticos, alimentos funcionales, biocombustibles, cosméticos, fertilizantes y tratamiento de aguas residuales (Gujar, *et al*; 2019). Siendo este último un campo que ha ido en aumento los últimos años, debido a los grandes volúmenes de aguas residuales generados por actividades agrícolas, municipales e industriales, provocando serios problemas de contaminación al ser descargados en cuerpos de agua sin un tratamiento adecuado.

Este actual interés en el tratamiento de aguas residuales por medio de microorganismos fotosintéticos es el que impulsa a este trabajo a encontrar nuevas alternativas que hagan del tratamiento secundario un proceso más efectivo. La primera parte del trabajo consiste en la investigación y recopilación de estudios para determinar características de los filos de fitoplancton en el Lago de Atitlán, las condiciones favorables para el crecimiento de estos, el tipo de aguas residuales a tratar, los materiales usados para la matriz de soporte y el tipo de sistema donde ha sido implementado. La segunda parte consiste en la comparación y selección de cada uno de estos aspectos, determinando su selección de acuerdo con las características más favorables para la implementación en el proceso secundario del tratamiento de aguas residuales.

El trabajo concluyó en la selección de diatomeas y clorofitas en conjunto con cianobacterias contando en conjunto con una capacidad de remoción de 63 - 86 % de N y 85 - 98 % de P; temperatura de 21 - 28 °C, irradiancia de 100 a 500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ y pH de 7 - 9; tratamiento de aguas residuales domésticas; una matriz de soporte de Polyfelt Geolon PE180 y un fotobiorreactor "twin-layer". Sin embargo, al ser este trabajo una

propuesta, se recomienda realizarlo de forma experimental con el fin de evaluar la efectividad del sistema de biofilm microbiano propuesto, aplicando en estas pruebas todas las selecciones de filos, condiciones y sistemas previamente mencionadas.

Las ventajas al usar los sistemas de tratamiento que involucran microalgas y cianobacterias en comparación con las tecnologías tradicionales de tratamiento de aguas residuales, incluyen: la disminución de contaminantes y patógenos, la fácil recuperación de nutrientes en forma de biomasa con futuras aplicaciones, el ahorro de energía, la reducción de emisiones de CO₂ y la eliminación de nitrógeno y fósforo, reduciendo de esta forma el riesgo de eutrofización al ser descargada el agua en un cuerpo acuático. A pesar de todas estas ventajas, aún quedan muchos desafíos por superar antes de lograr la implementación real de esta tecnología (Molinuevo, 2019).

II. JUSTIFICACIÓN

Las microalgas y cianobacterias conforman un grupo de microorganismos fotosintéticos que se desarrollan principalmente en hábitats acuáticos, con la capacidad de convertir la energía luminosa y las fuentes inorgánicas de carbono en biomasa, al mismo tiempo que liberan O₂ a la atmósfera. La diversidad evolutiva y filogenética que estas presentan representa una gran diversidad en la composición química de estos organismos, haciéndolos, por lo tanto, extremadamente atractivos para su potencial explotación como fuentes comerciales de una amplia gama de bioproductos. Durante más de una década, la biotecnología ha despertado un enorme interés en estos organismos debido a la gran variedad de compuestos que pueden sintetizar para posteriormente emplearse en diferentes aplicaciones, a partir de su biomasa.

La capacidad como nueva fuente generadora de productos a partir de su biomasa, ha tomado un gran interés en la actualidad, especialmente en su desarrollo como fuente de biocombustibles, suplementos alimenticios y farmacéuticos, tratamiento de aguas residuales, entre otras aplicaciones. Además, la producción comercial de estas ha estado creciendo como un nuevo fenómeno agrícola que puede proporcionar materias primas sostenibles ricas en proteínas y aceites para nuevos productos, absorber millones de toneladas de dióxido de carbono, requiriendo 1.8 g de CO₂ para producir 1 g de biomasa (Fernandez, *et al.*; 2013), y convertirse en un conductor de crecimiento económico en todo el mundo (Rahman, 2020).

La biotecnología de estos microorganismos fotosintéticos se ha desarrollado para diferentes aplicaciones comerciales, pero en los últimos años, el desarrollo de estas para el tratamiento de aguas residuales ha recibido más atención como una alternativa a las plantas de tratamiento de aguas convencionales, debido a la alta eficiencia de biorremediación, la contribución a la reducción de emisiones de CO₂, siendo necesario para la fotosíntesis, y la disminución de los costos de energía en el proceso (Hernández, *et al.*, 2016). La generación de aguas residuales ha aumentado conforme al crecimiento de la población humana y la industrialización, llegando a ocasionar la descarga incontrolada de estas en los cuerpos de agua y, por lo tanto, provocando serios problemas ambientales y problemas de salud para los seres vivos. (Molinuevo, 2019).

Ante los constantes cambios que ocurren en los cuerpos de agua guatemaltecos, generando rápidos afloramientos de fitoplancton, llegando a ser la densidad de estos dentro del Lago de Atitlán en 2019 de 903 org/L (AMSCLAE, 2019) y existiendo la posibilidad futura de que produzcan toxinas, es importante realizar estudios para entender la dinámica de estos organismos en los cuerpos de agua y cómo estos pueden llegar a ser utilizados con otro propósito dentro del área industrial. En el 2019, en las aguas del Lago de Atitlán se registró 22 géneros de fitoplancton, siendo las algas verdes el género más diverso, seguidas por las diatomeas y cianobacterias. Dado que la mayoría de estas especies cuentan con capacidades de biorremediación, el uso

de sistemas de “biofilm” o biopelículas de microalgas y cianobacterias para el tratamiento de aguas residuales, constituye una de las principales aplicaciones para estos microorganismos.

Los biofilms microbianos fototróficos y fotoheterotróficos se caracterizan por estar formados por una abundante diversidad microbiana y propiedades únicas en poblaciones funcionales. Sin embargo, recientemente el papel de los biofilms microbianos fototróficos que involucran a microorganismos (diatomeas, algas verdes, cianobacterias, entre otros miembros de las comunidades) están recibiendo especial atención debido a los resultados que han presentado en la biorremediación sostenible de bioprocesos ambientales, como la biorremediación de ambientes marinos costeros (hidrocarburos y metales pesados), así como de efluentes acuíferos (Paniagua-Michel, 2017).

A lo largo del tratamiento convencional de aguas residuales, los materiales químicos empleados reaccionarán con una parte de los compuestos no deseados y los metales pesados; sin embargo, una parte del material contaminante no se verá afectada en su totalidad y llegará a los cuerpos receptores, contribuyendo al proceso de eutrofización. De igual forma, el costo de los aditivos químicos y el problema ambiental para eliminar gran cantidad de lodos químicos generados al final del proceso, hacen que este sea poco eficiente y en algunos casos, muy costoso. Es por esto que se requieren cada vez más alternativas de tratamiento de aguas residuales, con el fin de reducir la concentración de contaminantes a niveles seguros y el uso de biofilms de microalgas y cianobacterias sugiere una estrategia de remediación rentable y ecológica a las tecnologías de tratamiento tradicionales.

Las principales ventajas de emplear un tratamiento biológico con biofilm incluyen el uso de materia inorgánica presente como alimento para los microorganismos; la capacidad de funcionar con tiempos de retención hidráulica bajos, debido a la capacidad del biofilm para retener biomasa. Además, a diferencia de los sistemas de microalgas suspendidas, estos requieren poca o ninguna separación entre microorganismos y agua previo a descargar el efluente (Roeselers, *et al*; 2008), y no necesitan agitación en el sistema, resultando en un requerimiento de energía menor que para los sistemas de células suspendidas.

El cultivo de biofilms de microalgas y cianobacterias nativas del Lago de Atitlán presenta la oportunidad de reciclar y aprovechar este tipo de productos de la eutrofización, siendo catalogados como un problema a resolver en el país, como nueva tecnología para la eliminación de nutrientes en el tratamiento de aguas residuales domésticas. Actualmente en Guatemala, la poca disponibilidad de tecnologías a gran escala evaluadas para estos procesos conlleva a la necesidad de estudiarlas para su uso en procesos industriales rentables y sostenibles. Por esta razón, se llevó a cabo una evaluación de los filos de fitoplancton presentes en el Lago de Atitlán, con el fin de identificar sus características y condiciones favorables que les permiten ser potenciales microorganismos para la reducción y/o captación de nutrientes. Logrando de esta forma

establecer una propuesta, previo a la experimentación, de un sistema con biofilm microalga-cianobacteria que podría ser implementado en el proceso secundario para el tratamiento de aguas residuales domésticas.

III. OBJETIVOS

A. General

- Seleccionar especies de fitoplancton presentes en Lago de Atitlán de acuerdo con su capacidad de remoción de nutrientes, para su potencial uso en el tratamiento de aguas residuales usando biofilms (biopelículas).

B. Específicos

- Investigar las características morfológicas y bioquímicas de las especies de fitoplancton presentes en el Lago de Atitlán, comparándolas para seleccionar las que sean propicias para el tratamiento de aguas residuales.
- Determinar con un análisis comparativo de las características del fitoplancton presente en el lago, la efectividad en el uso del sistema de biofilms como parte del proceso de tratamiento de aguas residuales, tomando en cuenta sus niveles de remoción de nutrientes, metabolismo, entre otros.
- Determinar el estado y las condiciones bajo las cuáles el fitoplancton puede presentar una alta afinidad por nutrientes dentro del biofilm y el tipo de biofilm a producir en estas condiciones.
- Establecer, de acuerdo con las características del fitoplancton seleccionado, el tipo de empaque y equipo para que el biofilm se desarrolle y se determine el posible comportamiento en la reducción de contaminantes en el agua a tratar.

IV. METODOLOGÍA

A. Recolección de datos

1. De acuerdo con el “Informe de monitoreo limnológico 2019” realizado por AMSCLAE en la cuenca del Lago de Atitlán y la tesis de Martínez, (2018) “Relación del fitoplancton y el zooplancton en los sitios de Santiago Atitlán y Centro Weiss G del Lago de Atitlán durante los años 2013 y 2014”, se llevó a cabo un registro taxonómico de las especies de microalgas y cianobacterias identificadas en los estudios para el Lago de Atitlán entre los años 2014 y 2019.
2. Empleando una base de datos online con información taxonómica de algas (Algaebase.org), se identificó el filo taxonómico al que pertenecen las especies de fitoplancton identificadas en los estudios previamente mencionados. La información fue presentada en un catálogo con los distintos tipos de fitoplancton presentes en el Lago de Atitlán.
3. Usando artículos científicos y tesis universitarias, se recopiló y analizó las características morfológicas, bioquímicas y ambientales del fitoplancton, de acuerdo con su división taxonómica. El análisis de estas propiedades sirvió para evaluar su potencial uso en el área de tratamiento de aguas residuales y presentar la información como parte de un catálogo con los distintos tipos de fitoplancton presentes en el Lago de Atitlán.
4. Con el registro previo de características por especie, se realizó un catálogo del fitoplancton caracterizado por AMSCLAE, (2019) y Martínez, (2018) en el Lago de Atitlán, incluyendo las especies de microalgas y cianobacterias más abundantes, con su información taxonómica, morfológica, bioquímica y ambiental.
5. De acuerdo con artículos científicos con experimentación en el cultivo de microalga y cianobacterias, se determinó las condiciones fisicoquímicas (temperatura y pH) favorables para el crecimiento y afinidad por nutrientes de los filos de fitoplancton presentes en el Lago de Atitlán. Las condiciones para cada uno de los filos se presentaron en un cuadro, usando rangos de temperatura y pH, de acuerdo con los valores empleados en las referencias científicas.

B. Aplicación en la industria

1. Para cada uno de los taxones determinados de fitoplancton, se estudió sus capacidades biorremediadoras en cuanto a remoción de nutrientes principales encontrados en aguas residuales, siendo el fósforo, nitrógeno y azufre. Los valores fueron recolectados de experimentaciones con microalgas y cianobacterias para el tratamiento de agua, siendo presentados en un cuadro para una fácil comparación entre taxones.

2. Tomando como punto de partida los estudios donde se evalúa la efectividad de los filamentos de fitoplancton seleccionados para la remoción de nutrientes y en la dominancia de comunidades fitoplanctónicas identificadas en el Lago de Atitlán, se propuso el conjunto más adecuado entre microalgas y cianobacterias para conformar el biofilm a operar en el proceso de tratamiento de aguas residuales.
3. Tomando en cuenta las condiciones empleadas dentro de los estudios consultados para los valores de remoción de nutrientes y las condiciones fisicoquímicas previamente consultadas para cada uno de los filamentos de fitoplancton, se estableció el rango de los parámetros (temperatura, pH, intensidad de luz) favorables para el crecimiento de los microorganismos que conforman el biofilm y, por ende, la eliminación de nutrientes del efluente.
4. Se realizó una recolección de estudios relacionados con el uso de biofilms conformados por distintos consorcios microbianos, con el fin de comparar los materiales usados para la matriz y el tipo de reactor empleado. Se evaluó los distintos sistemas de biofilm y de acuerdo con los valores de remoción de nutrientes y las características de la matriz, se determinó el mejor tipo de material y sistema para construir un biofilm microbiano capaz de remover contaminantes dentro del proceso de tratamiento de aguas residuales.
5. De acuerdo con los estudios de biofilms microbianos recolectados, se determinó el tiempo necesario que la matriz debe ser expuesta al consorcio de fitoplancton seleccionado, para la adhesión de los microorganismos y formación de una capa densa que pueda emplearse, asegurando su capacidad biorremediadora, en las aguas a tratar.
6. Con el uso de información contenida en libros de texto y reportes industriales, se estudió el proceso tradicional de tratamiento de aguas residuales, con el fin de evaluar la efectividad en la implementación del biofilm microbiano en el tratamiento secundario, como sustitución al proceso biológico habitual, tomando en cuenta aspectos positivos y negativos entre ambos procesos.
7. Con la previa selección del tipo de material y sistema a emplear para el biofilm, se realizó una investigación para determinar las especificaciones del material y biorreactor a usar como sistema que favorezca la implementación del biofilm en el proceso de tratamiento de aguas, en cuanto a su capacidad de adhesión y tiempo de vida útil.
8. De acuerdo con los estudios consultados sobre biofilms microbianos recolectados y el comportamiento de adhesión de los microorganismos que conforman el biofilm, se estableció el tiempo de vida aproximado del biofilm dentro del sistema de tratamiento de aguas residuales, determinando el tipo de mantenimiento a aplicar sobre la matriz entre cada ciclo de uso.
9. Haciendo uso de la información recopilada y posterior selección de tipos de fitoplancton que conforman el biofilm, tipo de material que conforma la matriz, condiciones favorables

para el biofilm y tipo de biorreactor a emplear, se propuso un sistema de tratamiento de aguas residuales que implemente la tecnología de biofilm microbiano como parte de su tratamiento secundario.

V. MARCO TEÓRICO

A. Microalgas

Las algas que crecen debido a procesos de fotosíntesis constituyen un grupo diverso de plantas que pueden variar en tamaño, desde microscópicas hasta grandes algas. Estas desempeñan un papel vital en muchos ecosistemas. Las algas se difunden a nivel mundial, especialmente en el mar, y tanto en agua dulce como en aguas residuales (Rahman, 2020).

Las microalgas, incluyendo las cianobacterias procariotas y las microalgas eucariotas, son una colección extremadamente diversa de organismos. Estas son ubicuas en todo el mundo y han persistido en un entorno natural diverso (Caporgno y Mathys, 2018). Estas son microorganismos fotosintéticos que contribuyen con más del 32% de los procesos fotosintéticos del planeta y casi la mitad de la regeneración del oxígeno atmosférico, necesitando alrededor de 1.8 kg de dióxido de carbono para producir 1 kg de biomasa (Adamczyk, *et al*; 2016).

La capacidad de propagarse rápidamente, convertir la luz en energía de manera eficiente, fijar el CO² atmosférico y producir más biomasa por hectárea que las plantas vasculares, asegura su capacidad de superar condiciones extremas dentro de su hábitat (Caporgno y Mathys, 2018). Además, los cultivos de microalgas no agravan el efecto invernadero y la contaminación del agua, pues no necesitan de pesticidas (Roy y Pal, 2015).

B. Fitoplancton

Este está compuesto por una amplia variedad de plantas microscópicas que pueden ser unicelulares o bien formar colonias, agregados o cadenas. Los tamaños también oscilan entre un amplio rango, desde < 1µm hasta más de 100µm (Escribano y Castro, 2004).

En los ecosistemas acuáticos, el fitoplancton unicelular forma la base de las cadenas tróficas. Actualmente, el fitoplancton es responsable de aproximadamente el 50% de la producción primaria mundial (Falkowski y Raven, 2007). Este juega un papel fundamental en la configuración de las cadenas alimenticias acuáticas, pues convierte el carbono inorgánico a orgánico y lo traslada a los niveles tróficos más altos (Rousseaux y Gregg, 2012). Este realiza la producción primaria, con la fotosíntesis, utilizando la energía del sol, el dióxido de carbono y sales minerales conocidas como nutrientes, que se encuentran disueltos en el agua de mar (Escribano y Castro, 2004).

A partir del CO₂ inorgánico, agua y energía luminosa, se forma glucosa como molécula inicial para originar materia orgánica, además de liberar oxígeno. Así, el fitoplancton puede iniciar la conformación de sus células. Sin embargo, además de los azúcares, las células se estructuran con proteínas y lípidos, requiriendo la incorporación de varios elementos como nitrógeno (N) y fósforo (P), además del silicio (Si), que conforma el esqueleto de muchas especies del fitoplancton, principalmente de las diatomeas. Se suman de igual forma, otros minerales conocidos como macronutrientes esenciales que se requieren en pequeña cantidad, tales como magnesio (Mg), cobre (Cu) y hierro (Fe). Todos, en conjunto, participan en el proceso de producción primaria y algunos de ellos varían su concentración dependiendo de su ubicación de el océano, causando diferencia en productividad según el tiempo y su localidad (Escribano y Castro, 2004).

1. Cianobacterias

Se les denomina cianobacterias, algas verde-azuladas, cianofíceas o cianoprocariontas. Algunas son unicelulares, otras multicelulares y la mayoría son filamentosas, haciéndose visibles al formar colonias (OMS, 1998). El *phylum* Cyanobacteria está compuesto por bacterias fotosintéticas oxigénicas, e incluye algunos miembros capaces de fijar nitrógeno atmosférico, llamados diazótrofos. Estas bacterias están ampliamente distribuidas en ambientes terrestres y acuáticos; incluyendo océanos, ríos, lagos, fuentes termales, suelos y desiertos, tanto de forma individual o realizando asociaciones con otros organismos (Usher, *et al*; 2007).

Son los organismos más comúnmente identificados del fitoplancton y se encuentran, principalmente, en cuerpos de agua con altos niveles tróficos. Se consideran una unión entre procariontas y eucariotas fotosintéticos con capacidades de sintetizar clorofila (OMS, 1998). Presentan características bacterianas, como una pared celular de tipo procarionta, ausencia de membrana nuclear y de orgánulos subcelulares, como los de las algas, respecto al tamaño y la maquinaria fotosintética (Roset, *et al*; 2001).

Presentan particularidades que las hacen únicas entre las bacterias y entre las algas, como su antigüedad evolutiva, metabolismo aeróbico y carácter fotoautótrofo, diversidad morfológica y celular, regulación de su posición en la columna de agua y facilidad de crecimiento (Ramírez, *et al*; 2004).

2. Diatomeas

Son algas unicelulares de la clase Bacillariophyceae y se relacionan filogenéticamente con la clase Chrysophyceae, encontrándose, flotando en el agua (plancton) o adheridas al sustrato sólido sumergido (Rivas, *et al*; 2010). Están compuestas en un 60 % de sílice (SiO₂), cuya membrana celular está compuesta fundamentalmente por pectina y fuertemente impregnada con sílice, de modo que resiste la

acción de los ácidos y bases fuertes, pues la célula se encuentra protegida por un caparazón de silicio que le confiere gran dureza y resistencia (Inca, 2014).

Las diatomeas constituyen uno de los grupos taxonómicos principales en los sistemas acuáticos, de tal manera que en los cuerpos de agua suponen alrededor del 80 - 90 % de la comunidad de microorganismos, teniendo la capacidad de vivir en una amplia variedad de hábitats, incluso bajo condiciones extremas, que van desde los hielos polares hasta aguas termales. Dentro del biofilm, las diatomeas son los organismos autótrofos más abundantes, colonizando rocas (epilítón), arena (episamon), limoarcillas (epipelos) o plantas (epifiton) (Inca, 2014).

El uso de las diatomeas en la evaluación de la calidad del agua se sustenta con las siguientes ventajas: la ocurrencia universal de las diatomeas en los sistemas acuáticos, el muestreo de las mismas resulta rápido y fácil, estas son sensibles a los cambios en la calidad de agua, sus ciclos de vida son rápidos pudiendo colonizar rápidamente sustratos y reaccionar con celeridad a las perturbaciones ambientales, y el número de especies requeridas para determinar la calidad del agua se reduce a pocas taxa, que no exceden los 50 y que reúnen rápidamente más del 80% de las diatomeas de una muestra (Licursi y Gómez, 2003).

Las diatomeas son muy sensibles a la eutrofización, a la contaminación orgánica y mineral. Estas reaccionan de manera rápida a las modificaciones de la calidad del agua y pueden detectar la contaminación generada de manera discontinua, otorgando información asociada a la cantidad de material orgánico, pH, alcalinidad, tipo de sustrato, entre otros (Alegre, *et al*; 2004).

3. Clorofitas

Del phylum Chlorophyta, también conocidas como algas verdes, pueden ser unicelulares, coloniales o filamentosas, se caracterizan por la presencia de pigmentos fotosintéticos clorofila a y b, carotenos y xantofilas, y por contar con paredes celulares compuestas de celulosa. Las sustancias de reserva se almacenan dentro de los cloroplastos, en la membrana de los tilacoides, a diferencia del resto de algas eucariotas, que lo hacen en el citoplasma (Lee, 2008).

La presencia de una estructura en el cloroplasto conocida como pirenoide es importante para determinar si un alga pertenece a este grupo. En esta estructura se forma una enzima involucrada en la síntesis de almidón. Este último es el principal producto de reserva característico de las clorofitas, siendo almacenado en el cloroplasto (Mansilla y Alveal, 2004).

Estas son el segundo grupo más abundante, especialmente en aguas continentales. Pueden vivir en múltiples condiciones, aunque la mayoría de las especies, aproximadamente el 90%, vive en ambientes

de agua dulce y corresponden a organismos microscópicos de hábitos planctónicos. No obstante, también existen algunas especies de algas verdes terrestres que crecen sobre troncos o barrancos húmedos, mientras que otras crecen en hielo y otras viven en asociación con hongos (Mansilla y Alveal, 2004).

4. Carofitas

Del taxón Charophyta, estas son consideradas como el grupo de algas más estrechamente relacionadas a las plantas terrestres (Turmel, Otis y Lemieux, 2006). Son plantas de agua dulce o salobre, que generalmente son consideradas como un grupo de algas verdes, sin embargo, poseen una serie de características morfológicas y citológicas de plantas superiores, por lo que ocupan una posición aislada entre algas verdes y briofitas (Grambast, 1974). Se caracterizan por la complejidad de su morfología vegetativa y reproductiva, lo cual hace que su taxonomía sea compleja y en ocasiones difícil de discernir. Debido a lo anterior, los patrones ultraestructurales presentes en la pared de la oospora son considerados cruciales para la circunscripción de las especies (Urbaniak, 2011).

Estas constituyen un grupo diverso de amplia distribución, con aproximadamente 400 especies. Estas algas crecen como macrófitas sumergidas principalmente en ambientes lóticos y lénticos, cumpliendo varias funciones importantes en los ecosistemas dulceacuícolas (Coops, 2002). Además, se les considera un buen indicador de la calidad del agua debido a que son muy sensibles a la contaminación (Schneider, 2007).

5. Dinoflagelados

Los dinoflagelados presentan una gran diversidad morfológica, en su mayoría son unicelulares, pero algunos llegan a formar colonias o pseudo-colonias, teniendo la capacidad de lograr simbiosis con protistas e invertebrados marinos. Pueden contar con cloroplastos, aunque pocas especies son estrictamente fotoautótrofas, muchos son mixótrofos y un gran porcentaje son heterótrofos obligados (Gómez, *et al*; 2011).

Estos poseen flagelos que les permiten desplazarse con el fin de buscar la luz usando un característico movimiento rotacional que da nombre al grupo. En condiciones de calma y alta concentración de nutrientes, estos pueden formar densas agregaciones en la superficie del mar, tiñendo de color intenso el agua y originando las conocidas “mareas rojas”, las cuales en la mayoría de los casos no son peligrosas (Escribano y Castro, 2004). Aproximadamente 60 especies de dinoflagelados producen potentes toxinas citolíticas, hepatotóxicas o neurotóxicas, peligrosas para los seres humanos y otros organismos. Otros grupos de dinoflagelados han recibido especial atención por su emisión de luz, o bien, por las características peculiares de su núcleo que han facilitado su uso como modelo en estudios genéticos (Gómez, *et al*; 2011)

Son componentes importantes del plancton, tanto de aguas continentales como marinas. Los dinoflagelados con aproximadamente 2,000 especies conocidas son junto con las diatomeas uno de los grupos más diversos y abundantes del plancton en ambientes marinos (Gómez, 2005).

C. Eutrofización

Este consiste en un proceso que ocurre normalmente, pero se ve acelerado por la acción de algún tipo de actividad humana. Esto resulta de un aumento en la entrada de nutrientes, principalmente el nitrógeno y fósforo, que llegan al cuerpo de agua por la contaminación orgánica, industrial y agrícola. Este proceso ocasiona el aumento de la producción en términos de biomasa, disminución de diversidad de especies, fuertes fluctuaciones de oxígeno disuelto y dióxido de carbono, variaciones de pH, alta demanda bioquímica de oxígeno en el fondo y aparición de densas masas de algas y vegetación acuática que impide el paso de luz en el cuerpo acuático. Lo último, dando lugar a la muerte de la vegetación del lago, aumentando la materia orgánica en descomposición y pudiendo llevar al lago a una distrofia o incluso su desaparición (Roldán y Ramírez, 2008).

En Guatemala, el agua es un recurso que ha sufrido de un gran deterioro y una reducción considerable debido a varios factores, como la variabilidad natural de las lluvias por el cambio climático, deforestación, erosión, pastoreo excesivo y la contaminación del agua provocada por la incorporación de lixiviados de desechos sólidos y de aguas residuales provenientes de los centros poblados e industrias (Herrera y Brown, 2011).

La eutrofización de los sistemas acuáticos es uno de los problemas ambientales actuales de mayor frecuencia a nivel mundial. El principal efecto de esta es la formación de floraciones o “blooms” de fitoplancton, principalmente por grupos de cianobacterias (Sigee, 2005). Las floraciones de fitoplancton producen cambios en la red trófica por la pérdida del hábitat y la productividad de los lagos, disminución de la transparencia del agua y disminución de la diversidad de especies (UNESCO, 2009). Específicamente, las floraciones de cianobacterias pueden generar toxinas con propiedades hepatotóxicas, neurotóxicas o dermatotóxicas que afectan la salud humana y animal (Chorus y Bartram, 2000).

La eutrofización del Lago de Atitlán se ha vuelto visible debido a los florecimientos ocurridos en la última década, indicando cambios en la ecología del lago. Estos cambios acelerados en la última década, generados por el aumento en la contaminación de las aguas por la población humana de la cuenca, han causado preocupación por sus impactos económicos y alimentarios. Dicha eutrofización también provoca cambios en el mismo fitoplancton, lo que puede llevar a una disminución en la cantidad de consumidores secundarios, siendo el fitoplancton su principal alimento (Martínez, 2018).

D. Ecosistemas acuáticos guatemaltecos

Son sistemas acuáticos que se caracterizan por tener áreas de ciénaga, pantano o agua con corriente o estancada. Esta puede ser dulce, salobre o salada, en donde comunidades bióticas interactúan con el suelo, aire, agua, luz y entre sí (CONAP, 2008).

Guatemala cuenta con una extensión territorial marina de 120,229 km², lo que representa el 53% de extensión total del país, y su litoral abarca 254 km en el Pacífico y 148 km en el Caribe. La zona marino-costera (ZMC) de Guatemala abarca los ecosistemas de agua dulce influidos por las mareas, que incluye los tres kilómetros que se reserva al Estado de Guatemala y el área marina hasta los 30 metros de profundidad. La zona marina no costera abarca un total de 19 municipios y siete departamentos en donde se ha reportado una alta diversidad biológica, presentando alrededor de 2,700 especies de flora y fauna (SENACYT, RA y PNUD; 2018).

En los últimos años, se han evidenciado más los efectos del cambio climático, como el aumento de temperatura y la acidificación de los cuerpos de agua en Guatemala. La pérdida de oxígeno ha provocado complejas interacciones que han alterado las distintas formas de vida, llegando a reducir la capacidad de los cuerpos de agua para proveer bienes ambientales, como lo son los recursos pesqueros. De igual forma, las actividades antropogénicas, principalmente los desechos producidos por las comunidades cercanas influyen de forma negativa en la supervivencia, crecimiento, comportamiento y reproducción de los organismos. Se espera que todos estos cambios ambientales afecten la demografía, distribución geográfica y la fenología de las especies, así como la productividad, ciclo de nutrientes, estructura y funcionamiento de los ecosistemas (Ramírez y Ortiz, 2019).

1. Lago de Atitlán

La cuenca del Lago de Atitlán se sitúa en el altiplano central de la República de Guatemala. El área de la cuenca es de 546 km², que incluye el Lago de Atitlán, con una extensión de 123 km² y abarca 17 municipios del departamento de Sololá, y parte de los municipios de Chichicastenango en Quiché y Totonicapán. Esta presenta características montañosas, de relieve abrupto, conformada por el hundimiento de varias calderas volcánicas, que favorecieron la acumulación del agua del lago (AMSCLAE, 2019).

Una de las presiones que tiene la cuenca es el uso indiscriminado de agroquímicos en sus suelos, el cual se ha incrementado debido a la pérdida de buenas prácticas agrícolas de manejo de suelos y de la fertilidad de este, incluyendo el uso irracional de fertilizantes y agroquímicos en la agricultura. Consecuentemente, la poca aplicación de prácticas de conservación de suelos aumenta la erosión de estos, ya que el 38 % de la cuenca presenta niveles moderados a altos de erosión (MAGA, 2013).

Otra de las presiones identificadas en la cuenca es la contaminación del agua. Las principales causas de contaminación se deben a descargas de agua residuales domésticas y de agroquímicos, que llegan por los tributarios o directamente al lago. De acuerdo con AMSCLAE (2019), alrededor del 21 % del total de aguas residuales que se generan en la cuenca, ingresan a plantas de tratamiento. Del 79 % que no recibe tratamiento, alrededor del 45 % de sus aguas son infiltradas en el subsuelo por el sistema de letrinas lavables y pozos de absorción. El restante 34 % se descarga en forma cruda al suelo, a las quebradas, los ríos o llega directamente al lago. La descarga de aguas residuales sin tratamiento o tratamiento ineficiente se debe a que las municipalidades no han cumplido con su obligación de construir plantas de tratamiento o debido a una inadecuada operación y mantenimiento. Además, no existe un control de las descargas directamente a la orilla del lago de aguas residuales. En general, no se aplica el Reglamento de descargas de aguas residuales en la cuenca del Lago de Atitlán (Acuerdo Gubernativo 12-2011) del Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales (MARN) (AMSCLAE, 2019).

a. Presencia de fitoplancton

Durante el 2019, se registró 22 géneros de fitoplancton, distribuidos en cinco clases: Bacillariophyceae (diatomeas), Charophyceae (algas pardas o quebradizas), Chlorophyceae (clorofitas o algas verdes), Cyanophyceae (cianobacterias) y Dinophyceae (dinoflagelados). Las algas verdes fueron el género más diverso, con un total de siete géneros, seguidas de las diatomeas y cianobacterias con seis géneros. Por último, las algas quebradizas y los dinoflagelados fueron los menos diversos, con dos y un género respectivamente (AMSCLAE, 2019).

En el período comprendido entre los años 2007 a 2009 aparecieron señales de alarma relacionadas al deterioro ambiental y la pérdida de la salud del ecosistema en el lago, lo cual se comprobó por la identificación con mayor frecuencia y abundancia de cianobacterias. A partir del año 2008 se ha observado altas densidades de la cianobacteria *Limnorphos robusta* en el lago, incluyendo un alto afloramiento en 2009 y otros de menor tamaño en 2011 y 2012 (Dix *et al*; 2012).

Además, se ha reportado otras especies potencialmente peligrosas para la salud humana como *Microcystis aeruginosa* y *Aphanizomenon sp.*, que pueden producir toxinas y causar daño, no solo a las personas cercanas al lago, sino también a los seres vivos que habitan en el mismo (Roldán y Ramírez, 2008).

E. Biorremediación

Esta es considerada una de las áreas más importantes del siglo de la biotecnología, permitiendo mitigar, destruir o restaurar gran cantidad de contaminantes en un ecosistema alterado ambientalmente de una manera sostenible, a un costo relativamente bajo (Ward, 2004). En estos procesos, la vasta diversidad metabólica de los biomas activos es responsable de descomponer una variedad de

contaminantes y lograr una reducción de desechos al mejorar la biodegradación y remoción de procesos que ocurren en la naturaleza o bajo tecnologías ex-situ (Paniagua-Michel, 2017).

Entre las alternativas biológicas actuales para este tipo de efluentes y ambientes, la biorremediación es un proceso de tratamiento actual que utiliza algas o consorcios microbianos de cianobacterias y bacterias. Se prefiere las microalgas en los biofilms microbianos porque pueden contribuir con bacterias en la remediación de metales pesados, aceites y nutrientes, además de representar una contribución ecológica al ambiente. Por lo tanto, los microorganismos fotosintéticos son un candidato atractivo y potencial como microbioma, para aplicaciones bioindustriales y bioprocesos (Rawat, *et al*; 2011).

1. Biorremediación por microalgas

Los tratamientos fisicoquímicos como los de las plantas de tratamientos de aguas residuales convencionales suelen ser costosos y generan contaminación secundaria (Zamora, *et al*; 2007). Sin embargo, los tratamientos de aguas residuales que utilizan algas ofrecen simultáneamente ventajas de reciclaje de nutrientes, tratamiento de agua y producción de biomasa de algas que pueden ser de interés industrial. Por esta razón, los usos y aplicaciones de microalgas para el tratamiento de aguas residuales domésticas han surgido recientemente como una biotecnología sostenible a nivel mundial (Paniagua-Michel, 2017).

La biorremediación por microalgas es un área de la biotecnología generalmente deseable en muchos aspectos y diferentes aplicaciones, debido a las funciones versátiles que desempeñan los organismos biorremediadores, siendo principalmente su viabilidad al generar biomasa para la producción de biocombustible simultáneamente al secuestro de carbono (Mulbry, *et al*; 2008). Además, debido a que las microalgas utilizadas para la remediación de aguas residuales no liberan contaminantes secundarios, este biotratamiento se ubica entre los procesos más compatibles con el ambiente, considerando que la biomasa producida y continuamente regenerada se origina por el reciclaje de nutrientes de las aguas residuales (Muñoz y Guieysse, 2006; Mulbry, *et al*; 2008). En este contexto, los biofilms fotoautótrofos y fotoheterótrofos y los biofilms microbianos son componentes relevantes para el biotratamiento de ecosistemas impactados ambientalmente.

F. Biofilms

En los medios acuáticos y marinos, los biofilms consisten en ensamblajes estructurados de microorganismos y microalgas eucariotas y procariotas, como diatomeas, algas verdes, cianobacterias y otros miembros de bacterias, hongos y protozoos (Buhmann, *et al*; 2012). Estos también pueden estructurarse como especies de algas fotosintéticas mixtas y cianobacterias capaces de desarrollar una nutrición fotoautótrofa-heterótrofa que, al ser expuestas a la luz, tienen la capacidad de incorporar dióxido de carbono y convertirse en los principales productores primarios para simultáneamente generar

energía y reducir el dióxido de carbono. Por lo tanto, los sustratos orgánicos y el oxígeno se suministran en el sistema usando las fuentes de carbono orgánico para el desarrollo de microorganismos heterótrofos (Kumar, *et al*; 2010; Buhmann, *et al*; 2012).

La mayoría de las tecnologías que requieren estos procesos microbianos, como los biorreactores (aeróbicos y anaeróbicos), siguen siendo un desafío en todo el mundo. La funcionalidad de los biofilms generalmente se asocia con una matriz de sustancias poliméricas extracelulares, que ejercen una fuerte correlación con las interacciones microbianas en el biofilm y el intercambio de genes respectivo (Franco *et al*. 2006). La singularidad de las propiedades y procesos asociados a los biofilms, presentan potencial para la mejora de la biorremediación que utiliza biofilms (Horemans, *et al*; 2015).

1. Biofilm en cuerpos de agua

En las áreas costeras abundan dos clases de aguas: agua de mar y aguas residuales, las cuales permiten el desarrollo de alternativas que requieren biofilms. En las ciudades costeras, las plantas de tratamiento de aguas residuales municipales liberan descargas de aguas residuales en cuerpos cercanos de agua, pero en la mayoría de estos casos, estas descargas son tratadas de manera ineficaz (Paniagua-Michel, *et al*; 2005). Esta situación se agrava, pues los procesos convencionales de tratamiento biológico no suelen remover la totalidad de nitrógeno y fósforo a los niveles necesarios para no afectar a las aguas receptoras. Es por esto por lo que se requiere de alternativas de tratamiento de aguas residuales, ambientalmente seguras, para reducir la concentración de contaminantes a niveles seguros (Muñoz y Guieysse, 2006; Ahmad, *et al*; 2013).

En estos tapetes, la materia orgánica se forma en las capas más superficiales que están en contacto directo con luz y gases, a través de los procesos de fotosíntesis oxigénica o anoxigénica, realizados principalmente por organismos de los *phylum* Cyanobacteria y Chloroflexi, respectivamente. Esta simplicidad y compartimentación hace a estos sistemas extremos útiles para el estudio de cómo el ambiente y, por lo tanto, la ecología de cada sistema natural, influencia la diversidad y función de las comunidades microbianas que los habitan (Alcorta y Diez, 2020).

2. Remoción de metales por biofilm

Las microalgas, así como las bacterias, han sido reconocidas como eficientes acumuladoras de metales pesados en sus entornos circundantes, capacidad que ha sido utilizada en diferentes sistemas de tratamiento. El uso de algas inmovilizadas en biofilms se debe en gran parte a la afinidad de las superficies celulares por los metales, y es por esto por lo que se han aplicado en la desintoxicación y recuperación de metales de efluentes contaminados (Greene y Bedell, 1990). Los carbohidratos y exopolisacáridos son los componentes más abundantes en las paredes celulares de bacterias, microalgas y cianobacterias, que pueden contener grupos cargados negativamente (amino, carboxilo, hidroxilo o

sulfuro) (Subashchandrabose, *et al*; 2011). El principio de eliminación de metales en las aguas residuales se debe a la relación entre los metales y los ligandos cargados negativamente. Este bioproceso de adsorción de metales por la superficie celular puede complementarse simultáneamente con sustancias exopoliméricas y exopolisacáridos, por captación celular, almacenados en vacuolas y deposición en la superficie celular (Subashchandrabose, *et al*; 2011).

Los metales pesados en las aguas residuales también pueden inhibir el papel funcional y la fotosíntesis en las microalgas de biofilms, ya que, en los sitios activos de enzimas específicas, los metales pueden sustituir o incluso eliminar los átomos metálicos prostéticos. Además, los cationes acuosos de los contaminantes pueden unirse a grupos funcionales ácidos de las paredes celulares bacterianas que afectan las propiedades básicas y funcionales de los metales pesados, como la especiación, distribución y movilidad (Ginn y Fein, 2008). Es por esto por lo que, en sitios ambientalmente sensibles, las algas y bacterias que crecen en las aguas residuales pueden usarse como una alternativa eficiente para el tratamiento a largo plazo y la eliminación de contaminantes metálicos (Paniagua-Michel, 2017).

G. Recuperación de nutrientes en organismos fotosintéticos

Los microorganismos fotosintéticos necesitan una gran cantidad de nutrientes (nitrógeno y fósforo) para crecer de forma exitosa. En este contexto, el uso de aguas residuales ricas en nutrientes es una alternativa viable como fuente de nutrientes para producir biomasa (Christenson y Sims, 2011). La eficiencia de remoción se encuentra relacionada principalmente con la productividad de microorganismos. Por lo tanto, cuanto mayor sea la cantidad eliminada de nitrógeno y fósforo de las aguas residuales, mayor será la productividad de biomasa.

1. Fósforo

El fósforo es un elemento esencial para los microorganismos fotosintéticos, necesario para las actividades metabólicas, la transferencia de energía, y la síntesis de fosfolípidos y ADN (Richmond, 2008). Es esencial debido a su papel en la producción de adenosin trifosfato (ATP) y reducción de NADP^+ , que impulsa los procesos de energía celular. En las plantas convencionales de tratamiento de aguas residuales, el fósforo se elimina químicamente por precipitación, mientras que, en los sistemas que requieren consorcios microbianos fotosintéticos, la eliminación de P ocurre simultáneamente con la asimilación de N, de modo que el fósforo es también recuperado dentro de la biomasa (Molinuevo, 2019).

La transferencia de energía y la síntesis de ácido nucleico son mediados por el fósforo. Este nutriente entra a las células por el transporte activo a la membrana plasmática en forma de los iones de fosfato inorgánico H_2PO_4^- y HPO_4^{2-} . La incorporación de PO_4^{3-} en compuestos orgánicos se realiza por los

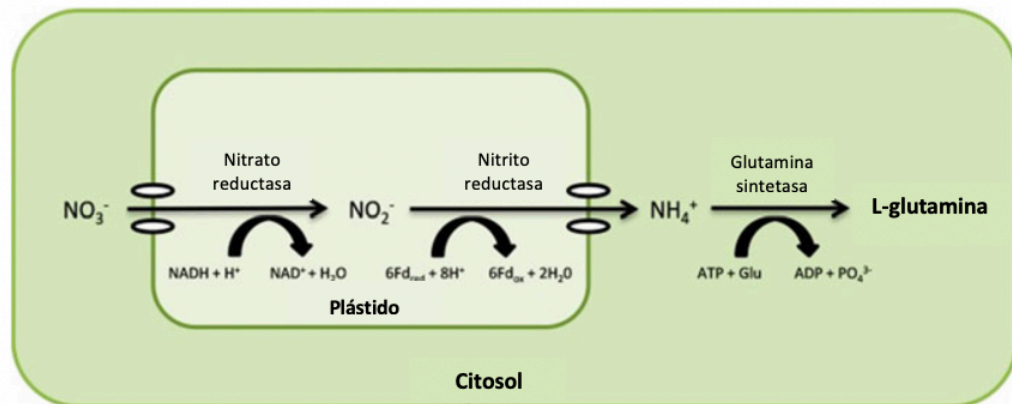
procesos de fosforilación a nivel sustrato, fosforilación oxidativa y fotofosforilación. En estos procesos, el ATP se produce a partir de ADP y un aporte energético que se puede obtener de la oxidación de sustratos respiratorios o del sistema de transporte de electrones en las mitocondrias, y de la luz (Martínez, *et al*; 1999).

Además, bajo condiciones operativas específicas, es posible inducir a los microorganismos a acumular polifosfatos dentro de la estructura celular, independientemente de la productividad de biomasa. Por lo tanto, cuando las microalgas están expuestas a condiciones con “exceso de fósforo – inanición de fósforo – exceso de fósforo” o bajo ciertas condiciones de suministro de luz y temperatura, la acumulación de polifosfatos dentro de la célula permite alta eficiencia de eliminación de fósforo (Brown y Shilton, 2014). Por otro lado, el crecimiento de microalgas bajo limitaciones de fósforo produce la acumulación de carbohidratos y lípidos (Wang, *et al*; 2010).

2. Nitrógeno

El nitrógeno es un componente de los aminoácidos, que dan lugar a proteínas, por lo tanto, el nitrato y otras fuentes de nitrógeno inorgánico son asimiladas en aminoácidos por diferentes vías. De acuerdo con Cai, *et al*; (2013), numerosos estudios han evidenciado que cuando se emplean sistemas que usan microorganismos fotosintéticos, la asimilación de N es el mecanismo principal para eliminar este nutriente en las aguas residuales. Las microalgas y cianobacterias asimilan nitrógeno inorgánico, por la translocación a través de la membrana plasmática de las células, en cualquiera de las tres formas disponibles: amonio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2^-) (Jia y Yuan, 2016). La asimilación de nitrógeno inorgánico por microalgas se rige por el proceso presentado en la **Figura 1**.

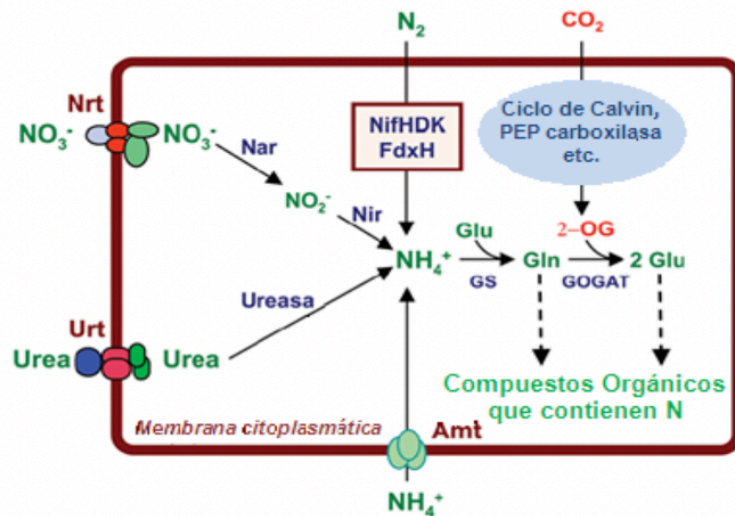
Figura 1. Asimilación de diferentes fuentes de nitrógeno inorgánico en algas eucariotas



Fd_{red}, ferredoxina reducida. Fd_{ox}, ferredoxina oxidada (Richmond, 2008).

Las microalgas juegan un papel importante, tanto en la fijación como en la asimilación de nitrógeno. Las microalgas procariontas (cianobacterias) tienen la capacidad de fijar nitrógeno molecular atmosférico (N_2), convirtiéndolo en amonio, que puede incorporarse en aminoácidos y proteínas (Cai, *et al*; 2013). En la **Figura 2** se esquematizan las principales vías de asimilación de nitrógeno usadas por las cianobacterias en donde las distintas fuentes de nitrógeno son captadas usando permeasas y posteriormente, metabolizadas hasta NH_4^+ , el cual se incorpora a esqueletos de carbono vía glutamato sintasa.

Figura 2. Principales vías de asimilación de nitrógeno en las cianobacterias.



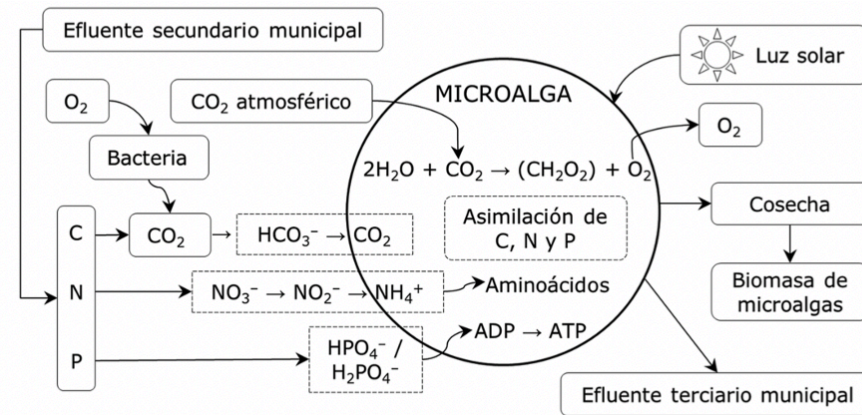
NRT, Permeasas tipo ABC transportadoras de nitrito/nitrato; **Urt**, tipo ABC transportador de urea; **Amt**, permeasa de amonio; **Nar**, nitrato reductasa; **Nir**, nitrito reductasa; **NifHDK**, complejo nitrogenasa; **FdxH**, ferredoxina específica de heterocistos; **PEP carboxilasa**, fosfoenolpiruvato carboxilasa; **2-OG**, 2-oxoglutarato; **GS**, glutamina sintetasa; **GOGAT**, glutamato sintasa (Modificado de Flores y Herrero, 2005).

Dado que la asimilación de NH_4^+ no requiere pasos de reducción previos, se cree que esta es la forma de nitrógeno preferida para las microalgas y cianobacterias. Sin embargo, cuando las concentraciones de NH_4^+ son superiores a 100 mg/L y el pH es superior a 8, la proporción de NH_4^+ podría resultar tóxica para los organismos fotosintéticos al inhibir su crecimiento. Además, en estas condiciones, una parte importante del NH_3 formado a partir de NH_4^+ podría volatilizarse a la atmósfera, disminuyendo la recuperación de nitrógeno (Park y Craggs, 2010).

3. Asimilación de nutrientes en microorganismos fotosintéticos en tratamiento de aguas residuales

En la **Figura 3**, se muestra el mecanismo de asimilación de C, N y P por parte de microorganismos fotosintéticos para el tratamiento de aguas residuales.

Figura 3. Mecanismo de asimilación de C, N y P en el tratamiento terciario de efluentes municipales.



(Adaptado de Abinandan y Shanthakumar, 2015).

Durante la fotosíntesis, los microorganismos asimilan carbono inorgánico en la forma de CO₂ proveniente de los carbonatos solubles (HCO₃⁻) del medio acuoso, del CO₂ atmosférico y del generado por el efluente industrial (Wang, *et al*; 2008). Por otra parte, la absorción de N en las microalgas inicia en la membrana plasmática con la reducción de NO₃⁻ a NO₂⁻, donde una fracción de este último se reduce en el cloroplasto formando NH₄⁺, que posteriormente se integra en la formación de aminoácidos. Este proceso es el mismo en cianobacterias, con la adición de N₂ que también es absorbido y convertido en NH₄⁺ (Burhenne & Tischner 2000, Wang, *et al*; 2010, Umamaheswari & Shanthakumar, 2016).

Durante el metabolismo, el PO₄³⁻ es asimilado de las formas H₂PO₄⁻ y HPO₄²⁻ e incorporado dentro de compuestos orgánicos con el proceso de fosforilación, en el cual gran parte del PO₄³⁻ es captado para la generación de ATP, suministrando la energía celular (Cai, *et al*; 2013).

En paralelo, la capacidad de bio-acumular y reducir las concentraciones de algunos micronutrientes (Na, K, Mg, Ca, Fe, Mn y Zn) presentes en los efluentes secundarios para el cultivo de microalgas, es debido a que son necesarios en sus funciones celulares (**Figura 4**).

Figura 4. Funciones generales de algunos micronutrientes presentes en efluentes secundarios PTAR.

Micronutrientes metálicos	Función	Rango de concentración adecuado
K	Participa en la síntesis de proteínas y la regulación osmótica	0,1 - 100 mg L ⁻¹
Mg	Forma parte del pigmento clorofila, el cual participa en la fotosíntesis	0,1 - 100 mg L ⁻¹
Ca, Na	Mantienen la estructura celular y su actividad	0,1 - 100 mg L ⁻¹
Fe	Actúa como un catalizador redox en la fotosíntesis y la asimilación de nitrógeno	0,01 - 10 mg L ⁻¹
Zn, Mn	Actúan como activadores de coenzimas	0,01 -10 mg L ⁻¹

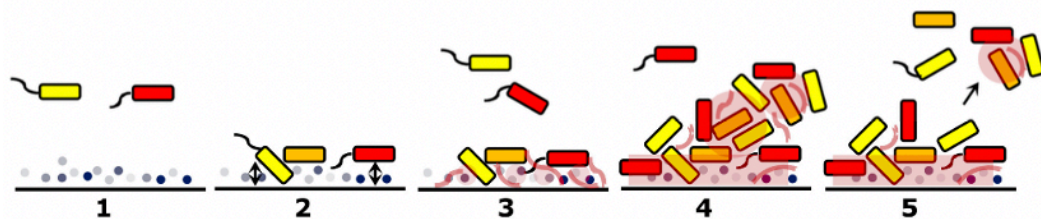
(Adaptado de Masojídek, *et al*; 2004, Zeng, *et al*; 2011, Sydney, *et al*; 2014, Pires, 2015).

Si se presentara una deficiencia de micronutrientes metálicos, el efecto general se reflejaría en la composición de biomasa, determinando una disminución en la concentración de proteínas y pigmentos fotosintéticos (clorofila) con un aumento de carbohidratos y lípidos (Rinanti, 2016). La bio-acumulación en las microalgas y cianobacterias presenta diversas eficiencias dada la amplia gama de formas, tamaños y composición de la pared celular, siendo esta última la responsable principal en la unión de metales (Cai, *et al*; 2013).

H. Formación de biofilms microbianos

Los requisitos mínimos para la formación de biofilms son una superficie adecuada, presencia de los nutrientes necesarios y el agua. A partir de ahí, la formación de biofilms requiere de una serie de fases que son la adhesión, colonización y crecimiento. La adhesión comienza con un pre-acondicionamiento de la superficie con la adhesión en sí de moléculas orgánicas, proteínas, polisacáridos, entre otras. Los microorganismos se adhieren, primeramente, de forma reversible, con fuerzas electrostáticas y luego de forma irreversible con sustancias poliméricas (EPS) secretadas por las células, a medida que microorganismos son agregados. Este consorcio viscoso de polímeros es uno de los principales componentes de la matriz de biofilm, siendo compuesto por proteínas, lípidos, polisacáridos y ADN. Los microorganismos forman microcolonias que son encapsuladas en las EPS. Cuando una masa crítica de microorganismos ha colonizado la superficie, los sustratos y nutrientes se transportan hacia el biofilm y los productos finales metabólicos se transportan fuera del biofilm. Con el tiempo, los microorganismos y la matriz del biofilm se eliminará por desprendimiento (**Figura 5**) (Butler y Boltz, 2014).

Figura 5. Representación esquemática de los pasos involucrados en la formación del biofilm.



1) Formación de película condicionada en la superficie. 2) Adherencia inicial de células microbianas. 3) Adhesión irreversible de los microorganismos. 4) Maduración del biofilm. 5) Desprendimiento (Andersson, 2009).

Las características de la superficie también son un factor de unión. La rugosidad de la superficie proporciona microambiente para que las células escapen del esfuerzo cortante hidrodinámico, lo que conduce a un aumento en la aglomeración celular en superficies porosas (Renner y Weibel, 2011). De acuerdo con Thomas, *et al*; (2004) y Harmsen, *et al*; (2010), los microorganismos se adhieren preferentemente a superficie hidrofóbicas, no polares. Heistad, *et al*; (2009), sugiere que la capacidad de

los microorganismos para adherirse a sustratos consiste en una estrategia para la formación y supervivencia del biofilm en diversas condiciones ambientales.

La razón por la cual los polímeros pueden emplearse como superficie para la formación de biofilms microbianos se debe a que los polielectrolitos actúan en la neutralización de cargas y formación de puentes entre partículas. Debido a que los microorganismos provenientes de aguas residuales normalmente se cargan negativamente, los polielectrolitos catiónicos pueden actuar como un coagulante que neutraliza o reduce la carga negativa en las partículas (Ebeling, *et al*; 2005). Esta situación produce el efecto de reducir drásticamente la fuerza repulsiva entre las partículas coloidales, lo que permite que la fuerza de atracción de van der Waals estimule el inicio de la acumulación de materiales finos suspendidos o coloidales, compactándose partículas coaguladas, y formando biofilms microbianos densos (Vandamme, *et al*; 2013).

I. Tipos de biofilm por comunidad microbiana

A pesar de que las microalgas se han aplicado con éxito en la eliminación de nutrientes de diferentes aguas residuales, es difícil mantener un monocultivo de microalgas en estos procesos, por esta razón estudios han informado de las ventajas de utilizar consorcios de microalgas sobre cultivos de una sola especie. Los procesos de degradación complejos, que serían difíciles de lograr utilizando monocultivos, pueden beneficiarse del uso de consorcios micorbianos. Además, la aplicación de estos puede resultar en el desarrollo de un sistema capaz de resistir fluctuaciones ambientales e invasión de otras especies (Subashchandrabose, *et al*; 2011).

Estos consorcios pueden ocurrir naturalmente en el ambiente o ser diseñados artificialmente, usando una combinación de microorganismos que no necesariamente coexisten, para un propósito específico (Jagmann y Philipp, 2014). Entre las diferentes posibilidades de consorcios que se pueden establecer, los más utilizados para el tratamiento de aguas residuales son los consorcios de microorganismos fotosintéticos, constituidos exclusivamente por microorganismos fotosintéticos (eucariotas y procariotas), y los consorcios microalgas-bacterianos, que están constituidos por microorganismos fotosintéticos y bacterias heterótrofas.

1. Consorcio de microorganismos fotosintéticos

Dado que las interacciones entre microorganismos fotosintéticos no están bien documentadas en la literatura, se piensa que el cultivo de estos microorganismos en un consorcio puede resultar en interacciones, tanto cooperativas, como competitivas. Por un lado, estos microorganismos pueden establecer interacciones cooperativas con el intercambio de metabolitos, lo que produce un aumento en la productividad de la biomasa y por ende, en la eliminación de nutrientes (Mendes y Vermelho, 2013).

Por otro lado, el co-cultivo de microorganismos puede resultar en la excreción de metabolitos secundarios (aleloquímicos) que exhiben un efecto negativo sobre otros microorganismos cultivados. La producción de aleloquímicos puede potenciarse por inanición de nutrientes, bajas intensidades de luz y temperatura, y altos valores de pH. Por otra parte, concentraciones excesivas de nutrientes, altas intensidades de luz y temperatura y bajos valores de pH pueden inhibir la producción de estos metabolitos (Gross, 2003).

En los procesos de tratamiento de aguas residuales, las interacciones entre microorganismos fotosintéticos pueden presentar ventajas, como la mejora de absorción de nutrientes, una alta resistencia a variación de condiciones, y la eliminación del requerimiento de recolección de biomasa. Además, el uso de este tipo de consorcios asegura la viabilidad del proceso de remediación, pues la pérdida de un microorganismo puede ser compensada por el resto de los microorganismos que integra el consorcio (Renuka, *et al*; 2013).

2. Consorcio de microalgas-bacterias

En cuanto a las interacciones competitivas de este sistema, tanto las microalgas como las bacterias, pueden tener efectos adversos entre sí. Estudios han informado que la excreción de metabolitos de microalgas puede presentar un efecto bactericida (Najdenski, *et al*; 2013), al igual que la producción de metabolitos por parte de las bacterias que puede presentar un efecto algicida (Natrah, *et al*; 2014). Además, el aumento del pH y la temperatura resultante de la actividad fotosintética puede llegar a tener efectos perjudiciales sobre las bacterias co-cultivadas (Muñoz y Guieysse, 2006).

La rentabilidad de esta alternativa se debe a que durante la fotosíntesis las microalgas liberan O_2 al medio, el cual es utilizado por bacterias aeróbicas para degradar la materia orgánica en CO_2 , fósforo soluble y en diferentes fuentes de N inorgánico, como lo es NH_4^+ , NO_3^- y NO_2^- . Posteriormente, las microalgas absorben carbono inorgánico (CO_2) y asimilan las fuentes nitrogenadas y fosfóricas, para solubilizar un gran número de macro y micronutrientes para su crecimiento (Adav *et al*; 2008). Sin embargo, las interacciones cooperativas entre microalgas y bacterias son más complejas que el simple intercambio de nutrientes. Las microalgas pueden servir como hábitat para las bacterias, protegiéndolas de condiciones ambientales adversas (Unnithan, *et al*; 2014) y pueden mejorar el crecimiento bacteriano mediante la liberación de metabolitos extracelulares. Asimismo, las bacterias son responsables de la excreción de factores promotores de crecimiento, como vitaminas, permitiendo un aumento en las tasas de absorción de nutrientes (Subashchandrabose, *et al*; 2011).

Los consorcios de microalgas y bacterias son capaces de eliminar nutrientes al mismo tiempo que producen biomasa, razón por la cual su uso para el tratamiento de aguas residuales ha sido ampliamente estudiado durante las últimas décadas. Las bacterias suelen ser mucho más tolerantes a los metales

pesados que las microalgas individuales, dado que estos en las microalgas pueden llegar a inhibir su proceso de fotosíntesis, pues los metales pueden sustituir los átomos metálicos en grupos prostéticos por enzimas fotosintéticas específicas (Paniagua-Michel, 2017).

J. Condiciones para crecimiento de biofilm microbiano

El crecimiento de microalgas y cianobacterias puede verse influenciado por factores, tanto bióticos como abióticos. Los factores bióticos incluyen la presencia de patógenos, hongos o virus, y la competencia con otras microalgas, mientras que los factores abióticos incluyen luz, temperatura, pH, perfiles cualitativos y cuantitativos de nutrientes, y concentración de oxígeno disuelto. Además, el crecimiento de estos microorganismos puede verse influenciado por las condiciones operativas, como el tiempo de residencia hidráulica, las tasas de recolección, la transferencia y mezcla de gas, ya que estos parámetros controlan la disponibilidad de CO₂ y la exposición a la luz (Yen, *et al*; 2019 y Barsanti y Gualtieri, 2014).

1. Luz

Es la fuente de energía para la fotosíntesis en algas y es esencial para el crecimiento de microalgas y cianobacterias. Sin embargo, la inhibición del crecimiento de estas puede ocurrir en las capas superiores del biofilm como resultado de demasiada luz (fotoinhibición), existiendo una saturación de actividad fotosintética a radiaciones relativamente bajas que van desde 100 a 200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ (Vejrazka, *et al*; 2011), o muy poca luz (fotolimitación) en las partes sombreadas inferiores del biofilm (Serôdio, *et al*; 2008). Las microalgas tienen la capacidad de adaptar su aparato fotosintético a los cambios en la intensidad de la luz, con el fin de mejorar la eficiencia fotosintética o prevenir daños en este proceso. (Defew, *et al*; 2004).

Las expresiones cinéticas que relacionan las tasas específicas de crecimiento con la intensidad de luz y modelos determinados a partir de datos experimentales se aplican ampliamente a los estudios de biofilm microbianos, debiéndose probablemente a la heterogeneidad y complejidad de las comunidades microbianas en los biofilms (Wolf, *et al*; 2007). Sekar, *et al*; (2002) informa que las comunidades iluminadas de biofilms presentan una mayor densidad de microorganismos en comparación con los biofilms que crecieron en la oscuridad. De acuerdo con estudios, las algas verdes fueron las primeras colonizadoras dominantes de la superficie en condiciones de mucha luz y las bacterias heterótrofas en condiciones de poca luz. Las diatomeas se aclimataron mejor a condiciones de poca luz que las algas verdes, dominando así los biofilms con luz regulada (Roeselers, *et al*; 2007 y Rier, *et al*; 2006).

El suministro de luz artificial a los biofilms que tratan grandes cantidades de aguas residuales no es una opción económicamente viable, en comparación con el aprovechamiento de la luz solar. Sin

embargo, los climas templados tienen irradiancias solares variables, que a menudo superan los 2,000 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ en el verano y por debajo de 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ en invierno (Muñoz, *et al*; 2009), por lo que el nivel de saturación proveniente de la radiación solar también debe ser controlado para evitar una posible fotoinhibición.

2. Temperatura

El rendimiento de un sistema que utiliza biofilms microbianos se verá afectado por las fluctuaciones de temperatura como cualquier sistema biológico de tratamiento de aguas residuales. El aumento de temperatura favorece el crecimiento hasta alcanzar un valor más adecuado, posterior a este punto, el crecimiento de biomasa disminuye drásticamente con el aumento de temperatura, pues causa estrés oxidativo y una disminución en la actividad fotosintética (Larsdotter, 2006). A pesar de que el valor más adecuado dependerá del género y la cepa empleada, este generalmente se encuentra entre 20 °C y 30 °C (Umamaheswari y Shanthakumar, 2006).

Los biorreactores de biofilm son particularmente vulnerables a las temperaturas elevadas y a las tasas de evaporación, debido a las altas relaciones de superficie/volumen. Aunque los sistemas que utilizan biofilms microbianos requieren menos agua en comparación con los sistemas de estanques abiertos, la mayor parte del agua se pierde por evaporación (Ozkan, *et al*; 2012). Un modelo térmico desarrollado para un biorreactor de biofilm microbiano sin sistema de enfriamiento, predijo pérdidas por evaporación de aproximadamente 6.0, 7.3, 3.4 y 1.0 $\text{L}/\text{m}^2\text{d}$ en los meses de primavera, verano, otoño e invierno respectivamente (Murphy y Berberoğlu, 2012). Es necesario considerar el control térmico en sistemas de biofilms en el tratamiento de aguas residuales para minimizar las fluctuaciones de temperatura debido a condiciones climáticas extremas, facilidad de crecimiento de microorganismos y conservación de población microbiana deseada (Kesaano y Sims, 2014).

3. pH

Debido a la fotosíntesis y la respiración de las microalgas y cianobacterias, el pH oscila durante el día en los sistemas que requieren estos microorganismos y la mayoría suelen tolerar amplios intervalos de pH, pero fuera de estos, el crecimiento se reduce considerablemente. De forma específica, los valores de pH superiores a 9 limitan de forma negativa la actividad de las microalgas, pues su capacidad de absorber CO_2 se reduce drásticamente (Sutherland, *et al*; 2015).

A su vez, un pH alto en el caldo de cultivo puede provocar la disociación del ion NH_4^+ , aumentando la concentración de NH_3 libre que puede llegar a inhibir significativamente el crecimiento de microalgas y aumentar las pérdidas de nitrógeno por volatilización. El control de pH permite reducir la volatilización del NH_3 y permitir una mayor recuperación de nitrógeno en la biomasa de microalgas-cianobacterias. La

estrategia más común para reducir el pH del cultivo consiste en la inyección de CO₂ en el caldo de cultivo en estanques. Sin embargo, en la actualidad, pocos estudios han evaluado el desempeño de las aguas residuales con la adición de CO₂ a escala semi-industrial o industrial (Molinuevo, 2019).

4. Nutrientes

La disponibilidad de nutrientes para una comunidad microbiana en biofilm influye en el crecimiento de los microorganismos, el tipo de biofilm formado y la composición de especies. (Kebede- Westhead, *et al*; 2003, Sekar, *et al*; 2002).

Las microalgas y cianobacterias utilizan carbono inorgánico disuelto en forma de CO₂ (ac) y bicarbonato (HCO₃⁻) presente en las aguas residuales. Otras fuentes de carbono disponibles incluyen el CO₂ atmosférico y degradación bacteriana de carbono orgánico (Boelee, *et al*; 2012, Su, *et al*; 2011). La biodisponibilidad del carbono inorgánico está influenciada por los gradientes de pH dentro del biofilm y la solución; por lo tanto, el biofilm microbiano tiende a poseer un aumento significativo de carbonato (CO₃²⁻) con respecto al CO₂ y HCO₃⁻ impulsado por condiciones de pH alto. Como medida contra la inhibición del crecimiento debido a limitaciones de carbono en los biofilms, investigadores suministraron CO₂ de una fuente externa (Kebede- Westhead, *et al*; 2003, Liu, *et al*; 2013), con el fin de contar con carbono inorgánico disponible para los microorganismos.

La limitación de nutrientes puede afectar el crecimiento del biofilm, el tipo de biofilm producido y la composición de las especies presentes en el biofilm (Hillebrand y Kahlert, 2001; Kesaano y Sims, 2014; Sekar, *et al*; 2002). Los biofilms heterótrofos pueden verse favorecidas por altos contenidos de materia orgánica biodegradable (Olapade y Leff, 2006). Por el contrario, los biofilms fotoautótrofos pueden mejorarse con la presencia de nutrientes inorgánicos y luz (Hillebrand, *et al*; 2002). El carbono, el nitrógeno y el fósforo son los nutrientes más importantes para el crecimiento de los biofilms. Por lo tanto, las proporciones C: N: P se utilizan ampliamente para predecir y minimizar la limitación de nutrientes en el crecimiento de microalgas y cianobacterias (Hillebrand y Sommer, 1999; Stelzer y Lamberti, 2001).

El nitrógeno es uno de los nutrientes fundamentales porque es el componente principal de proteínas estructurales y funcionales, enzimas, moléculas energéticas, clorofilas y otros materiales genéticos de las microalgas y cianobacterias (Kim, *et al*; 2016). El perfil de lípidos, el crecimiento celular y el contenido de carbohidratos de estas, están directamente influenciados por la concentración de nitrógeno en el medio de cultivo (Arumugam, *et al*; 2013). Diferentes estudios han demostrado que una menor concentración de nitrógeno en el medio de cultivo disminuye la tasa de crecimiento celular (Sharma, *et al*; 2012). El fósforo es otro nutriente importante necesario para el crecimiento de microalgas y cianobacterias con un fuerte impacto en el proceso de fotosíntesis y respiración (Elser, 2012).

Desempeña un papel importante en la formación de fosfolípidos, moléculas energéticas, ácidos nucleicos y transducción de señales. Sin fósforo, el crecimiento celular es imposible, siendo un factor nutricional fundamental (Solovchenko, *et al*; 2016). Después del nitrógeno y el fósforo, el carbono es otro nutriente vital, que juega un papel indispensable en el crecimiento de microalgas y cianobacterias (Ramaraj, *et al*; 2015). Estas juegan un papel medioambiental importante al fijar biológicamente el carbono atmosférico y, en consecuencia, reducir el riesgo de calentamiento global (Russel, *et al*; 2018; Zhao y Su, 2014). Contienen aproximadamente un 50% de carbono en su biomasa (Chisti, 2006). Además de la atmósfera, estos microorganismos también pueden fijar el carbono de los gases de escape de industrias o centrales eléctricas y de carbonatos solubles (Cuellar-Bermudez, *et al*; 2015). Independientemente de las fuentes, el carbono se fija para sintetizar polisacáridos, compuestos orgánicos volátiles, hormonas y organohalógenos (Sydney, *et al*; 2010, Ho, *et al*; 2011).

Debido a la importancia de cada uno de estos nutrientes en el proceso metabólico de las microalgas y cianobacterias, es necesario que se encuentren presentes en el medio nutritivo a emplear para su crecimiento. Sin embargo, como se presenta más adelante en “tipos de aguas residuales”, las concentraciones de nitrógeno y fósforo deben encontrarse dentro de cierto rango para favorecer el crecimiento de los microorganismos sin generar inhibición fotosintética. Si las concentraciones de los efluentes no se encuentran dentro de este rango, los microorganismos fotosintéticos pueden no ser aptos para el tratamiento de este tipo de aguas. Para sobrellevar este problema se necesita de posteriores estudios que evalúen condiciones o modificaciones que puedan favorecer al crecimiento de los microorganismos bajo estas concentraciones, o evaluar consorcios que involucren a bacterias heterótrofas, que cuentan con un sistema metabólico distinto al de los organismos fotosintéticos.

5. Concentración de CO₂

Durante el tratamiento de aguas residuales con microalgas y bacterias, los microorganismos no fotosintéticos producen el CO₂ necesario para el crecimiento de microalgas durante la degradación de la materia orgánica. Sin embargo, las proporciones C:N en la mayoría de aguas residuales agrícolas son más bajas que la proporción adecuada reportada de 100:18 (Posadas, *et al*; 2018). Estas bajas proporciones se relacionan con una menor biodegradabilidad, lo que resulta en una reducción de la eficiencia de remoción de nutrientes y la producción de biomasa (Posadas, *et al*; 2014).

La inyección de carbono inorgánico (vía gas de combustión o biogás resultante de digestión anaeróbica) se ha propuesto como una alternativa para potenciar el tratamiento de aguas residuales, evitando la competencia de CO₂ entre las comunidades autótrofas presentes en el caldo de cultivo y también un cambio de metabolismo autótrofo a uno heterótrofo que supondría una disminución en la productividad (Alcántara, *et al*; 2015).

6. Concentración de O₂

La evolución de la concentración de oxígeno disuelto en los biorreactores se caracteriza por un aumento durante el día y una disminución durante la noche, según el ciclo de fotosíntesis y respiración de las microalgas y cianobacterias. Aunque se requiere de más investigación respecto a la toxicidad del O₂ para los microorganismos fotosintéticos, se cree que concentraciones de O₂ superiores a 20 mg/L afectan negativamente el crecimiento de estos, favoreciendo la fotorrespiración y la formación de radicales O₂ y provocando así una inhibición parcial de la fotosíntesis (de Godos, *et al*; 2017).

La actividad bacteriana, como la oxidación de la materia orgánica y la nitrificación durante el tratamiento de aguas residuales, implica una disminución de la concentración de oxígeno, evitando la inhibición de las microalgas. Por ejemplo, las concentraciones reportadas de O₂ en sistemas que usan microorganismos para varios tratamientos de aguas residuales agroindustriales fueron inferiores a 14 mg/L (Riaño, *et al*; 2011 y Hernández, *et al*; 2013). A pesar de estos valores, el suministro de aire enriquecido con CO₂ ha sido definido como una estrategia para desgasificar el caldo de cultivo en medios de microalgas para mejorar la asimilación de nutrientes y disminuir las concentraciones de oxígeno disuelto (de Godos, *et al*; 2017).

7. Tiempo de retención hidráulico (HRT)

HTR por sus siglas en inglés, se define como la razón del volumen del biorreactor sobre el caudal. Es un parámetro clave de diseño que afecta el desempeño de los sistemas basados en microorganismos para el tratamiento de aguas residuales. Los valores más comunes para este parámetro se encuentran en un rango entre 2 y 10 días para biofilms de microalgas-cianobacterias (Posadas *et al*; 2018), mientras que al existir consorcio de microalgas-bacterias, se requiere de un HTR mayor al crecer más lento que los microorganismos autótrofos. Ya ha sido demostrado que la eliminación de contaminantes orgánicos e inorgánicos de las aguas residuales en los sistemas de tratamiento natural aumenta con un HRT mayor, debido a la mejora de los procesos de biodegradación y fotodegradación (Matamoras, *et al*; 2015). Para las estaciones más frías se requiere de HRT más largos debido a la disminución de la actividad metabólica y a las bajas tasas de crecimiento microbiano (Molinuevo, 2019).

8. Sustancias poliméricas extracelulares (EPS)

Estas están formadas por polisacáridos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos y sus funciones en las comunidades de biofilm de microalgas ayudan al movimiento celular, previenen la desecación celular, protegen las células contra sustancias tóxicas y proporcionan estabilidad como material adhesivo (García-Meza, *et al*; 2005 y Sutherland, 2001). La producción de estas se encuentra influenciada por la edad del biofilm, la disponibilidad de nutrientes, el tipo de especies y la relación de temperatura y luz a través de la fotosíntesis, y el crecimiento de la microalga (Di Pippo, *et al*; 2012).

Wolfstein y Stal, (2002) observaron una producción máxima de EPS a 15 y 25 °C durante la fase de crecimiento estacionario temprano (aproximadamente 8 días), luego de esta, los efectos de la temperatura sobre la producción de EPS disminuyeron con la edad del cultivo.

9. Matriz de sustrato

La mayoría de los estudios relacionados con la adhesión de microorganismos fotosintéticos se centra en determinar la influencia de las características de la superficie y la composición del material en la formación del biofilm para promover la adhesión celular y mantener el crecimiento del microorganismo (Sekar, *et al*; 2004, Ozkan y Berberoglu, 2011). La textura de la superficie es uno de los factores que influyen en la adhesión a diferentes sustratos. Las superficies rugosas o porosas se asocian generalmente con una mayor adherencia debido al aumento de la superficie y la protección contra las fuerzas de corte hidráulico (Babu, 2011). La desventaja de los materiales porosos, como espumas o esponjas, es la dificultad para recolectar la biomasa que crece en los poros (Johnson y Wen, 2010).

Las propiedades y la composición de los materiales son otra área de interés en la adhesión de biofilms microbianos. Christenson y Sims (2012) investigaron la adherencia a diferentes sustratos incluyendo algodón, poliéster, nylon, polipropileno y acrílico, y se obtuvo un mejor crecimiento en superficies de polímeros naturales hechos de celulosa que en superficies sintéticas. Se ha comprobado que las superficies hidrofóbicas promueven densidades celulares más altas (Ozkan y Berberoglu, 2011). Sin embargo, Irving y Allen, (2011), indican que las propiedades materiales de un sustrato tenían una influencia menos significativa en la formación de biofilms microbianos en comparación con la selección y el control de especies.

No existen materiales estándar recomendados para su uso en estudios de biofilms microbianos. Sin embargo, deben tenerse en cuenta factores como la durabilidad, la disponibilidad y la rentabilidad al seleccionar materiales para cultivar biofilms. Además, existen pocas pruebas de materiales en condiciones operativas fuera de los estudios a escala laboratorio, lo que dificulta deducir qué materiales son adecuados para el crecimiento de biofilms en las operaciones a escala de tratamiento de aguas residuales (Kesaano y Sims, 2014). A pesar de no existir materiales estándar para la matriz, en la **Figura 6** se presentan características de los materiales más empleados dentro de las revisiones bibliográficas, siendo el vidrio, polietileno de baja densidad (LDPE), polietileno de alta densidad (HDPE), acrílico rígido (PMMA) y PVC.

Figura 6. Características de materiales comunes en matrices reportadas en literatura.

Material	Energía material (mg/kg)	Vida material (años)	Contenido energético (MJ/m ²)	Esperanza de vida (años)	Ventajas	Desventajas
Vidrio	25–28	18–20	310	15.5–17	T-PFRs muestran mayor radio de energía neta que polímeros rígidos, como el polimetil metacrilato (PMMA) (acrílico). Requiere de bajo contenido energético.	Tubos de vidrio son naturalmente delicados y requieren de conexiones al no ser tan largos, de lo contrario son difíciles de transportar y colocar
Polietileno de baja densidad (LDPE)	78–80	3–5	40.5	40–42	Pueden variar en grosor dependiendo de la especie de alga usada.	Factores ambientales como la T, radiación solar y contaminación afectan la esperanza de vida.
Polietileno de alta densidad (HDPE)	131–135	20–22	1456	73–75	Opacidad previene daños por fotooxidación o fotoinhibición.	Soldadura del material presenta dificultades y muestra menor fuerza de tensión.
Acrílico rígido (PMMA)	–	–	–	–	Facilita control sobre cultivo de microalga.	Alto costo de instalación del sistema.
PVC	–	–	–	–	El uso de PVC transparente beneficia al crecimiento del alga. Resistencia a corrosión, no conductividad y construcción de bajo peso.	Rayos UV causan decoloración de superficie del PVC convencional, limitando la penetración de luz al medio.

(Ahmad, *et al*; 2017).

K. Tipos de biorreactor para microorganismos fotosintéticos

1. Sistemas de cultivo con células suspendidas

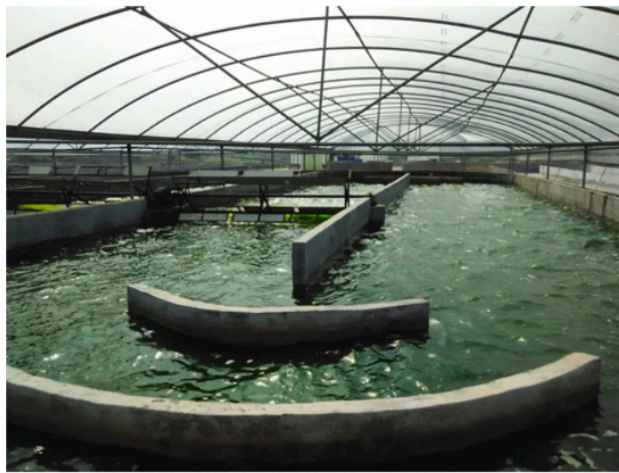
El cultivo en suspensión es la forma más utilizada para el crecimiento de microalgas (Pires, *et al*; 2013). Los sistemas que se utilizan típicamente para el crecimiento de microalgas en suspensión incluyen biorreactores abiertos o cerrados.

a. Sistema de estanque abierto

Los estanques abiertos son los más aplicados para cultivos a escala comercial debido a sus bajos costos de capital y operación. Los sistemas abiertos pueden dividirse en dos categorías: estanques naturales, que incluyen lagos, lagunas y estanques, y estanques o contenedores artificiales. Los sistemas más comúnmente utilizados incluyen estanques circulares con componentes rotativos para mezcla,

estanques de canalización (RP) y estanques grandes y poco profundos. Este tipo de sistemas regularmente están formados por un canal de recirculación de circuito cerrado que suele tener aproximadamente 0.3 m de profundidad y una circulación producida por rueda de paletas (**Figura 7**). El flujo se guía alrededor de las curvas mediante deflectores colocados en el canal de flujo. A pesar de que este tipo de sistemas son menos costosos que los PBR, presentan una baja productividad de biomasa en comparación y menores eficiencias de eliminación de nutrientes en comparación con los PBR cerrados (Qin, *et al*; 2019).

Figura 7. Vista de RP a escala piloto en Instituto de Conversión Energética de Guangzhou, Academia China de Ciencias.



(Qin, *et al*; 2019).

Los estanques abiertos presentan importantes desafíos técnicos como la presencia de competencia y depredación, dada la gran dificultad de mantener un monocultivo de una cepa en un ambiente abierto y al aire libre; la pérdida de agua por evaporación; la fluctuación de temperatura dentro de un ciclo diurno y durante diferentes estaciones; y la utilización menos eficiente del CO₂ que los PBR, debido a pérdidas significativas en la atmósfera (Qin, *et al*; 2019).

b. Fotobiorreactores cerrados

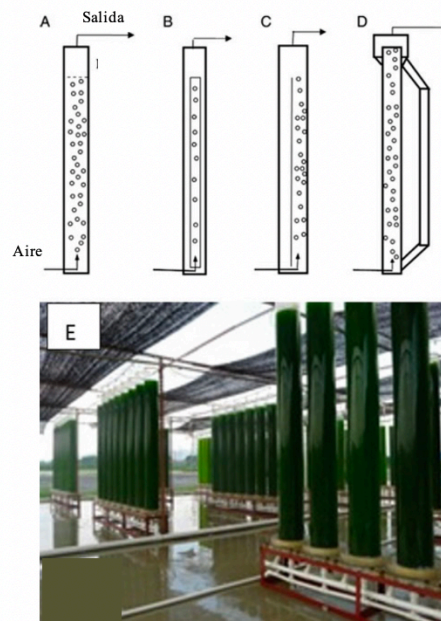
Los fotobiorreactores (PBR) cerrados, que suelen incluir reactores de placa plana y fotobiorreactores tubulares, se desarrollaron para superar los inconvenientes asociados con los sistemas abiertos, evitar la evaporación y contaminación del agua y aumentar la eficiencia de la fotosíntesis (Acién, *et al*; 2017; Gupta, *et al*; 2015; Borowitzka, 1999). Entre estos diseños, los fotobioreactos de placas y tubulares están diseñados para maximizar la captación de luz (cambiando la disposición de los tubos o paneles del reactor orientados al sol) y el intercambio de gases (Qin, *et al*; 2019). Los PBR pueden lograr altas productividades de biomasa debido a un buen control de las variables de cultivo. Se han desarrollado

diferentes PBR, que se pueden clasificar según la geometría del reactor en: PBR de columna vertical (VC-PBR), tubulares (T-PBR) y PBR de panel plano (FP-PBR).

1) Verticales (VC-PBR)

Los VC-PBR se caracterizan por sus altos coeficientes volumétricos de transferencia de gas. Se encuentran disponibles diferentes tipos de VC-PBR, incluidos PBR de columna de burbujas, PBR de transporte aéreo de bucle interno (tubo de tiro), PBR de transporte aéreo de columna dividida y PBR de transporte aéreo de bucle externo (**Figura 8**).

Figura 8. Diagramas de los diferentes tipos de VC-PBR.



(A) diagrama esquemático de PBR con columna de burbujas. (B) PBR con transporte aéreo de circuito interno. (C) PBR con transporte aéreo de columna dividida. (D) PBR con transporte aéreo de circuito externo. (E) PBR con columna de burbujas en Instituto de Conversión Energética de Guangzhou, Academia China de Ciencias (Wang, *et al*; 2012).

Un PBR de columna de burbujas consiste en una columna con un rociador de aire ubicado en su parte inferior. La mezcla se logra con la turbulencia creada por las burbujas de aire que se mueven hacia arriba. El PBR de transporte aéreo de circuito interno generalmente tiene una columna transparente, una columna interna y un rociador de aire. Se introduce aire o aire enriquecido con CO_2 dentro de la columna interna en la parte inferior. Dado que la retención de gas dentro de la columna interna es mucho mayor que la del líquido desgasificado fuera de la columna, se creará un flujo ascendente de la mezcla líquido/gas dentro de la columna interna, mientras que un flujo descendente de líquido desgasificado se genera en el exterior. La ventaja de este es una excelente mezcla, que permite una buena exposición de

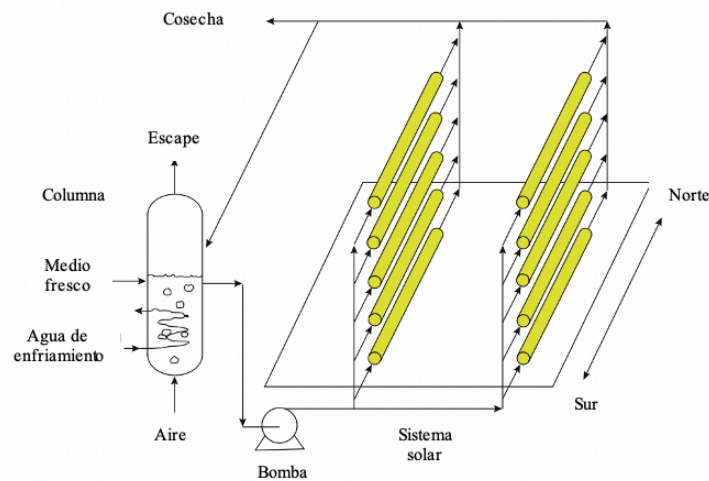
las células a la radiación de luz con un diámetro de columna relativamente grande y una alta densidad de células (Wang, *et al*; 2012).

En un PBR de transporte aéreo de columna dividida, una placa plana divide el diámetro de la columna y la separa en dos partes: las regiones ascendente y descendente. Se introduce aire en la parte inferior de la región del tubo ascendente para llevar el líquido hacia arriba. La separación líquida/gas ocurre en la parte superior de la columna y el líquido desgasificado pesado viaja hacia abajo. La mezcla se realiza con aireación y circulación de líquido. Mientras que, en un PBR de transporte aéreo de circuito externo, la desgasificación se produce en una región de separación de gas/líquido en la parte superior de la columna, y la circulación del líquido desgasificado se logra usando una columna de circulación externa (Wang, *et al*; 2012).

2) Tubulares (T-PBR)

Es una de las configuraciones más populares de PBR. Un T-PBR generalmente incluye una serie de tubos transparentes construidos en diferentes patrones (rectos, doblados o en espiral). Es necesario un diámetro de tubo relativamente pequeño, generalmente 0.1 m o menor, para asegurar una alta productividad de la biomasa. Estos pueden exhibir diferentes orientaciones, incluidas disposiciones horizontales, inclinadas y verticales. El sistema consta de los siguientes componentes: el panel solar para el crecimiento de algas, la unidad de recolección para separar las algas de la suspensión, una columna de desgasificación para el intercambio de gases y enfriamiento (calentamiento), y una bomba de circulación (**Fig. 9**) (Wang, *et al*; 2012).

Figura 9. Diagrama esquemático de un reactor T-PBR horizontal



(Wang, *et al*; 2012).

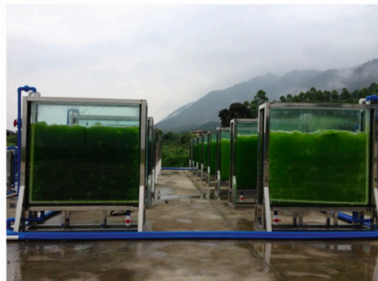
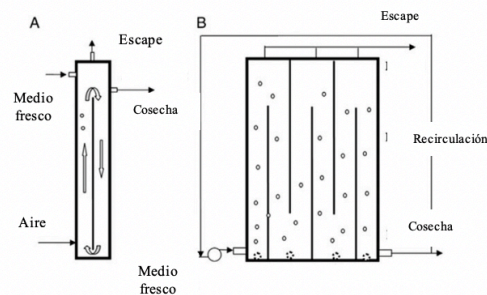
Los T-PBR horizontales pueden proporcionar una relación S/V más alta que sus contrapartes verticales, debido a su capacidad para disminuir el diámetro de los tubos sin considerar la integridad

estructural. Los biorreactores horizontales también presentan un mejor ángulo para la luz incidente en comparación con los reactores tubulares verticales, lo que permite una recolección de luz eficiente. Sin embargo, esta condición también genera una cantidad considerable de calor, que ocasionalmente requiere costosos sistemas de control de temperatura (Richmond, 1987). Este fenómeno provoca especialmente dificultades en términos de ampliación, dado que grandes áreas dificultan el control de la temperatura. A menudo, se incorpora un intercambiador de calor en el diseño para mantener una temperatura adecuada de crecimiento (Watanabe, *et al*; 1995).

3) Paneles planos (FP-PBR)

Los FP-PBR con una trayectoria de luz estrecha se caracterizan por grandes relaciones S/V iluminadas. Estos PBR se pueden orientar en la trayectoria directa de la luz para obtener la máxima exposición a la energía solar. Como se muestra en la **Fig. 10**, estos PBR pueden clasificarse en dos categorías, FP-PBR impulsado por bomba y por aire, de acuerdo con los medios de mezcla. El impulsado por bomba depende del flujo de líquido creado por bombeo para generar la turbulencia necesaria para la mezcla, mientras que el de aire depende del aire comprimido para entregar el poder de mezcla (Qin, *et al*; 2019).

Figura 10. Diagrama de FP-PBR en Instituto de Conversión Energética de Guangzhou, Academia China de Ciencias.



(A) diagrama esquemático de FP-PBR airlift de vista lateral. (B) vista frontal de un FP-PBR impulsado por bomba (Wang, *et al*; 2012).

Los FP-PBR convencionales sufren de deficiencias en el control del flujo de cultivo y de los problemas de ingeniería en la construcción de paneles adecuadamente rentables (Pirt, *et al*; 1983). Para

resolver estos problemas, Tredici, *et al.*; (1991); Tredici y Materassi, (1992) propusieron un PBR de panel alveolar vertical (VAP) hecho de láminas de plexiglás rígido de 1.6 cm de espesor con una transparencia de aproximadamente 95% de fracción visible de radiación solar. Además de los costos de fabricación relativamente económicos, el VAP ofrece ventajas, como una gran relación S/V, flexibilidad y buenas características de mezcla e intercambio de gases. Sin embargo, el control de la temperatura y la inhibición de la luz también son desafíos importantes en el diseño de tales PBR (Wang, *et al.*; 2012).

2. Sistemas de cultivo con células inmovilizadas

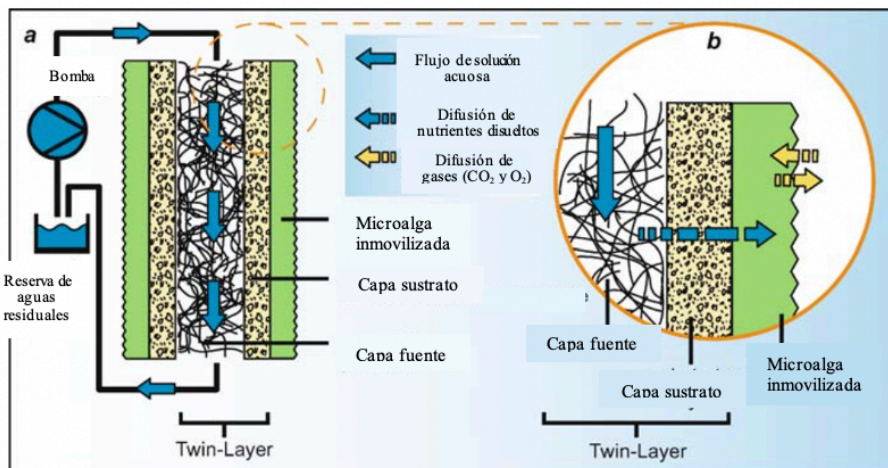
Para superar los problemas asociados con los métodos de recolección que requieren mucho tiempo y energía que se aplican actualmente para la separación de microalgas y cianobacterias, los sistemas de cultivo que requieren la inmovilización de estas han aparecido como una alternativa a los sistemas de cultivo de células en suspensión (Pires, *et al.*; 2013, He y Xue, 2010, Ruiz-Marin, *et al.*; 2010). Según Tampion y Tampion (1987), una célula inmovilizada consiste en una célula que, mediante técnicas naturales o artificiales, no puede moverse de forma independiente a todas partes del sistema acuoso en estudio. La inmovilización natural o pasiva ocurre a través de la capacidad innata de las células de las microalgas y cianobacterias para adherirse a una superficie específica, lo que resulta en la formación de biofilm. Mientras que las técnicas de inmovilización artificial incluyen adsorción, emulsiones líquido-líquido, captura con membranas y atrapamiento dentro de polímeros.

Los métodos más comúnmente usados para la inmovilización de microalgas y cianobacterias incluyen el atrapamiento celular dentro de una matriz polimérica, y la adhesión celular y la formación de biofilms en una superficie sólida (Eroglu, *et al.*; 2015). En la adhesión celular, las células de los microorganismos están confinadas en la matriz polimérica y los sustratos y productos se difunden hacia y desde las células a través de los poros presentes en la matriz. El uso de estos sistemas ya ha demostrado una mejora en la productividad de la biomasa y los pigmentos y el contenido de lípidos (Mallick, 2002; Christenson y Sims, 2011).

a. Fotobiorreactor “twin-layer”

En el sistema de doble capa, las microalgas se inmovilizan por autoadhesión sobre un sustrato húmedo, fino y microporoso (capa de sustrato), contando con una segunda capa de tejido macroporoso (capa fuente) que distribuye el medio de cultivo. Las dobles capas separan eficazmente las microalgas de su medio de crecimiento, pero permiten la difusión de nutrientes (Shi, *et al.*; 2007). Este sistema consta de dos hojas finas, porosas, húmedas y autoadhesivas, orientadas verticalmente para dar lugar a un fotobiorreactor que utiliza la luz solar (**Figura 11**).

Figura 11. Configuración de un sistema twin-layer para el tratamiento de aguas residuales.



(Shi, *et al*; 2007).

En comparación con las técnicas tradicionales de inmovilización celular, que requieren la encapsulación de células en matrices poliméricas (Robinson, *et al*; 1986), en el sistema de doble capa, la inmovilización se logra con la filtración de células usando una membrana. La unidad funcional del sistema, la doble capa orientada verticalmente, se compone de (1) la capa fuente, un tejido fibroso al que se le conecta un flujo continuo de medio de cultivo impulsado por una bomba y (2) la capa de sustrato, un filtro de membrana porosa, sobre el que se inmovilizan las algas. Debido a que los solutos acuosos pueden pasar a través de la capa sustrato, las células inmobilizadas reciben continuamente medio de cultivo de la capa fuente, mientras que las células inmobilizadas se retienen en la superficie expuesta a la luz de la capa sustrato debido a su pequeño tamaño de poro (Nowack, *et al*; 2005).

El sistema Twin-Layer fue desarrollado para el cultivo de microorganismos fotosintéticos inmobilizados. Su característica principal es la separación de los microorganismos inmobilizados de la mayor parte del medio de cultivo usando un material poroso en forma de hoja (por ejemplo, una membrana). Esto permite el suministro de agua y nutrientes a las algas inmobilizadas sin que las células de las algas se pierdan en suspensión (Shi *et al.*, 2007).

L. Tipos de aguas residuales

A pesar de que muchos tipos de aguas residuales contienen carbono, nitrógeno y fósforo que pueden servir como principales fuentes de nutrientes para el crecimiento de microorganismos, el rendimiento del tratamiento difiere significativamente debido a las diferentes composiciones de nutrientes (Zhu, *et al*; 2019). En la **Figura 12** se muestran rangos de concentración de nitrógeno y fósforo de distintas aguas residuales, lo que indica que las composiciones de las aguas dependen en gran medida de las fuentes.

Figura 12. Fuentes de aguas residuales y su rango de concentración de N y P.

Fuente de aguas residuales	N (mg/L)	P (mg/L)	N/P (molar)
<i>Municipal</i>			
Drenaje doméstico	20–85	5–20	11–13
Lixiviados vertederos	112–192	7–9	16–21
Drenaje	24–220	1–12	18–24
<i>Desecho animal</i>			
Cerdos	800–2300	50–320	12–17
Ganado vacuno	63	14	10
Ganado lechero	185	30	4
Aves de corral	800	50	32
<i>Industrial</i>			
Producción de Coca	757	0.5	3000
Curtiduría	273	21	29
Fábrica de papel	11	0.6	41
Textiles	90	18	11
Viñedo	110	52	5
Almidón	49–115	50–385	1–4
Molido de aceitunas	530	182	2.9
<i>Digeridos anaeróbicamente</i>			
Desechos alimenticios	1600–1900	300	
Desechos lácteos	1279–1961	240	6–8
Desecho de aves de corral	1380–1580	370–382	3.6–4.3
Lodos depurados	427–467	134–321	–

Adaptado de (Cai, *et al*; 2013, Gonçalves *et al*; 2017, Christenson & Sims, 2011).

Debido a la presencia de distintos compuestos nitrogenados y fosfóricos, las aguas residuales o efluentes se pueden utilizar como una fuente barata de nutrientes para el cultivo de microorganismos fotosintéticos (Zhu, *et al*; 2019).

1. Municipales

Las aguas residuales municipales son una mezcla formada por una masa de aguas residuales domésticas (80 - 95 %) y una pequeña cantidad de afluentes industriales (5 - 20 %) (Guldhe, *et al*; 2017). Además, la composición de las aguas residuales municipales varía de un lugar a otro, dependiendo en gran medida de las actividades locales. La composición representativa de las aguas residuales municipales contiene materiales orgánicos, nutrientes como nitrógeno y fósforo, compuestos inorgánicos, iones metálicos y microorganismos patógenos (Henze y Comeau, 2008).

La mayoría de las aguas residuales municipales incluyen gran cantidad de nutrientes como amoníaco, fosfato y otros iones metálicos básicos para el crecimiento de microalgas y cianobacterias. Sin embargo, también pueden contener una serie de iones de metales pesados como arsénico, cadmio, cromo, cobre, plomo, etc. Algunos de estos iones metálicos son micronutrientes necesarios para el crecimiento de microorganismos fotosintéticos, mientras que otros no son esenciales y pueden ser tóxicos para el crecimiento de microorganismos cuando sus cantidades alcanzan ciertos niveles (Guldhe, *et al*; 2017). La **Figura 13**, muestra las características comunes en las aguas de tratamiento municipales,

conteniendo este tipo de efluentes menos nitrógeno y fósforo en comparación a las aguas residuales agrícolas e industriales.

Figura 13. Características y rango de contenidos típicos de aguas residuales municipales.

Parámetros	Valores
COD	300 – 900 mg/L
BOD	140 – 350 mg/L
N total	30 – 100 mg/L
NH ₃ -N	20 – 75 mg/L
NO ₃ -N+ NO ₂ -N	0.1 – 0.5 mg/L
N orgánico	10 – 25 mg/L
N total Kjeldahl	30 – 100 mg/L
P total	6 – 25 mg/L
Orto P	4 – 15 mg/L
P orgánico	2 – 10 mg/L
TSS	25 – 600 mg/L
VSS	200 – 480 mg/L
pH	7 – 8
Alcalinidad	1 – 7 Eqv/m ³
Aluminio (Al)	350-1000 µg/L
Cadmio (Cd)	1 – 4 µg/L
Cromo (Cr)	10 – 25 µg/L
Cobre (Cu)	30 – 70 µg/L
Plomo (Pb)	25 – 80 µg/L
Mercurio (Hg)	1 – 3 µg/L

(Guldhe, *et al*; 2017).

2. Agricultura

En términos generales, la agricultura es el mayor consumidor de agua y un importante contribuyente en la contaminación del agua. Las aguas residuales agrícolas incluyen principalmente estiércol animal, tallos de cultivos, cáscaras y hojas, entre otros. (Guldhe, *et al*; 2017). A medida que la escala de los campos cambió de pequeña a grande, los desechos generados por la alimentación animal, incluidos el ganado y las aves de corral, se han convertido en una fuente puntual primaria de contaminación, debido a su materia orgánica y nutrientes espacialmente intensivos. Por lo general, el amonio ocupa casi la mitad del nitrógeno total en las aguas residuales animales, mientras que el nitrógeno orgánico representa la otra.

Muchos factores, como la dieta animal, la edad, la productividad, el manejo y el sitio, influirían fuertemente en el contenido de nutrientes en los desechos animales (Cai, *et al*; 2013). Cabe señalar que la relación N/P suele ser de 2 a 8 para las aguas residuales de las explotaciones lecheras, porcinas y ganaderas (Cai, *et al*; 2013).

Los problemas asociados con el cultivo de microalgas y cianobacterias utilizando aguas residuales agrícolas incluyen (i) una concentración de nutrientes considerablemente mayor o menor (Chen, *et al*; 2015), (ii) menor concentración de carbono para la asimilación de estos microorganismos (Zhou, *et al*; 2014), (iii) aumento de la turbidez que detiene la penetración de la luz solar (Olguín, 2012; Sahu, *et al*; 2013), y (iv) uso riguroso de insecticidas, pesticidas, antibióticos y otros químicos tóxicos que potencialmente inhibirían el crecimiento de microalgas y cianobacterias (Zhu, *et al*; 2019).

3. Industriales

Diferentes industrias o sectores pueden producir distintos contaminantes que generan varios tipos de aguas residuales industriales. En general, la composición de las aguas residuales industriales varía según las actividades de la fuente de manera más significativa que las aguas residuales agrícolas (Chiu, *et al*; 2015). Este tipo de aguas generalmente contiene altos niveles de compuestos orgánicos e inorgánicos e incluso posibles inhibidores. Las aguas residuales provenientes de industrias tienen niveles inusualmente incrementados de demanda biológica de oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DQO) y sólidos suspendidos totales (TTS) (Kong, *et al*; 2010). Además, la mayoría de las aguas residuales industriales contiene una alta concentración de metales pesados y muy poca concentración de nutrientes (N y P) (Ahluwalia y Goyal, 2007). Por lo tanto, se considera que las aguas residuales industriales no son adecuadas para el crecimiento de microalgas o cianobacterias debido a sus constituyentes de nutrientes desequilibrados y contaminantes tóxicos, y no pueden ser empleadas como medio nutritivo para el crecimiento de biofilms microbianos de estos filos.

De acuerdo con esto, para aprovechar los microorganismos fotosintéticos de manera más efectiva en el tratamiento de aguas residuales, las características de las aguas residuales deben evaluarse antes de ser tratadas. La relación N/P de las aguas residuales, como uno de los indicadores más importantes, afecta en gran medida la producción de biomasa y la absorción de nutrientes. De acuerdo con la composición de microorganismos fotosintéticos, las proporciones molares N/P inferiores a 5:1 resultarían en limitación de nitrógeno, mientras que las proporciones molares N/P superiores a 30:1 conducirían a deficiencia de fósforo (Zhu, *et al*; 2019).

M. Tratamiento de aguas residuales

Las aguas residuales se originan a partir de residuos humanos y domésticos, desechos industriales, desechos animales e infiltraciones de aguas subterráneas. Las aguas residuales constan de un 99.9 % de agua en masa, donde el 0.1 % restante es material disuelto o en suspensión. Estos materiales sólidos consisten en una mezcla de excrementos, detergentes, restos de comida, grasas, aceites, sales, plásticos, metales pesados y arenas (Lin, 2007)

Posterior al tratamiento primario, es decir el tratamiento físico de las aguas residuales, aún existen grandes cantidades de material disuelto y coloidal que deben ser eliminadas antes de la descarga. El inconveniente en esto es la transformación de las partículas que son demasiado pequeñas para la sedimentación en partículas de mayor tamaño con las que puedan emplearse procesos de separación para eliminarlos. Esto puede lograrse usando un tratamiento secundario, también conocido como tratamiento biológico, en donde se realiza una eliminación de sólidos suspendidos usando microorganismos como algas, hongos o bacterias aeróbicas o anaeróbicas, con las cuales la materia orgánica de las aguas se oxida o se incorpora a células que pueden ser eliminadas luego por procesos de remoción o sedimentación.

Luego en el tratamiento químico o tratamiento terciario, los materiales químicos reaccionarán con una parte de las sustancias químicas no deseadas y con los metales pesados, pero una parte del material contaminante no se verá afectada. Además, el costo de los aditivos químicos y el problema ambiental de la eliminación de grandes cantidades de lodos químicos, hacen que este tratamiento pueda llegar a ser deficiente (Gray, 2005).

1. Pretratamiento

El objetivo de un tratamiento preliminar consiste en la eliminación de sólidos pesados y otros materiales de mayor tamaño que a menudo se encuentran en las aguas residuales crudas. Este ayuda a eliminar o reducir en tamaño los sólidos arrastrados, suspendidos o flotantes. Este tipo de sólidos pueden ser trozos de madera, tela, papel, plásticos, entre otros, junto con cierta materia fecal. También se remueven sólidos inorgánicos pesados como arena y concreto, así como metal, vidrio y cantidades excesivas de aceites o grasas (Sonune y Ghate, 2004).

2. Tratamiento primario

Está diseñado para eliminar sólidos orgánicos e inorgánicos usando procesos físicos de sedimentación y flotación. En esta etapa, aproximadamente se reduce o elimina el 25 - 50 % de la demanda de oxígeno bioquímica (DBO) entrante, el 50 - 70 % del total de sólidos en suspensión y el 65% de aceites o grasas. De igual forma, el nitrógeno y fósforo orgánico, al igual que los metales pesados asociados con sólidos, se eliminan durante la sedimentación primaria, pero los constituyentes coloidales y disueltos no se ven afectados (Sonune y Ghate, 2004).

La función del tratamiento primario es eliminar la mayoría de los sólidos suspendidos como sea posible. Este utiliza clarificadores o tanques de sedimentación que permiten remover sedimentos orgánicos e inorgánicos de las aguas residuales. El efluente saliente de este tratamiento, por lo tanto, contiene principalmente sólidos orgánicos e inorgánicos coloidales y disueltos. Los estándares de efluentes y de calidad del agua requieren una mayor remoción de compuestos orgánicos de las aguas

residuales comparada con la que se logra con el tratamiento primario, razón por la cual esta eliminación adicional se obtiene con un tratamiento secundario (Sonune y Ghate, 2004).

3. Tratamiento secundario

Siendo el tratamiento posterior al primario, este tiene como objetivo eliminar los residuos orgánicos e inorgánicos del efluente proveniente del primer tratamiento. El proceso secundario consiste en el tratamiento biológico de las aguas residuales con la utilización de microorganismos en un ambiente controlado. Para este tratamiento se emplea procesos biológicos aeróbicos que difieren principalmente en la forma en que se suministra oxígeno a los microorganismos y en la velocidad a la que los organismos metabolizan la materia orgánica (Sonune y Ghate, 2004).

El tratamiento primario y secundario se encarga de eliminar la mayoría de DBO y los sólidos en suspensión que se encuentran en las aguas residuales. Sin embargo, en un número de casos cada vez mayor, este nivel de tratamiento ha demostrado ser insuficiente para proteger las aguas receptoras o para proporcionar agua capaz de ser reutilizada como reciclaje industrial o doméstico. Por esta razón, se han agregado pasos adicionales a las plantas de tratamiento, siendo ubicados como un tratamiento terciario, con el fin de proporcionar una mayor eliminación de nutrientes y materiales tóxicos encontrados en compuestos orgánicos (Sonune y Ghate, 2004).

4. Tratamiento terciario

Es conocido como un tratamiento avanzado de aguas residuales, siendo un proceso diseñado para producir un efluente de mejor calidad respecto a la baja presencia de contaminantes, que la obtenida normalmente después de un proceso de tratamiento secundario, empleando operaciones unitarias diferentes. Las adiciones al tratamiento pueden ser tan simples como agregar un filtro para la eliminación de sólidos suspendidos o tan complejas como la adición de varios procesos unitarios para la remoción de sólidos suspendidos, nitrógeno y fósforo. Dentro de este, también pueden incluirse tratamientos fisicoquímicos, en donde procesos biológicos y fisicoquímicos son combinados para obtener las concentraciones requeridas en el efluente. Este tipo de procesos son usualmente empleados para aumentar la remoción de sólidos orgánicos suspendidos, la remoción de la demanda de oxígeno nitrogenado (NOD), remoción de nutrientes y remoción de sustancias tóxicas (Sonune y Ghate, 2004).

Los principales tratamientos terciarios empleados en las industrias son la adsorción usando carbón activado, intercambio iónico, filtración por membrana (ultrafiltración u ósmosis inversa), oxidación avanzada y humedales artificiales (CW). La mayoría de CW son empleados para tratamiento de aguas residuales domésticas y municipales. Sin embargo, la diversidad de configuraciones que presenta las hace versátiles para su implementación en el tratamiento de efluentes industriales (Crini y Lichtfouse, 2018).

VI. ANTECEDENTES

El Lago de Atitlán es una fuente de recursos económicos, alimenticios y de trabajo, siendo utilizado como fuente de agua para muchas de las comunidades establecidas a su alrededor. Sin embargo, el crecimiento poblacional y las diferentes actividades humanas, principalmente la descarga de aguas residuales municipales, han resultado en un aumento de las concentraciones de nutrientes, específicamente de nitrógeno y fósforo. De igual forma han llevado a un aumento de la temperatura del agua, favoreciendo estas condiciones al crecimiento de las microalgas y cianobacterias en el lago (Dix, *et al*; 2012). Esta adición de nutrientes en los cuerpos de agua debe ser observada y monitoreada constantemente debido a que la productividad primaria en los lagos, siendo la captación de energía por parte de microorganismos fotosintéticos, está influenciada y limitada a menudo por el nitrógeno y el fósforo (Roldán y Ramírez, 2008).

De acuerdo con el informe “Monitoreo limnológico 2019” (AMSCLAE, 2019), la temperatura en la capa superficial de 30 m osciló entre 22 y 24 °C, y por debajo de esta, se presentan temperaturas por debajo de los 21 °C. A su vez, las concentraciones de nutrientes en el lago son relativamente bajas (<0.26 mg/L). El bajo contenido de nutrientes en la superficie indica que el estrato biológicamente activo se sitúa en los primeros 30 m de profundidad, lo cual es respaldado por la clorofila α (pigmento verde en microalgas) y la ficocianina (pigmento azul en cianobacterias), funcionando como indicadores de las densidades de microorganismos en el ensamble de fitoplancton. En ambos pigmentos, la mayor concentración se distribuye en la superficie, en los primeros 30 m de profundidad que es donde ocurren los procesos de fotosíntesis y hay penetración de luz.

De igual forma, AMSCLAE, (2019) indica que el oxígeno disuelto en la superficie osciló entre 4 a 7 mg/L, y por debajo de los 30 m de profundidad, el oxígeno disminuyó a 2 o 3 mg/L. La mayor concentración de oxígeno en la capa superficial puede ser debido a un contacto directo con la atmósfera, la acción de vientos y otras fuerzas generadoras de turbulencia (Lampert y Sommer, 2007), así como por los procesos fotosintéticos del fitoplancton. Además, que en las capas profundas hay un mayor consumo de oxígeno disuelto por parte de bacterias al no presentan actividad fotosintética.

El fitoplancton registrado en el 2019 se divide en cinco filos: Dinophyceae, Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Charophyceae y Cyanophyceae (AMSCLAE, 2019). Entre los estudios realizados para la evaluación de remoción de nutrientes por parte de especies individuales de cada uno de estos filos, Aquino-Cruz y Okolodkov, (2016) presentan el estudio de dinoflagelados *A cf. carterae* y *C. monotis*; Abou *et al*; (2013) el estudio de la diatomea *N. pusilla* y las clorofitas *C. mexicana* y *S. obliquus*; Karthikeyan, *et al*; (2013) de las diatomeas *C. simplex* y *C. curvisetus*; Ajala *et al*; (2020) de las clorofitas *S. obliquus*, *C. vulgaris* y *O. minuta*; González, *et al*; (2008) de la clorofita *C. sorokiniana*; Gonçalves,

et al; (2016) de la clorofita *P. subcapitata* y de las cianobacterias *S. salina* y *M. aeruginosa*; Kufel y Kufel, (2002), y Królikowska, (1997) de las carofitas *Ceratophyllum demersu* y *Chara aculeolata*; Chevalier, *et al;* (2000) de las cianobacterias *P. bohnerei* y *P. tenue*; y Hu, *et al;* (2000) de la cianobacteria *Synechococcus sp.*

Las aguas residuales municipales están compuestas de material orgánico, es decir proteínas, carbohidratos, grasas y aceites; al igual que por nutrientes, principalmente nitrógeno y fósforo (Bitton, 2005). Entre las etapas del tratamiento preliminar, primario y secundario en aguas residuales municipales, los efluentes en el proceso secundario se consideran el medio más adecuado para el cultivo de microorganismos fotosintéticos debido a su menor concentración en metales pesados, presencia de carbono inorgánico y competencia por los nutrientes con carga bacteriana (Guldhe, *et al;* 2017). De igual forma, los efluentes secundarios municipales cuentan con la composición y los requerimientos nutricionales que permiten el desarrollo de microalgas y cianobacterias, las cuales, al consumir carbono, nitrógeno y fósforo como nutrientes esenciales, y otros componentes iónicos como potasio, hierro, calcio y magnesio, dan origen al tratamiento terciario y a la producción de biomasa microbiana (Pittman, *et al;* 2011, Cabanelas, *et al;* 2013, Umamaheswari y Shanthakumar. 2016).

De acuerdo con Zhu, *et al;* (2019), la relación N/P de las aguas residuales, como uno de los indicadores más importantes, afecta en gran medida la producción de biomasa y la absorción de nutrientes. De acuerdo con la composición de microorganismos fotosintéticos, las proporciones molares N/P inferiores a 5:1 resultarían en limitación de nitrógeno, mientras que las proporciones molares N/P superiores a 30:1 conducirían a deficiencia de fósforo (Zhu, *et al;* 2019). Por esta razón, con relaciones molares N/P de 9:1, 11:1 y 14:1, la industria porcina, las aguas residuales domésticas, así como los desechos de la industria láctea se consideran las más apropiadas para el crecimiento de microalgas y cianobacterias (Gonçalves *et al;* 2017).

Los métodos actuales tradicionales utilizados para la recolección de microalgas incluyen floculación química, sedimentación gravitacional, filtración y centrifugación (Milledge y Heaven, 2013). Sin embargo, estos métodos consumen mucho tiempo y pueden resultar costosos (Barros, *et al;* 2015). En este sentido, los sistemas de inmovilización se desarrollaron como una alternativa adecuada, ya que evitan pasos adicionales de recuperación de biomasa del efluente. Los biofilms de microalgas y cianobacterias han ganado especial atención en los sistemas de tratamiento de aguas residuales, ya que pueden promover una recolección rápida y eficiente de biomasa, reducen las emisiones de CO₂ asociadas a las plantas de tratamiento de aguas residuales, remueven los metales pesados de forma más segura, permiten la obtención de un efluente oxigenado y el reciclaje de nitrógeno y fósforo dentro de la biomasa (Aslan y Kapdan, 2006).

El tratamiento biológico de aguas residuales con sistemas de biofilm presenta la ventaja de flexibilidad operativa, bajos requisitos de espacio, menor tiempo de retención hidráulica, resistencia a cambios en el ambiente y una alta concentración de biomasa en comparación a los sistemas de crecimiento suspendido (Lazarova y Manem, 2000; Chen y Chen, 2000). Los biofilms utilizados en el tratamiento de aguas residuales aprovechan una serie de mecanismos de eliminación como la degradación biológica, la bioacumulación y la biomineralización (Ødegaard, *et al*; 2000).

De acuerdo con el Acuerdo Gubernativo No. 236-2006, en el Artículo 20 “Límites máximos permisibles de descargas de aguas residuales a cuerpos receptores” (**Figura 14**), la temperatura máxima para el 2020 es de TCR +/- 7 °C, la concentración máxima de nitrógeno total es de 25 mg/L y la concentración máxima de fósforo total de 15 mg/L.

Varios estudios se han enfocado en la remoción de nutrientes de aguas residuales empleando biofilms con consorcios de microorganismos fotosintéticos en diferentes sistemas de cultivo. Entre los materiales utilizados para la matriz se encuentra el poliéster de baja densidad, utilizado por Zamora, *et al*; (2007) con un consorcio de cianobacterias y diatomeas en un fotobioreactor de vidrio; acero inoxidable, empleado por Blanken, *et al*; (2014) para un biofilm de clorofitas en un fotobioreactor de disco; vidrio, empleado por Irving y Allen, (2011) con biofilm de clorofitas en una cámara de polimetilmetacrilato; PVC, usado por Wei, *et al*; (2008) para un consorcio de clorofitas y cianobacterias en una cámara de plexiglass; nylon, utilizado por Mulbry, *et al*; (2008) para consorcio de clorofitas en un depurador de algas (ATS) a escala laboratorio; y polietileno, usado por Mulbry y Wilkie, (2001) y Kebede-Westhead, *et al*; (2006) para un biofilm de clorofitas en un ATS a escala laboratorio, y por Boelee, *et al*; (2014) con un biofilm de diatomeas, clorofitas y cianobacterias en un fotobiorreactor twin-layer.

VII. RESULTADOS

Cuadro 1. Caracterización de especies de fitoplancton presentes en el agua del Lago de Atilán entre años 2013-2019.

Filo	Especie	Morfología	Actividad bioquímica	Hábitat	Referencia
Dinophyceae	<i>Ceratium hirundinella</i>	Algas móviles unicelulares. Pared celular llamativa con espinas. Cuerno grande en epiteca y dos o tres cuernos en hipoteca.	Asimilación de fósforo orgánico (ventaja sobre otras especies) y fósforo inorgánico.	Cuerpos eutróficos de agua cálida o templada. Presencia común en aguas ricas en calcio.	Hutchinson, 1957. Wetzel, 1983. Silverio, <i>et al</i> ; 2009. Van Ginkel, <i>et al</i> ; 2001.
[a]Bacillariophyceae (Diatomea)	<i>Aulacoseira granulata</i>	Frústulos cilíndricos con manto recto y cara valvar plana con posibles poros distribuidos irregularmente. Cara valvar presenta espinas marginales permitiendo la formación de cadenas o filamentos cortos.	Producción de altas concentraciones de sílice. Especie influenciada positivamente por la velocidad del viento, irradiación solar y clorofila a. Siendo diatomea, le favorecen los vientos fuertes, por turbulencia.	Aguas moderadamente eutróficas, ricas en carbonatos. Presentes en ambientes dulceacuícolas de zonas templadas, lagos alcalinos y tolerante a alta turbidez. Población aumenta en temporada cálida y disminuye en invierno.	Gómez, <i>et al</i> ; 1995. Kilham, 1975. Ochaeta, 2014. Silver y Kling, 1997.
[b]Chlorophyta	<i>Sphaerocystis sp.</i>	Brazos espinosos dificultan el ataque de sus depredadores y ayudan a sostener su cuerpo en superficie del agua donde pueden recibir luz solar.	Forman colonias mucosas macroscópicas, que nadan en el agua o se fijan al sustrato. Capaces de producir mucílagos, provocando acumulación de células.	Altamente influenciadas por amonio, por preferencia como fuente de nitrógeno. Se desarrolla de forma más frecuente en aguas eutróficas de zonas templadas o zonas subtropicales.	Ferroni <i>et al</i> ; 2007. Ochaeta, 2014. Wiltshire, <i>et al</i> ; 2003.
	<i>Botryococcus braunii</i>	Microalga fotosintética unicelular. Pared celular gruesa impregnada con aceite. Pared celular con capa fibrilar interna y una cubierta trilaminar externa (TLS), como se observa en otras algas verdes.	Producen gran cantidad de hidrocarburos. Conformada por colonias irregulares con células unidas entre sí por pedúnculos o ramas gelatinosas, formadas por paredes celulares maternas viejas.		Banerjee, <i>et al</i> ; 2002. Hutchinson, 1967. Largeau, <i>et al</i> ; 1980.
	<i>Coelastrum sp.</i>	Forma esférica, de 3 a 8 µm, no móvil (sin flagelos). Densamente alineadas, generalmente con espacios entre intersección de paredes. Células unidas en bordes por placas especializadas en pared. Cloroplastos simples y parietales con pirenoide simple.	Tolera un amplio rango de salinidades, hasta concentraciones en el océano de 500 mN NaCl. Capaz de producir carotenoides bajo condiciones limitantes.		Michael, 2020. Mousavi, <i>et al</i> ; 2018. Rauytanapanit, 2019.
	<i>Pediastrum sp.</i>	Cenobios planos, circulares o irregularmente ovales. Formaciones	Pared celular con altas concentraciones de sílice.		Komárek y Jankovská, 2001.

Filo	Especie	Morfología	Actividad bioquímica	Hábitat	Referencia
		periféricas como cuernos. Células en cenobio ordenadas en círculos concéntricos, o espiral. Células aplanadas, fuertemente unidas por sus lados o con espacios entre ellas. Pared celular de material orgánico muy resistente, capaz de fosilización.	Presentan redes cristalinas de D-glucosa unidas a redes de D-manosa organizadas en estructuras.		Millington y Gawlik, 1967.
	<i>Oocystis sp</i>	Aisladas o en colonias de 2, 4, 8 a numerosas células. Pared celular, total o parcialmente gelatinizada, incolora, unida a células, formando envoltura sencilla o estratificada. Forma elipsoidal, ovalada o esférica, pared celular lisa, donde polos pueden estar engrosados en una papila. En ocasiones, es visible pequeño canal atravesando la papila polar.	Capaces de acumular y secuestrar cobre en los tilacoides; adsorción de cobre a superficies de las células, representan un importante mecanismo de tolerancia en la especie.		Komárek y Fott, 1983. Soldo, <i>et al</i> ; 2005.
Charophyta	<i>Mougeotia sp.</i>	Forman filamentos uniseriados que a veces se unen a un sustrato sólido con excreciones como rizoides de algunas células basales. Células cilíndricas más largas que anchas y contienen un solo cloroplasto (rara vez dos) tipo cinta axial.	Hidrofitas, generan gran cantidad de biomasa en corto período de tiempo, favorecen producción de O ₂ y consumo de Ca. Formación del depósito de calcio extracelular es producto de acumulación de HCO ₃ ⁻ durante la fotosíntesis.	Ampliamente reportadas y comunes en lagos, estanques y ríos. Ocasionalmente forma flores en zona litoral de lagos en proceso de acidificación. Retienen sedimentos, permitiendo disminuir turbidez del agua.	Gerrath, 2003. McConnaughey, 1991. Turner, <i>et al</i> ; 1995.
^[c] Cyanophyceae (Cianobacteria)	<i>Limnorphis robusta</i>	Coloración pardo-rojiza en interior celular, carotenoides cubren evidentemente al resto de pigmentos. Filamentos relativamente anchos (8–35 µm) compuestos de tricomas cilíndricos con células pequeñas (generalmente más cortas que anchas).	Oscilatorias, sin heterocitos, capaces de fijar nitrógeno. Fijación ocurre en la noche, actividad nitrogenasa es reforzada por adición de fósforo y hierro. Cobertura firme y agrupación en películas, induce condiciones favorables para fijación de nitrógeno. Especie productora de toxinas.	Aguas oligo-mesotróficas con alta presencia de fósforo. Habitan en agua dulce o salobre, población aumenta durante meses más cálidos en lagos y embalses eutróficos.	Komárek <i>et al</i> ; 2013. Rejmánková, <i>et al</i> ; 2011.

Filo	Especie	Morfología	Actividad bioquímica	Hábitat	Referencia
	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Colonias celulares inicialmente esféricas y con el tiempo irregulares. Colonias pueden flotar libremente o estar compuestas por subcolonias.	Capaces de sintetizar microcistinas (MCs), grupo de toxinas heptapéptidas cíclicas causantes de daños a la salud humana y animal. Tóxicas para el zooplancton herbívoro.		Chunni, <i>et al</i> ; 2019. Rinehart, 1994. Utkilen, 1996.
	<i>Aphanizomenon sp.</i>	Filamentosa, formadora de colonias, fijadora de N ₂ . Vesículas de gas dentro de filamentos hacen que tengan flotabilidad positiva para alcanzar altas intensidades de luz en superficie del agua, donde obtienen energía necesaria para fijación de N ₂ a través de fotosíntesis.	Cubren demanda de nitrógeno por fijación de N ₂ , en ausencia de fuentes de nitrógeno. Crecimiento limitado por disponibilidad de fosfato. Al agotar almacenamiento, floraciones terminan. Dominante por capacidad de inducir limitación de fósforo en otras especies de fitoplancton, aumentando disponibilidad de fosfato para sí mismo, liberando cilindrospermopsina.		Moisander, <i>et al</i> ; 2003. Rolff, <i>et al</i> ; 2007. Walsby, <i>et al</i> ; 1997. Yehonathan, <i>et al</i> ; 2010.

*Filos y especies de microalgas obtenidos de AMSCLAE, (2019) y Martínez, (2018).

Notas: **[a]** Filo dominante de fitoplancton durante el período 2017-2019. Género *Aulacoseira sp.* presentó la mayor abundancia. Segundo filo con mayor diversidad de especies. Alta presencia puede encontrarse asociada a que estos organismos prefieren aguas a temperaturas bajas y presencia de viento (Ochaeta, 2014). El Lago de Atitlán presenta en sus primeros 30 metros, una temperatura promedio de 21.8°C y está altamente influenciado por viento proveniente tanto del norte como del sur (DICA/AMSCLAE, 2018). **[b]** Filo con mayor diversidad de especies. Se encuentran asociadas a altas concentraciones de nutrientes y aguas más cálidas. **[c]** Segundo filo dominante en el lago, luego de diatomeas. Géneros más abundantes fueron *Limnorphis sp.* y *Aphanizomenon sp.* Segundo filo con mayor diversidad de especies.

Cuadro 2. Condiciones de temperatura y pH favorables para remoción de nutrientes por filos de fitoplancton presentes en el agua del Lago de Atitlán.

[a]Filos	[b]Rango de temperatura (°C)	[b]Rango de pH	Referencia
Dinoflagellata	15 - 25	7.8 - 9.3	Van Ginkel, <i>et al</i> ; 2001. Buck, 1989.
Bacillariophyceae	17 - 21.9	8.11 - 8.25	Gómez, <i>et al</i> ; 1995.
Chlorophyta	21 - 30	7.3 – 8.9	Banerjee, <i>et al</i> ; 2002. Bazán, <i>et al</i> ; 2012. Fanés, 2008.
Charophyta	18 - 24	8.3 – 8.8	Lara, 2014.
[c] Cyanobacteria	25 - 32	8 - 11	Watanab, 1985. Zehnder y Gorham, 1960.

*Celdas sombreadas indican los filos de fitoplancton seleccionados para el biofilm microbiano en este trabajo.

Notas: [a] Se presenta la división de fitoplancton por filos, al no encontrar información bibliográfica respecto a las especies identificadas en el Lago de Atitlán.
[b] Valor más adecuado dependerá de la especie empleada, razón por la que se presenta un rango de condiciones que abarque posibles variaciones dentro del filo.
[c] Se encuentran asociadas con altas concentraciones de nutrientes, aguas más cálidas y se ven favorecidas por un aumento de la radiación solar y por la presencia de poco viento (Bellinger y Sigee, 2010; Ochaeta, 2014).

Cuadro 3. Remoción de fósforo, nitrógeno y azufre empleando distintas especies de fitoplancton presentadas en distintos estudios.

[a] Filo	Remoción fósforo	Remoción nitrógeno	Remoción azufre	[b] Condiciones/parámetros	[c] Comentarios respecto a evaluación de parámetros	Referencia
Dinoflagellata	93.1%	35.6%	N/A	Especie <i>A. cf. carterae</i> . 30 días de tiempo de cultivo. Se evaluó a 5, 10, 15, 20, 25 y 30 °C. [d]Irradiancia de 35-70 μmol fotones/ m^2s bajo fotoperiodo de 12:12 h (luz/oscuridad).	Alto consumo de nutrientes con aumento de temperatura, con mayores porcentajes a 25 °C (presentados a la izquierda). Menor consumo de nutrientes a 30 °C. Conc. de N disminuyó de 870 $\mu\text{mol/L}$ a 560 $\mu\text{mol/L}$ y P de 29 $\mu\text{mol/L}$ a 2 $\mu\text{mol/L}$. Consumo de nutrientes en crecimiento celular en Figura 15 .	Aquino-Cruz y Okolodkov; 2016.
	93.9%	19.1%	N/A	Especie <i>C. monotis</i> . 30 días de tiempo de cultivo. Se evaluó a 5, 10, 15, 20, 25 y 30 °C. Irradiancia de 35-70 μmol fotones/ m^2s bajo fotoperiodo de 12:12 h (luz/oscuridad).	Alto consumo de nutrientes con aumento de temperatura, con mayores porcentajes a 15 °C (presentado a la izquierda), y menores a 30 °C. Conc. de N disminuyó de 940 $\mu\text{mol/L}$ a 760 $\mu\text{mol/L}$ y P de 33 $\mu\text{mol/L}$ a 2 $\mu\text{mol/L}$. Consumo de nutrientes en crecimiento celular en Figura 16 .	
Bacillariophyceae	52.6%	19.6%	N/A	Especie <i>N. pusilla</i> . 20 días de tiempo de cultivo en sistema por lotes. pH de 8.4 y 27 ± 1.0 °C. Iluminación continua con irradiancia de 40 $\mu\text{mol/m}^2\text{s}$	Reducción de conc. de P total de 13.5 ± 0.6 mg/L a 6.4 mg/L y N total de 56 ± 2.0 mg/L a 45 mg/L. Remoción de P y N en Figura 17 y Figura 18 respectivamente.	Abou, <i>et al</i> ; 2013.
	98.5%	97.86%	N/A	Especie <i>C. simplex</i> . 7 días de tiempo de cultivo. 24 ± 2.0 °C. Intensidad de luz de 4,500 [e]lx a fotoperiodo de 14 h 1:8 (luz/oscuridad).	Determinación de remoción de N y P con distintas fuentes de N. Conc de N disminuyó de 20.5 mg/L a 0.4 mg/L y la de fosfato disminuyó de 1.3 mg/L a 0.02 mg/L. Mayor porcentaje de remoción al usar urea (fuente de N). Remoción de nutrientes en Figura 19 .	Karthikeyan, <i>et al</i> ; 2013.
	100%	91.62%	N/A	Especie <i>C. curvisetus</i> . 7 días de tiempo de cultivo. 24 ± 2.0 °C. Intensidad de luz de 4,500 lx a fotoperiodo de 14 h 1:8 (luz/oscuridad).	Determinación de remoción de N y P con distintas fuentes de N. Conc. de N disminuyó de 20.4 mg/L a 1.7 mg/L y la de fosfato disminuyó de 1.3 mg/L a 0.0 mg/L. Mayor porcentaje de remoción al usar o urea (fuente de N). Remoción de nutrientes en Figura 19 .	

[a]Filo	Remoción fósforo	Remoción nitrógeno	Remoción azufre	[b]Condiciones/parámetros	[c]Comentarios respecto a evaluación de parámetros	Referencia
Chlorophyta	90.1%	69.3%	14.8%	Especie <i>S. obliquus</i> . 14 días de tiempo de cultivo en sistema por lotes. pH de 8.50±0.22 y 22.2±0.3 °C. Intensidad de luz de 30,600 lx con 12:12 h (luz/oscuridad).	Para fosfato (PO ₄ ³⁻) se presenta 14.3±1.8 mg/L y 1.4±0.3 mg/L de conc. inicial y final respectivamente, para nitrato (NO ₃ ⁻) 118.3±2.9 mg/L y 36.3±1.8 mg/L, y para sulfato (SO ₄ ²⁻) 488.6±3.1 mg/L y 416.1±20 mg/L. Conc. de nutrientes del medio en Figura 20 , bajo Caso 1.	Ajala, <i>et al</i> ; 2020.
	87.3%	93.1%	12%	Especie <i>C. vulgaris</i> . 14 días de tiempo de cultivo en sistema por lotes. pH de 8.50±0.22 y 22.2±0.3 °C. Intensidad de luz de 30,600 lx con 12:12 h (luz/oscuridad).	Para fosfato (PO ₄ ³⁻) se presenta 14.2±1.3 mg/L y 1.8±0.3 mg/L de conc. inicial y final respectivamente, para nitrato (NO ₃ ⁻) 111.0±6.0 mg/L y 7.7±2.2 mg/L, y para sulfato (SO ₄ ²⁻) 487.9±7.5 mg/L y 429.5±5.1 mg/L. Conc. de nutrientes del medio en Figura 21 , bajo Caso 1.	
	99.6%	85.7%	10.0%	Especie <i>O. minuta</i> . 14 días de tiempo de cultivo en sistema por lotes. pH de 8.50±0.22 y 22.2±0.3 °C. Intensidad de luz de 30,600 lx con 12:12 h (luz/oscuridad).	Para fosfato (PO ₄ ³⁻) se presenta 15.5±5.3 mg/L y 0.1±0.1 mg/L de conc. inicial y final respectivamente, para nitrato (NO ₃ ⁻) 141.6±13.7 mg/L y 20.3±5.6 mg/L, y para sulfato (SO ₄ ²⁻) 449.6±20.7 mg/L y 404.8±6.2 mg/L. Conc. de nutrientes del medio en Figura 22 , bajo Caso 1.	
	62.2%	62.5%	N/A	Especie <i>C. mexicana</i> . 20 días de tiempo de cultivo en sistema por lotes. pH de 8.4 y 27±1.0 °C. Iluminación continua con irradiancia de 40 µmol/m ² s	Conc. de P total reducida de 13.5±0.6 mg/L a 5.1 mg/L y N total de 56±2.0 mg/L a 21 mg/L. Remoción de P y N en Figura 17 y Figura 18 respectivamente.	Abou, <i>et al</i> ; 2013.
	60%	60.7%	N/A	Especie <i>S. obliquus</i> . 20 días de tiempo de cultivo en sistema por lotes. pH de 8.4 y 27±1.0 °C. Iluminación continua con irradiancia de 40 µmol/m ² s	Conc. de P total reducida de 13.5±0.6 mg/L a 5.4 mg/L y N total de 56±2.0 mg/L a 22 mg/L. Remoción de P y N en Figura 17 y Figura 18 respectivamente.	

[a]Filo	Remoción fósforo	Remoción nitrógeno	Remoción azufre	[b]Condiciones/parámetros	[c]Comentarios respecto a evaluación de parámetros	Referencia
	57%	51.8%	N/A	Especie <i>C. vulgaris</i> . 20 días de tiempo de cultivo en sistema por lotes. pH de 8.4 y 27±1.0 °C. Iluminación continua con irradiancia de 40 µmol/m ² s	Conc. de P total reducida de 13.5±0.6 mg/L a 5.8 mg/L y N total de 56±2.0 mg/L a 27 mg/L. Remoción de P y N en Figura 17 y Figura 18 respectivamente.	
	86%	99%	N/A	Especie <i>C. sorokiniana</i> . 5 meses de tiempo de cultivo. pH de 8 y 30 °C. Iluminación continua de 10,000 lx. HRT de 10 días.	Conc de amonio fue reducida de 250 mg/L a 15 mg/L y de P disminuyó de 15 mg/L a 3 mg/L. Porcentajes de remoción de amonio y P soluble en Figura 23 .	González, <i>et al</i> ; 2008.
	50.4%	62.9%	N/A	Especie <i>P. subcapitata</i> . 8 días de tiempo de cultivo. 24±1.0 °C. Iluminación continua con irradiancia de 120 µmol/m ² s.	Para N, se presenta 36.2±0.2 mg/L y 13.4±0.2 mg/L de conc. inicial y final respectivamente, para P de 8.1±0.1 mg/L y 4±0.1 mg/L. Evolución de nutrientes del medio en Figura 24 .	Gonçalves, <i>et al</i> ; 2016.
Charophyta	5.23 mgP/g PS	29.4 mgN/g PS	N/A	Especie <i>Ceratophyllum demersum</i> . pH de 8.32	Conc. de nutrientes por gramo de masa seca de biomasa (mostrado a la izquierda). Evaluado a poca profundidad (0.6-3 m). Análisis de concentración de P total, N y Ca (19 mgCa/d PS) en especies recolectadas.	Kufel y Kufel, 2002. Królikowska, 1997.
	3.58 mgP/g PS	25.8 mgN/g PS	NA	Especie <i>Chara aculeolata</i> . pH de 8.32	Conc. de nutrientes por gramo de masa seca de biomasa (mostrado a la izquierda). Evaluado a poca profundidad (0.6-3 m). Análisis de concentración de P total, N y Ca (239 mgCa/d PS) en especies recolectadas.	
Cyanobacteria	1 mg P/L d	3.5 mg N/L d	N/A	Especie <i>P. bohneri</i> . 30 días de tiempo de cultivo. Iluminación continua y variación de irradiancia de 80, 210, 350, 640 y 1470 µmol fotón/m ² s. Evaluación a 5, 15 y 25±1.0 °C.	Velocidad de remoción de nitrato y fosfato. Mayores velocidades con aumento de temperatura (se presentan a la izquierda las mayores velocidades a 25 °C). Remoción de nitrato y fosfato a diferentes temperaturas en Figura 25 y 26 respectivamente.	Chevalier, <i>et al</i> ; 2000.

[a]Filo	Remoción fósforo	Remoción nitrógeno	Remoción azufre	[b]Condiciones/parámetros	[c]Comentarios respecto a evaluación de parámetros	Referencia
	0.6 mg P/L d	4 mg N/L d	N/A	Especie <i>P. tenue</i> . 30 días de tiempo de cultivo. Iluminación continua y variación de irradiancia de 80, 210, 350, 640 y 1470 $\mu\text{mol fotón/m}^2\text{s}$. Evaluación a 5, 15 y 25 ± 1.0 °C.	Velocidad de remoción de nitrato y fosfato. Mayores velocidades con aumento de temperatura (se presentan a la izquierda las mayores velocidades a 25 °C). Remoción de nitrato y fosfato a diferentes temperaturas en Figura 27 y 28 respectivamente.	
	100%	100%	N/A	Especie <i>Synechococcus sp.</i> 70 h de tiempo de cultivo. pH de 7.4 ± 0.3 y 32 ± 4.0 °C. Irradiancia de $160 \mu\text{mol fotón/m}^2\text{s}$.	Evaluación de remoción de nitrato y fosfato a diferente conc. de fosfato inicial. Mayor conc. completamente removida del medio, fue de $105.2 \mu\text{M PO}_4^{3-}$, (porcentaje de remoción de nitrato y fosfato mostrado a la izquierda). Siendo concentración inicial de nitrato 1.53 mM NO_3^- . Se presenta incremento en velocidad de remoción de nitrato al aumentar concentración de fosfato. Concentraciones de nitrato y fosfato en Figura 29 .	Hu, <i>et al</i> ; 2000.
	77%	52.3%	N/A	Especie <i>S. salina</i> . 8 días de tiempo de cultivo. 24 ± 1.0 °C. Iluminación continua con irradiancia de $120 \mu\text{mol/m}^2\text{s}$.	Para N, se presenta $32.7\pm 0.7 \text{ mg/L}$ y $15.6\pm 0.7 \text{ mg/L}$ de conc. inicial y final respectivamente, para P de $10.7\pm 0.2 \text{ mg/L}$ y $2.5\pm 0.2 \text{ mg/L}$. Evolución de nutrientes del medio en Figura 24 .	Gonçalves, <i>et al</i> ; 2016.
	81.3%	49.8%	N/A	Especie <i>M. aeruginosa</i> . 8 días de tiempo de cultivo. 24 ± 1.0 °C. Iluminación continua con irradiancia de $120 \mu\text{mol/m}^2\text{s}$.	Para N, se presenta $36.9\pm 0.2 \text{ mg/L}$ y $18.5\pm 0.2 \text{ mg/L}$ de conc. inicial y final respectivamente, para P de $10.2\pm 0.3 \text{ mg/L}$ y $1.9\pm 0.3 \text{ mg/L}$. Evolución de nutrientes del medio en Figura 24 .	

*Celdas sombreadas indican los fillos de fitoplancton seleccionados para el biofilm microbiano en este trabajo.

Notas: [a] Se presenta la división de fitoplancton por fillos, al no encontrar información bibliográfica respecto a las especies identificadas en el Lago de Atitlán. [b] Estudios emplean especies individuales de fitoplancton para evaluar la remoción de nutrientes, no se emplean consorcios microbianos. Especies presentadas difieren de especies caracterizadas en Cuadro 1, al no contar con información bibliográfica de estas. [c] Aumento en producción de biomasa coincide con aumento en eliminación de nutrientes. Confirmando que los procesos biológicos asociados con organismos fotosintéticos juegan un papel importante en la eliminación de nutrientes. [d] Magnitud utilizada para describir la energía incidente por unidad de área por unidad de tiempo sobre una superficie ($\mu\text{mol fotón/m}^2\text{s}$) (Lira y Guevara, 2017). [e] Unidad de medición en Sistema Internacional para iluminancia de una superficie ($1\text{lx}=1\text{lumen/m}^2$) (RAE, 2014).

Cuadro 4. Comparación de consorcios microbianos, condiciones y material de matrices en sistemas de biofilm evaluando remoción de nutrientes y productividad de biomasa.

Tipo de reactor	Material de matriz	Condiciones	Especies de fitoplancton	Remoción de nutrientes	Productividad de biomasa	Referencia
Fotobiorreactor de vidrio con biofilms de algas (Figura 30)	Discos de PET	HRT de 2 días. 21 °C. Iluminación 250 $\mu\text{mol fotón/m}^2\text{s}$ 12:12 h (luz/oscuridad). Flujo 9 ml/h. Relación peso-superficie de $281.58 \pm 7.15 \text{ g/m}^2$.	Cianobacterias de género <i>Chroococcus sp.</i> y <i>Lyngbya sp.</i> Diatomeas <i>Nitzschia sp.</i> y <i>Navicula sp.</i>	[a] Fosfato: 94% (tasa de remoción: $7.78 \text{ g/m}^3\text{d}$). Amonio: 79% ($11.30 \text{ g/m}^3\text{d}$). Nitrito: 78% ($7.46 \text{ g/m}^3\text{d}$). Nitrate: 83% ($8.55 \text{ g/m}^3\text{d}$). Ver Figura 31.	N/A	Zamora, et al; 2007.
Fotobiorreactor de discos rotatorios (Figura 32)	Acero inoxidable (Algidisk). (0.3 m ² . 268 mm de diámetro y 2 mm de grosor).	HRT de 7 días. 38 °C. pH de 6.8. Iluminación de 422 $\mu\text{mol fotón/m}^2\text{s}$. Flujo de 6 L/min. Velocidad de rotación de 3, 6, 11 y 20 rpm.	Clorofita <i>Chlorella sorokiniana</i>	[b1] N/A	[c] $20.1 \pm 0.7 \text{ g/m}^2\text{d}$	Blanken, et al; 2014.
Cámara horizontal (Figura 33)	Placas de vidrio (0.09 m ² . 0.5 cm de grosor),	HRT de 3 días. 22 °C. Iluminación de 80-400 $\mu\text{mol fotón/m}^2\text{s}$. Flujo de $30.4 \pm 4.5 \text{ ml/h}$.	Clorofita <i>Scenedesmus dimorphus</i>	[b2] N/A	$9.14 \text{ g/m}^2\text{d}$	Toninelli, et al; 2016.
Fotobiorreactor de membrana con biofilm (Figura 34)	Paquetes de fibra flexible	HRT de 2 días. 25-28 °C. pH de 6.8-7.5. Intensidad máx. de iluminación de 8,000 lx. Agitación por burbujeo.	Clorofita <i>C. vulgaris</i>	[d] Nitrógeno inorgánico total: 82.5% (tasa de remoción: $6.19 \pm 0.30 \text{ mg/Ld}$). Fosfato: 85.9% ($0.35 \pm 0.02 \text{ mg/Ld}$).	$0.072 \pm 0.01 \text{ g/Ld}$	Gao, et al; 2015.
Fotobiorreactor horizontal paralelo de placa plana (Figura 35)	Placas de vidrio (18 placas de 20x2x0.4 cm)	HRT de 20 días. 26 °C. pH de 7. 80 $\mu\text{mol fotón/m}^2\text{s}$ a 16:8 h (luz/oscuridad). Flujo de 23.3 ml/min	Diatomea <i>Nitzschia palea</i> y clorofita <i>S. obliquus</i>	[d] N/A	$2.8 \text{ g/m}^2\text{d}$ para <i>N. palea</i> y $2.1 \text{ g/m}^2\text{d}$ para <i>S. obliquus</i>	Schnurr, et al; 2013.
Cámara horizontal con agitación (Figura 36)	Poliestireno (8 x 27 cm).	HRT de 15 días. 20 °C. Iluminación de 110-120 $\mu\text{mol fotón/m}^2\text{s}$. Agitación con shaker 15° (15 tips/min).	Clorofita <i>Chlorella sp.</i>	[c] Nitrógeno: 78.6% ($110.3 \pm 14.9 \text{ mg/L}$) Fósforo: 92.9% ($54.0 \pm 8.0 \text{ mg/L}$).	$2.57 \pm 0.03 \text{ g/m}^2\text{d}$	Johnson y Wen, 2010.
Celda de flujo horizontal con biofilm (Figura 37)	Hojas de PVC (0.018 m ² . 1mm de grosor).	HRT de 15 días. 22 °C. pH de 7. Iluminación de 230 $\mu\text{mol fotón/m}^2\text{s}$. Flujo entrada de 0.3-5 ml/min. Flujo recirculación de 40 ml/min.	Consortio de microalgas, con mayoría de diatomea <i>Nitzschia sp</i>	[f] Capacidad máxima de absorción del biofilm alcanzó tasas de $1.0 \text{ g/m}^2\text{d}$ de nitrógeno y $0.13 \text{ g/m}^2\text{d}$	$7.7 \text{ g/m}^2\text{d}$	Boelee, et al; 2011.

Tipo de reactor	Material de matriz	Condiciones	Especies de fitoplancton	Remoción de nutrientes	Productividad de biomasa	Referencia
				de fósforo. Ver Figura 38.		
Cámara de plexiglass (Figura 39)	Cepillos de PVC flexibles	HRT de 6 días en sistema por lotes. 24-29 °C. pH de 7-10. Iluminación de 3,500 lx	Clorofitas <i>Chlorella pyrenoidosa</i> , <i>S. obliquus</i> , y cianobacterias <i>Anabaena flosaquae</i> , <i>Synechococcus elongatus</i> y <i>Microcystic aeruginosa</i>	[g] Nitrógeno: 86.58% (4.47 mg/L). Fósforo: 98.17% (0.19 mg/L). Ver Figura 40.	N/A	Wei, <i>et al</i> ; 2008.
Depurador de algas/ Algal turf scrubber (ATS) a escala laboratorio (Figura 41)	Malla de polietileno (1m ²).	HRT de 7 días. 22 °C. pH de 7-7.5. Iluminación de 40-140 µmol fotón/m ² s. Flujo de 110 L/min.	Clorofitas <i>Microspora willeana</i> (más abundante), <i>Ulothrix zonata</i> , <i>Ulothrix aequalis</i> , <i>Rhizoclonium hieroglyphicum</i> y <i>Oedogonium sp.</i>	[e] Mayores concentraciones obtenidas: Nitrógeno: 42.4±11.3%.(0.25±0.07 g) Fósforo: 66.7±18.6% (0.10±0.03 g)	5 g/m ² d	Mulbry y Wilkie, 2001.
ATS a escala laboratorio (Figura 42)	Malla de polietileno (1m ²).	HRT de 8 días. 23-26 °C. pH de 7-7.5. Iluminación continua de 390 µmol fotón/m ² s con 23:1 h (luz/oscuridad). Modo semicontinuo a 55 L/min.	Clorofitas <i>Microspora willeana</i> , <i>Ulothrix zonata</i> , <i>Rhizoclonium hieroglyphicum</i> y <i>Oedogonium sp.</i>	[e] Mayores porcentajes obtenidos. Nitrógeno: 98±30%. Fósforo: 77±13%.	9.4 g/m ² d	Kebede-Westhead, <i>et al</i> ; 2006.
Cámara de polimetilmetacrilato (PMMA) (Figura 43)	Películas de vidrio (2.5x2.5x0.5 cm)	HRT de 10 días. 25 °C. Iluminación de 100 µmol fotón/m ² s Flujo de 0.6 ml/min	Clorofitas <i>S. obliquus</i> y <i>C. vulgaris</i> .	[d] N/A	[h] <i>C. vulgaris</i> , 7.43±19 µm/d. <i>S. obliquus</i> , 7.71±19 µm/d.	Irving y Allen, 2011.
ATS a escala laboratorio (Figura 44)	Malla de nylon (30m ² . 6 mm de grosor)	HRT de 4-12 días. Luz y T de acuerdo a condiciones externas. pH de 7-7.5. Flujo de 93 L/min	Clorofitas <i>Microspora willeana</i> , <i>Ulothrix zonata</i> , <i>Rhizoclonium hieroglyphicum</i> y <i>Oedogonium sp.</i>	[e] Mayores concentraciones obtenidas. Nitrógeno: 83±25% (0.39±12 g). Fósforo: 91±12%. (0.06±0.02 g).	[i] 25.1±2.3 g/m ² d	Mulbry, <i>et al</i> ; 2008.
Fotobiorreactor vertical de biofilm (Figura 45)	Placa de polietileno de alta densidad (0.125 m ²)	HRT de 7 días. 21 °C. pH de 7. Iluminación de 180 µmol fotón/m ² s. Flujo de 7 ml/min con recirculación.	Cianobacterias <i>Phormidium</i> , <i>Pseudanabaena</i> . Diatomea <i>Nitzschia palea</i> y clorofita <i>Scenedesmus dimorphus</i>	[g] Mayores porcentajes obtenidos. Nitrógeno: 63% (2.2 mg/L) Fósforo: 85% (0.15 mg/L)	7 g/m ² d	Boelee, <i>et al</i> ; 2014.

Tipo de reactor	Material de matriz	Condiciones	Especies de fitoplancton	Remoción de nutrientes	Productividad de biomasa	Referencia
Fotobiorreactor twin-layer (Figura 46)	Membrana de nitrocelulosa (1 m ²)	HTR de 10 días. 23 °C. pH de 7.3-7.4. Iluminación de 30 ± 5 μmol fotón/m ² s. Flujo continuo de 220-240 ml/h con recirculación.	Clorofita <i>C. vulgaris</i> y diatomea <i>Scenedesmus rubescens</i>	[a] [j] <i>C. vulgaris</i> , Nitrato: 98% (0.11 mg/L). Amonio: 94% (1.16 mg/L). Fosfato: 89% (0.33 mg/L) <i>S. rubescens</i> , Nitrato: 96% (0.24 mg/L) Amonio: 96% (0.87 mg/L). Fosfato: 91% (0.26 mg/L).	<i>C. vulgaris</i> , 11.9 g/m ² d y <i>S. rubescens</i> , 7.7 g/m ² d	Shi, et al; 2007

*Celdas sombreadas indican el material de la matriz y el tipo de reactor seleccionados para la formación de biofilm microbiano en este trabajo.

Notas: [a] Efluente de planta de tratamiento de aguas residuales domésticas. [b] Medio Nutritivo (1) M8-a (2) BG11. [c] Producción de biomasa respecto a todo el experimento, siendo de 4 semanas por cada lado (n=8). [d] Efluente secundario de planta de tratamiento de aguas residuales domésticas. [e] Efluente aguas residuales desechos de industria láctea. [f] Efluente primario de planta de tratamiento de aguas residuales domésticas. [g] Aguas residuales municipales sintéticas. [h] Se presentan valores de grosor de biofilm dado que estudio no evalúa productividad de biomasa. [i] Producción de biomasa respecto a todo el experimento, siendo de 270 días. [j] Se incluye a pesar de no evaluarse como consorcio, debido a que proporciona información respecto al reactor seleccionado dentro del actual estudio.

Cuadro 5. Selección de fitoplancton, tipo de empaque y sistema a emplear para el tratamiento secundario de aguas residuales por medio de biofilm.

Componentes	Selección	Razón de selección	Referencias
[a]Filos de fitoplancton	Chlorophyta y Bacillariophyceae con Cyanobacteria	Cuadro 1 presenta especies con mayores poblaciones en Lago de Atitlán. De cinco filos, las microalgas clorofitas y diatomeas presentan mayor absorción de P y N; siendo las clorofitas la única especie encontrada aplicada para remoción de S (Cuadro 3), razón por la que se evaluó únicamente N y P. Ambos filos, junto con cianobacterias, presentan mayor diversidad de especies en Lago de Atitlán, permitiendo mayor área de investigación entre especies en procesos de biorremediación y facilitando interacción entre microorganismos al ser especies nativas. En Cuadro 4 se observa que estos filos son los más empleados para evaluación de remoción de nutrientes. Cianobacterias remueven altas concentraciones de nutrientes, pero junto con microalgas, presentan mayor crecimiento de biomasa, mayor eficiencia de eliminación, reducción en emisiones de CO ₂ y obtención de medio altamente oxigenado. Consorcio es efectivo pues cianobacterias asimilan N ₂ y microalgas no. Estudios en Cuadro 4 demuestran que biofilms conformados por estos tres filos tienen valores más altos de remoción de nutrientes [b], demostrando que consorcio microalga-cianobacteria es favorable para crecimiento de biofilms y biorremediación en proceso secundario del tratamiento de aguas residuales.	Abou, <i>et al</i> ; 2013. Ajala <i>et al</i> ; 2020. AMSCLAE, 2019. Blanken, <i>et al</i> ; 2014. Boelee, <i>et al</i> ; 2011. Gao, <i>et al</i> ; 2015. Gonçalves, <i>et al</i> ; 2016. González, <i>et al</i> ; 2008. Johnson y Wen, 2010 Karthikeyan, <i>et al</i> ; 2013. Kebede-Westhead, <i>et al</i> ; 2006. Mulbry, <i>et al</i> ; 2008. Wei, <i>et al</i> ; 2008. Zamora, <i>et al</i> ; 2007.
Material de matriz y adhesión	Geotextil de polietileno de alta densidad PE180	Poliétileno de alta densidad (HDPE) es mejor material, con mayor tiempo de vida y baja energía superficial. Polyfelt Geolon PE180 [c] presenta estructura de alta durabilidad y rugosidad para alta adhesión de microorganismos y facilita resiembra en ciclos posteriores. Cuadro 4 demuestra que matrices de polietileno son de las más empleadas para crecimiento de biofilms. Uso constante de materiales con baja energía superficial puede demostrar mejor adhesión y por ende, mejor desempeño en el crecimiento de microorganismos. Polyfelt PE180 presenta un mayor tiempo de vida útil, estructura opaca que previene fotoinhibición, alta rugosidad que aumenta extensión del biofilm y resistencia a fuerzas hidráulicas. Se determina que matriz debe estar en contacto con caldo microbiano por aproximadamente dos a tres semanas en primer ciclo de uso, para obtener biofilm denso y uniforme en la superficie. Debido al desprendimiento del biofilm, se establece grosor máximo de 2 mm, pues se ha demostrado que un mayor espesor resulta en menor producción de biomasa. De acuerdo con el tiempo que tardó la formación de este espesor, luego de la primera semana es necesaria su medición para evaluar pérdidas por descarga o disminución en el crecimiento del consorcio.	Boelee, <i>et al</i> ; 2014. Kebede-Westhead, Pizarro y Mulbry, 2006. Harmsen, <i>et al</i> ; 2010. Johnson y Wen, 2010. Mulbry y Wilkie, 2001. Renner y Weibel, 2011. Thomas, <i>et al</i> ; 2004. Zamora, <i>et al</i> ; 2007,
Condiciones	Temperatura	Aumento de temperatura favorece eliminación de nutrientes y crecimiento hasta un valor, posterior a este, disminuyen. Rango seleccionado de temperaturas es 21-28 °C. Cuadro 3 y 4 muestran que mayoría de temperaturas están en este rango, favoreciendo a microorganismo de forma individual y en consorcio. Al operar en planta de tratamiento,	AMSCLAE, 2019. Aquino-Cruz y Okolodkov; 2016. Chevalier, <i>et al</i> ; (2000). Fergola, <i>et al</i> ; 2007. Guzzon, <i>et al</i> ; 2008. Hill, <i>et al</i> ; 2009. Liu, <i>et al</i> ;

Componentes	Selección	Razón de selección	Referencias
		la temperatura de efluentes de ingreso debe estar dentro del rango, favoreciendo al crecimiento y cumpliendo con límites de descarga en Guatemala ^[d] .	2013. Krzeminska, <i>et al</i> ; 2014. Vejrazka, <i>et al</i> ; 2011.
	Iluminación	Aumento de crecimiento microbiano al aumentar iluminación hasta valor máximo. Cuadro 3 presenta que microalgas remueven nutrientes a iluminación máx. de 120 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$. Cianobacteria lo hacen a 350 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$, mostrando mayor resistencia a irradiancias. Favoreciendo a microalgas y cianobacterias, se selecciona rango 100 a 500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$, siendo favorable para actividad fotosintética. Se emplea luz solar con controles de luz para alcanzar rango establecido y evitar fotoinhibición en biofilms. Debido a separación de procesos en cianobacterias, se emplea fotoperíodo luz/oscuridad de 12:12 h, de acuerdo con luz natural durante 24 h.	
	pH	Se selecciona rango de pH 7 - 9, favorable para crecimiento de filos seleccionados individualmente y en consorcio (Cuadro 3 y 4). De igual forma, para operar en planta de tratamiento, pH de efluentes de ingreso debe encontrarse dentro de rango, favoreciendo al biofilms y obteniendo valores cercanos a la neutralidad que cumplen con parámetros de descargas en Guatemala ^[d] .	
Remoción de nutrientes	Nitrógeno y fósforo	Baja y alta conc. de nutrientes en algunas aguas residuales puede afectar negativamente el desempeño de sistemas con microorganismos fotosintéticos. Proporciones molares N/P inferiores a 5:1 limitan el N, y superiores a 30:1 producirían deficiencia de P. Por altas toxicidades en aguas residuales ganaderas e industriales, ^[e] se selecciona aguas residuales domésticas, con una relación molar N/P de 11:1. Cuadro 4 presenta que mayoría de biofilms para el tratamiento de efluentes, se hizo con aguas residuales domésticas, confirmando efectividad como medio nutricional para microalgas y cianobacteria. Consorcios microbianos de diatomeas, clorofitas y cianobacterias, poseen capacidad de remover altas conc. de nutrientes de aguas residuales, obteniendo conc. de N y P que cumplen con parámetros establecidos para Guatemala, o en dado caso, hacen que requerimientos del tratamiento terciario sean mínimos.	Abou, <i>et al</i> ; 2013. Ajala <i>et al</i> ; 2020. AMSCLAE, 2019. Boelee, <i>et al</i> ; 2014. Chevalier, <i>et al</i> ; 2000. Gonçalves, <i>et al</i> ; 2016. Hu, Westerhoff y Vermaas; 2000. Kebede-Westhead, <i>et al</i> ; 2006. Posada, <i>et al</i> ; 2013. Shi, <i>et al</i> ; 2007. Wei, <i>et al</i> ; 2008.
	Rutas metabólicas	Asimilación de N inorgánico por translocación de membrana plasmática en forma de: amonio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2^-). De acuerdo con Figura 1, en microalgas al asimilar N desde NO_3^- , se reduce por enzima <i>Nitrato reductasa</i> a NO_2^- , luego a NH_4^+ por <i>Nitrito reductasa</i> y al final por <i>Glutamina sintetasa</i> para obtener L-glutamina y emplearse metabólicamente como glucosa. En cianobacterias, como se muestra en Figura 2, asimilación de N es igual, sin embargo, por capacidad de asimilar N_2 , este se fija por enzima <i>Complejo nitrogenasa</i> para obtener NH_4^+ y continuar reduciéndose hasta glucosa. Enzima es inhibida por oxígeno, haciendo que cianobacterias como protección separen mecanismos fotosintéticos y fijación de nitrógeno, ocurriendo en luz y oscuridad respectivamente. Asimilación de NH_4^+ no requiere pasos de reducción previos, forma de nitrógeno preferida para microalgas y cianobacterias. En asimilación de P inorgánico, el	

Componentes	Selección	Razón de selección	Referencias
		PO ₄ ³⁻ se asimila de formas H ₂ PO ₄ ⁻ y HPO ₄ ²⁻ y se incorpora dentro de compuestos orgánicos por proceso de fosforilación, donde PO ₄ ³⁻ se capta para generar ATP, suministrando energía celular.	
[f] Sistema	Fotobiorreactor laminar twin-layer con biofilm en placas planas	Mantener y crecer cultivos de microorganismos fotosintéticos inmovilizados verticalmente, con dos capas hidrófilas finas y porosas. Usa capa sustrato de Polyfelt Geolon PE180, para inmovilización de microalgas y cianobacterias. Y capa fuente de malla de fibra de vidrio para suministro de aguas residuales por gravedad, sin contacto de flujo con superficie del biofilm. Cuerpo de cada módulo está formado por dos paneles (cada uno con dos capas: lado externo con capa sustrato y lado interno con capa fuente). Lado externo de capa sustrato con consorcio microbiano expuesta a la atmósfera para facilitar intercambio de gases y mejorar disponibilidad de luz en superficie del biofilm. Flujo laminar de efluentes es requerido al ser agregados, por bomba de desplazamiento positivo, a sistema (aumenta relación superficie/volumen en capa sustrato y mejora productividad/dispersión de nutrientes en biofilm). Rango adecuado de flujo, para matriz de 1m ² : 220-240 mL/h (escala laboratorio y vol aprox. 2 L efluentes). Escala industrial: evaluar experimentalmente área de matriz con flujo requerido. Mantenimiento alternado en paneles independientes sin afectar operación y crecimiento [g].	Nauman, <i>et al</i> ; 2012. Nowack, <i>et al</i> ; 2005. Schnurr, <i>et al</i> ; 2013. Shi, <i>et al</i> ; 2007, Shi, <i>et al</i> ; 2014.

Notas: [a] La selección de fitoplancton se presenta en filas, al no encontrar información bibliográfica respecto a las especies identificadas en el Lago de Atitlán. [b] Remoción de nutrientes por diatomeas, clorofitas y cianobacterias en **Figura 17-29, 31, 40**. [c] Ficha técnica de Polyfelt Geolon PE180 en **Figura 48**. [d] Acuerdo Gubernativo No. 236-2006, Artículo 20 “Límites máximos permisibles de descargas de aguas residuales a cuerpos receptores” en **Figura 14**. [e] Concentraciones de nitrógeno y fósforo en tipos de aguas residuales (Marco teórico **Figura 12**). [f] Representación gráfica del fotobiorreactor twin-layer en **Figura 46**. [g] Diagrama de bloques del proceso de cultivo y biorremediación del biofilm en **Figura 49**.

VIII. ANÁLISIS DE RESULTADOS

A. Especies a inmovilizar para formación de biofilm

Entre las alternativas biológicas actuales para el tratamiento de efluentes residuales, la biorremediación por consorcios microbianos con microalgas y cianobacterias ha mostrado resultados favorables. Haciendo referencia a los antecedentes por Aslan y Kapdan, (2006), este tipo de consorcio permite la reducción de emisiones de CO₂ asociadas a las plantas de tratamiento de aguas residuales, una recolección rápida y eficiente de biomasa, la obtención de un efluente altamente oxigenado y el reciclaje de nitrógeno y fósforo dentro de la biomasa.

La presencia de cianobacterias en el consorcio de microorganismos del biofilm presenta varias ventajas para la asimilación de nutrientes en comparación con un biofilm conformado únicamente por microalgas, pues como se hace referencia en “Recuperación de nutrientes por organismos fotosintéticos” en el marco teórico, estas además de poseer la capacidad de asimilar los nutrientes fosfóricos H₂PO₄⁻ y HPO₄²⁻ y los nitrogenados NH₄⁺, NO₃⁻ y NO₂⁻, como las microalgas, también poseen la capacidad de asimilar N₂. Esto permite mejorar aún más los procesos secundarios del tratamiento de aguas residuales, pues procesos adicionales asociados con la oxigenación pueden reducirse significativamente y el efecto invernadero ligado a las plantas de tratamiento de aguas residuales pueden considerarse insignificantes, pues la unión de estos microorganismos permite acumulan mayores cantidades de CO₂ para convertirla en materia orgánica y liberar altos valores de O₂ al ambiente.

El Cuadro 1 muestra características de las especies de microalgas y cianobacterias presentes en los filamentos de mayor abundancia en el agua del Lago de Atitlán. Se observa que todos los microorganismos son comunes dentro de ambientes en estado de eutrofización, demostrando que la alta presencia de estos puede deberse a que las especies poseen una alta afinidad hacia las condiciones presentes en el agua, principalmente a las altas concentraciones de nutrientes. Sabiendo esto, se deduce que las altas concentraciones de microorganismos fotosintéticos presentes en el agua llevan a cabo un proceso de biorremediación en el mismo lago, pues como se presenta en antecedentes, de acuerdo con el Informe de monitoreo limnológico 2019 hecho por AMSCLAE, las concentraciones de nutrientes en el lago son relativamente bajas, siendo menores a 0.02 mg/L en los primeros 30 m y de 0.03 a 0.26 mg/L en la zona profunda. A pesar del ingreso de efluentes no tratados, cargados con altas concentraciones de nutrientes al cuerpo de agua, los microorganismos son capaces de mantener las concentraciones bajas en el agua, debido al consumo de estos al emplearlos en sus procesos metabólicos, dando lugar a su vez, a un crecimiento en la población fitoplanctónica del lago. El bajo contenido de nutrientes en el agua confirma una actividad efectiva de remoción por parte de los microorganismos, siendo en la superficie donde se encuentran las mayores poblaciones fotosintéticas, lo cual se respalda por las altas concentraciones de

clorofila α y ficocianina en los primeros 30 m donde ocurren los procesos de fotosíntesis, por la penetración de luz, y también por los valores de 4 a 7 mg/L de oxígeno disuelto en la superficie, mayores a los de la zona profunda de 2 o 3 mg/L.

En el Cuadro 3 se presentan los porcentajes individuales obtenidos por estudios de remoción de cada uno de los filos de fitoplancton que también se encuentran presentes en el Lago de Atitlán. A pesar de que todos los microorganismos evaluados lograron porcentajes mayores al 70 % de remoción de nitrógeno y fósforo, se seleccionó el uso de microalgas de tipo diatomea y clorofita en conjunto con cianobacterias, pues además de lograr una alta remoción de nutrientes, estos filos son los que presentan una mayor abundancia y diversidad de especies dentro del Lago de Atitlán, lo que implica a una mayor facilidad de recolección y área de investigación entre las distintas especies pertenecientes al filo, en cuanto a su capacidad de remoción de nutrientes y posible aplicación en procesos de bioacumulación. La ventaja es que diversas especies microbianas con interacciones diferenciales pueden contribuir a la estabilidad del sistema con un mayor crecimiento de biomasa y una eliminación eficiente de nutrientes. De igual forma, el consorcio de microalgas y cianobacterias se da de forma natural en los sistemas hídricos de Guatemala, evitando la búsqueda de cepas externas con capacidades de biorremediación y facilitando las interacciones entre microorganismos del biofilm al contar únicamente con especies nativas del lugar. Además, si se introdujera una especie foránea al biofilm, esta podría dañar su nicho ecológico, generando cambios en la composición, estructura genética o procesos metabólicos de las especies nativas del lago, pues debido a la competencia entre ambas especies, las nativas se encuentran en desventaja y pueden incluso extinguirse.

Haciendo referencia a los “Tipos de biofilm por comunidad microbiana” en el marco teórico, a pesar de que las microalgas se han aplicado ampliamente en la eliminación de nutrientes de diferentes aguas residuales, el uso de consorcios microbianos presenta ventajas sobre un monocultivo de microalgas. Como se presentó anteriormente, en una recolección de consorcios exitosos aplicados en el campo de tratamiento de aguas (Cuadro 4), el empleo de policultivos para la remoción de nutrientes puede resultar muy ventajoso, ya que se ha determinado que la combinación de microorganismos con diferentes actividades metabólicas y adaptados a distintas condiciones ambientales permite el desarrollo de un sistema biológico capaz de operar a diferentes condiciones ambientales y cargas de nutrientes. Además, es posible establecer interacciones cooperativas entre los microorganismos que integran el consorcio, lo que puede resultar en mayores tasas de reducción de nutrientes.

Zamora, *et al*; (2007) inmovilizaron biofilms microbianos en una matriz de poliéster para promover la remoción de nitrógeno y fósforo de aguas residuales. El biofilm estaba conformado por cianobacterias (*Chroococcus sp.* y *Lyngbya sp.*) y diatomeas (*Nitzschia sp.* y *Navicula sp.*), las cuales fueron capaces de remover exitosamente el nitrógeno en forma de nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+), al igual

que el fósforo en forma de fosfato (PO_4^{3-}). Luego de 48 h de cultivo, las eficiencias de remoción de estos fueron 78 %, 83 %, 79 % y 94 % respectivamente; comprobando que la inmovilización de un consorcio microalga-cianobacteria promueve la alta remoción de nutrientes a un bajo tiempo de retención en comparación al tratamiento biológico tradicional de sistemas de células en suspensión.

De igual forma, Wei, *et al*; (2008) inmovilizaron un biofilm microbiano en una matriz polimérica, siendo este conformado por clorofitas (*Chlorella pyrenoidosa* y *S. obliquus*) y cianobacterias (*Anabaena flosaquae*, *Synechococcus elongatus* y *Microcystic aeruginosa*). Luego de seis días de cultivo, el biofilm presentó una remoción del 86.58 % de nitrógeno total y 98.17 % de fósforo total, demostrando la viabilidad de eliminar nitrógeno y fósforo de aguas residuales empleando un consorcio microalga-cianobacteria como biofilm. En ambos estudios, las aguas residuales no produjeron efectos tóxicos en las comunidades microbianas que colonizaron continuamente la matriz a lo largo del tiempo.

Por lo mencionado anteriormente, el consorcio microalgas-cianobacterias, se consideraría una estrategia favorable para la generación de biofilms con aplicaciones biorremediadoras en el proceso de tratamiento de aguas residuales domésticas, siendo en el Lago de Atitlán, las diatomeas y clorofitas en conjunto con cianobacterias, la mejor opción. La selección de fitoplancton por filos y no específicamente de especies, se debe a que, al no contar con información bibliográfica respecto a las especies identificadas en el Cuadro 1, pero sí con otras especies pertenecientes a estos filos (Cuadro 2, 3 y 4); se puede tomar el comportamiento y condiciones favorables de los microorganismos dentro del filo como un conjunto, pues cuentan con características bioquímicas y morfológicas similares.

B. Matriz a emplear para la formación de biofilm microbiano

En los sistemas de cultivo, la comunidad de microorganismos que constituyen el biofilm microbiano es inmovilizada sobre una matriz inerte, no tóxica. Se pretende una estructura fibrosa de composición ligera y alta porosidad que facilite la fijación estratificada de los microorganismos y el paso del agua residual a través del biofilm. El material portador del biofilm se selecciona en función de la porosidad, densidad, energía superficial y resistencia a la erosión (Christensson y Welander, 2004). Los materiales utilizados deben ser no tóxicos, mostrar transparencia, alta resistencia mecánica, alta durabilidad y estabilidad química; de los más comunes utilizados actualmente en los PBR se encuentra el vidrio, el PVC y el polietileno, siendo este último el material más utilizado.

Con respecto a la “Matriz de sustrato” en el marco teórico, la **Figura 6** presentan características del vidrio, polietileno de baja densidad (LDPE), polietileno de alta densidad (HDPE), acrílico rígido (PMMA) y PVC. Sin embargo, tomando en cuenta las características de cada uno, el HDPE se considera el mejor material para la formación de la matriz. La selección se debe a que, de los materiales

presentados, este es el que posee un mayor tiempo de vida, siendo de 20 - 22 años y una baja energía superficial de aproximadamente 31 dina/cm² (3M, 2020). Y de acuerdo con Butler y Boltz, (2014), la energía del material puede influir en la unión microbiana, pues los microorganismos prefieren adherirse a superficies hidrofóbicas de baja energía, como el polietileno, que a superficies hidrófilas (alta energía superficial) (Renner y Weibel, 2011). Haciendo referencia a “Formación de biofilms microbianos” en el marco teórico, Thomas, *et al*; (2004) y Harmsen, *et al*; (2010), demuestran que los microorganismos presentan preferencia de adhesión en materiales con baja energía superficial. Además, de acuerdo con el Cuadro 4, la mayoría de los estudios recopilados hacen uso de una matriz con baja energía superficial, demostrando su efectividad en la adhesión microbiana para la formación de biofilms en diversas condiciones ambientales.

Siendo el polietileno de los materiales más empleados y recomendados para la inmovilización de biofilms microbianos, se presenta en el Cuadro 4 que Mulbry y Wilkie, (2001), al igual que Kebede-Westhead, *et al*; (2006), emplean una matriz de malla de polietileno. Jiménez-Montealeger, *et al*; (2015), Franco-Rivera y Paniagua-Michel, (2007) y Zamora-Castro, *et al*; (2007), emplean una matriz de PET. Mientras que Boelee, *et al*; 2014, una de polietileno de alta densidad. El uso constante de materiales con una baja energía superficial en diferentes estudios puede demostrar un mejor desempeño en términos de crecimiento de microorganismos por parte de estos. Sin embargo, se selecciona el HDPE entre estos pues presenta un tiempo de vida útil mayor al resto con reutilización durante un período largo y cuenta con la ventaja de una estructura opaca que previene la fotoinhibición dentro de los consorcios microalgacianobacteria.

Haciendo referencia a “Matriz de sustrato” en el marco teórico, la rugosidad de la superficie del material es uno de los factores que más influyen en la adhesión microbiana, pues esta proporciona microambientes para que las células escapen del esfuerzo cortante hidrodinámico, lo que aumenta la unión de las células (Renner y Weibel, 2011). La extensión del biofilm aumenta a medida que aumenta la rugosidad de la superficie, pues el aumento de área proporciona más sitios para la colonización. Johnson y Wen, (2010) indican que la desventaja de estas superficies es la dificultad para recolectar la biomasa que crece en los poros. Sin embargo, los residuos microbianos que continúan adheridos luego de la recolección funcionan como inóculo para el siguiente ciclo de crecimiento y permiten un mayor crecimiento en un menor tiempo al emplearse en un rebrote, como se presenta en el **Figura 47** de Johnson y Wen, (2010); confirmando que, a lo largo del tiempo de cultivo, tanto el rendimiento como la productividad de la biomasa del rebrote, fueron mayores que los del crecimiento inicial por 9 - 23 % y 5 - 21 % respectivamente.

Buscando cumplir con las características de adhesión, resistencia y durabilidad en la matriz, se seleccionó un geotextil tejido fabricado con polietileno de alta densidad PE180 (ficha técnica de

Geolon® PE se presenta en **Figura 48**). Siendo este material empleado por Boelee, *et al*; (2014) para el crecimiento de un biofilm conformado por los tres filos de fitoplancton seleccionados para este trabajo (clorofitas, diatomeas y cianobacterias), demostrando ser un material favorable para la adhesión y crecimiento de estos microorganismos con una mayor durabilidad en comparación con otros materiales utilizados.

Dado que cada estudio del Cuadro 4, a escala laboratorio, cuenta con condiciones y variables diferentes, no es posible determinar si el material de la matriz es la principal razón por la que se obtuvo una mayor cantidad de biomasa producida. A pesar de que todas las matrices cumplen con la capacidad de adhesión por parte de los microorganismos, se selecciona el uso de Polyfelt Geolon PE180 debido a que, al presentar una baja energía superficial, facilita la adhesión de microorganismos a su superficie. De igual forma, presenta una alta durabilidad en comparación a otros materiales comúnmente usados, y su alta rugosidad en la superficie permite un aumento en la extensión del biofilm y una mayor resistencia a las fuerzas hidráulicas, al mismo tiempo que disminuye los tiempos de cultivo en un rebrote. Y aún, cuando este no presenta una alta transparencia óptica, es un polímero semi-cristalino que obtendrá su opacidad de acuerdo con el espesor; entonces al encontrarse en un rango de 0.5 - 1 mm (Kretzschmar, *et al*; 2011), este es capaz de permitir la transmisión de luz sin llegar a una fotoinhibición. Todas estas características, hacen de este material una alternativa viable para crear una matriz que favorecerá al crecimiento de microorganismos fotosintéticos al emplear efluentes de aguas residuales domésticas.

C. Adhesión de cultivo microbiano

Como se hace mención en “Formación de biofilms microbianos” dentro del marco teórico, la razón por la que los materiales tratados en la sección anterior son favorable para la formación de biofilms, se debe a que los microorganismos tienden a tener una carga neta negativa, lo que permite la unión a superficies cargadas positivamente, como son las de estos materiales, dando lugar a que las fuerzas de atracción de van der Waals estimulen el inicio de la acumulación y compactación de materiales finos suspendidos para dar lugar a biofilms microbianos densos.

De igual forma, como se indica en “Sustancias poliméricas extracelulares y formación de biofilms microbianos” en el marco teórico, las microalgas y cianobacterias excretan sustancias poliméricas extracelulares (EPS) en su entorno durante su ciclo de vida para formar una matriz hidratada de biofilm donde pueden crecer. En un biofilm microbiano, esta matriz de sustancias poliméricas ayuda al movimiento celular, previene la desecación celular, protege las células contra sustancias tóxicas y ejerce una fuerte correlación con el consorcio microbiano dentro del biofilm, proporcionando estabilidad como material adhesivo. Específicamente con el consorcio microalga-cianobacteria, Di Pippo, (2009) comprueba que la producción de biomasa de este consorcio se correlaciona positivamente con la

generación de EPS en los biofilms microbianos empleados para el tratamiento de aguas residuales, comprobando que este andamio proporciona las fuerzas cohesivas que mantienen la forma del biofilm y las fuerzas adhesivas que unen el biofilm a la superficie (Wilking, *et al*; 2011).

Los microorganismos que conformarán el consorcio deben entrar en contacto directo con la matriz por un tiempo determinado para colonizar la superficie y dar lugar al biofilm. Durante este proceso puede haber un periodo de adaptación (lag) en los primeros días, debido al acoplamiento de los microorganismos a la concentración de nutrientes, por eso se debe incluir condiciones similares a las del agua a tratar en el caldo de cultivo, con el fin de evitar este retardo en el proceso de tratamiento. Empleando este sistema en los estudios investigados (Cuadro 4), Johnson y Wen, (2010) incluyeron un crecimiento de 15 días para la adhesión de la mayoría de las células a la superficie del material de soporte. Jiménez-Montealeger, *et al*; (2015), mantuvo el sistema de cultivo durante 15 días en un medio microbiano enriquecido con una baja concentración de fósforo y nitrógeno para garantizar que los biofilms microbianos continuaran creciendo. Mientras que Zamora-Castro, *et al*; (2007), mantuvo las matrices durante tres semanas en un estado dinámico, hasta que las superficies de los poliésteres fueran colonizadas por completo por los consorcios microbianos.

Tomando en cuenta los estudios de crecimiento de biofilm en matrices poliméricas, se determinó que estas deben estar en contacto con el caldo microbiano que conformará el biofilm, por un tiempo aproximado de dos a tres semanas en el primer ciclo de uso, con el fin de obtener una población densa y uniforme en la superficie; ocurrido esto, se considera que el biofilm se encuentra listo para ser empleado en el proceso de biorremediación. Para obtener resultados similares, es necesario incluir cierto tipo de movimiento en la cámara de cultivo que facilite la unión con la superficie, pudiendo ser agitación o un flujo constante, pues al encontrarse el medio microbiano en estado estático, se asientan los microorganismos en la superficie del material de soporte, pero no logran crear una unión uniforme.

Con el tiempo, los microorganismos serán eliminados por desprendimiento, siendo el proceso por el cual las células se dispersan del biofilm. Este se considera un indicador de estabilidad en el desempeño del biofilm, pudiendo estar influenciado por la diversidad de especies y la morfología de este (Elenter, *et al*; 2007). El desprendimiento se produce cuando la tensión en la estructura del biofilm es mayor que la tensión del área circundante. Esto puede resultar a partir de las fuerzas mecánicas que actúan sobre el biofilm, como un cambio en las condiciones hidrodinámicas, o cuando la resistencia de la matriz se ve comprometida por compuestos bioquímicos (Stodley, *et al*; 2002).

Otro aspecto relacionado es el espesor del biofilm microbiano, dado que este predice los procesos que ocurren dentro de este y está estrechamente relacionado con el transporte de nutrientes y la actividad del biofilm. Cuando este se vuelve excesivamente grueso, los nutrientes no pueden llegar al interior,

creando zonas inactivas cerca de la superficie de unión, resultando este tipo de inactivación también en el desprendimiento de grandes regiones del biofilm de la superficie (Morgenroth y Wilderer, 2000). En el estudio realizado por Boelee, *et al*; (2014), empleando el material Polyfelt Geolon PE180, la tasa de producción de biomasa aumentó con un espesor máximo de 2 mm en el biofilm; sin embargo, un espesor mayor a este resultó en una menor producción de biomasa, impidiendo su continuo crecimiento y generando pérdidas debido a la falta de nutrientes y luz en las capas inferiores del biofilm. Tomando en cuenta el tiempo que tardó la formación del biofilm con este espesor, el estudio indica que el tiempo adecuado para la recolección de biomasa es luego de una o dos semanas, ya que durante este período el biofilm permanece estable, sin desprendimiento, y el sistema aún mantiene un efluente bajo en nutrientes con una alta producción de biomasa. De igual forma, tanto Mulbry y Wilkie, (2001) como Kebede-Westhead, Pizarro y Mulbry, (2006), realizaron la recolección de biomasa de forma semanal, lo que puede indicar que, luego de la primera semana, el biofilm alcanza espesores que pueden poner en riesgo el crecimiento de los microorganismos.

A pesar de conocer que este proceso es una parte importante del ciclo de vida de un biofilm microbiano, no se cuenta con suficiente información para determinar de forma exacta la vida útil del biofilm adherido a la matriz. Sin embargo, es necesario tomar en cuenta su espesor a lo largo de las primeras dos semanas, con el fin de evaluar posibles pérdidas por descarga o una disminución en el crecimiento del consorcio microbiano; siendo, de igual forma necesario su posterior análisis y evaluación en futuros estudios.

D. Condiciones/parámetros para crecimiento de biofilm microbiano

Los principales factores responsables de la formación de la estructura comunitaria de microorganismos fotosintéticos incluyen: las características de las aguas residuales, la interacción de las especies, las variaciones en las condiciones ambientales, la configuración del biorreactor y las condiciones operativas. Entre las principales condiciones a tomar en cuenta para el crecimiento del biofilm se encuentran: la temperatura, la luz, el pH y la concentración de los “nutrientes”.

En referencia a “Temperatura” en el marco teórico, el aumento de temperatura favorece a la eficiencia de eliminación de nutrientes y al crecimiento de los microorganismos fotosintéticos hasta cierto valor, posterior a este punto, el crecimiento de la biomasa disminuye debido al estrés oxidativo y a la disminución de actividad fotosintética.

En el Cuadro 2 se presentan los rangos favorables de temperatura para el crecimiento de los filos de fitoplancton identificados en el Lago de Atitlán. Al evaluar las temperaturas empleadas en los diferentes estudios presentados en el Cuadro 3, se observó que en el género Dinoflagellata, en Aquino-Cruz y

Okolodkov; (2016), los mayores porcentajes de remoción de nutrientes fueron obtenidos en el rango de 15 a 25 °C, encontrándose dentro del rango de temperaturas presentado en el Cuadro 2; mientras que al operar a valores superiores de 30 °C, se obtuvo el menor porcentaje de remoción de nutrientes. En las diatomeas, se presenta un menor porcentaje de remoción al operar a una temperatura de 27 °C, esto puede deberse a que la temperatura es mucho más alta que el rango establecido; mientras que en los estudios operados a 24 °C, se presentan mayores valores de remoción, encontrándose esta temperatura muy cercana al rango de temperatura establecido para este género. En los estudios con clorofitas, todas las temperaturas empleadas se encontraban dentro del rango establecido para este género, razón por la cual pueden observarse altos porcentajes de remoción para el nitrógeno y el fósforo. El azufre, sin embargo, presentó bajos porcentajes de absorción en comparación con los otros nutrientes, lo que se atribuye a la competencia entre la captación de sulfato y otros elementos esenciales en el mismo microorganismo; es decir que otros elementos esenciales, como el cromato, molibdato y la selenita, compiten con el anión sulfato para obtener los mismos sitios de absorción, evitando una mayor absorción de sulfato (Mohammadi, 2018). Gonçalves, *et al*; (2016) obtuvieron los menores porcentajes de remoción debido a que el crecimiento de *P. subcapitata* fue fuertemente inhibida por la clorelina, una mezcla de ácidos grasos excretada por *C. vulgaris* (Fergola, *et al*; 2007), microalga con la que fue cultivada en conjunto. En el caso de las carofitas, no se cuenta con información suficiente respecto a las condiciones empleadas de temperatura en el estudio. Por último, en los estudios empleando cianobacterias, se observa que todas las temperaturas utilizadas para el crecimiento y la remoción de nutrientes se encuentran dentro del rango presentado en el Cuadro 2; pues en Chevalier, *et al*; (2000), evaluando distintas temperaturas, se observa que la mayor remoción fue obtenida a 25 °C, único valor dentro del rango. De igual forma en el resto de los estudios se evalúan rangos de temperaturas favorables que dan lugar a una alta remoción de nutrientes, incluso una remoción total tanto de nitrógeno como de fósforo en el caso de Hu, *et al*; (2000).

Siendo el rango promedio seleccionado de temperaturas favorables para el crecimiento de los microorganismos fotosintéticos, de 21 - 28 °C, en el Cuadro 4 se observa que la mayoría de los estudios que emplearon biofilms microbianos presentan condiciones de temperatura dentro de este rango, comprobando que estas no solo favorecen al microorganismo de forma individual, sino que el consorcio microbiano de estos filos, también se ve favorecido a estas temperaturas al permitir una eficaz remoción de nutrientes y, al mismo tiempo, una constante generación de biomasa.

Para que el sistema propuesto pueda operar en una planta de tratamiento de aguas residuales, es necesario que los efluentes de ingreso tengan una temperatura dentro de este rango, para que estas condiciones promuevan, en los microorganismos del biofilm microbiano, una mayor remoción de nutrientes al operar bajo condiciones favorables para su crecimiento. Dado que la descarga de aguas residuales a altas temperaturas implica un desperdicio energético en el proceso y, siendo la temperatura

promedio del Lago de Atitlán de 21.8 °C (AMSCLAE, 2019), de acuerdo con el Acuerdo Gubernativo No. 236 - 2006 (**Figura 14**), la temperatura máxima permisible para la descarga de aguas a este cuerpo receptor sería de 28.8 °C. Esto indica que el rango de temperatura establecido para favorecer al crecimiento de los filos seleccionados se encuentra dentro de los límites de descarga de aguas en Guatemala. Al ser necesario cumplir con estos parámetros, se plantea que un exceso de calor en la salida de efluentes debería ser recuperado en el sistema, permitiendo operar a temperaturas adecuadas en el proceso de tratamiento, para aumentar la remoción de nutrientes por parte del biofilm microbiano.

En las condiciones de iluminación, también se presenta una correlación positiva entre la disponibilidad de luz y productividad de la biomasa, aumentando el crecimiento de microorganismos fotosintéticos conforme aumenta la intensidad de luz hasta un valor máximo de iluminación. Haciendo referencia a “Luz” en el marco teórico, las microalgas y cianobacterias convierten la luz en energía química por el proceso de fotosíntesis, razón por la cual es un parámetro clave para el cultivo de estos microorganismos. La luz afecta el rendimiento de eliminación de nutrientes de los sistemas basados en biofilms microbianos al influir directamente en el crecimiento de los microorganismos, por lo tanto, la utilización eficaz de la luz disponible, evitando la fotoinhibición, es esencial para una aplicación exitosa de biofilms microbianos en el tratamiento de aguas residuales.

En el Cuadro 3 se presentan condiciones individuales empleadas en diferentes estudios para cada uno de los filos de fitoplancton. Se pudo observar que todos los filos presentaron altas tasas de remoción de nutrientes bajo una iluminación máxima de 120 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$, a excepción de las cianobacterias, las cuales han presentado una mayor resistencia y crecimiento favorables a mayores irradiancias de luz, pudiendo estar relacionado de igual forma con su capacidad de crecimiento en ambientes con mayor temperatura. En otras palabras, son más resistentes a irradiancias y temperaturas mayores. Chevalier, *et al*; (2000) presentan la evaluación de crecimiento y remoción de nutrientes en distintas especies de cianobacterias. En las especies presentadas, a temperaturas entre 15 y 25 °C, el crecimiento máximo fue alcanzado en valores de 350 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$, presentando fotoinhibición en valores mayores a este.

La fotoinhibición ocurre cuando la intensidad de luz excede el punto de saturación aceptado por el microorganismo, el estrés producirá un daño en los receptores de luz de los cloroplastos y generará de igual forma, una disminución en la tasa fotosintética, por ende, una disminución en la producción de biomasa y en la remoción de nutrientes. El valor específico al que se produce la fotoinhibición puede variar de acuerdo con las comunidades en los biofilms y a las condiciones de crecimiento. En estudios realizados empleando únicamente microalgas, Hill, *et al*; (2009) y Liu, *et al*; (2013) reportan una saturación de luz a 100 y 150 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ respectivamente. Guzzon, *et al*; (2008) informan que, al evaluar distintas intensidades de luz en biofilms de microorganismos fotosintéticos, a 120 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ se obtuvo una mayor densidad de biomasa y una mayor acumulación de fósforo. Mientras que Mulbry y Wilkie,

(2001) presentan que los biofilms cultivados bajo un rango de luz similar (40 - 140 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$) mostraron un mayor contenido de nutrientes celulares, 7.1% N y 1.47% P, en comparación con 3.6% N y 0.65% P, obtenidos a regímenes de luz más altos con un promedio de 270 y 390 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ respectivamente.

Dado que estos estudios evalúan solo el comportamiento de microalgas, es necesario tomar en cuenta que las cianobacterias han demostrado un rango de crecimiento máximo a mayores irradiancias. De acuerdo con Vejrazka, *et al*; (2011) las irradiancias favorables para los microorganismos fotosintéticos van desde 100 a 500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$, y de acuerdo con el Cuadro 4, la mayor irradiancia empleada para los distintos biofilms microbianos fue de 422 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$, ajustándose a dicho rango y haciendo de este, un límite favorable para todos los filos de fitoplancton seleccionados sin causar fotoinhibición.

La intensidad y la distribución uniforme de la luz, así como la relación entre la luz y oscuridad, son factores importantes para el crecimiento y la producción de biomasa. Se ha comprobado que las microalgas pueden crecer bajo una iluminación continua, al mismo tiempo que remueven nutrientes. Sin embargo, en el consorcio microalga-cianobacteria, debido a la presencia de cianobacterias, para aumentar la remoción de nutrientes del efluente, es necesario emplear un fotoperíodo y no iluminación continua, pues la enzima complejo nitrogenasa, presentada en la **Figura 2** bajo “Nitrógeno”, encargada de la fijación de N_2 , es inhibida por el oxígeno, haciendo que ciertas cianobacterias tengan como mecanismo de protección, la separación de los mecanismos fotosintéticos y de fijación de nitrógeno, ocurriendo en un periodo de luz y oscuridad respectivamente (Mayz-Figueroa, 2004). Por lo que, para remover una mayor cantidad de nutrientes, al incluir la remoción de nitrógeno molecular, además de los otros compuestos nitrogenados por parte de las cianobacterias, se requiere de un período de 12 h de luz y uno de 12 h de oscuridad.

Con el fin de aumentar la rentabilidad del proceso, se utilizará como fuente de iluminación la luz solar en lo posible, en lugar de una fuente artificial que implicaría mayores gastos energéticos debido a las grandes cantidades de aguas a tratar. Dado que la irradiancia solar puede variar de acuerdo con las estaciones del año, se debe emplear controles de luz que permitan alcanzar el rango establecido de 100 - 500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ para no causar fotoinhibición en los biofilms durante los períodos con mayor irradiancia. Al emplear este sistema de luz natural durante el día, se tendrá el fotoperíodo natural de 12:12 h (luz/sombra), el cual en Krzeminska, *et al*; (2014) demostró, en microorganismos fotosintéticos, un mayor crecimiento que en una iluminación continua.

El crecimiento y desarrollo de los biofilms microbianos está muy influenciados por el pH, siendo esencial para el establecimiento y crecimiento de las células fotosintéticas en este. Además, dependiendo de la especie, se pueden preferir condiciones más alcalinas o ácida (Lavens y Sorgeloos, 1996). De acuerdo con el Cuadro 2, el rango promedio de pH para los filos seleccionados de fitoplancton es de 7.8

- 9.4, encontrándose dentro de este rango la mayoría de los valores de pH de los distintos filos presentados en el Cuadro 3.

Sin embargo, al evaluar la información del Cuadro 4, se puede observar que en los consorcios de microorganismos se emplean valores menores de pH que los del rango establecido para los filos, indicando que, al actuar los microorganismos fotosintéticos en conjunto, pueden presentar variaciones de cuando estos se emplean de forma individual. Lavens y Sorgeloos, (1996), indican que el crecimiento de microorganismos fotosintéticos usualmente ocurre a valores de pH en un rango de 6 - 9. De acuerdo con este rango, y tomando en cuenta los valores presentados en los distintos estudios de biofilms microbianos, se determinó un rango de pH favorable de 7 - 9 para el crecimiento de los filos seleccionados de fitoplancton, tanto de forma individual, como en consorcio, favoreciendo a su vez a la capacidad de remoción de nutrientes, pues la mayoría de los estudios evaluados en el Cuadro 4, se encuentra ahora dentro de este rango.

De igual forma que ocurre con la temperatura, para que el sistema propuesto opere dentro de una planta de tratamiento es necesario que los efluentes de ingreso se encuentren dentro del rango establecido de pH, para favorecer la formación de biofilms microbianos. Dado que los valores de pH en la descarga de aguas a cuerpos receptores deben encontrarse lo más cercano posible a la neutralidad, siendo de 6 - 9 de acuerdo con el Acuerdo Gubernativo No. 236-2006 (**Figura 14**), se determina que el rango establecido de pH cumple con estos requisitos, pues aún sin ajustar el pH del consorcio microbiano, Zamora, *et al*; (2007) indicó que el pH de este en el biorreactor aumentó a lo largo del experimento hasta un máximo de 8.4. Esto demuestra que el mismo metabolismo microbiano produce valores de pH que están en este rango, por lo que su control dentro del tratamiento de aguas residuales se facilita, y en dado caso el pH supere este rango, la inyección de CO₂ al reactor se considera la opción más fácil y efectiva.

E. Remoción de nutrientes

Dada las altas concentraciones de nutrientes en las aguas residuales, estas actúan como medio nutritivo para el crecimiento de los microorganismos, de forma que, al ser removidas por el biofilm, dan lugar a un efluente “más limpio”. La relación C: N: P en las aguas residuales es un factor importante que puede afectar la eficiencia del sistema. La falta de algunos nutrientes esenciales o su baja disponibilidad en algunos tipos de aguas residuales podría afectar negativamente el desempeño de los sistemas que utilizan microorganismos fotosintéticos, en términos de eficiencia de remoción de contaminantes y producción de biomasa (Posada, *et al*; 2013). Además, algunos compuestos presentes en las aguas residuales o producidos durante el tratamiento podrían inhibir la actividad de los microorganismos.

Como se menciona en “Nitrógeno”, las concentraciones de NH_4^+ superiores a 100 mg/L podrían resultar tóxicas para los organismos fotosintéticos (Sutherland, *et al*; 2015), además, proporciones molares N/P inferiores a 5:1 pueden resultar en limitación de nitrógeno, mientras que las proporciones superiores a 30:1 podrían conducir a una deficiencia de fósforo (Gonçalves, *et al*; 2016). Dado que estas altas toxicidades son comunes en las aguas residuales ganaderas o los efluentes agroindustriales, de acuerdo con “Tipos de aguas residuales”, se seleccionaron las aguas residuales domésticas para su tratamiento con el biofilm microalga-cianobacteria, pues este tipo de efluentes presenta concentraciones en un rango de 20 - 85 mg/L de nitrógeno y 5 - 20 mg/L de fósforo (**Figura 12** en marco teórico), y una relación molar N/P de 11:1, encontrándose entre el rango de concentraciones favorables para el crecimiento y desarrollo del biofilm. Además, se observa en el Cuadro 4 que la mayoría de las evaluaciones para el tratamiento de efluentes con biofilms microbianos se realizó en aguas residuales domésticas, confirmando la efectividad en su uso como medio nutricional para los consorcios de microalgas y cianobacterias.

Dado que la mayoría de las aguas residuales es principalmente rica en nitrógeno y fósforo, y los tratamientos de agua tienen como objetivo eliminarlos, el uso de microorganismos fotosintéticos presenta una alternativa viable para la remoción de estos. Como se menciona en “Asimilación de nutrientes en organismos fotosintéticos”, las microalgas y las cianobacterias en conjunto son capaces de acumular carbono inorgánico en forma de CO_2 , nitrógeno en forma de NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ y N_2 , y fósforo en forma de PO_4^{3-} , para ser integrados en los procesos metabólicos para la formación de aminoácidos. Por otro lado, en el tratamiento convencional de aguas residuales, el carbono se oxida a CO_2 , el nitrógeno se extrae a la atmósfera en forma de N_2 y el fósforo generalmente se precipita, impidiendo con estos procesos, el aprovechamiento de los nutrientes como alimento para microorganismos, como en el sistema de biofilm (Adav *et al*; 2008). Por esto, el uso de consorcios microbianos es preferido, pues estos compuestos desechados por el tratamiento convencional sirven como alimento para el crecimiento de las microalgas y cianobacterias, pudiendo llevar a su completa eliminación dentro del proceso de tratamiento de aguas residuales.

De acuerdo con el Acuerdo Gubernativo No. 236 - 2006 (**Figura 14**), la concentración máxima de nitrógeno total en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores es de 25 mg/L y la de fósforo total de 15 mg/L. De acuerdo con lo presentado en el Cuadro 3 y 4, se comprueba que los consorcios microbianos conformados por diatomeas, clorofitas y cianobacterias, poseen la capacidad de remover gran parte de nutrientes de las aguas residuales, siendo todos los consorcios microbianos evaluados en las bibliografías, formados por estos tres filos. Debido a esto y, de acuerdo con todas las referencias bibliográficas detrás de cada una de las selecciones para la formación del biofilm propuesto, es posible decir que este sistema permitirá obtener concentraciones de nitrógeno y fósforo que cumplan con los parámetros establecidos para Guatemala, o en dado caso, obtener valores que hagan que los

requerimientos del tratamiento terciario se reduzcan dentro del proceso de tratamiento de aguas residuales.

F. Sistema a emplear

Haciendo referencia a “Sistema de tanque abierto”, el cultivo de microalgas en el tratamiento tradicional de aguas residuales se realiza típicamente en estanques al aire libre o en fotobiorreactores cerrados. La viabilidad de cada sistema depende de varios factores, como las condiciones climáticas y las propiedades intrínsecas de la cepa de microalgas/cianobacterias. Sin embargo, la productividad de la biomasa en sistemas abiertos es relativamente baja debido a la dificultad de distribuir la luz y el CO₂ de manera eficiente debido a la baja relación superficie/volumen de la suspensión. Además, estos sistemas presentan bajas tasas de absorción de nutrientes, altas tasas de contaminación y la necesidad de separar las aguas residuales tratadas de la biomasa microbiana (Cai, *et al*; 2013).

El uso de un PBR cerrado es apropiado para superar algunos de los problemas relacionados con los sistemas de estanques abiertos, ya que, al contar con una mejor penetración de luz, se obtiene mayores productividades de biomasa y menores tiempos de retención (Pulz, 2001). Sin embargo, en los sistemas “Fotobiorreactores cerrados” mencionados en el marco teórico, que no emplean biofilms y son sistemas de células suspendidas, para la recolección de algas del medio, los microorganismos son acumulados generalmente por procesos de sedimentación o floculación, siendo necesario una posterior centrifugación de este lodo o suspensión, para eliminar el agua por completo. Aunque los sistemas de cultivo de células suspendidas han sido aplicados eficazmente en el tratamiento de aguas residuales, aún se requiere de una mayor separación de la biomasa microbiana, ya que puede contribuir al 60 - 90% de la demanda biológica de oxígeno (DBO) del efluente (He y Xue, 2010). Debido al alto volumen de efluentes y biomasa en el sistema, la recolección de esta biomasa resulta en pasos adicionales dentro del proceso; razón por la cual el sistema seleccionado es un sistema de cultivo de células inmovilizadas en membrana, pues no es necesaria la separación de biomasa del efluente.

Haciendo referencia a “PBR twin-layer”, en este fotobiorreactor vertical de doble capa se utiliza un enfoque de inmovilización que permite la separación de células del medio líquido de forma efectiva. El objetivo del sistema es mantener y hacer crecer cultivos de microorganismos fotosintéticos en un estado inmovilizado vertical, usando dos capas finas y porosas que permiten la adhesión de los microorganismos fotosintéticos y la dispersión de nutrientes a estos. En este caso, como capa de sustrato se emplea el Polyfelt Geolon PE180, sobre la cual se inmovilizan las microalgas y cianobacterias, y como capa fuente se emplea una malla de fibra de vidrio, siendo este el material más comúnmente utilizado. A los microorganismos en la capa de sustrato se les suministra las aguas residuales usando la capa fuente, agregando el fluido por gravedad en la parte superior por medio de una bomba de

desplazamiento positivo (Shi, *et al*; 2007, Shi, *et al*; 2013), sin que el flujo entre en contacto con la superficie del biofilm microbiano (**Figura 11** en marco teórico). Al dispersar los efluentes usando la capa fuente, los nutrientes se difunden desde esta capa a través de la capa sustrato hasta los microorganismos fotosintéticos inmovilizados, evitando con esta separación entre células inmovilizadas y el medio líquido que fluye, posibles desprendimientos del biofilm debido a la fuerza hidrodinámica del flujo.

De acuerdo con la evaluación del sistema twin-layer, realizada por Shi, *et al*; (2013), no se observó desprendimiento de células inmovilizadas o biofilm en el PBR de doble capa durante los 56 días de su funcionamiento. Esto se puede atribuir al hecho de que en este sistema las aguas residuales y las algas inmovilizadas están separadas por la capa de sustrato microporoso, asegurando una inmovilización completa y permanente del componente biológico del reactor. Además, esta capa actúa como una barrera eficaz para los contaminantes de algas, depredadores, parásitos o patógenos de algas transmitidos por las aguas residuales y por lo tanto asegurar condiciones de operación estables en el proceso de tratamiento.

El cuerpo de cada unidad está constituido por dos paneles de aproximadamente 1m², conformados, cada uno, por dos capas, la capa sustrato del lado externo y la capa fuente en el lado interno (**Figura 47**), encontrándose cada unidad a una distancia de 50 cm (Shi, *et al*; 2013). El lado externo de la capa sustrato, donde se encuentra el consorcio microbiano, se encuentra expuesto a la atmósfera, para lograr que la superficie cuente con una mejor absorción de luz y dióxido de carbono, facilitando el intercambio de gases. Además, al ser difundidos los nutrientes a través de la capa fuente, las partículas en el efluente no interfieren con la disponibilidad de luz en la superficie del biofilm, pues los efluentes son agregados en la parte posterior de la superficie iluminada del biofilm. La exposición directa de la capa con biofilm al ambiente, y no la capa por donde se transporta el efluente, evita la continua evaporación del agua tratada al estar en contacto directo con la fuente de luz, al mismo tiempo que evita el calentamiento del sistema al tratarse de un dispositivo con refrigeración natural que elimina el calor latente del agua evaporada de la capa externa.

Dado que los efluentes son agregados al sistema a través de una membrana, el flujo de ingreso debe ser laminar con el fin de que, a medida que este descienda por la capa fuente, cubra la mayor superficie posible del lado interno de la capa sustrato para una dispersión de efluentes equitativa a través de esta. De esta forma, aumentando la relación superficie/volumen, se mejora la dispersión de nutrientes a lo largo del biofilm microbiano del lado externo y, por ende, aumenta la productividad de la biomasa al cubrir una mayor área del biofilm. En los estudios consultados donde se emplea el sistema twin-layer con una matriz de 1 m², Shi, *et al*; (2013) emplea un flujo de 3.8 L/h al contar con 50 L de aguas residuales, Nauman, *et al*; (2012) uno de 220 ml/h con 2 L de efluentes y Shi, *et al*; (2007) un rango de 220 - 240 ml/h al contar de igual forma con 2 L. De acuerdo con los resultados de estos estudios, el rango

de flujo adecuado con una matriz de 1m^2 es de 220 - 240 mL/h cuando se trabaja a escala laboratorio con muy bajos volúmenes de aguas a tratar, sin embargo para realizar la escala a nivel industrial, tomando en cuenta los altos volúmenes de los efluentes, es necesario evaluar el área de la matriz al igual que el flujo a emplear. Con el fin de aumentar la remoción de nutrientes por parte del biofilm, los efluentes son recolectados en la parte inferior del módulo y son recirculados a la reserva de aguas residuales, para ingresar nuevamente al sistema por medio del conducto que se conecta con la capa fuente, por la cual pueden de igual forma inyectarse gases enriquecidos en CO_2 u otros compuestos de ser necesario.

Además de las ventajas previamente mencionadas, dado que cada unidad trabaja de forma independiente, se pueden alternar de acuerdo a su uso. Para las unidades que estén realizando el proceso de cultivo en la matriz, el caldo con microorganismos será adicionado por flujo constante a lo largo de dos a tres semanas, posterior a este tiempo o al momento que se observe una capa densa de biofilm en la superficie, las matrices están listas para realizar el proceso de biorremediación y pasarán al sistema de doble capa. Para las unidades en el sistema de doble capa que ya cuenten con un biofilm en la superficie, los efluentes domésticos serán agregados por flujo continuo a lo largo de una o dos semanas, revisando a lo largo de este tiempo que no existan desprendimientos. Luego de este tiempo y al haber alcanzado el biofilm un espesor de aproximadamente 2 mm, el flujo será detenido y se procederá con la recolección de biomasa por medio de espátula u otra herramienta, retirándola de la matriz y sirviendo los restos adheridos a los poros, como inóculo inicial para el siguiente ciclo de cultivo. El diagrama de bloques del proceso de cultivo y biorremediación se presenta en la **Figura 49**. Debido al funcionamiento individual de las unidades, no es necesario parar al mismo tiempo todo el sistema y afectar a los biofilms que aún se encuentran en proceso de crecimiento para poder realizar el cambio de los paneles o la recolección de biomasa.

Por esto, y dada la constante adhesión de células inmovilizadas al evitar desprendimientos, el fácil intercambio de gases del cultivo y la alta eficiencia en la iluminación para los microorganismos evitando el calentamiento del sistema, se selecciona este tipo de fotobiorreactor para su aplicación en el proceso secundario del tratamiento de aguas residuales domésticas, determinando que su uso favorecerá al crecimiento del consorcio microalgas-cianobacterias seleccionado para su alta remoción de fósforo y nitrógeno dentro del tratamiento.

En la **Figura 50** se plantea un balance de masa y energía del proceso de biorremediación empleando el fotobiorreactor twin-layer, con un flujo de efluentes del tratamiento primario obtenido a partir del flujo generado por un hogar guatemalteco promedio y el número de viviendas en la Ciudad de Guatemala que cuentan con una red de drenaje. Es necesario emplear parámetros de control a lo largo del proceso para que el flujo que ingresa a cada unidad sea laminar y pueda cubrir la mayor área posible sobre la capa fuente y por ende sobre la capa sustrato. De acuerdo al flujo de entrada planteado, siendo el 90% de este recirculado en las unidades, se determina el uso de seis unidades twin-layer con dos placas de 0.125m^2

cada una, para obtener un tiempo de retención hidráulica de 4 minutos en cada unidad, con una alta remoción de nitrógeno, fósforo y carbono inorgánico (CO_2). Se asume que todo el CO_2 que es utilizado por los microorganismos es convertido y liberado en forma de O_2 .

IX. CONCLUSIONES

- De los cinco filos identificados en el Lago de Atilán, se seleccionó las clorofitas (Chlorophyceae), diatomeas (Bacillariophyceae) y cianobacterias (Cyanophyceae), dado que estos filos son los que presentan una mayor abundancia y diversidad dentro del lago, con una abundancia relativa promedio del 80% y con seis o siete géneros, facilitando su recolección y ampliando el área de investigación entre especies. De igual forma, al contar con cianobacterias capaces de asimilar también nitrógeno molecular, se obtiene un efluente con alta oxigenación, produciendo el fitoplancton más del 80% del oxígeno terrestre, y una reducción en las emisiones de CO₂, necesitando de 1.8 g de CO₂ para producir 1g de biomasa; además, al encontrarse de forma natural en ambientes hídricos guatemaltecos, se evita la búsqueda de cepas externas, se facilitan las interacciones microbianas al contar solo con especies nativas y se evitan daños en la estructura o procesos metabólicos al no introducir especies foráneas.
- Dada la capacidad del consorcio microalga-cianobacteria de acumular carbono inorgánico en forma de CO₂, nitrógeno en forma de NO₃⁻, NO₂⁻, NH₄⁺ y N₂, y fósforo en forma de PO₄³⁻ a su metabolismo, y de acuerdo con los valores de remoción de nutrientes de 63 - 86 % de N y 85 - 98 % de P en las referencias bibliográficas consultadas, se determinó que al emplear este sistema se obtendría concentraciones de nitrógeno y fósforo que cumplen con los parámetros establecidos para la descarga a cuerpos de agua en Guatemala o que lleven a que los requerimientos del tratamiento terciario sean mínimos.
- De acuerdo con las condiciones evaluadas para los filos seleccionados en la revisión bibliográfica, para que el biofilm microalga-cianobacteria presente una alta afinidad por nutrientes y un mayor crecimiento, se estableció un rango de temperatura de 21 - 28 °C, una irradiancia de 100 a 500 μmol/m²s y un pH de 7 - 9, cumpliendo la temperatura y el pH, a su vez, con el Acuerdo Gubernativo No. 236 - 2006 guatemalteco.
- Al evaluar las características de las matrices empleadas en los diferentes estudios, se seleccionó el geotextil de polietileno de alta densidad Polyfelt Geolon PE180, debido a su alta durabilidad con un tiempo de vida de 20 - 22 años, alta rugosidad que permite adhesión sin desprendimiento de más de una semana, y una baja energía superficial de 31 dina/cm², en comparación con los otros materiales, además de ser semi-cristalino con una opacidad que permite la transmisión de luz sin llegar a la fotoinhibición.
- Se seleccionó el fotobiorreactor “twin-layer” como sistema a emplear en el tratamiento secundario, debido a que su diseño de doble capa permite una mejor adhesión del biofilm al no estar expuesto a fuerzas hidráulicas y una barrera para posibles contaminantes del biofilm portados por las aguas residuales; al no ser necesaria la separación de la biomasa del efluente, es más fácil la recolección de esta por medio de raspado usando una espátula y dado que cada unidad trabaja de forma

independiente, de acuerdo a la etapa del proceso que se este realizando, se pueden alternar o detener de acuerdo a su uso.

X. RECOMENDACIONES

- Realizar por medio de pruebas experimentales el trabajo previo, para evaluar la efectividad del sistema de biofilm microbiano propuesto como sistema alternativo para el tratamiento secundario de aguas residuales domésticas, empleando los filos de clorofita, diatomea y cianobacteria; una matriz de HDPE; las mismas condiciones de temperatura, iluminación y pH; y el fotobiorreactor twin-layer.
- Realizar pruebas de concentración de células adheridas contra el tiempo en materiales hidrófilos e hidrofóbicos, para evaluar el efecto de la energía superficial en distintos materiales que pueden ser empleados para la matriz y determinar si la adhesión de microorganismos se verá favorecida por superficies con mayor o una menor energía.
- Realizar variaciones dentro del fotobiorreactor propuesto para evaluar si un diseño distinto en la entrada de flujo puede facilitar o evitar el traslado de la matriz del proceso de cultivo al proceso de tratamiento de efluentes.
- Evaluar por medio de pruebas y comparaciones, que tipo de controles de luz pueden ser empleados para el control de irradiancia solar que eviten la fotoinhibición del biofilm al mismo tiempo que son rentables para el proceso.
- Determinar el espesor máximo que el biofilm puede alcanzar, evaluando la productividad de biomasa y la remoción de nutrientes generada durante un determinado período de tiempo, previo a ocurrir desprendimientos microbianos en la matriz bajo las condiciones propuestas en este estudio.
- Estudiar las especies de cianobacterias que producen toxinas y evaluar las condiciones o parámetros bajo las que las producen, realizando análisis toxicológicos, para establecer un control que impida su producción y posible efecto sobre los otros microorganismos, o su correcto manejo y posterior eliminación.
- Evaluar los procesos metabólicos de los microorganismos empleados, determinando para cuál de estos es posible aplicar el uso de ingeniería genética, con el fin de aumentar la eficiencia fotosintética bajo condiciones de iluminación, temperatura y pH; para aumentar la capacidad de remoción de ciertos nutrientes, obtener una mayor producción de biomasa, y para disminuir posibles toxicidades.
- Evaluar la implementación de un flujo laminar en el proceso de tratamiento a escala industrial, usando un biofilm en un fotobiorreactor twin-layer, para establecer si el flujo del efluente del tratamiento primario cumple con los parámetros requeridos, para establecer el área de la matriz de soporte y la cantidad adecuada de unidades de acuerdo con el volumen de aguas residuales que se este tratando.
- Realizar estudios cinéticos para determinar el comportamiento respecto al tiempo, del consorcio de microorganismos dentro del biofilm, determinando su capacidad de remoción de nutrientes bajo las condiciones establecidas a las que opera.

- Realizar análisis químicos a todos los tipos de residuos regulares presentes en las aguas residuales domésticas a tratar, para determinar el efecto a nivel metabólico de cada uno de ellos sobre los microorganismos del biofilm y establecer si el uso de su biomasa, posterior al proceso de biorremediación, puede emplearse a nivel industrial.
- Evaluar el biofilm microbiano obtenido al finalizar el proceso de biorremediación, determinando y caracterizando los tipos de microorganismos presentes en él para definir el uso específico que se le puede dar a la biomasa entre distintas aplicaciones industriales.

XI. BIBLIOGRAFÍA

- 3M (2021). *Clasificación de la energía superficial*. <https://www.3m.com.es/3M/> [Consulta 14/01/21]
- Abinandan, S., Shanthakumar, S. (2015). *Challenges and opportunities in application of microalgae (Chlorophyta) for wastewater treatment: A review*. Renewable and Sustainable Energy Reviews 52: 123-132.
- Abou-Shanab, R. A., Ji, M. K., Kim, H. C., Paeng, K. J., & Jeon, B. H. (2013). *Microalgal species growing on piggery wastewater as a valuable candidate for nutrient removal and biodiesel production*. Journal of environmental management, 115, 257-264.
- Acién, F. G., Fernández-Sevilla, J. M., Molina-Grima, E. (2017). *Microalgae: the basis of making sustainability*. In: Case study of innovative projects – successful real cases.
- Acién, F. G., Fernández-Sevilla J. M., Molina-Grima E. (2017). *Photobioreactors for the production of microalgae*. Rev. Environl Sci Bio/technol. 12(2):1–44.
- Acuerdo Gubernativo No. 236-2006. *Reglamento de las descargas y reuso de aguas residuales y de la disposición de lodos*. Guatemala. 27 págs.
- Adav, S. S., Lee, D. J., Show, K. Y., & Tay, J. H. (2008). *Aerobic granular sludge: recent advances*. Biotechnology advances, 26(5), 411-423.
- Adamczyk, M., Lasek, J., & Skawinska, A. (2016). *CO₂ biofixation and growth kinetics of Chlorella vulgaris and Nannochloropsis gaditana*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 179(7), 1248–1261.
- Ahluwalia, S. S., Goyal, D. (2007). *Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals from wastewater*. Bioresour Technol. 98(12):2243–57.
- Ahmad J, Fathurrahman L, Hajar A, Siti H (2013) *Batch phytoremediation of aquaculture wastewater of silver barramundi utilizing green microalgae Chlorella sp.* J Fish Aquat Sci 8:516–525
- Ajala, S. O., & Alexander, M. L. (2020). *Assessment of Chlorella vulgaris, Scenedesmus obliquus, and Oocystis minuta for removal of sulfate, nitrate, and phosphate in wastewater*. International Journal of Energy and Environmental Engineering, 1-16.
- Alam, M. A., & Wang, Z. (2019). *Microalgae biotechnology for development of biofuel and wastewater treatment*. New York, NY: Springer. 655 p.
- Alcántara, C., Domínguez, J., García, D., Blanco, S., Pérez, R., García-Encina, P. A., Muñoz, R. (2015). *Evaluation of wastewater treatment in a novel anoxic-aerobic algal-bacterial photobioreactor with biomass recycling through carbon and nitrogen mass balances*. Bioresour Technol. 191:173–86.
- Alcorta, J., & Diez, B. (2020). *Las cianobacterias y el cambio climático*. El cambio climático y la biología funcional de los organismos.
- Alegre, E.; Blanco, S.; Castejón, M.; López, R. & Sánchez, L. (2004). *Segmentación autónoma y extracción de características geométricas en diatomeas*. XXV Jornadas de Automática. Ciudad Real. España.

AMSCLAE. (2019). *Plan de manejo integrado de la cuenca del Lago de Atitlán*. Autoridad para el Manejo Sustentable de la Cuenca del Lago de Atitlán y su Entorno 333 p.

Andersson, S. (2009). *Characterization of bacterial biofilms for wastewater treatment* (Doctoral dissertation, Kungliga Tekniska Högskolan). Royal Institute of Technology. Stockholm. 62 p.

Aquino-Cruz, A., & Okolodkov, Y. B. (2016). *Impact of increasing water temperature on growth, photosynthetic efficiency, nutrient consumption, and potential toxicity of Amphidinium cf. carterae and Coolia monotis (Dinoflagellata)*. *Revista de biología marina y oceanografía*, 51(3), 565-580.

Arumugam, M., Agarwal, A., Arya, M.C., Ahmed, Z., (2013). *Influence of nitrogen sources on biomass productivity of microalgae Scenedesmus bijugatus*. *Bioresour Technol.* 131:246-9.

Aslan, S., Kapdan, I.K. (2006). *Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae*. *Ecol Eng* 28:64–70.

Babu, M. (2011). *Effect of Algal Biofilm and Operational Conditions on Nitrogen Removal in Waste Stabilization Ponds*: UNESCO-IHE PhD Thesis. CRC Press.

Banerjee, A., Sharma, R., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2002). *Botryococcus braunii: a renewable source of hydrocarbons and other chemicals*. *Critical reviews in biotechnology*, 22(3), 245-279.

Barros, A.I., Gonçalves, A.L., Simões, M., Pires, J.C. (2015). *Harvesting techniques applied to microalgae: a review*. *Renew Sust Energ Rev* 41: 1489–1500

Barsanti, L., & Gualtieri, P. (2014). *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology*. CRC press. 361 p.

Bazán, G. I., Dalmaso, M. G., Álvarez, S. B., & Martínez de Fabricius, A. L. (2012). *Contribución al conocimiento ficológico y calidad de agua de la laguna La Arocena* (pcia. de La Pampa, Argentina). *Biología Acuática*.

Becker, K. (1998). *Detachment studies on microfouling in natural biofilms on substrata with different surface tensions*. *International biodeterioration & biodegradation*, 41(1), 93-100.

Bell, P. R., & Hemsley, A. R. (2000). *Green plants: their origin and diversity*. Cambridge University Press.

Bellinger, E., Sigeo, D. (2010). *Freshwater algae: Identification and use as bioindicators*. Ltd. Chippenham, Wilts: Gran Bretaña. 285 p.

Bharamurugan, G. L., Valerie, O., & Mark, L. (2018). *Valuable bioproducts obtained from microalgal biomass and their commercial applications: A review*. *Environmental Engineering Research*, 23(3), 229-241.

Bitton, G. (2005). *Wastewater Microbiology*. 3 ed. New Jersey: John Wiley & sons, inc.

Blanken, W., Janssen, M., Cuaresma, M., Libor, Z., Bhaiji, T., & Wijffels, R. H. (2014). *Biofilm growth of Chlorella sorokiniana in a rotating biological contactor based photobioreactor*. *Biotechnology and bioengineering*, 111(12), 2436-2445.

Boelee, N. C., Temmink, H., Janssen, M., Buisman, C. J. N., & Wijffels, R. H. (2011). *Nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater effluent using microalgal biofilms*. *Water research*, 45(18), 5925-5933.

Boelee, N. C., Temmink, H., Janssen, M., Buisman, C. J., & Wijffels, R. H. (2012). *Scenario analysis of nutrient removal from municipal wastewater by microalgal biofilms*. *Water*, 4(2), 460-473.

Boelee, N. C., Janssen, M., Temmink, H., Taparavičiūtė, L., Khiewwijit, R., Janoska, A., & Wijffels, R. H. (2014). *The effect of harvesting on biomass production and nutrient removal in phototrophic biofilm reactors for effluent polishing*. *Journal of Applied Phycology*, 26(3), 1439-1452.

Bolhuis H., Cretoiu MS., Stal LJ. (2014). *Molecular ecology of microbial mats*. *FEMS Microbiol Ecol* 90(2): 335-350.

Borowitzka MA. (1999). *Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters*. *J. Biotechnol.* 70:313–21.

Brown, N., Shilton, A. (2014). *Luxury uptake of phosphorus by microalgae in waste stabilisation ponds: current understanding and future direction*. *Rev Environ Sci Biotechnol.* 13:321–8.

Buhmann M, Kroth PG, Schleheck D (2012) *Photoautotrophic-heterotrophic biofilm communities: a laboratory incubator designed for growing axenic diatoms and bacteria in defined mixed-species biofilms*. *Env Microbiol Rep* 4(1):133–140

Burhenne N & R Tischner. (2000). *Isolation and characterization of nitrite-reductase-deficient mutants of Chlorella sorokiniana (strain 211-8k)*. *Planta* 211: 440-445.

Butler C.S., and Boltz J.P. (2014) *Biofilm Processes and Control in Water and Wastewater Treatment*. In: Ahuja S. (ed.) *Comprehensive Water Quality and Purification*, vol. 3, pp. 90-107. United States of America.

Cabanelas ITD, J Ruiz, Z Arbib, FA Chinalia, C Garrido- Pérez, F Rogalla, IA Nascimento & JA Perales. (2013). *Comparing the use of different domestic wastewaters for coupling microalgal production and nutrient removal*. *Bioresource Technology* 131: 429-436.

Cai, T., Park, S. Y., & Li, Y. (2013). *Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: status and prospects*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 19, 360-369.

Candela Orduz, R. D. (2016). *Las microalgas y el tratamiento de aguas residuales: conceptos y aplicaciones*. Una revisión bibliográfica. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Bucaramanga. 60 págs.

Caporgno, M. P., & Mathys, A. (2018). *Trends in microalgae incorporation into innovative food products with potential health benefits*. *Frontier in Nutrition*, 5, 58.

Chen, C.Y. and Chen, S.D., (2000). *Biofilm characteristics in biological denitrification biofilm reactors*. *Wat Sci and Technol.* 41(4): p. 147-154.

Chen, G; Chao, L; Qi, Y. (2015). *Enhancing the productivity of microalgae cultivated in wastewater toward biofuel production: a critical review*. *Appl Energy.* 137:282-91.

Chevalier, P., Proulx, D., Lessard, P., Vincent, W. F., & De la Noüe, J. (2000). *Nitrogen and phosphorus removal by high latitude mat-forming cyanobacteria for potential use in tertiary wastewater treatment*. *Journal of Applied Phycology*, 12(2), 105-112.

Chiu, S. Y., Kao, C. Y., Chen, T. Y., Chang, Y. B., Kuo, C. M., & Lin, C. S. (2015). *Cultivation of microalgal Chlorella for biomass and lipid production using wastewater as nutrient resource*. *Bioresource technology*, 184, 179-189.

Christensson, M. and Welander, T. (2004), *Treatment of municipal wastewater in a hybrid process using a new suspended carrier with large surface area*. *Wat. Sci. Tech.* 49(11-12): p. 207- 214.

Christenson, L., & Sims, R. (2011). *Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts*. *Biotechnology advances*, 29(6), 686-702.

Chorus, I. & J. Bartram. (2000). *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences monitoring and management*. 1^a ed., E & FN Spon, London. 668 p.

Christenson, L., Sims, R. (2011). *Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts*. *Biotechnol Adv.* 29(6):686–702.

Christenson, L. B., & Sims, R. C. (2012). *Rotating algal biofilm reactor and spool harvester for wastewater treatment with biofuels by-products*. *Biotechnology and bioengineering*, 109 (7), 1674-1684.

Chunni, Z., Guijun, Y., Boqiang, Q., Wilhelm, S. W., Yu, L., Lihua, H., Zheng, R., Hongwei, Y., Zhou, Z. (2019). *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*. 55: 12.

Chu, W. L., & Phang, S. M. (2019). *Biosorption of heavy metals and dyes from industrial effluents by microalgae*. In *Microalgae biotechnology for development of biofuel and wastewater treatment* (pp. 599-634). Springer, Singapore.

Colares, R.G., Machado, P., de Faria, M., Detoni, A., Tavano, V., (2013). *Microalgae classification using semi-supervised and active learning based on Gaussian mixture models*. *Journal of the Brazilian Computer Society* 19 (4), 411.

CONAP. 2008. *Guatemala y su Biodiversidad: un enfoque histórico, cultural, biológico, y económico*. Consejo nacional de áreas protegidas, oficina técnica de Biodiversidad. Guatemala. 650 p.

Coops, H. (2002). *Ecology of charophytes: an introduction*. *Aquatic Botany*, 72, 205-208.

Crini, G., & Lichtfouse, E. (2018). *Wastewater treatment: an overview*. In *Green Adsorbents for Pollutant Removal* (pp. 1-21). Springer, Cham.

Cuellar-Bermudez, S.P., Garcia-Perez, J.S., Rittman, B.E., Parra-Saldivar, R., (2015). *Photosynthetic bioenergy utilizing CO₂: an approach on flue gases utilization for third generation biofuels*. *J. Clean Prod.* 98:53-65

Defew, E. C., Perkins, R. G., & Paterson, D. M. (2004). *The influence of light and temperature interactions on a natural estuarine microphytobenthic assemblage*. *Biofilms*, 1(1), 21.

De Godos I, Arbid Z, Lara E, Cano R, Muñoz R, Rogalla F. (2017). *Wastewater treatment in algal systems*. In: *Innovative wastewater treatment and resource recovery technologies. Impacts on energy, economy and environment*. London: IWA Publishing.

de Jesús Martínez-Roldán, A., & Ibarra-Berumen, J. (2019). *Employment of Wastewater to Produce Microalgal Biomass as a Biorefinery Concept*. In *Microalgae Biotechnology for Development of Biofuel and Wastewater Treatment* (pp. 487-504). Springer, Singapore.

DICA/Caudales (2018). *Informe anual de monitoreo de caudales, 2018*. Autoridad para el Manejo Sustentable de la Cuenca del Lago de Atitlán y su entorno. Panajachel, Sololá.

Di Pippo, F., Ellwood, N. T. W., Guzzon, A., Siliato, L., Micheletti, E., De Philippis, R., & Albertano, P. B. (2012). *Effect of light and temperature on biomass, photosynthesis and capsular polysaccharides in cultured phototrophic biofilms*. *Journal of applied phycology*, 24(2), 211-220.

Dix, M., Orozco, M., Cabrera, D., Bocel, E., Toledo, A., y otros. (2012). *El Lago Atitlán, Guatemala: su estado ecológico octubre 2009 - diciembre 2011*. *Revista de la Universidad del Valle de Guatemala*, 35-50.

Ebeling, J. M., Rishel, K. L., & Sibrell, P. L. (2005). *Screening and evaluation of polymers as flocculation aids for the treatment of aquacultural effluents*. *Aquacultural engineering*, 33(4), 235-249.

Elenter, D., Milferstedt, K., Zhang, W., Hausner, M. and Morgenroth, E. (2007). *Influence of detachment on substrate removal and microbial ecology in a heterotrophic/autotrophic biofilm*. *Water Research* 41, 4657–4671.

Eroglu, E., Smith, S. M., & Raston, C. L. (2015). *Application of various immobilization techniques for algal bioprocesses*. In *Biomass and biofuels from microalgae* (pp. 19-44). Springer, Cham.

Escribano R., Castro L. (2004). *Plancton y productividad*. Cáp. 14. *Biología marina y oceanografía: conceptos y procesos*. Consejo Nacional del Libro y la Lectura. p. 287-312.

Falkowski, P. G. and Raven, J. A. (2007) *Aquatic Photosynthesis*. Princeton University Press, Princeton.

Fanés Treviño, I. (2008). *Estudios taxonómicos en algas verdes cocales del sur de España*. Universidad de Granada. 323 p.

Fenouillot, F., Cassagnau, P., & Majesté, J. C. (2009). *Uneven distribution of nanoparticles in immiscible fluids: Morphology development in polymer blends*. *Polymer*, 50(6), 1333-1350.

Fergola, P., Cerasuolo, M., Pollio, A., Pinto, G., & DellaGreca, M. (2007). *Allelopathy and competition between *Chlorella vulgaris* and *Pseudokirchneriella subcapitata*: experiments and mathematical model*. *Ecological Modelling*, 208(2-4), 205-214.

Fernandez F.G.A., Sevilla J.M., Grima E.M. (2013). *Photobioreactors for the production of microalgae*. *Rev Environ Sci Biotechnol*. 12(2):131–51.

Fernández, J. (2014). *Uso de microalgas inmovilizadas en biofilm para tratamiento de aguas residuales*. In Congreso Nacional de Medio Ambiente.

Franco RA, Paniagua Michel J, Zamora Castro JE (2006) *Characterization and performance of constructed nitrifying biofilms during nitrogen bioremediation of a wastewater effluent*. *J Ind Microbiol Biotechnol* 34:279–287

Gao, F., Yang, Z. H., Li, C., Zeng, G. M., Ma, D. H., & Zhou, L. (2015). *A novel algal biofilm membrane photobioreactor for attached microalgae growth and nutrients removal from secondary effluent*. *Bioresource technology*, 179, 8-12.

García, H. O. (2002). *Cuantificación de la calidad del agua del río Villalobos en época seca y lluviosa en un período de las 24 horas 2 veces al mes en un punto de previo a la entrada al lago de Amatitlán*. Universidad de San Carlos de Guatemala.

- García-Meza, J. V., Barrangue, C., & Admiraal, W. (2005). *Biofilm formation by algae as a mechanism for surviving on mine tailings*. Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal, 24(3), 573-581.
- Gerrath, J. F. (2003). *Conjugating green algae and desmids*. Freshwater Algae of North America. Ecology, and Classification, 353-381.
- Ginn B, Fein J (2008) *The effect of species diversity on metal adsorption onto bacteria*. Geochim Cosmochim Acta 72:3939–3948
- Gómez, F. (2005). *A list of dinoflagellates in the world's oceans*. Acta Botanica Croatica 64 (1): 129-212.
- Gómez, F., Moreira, D., & López-García, P. (2011). *Avances en el estudio de los dinoflagelados (Dinophyceae) con la filogenia molecular*. Hidrobiológica, 21(3), 343-364.
- Gómez, N., Riera, J. L., & Sabater, S. (1995). Ecology and morphological variability of *Aulacoseira granulata* (Bacillariophyceae) in Spanish reservoirs. Journal of Plankton Research, 17(1), 1-16.
- Gonçalves, A. L., Pires, J. C., & Simões, M. (2016). *Biotechnological potential of Synechocystis salina co-cultures with selected microalgae and cyanobacteria: nutrients removal, biomass and lipid production*. Bioresource technology, 200, 279-286.
- González, C., Marciniak, J., Villaverde, S., Leon, C., Garcia, P. A., & Munoz, R. (2008). *Efficient nutrient removal from swine manure in a tubular biofilm photo-bioreactor using algae-bacteria consortia*. Water Science and Technology, 58(1), 95-102.
- Grambast, L. J. (1974). *Phylogeny of the Charophyta*. Taxon, 23(4), 463-481.
- Gray N. F. (2005). *Water Technology: An Introduction for Environmental Scientists and Engineers*. 2nd Edition, Elsevier Science & Technology Books, ISBN 0750666331, Amsterdam, The Netherlands.
- Greene B, Bedell GW (1990) *Algal gels or immobilized algae for metal recovery*. In: Akatsuka I (ed) Introduction to applied phycology. SPB Academic Publishing by, The Hague, the Netherlands, pp 137–49
- Gross, E. M. (2003). *Allelopathy of aquatic autotrophs*. Critical reviews in plant sciences, 22(3-4), 313-339.
- Gujar A, Cui H, Ji C, Kubar S, Li R (2019) *Development, Production and Market Value of Microalgae Products*. Appli Microbiol Open Access 5:162.
- Guldhe, A., S Kumari, L., Ramanna, P., Ramsundar, P., Singh, I., Rawat & F Bux. (2017). *Prospects, recent advancements and challenges of different wastewater streams for microalgal cultivation*. Journal of Environmental Management 203: 299- 315.
- Gupta, P. L., Lee, S. M., Choi, H. J. (2015). *A mini review: photobioreactors for large scale algal cultivation*. World J Microbiol Biotechnol. 31:1409–17.
- Guzzon, A., Bohn, A., Diociaiuti, M., & Albertano, P. (2008). *Cultured phototrophic biofilms for phosphorus removal in wastewater treatment*. Water research, 42(16), 4357-4367.

- Harmsen, M., Yang, L., Pamp, S. J. and Tolker-Nielsen, T. (2010). *An update on Pseudomonas aeruginosa biofilm formation, tolerance, and dispersal*. FEMS Immunology and Medical Microbiology 59, 253–268.
- He, S., & Xue, G. (2010). *Algal-based immobilization process to treat the effluent from a secondary wastewater treatment plant (WWTP)*. Journal of hazardous materials, 178(1-3), 895-899.
- Heistad, A., Scott, T., Skaarer, A. M., Seidu, A. R., Hanssen, J. F., Stenstrom, T. A. (2009). *Water Sci Technol.* 60(2):399.
- Henze M, Comeau Y. (2008). *Wastewater characterization*. In: Henze M, van Loosdrecht MCM, Ekama GA, Brdjanovic D, editors. Biological wastewater treatment: principles modelling and design. London: IWA Publishing. p. 33–52.
- Hernández D, Riaño B, Coca M, Solana M, Bertucco A, García-González MC. (2016). *Microalgae cultivation in high-rate algal ponds using slaughterhouse wastewater for biofuel applications*. Chem Eng J. 285:449–58.
- Herrera, I. & Brown, O. (2011). *Propuesta de una metodología para la estimación de áreas de recarga hídrica en Guatemala*. Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias, 20(4), 48-52.
- Hill, W. R., & Fanta, S. E. (2008). *Phosphorus and light colimit periphyton growth at subsaturating irradiances*. Freshwater Biology, 53(2), 215-225.
- Hill, W. R., Fanta, S. E., & Roberts, B. J. (2009). *Quantifying phosphorus and light effects in stream algae*. Limnology and oceanography, 54(1), 368-380.
- Hillebrand, H., Kahlert, M., Haglund, A. L., Berninger, U. G., Nagel, S., & Wickham, S. (2002). *Control of microbenthic communities by grazing and nutrient supply*. Ecology, 83(8), 2205-2219.
- Horemans B, Albers P, Springaei D (2015) *The biofilm concept from a bioremediation perspective*. In Gavin Lear (ed): Biofilms in bioremediation: current research and emerging technologies. The University of Auckland, New Zealand. Caister Academic Press, p 252
- Hu, Q., Westerhoff, P., & Vermaas, W. (2000). *Removal of nitrate from groundwater by cyanobacteria: quantitative assessment of factors influencing nitrate uptake*. Applied and Environmental Microbiology, 66(1), 133-139.
- Hutchinson, G. E. (1967). *A treatise on limnology. Volume II. Introduction to lake biology and the limnoplankton*. John Wiley & Sons, Inc., New York. 1115 p.
- Inca Ormachea, S. (2014). *Diversidad de diatomeas como bioindicadores de contaminación orgánica y por metales pesados del agua del humedal de Ite, Tacna*. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Perú. 160 p.
- Irving, T. E., & Allen, D. G. (2011). *Species and material considerations in the formation and development of microalgal biofilms*. Applied microbiology and biotechnology, 92(2), 283-294.
- Jagmann, N., & Philipp, B. (2014). *Design of synthetic microbial communities for biotechnological production processes*. Journal of biotechnology, 184, 209-218.
- Jia, H., Yuan, Q. (2016). *Removal of nitrogen from wastewater using microalgae and microalgae–bacteria consortia*. Cogent Environ Sci. 2:1275089.

- Johnson, M. B., & Wen, Z. (2010). *Development of an attached microalgal growth system for biofuel production*. Applied microbiology and biotechnology, 85(3), 525-534.
- Karthikeyan, P., Manimaran, K., Sampathkumar, P., & Rameshkumar, L. (2013). *Growth and nutrient removal properties of the diatoms, Chaetoceros curvisetus and C. simplex under different nitrogen sources*. Applied Water Science, 3(1), 49-55.
- Kebede-westhead, E., Pizarro, C., Mulbry, W. W., & Wilkie, A. C. (2003). *Production and nutrient removal by periphyton grown under different loading rates of anaerobically digested flushed dairy manure I*. Journal of Phycology, 39(6), 1275-1282.
- Kebede-Westhead, E., Pizarro, C., & Mulbry, W. W. (2006). *Treatment of swine manure effluent using freshwater algae: production, nutrient recovery, and elemental composition of algal biomass at four effluent loading rates*. Journal of applied phycology, 18(1), 41-46.
- Kesaano, M., & Sims, R. C. (2014). *Algal biofilm based technology for wastewater treatment*. Algal Research, 5, 231-240.
- Kim, G., Mujtaba, G., & Lee, K., (2016). *Effects of nitrogen sources on cell growth and biochemical composition of marine chlorophyte Tetraselmis sp. for lipid production*. Algae, 31(3), 257-266.
- Komárek, J. & Jankovská, V. (2001). *Review of the green algal genus Pediastrum; implication for pollen-analytical research*. Kies, L. & Schnetter, R., Eds. Bibliotheca Phycologica, 108. J. Cramer, Stuttgart. 127 pp.
- Komárek, J. & Fott, B. (1983). *Chlorophyceae (Grünalgen). Ordnung: Chlorococcales*. Huber-Pestalozzi, G., Ed. Das Phytoplankton des Sübwassers. Systematik und Biologie, 7, Schweizerbart'ssche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart. 1044 p.
- Komárek J, Zapomělová E, Šmarda J., Kopecký, J., Rejmánková, E., Woodhouse, J., Neilan, BA. & Komárková, J. (2013). *Polyphasic evaluation of Limnoraphis robusta, a water-bloom forming cyanobacterium from Lake Atilán, Guatemala, with a description of Limnoraphis gen. nov.* Fottea 13 (1): 39-52.
- Kong, Q., Li, L., Martinez, B., Chen, P., Ruan, R., (2010). *Culture of microalgae Chlamydomonas reinhardtii in wastewater for biomass feedstock production*. Appl Biochem Biotechnol. 160(1):9.
- Królikowska, J. (1997). *Eutrophication processes in a shallow, macrophyte-dominated lake—species differentiation, biomass and the distribution of submerged macrophytes in Lake Łuknajno (Poland)*. In Shallow Lakes' 95 (pp. 411-416). Springer, Dordrecht.
- Kufel, L., & Kufel, I. (2002). *Chara beds acting as nutrient sinks in shallow lakes—a review*. Aquatic botany, 72(3-4), 249-260.
- Kumar A, Ergas S, Yuan X, Sahu A, Zhang Q, Jo Dewulf F, Malcata X, Herman van Langenhove G (2010) *Enhanced CO2 fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions*. Trends Biotechnol 28:371–380.
- Larsdotter K. (2006). *Wastewater treatment with microalgae: a literature review*. Vatten. 62:31–8.
- Lara A. G. M. (2014). *Aspectos ecológicos, cultivo, contenido de lípidos totales y proteínas del fitoplancton nativo de un lago polimíctico tropical (Lago de Chapala)*. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara. 119 págs.

- Largeau, C., Casadevall, E., Berkaloff, C., & Dhamelincourt, P. (1980). *Sites of accumulation and composition of hydrocarbons in Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, 19(6), 1043-1051.
- Lazarova, V. & Manem J, (2000), *Innovative biofilm treatment technologies for water and wastewater treatment, in Biofilms II: process analysis and applications*, Bryers JD, Editor. Wiley-Liss: New York. p. 159-206.
- Leander B (2004). *Did trypanosomatid parasites have photo- synthetic ancestors?* *Trends Microbiol* 12:251–258
- Lee, R.E. (2008). *Phycology*. 4ta ed. Cambridge University Press. New York. 547 p.
- Licursi, M., & Gómez, N. (2003). *Aplicación de índices bióticos en la evaluación de la calidad del agua en sistemas lóticos de la Llanura Pampeana Argentina a partir del empleo de diatomeas*. *Biología acuática*, (21), 31-49.
- Lin, S. D. (2007). *Water and Wastewater Calculations Manual*. 2nd Edition, McGraw-Hill Companies, Inc., ISBN 0-07-154266-3, New York, USA.
- Lira O. A., Guevara A. B. (2017). *Irradiancia y radiancia. Comprensión de los conceptos de irradiancia y radiancia para los espacios arquitectónicos así como las unidades radiométricas y fotométricas*. Práctica 15. Laboratorio de edificación sostenible. UNAM. 7 p.
- Liu, T., Wang, J., Hu, Q., Cheng, P., Ji, B., Liu, J., & Wang, H. (2013). *Attached cultivation technology of microalgae for efficient biomass feedstock production*. *Bioresource technology*, 127, 216-222.
- MAGA. (2013). *Estudio semidetallado de los suelos del departamento de Sololá, Guatemala*. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. Dirección de Información Geográfica, Estratégica y Gestión de Riesgos. Guatemala. 787 p.
- Mallick, N. (2002). *Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P and metal removal: a review*. *biometals*, 15(4), 377-390.
- Mansilla A., Alveal K. (2004). *Generalidades sobre las macroalgas*. Cáp. 16. *Biología marina y oceanografía: conceptos y procesos*. Consejo Nacional del Libro y la Lectura. p. 349-364
- Martínez M. M. (2018). *Relación del fitoplancton y el zooplancton en los sitios de Santiago Atitlán y Centro Weiss G del Lago de Atitlán durante los años 2013 y 2014*. Informe de tesis. Universidad San Carlos de Guatemala. 84 p.
- Martinez, M. E., Jimenez, J. M., & El Yousfi, F. (1999). *Influence of phosphorus concentration and temperature on growth and phosphorus uptake by the microalga Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology*, 67(3), 233-240.
- Masojídek, J., Koblížek M., & Torzillo G. (2004). *Photosynthesis in microalgae*. In: Richmond A (ed). *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*, pp. 20-39. Blackwell Publishing, Iowa.
- Matamoros, V., Gutiérrez, R., Ferrer, I., García, J., Bayona, J. M. (2015). *Capability of microalgae-based wastewater treatment systems to remove emerging organic contaminants: a pilot-scale study*. *J Hazard Mater*. 288:34–42.

- Mayz-Figueroa, J. (2004). *Fijación biológica de nitrógeno*. Revista Científica UDO Agrícola, 4(1), 1-20.
- McConnaughey, T. A., (1991). *Calcification in Chara corallina: CO₂ hydroxylation generates protons for bicarbonate assimilation*. Limnol. Oceanogr. 36: 19-628.
- Mendes, L. B. B., & Vermelho, A. B. (2013). *Allelopathy as a potential strategy to improve microalgae cultivation*. Biotechnology for biofuels, 6(1), 1-14.
- Michael Guiry in Guiry, M.D. & Guiry, G.M. (2020). *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 03 December 2020.
- Milledge, J.J., Heaven, S. (2013) *A review of the harvesting of micro-algae for biofuel production*. Rev Environ Sci Biotechnol 12:165–178.
- Millington, W. F., & Gawlik, S. R. (1967). *Silica in the wall of Pediastrum*. Nature, 216(5110), 68-68.
- Mohammadi, M., Mowla, D., Esmailzadeh, F., & Ghasemi, Y. (2018). *Cultivation of microalgae in a power plant wastewater for sulfate removal and biomass production: A batch study*. Journal of Environmental Chemical Engineering, 6(2), 2812-2820.
- Moisander, P.H., Steppe, T.F., Hall, N.S., Kuparinen, J., Pearl, H. W. (2003). *Variability in nitrogen and phosphorus limitation for Baltic Sea phytoplankton during nitrogen-fixing cyanobacteria*
- Molinuevo-Salces, B., Riaño, B., Hernández, D., & García-González, M. C. (2019). *Microalgae and wastewater treatment: advantages and disadvantages*. In Microalgae biotechnology for development of biofuel and wastewater treatment (pp. 505-533). Springer, Singapore.
- Morgenroth, E. and Wilderer, P. A. (2000). *Influence of detachment mechanisms on competition in biofilms*. Water Research 34, 417–426.
- Mousavi, S., Najafpour, G. D., Mohammadi, M., & Seifi, M. H. (2018). *Cultivation of newly isolated microalgae Coelastrum sp. in wastewater for simultaneous CO₂ fixation, lipid production and wastewater treatment*. Bioprocess and biosystems engineering, 41(4), 519-530.
- Mulbry, W. W., & Wilkie, A. C. (2001). *Growth of benthic freshwater algae on dairy manures*. Journal of Applied Phycology, 13(4), 301-306.
- Mulbry, W., Kondrad, S., Pizarro, C., Kebede-Westhead, E. (2008) *Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: algal productivity and recovery of manure nutrients using pilot-scale algal turf scrubbers*. Bioresource Technology. 99(17), 8137–8142
- Muñoz, R., Guieysse, B. (2006) *Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review*. Water Res 40:2799–2815
- Muñoz, R., Köllner, C., & Guieysse, B. (2009). *Biofilm photobioreactors for the treatment of industrial wastewaters*. Journal of hazardous materials, 161(1), 29-34.
- Murphy, T. E., & Berberoğlu, H. (2012). *Temperature fluctuation and evaporative loss rate in an algae biofilm photobioreactor*. Journal of solar energy engineering, 134 (1).

- Najdenski, H. M., Gigova, L. G., Iliev, I. I., Pilarski, P. S., Lukavský, J., Tsvetkova, I. V. & Kussovski, V. K. (2013). *Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria*. International journal of food science & technology, 48(7), 1533-1540.
- Natrah, F. M., Bossier, P., Sorgeloos, P., Yusoff, F. M., & Defoirdt, T. (2014). *Significance of microalgal–bacterial interactions for aquaculture*. Reviews in Aquaculture, 6(1), 48-61.
- Naumann, T., Çebi, Z., Podola, B., Melkonian, M. (2013). *Growing microalgae as aquaculture feeds on twin-layer: a novel solid-state photobioreactor*. Journal of applied phycology. 25(5), 1413-1420.
- Nowack, E. C., Podola, B., & Melkonian, M. (2005). *The 96-well twin-layer system: a novel approach in the cultivation of microalgae*. Protist, 156(2), 239-251.
- Ochaeta C. G. (2014). *Análisis temporal y espacial de la comunidad de fitoplancton en los puntos Panajachel, Centro Weiss y Santiago en el Lago de Atitlán, Sololá, Guatemala, durante el año 2013*. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. 78p.
- Ødegaard, H., Gisvold, B., and Strickland, J., (2000). *The influence of carrier size and shape in the moving bed biofilm process*. Wat. Sci. Tech. 41(4-5): p. 383-391.
- Olapade, O. A., & Leff, L. G. (2006). *Influence of dissolved organic matter and inorganic nutrients on the biofilm bacterial community on artificial substrates in a northeastern Ohio, USA, stream*. Canadian Journal of Microbiology, 52(6), 540-549.
- Olguín, E. J. (2012). *Dual purpose microalgae-bacteria-based systems that treat wastewater and produce biodiesel and chemical products within a biorefinery*. Biotechnol Adv. 30(5):1031-46.
- Organización Mundial de la Salud (1998). *Capítulo 7: Algas y cianobacterias en aguas dulces*. Guías para ambientes seguros en aguas recreativas. Volumen 1: Aguas costeras y aguas dulces; Ginebra, CH.
- Ozkan, A., Kinney, K., Katz, L., & Berberoglu, H. (2012). *Reduction of water and energy requirement of algae cultivation using an algae biofilm photobioreactor*. Bioresource technology, 114, 542-548.
- Ozkan, A., & Berberoglu, H. (2011). *Adhesion of Chlorella vulgaris on hydrophilic and hydrophobic surfaces*. In ASME International Mechanical Engineering Congress and Exposition (Vol. 54907, pp. 169-178).
- Paniagua-Michel, J. (2017). *Wastewater treatment using phototrophic–heterotrophic biofilms and microbial mats*. In Prospects and Challenges in Algal Biotechnology (pp. 257-275). Springer, Singapore.
- Park JBK & RJ Craggs. (2010). *Wastewater treatment and algal production in high-rate algal ponds with carbon dioxide addition*. Water Science and Technology 61(3): 633-639.
- Pires, J. C. M., Alvim-Ferraz, M. C. M., Martins, F. G., & Simões, M. (2013). *Wastewater treatment to enhance the economic viability of microalgae culture*. Environmental Science and Pollution Research, 20(8), 5096-5105.
- Pires, J. C. M. (2015). *Mass production of microalgae*. In: Kim S (ed). Handbook of marine microalgae biotechnology advances, pp. 55-65. Elsevier, London.
- Pittman JK, AP Dean & O Osundeko. (2011). *The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources*. Bioresource Technology 102(1): 17-25.

- Posadas, E., Bochon, S., Coca, M., García-González, M. C., García-Encina, P. A., Muñoz, R. (2014). *Microalgae- based agro-industrial wastewater treatment: a preliminary screening of biodegradability*. J Appl Phycol. 26:2335–45.
- Posadas, E., Alcántara, C., García-Encina, P. A., Gouveia, L., Guieysse, B., Norvill, Z., Acien, F. G., Markou, G., Congestri, R., Koreiviene, J., Muñoz, R.. (2018). *Microalgae cultivation in wastewater*. In Microalgae-based biofuels and bioproducts, from feedstock cultivation to end-products. p. 67–91.
- Qin, L., Alam, M. A., & Wang, Z. (2019). *Open pond culture systems and photobioreactors for microalgal biofuel production*. In Microalgae biotechnology for development of biofuel and wastewater treatment (pp. 45-74). Springer, Singapore.
- Rahman, K. M. (2020). *Food and High Value Products from Microalgae: Market Opportunities and Challenges*. In Microalgae Biotechnology for Food, Health and High Value Products (pp. 3-27). Springer, Singapore.
- Ramaraj, R., Tsai, D. D-W., Chen, P.H. (2015). *Carbon dioxide fixation of freshwater microalgae growth on natural water medium*. Ecol Eng. 75:86-92.
- Ramírez García P, Martínez Romero E, Martínez Salgado MD, Eslava Campos, CA. (2004). *Cianobacterias, microorganismos del fitoplancton y su relación con la salud humana*, Instituto Nacional de Ecología; p. 1-18.
- Ramírez S. M., Ortiz J. R. (2019). *Océanos y ecosistemas marino-costeros*. Primer reporte de evaluación del conocimiento sobre cambio climático en Guatemala. Editorial Universitaria UVG. Pp. 170-191.
- Rauytanapanit, M., Janchot, K., Kusolkumbot, P., Sirisattha, S., Waditee-Sirisattha, R., & Praneenarat, T. (2019). *Nutrient deprivation-associated changes in green microalga Coelastrum sp. Tistr 9501re enhanced potent antioxidant carotenoids*. Marine drugs, 17(6), 328.
- Rawat I, Ranjith Kumar R, Mutanda T, Bux F (2011) *Dual role of microalgae: phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production*. Appl Energy 88:3411–3424.
- Real academia española. (2014). *Diccionario de la lengua española*, 23.^a ed., [versión 23.4 en línea]. <https://dle.rae.es> [Consultado 07/01/21].
- Renner, L. D. and Weibel, D. B. (2011). *Physicochemical regulation of biofilm formation*. Mrs Bulletin 36, 347–355.
- Renuka, N., Sood, A., Ratha, S. K., Prasanna, R., & Ahluwalia, A. S. (2013). *Evaluation of microalgal consortia for treatment of primary treated sewage effluent and biomass production*. Journal of applied phycology, 25(5), 1529-1537.
- Riaño, B., Molinuevo, B., García-González, M. C. (2011). *Treatment of fish processing wastewater with microalgae-containing microbiota*. Bioresour Technol. 102:10829–33.
- Richmond, A. *The challenge confronting industrial microagriculture: high photosynthetic efficiency in large-scale reactors*. Hydrobiologia. 1987;151–152(1):117–21.
- Richmond, A. (2008). *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. New York: Wiley.

Rier, S. T., Stevenson, R. J., & LaLiberte, G. D. (2006). *Photo-acclimation response of benthic stream algae across experimentally manipulated light gradients: a comparison of growth rates and net primary productivity I*. *Journal of Phycology*, 42(3), 560-567.

Rinanti A. (2016). *Biotechnology carbon capture and storage by microalgae to enhance CO2 removal efficiency in closed- System photobioreactor*. In: Thajuddin N & D Dhanasekaran (eds). *Algae - Organisms for imminent biotechnology*, pp. 133-156. InTech, Rijeka.

Rinehart, K. L., M. Namikoshi, and B. W. Choi. (1994). *Structure and bio- synthesis of toxins from blue-green algae (cyanobacteria)*. *J. Appl. Phycol.* 6:159–176.

Rivas, A.W., Gómez, R.E. & Monterrosa, A.J. (2010). *Consideraciones generales para el estudio y monitoreo de diatomeas en los principales ríos de El Salvador*. Proyecto Universidad de El Salvador (UES) - Organización de los Estados Americanos (OEA). Editorial Universitaria UES, San Salvador, El Salvador. 48 p.

Robarts, R. D., & Zohary, T. (1987). *Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom-forming cyanobacteria*. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 21(3), 391-399.

Robinson, P. K., Mak, A. L., Trevan, M. D. (1986). *Immobilized algae – a review*. *Process Biochem* 21:122-127.

Roeselers, G., van Loosdrecht, M. C., & Muyzer, G. (2007). *Heterotrophic pioneers facilitate phototrophic biofilm development*. *Microbial Ecology*, 54(3), 578-585.

Roeselers, G.; Loosdrecht, M.; Muyzer, G. (2008). *Phototrophic biofilms and their potential applications*. *J. Appl. Phycol.* 20, 227–235.

Roldán, G. y Ramírez J. J. (2008). *Fundamentos de Limnología Neotropical*. Medellín: Universidad de Antioquia.

Rolff, C., Almesjo, L., Elmgren, R. (2007). *Nitrogen fixation and abundance of the diazotrophic cyanobacterium Aphanizomenon sp. in the Baltic Proper*. *Mar Ecol Prog Ser* 332: 107–118.

Roset J. Aguayo S, Muñoz MJ. (2001). *Detección de cianobacterias y sus toxinas*. Una revisión, *Rev. Toxicol*; 18: 65-71.

Rousseaux, C. S. and Gregg, W. W. (2012) *Climate variability and phytoplankton composition in the Pacific Ocean*. *J. Geophys. Res.: Oceans*, 117.

Roy, S. S., & Pal, R. (2015). *Microalgae in aquaculture: A review with special references to nutritional value and fish dietetics*. *Proceedings of the Zoological Society*, 68(1), 1–8.

Ruiz-Marin, A., Mendoza-Espinosa, L. G., & Stephenson, T. (2010). *Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater*. *Bioresource technology*, 101(1), 58-64.

Russel, M., Liu, C., Alam, A., Wang, F., Yao, J., Daroch, M., Shah, M.R. Wang, Z. (2018). *Exploring an in situ LED-illuminated isothermal micro-calorimetric method to investigate the thermodynamic behavior of Chlorella vulgaris during CO2 bio-fixation*. *Environm Sci Pollut Res*. 1-9.

Sahu, A. K., Siljudalen, J., Trydal, T., Rusten, B., (2013). *Utilization of wastewater nutrients for microalgae growth for anaerobic co-digestion*. *J Environ Manag.* 122:113-20.

- Schneider, S. (2007). *Macrophyte trophic indicator values from a European perspective*. *Limnologica*, 37, 281-289.
- Schnurr, P. J., Espie, G. S., & Allen, D. G. (2013). *Algae biofilm growth and the potential to stimulate lipid accumulation through nutrient starvation*. *Bioresource technology*, 136, 337-344.
- Sekar, R., Nair, K. V. K., Rao, V. N. R., & Venugopalan, V. P. (2002). *Nutrient dynamics and successional changes in a lentic freshwater biofilm*. *Freshwater biology*, 47(10), 1893-1907.
- Sekar, R., Venugopalan, V. P., Satpathy, K. K., Nair, K. V. K., & Rao, V. N. R. (2004). *Laboratory studies on adhesion of microalgae to hard substrates*. In *Asian Pacific Phycology in the 21st Century: Prospects and Challenges* (pp. 109-116). Springer, Dordrecht.
- SENACYT, RA, & PNUD. (2018). *Estrategia Nacional de Investigación Marino-Costera para Guatemala*. Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología. Rainforest Alliance. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo Guatemala.
- Serôdio, J., Vieira, S., & Cruz, S. (2008). *Photosynthetic activity, photoprotection and photoinhibition in intertidal microphytobenthos as studied in situ using variable chlorophyll fluorescence*. *Continental Shelf Research*, 28(10-11), 1363-1375.
- Sharma, K.K., Schuhmann, H., Schenk, P.M. (2012). *High lipid induction in microalgae for biodiesel production*. *Energies*. 5(5):1532-53
- Shi, J., Podola, B., & Melkonian, M. (2007). *Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae immobilized on twin layers: an experimental study*. *Journal of Applied Phycology*, 19(5), 417-423.
- Shi, J., Podola, B., & Melkonian, M. (2013). *Application of a prototype-scale Twin-Layer photobioreactor for effective N and P removal from different process stages of municipal wastewater by immobilized microalgae*. *Bioresource technology*, 154, 260-266.
- Siguee, D.C. (2005). *Freshwater Microbiology: Biodiversity and dynamic interactions of microorganisms in the aquatic environment*. Wiley & Sons Ltd. Manchester. 525 p.
- Siver, P. y Kling, H. (1997). *Morphological observations of Aulacoseira using scanning electron microscopy*. *Canadian Journal of Botany*, 75(11): 1807-1835
- Soldo, D., Hari, R., Sigg, L., & Behra, R. (2005). *Tolerance of Oocystis nephrocytioides to copper: intracellular distribution and extracellular complexation of copper*. *Aquatic Toxicology*, 71(4), 307-317.
- Solovchenko, A., Verschoor, A.M., Jablonowski, N.D., Nedbal, L., (2016). *Phosphorus from wastewater to crops: an alternative path involving microalgae*. *Biotechnol Adv.* 34(5):550-64.
- Sonune, A., & Ghate, R. (2004). *Developments in wastewater treatment methods*. *Desalination*. India. 167, 55-63.
- Stelzer, R. S., & Lamberti, G. A. (2001). *Effects of N: P ratio and total nutrient concentration on stream periphyton community structure, biomass, and elemental composition*. *Limnology and Oceanography*, 46(2), 356-367.
- Stoermer, E.F. (1999). *The Diatoms: Applications for the Environmental and Earth Sciences*. Cambridge University Press, Cambridge. 469 pp.

Stoodley, P., Cargo, R., Rupp, C. J., Wilson, S. and Klapper, I. (2002). *Biofilm material properties as related to shear-induced deformation and detachment phenomena*. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 29, 361–367.

Su, Y., Mennerich, A., & Urban, B. (2011). *Municipal wastewater treatment and biomass accumulation with a wastewater-born and settleable algal-bacterial culture*. water research, 45(11), 3351-3358.

Subashchandrabose, S.R., Ramakrishnan, B., Megharaj, M., Venkateswarlu, K., Naidu, R. (2011) *Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria: biotechnological potential*. Biotechnol Adv 29:896–907.

Sutherland, I. W. (2001). *Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework*. Microbiology, 147(1), 3-9.

Sydney E. B., Novak A. C., Carvalho J. C. & Soccol C. R. (2014). *Respirometric balance and carbon fixation of industrially important algae*. In: Pandey A, DJ Lee, Y Chisti & CR Soccol (eds). Biofuels from algae, pp. 67-84. Elsevier, Burlington.

Tampion, J., & Tampion, M. D. (1987). *Immobilized cells: principles and applications*. Vol. 5. Cambridge University Press.

Thomas, W. E., Nilsson, L. M., Forero, M., Sokurenko, E. V. and Vogel, V. (2004). *Shear-dependent 'stick-and-roll' adhesion of type 1 fimbriated Escherichia coli*. Molecular Microbiology 53, 1545–1557.

Toninelli, A. E., Wang, J., Liu, M., Wu, H., & Liu, T. (2016). *Scenedesmus dimorphus biofilm: Photoefficiency and biomass production under intermittent lighting*. Scientific reports, 6, 32305.

Turmel, M., Otis, C., & Lemieux, C. (2006). *The mitochondrial genome of Chara vulgaris: insights into the mitochondrial DNA architecture of the last common ancestor of green algae and land plants*. Molecular Biology and Evolution, 23(6), 1324-1338.

Umamaheswari J, Shanthakumar S. (2016). *Efficacy of microalgae for industrial wastewater treatment: a review on operating conditions, treatment efficiency and biomass productivity*. Rev Environ Sci Biotechnol. 15:265–84.

UNESCO. (2009). *Cianobacterias Planctónicas del Uruguay. Manual para la identificación y medidas de gestión*. Bonilla, S. (ed.), Documento Técnico PHI-LAC, N° 16. 105 p.

Unnithan, V. V., Unc, A., & Smith, G. B. (2014). *Mini-review: a priori considerations for bacteria–algae interactions in algal biofuel systems receiving municipal wastewaters*. Algal Research, 4, 35-40.

Urbaniak, J. (2011). *A SEM and light microscopy study of the oospore wall ornamentation in Polish charophytes (Charales, Charophyceae)-genus Chara*. Nova Hedwigia, 93(1-2), 1-28.

Usher K., Bergman B., Raven J. (2007). *Exploring Cyanobacterial Mutualisms*. Annu Rev. Ecol Evol Syst. 38:255-273.

Utkilen, H., O. M. Skulberg, B. Underdal, N. Gjølme, R. Skulberg, and J. Kotai. (1996). *The rise and fall of a toxigenic population of Microcystis aeruginosa (cyanophyceae/ cyanobacteria): a decade of observations in Lake Akersvatnet, Norway*. Phycologia 35:189–197.

Vandamme, D., Foubert, I., Muylaert, K. (2013). *Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production*. Trends Biotechnol. 31:233–9.

- Walsby, A. E. (1997). *Numerical integration of phytoplankton photosynthesis through time and depth in a water column*. New Phytol. 136: 189–209.
- Wang A., Yan K., Chu D., Nazer M., Lin N., Lin T., Samaranayake E., Chang J. (2020). *Microalgae as a Mainstream Food Ingredient: Demand and Supply Perspective*. Geb Impact Technology Company Limited. China. Microalgae Biotechnology for Food, Health and High Value Products. pp. 29-79
- Wang, L., Li, Y., Chen, P., Min, M., Chen, Y., Zhu, J., Ruan, R. R. (2010). *Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae Chlorella sp.* Bioresour Technol. 101:2623–8.
- Wang L, M Min, Y Li, P Chen, Y Chen, Y Liu, Y Wang & R Ruan. (2010). *Cultivation of green algae Chlorella sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant*. Applied Biochemistry and Biotechnology 162(4): 1174- 1186.
- Wang, B., Lan, C. Q., Horsman, M. (2012). *Closed photobioreactors for production of microalgal biomasses*. Biotechnol Adv. 30(4):904–12.
- Ward, O. P. (2004) *The industrial sustainability of bioremediation processes*. J Ind Microbial Biotechnol 31:1–4.
- Watanabe, M. F., & Oishi, S. (1985). *Effects of environmental factors on toxicity of a cyanobacterium (Microcystis aeruginosa) under culture conditions*. Applied and Environmental microbiology, 49(5), 1342-1344.
- Watanabe, Y., De I.N. J., Hall, D. O (1995). *Photosynthetic performance of a helical tubular photobioreactor incorporating the cyanobacterium Spirulina platensis*. Biotechnol Bioeng.. 47(2):261–9.
- Wei, Q., Hu, Z., Li, G., Xiao, B., Sun, H., & Tao, M. (2008). *Removing nitrogen and phosphorus from simulated wastewater using algal biofilm technique*. Frontiers of Environmental Science & Engineering in China, 2(4), 446-451.
- Wilking, J. N., Angelini, T. E., Seminara, A., Brenner, M. P. and Weitz, D. A. (2011). *Biofilms as complex fluids*. Mrs Bulletin 36, 385–391.
- Wiltshire, K., Boersma, M., & Meyer, B. (2003). *Grazer-induced changes in the desmid Staurastrum*. Hydrobiologia, 491(1-3), 255-260.
- Wolf, G., Picioreanu, C., & van Loosdrecht, M. C. (2007). *Kinetic modeling of phototrophic biofilms: the PHOBIA model*. Biotechnology and bioengineering, 97(5), 1064-1079.
- Yehonathan Bar-Yosef; Assaf Sukenik; Ora Hadas; Yehudit Viner-Mozzini & Aaron Kaplan (2010). *Enslavement in the Water Body by Toxic Aphanizomenon ovalisporum, Inducing Alkaline Phosphatase in Phytoplanktons*. Current Biology. 20 (17): 1557–1561.
- Yen, H. W., Hu, I. C., Chen, C. Y., Nagarajan, D., & Chang, J. S. (2019). *Design of photobioreactors for algal cultivation*. In Biofuels from algae (pp. 225-256). Elsevier.
- Yubuki, N., Nakayama, T., & Inouye, I. (2008). *A unique life cycle and perennation in a colorless chrysophyte spumella sp. 1*. Journal of phycology, 44(1), 164-172.
- Zamora CJ, Paniagua Michel J, Lezama Cervantes C (2007) *A novel approach for bioremediation of a coastal marine wastewater effluent based on artificial microbial mats*. Marine Biotechnol 10:181–189

Zehnder, A., & Gorham, P. R. (1960). *Factors influencing the growth of Microcystis aeruginosa Kütz. Emend. Elenkin*. Canadian Journal of Microbiology, 6(6), 645-660.

Zeng, X., Danquah, M. K., Chen, X. D. & Lu, Y. (2011). *Microalgae bioengineering: From CO₂ fixation to biofuel production*. Renewable and Sustainable Energy Reviews 15(6): 3252- 3260.

Zhang, X., Wang, L., & Levänen, E. (2013). *Superhydrophobic surfaces for the reduction of bacterial adhesion*. Rsc Advances, 3(30), 12003-12020.

Zhou, W., Chen, P., Min, M., Ma, X., Wang, J., Griffith, R., Hussain, F., Peng, P., Xie, Q., Li, Y. (2014). *Environment-enhancing algal biofuel production using wastewater*. Renew Sustain Energy Rev. 36:256-69.

Zhu, S., Huo, S., & Feng, P. (2019). *Developing designer microalgal consortia: A suitable approach to sustainable wastewater treatment*. In Microalgae biotechnology for development of biofuel and wastewater treatment (pp. 569-598). Springer, Singapore.

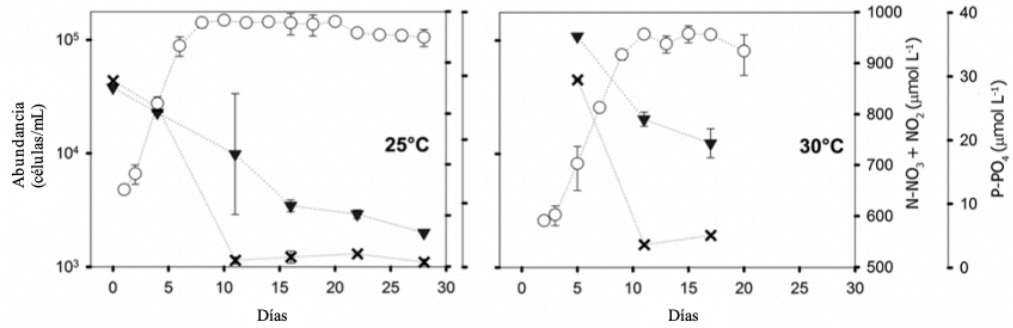
XII. ANEXOS

Figura 14. Límites máximos permisibles de descargas de aguas residuales a cuerpos receptores.

Parámetros	Dimensionales	Valores iniciales	Fecha máxima de cumplimiento			
			Dos de mayo de dos mil once	Dos de mayo de dos mil quince	Dos de mayo de dos mil veinte	Dos de mayo de dos mil veinticuatro
			Etapa			
			Uno	Dos	Tres	Cuatro
Temperatura	Grados Celsius	TCR +/- 7	TCR +/- 7	TCR +/- 7	TCR +/- 7	TCR +/- 7
Grasas y aceites	Miligramos por litro	1500	100	50	25	10
Materia flotante	Ausencia/presencia	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Sólidos suspendidos	Miligramos por litro	3500	600	400	150	100
Nitrógeno total	Miligramos por litro	1400	100	50	25	20
Fósforo total	Miligramos por litro	700	75	30	15	10
Potencial de hidrógeno	Unidades de potencial de hidrógeno	6 a 9	6 a 9	6 a 9	6 a 9	6 a 9
Coliformes fecales	Número más probable en cien mililitros	< 1x10 ⁸	< 1x10 ⁶	< 1x10 ⁵	< 1x10 ⁴	< 1x10 ⁴
Arsénico	Miligramos por litro	1	1.5	0.1	0.1	0.1
Cadmio	Miligramos por litro	1	0.4	0.1	0.1	0.1
Cianuro total	Miligramos por litro	6	3	1	1	1
Cobre	Miligramos por litro	4	4	3	3	3
Cromo hexavalente	Miligramos por litro	1	0.5	0.1	0.1	0.1
Mercurio	Miligramos por litro	0.1	0.1	0.02	0.02	0.01
Níquel	Miligramos por litro	6	4	2	2	2
Plomo	Miligramos por litro	4	1	0.4	0.4	0.4
Zinc	Miligramos por litro	10	10	10	10	10
Color	Unidades platino cobalto	1500	1300	1000	750	500

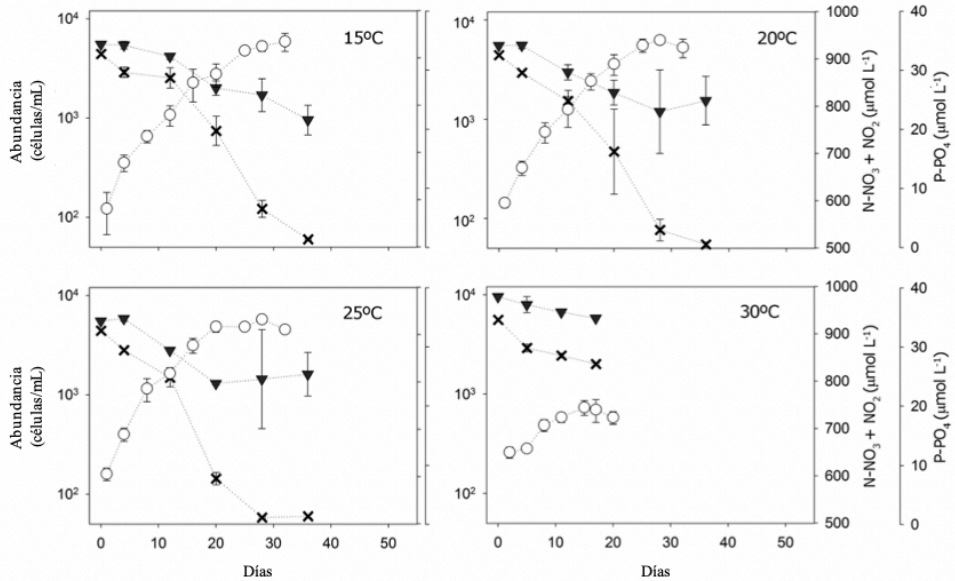
(Acuerdo Gubernativo No. 236-2006)

Figura 15. Consumo de nitrógeno y fósforo durante crecimiento celular en *A. cf. carterae*



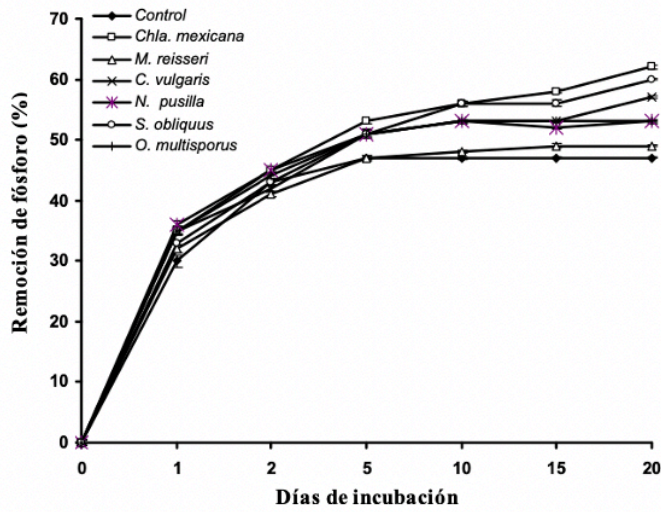
Consumo de NO₃-N + NO₂ (triángulos negros) y PO₄-P (cruces negras) (μmol/L) durante el crecimiento celular (círculos blancos) de *Amphidinium cf. carterae* en cultivos mantenidos en medio f/2 a temperaturas de crecimiento entre 5 y 30 °C (Aquino-Cruz y Okolodkov, 2016).

Figura 16. Consumo de nitrógeno y fósforo durante crecimiento celular en *C. monotis*



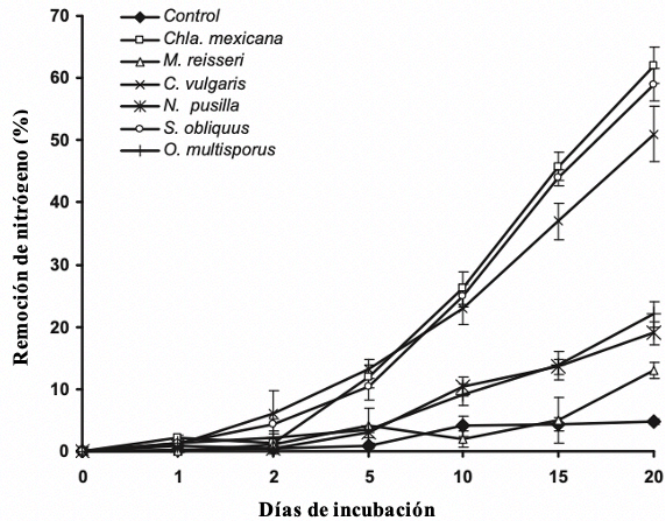
Consumo de NO₃-N + NO₂ (triángulos negros) y PO₄-P (cruces negras) (μmol/L) durante el crecimiento celular (círculos blancos) de *Coolia monotis* en cultivos mantenidos en medio f/2 a temperaturas de crecimiento entre 5 y 30 °C (Aquino-Cruz y Okolodkov, 2016).

Figura 17. Porcentaje de remoción de fósforo por parte de las especies *N. pusilla*, *C. mexicana*, *S. obliquus* y *C. vulgaris*.



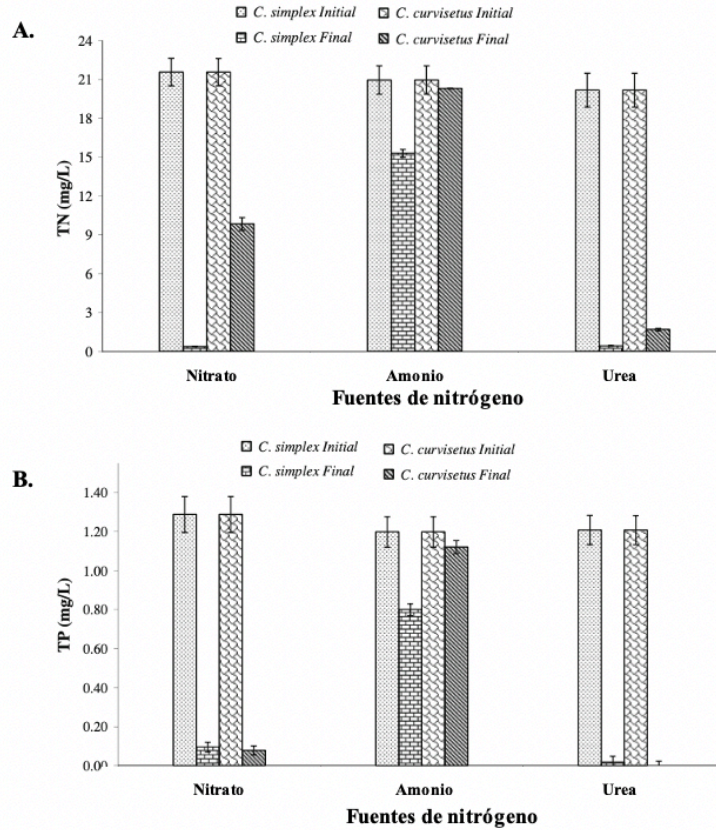
(Abou *et al*; 2013).

Figura 18. Porcentaje de remoción de nitrógeno por parte de las especies *N. pusilla*, *C. mexicana*, *S. obliquus* y *C. vulgaris*.



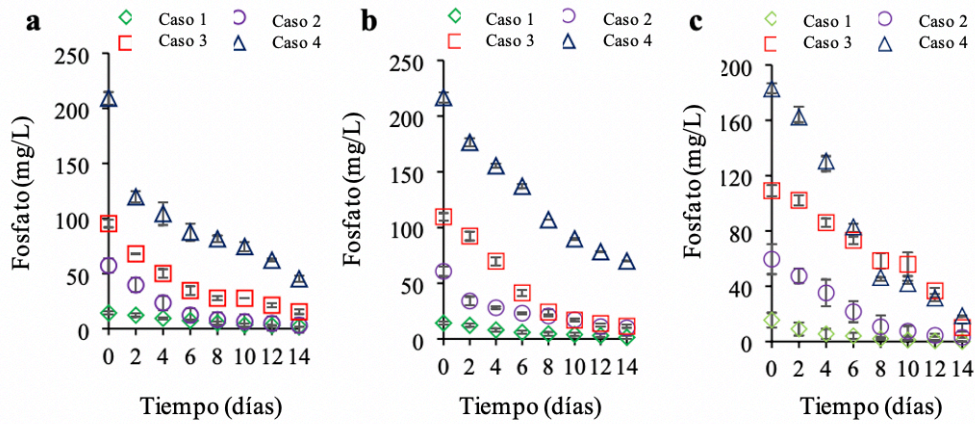
(Abou *et al*; 2013).

Figura 19. Remoción de nitrógeno (a) y fósforo (b) empleando distintas fuentes de nitrógeno en especies *C. simplex* y *C. curvisetus*.



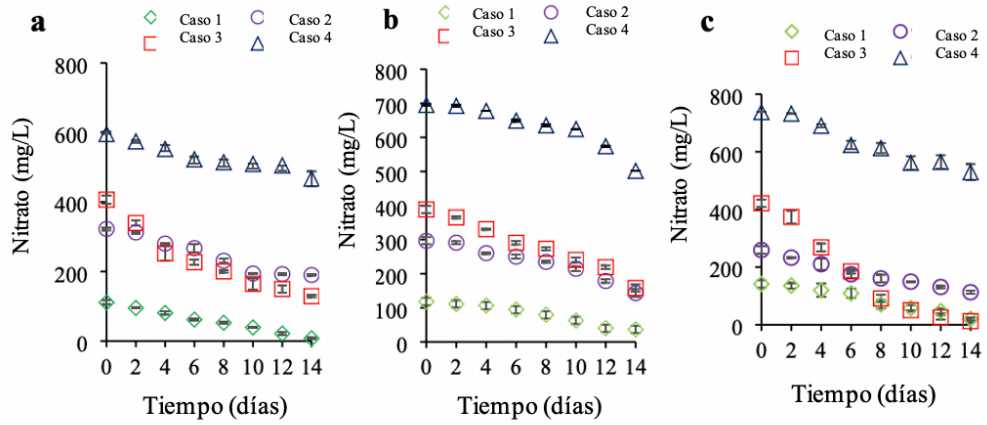
(Karthikeyan, et al; 2013)

Figura 20. Concentración de fosfato durante periodo de cultivo de especies *C. vulgaris* (a), *S. obliquus* (b) y *O. minuta* (c).



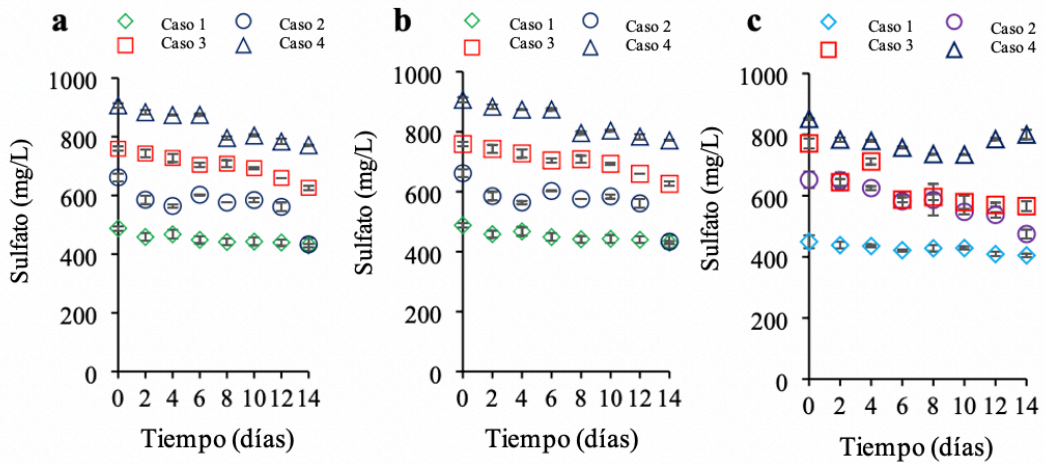
(Ajala et al; 2020).

Figura 21. Concentración de nitrato durante período de cultivo de *C. vulgaris* (a), *S. obliquus* (b) y *O. minuta* (c).



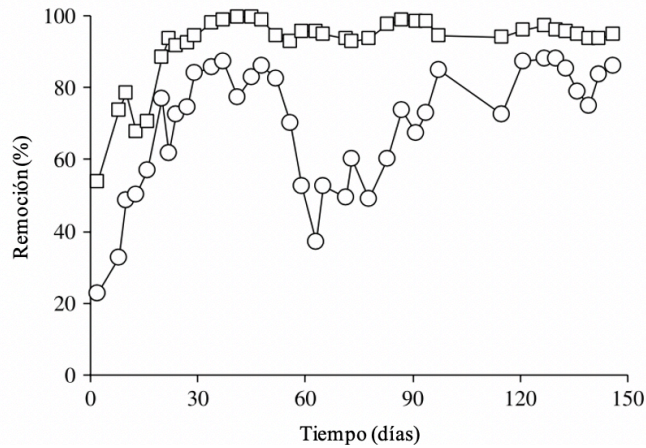
(Ajala *et al.*; 2020).

Figura 22. Concentración de sulfato durante período de cultivo de *C. vulgaris* (a), *S. obliquus* (b) y *O. minuta* (c).



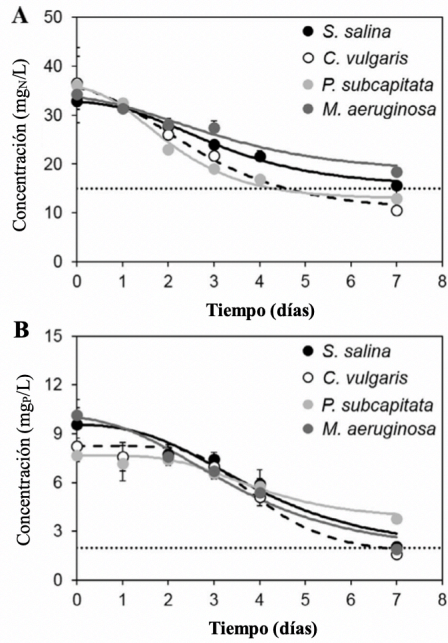
(Ajala *et al.*; 2020)

Figura 23. Porcentaje de remoción de amonio (cuadrado) y fósforo (círculo) por parte de especie *C. sorokiniana*.



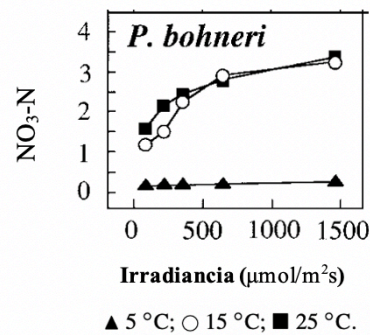
(González, *et al.*; 2008)

Figura 24. Evolución en concentración de nitrógeno (A) y fósforo (B) en medio por parte de especies *S. salina*, *P. subcapitata* y *M. aeruginosa*.



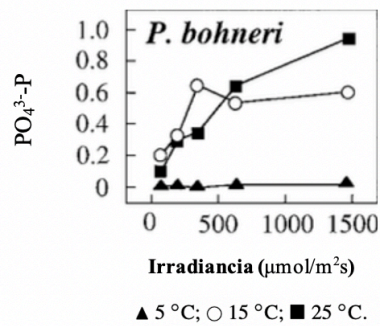
(Gonçalves, Pires, y Simões; 2016)

Figura 25. Remoción de nitrato a diferentes temperaturas por parte de especie *P. bohnneri*.



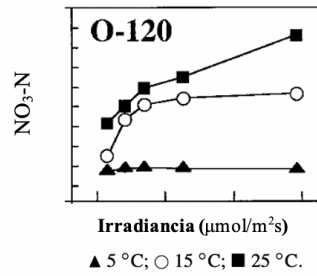
(Chevalier, *et al*; 2000).

Figura 26. Remoción de fosfato a diferentes temperaturas por parte de especie *P. bohnneri*.



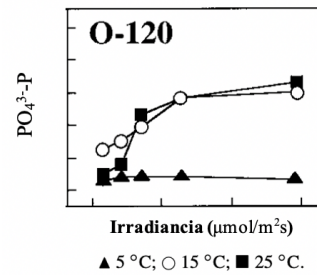
(Chevalier, *et al*; 2000).

Figura 27. Remoción de nitrato a diferentes temperaturas por parte de especie *P. tenue* (O-120).



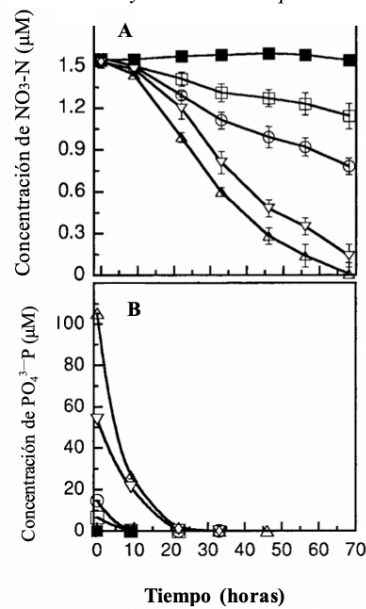
(Chevalier, *et al*; 2000).

Figura 28. Remoción de fosfato a diferentes temperaturas por parte de especie *P. tenue* (O-120).



(Chevalier, *et al*; 2000).

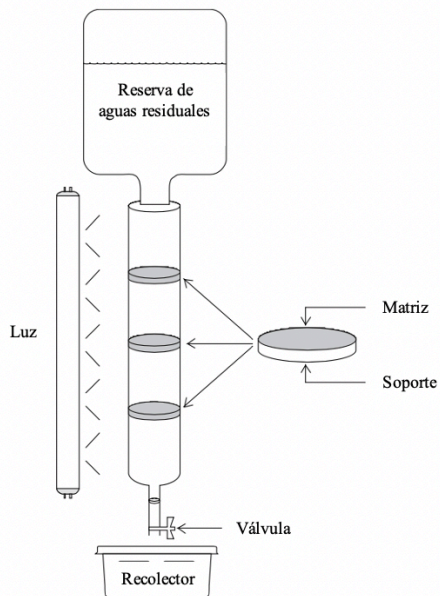
Figura 29. Cambio en concentración de nitrato (A) y fosfato (B) en medio por parte de la especie *Synechococcus sp.*



0.16 μM (■) 6.6 μM (□), 14.7 μM (○), 53.7 μM (▽), y 105.3 μM (Δ).

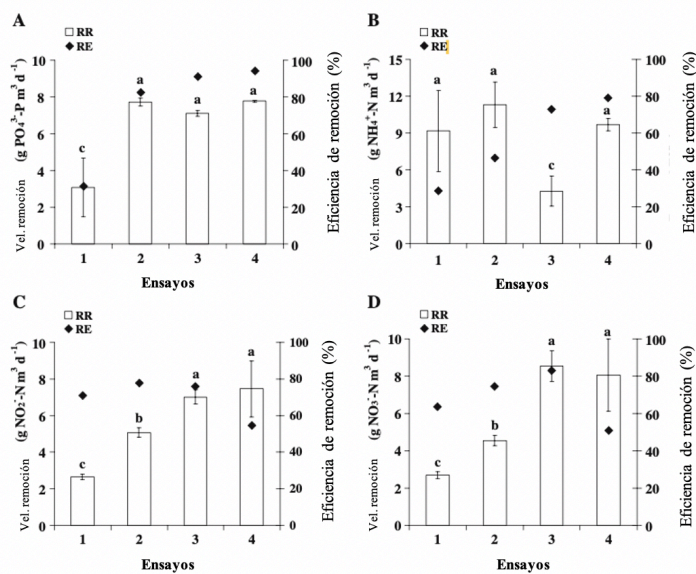
(Hu, Westerhoff y Vermaas; 2000).

Figura 30. Esquema de fotobiorreactor con matrices microbianas empleado por Zamora, *et al.*



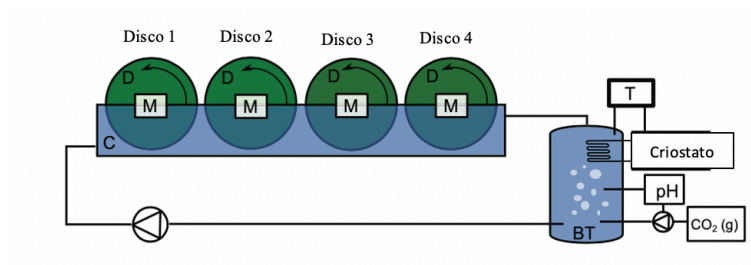
(Zamora, *et al.*; 2007)

Figura 31. Velocidad (RR) y porcentaje de remoción (RE) de fosfato (A), amonio (B), nitrito (C) y nitrato (D) empleando biofilm de microalgas en cuatro ensayos diferentes.



(Zamora, *et al.*; 2007)

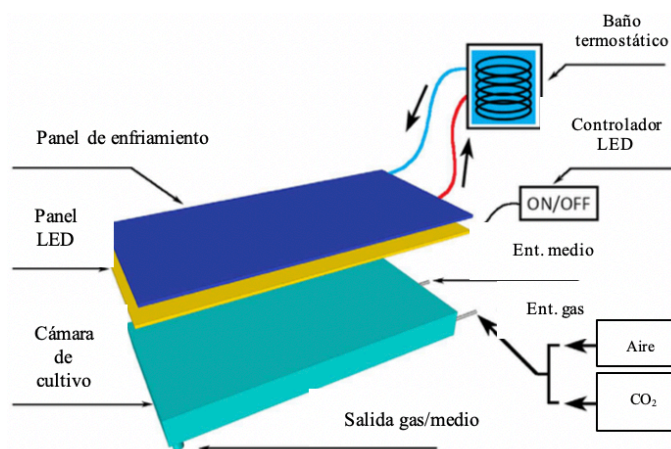
Figura 32. Esquema de reactor Algadisk a escala laboratorio empleado por Blanken.



D= disco, M=motor, C=contenedor, T=sistema de control de temperatura, BT=tanque de buffer

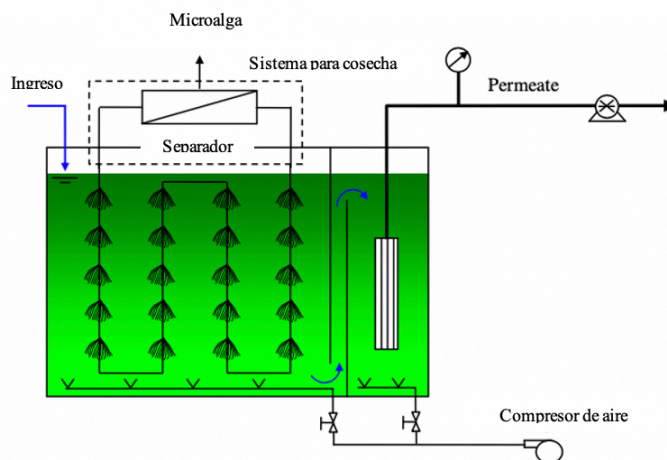
(Blanken, *et al*; 2014.)

Figura 33. Representación esquemática del sistema experimental empleado por Tonitelli, *et al*.



(Toninelli, *et al*; 2016).

Figura 34. Diagrama de fotobiorreactor de membrana a escala laboratorio empleada por Gao, *et al*.



(Gao, *et al*; 2015).

Figura 35. Esquematación del sistema de cultivo de biofilms de algas empleado por Schnurr, *et al.*

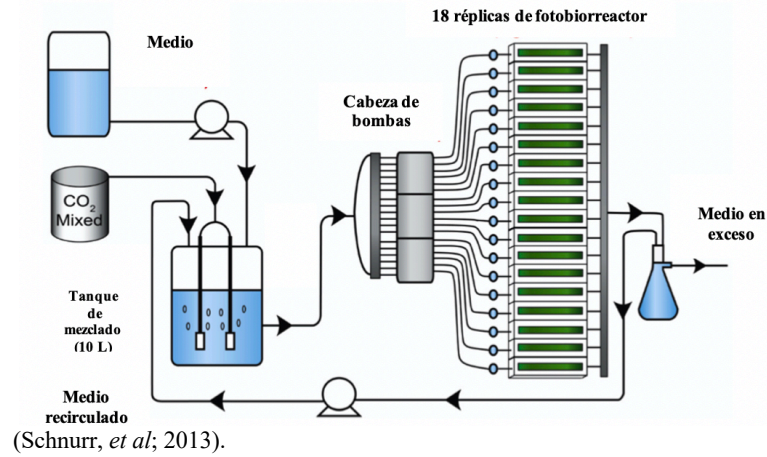
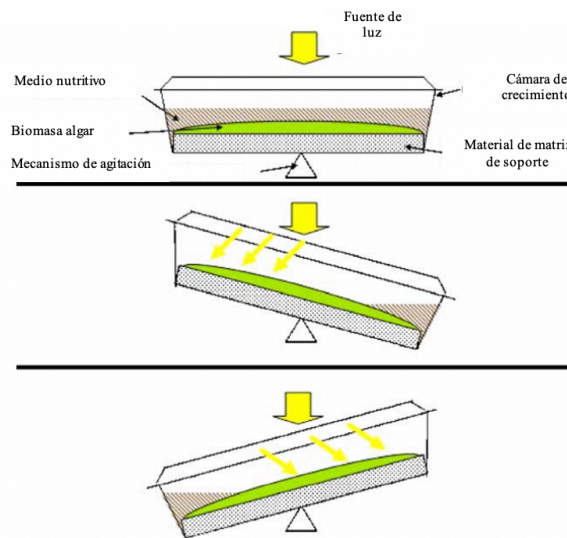
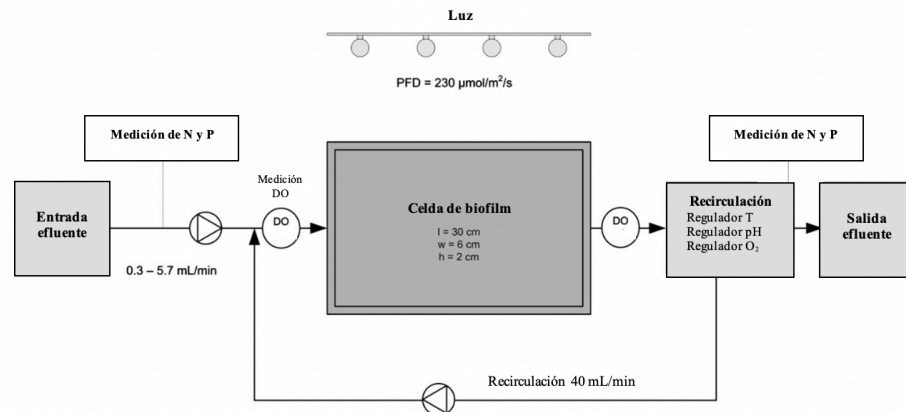


Figura 36. Esquematación de sistema de algas inmobilizadas empleada por Johnson y Wen.



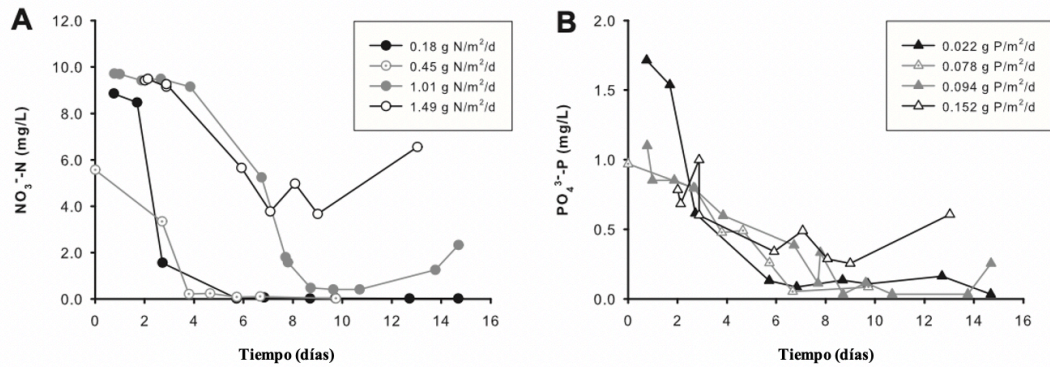
(Johnson y Wen, 2010).

Figura 37. Esquema de Sistema experimental horizontal empleado por Boelee, *et al.*



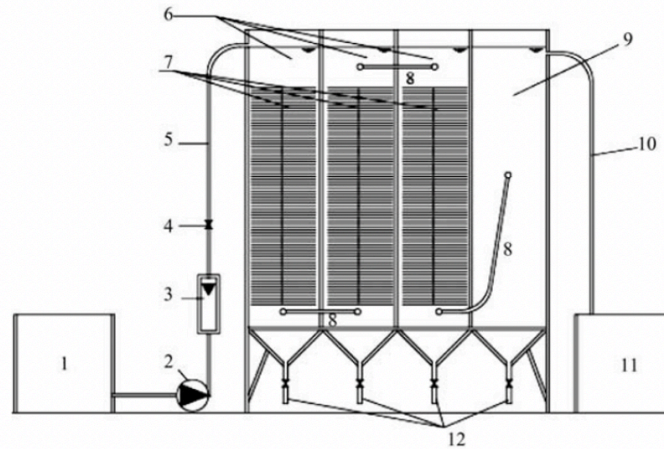
(Boelee, *et al.*; 2011).

Figura 38. Concentración de nitrógeno (A) y fósforo (B) en el efluente con cuatro flujos distintos empleando biofilm microbiano.



(Boelee, *et al*; 2011)

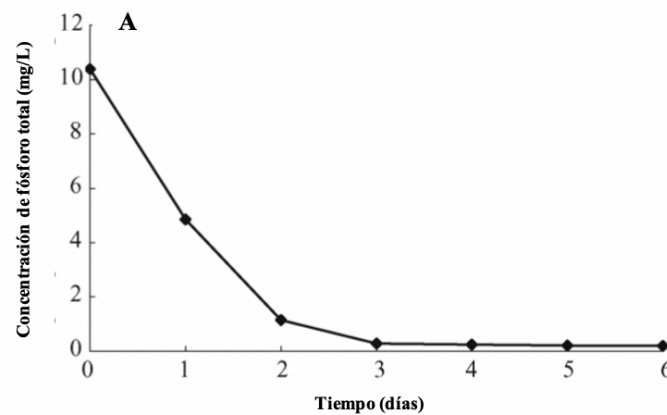
Figura 39. Diagrama de sistema de biofilm algar empleado por Wei, *et al*.

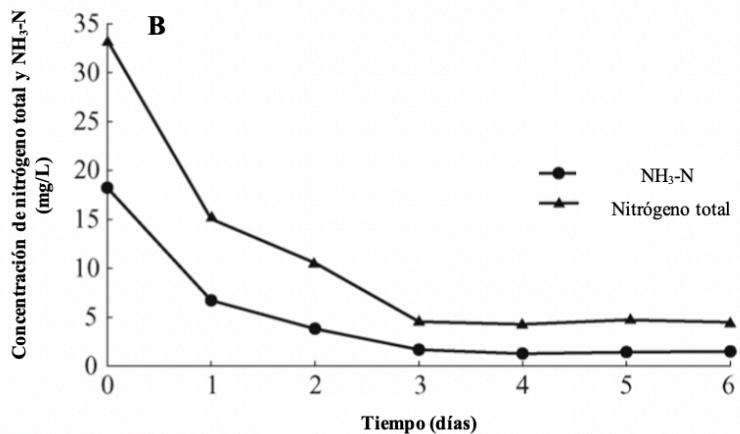


1-tanque de agua cruda, 2-bomba, 3-rotámetro, 4-válvula, 5-tubería de entrada, 6-cámara de biofilm algar, 7-relleno, 8-tubería asociada, 9-cámara de precipitación, 10-tubería de salida, 11-tanque de captación, 12-tubería de lodos.

(Wei, *et al*; 2008).

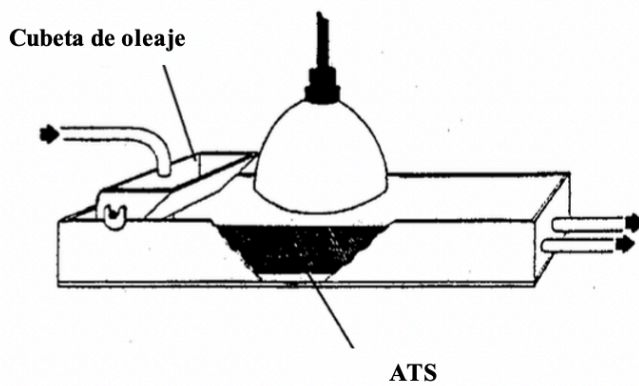
Figura 40. Concentración de fósforo total (A), nitrógeno total y nitrato (B) en sistema de biofilm por lotes





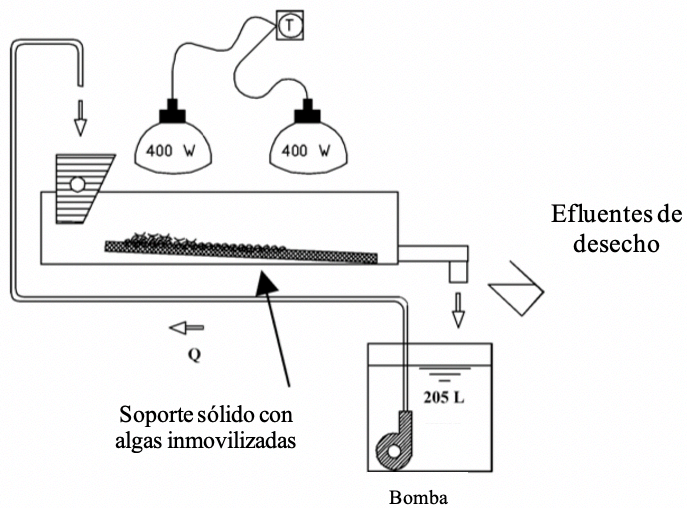
(Wei, *et al*; 2008)

Figura 41. Diagrama de depurador de algas (ATS) empleado por Mulbry y Wilkie.



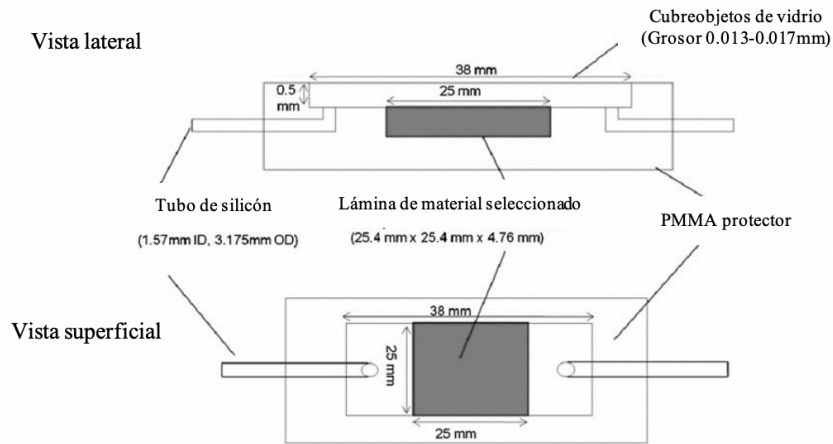
(Mulbry y Wilkie, 2001).

Figura 42. Esquema de depurador de algas (ATS) escala laboratorio empleado por Kebede-Westhead, *et al*.



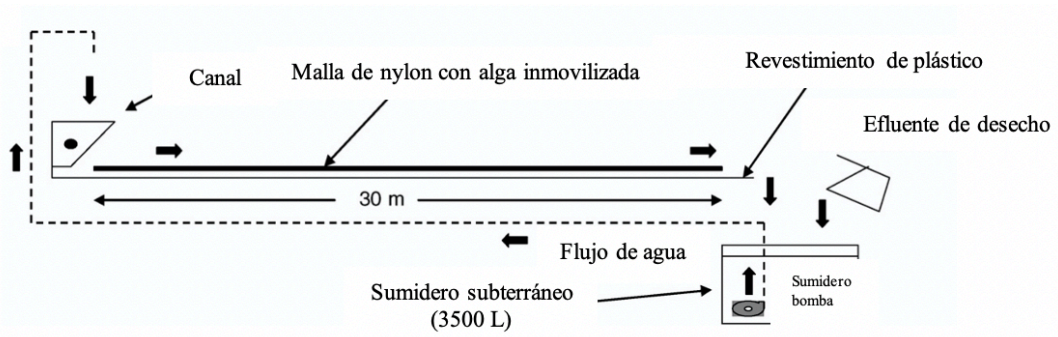
(Kebede-Westhead, *et al*; 2006).

Figura 43. Esquema de cámara de flujo continuo con biofilm empleado por Irving y Allen.



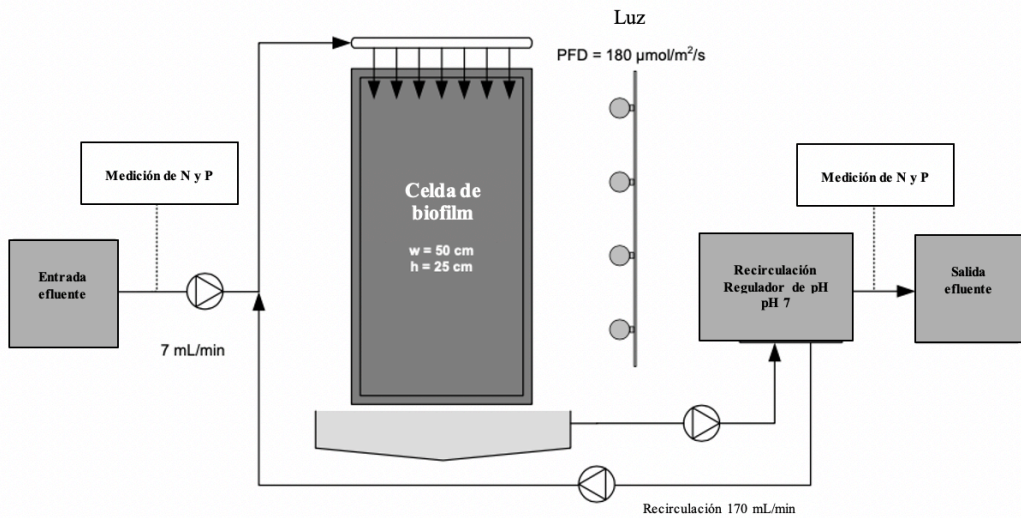
(Irving y Allen, 2011).

Figura 44. Diagrama de sistema ATS piloto en Maryland empleado por Mulbry, *et al.*



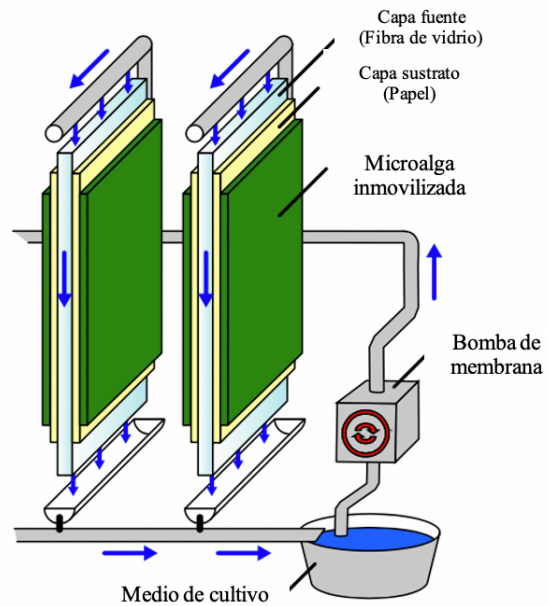
(Mulbry, *et al.*; 2008).

Figura 45. Esquema de fotobiorreactor vertical con biofilm empleado por Boelee, 2014.

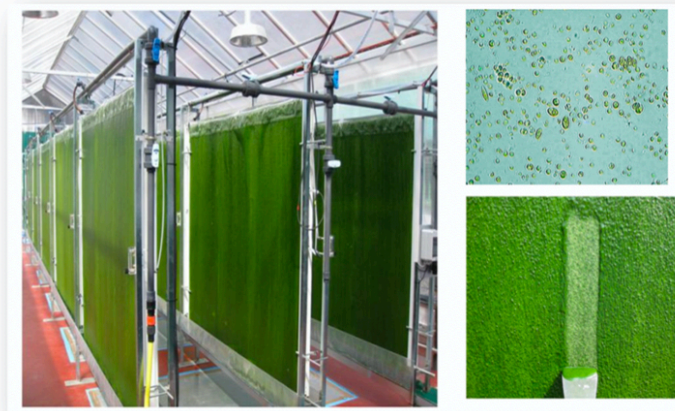


(Boelee, *et al.*; 2014).

Figura 46. Esquema de dos módulos del prototipo de fotobiorreactor twin-layer empleado por Shi, *et al* y por Fernández.



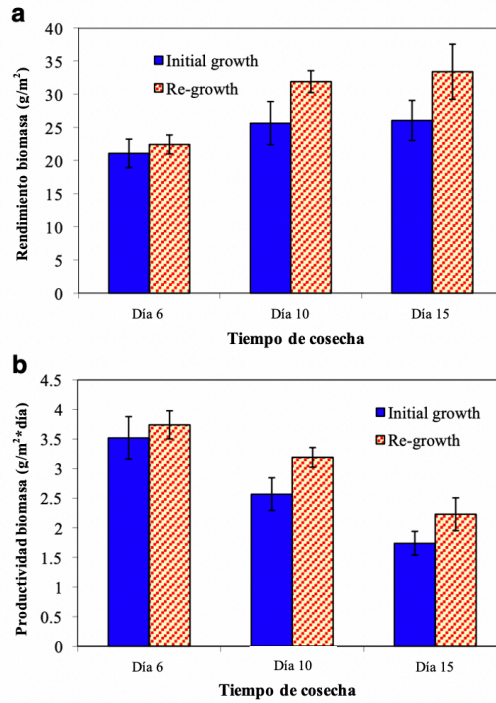
(Shi, *et al*; 2007).



Del lado izquierdo se observa sistema completo, de lado derecho se observa la cosecha de biomasa del biofilm

(Fernández, 2014).

Figura 47. Rendimiento (a) y productividad (b) de biomasa en cultivo inicial y rebrote de células algas inmovilizadas en sistema empleado por Johnson y Wen.



(Johnson y Wen, 2010)

Figura 48. Ficha técnica de material Polyfelt Geolon PE180 fabricado por Tencate Geosynthetics

Propiedades [estándar]	Unidades		PE 180
Propiedades hidráulicas			
Permeabilidad al agua normal al plano [EN ISO 11058 - dh = 50 mm]	l/m²s (mm/s)		30
Tamaño de apertura característico O_{90} [EN ISO 12956]	micron		170
Propiedades mecánicas			
Fuerza tensil [EN ISO 10319]	MD	kN/m	40
	CD	kN/m	50
Elongación a fuerza nominal [EN ISO 10319]	MD	%	24
	CD	%	24
Resistencia a punción estática (valor-CBR) [EN ISO 12236]	kN		5
Penetración dinámica [EN ISO 13433]	mm		9
Formas de suministro			
Ancho del rollo	m		5.05
Largo del rollo	m		100
Peso del rollo	kg		130

MD= dirección de máquina/ CD= dirección cruzada

(Tencate Geolon, 2007)

Figura 49. Diagrama de bloques del proceso de cultivo y biorremediación del biofilm microbiano.

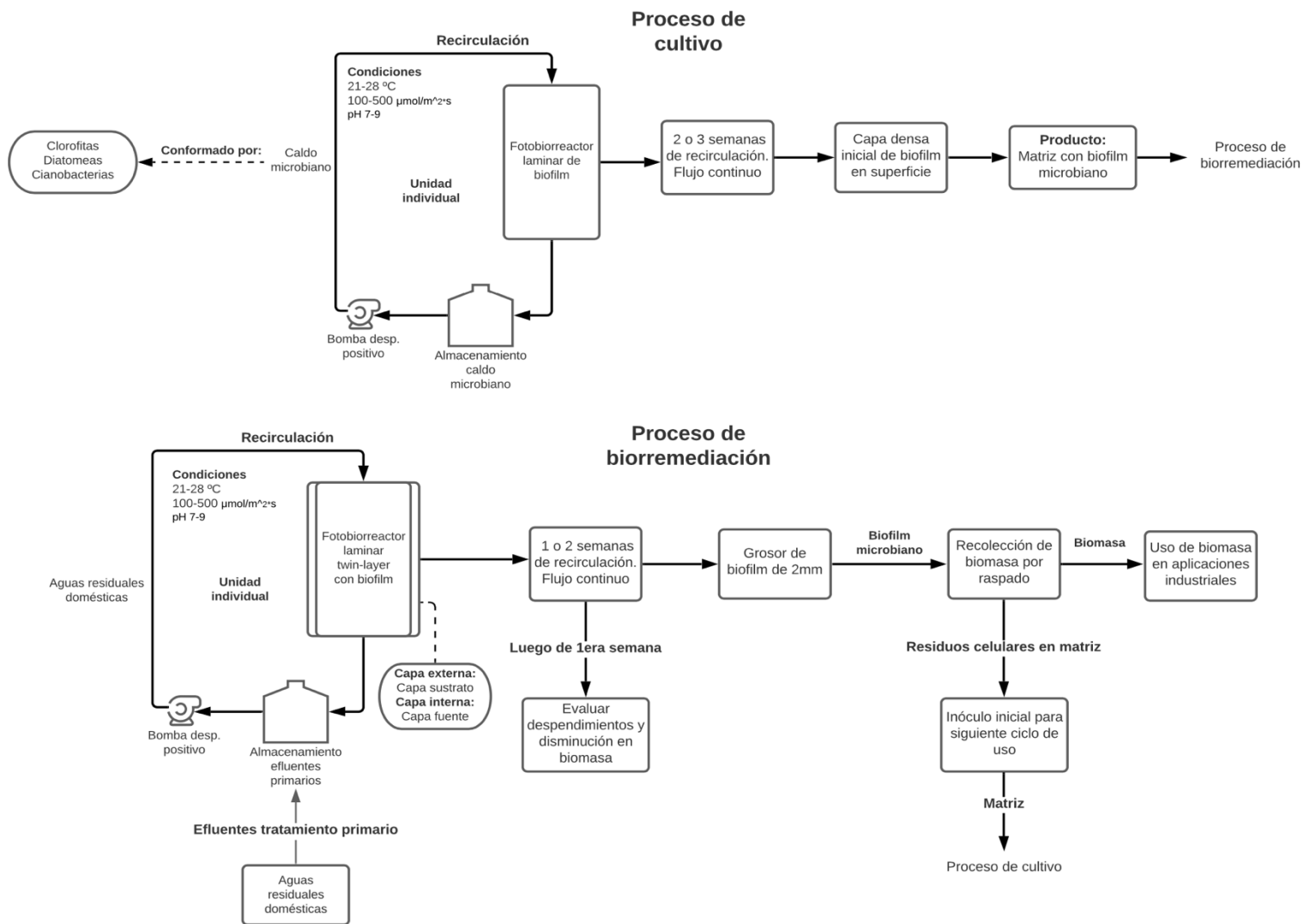
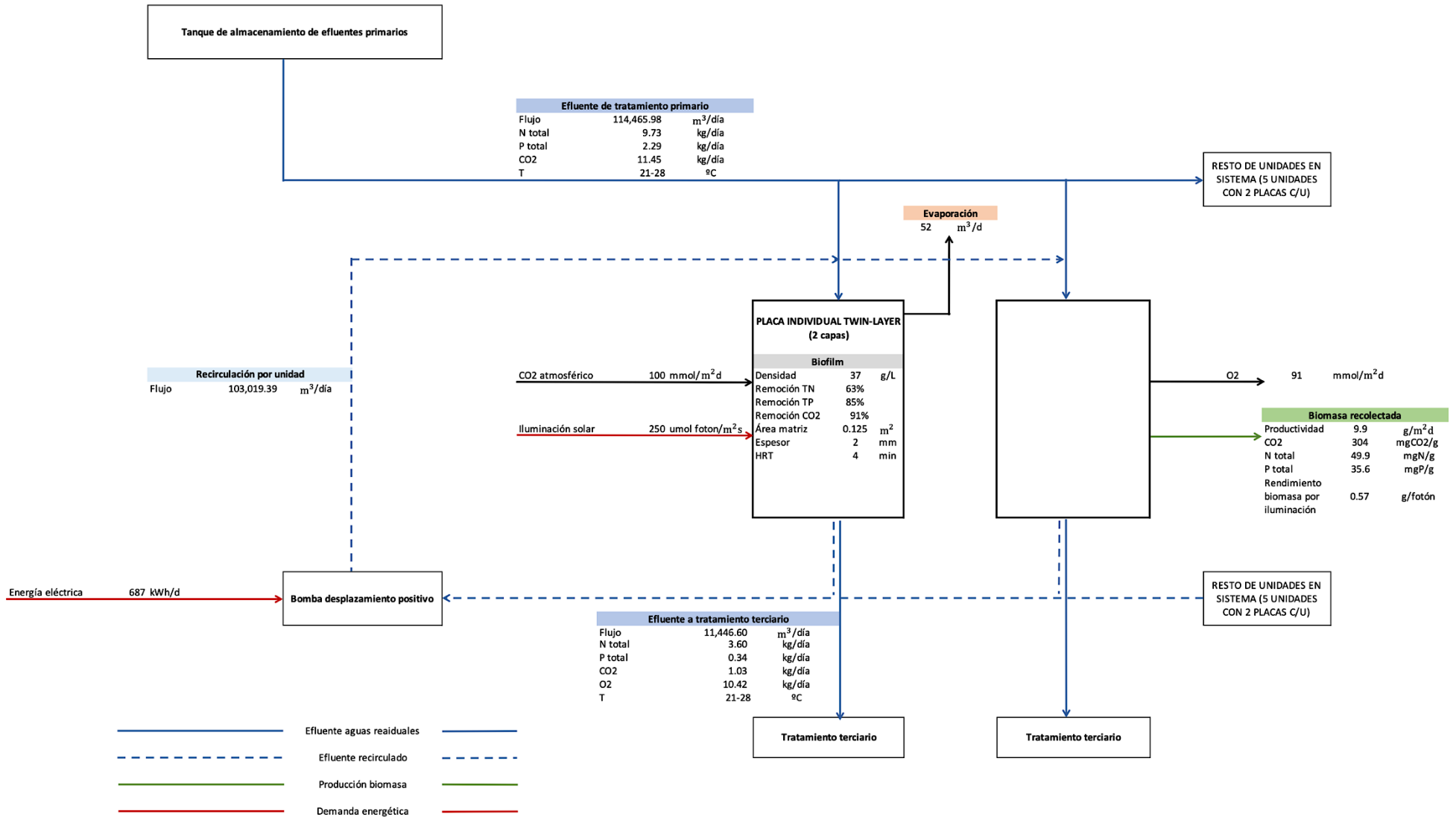


Figura 50. Balance de masa y energía del proceso de biorremediación empleando fotobiorreactor twin-layer.



XIII. GLOSARIO

- a. *A cf. carterae* *Amphidinium cf. carterae*
- b. *C. curvisetus* *Chaetoceros curvisetus*
- c. *C. mexicana* *Caulerpa mexicana*
- d. *C. monotis* *Coolia monotis*
- e. *C. simplex* *Ceramium simplex*
- f. *C. sorokiniana* *Chlorella sorokiniana*
- g. *C. vulgaris* *Chlorella vulgaris*
- h. *M. aeruginosa* *Microcystis aeruginosa*
- i. *N. pusilla.* *Neonycteris pusilla*
- j. *O. minuta* *Oocystis minuta*
- k. *P. bohneri* *Phormidium bohneri*
- l. *P. subcapitata* *Pseudokirchneriella subcapitata*
- m. *P. tenue* *Phormidium tenue*
- n. *S. salina* *Synechocystis salina*
- o. *S. obliquus* *Scenedesmus obliquus*