

**Evaluación de la capacidad de captura de dióxido
de carbono mediante el uso de *Scenedesmus* sp.
utilizando agua residual industrial como medio de
cultivo**

Eduardo Israel Castillo Vacas

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2020

ZAMORANO
CARRERA DE AMBIENTE Y DESARROLLO

Evaluación de la capacidad de captura de dióxido de carbono mediante el uso de *Scenedesmus* sp. utilizando agua residual industrial como medio de cultivo

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero en Ambiente y Desarrollo en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Eduardo Israel Castillo Vacas

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2020

Evaluación de la capacidad de captura de dióxido de carbono mediante el uso de *Scenedesmus* sp. utilizando agua residual industrial como medio de cultivo

Eduardo Israel Castillo Vacas

Resumen. El continuo crecimiento industrial de Latinoamérica y el Caribe en los últimos años ha generado una excesiva presión sobre los recursos naturales. Entre las grandes problemáticas del sector industrial se encuentra la producción de gases de efecto invernadero (GEI) y la generación de aguas residuales. Para la mitigación conjunta de estos impactos se plantean alternativas como la aplicación de microalgas, debido a su potencial en la depuración de efluentes y captura de dióxido de carbono (CO₂). En este estudio se evaluó la viabilidad de reemplazar el medio de cultivo BG-11 por agua residual industrial proveniente de una planta de tratamiento, la cual fue diluida al 25, 50 y 75% con agua destilada, evaluando la capacidad de captura de CO₂ y el crecimiento celular de la especie *Scenedesmus* sp., con suministro de CO₂ al 10 y 20%. Los resultados muestran que al suministrar 20% de CO₂ se obtiene el mayor crecimiento celular, contabilizando 32×10^6 células/mL al utilizar el medio BG-11, seguido de 11×10^6 células/mL al utilizar 25% de agua residual. Se registró una mayor eficiencia de captura de CO₂ al suministrar 10% de este en los diferentes reactores, indicando que, al incrementar la concentración de dióxido de carbono, pueden existir problemas de solubilidad y saturación del medio. El experimento mostró que, al utilizar una mayor proporción de agua residual en el reactor, los procesos de crecimiento celular y captura de CO₂ se inhiben.

Palabras clave: Agua residual, biorremediación, microalga.

Abstract. Industrial growth in Latin America and the Caribbean over the last few years has created excessive pressure over natural resources. Greenhouse gas (GHG) emissions and wastewater generation are some of the major problems in the industrial sector. Microalgae have been proposed to mitigate these impacts due to potential for both effluent treatment and CO₂ capture. In this study, the viability of replacing BG-11 culture medium with industrial wastewater diluted at 25, 50, and 75% with distilled water was evaluated. The capacity of CO₂ capture and cell growth of *Scenedesmus* sp. with a supply of 10 and 20% CO₂ was measured. The results showed that by supplying 20% of CO₂ the highest cell growth was obtained, accounting for 32×10^6 cells/mL when using the BG-11 medium, and the second highest value of 11×10^6 cells/mL when using 25% of wastewater. A greater capture efficiency of carbon dioxide was registered with 10% of CO₂ in the different reactors, indicating that there might be solubility and saturation problems with the medium when increasing its concentration. The experiment showed that, by using a higher proportion of wastewater in the reactor, the processes of cell growth and CO₂ capture are inhibited.

Key words: Bioremediation, microalgae, wastewater.

ÍNDICE GENERAL

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen.....	iii
Índice General	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. METODOLOGÍA.....	4
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	10
4. CONCLUSIONES.....	17
5. RECOMENDACIONES	18
6. LITERATURA CITADA.....	19
7. ANEXOS.....	22

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Parámetros de caracterización de agua residual.	6
2. Diseño factorial multinivel de agua residual y CO ₂	8
3. Caracterización del agua residual industrial.	11
4. Remoción de CO ₂ del gas de salida del cultivo <i>Scenedesmus</i> sp. a una concentración de 10% de CO ₂	16
5. Remoción de CO ₂ del gas de salida del cultivo <i>Scenedesmus</i> sp. a una concentración de 20% de CO ₂	16

Figuras	Página
1. Establecimiento del cultivo stock.	5
2. Fases del Diseño Experimental.	7
3. Crecimiento celular de <i>Scenedesmus</i> sp. con tres distintas concentraciones de CO ₂ (0.03%, 10%, 20%).	11
4. Crecimiento de <i>Scenedesmus</i> sp. en diferentes concentraciones de agua residual industrial con 10% de CO ₂	13
5. Crecimiento de <i>Scenedesmus</i> sp. en diferentes concentraciones de agua residual industrial con 20% de CO ₂	14
6. Comparación de biomasa al finalizar el día 15 en medio BG-11 y agua residual industrial, con suplementación de CO ₂	15

Anexos	Página
1. Medio BG-11.	22
2. Cuadro de análisis de la varianza.	22
3. Prueba LSD "Fisher"	22

1. INTRODUCCIÓN

El inventario nacional de gases de efecto invernadero (GEI) de México, indica que las emisiones de dióxido de carbono (CO₂) contribuyeron en 72% en el año 2015, de los cuales el 9.3% fue generado por el sector industrial. Este sector ha incrementado sus emisiones de CO₂ en 21.48% en el período de 2010 – 2015, y su matriz energética está fundamentada en el uso de combustibles fósiles (Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, 2018).

Como respuesta a este escenario, México formó parte del acuerdo de París y la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático, asumiendo compromisos internacionales para la reducción de gases de efecto invernadero a través de las Contribuciones Determinadas a nivel Nacional (NCD, por sus siglas en inglés) (Hidalgo, A., Hidalgo, R., Sánchez y Leal, 2017). Dentro de las actividades planteadas en las NCD se encuentran la captura y aprovechamiento de CO₂ por diferentes medios, como la aplicación de proyectos forestales, mejoras tecnológicas en procesos de producción, cambios tecnológicos en los hogares, normas para emisiones de vehículos, y prácticas agrícolas sostenibles (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2020). Tanto el uso de plantas como de microorganismos fotosintéticos han demostrado un gran potencial para la captura de CO₂.

De acuerdo con Tebbani, Lopes, Filali, Dumur, y Pareau (2020), la captura de carbono a través de organismos fotosintéticos representa una alternativa para mitigar la contaminación producida por gases de efecto invernadero. Este proceso extrae el CO₂ de chimeneas industriales y lo deposita en diferentes sumideros (e.g. tierra, bosques, biomasa), por medio de procesos biológicos como la fotosíntesis. En este contexto, las microalgas son microorganismos unicelulares eucarióticos que realizan procesos fotosintéticos y que poseen la capacidad de fitorremediación para eliminar o bio-transformar contaminantes presentes en medios líquidos y gaseosos (Hernández-Pérez y Labbé, 2014). Estos microorganismos utilizan el CO₂ en sus procesos metabólicos, produciendo biomasa rica en proteína, carbohidratos y lípidos, que puede ser utilizada para la obtención de subproductos (Yue y Chen, 2005). Entre las microalgas más importantes se encuentran las diatomeas y algas verdes. México posee una gran diversidad de microalgas de agua dulce, con reportes de 837 taxones infra genéricos y 225 géneros distribuidos en 12 clases (García-López, Mateo-Cid, y Mendoza, 2017).

Según Tebbani et al. (2020), el potencial de biorremediación de las microalgas se debe a que estos microorganismos sintetizan oxígeno y metabolitos orgánicos primarios como proteínas, lípidos y carbohidratos, a través de la fotosíntesis. Su estructura celular posee núcleo y una membrana plasmática que contiene organelos como: cloroplastos, amiloplastos, oleoplastos y mitocondrias. Además, las microalgas contienen pigmentos, resaltándose a tres principales: clorofilas, carotenoides y ficobiliproteínas. Asimismo, tienen diferentes formas (e.g. esféricas, media luna, espiral, estrella). Su mecanismo nutricional es principalmente fotoautótrofo, aunque también pueden ser heterótrofas, autótrofas y mixótrofas, ya que pueden utilizar fuentes de carbono orgánico e inorgánico. Se ha buscado que el medio de cultivo a utilizar en estos procesos provenga de un residuo de otro proceso, como es el caso de efluentes industriales, esto se plantea con el fin de reducir el costo en cuanto a producción de microalgas, y hacer un máximo aprovechamiento de los recursos (Verdugo-Vera, 2020).

El agua residual industrial es aquella resultante del uso de actividades productivas, que contiene una composición variada de materia orgánica y otras sustancias químicas que alteran su calidad y provienen de la producción de un bien o servicio comercializable (Ley del derecho a los servicios públicos de agua potable, drenaje, alcantarillado y tecnología hídrica de la Ciudad de México, 2019). El uso de agua en la producción de bienes y servicios ha incrementado, así como el crecimiento industrial de América Latina y el Caribe. A nivel mundial, alrededor del 19% del agua extraída es usada en el funcionamiento de este sector. México se encuentra posicionado en séptimo lugar dentro de los países con mayor extracción de agua en el mundo, utilizando 87.84 miles de millones de m³/año, donde un 76% es para uso agrícola, 14.4% para abastecimiento público y 9.6% para uso industrial. Los mayores usuarios de este bien son las industrias metálicas, papeleras, madereras y la agroindustria alimentaria (Comisión Nacional del Agua, 2018).

El uso excesivo del recurso hídrico conduce a la necesidad de plantear estrategias para su manejo, promoviendo operaciones de reúso. Estas necesitan un sistema de tratamiento de efluentes que garanticen el control de las cargas de microorganismos y nutrientes del agua residual antes de ser descargada a los cuerpos receptores, o bien, reutilizada en otras actividades como: riego agrícola, de parques y jardines o usos urbanos no potables. Entre las alternativas de manejo ambiental aplicadas a este sector se pueden mencionar procesos: 1) biológicos (lodos activados), 2) químicos (precipitación química, desinfección) y 3) físicos (desarenadores), necesarios para la remoción de contaminantes (Bernal, Vázquez, Barecló, y Laure, 2007). Los procesos más comunes de las plantas de tratamiento de agua residual incluyen el manejo de lodos activados, lagunas de estabilización, lagunas aireadas, filtros biológicos, zanjas de oxidación, y reactores anaerobios (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2017). Otra posibilidad es el reúso de aguas residuales, por lo cual se han utilizado para el riego de cultivos agrícolas y para otros procesos como el crecimiento de microorganismos, incluidas las microalgas (Ugaz, 2018).

Un ejemplo de su potencial se describe en el estudio realizado por (Wu, Chen, Huang, y Lee, 2012), quienes utilizaron dos especies de microalgas (*Desmodesmus* sp., *Chlamydomonas* sp.) para la asimilación de nitrógeno y fósforo provenientes del agua residual industrial (AR) de una industria en Taiwán. Para esto, se utilizaron biorreactores de seis litros con un volumen útil de cinco litros, que contenían agua residual como medio de cultivo y expuestos a una iluminación constante de 25 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Su resultado fue que *Chlamydomonas* sp. presentó la mejor eficiencia, obteniendo una remoción del 100% de nitrógeno, y un 33% para fósforo. Esto demuestra que el uso de agua residual como medio de cultivo de microalgas también puede generar una reducción de la carga contaminante que tiene esta. Además, (Acevedo, Pino, y Peñuela, 2016) realizaron un estudio donde se empleó *Scenedesmus* sp. para remoción de nitrógeno y fósforo. Para ello, utilizaron agua residual sintética y agua residual doméstica real, con tres concentraciones de nitrógeno y fósforo (40, 90 y 150 mg/L y 4, 15 y 50 mg/L), respectivamente. En el ensayo se utilizaron matraces Erlenmeyer de 250 mL, a una temperatura de 25 °C y con una intensidad de luz de 50 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Como resultado, la mejor absorción se dio en las aguas de baja y media concentración de nitrógeno y fósforo, con remociones del 50 - 60% de nitrógeno y 40 - 70% para fósforo en aguas sintéticas; mientras que, en el agua residual real se obtuvo una remoción de nitrógeno y fósforo del 80 y 65%, respectivamente. Estos resultados sugieren que el uso de microalgas para tratamiento de aguas residuales es viable y además presenta un alto potencial para producción de biomasa.

Por otra parte, el uso de microalgas para la mitigación de las concentraciones altas de CO₂ en la atmósfera está tomando importancia. En el estudio realizado por Kassim y Meng (2017), se evaluó la aplicación de *Chlorella* sp., y *Tetracelmis suecica* para la fijación de CO₂. Estas fueron sometidas a diferentes concentraciones de dióxido de carbono (0.04, 5, 15 y 30%), obteniendo resultados favorables para ambas especies. Para el caso de *Chlorella* sp., se obtuvo una fijación de CO₂ de 96.89 mg/L/día; mientras que, con *Tetracelmis suecica*, la fijación de CO₂ fue de 11.26 mg/L/día. El estudio concluyó que las dos son eficientes en el proceso de biofijación. Otro estudio a nivel de laboratorio empleó *Spirulina* sp. y *Scenedesmus obliquus*, donde se les suministró CO₂ a diferentes concentraciones (0.04, 6, 12 y 18%). Se aplicó una temperatura de 30 °C, utilizando fotobiorreactores de columna con una capacidad de 2 litros conectados en serie. Se logró determinar que *Spirulina* sp. tuvo los mejores resultados en comparación con los demás tratamientos, presentando un crecimiento de biomasa de 4.13 g/L y una tasa de fijación de 9.30%, con una concentración de 6% de CO₂ (De Morais y Costa, 2007).

Conforme a lo descrito previamente, se identifica la oportunidad de establecer procesos de captura de CO₂ por medio de la utilización de microalgas, como una alternativa de mitigación ante las problemáticas ambientales, aprovechando este contaminante para la producción de biomasa microalgal. Por lo tanto, este estudio se enfoca en determinar la capacidad de la cepa de microalgas *Scenedesmus* sp., para capturar CO₂, utilizando un medio de cultivo que permita tener un ahorro de los costos de captura de CO₂, por medio de la reutilización de recursos (agua residual industrial) proveniente de un proceso de producción. Para ello, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Determinar la curva de crecimiento celular de *Scenedesmus* sp., expuesta a tres concentraciones de dióxido de carbono 0.03, 10 y 20% (v/v) con medio de cultivo BG-11.
- Determinar la curva de crecimiento celular de *Scenedesmus* sp., cultivada con 25, 50 y 75% de agua residual industrial, expuestos a dos concentraciones de dióxido de carbono 10 y 20% (v/v).
- Evaluar la capacidad de biocaptura de CO₂ de *Scenedesmus* sp., cultivada con 25, 50 y 75% de agua residual industrial, en medio de cultivo BG-11, y expuestos a dos concentraciones de dióxido de carbono 10 y 20% (v/v).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio

El estudio fue llevado a cabo en las instalaciones del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, México. Esta investigación trabajó con microalgas para la captura de CO₂, utilizando agua residual industrial como medio de cultivo. Además, se realizó a nivel de laboratorio, por ende, bajo condiciones controladas.

Determinación de la curva de crecimiento celular de *Scenedesmus* sp., con suplementación de CO₂ en medio BG-11

Para la obtención de la curva de crecimiento celular de *Scenedesmus* sp., expuesta a diferentes concentraciones de CO₂ en medio BG-11 se plantearon las siguientes actividades. Se inició con el establecimiento del cultivo “stock” y luego de alcanzar la concentración de biomasa adecuada, se establecieron los tratamientos, aplicando concentraciones de CO₂ 0.03, 10 y 20%. Para estas etapas, se mantuvieron condiciones controladas de temperatura, fotoperíodo y concentraciones de CO₂. Los componentes de la mezcla del gas utilizado fueron de (10% CO₂ + 90% N₂), (20% CO₂ + 80% N₂) y (0.03 cantidad de CO₂ en el aire). Dado esto se esperan las distintas fases de crecimiento, las cuales son: fase de latencia (adaptación), fase exponencial (reproducción celular) y fase estacionaria (el número de individuos no cambia). La duración total del periodo de cultivo fue de 15 días.

Crecimiento del cultivo stock de microalgas. La cepa de microalgas utilizada en el experimento fue *Scenedesmus* sp., la cual fue obtenida en la universidad de Austin Texas. Esta una especie dulceacuícola, perteneciente a las algas verdes, no móvil, de forma ovalada (12 - 14 µm de ancho y de 15 - 20 µm de largo) que generalmente, se agrupa formando colonias de cuatro células. El cultivo se mantuvo en un matraz Erlenmeyer de 2 L, hasta que alcanzó una concentración mayor a 21.91×10^6 células/mL, cuantificada por medio de absorbancia en un espectrofotómetro. Este proceso se realizó por triplicado utilizando el medio de cultivo BG-11, específico para *Scenedesmus* sp. Se colocó aireación al cultivo con bombas de aire marca OPTIMA de 4.5 “Watts”, con un filtro de 0.2 µm y con un fotoperíodo 12:12 con lámparas (“Hydrogrow extreme LED”), a una temperatura de 21 °C (Figura 1).

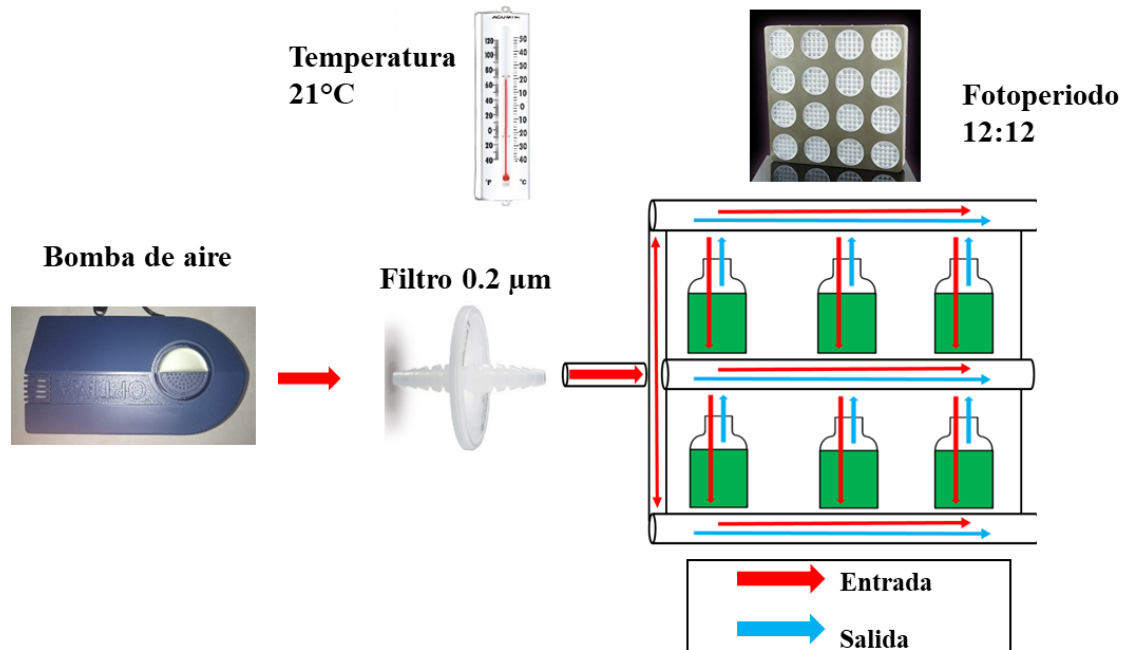


Figura 1. Establecimiento del cultivo “stock”.

Crecimiento de *Scenedesmus* sp. con 0.03, 10 y 20% de CO₂. Se inoculó *Scenedesmus* sp., por medio de una campana de flujo laminar en frascos de 1 L, con 900 mL de volumen útil (900 mL de medio de cultivo y 100 mL de microalgas del cultivo stock). Este proceso se realizó por triplicado, el medio de cultivo usado fue el BG-11. Se proporcionó aireación por medio de bombas de aire, con un 0.03% de CO₂ (concentración en el aire) a un flujo constante de 200 mL/L/min, con un filtro de 0.2 µm y con un fotoperíodo 12:12. Para el crecimiento celular, se realizó conteo celular en la cámara de Neubauer, para lo cual se muestreó 1 mL del cultivo diario. Para la transformación de los datos a g/L, se utilizó la Ecuación 1 ($r^2 = 0.9911$), en lo que respecta a la elaboración de las gráficas se utilizó el crecimiento celular de la microalga reportado en células/mL. Adicionalmente, se realizó el mismo proceso, pero con la suplementación de dióxido de carbono en dos diferentes porcentajes, 10% CO₂ v/v y 20% CO₂ v/v. El volumen obtenido de los muestreos no fue sustituido por agua residual ni por agua destilada. A partir de la información recolectada, se construyó la curva de crecimiento, utilizando gráficos de líneas en el programa “Excel”. Estos gráficos se elaboraron en función de los promedios de crecimiento celular obtenidos para cada tratamiento (0.03, 10 y 20% de CO₂).

$$g/L = 0.0591 \times (-0.0538) \quad [1]$$

Crecimiento de *Scenedesmus* sp. en agua residual industrial con suplementación de CO₂

Para establecer el crecimiento de *Scenedesmus* sp., se aplicó un suministro de CO₂ de 10 y 20%. Asimismo, se utilizó como medio de cultivo agua residual industrial diluida con agua destilada al 25, 50 y 75%. Las actividades realizadas para dar cumplimiento a este objetivo se describen a continuación.

Recolección de agua residual. El muestreo del efluente se realizó en una planta de tratamiento de agua residual industrial, perteneciente a una industria cervecera ubicada en el municipio de Monterrey, México. Se utilizaron envases plásticos de 20 L para recolectar las muestras, después de la etapa de remoción de sólidos suspendidos mayores a 5 mm y luego del proceso de neutralización (la neutralización se realiza con ácido clorhídrico (HCl) e hidróxido de sodio (NaOH). Por último, las muestras se trasladaron hasta el laboratorio en un contenedor hermético y se almacenaron a 4 °C.

Caracterización del agua residual. Este proceso se realizó con la finalidad de establecer las condiciones en las que se encontraba el agua residual industrial de la planta, para esto se utilizaron diversos análisis (Cuadro 1).

Cuadro 1. Parámetros de caracterización de agua residual.

Ensayo	Método	Referencia
pH	Potenciómetro	
Demanda química de oxígeno	Método de digestión de reactor	(United States Environmental Protection Agency [USEPE], 1980)
Nitratos	Método del dimetilfenol	(Robarge, Edwards, y Jhonson, 1983)
Fósforo total	Método de ácido ascórbico	(Environmental Protection Agency [EPA], 1978)
Sólidos sedimentables	Conos Imhoff	(USEPA, 1983)
Sólidos totales	Sólidos totales secados 103 - 105 °C	(USEPA, 2001)

Nota: Cada una de las muestras se analizó por triplicado.

Diseño Experimental. Las generalidades de la metodología de la investigación del crecimiento de *Scenedesmus* sp., con las diferentes variables de agua residual industrial 25, 50 y 75% con suplementación de dióxido de carbono 10 y 20%, así como los resultados en función de crecimiento celular, captura de CO₂ se esquematizan de manera general en la **Error! Reference source not found.**

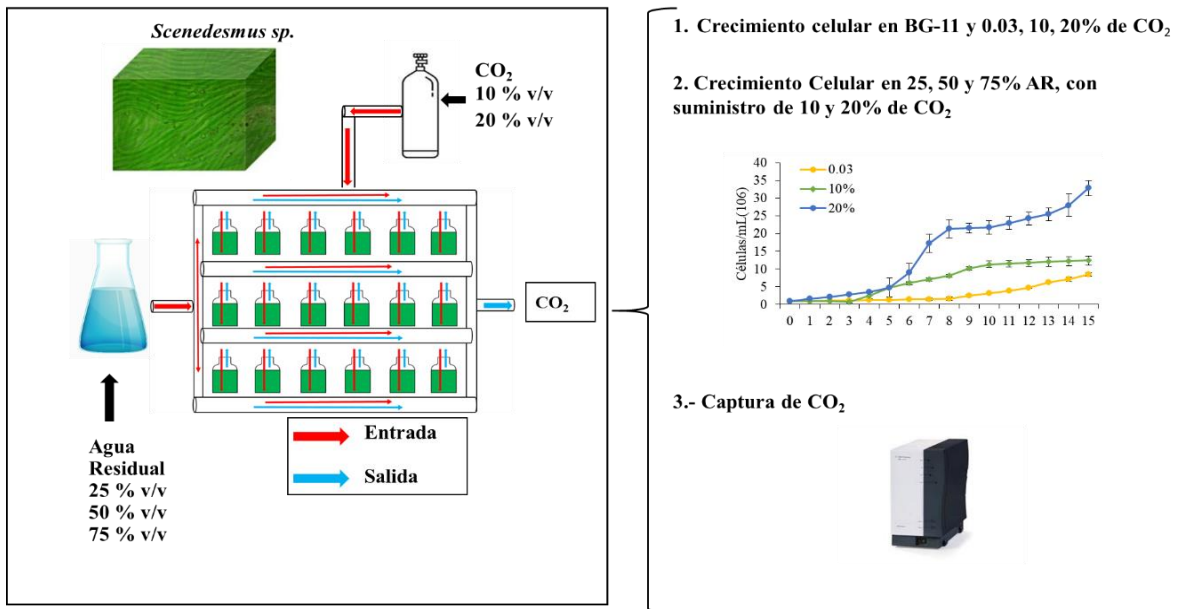


Figura 2. Fases del Diseño Experimental.

Se colocaron frascos de cultivo de 1 L con 900 mL de volumen útil de agua residual diluida con agua destilada en concentraciones de 25, 50 y 75%. Los tratamientos de agua residual y la suplementación de dióxido de carbono se implementaron mediante un diseño factorial multinivel (Cuadro 2), en donde se analizó el porcentaje v/v de CO₂ y el porcentaje de agua residual con dos y tres niveles, respectivamente (Figura 3). Para el CO₂ se consideraron las concentraciones de 10/90% v/v CO₂/N, y 20/80% v/v CO₂/N. Las condiciones para el mantenimiento del cultivo (fotoperiodo, temperatura y flujo de aireación) fueron las mismas que para el crecimiento del cultivo “stock”.

El tiempo de duración del estudio fue de 15 días para la parte experimental, donde diariamente se realizó un muestreo de 1 mL, determinando el conteo celular con la cámara de “Neubauer”. El volumen obtenido en los muestreos no fue sustituido por agua residual ni por agua destilada. Los resultados obtenidos fueron analizados por medio de estadística descriptiva a través del programa “Microsoft Excel®” versión, con el uso de gráficos de línea. Estos se elaboraron en función de los promedios de crecimiento celular obtenidos para cada tratamiento (10 y 20% de CO₂ en 25, 50 y 75% de agua residual industrial). Además, para determinar la concentración óptima de CO₂ y de agua residual industrial para el crecimiento celular, se realizó un Análisis de Varianza de dos vías (ANDEVA) en el software “InfoStat” versión 2019, y posterior al ANDEVA, se realizó una prueba de “LSD-Fisher” / Separación de medias. El nivel de significancia utilizado fue $\alpha = 0.05$.

Cuadro 2. Diseño factorial multinivel de agua residual y CO₂.

Orden	% v/v CO ₂	% Agua residual
1	1	3
2	2	3
3	2	1
4	2	2
5	1	2
6	1	1
7	1	1
8	2	2
9	1	3
10	2	3
11	2	1
12	1	2
13	1	3
14	1	2
15	1	1
16	2	2
17	2	3
18	2	1

Nota: % v/v CO₂: 1(10% v/v CO₂) y 2(20% v/v CO₂); % Agua residual: 1(25% agua residual y 75% agua destilada), 2(50% agua residual: 50% agua destilada) y 3(75% agua residual y 25% agua destilada).

Capacidad de biocaptura de CO₂ de *Scenedesmus sp.* cultivada con agua residual industrial y medio de cultivo BG-11

Para determinar la capacidad de biocaptura de CO₂ se utilizaron instrumentos y equipos como la bolsa de gas de fluoruro de polivinilo Tedlar y el cromatógrafo de gases. Además, fue necesario realizar un cálculo para la eficiencia de remoción (Ecuación 2). Los resultados obtenidos en el cromatógrafo de gases fueron analizados por medio de estadística descriptiva, utilizando el programa “Microsoft Excel” versión 2016, determinando así los promedios y las respectivas variaciones de la biocaptura de CO₂ en las diferentes condiciones consideradas en el diseño experimental.

Remoción de CO₂ en el gas de salida del cultivo de *Scenedesmus sp.* Para el análisis se tomaron muestras del gas de salida de los cultivos, utilizando bolsas de fluoruro de polivinilo de Tedlar con volumen de 1 L. Estas se conectaron mediante una válvula con la manguera de salida de gas del cultivo; cuando la bolsa Tedlar se llena como resultado del suministro de gas, la válvula se cierra y se desconecta de la manguera de salida de gas del cultivo. A continuación, se utilizó el cromatógrafo de gases de modelo 490 Micro GC, Agilent Technologies, que incluye detectores de conductividad térmica (TCD) y una columna de CP-PoraPlot U (PPU) de 10 m. El gas estándar para la medición fue el mismo utilizado para el crecimiento de microalgas que contenía CO₂ y nitrógeno molecular N₂. El cromatógrafo utilizó como gas portador el helio, la temperatura de la columna fue de 80 °C, y la temperatura del inyector fue de 110 °C. La remoción se determinará

por medio de la comparación de los gases obtenidos de la salida de gas del cultivo y de la entrada de gas al cultivo (CO₂ v/v). La eficiencia de la remoción se estableció a partir de la Ecuación 2 (Guo, Duan, Sun, Han, y Zhao, 2019; Sayedin et al., 2020). Los datos obtenidos de la remoción fueron analizados por medio de la construcción de una tabla en “Microsoft Excel®” para su posterior comparación.

$$\text{Eficiencia de remoción de CO}_2 (\%) = \frac{\text{CO}_{2(\text{entrada})} - \text{CO}_{2(\text{salida})}}{\text{CO}_{2(\text{entrada})}} \times 100\% \quad [2]$$

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Curva de crecimiento celular de *Scenedesmus* sp., con 0.03, 10 y 20% de CO₂ cultivada en medio BG-11

Se determinó la capacidad de la microalga para adaptarse a diferentes concentraciones de CO₂ (10 y 20%), por ello, se utilizó la concentración del aire para conocer el comportamiento de la microalga en condiciones normales (0.03% de CO₂). El crecimiento celular obtenido en las diferentes concentraciones de CO₂ es congruente con las diferentes fases de crecimiento. Estas fueron: fase de latencia o adaptación (del día 0 al día 5), fase exponencial o de reproducción celular (del día 6 al día 15), y la fase estacionaria, donde el número de células no cambia. El desarrollo de cada una de estas fases presentó diferentes valores dadas las concentraciones aplicadas (0.03, 10 y 20% de CO₂) (Figura 3).

De acuerdo con los resultados al finalizar los 15 días, se observó un mejor crecimiento celular de *Scenedesmus* sp. con una concentración de 20% de CO₂, en la cual se alcanzó 33×10^6 células/mL (2.25 g/L) de biomasa. Seguido de 12.45×10^6 células/mL (1.01 g/L) de biomasa para el 10% de CO₂. Por último, se reportó 8.5×10^6 células/mL (0.86 g/L) de biomasa para el 0.03% de CO₂ (Figura 3).

Estos resultados son comparables con lo obtenido por Tripathi, Singh, y Thakur, (2015), quienes utilizaron *Scenedesmus* sp., expuesta a dos concentraciones de CO₂ (5, 15% v/v). El resultado obtenido en biomasa cultivada en medio BG-11 fue de 1.508 g/L para 15% de CO₂, y 1.40 g/L para el 5% de CO₂. Por otra parte, esto se ve respaldado por Tang, Han, Li, Miao, y Zhong, (2011), quienes usaron *Scenedesmus obliquus* para la fijación de CO₂ con un medio de cultivo BG-11, obteniendo su mejor resultado en suplementación de 10% de CO₂, con una producción de 1.84 g/L de biomasa.

Por otra parte, los resultados de este estudio muestran que se obtuvo una mayor concentración de microalgas al suministrar una mayor cantidad de CO₂. Esto concuerda con lo reportado por Makaarevičienė et al. (2011), quienes utilizaron *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp., indicando que, a mayor concentración de CO₂, se tiene un mayor incremento en el crecimiento de las microalgas. Cabe recalcar que estos resultados dependen de la cepa de microalga utilizada, ya que en este caso *Scenedesmus* sp. ha demostrado tener un gran potencial para crecer en concentraciones superiores de CO₂.

De la misma manera, Basu, Roy, Mohanty, y Ghoshal, (2014) utilizaron *Scenedesmus obliquus* para la biofijación de CO₂, expuesta a diferentes concentraciones (0.03, 15, 25, 35% de CO₂) y reportando un crecimiento celular de 1.39 g/L, cuando se aporta una concentración de 35% de CO₂, y 0.54 g/l en 0.03% de CO₂. Por su parte, Velasco (2016) realizó un estudio de captura de CO₂, en el cual utilizó dos algas *Chlorococcum* sp. y *Scenedesmus* sp., expuestas a diferentes concentraciones de CO₂ (5, 10, y 15%). Los resultados determinaron que la suplementación de 10% de CO₂ fue la óptima para el crecimiento, reportando una biomasa de 9.8 g/L. Los estudios previos son congruentes con los resultados obtenidos en este experimento, comprobando la capacidad de crecimiento de *Scenedesmus* sp. a concentraciones 10 y 20% de CO₂.

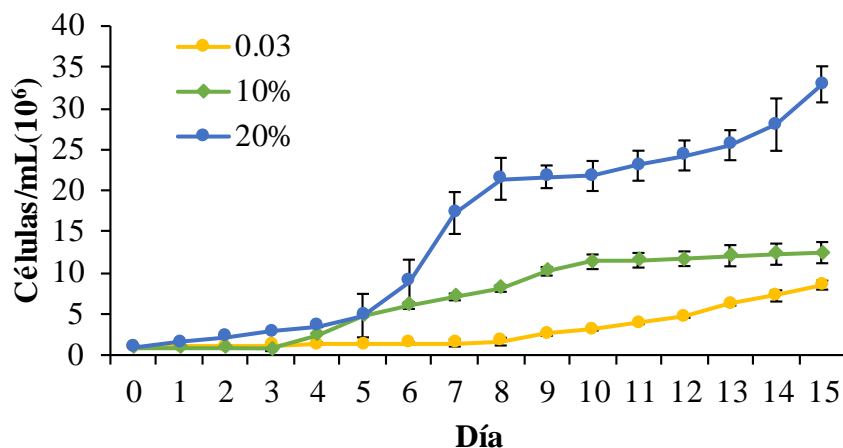


Figura 3. Crecimiento celular de *Scenedesmus* sp. con tres distintas concentraciones de CO₂ (0.03, 10, 20%).

Crecimiento de *Scenedesmus* sp. en agua residual industrial, con suplementación de CO₂

Caracterización del agua residual. Los valores obtenidos en términos de pH y contenido de materia orgánica son relativos a la procedencia de la muestra y al tratamiento previo de la misma, ya que esta es el resultado de un tratamiento primario y un proceso de neutralización con NaOH y HCl (Cuadro 3). Adicionalmente, se corroboró a través de la utilización de un microscopio la presencia de bacterias en el agua residual industrial.

Se debe tomar en cuenta que el efluente industrial cuenta con diferentes características, mismas que pueden convertirse en limitantes que afecten el crecimiento de la microalga. Dentro de estos factores limitantes, se encuentran el pH, la concentración de nutrientes, turbiedad, presencia de bacterias, entre otros (Alfaro-Vives, Proenza-Yero, Matos-Durand y Rupert-Jacobs, 2017). Estos organismos vivos necesitan de ciertas condiciones para un crecimiento adecuado, por lo que al usar el efluente industrial, el crecimiento de las microalgas se puede ver afectado. Un factor de importancia es la turbidez, ya que, al presentar valores altos, podría causar interferencia en la absorción adecuada de la luz. La alta cantidad de nutrientes también podría generar una inhibición en la asimilación de los mismos por parte de las microalgas. De la misma manera, valores extremos de pH o la presencia de bacterias, pueden afectar el desarrollo adecuado (Mérida, 2020).

Cuadro 3. Caracterización del agua residual industrial.

Parámetro	Valor	Unidad
pH	7.30 ± 0.05	-
Fósforo total	39.40 ± 2.30	mg/L PO ₄ ³⁻
Nitratos	5.06 ± 0.57	mg/L N-NO ₃
DQO	4,395.60 ± 341	mg/L
Sólidos sedimentables	89.30 ± 6.02	mL/L
Sólidos totales	3.90 ± 0.70	g/L

El crecimiento de *Scenedesmus* sp. en agua residual industrial y con suministro de dióxido de carbono varía en su desempeño al operar a una concentración de CO₂ y de agua residual industrial

específica. Al operar con un suministro de 10% de CO₂ se registró una mayor producción de biomasa al mantener una concentración de 25% de agua residual, obteniendo un valor de 6.89×10^6 células/mL (0.46 g/L) al finalizar los 15 días. Para los demás tratamientos (50 y 75% de agua residual), se obtuvieron crecimientos de 4.94×10^6 células/mL (0.35 g/L) y 3.79×10^6 células/mL (0.27 g/L), respectivamente. Esto es congruente con lo reportado por López-Pacheco et al. (2019), quienes usaron varias concentraciones de agua residual de la industria del nejayote y agua residual porcina. Su estudio concluyó que el porcentaje de agua residual recomendado para el crecimiento de microalgas debe ser menor al 50%. Lo anterior se debe a que cuando se utiliza una concentración superior, hay más variables que afectan el crecimiento de las microalgas, como la turbidez, carga orgánica, competencia y depredación con otros microorganismos presentes en las aguas residuales.

Por su parte, Xin, Hong-ying, Ke, y Ying-xue, (2010) utilizaron varias microalgas (*Scenedesmus* sp., *Chlorella vulgaris*, *Spirulina platensis*, etc.) para utilizar los efluentes secundarios de una planta de tratamiento de agua industrial de Beijing. En este caso, los mejores resultados se obtuvieron para *Scenedesmus* sp., con una biomasa de 0.11 g/L, valores que, al ser comparados con el presente estudio, fueron menores, al haberse reportado una biomasa de 0.46 g/L. Asimismo, se han utilizado las aguas residuales como medio de cultivo para el crecimiento de otras microalgas como *Chlorella* sp., Cho, Luong, Lee, Oh, y Lee (2011), evaluaron la capacidad de *Chlorella* sp. para ser cultivada con los efluentes de una planta de tratamiento municipal de agua residual, misma que fue sometida a pretratamientos. Se obtuvo un crecimiento de 4.9 g/L, concluyendo que el uso de agua residual como medio de cultivo de microalgas es factible, al igual que lo reflejado en los resultados de este estudio.

Otra investigación realizada por (Hariz, Takriff, Yasin, Ba-Abbad, y Hakimi, 2019) la cual usó agua residual industrial de la fabricación de aceite de palma, para la fijación de CO₂. Se utilizaron las microalgas *Scenedesmus* sp. y *Chlorella* sp., a las que se les suministró 10% de CO₂ v/v, y se usó agua residual industrial como medio de cultivo. Se reportaron resultados de 0.0204 g L⁻¹ día⁻¹ para *Scenedesmus* sp., y 0.4403 g/L⁻¹día⁻¹ para *Chlorella* sp. Estos datos son comparables por los obtenidos en este estudio para el tratamiento de 25% de agua residual y con una concentración de 10% de CO₂, concluyendo de esta manera que los estudios realizados por los autores anteriormente mencionados y los resultados obtenidos en este estudio demuestran la factibilidad de crecimiento celular de *Scenedesmus* sp. usando agua residual como medio de cultivo.

En lo que respecta a los resultados obtenidos al suministrar 20% de CO₂, se puede observar que al igual que cuando se opera con 10% de CO₂, la curva de crecimiento celular de las microalgas es inversamente proporcional a la concentración del agua residual industrial presente en el biorreactor. Esto se ve reflejado en la Figura 4. Crecimiento de *Scenedesmus* sp. en diferentes concentraciones de agua residual industrial con 10% de CO₂, donde en 25% de agua residual se tiene 6.89×10^6 células/mL (0.46 g/L), mientras que en 75% de agua residual el valor de biomasa disminuye con un valor de 3.79×10^6 células/mL (0.27 g/L) de biomasa. Esto también se respalda por los estudios anteriormente mencionados, en los que, a mayor concentración del efluente, el crecimiento se ve afectado de manera negativa. Se atribuye este comportamiento a los diferentes factores propios del agua residual industrial, como la turbidez, misma que tiene efecto en la absorción de luz por parte de las microalgas.

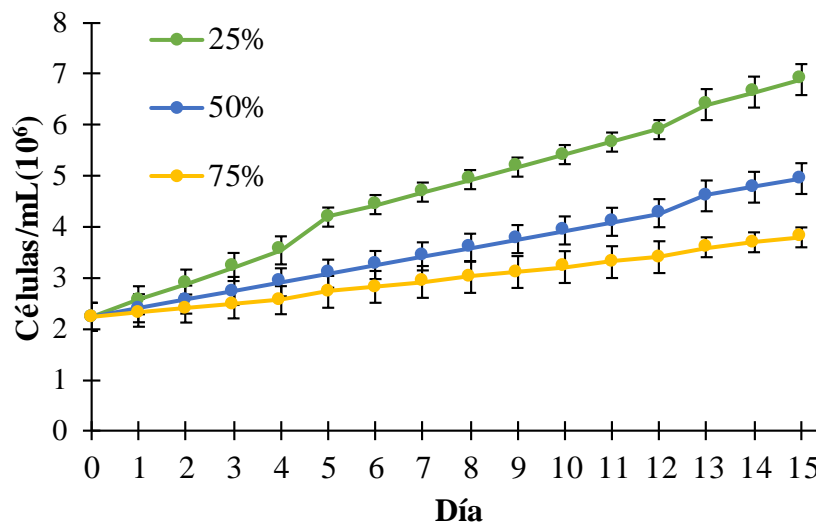


Figura 4. Crecimiento de *Scenedesmus* sp. en diferentes concentraciones de agua residual industrial con 10% de CO₂.

Al suministrar una concentración de CO₂ del 20% también se observa que el mejor crecimiento se da al utilizar la concentración de 25% de agua residual industrial, teniendo una producción de biomasa de 11×10^6 células/mL (0.7 g/L) (Figura 5). Los resultados obtenidos para el 50 y 75% del efluente industrial fueron de 9.7×10^6 células/mL (0.62 g/L) y 8.6×10^6 células/mL (0.56 g/L) respectivamente. Con lo anterior se confirma que, la proporción de agua residual industrial utilizada será un factor limitante para el crecimiento de la microalga.

Si se comparan los dos tratamientos expresados en las Figuras Figura 4 y Figura 5 podemos corroborar lo expresado por Basu et al. (2014) y Makaarevičienė, et al. (2011), que concluyen que al incrementar la concentración de CO₂, se obtiene una mayor cantidad de biomasa. En el estudio de Yang et al. (2020), se reportaron mejores resultados para el agua residual que recibió tratamiento con una concentración de biomasa de 0.6 g/L en 15% de CO₂. Comparados con los resultados obtenidos en este estudio, se tiene una mejor concentración de biomasa de 0.7 g/L con suplementación de CO₂ al 20% por lo que el crecimiento de microalgas en agua residual es factible. Los resultados obtenidos demuestran que un porcentaje de agua residual (25%) puede ser utilizado como sustituto de las sales utilizadas comúnmente como medio de cultivo para el crecimiento de microalgas, abaratando los costos de producción.

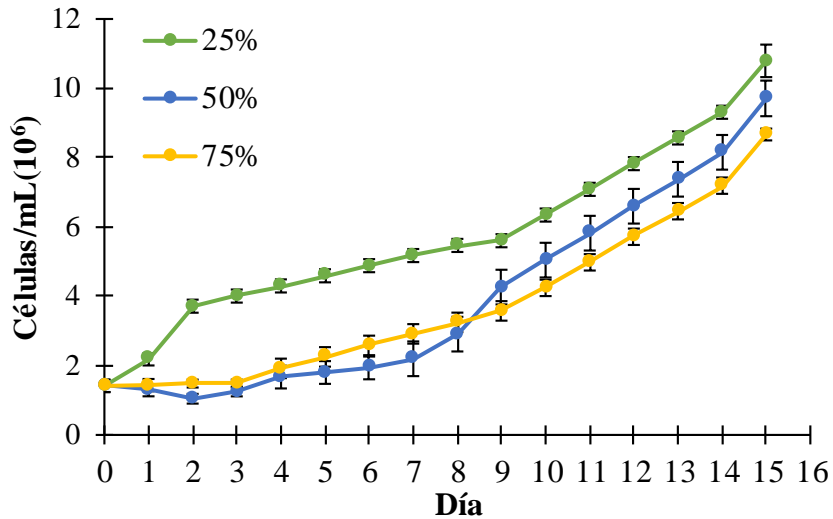


Figura 5. Crecimiento de *Scenedesmus* sp. en diferentes concentraciones de agua residual industrial con 20% de CO₂.

A pesar de que el mayor crecimiento obtenido fue con el medio de cultivo BG-11 se debe considerar que este cuenta con la proporción ideal de sales y nutrientes, por lo que el crecimiento se ve favorecido. Por otra parte, hay que recalcar que la biomasa obtenida en 20% de CO₂ con 25% de efluente residual es de 11×10^6 células/mL (0.7 g/L) (Figura 5). En comparación a los estudios de otros autores mencionados anteriormente, los resultados para este experimento están por encima de los valores reportados en dichos estudios. La biomasa obtenida se puede destinar para varios usos como: elaboración de biodiesel, pigmentos utilizados en la industria alimentaria, alimentación animal, bioplásticos industria farmacéutica, biofertilizantes, biogás, entre otras, generando así un valor agregado (Udaiyappan, Hasan, Takrif, y Abdullah, 2017).

Se determinó que el mayor crecimiento de biomasa (33×10^6 células/mL) se obtuvo para el tratamiento cultivado en medio BG-11 con suplementación de 20% de CO₂. Mientras que, al utilizar del efluente industrial como medio de cultivo, el mejor resultado se reportó con la adición de 20% de CO₂ en 25% de agua residual (11×10^6 células/mL). Los resultados proporcionan evidencia de la importancia de regular la proporción de agua residual como un sustituto del medio de cultivo BG-11. En este caso, debido a la composición del efluente industrial utilizado el uso de una menor proporción de este en combinación con el suministro de 20% de CO₂ proporcionará un mejor rendimiento. Cabe recalcar que con BG-11 se tiene la mayor cantidad de biomasa ya que este medio contiene los nutrientes y sales minerales específicas para el correcto desarrollo de la microalga (Figura 6).

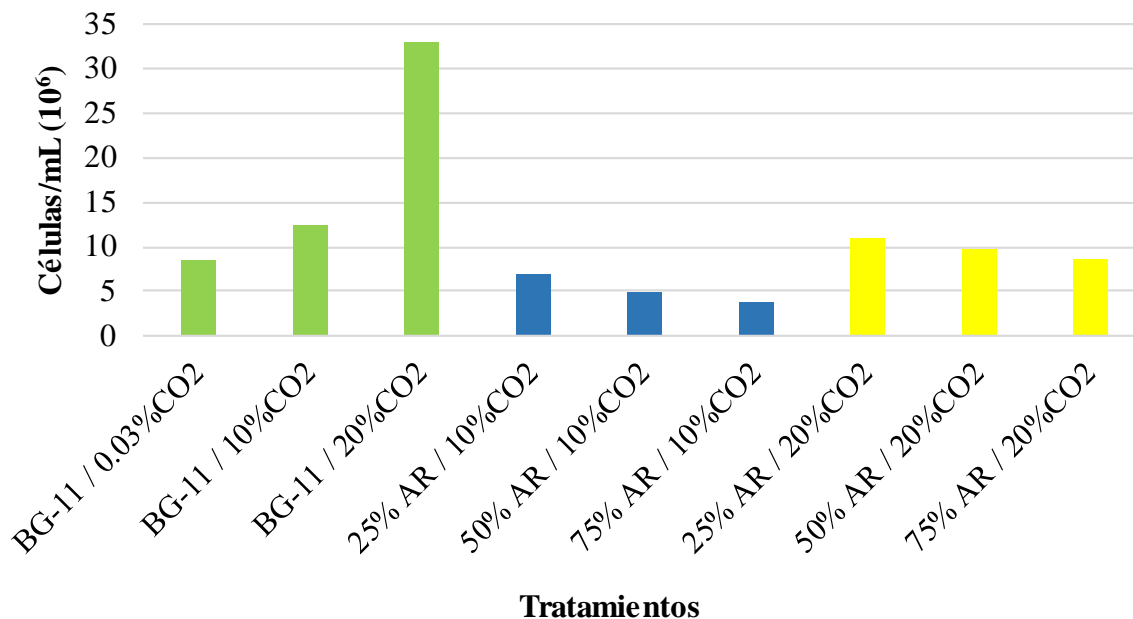


Figura 6. Comparación de biomasa al finalizar el día 15 en medio BG-11 y agua residual industrial, con suplementación de CO₂.

Se realizó el Análisis de Varianza (ANDEVA) con medidas repetidas en el tiempo, aplicado a la variable de respuesta de número de células/mL y como fuente de variación los tratamientos (1, 2, 3, 4, 5 y 6) y el tiempo (Días: 0 al 15). Se obtuvo un valor de probabilidad asociada significativo ($P < 0.05$) para la interacción de los factores fijos de tratamientos y los días del cultivo, indicando que existe un efecto combinando de la concentración de CO₂ y agua residual en el tiempo de crecimiento de *Scenedesmus* sp. A través de la prueba de medias de LSD de Fisher se determinó que el tratamiento con 20% de CO₂ y 25% de efluente industrial de agua residual a los 15 días presentó el mayor crecimiento celular (media: 10.79 células/mL; E.E.: 0.13; $P < 0.05$) con respecto al resto de los tratamientos en los diferentes días. Por tanto, esto confirma lo observado con los estimadores descriptivos.

Capacidad de biocaptura de CO₂ de *Scenedesmus* sp. cultivada con agua residual industrial y medio de cultivo BG-11

Para el tratamiento con una suplementación de 10% de CO₂ en medio de cultivo BG-11 se obtuvo la mejor remoción, misma que fue de 6.60% de CO₂. Esto se registró en el día 15 del experimento que corresponde a la etapa de mantenimiento y que a su vez corresponde a una mayor concentración de biomasa (Cuadro 4). En lo que respecta a la adición de 10% de CO₂, en las tres concentraciones de agua residual industrial (25, 50, 75%), se obtuvo el mejor resultado con una remoción de 8.50% de CO₂ en el día 5. Por lo que se atribuye este valor a la etapa de crecimiento exponencial de la microalga, en donde se da una mayor actividad por parte de estas, y una mayor demanda de CO₂. Estos resultados son comparables con el estudio realizado por Yang et al. (2020), quienes utilizaron diferentes concentraciones de CO₂ (2, 5, 10 y 15% v/v) dando como resultado que; al suplementar

10% de CO₂ se obtiene una remoción de 4.5%. Determinando de esta manera que la remoción usando como medio de cultivo BG-11 es factible para las diferentes suplementaciones 10% de CO₂.

En lo que respecta a la remoción de CO₂ para el tratamiento operado con una concentración de 20% de CO₂ en medio de cultivo BG-11, se reporta una reducción de 5.12% de CO₂ para el día 10. A su vez, para las tres diferentes concentraciones del efluente industrial en el tratamiento con 75% de agua residual reportó la remoción de CO₂ más alta, con un valor de 7.08% en el día 10. Esto muestra que los valores están relacionados a la fase crecimiento exponencial, en la cual se incrementa la demanda de CO₂, por la mayor presencia de biomasa (Cuadro 5). Estos resultados son comparables con el estudio realizado por Abd El Baky et al. (2012), quienes usaron *Scenedesmus obliquus*, misma que presentó la mejor remoción cuando se suplementó 20% de CO₂.

La remoción de CO₂ en general presentó mejores resultados para el tratamiento con suministro de 10% de CO₂, lo que concuerda con (Chiu et al, 2009; Song et al, 2019), quienes concluyen que a menores concentraciones de CO₂ se da una mejor fijación. Cabe recalcar que la fijación de CO₂ también se ve afectada por la baja solubilidad de este en el medio, que a su vez está relacionado con la temperatura, ya que a una mayor temperatura la solubilidad del CO₂ en medio acuoso es menor. Hariz et al. (2019) respaldan esta teoría reportando que la cantidad recomendada para obtener una mayor fijación es al 10% de CO₂. También hay que tomar en cuenta que la microalga está sometida a condiciones de estrés, por lo que la realización de sus funciones de manera adecuada se ve reducida por parámetros como pH, turbidez y adición de CO₂, demostrando la factibilidad de realización de este proceso de fijación de CO₂ por medio de *Scenedesmus sp.*

Cuadro 4. Remoción de CO₂ del gas de salida del cultivo *Scenedesmus sp.* a una concentración de 10% de CO₂.

Días	Medio BG-11	25% AR	50% AR	75% AR
5	5.50 ± 2.11	3.43 ± 1.60	8.50 ± 2.80	6.21 ± 0.33
10	3.65 ± 1.11	5.43 ± 1.15	4.70 ± 3.22	5.17 ± 1.06
15	6.60 ± 3.50	4.05 ± 0.20	7.03 ± 1.94	3.26 ± 1.01

Cuadro 5. Remoción de CO₂ del gas de salida del cultivo *Scenedesmus sp.* a una concentración de 20% de CO₂.

Día	Medio BG-11	25% AR	50% AR	75% AR
5	1.36 ± 0.94	4.84 ± 0.95	4.74 ± 2.39	4.74 ± 2.40
10	5.12 ± 0.60	4.14 ± 1.27	2.06 ± 0.39	7.08 ± 0.28
15	3.82 ± 2.27	3.31 ± 1.40	3.49 ± 1.52	4.58 ± 1.51

4. CONCLUSIONES

- El crecimiento celular de *Scenedesmus* sp. en el medio de cultivo BG-11 y con suplementación de 0.3, 10 y 20% v/v de CO₂ se ve favorecido en la concentración del 20% v/v, con lo cual se obtuvo un máximo crecimiento celular con una biomasa de 33×10⁶ células/mL.
- La utilización de agua residual como medio de cultivo para el crecimiento celular de *Scenedesmus* sp. es viable, registrando que el mejor desempeño de biomasa se obtuvo al suministrar 20% de CO₂ y 25% de agua residual alcanzando una concentración de 11×10⁶ células/mL.
- La captura de CO₂ es viable teniendo los mejores resultados para las concentraciones de agua residual (25, 50, 75%) al suplir 10% de CO₂. Al incrementar la concentración de CO₂ pueden existir problemas de solubilidad y saturación, disminuyendo así el proceso de biocaptura.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar un proceso de auto clavado al agua residual, ya que la presencia de bacterias afecta al cultivo de microalgas. Procesos infecciosos que afectan la cepa de microalgas, o interacciones metabólicas, pueden resultar en inhibición del crecimiento de las microalgas o irregularidad en sus procesos.
- Ampliar el tiempo del experimento para poder analizar todas las fases de crecimiento celular de *Scenedesmus* sp., para comprender de mejor manera las interacciones que se dan en el estudio.
- Realizar un tratamiento que involucre 0.03% de CO₂ en las diferentes concentraciones de agua residual industrial (25, 50 y 75%), para poder comparar con los resultados obtenidos en este estudio.

6. LITERATURA CITADA

- Abd El Baky, H., El-Baroty, G., Bouaid, A., Martinez, M. y Araci, J. (2012). Enhancement of lipid accumulation in *Scenedesmus obliquus* by Optimizing CO₂ and Fe³⁺ levels for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 119, 429-432.
- Acevedo, S., Pino, N. y Peñuela, G. (2016). Remoción de nitrógeno, fósforo y producción de biomas de *Scenedesmus* sps en agua residual doméstica. *Ingeniería y Competitividad*, 19(1), 177-185.
- Alfaro-Vives, O., Proenza-Yero, R., Matos-Durand, R. y Rupert-Jacobs, A. (2017). Modelo dinámico de un fotobiorreactor de capa fina, utilizado para el cultivo de la microalga *Chlorella* sp. y bacterias en aguas residuales de alta carga orgánica. *Tecnología Química*, 37(1), 79-93.
- Basu, S., Roy, A. S., Mohanty, K. y Ghoshal, A. K. (2014). CO₂ biofixation and carbonic anhydrase activity in *Scenedesmus obliquus* SA1 cultivated in large scale open system. *Bioresource Technology*, 164, 323-330.
- Bernal, C., Vázquez, G., Barecló Quintal, I., y Laure Bussy, A. (2008). Microalgal dynamics in batch reactors for municipal wastewater treatment containing dairy sewage water. *Water, air, and soil pollution*, 190(1-4), 259-270
- Chiu, S.-Y., Kao, C.-Y., Tsai, M.-T., Ong, S.-C., Chen, C.-H. y Lin, C.-S. (2009). Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration. *Bioresource Technology*, 100(2), 833-838.
- Cho, S., Luong, T., Lee, D., Oh, Y.-K. y Lee, T. (2011). Reuse of effluent water from a municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production. *Bioresource Technology*, 102(18), 8639-8645.
- Comisión Nacional del Agua. (2018). *Estadísticas del agua en México*. Ciudad de México: CONAGUA. Obtenido de http://sina.conagua.gob.mx/publicaciones/EAM_2018.pdf
- De Morais, M. y Costa, J. (2007). Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three stage serial tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology*, 129(3), 439-445
- García-López, D., Mateo-Cid, L., y Mendoza Gonzáles, C. (2017). Nuevos registros y lista actualizada de las algas verdes (Chlorophyta) del litoral de Veracruz, México. *Gayana Botánica*, 74(1), 45-56.
- Guo, C., Duan, D., Sun, Y., Han, Y. y Zhao, S. (2019). Enhancing *Scenedesmus obliquus* biofilm growth and CO₂ fixation in a gas-permeable membrane photobioreactor integrated with additional rough surface. *Algal Research*, 43, 101620.
- Hariz, B. H., Takriff, M. S., Yasin, N. H., Ba-Abbad, M. m., y Hakimi, N. I. (2019). Potential of the microalgae-based integrated wastewater treatment and CO₂ fixation system to treat Palm Oil Mill Effluent (POME) by indigenous microalgae; *Scenedesmus* sp. and *Chlorella* sp. *Journal of Water Process Engineering*, 32, 100907.
- Hernández-Pérez, A. y Labbé, J. (2014). Microalgas, cultivos y beneficios. *Revista de biología marina y oceanografía*, 49(2), 157-173.
- Hidalgo, A., Hidalgo, R., Sánchez, Y. y Leal, A. (2017). Compromisos de mitigación y adaptación ante el cambio climático para el período 2020-2030 – México. *Boletín Científico De Las Ciencias Económico Administrativas Del ICEA*, 5(9).

- Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. (2018). Inventario Nacional de Emisiones de Gases y Compuestos de Efecto Invernadero 1990-2015. *Resumen Informativo*. Ciudad de México.
- Kassim, M. y Meng, T. (2017). Carbon dioxide (CO₂) biofixation by microalgae and its potential for biorefinery and biofuel production. *Science of the Total Environment*, 584, 1121-1129.
- Ley del derecho a los servicios públicos de agua potable, drenaje, alcantarillado y tecnología hídrica de la ciudad de Mexico. (29 de Marzo de 2019). Procuraduría Ambiental y del Ordenamiento Territorial de la Ciudad de México. Diario Oficial de la Ciudad de México.
- López-Pacheco, I., Carrillo-Nieves, D., Salinas-Salazar, C., Silva-Núñez a, A., Arévalo-Gallegos, A., Barceló, D., . . . y Parra-Saldívar, R. (2019). Combination of nejayote and swine wastewater as a medium for *Arthrospira maxima* and *Chlorella vulgaris* production and wastewater treatment. *Science of the Total Environment*, 676, 356-367.
- Makaarevičienė, V., Andrulevičiūtė, V., Skorupskaitė, V. y Kasperovičienė. (2011). Cultivation of Microalgae *Chlorella* sp. and *Scenedesmus* sp. as a Potential Biofuel Feedstock . *Environmental Research, Engineering and Management*, 57(3), 21-27.
- Mérida, L. (2020). Microalgas para el manejo de aguas residuales, actualidad y perspectivas. *Agrobiología*, 30.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2017). *Reutilización de aguas para agricultura en America Latina y el Caribe*. Santiago de Chile: FAO.
- Robarge, W., Edwards, A., y Jhonson, B. (1983). Water and waste water analysis for nitrate via nitration of salicylic acid. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 14(2), 1207-1215.
- Sayedín, F., Kermanshahi-pour, A., He, Q. S., Tibbetts, S. M., Lalonde, C. G. y Brar, S. K. (2020). Microalgae cultivation in thin stillage anaerobic digestate for nutrient recovery and bioproduct production. *Algal Research*, 47, 101867.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2020). *Componente de mitigación NDC*. Ciudad de México: SEMARNAT.
- Song, C., Xie, M., Qiu, Y., Liu, Q., Sun, L., Wang, K. y Kansha, Y. (2019). Integration of CO₂ absorption with biological transformation via using rich ammonia solution as a nutrient source for microalgae cultivation. *Energy*, 179, 618-627.
- Tang, D., Han, W., Li, P., Miao, X. y Zhong, J. (2011). CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels. *Bioresource Technology*, 102(3), 3071-3076.
- Tebbani, S., Lopes, F., Filali, R., Dumur, D. y Pareau, D. (2020). *Biofijación de CO₂ por microalgas*. Londres: ISTE Group.
- Tripathi, R., Singh, J. y Thakur, (2015). Characterization of microalga *Scenedesmus* sp. ISTGA1 for potential CO₂ sequestration and biodiesel production. *Renewable Energy*, 74, 774-781.
- Udaiyappan, A., Hasan, H., Takrif, M. S. y Abdullah, S. R. (2017). A review of the potentials, challenges and current status of microalgae biomass applications in industrial wastewater treatment. *Journal of Water Process Engineering*, 20, 8-21.
- Ugaz Odar, F. (2018). *Reuso de aguas residuales, tratadas biologicamente para el regadio del jardín botánico, Trujillo, La Libertad-Perú*. (Tesis Doctorado). Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo.
- Velasco Cordero, J. S. (2016). *Evaluación de la captura de CO₂ mediante biofiltros con la utilización de microalgas* (Tesis de Pregrado). Universidad de las Américas, Quito.

- Verdugo-Vera, M. (2020). *Cultivo en batch de Scenedesmus spp., en aguas residuales de industrias* (Tesis de Pregrado). Universidad de Guayaquil, Ecuador
- Wu, L., Chen, P., Huang, A., y Lee, C. (2012). The feasibility of biodiesel production by microalgae using industrial wastewater. *Bioresource Technology*, 113, 14-18.
- Xin, L., Hong-ying, H. y Jia, Y. (2010). Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, *Scenedesmus* sp. LX1, growing in secondary effluent. *New Biotechnology*, 21(1), 59 - 63.
- Yang, Q., Li, H., Wang, D., Zhang, X., Guo, X., Pu, S., . . . Chen, J. (2020). Utilization of chemical wastewater for CO₂ emission reduction: Purified terephthalic acid (PTA) wastewater-mediated culture of microalgae for CO₂ bio-capture. *Applied Energy*, 276, 115502.
- Yue, L. y Chen, W. (2005). Isolation and determination of cultural characteristics of a new highly CO₂ tolerant fresh water microalgae. *Energy conservation and management*, 46(11-12), 1868-1876.

7. ANEXOS

Anexo 1. Medio BG-11.

Componente	Cantidad
NaNO ₃	1.5 g/L
K ₂ HPO ₄	40 mg/L
MgSO ₄ • 7 H ₂ O	75 mg/L
CaCl ₂ • 2 H ₂ O	36 mg/L
Ácido cítrico • H ₂ O	6 mg/L
Citrato de amonio férrico	6 mg/L
Na ₂ EDTA • 2 H ₂ O	1 mg/L
Na ₂ CO ₃	20 mg/L
H ₃ BO ₃	2.86 mg/L
MnCl ₂ • 4 H ₂ O	1.81 mg/L
ZnSO ₄ • 7 H ₂ O	0.22 mg/L
NaMoO ₄ • 2 H ₂ O	0.39 mg/L
CuSO ₄ • 5 H ₂ O	0.079 mg/L
Co(NO ₃) ₂ • 6 H ₂ O	0.04 mg/L

Se colocó en autoclave por 15 minutos a 121 °C.

Anexo 2. Cuadro de análisis de la varianza.

ANDEVA	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	1257.40	107	11.75	216.62	< 0.0001
Tratamiento	223.74	5	44.75	92.62	< 0.0001
Tratamiento > Repetición	5.80	12	0.48	8.91	< 0.0001
Día	799.47	15	53.30	982.47	< 0.0001
Tratamiento*día	228.40	75	3.05	56.14	< 0.0001

Anexo 3. Prueba LSD "Fisher"

Tratamiento	% de CO ₂	% Agua residual	Medias
4	20	25	5.70 ^a
1	10	25	4.67 ^b
5	20	50	3.90 ^b
6	20	75	3.72 ^b
2	10	50	3.54 ^c
3	10	75	2.97 ^d