



Domestic wastewater treatment using *Chlorella vulgaris* in an airlift bioreactor

Tratamiento de aguas residuales domésticas empleando *Chlorella vulgaris* en un biorreactor airlift

Jessica L. Borja-Aragón¹, José A. Rodríguez-De la Garza^{1*}, Leopoldo J. Ríos-González¹, Yolanda Garza- García¹, Mónica M. Rodríguez-Garza¹, Silvia Y. Martínez-Amador².

¹ Depto. de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Blvd. V. Carranza S/N, Col. República, Saltillo, Coahuila, México.

² Depto. de Botánica, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, 25315 Saltillo, Coahuila, México.

*Corresponding author.

E-mail address: antonio.rodriguez@uadec.edu.mx (J. A. Rodríguez-De la Garza).

Article history:

Received: 12 December 2016 / Received in revised form: 13 Jun 2017 / Accepted: 20 June 2017 / Published online: 1 July 2017

<https://doi.org/10.29267/mxjb.2017.2.2.40>

ABSTRACT

A wastewater treatment system using *Chlorella vulgaris* was applied to treat domestic wastewater in an airlift bioreactor. Nutrients removal present in the wastewater were assessed: Nitrogen (N), Phosphorus (P), Chemical Oxygen Demand (COD). Due to the presence of these nutrients in many aquatic environments, can cause severe environmental problems, such as, reduction in oxygen levels, that can consequently kill fish and other oxygen-dependent fauna. The air lift reactor was operated in continuous mode. The air lift reactor was previously inoculated with *C. vulgaris*, and three different hydraulic retention times (HRT), were assessed: 24, 36 and 48 h. The results obtained were as following: 22.90%, 38.87% and 49.68% COD; 28.9%, 23.32%, 27.45% N and 44.24%, 48.89%, 54.22% P for 24, 36 and 48 h respectively.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, airlift biorreactor, removal efficiency, nitrogen, phosphorus, chemical oxygen demand.

RESUMEN

Se diseñó un sistema de tratamiento de aguas residuales domésticas empleando una cepa microalgal de *Chlorella vulgaris* en un biorreactor airlift, con la finalidad de tratar de

remover algunos de los parámetros básicos que componen el agua residual entre los cuales se encuentran: Nitrógeno (N), Fosforo (P), Demanda Química de Oxígeno (DQO). Debido a que la presencia de estos nutrientes en muchos ambientes acuáticos pueden disminuir severamente los niveles de oxígeno y por consecuencia matar a los peces y otra fauna dependiente de oxígeno, dicho tratamiento consistió en operar el biorreactor airlift a flujo continuo, previamente inoculado con biomasa de *C. vulgaris*, en tres diferentes tiempos de retención hidráulica (TRH), dichos tiempos fueron de: 24, 36 y 48 h. Los resultados de remoción obtenidos de estos tratamientos fueron, 22.90%, 38.87% y 49.68% para DQO; 28.9%, 23.32%, 27.45% para N y 44.24%, 48.89%, 54.22% para P, para 24, 36 y 48 h respectivamente.

Palabras Clave: *Chlorella vulgaris*, biorreactor airlift, eficiencia de remoción, nitrógeno, fosforo, demanda química de oxígeno.

1. INTRODUCCIÓN

El crecimiento de las grandes ciudades, implica una mayor necesidad de recursos y servicios. Un recurso de vital importancia es el agua, ya que se considera que del porcentaje de agua que hay en el planeta el 97.5% es agua salada y se encuentra en mares y océanos; el restante 2.5% es agua dulce, de esta cantidad casi el 70% no está disponible para consumo humano debido a que se encuentra en forma de glaciares, nieve o hielo. Del agua que técnicamente está disponible para consumo humano, sólo una pequeña porción se encuentra en lagos, ríos, humedad del suelo y depósitos subterráneos relativamente poco profundos, cuya renovación es producto de la infiltración. (CONAGUA, 2011).

El agua dulce es utilizada para cubrir las necesidades domésticas e industriales lo cual genera una gran cantidad de aguas residuales que contienen nutrientes los cuales son elementos indispensables que pueden ser asimilados y metabolizados para el crecimiento de los organismos vivos. Los principales nutrientes o llamados macronutrientes de las aguas residuales son carbono (C), nitrógeno (N), oxígeno (O) y fosforo (P) (Madigan *et al.*, 2004), dichas aguas deben ser tratadas previamente a su vertido a los cuerpos receptores, cuando sea necesario para cumplir con lo dispuesto en el permiso de descarga correspondiente, en las Normas Oficiales Mexicanas (LAN, 2014). Existen diferentes procesos de tratamiento los cuales utilizan una fase primaria para realizar la separación física de sólidos mediante tanques de sedimentación, seguida de una etapa secundaria, donde se lleva a cabo la degradación bacteriana de la materia orgánica sin embargo esto no ha sido suficiente ya que estas aguas aún después de ser tratadas continúan teniendo una gran cantidad de N y P, los cuales son los causantes de la eutrofización que puede llevar a la destrucción completa de ecosistemas. Así como también la presencia de muchos patógenos (coliformes totales y fecales, helmintos, etc.) por lo que es necesario aplicar un tratamiento terciario (Salazar, 2005).

La investigación con microalgas ha alcanzado una enorme importancia debido a la combinación de usos que pueden tener. El principal interés que tienen en depuración de aguas residuales es para la eliminación de los elementos eutrofizantes antes de su vertido a los cuerpos de agua (Santos, 2014). Bajo el término de microalga se incluyen aquellos microorganismos unicelulares capaces de llevar a cabo la fotosíntesis, son en general

organismos foto-autótrofos, es decir, obtienen la energía de la luz proveniente del sol y se desarrollan a partir de materia inorgánica; sin embargo, algunas especies son capaces de crecer empleando materia orgánica como fuente de energía o de carbono (Ruiz, 2011).

El objetivo fundamental de la aplicación de microalgas en el tratamiento de aguas residuales es la utilización y transformación de los nutrientes a biomasa, con la consecuente producción de oxígeno, para mejorar la calidad del efluente así como la disponibilidad de este para la continua oxidación bacteriana de la materia orgánica en sistemas integrales, mediante el ciclo de oxigenación fotosintética de aguas residuales (Salazar, 2005). Algunas de las problemáticas que causa el uso de microorganismos es el crecimiento sin control de estos o la pérdida casi total de la biomasa, así como la susceptibilidad que pueden tener a factores ambientales como temperatura y pH, de igual forma pueden tener menor resistencia a la misma sustancia que se quiera degradar (Garzón *et al.*, 2008).

Las microalgas han sido utilizadas ampliamente en procesos de biorremediación con el fin de remover metales pesados y materia orgánica. Los componentes de su pared celular contribuyen a su capacidad para retener variados contaminantes ambientales presentes en cuerpos de agua (Garza *et al.*, 2010).

1.1. Biorreactores Airlift

Los biorreactores airlift cubren una amplia gama de dispositivos neumáticos en contacto gas-liquido o gas-liquido-solido, se caracterizan por la circulación de fluido cíclico en un patrón definido a través de canales construidos específicamente para este propósito. En este tipo de biorreactor el contenido se agita neumáticamente por una corriente de aire o por otros gases (Merchuk 2010). Consisten en un tanque dividido en dos zonas interconectadas, principalmente por un bafle o un tubo de draft. Solo una región es asperjada con gas y es conocida como ascendente o *riser*, la otra zona se nombra descendente o *downcomer*. La división en dos zonas conduce a una diferencia de densidades en el fluido entre ambas regiones, tendiendo a ser menor en el caso del *riser*, con lo que se origina la recirculación del medio en el biorreactor (Verlaan *et al.*, 1988; Chisti, 1987; López, 1997; Chisti Moo-Young, 2002). La separación en dos zonas hace que sean más efectivos en la suspensión de células y en la transferencia de oxígeno que las columnas de burbujeo (Chisti y Moo-Young 2002; López, 2010).

Los biorreactores airlift pueden ser de circulación interna o externa, los primeros poseen un tubo colocado en el interior del tanque, que delimita las dos zonas (Airlift de tubos concéntricos) o puede estar seccionado verticalmente por un bafle (Airlift de Cilindro seccionado o Split cylinder airlift, SCAL). En la Figura 1 se muestran las vistas superiores de las distintas configuraciones de biorreactores airlift.

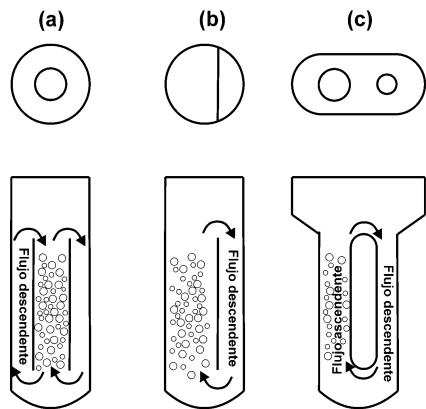


Fig. 1 Tipos de Biorreactores airlift (a) Airlift de tubos concéntricos; (b) Airlift cilindro seccionado; (c) Airlift de recirculación externa (Chisti, 1989; Chisti y Moo-Young, 2002).

Por lo general, la cantidad de aire necesario para la reacción biológica es suficiente para actuar como la única fuente de movimiento el líquido (Scragg, 1997). En los biorreactores con recirculación externa (Airlift Loop) los tubos de ascenso y descenso están separados (Scriban, 1985; Lopez, 1997).

Los biorreactores airlift están compuestos por cuatro secciones con diferentes características, a continuación se describen las funciones cada una de las secciones del biorreactor y estas se muestran en la Figura. 2:

- Columna de ascenso (RISER). El gas se inyecta en la parte inferior de esta sección, y el flujo de gas y el líquido predominan hacia arriba.
- Columna de descenso (DOWNCOMER). Esta sección es paralela al riser, está conectado al tubo de subida en la parte inferior y por la parte superior. El flujo de gas y el líquido es predominantemente hacia abajo. La fuerza impulsora para la recirculación es la diferencia de densidad entre el riser y el downcomer, esta diferencia genera la presión gradiente necesario para la recirculación de líquido.
- Base. En la gran mayoría de los diseños de biorreactores airlift se encuentra en la parte inferior zona de conexión entre el elevador y tubo de descenso es muy simple. Por lo general, se cree que la de base no afecta significativamente el comportamiento global del biorreactor, pero el diseño de esta sección puede influir retención de gas, velocidad del líquido, y el flujo de fase sólida.
- Dispersión de Gas. Esta sección en la parte superior del biorreactor conecta el riser o flujo ascendente al downcomer o flujo descendente, facilitándola recirculación del líquido y la separación de gas (Merchuk, 2010).

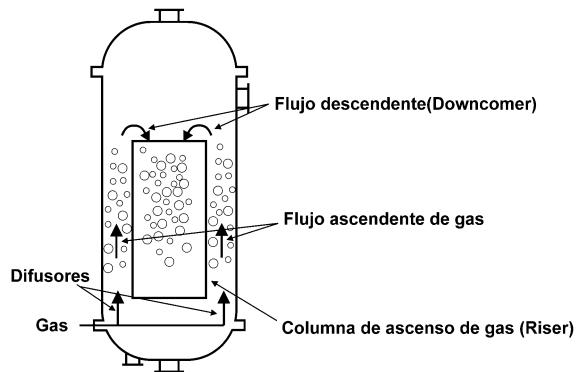


Fig. 2. Secciones que componen al reactor airlift (Chisti, 1989; Chisti y Moo-Young, 2002).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Especificaciones biorreactor Airlift

El biorreactor se fabricó de acrílico cristal de alto impacto y constó de cuatro componentes, tapa, base, cuerpo y la columna de ascenso (Figura 3). Las dimensiones del biorreactor fueron escaladas en base a las necesidades del proyecto, las cuales fueron: la columna cilíndrica o base del biorreactor fue de 35,56cm (14") de altura y un diámetro (\varnothing) de 9,208 cm (3.625"), la parte superior constó de una estructura tipo campana con un diámetro inferior de 9.208 cm (3.625"), un diámetro superior 14.288 (5.625") y una altura de 5,08 cm (2"). En la parte superior contaba con una columna cilíndrica con una altura de 25.4 cm (10"), dando una altura total el biorreactor de 66,04 cm (26") y un volumen total de 7L. En la columna cilíndrica de menor diámetro, se dispuso de un tubo de subida (riser) o dispersor de aire con un diámetro de \varnothing 5.08 cm (2") y una altura de 22,86cm (9"). El aire se introduce por el fondo del biorreactor a través de un difusor de bronce de 1 cm (0.3937"). Se montó sobre una base y se realizaron las conexiones con la bomba peristáltica de velocidad variable MANOSTAT que permiten el bombeo continuo de fluidos mientras la corriente esté conectada. La bomba de 115 V está homologada por Underwriters Laboratories (UL) y estándares canadienses (cUL). La gama de velocidad de las bombas para todos los modelos es de 24 - 720 rpm. El TRH se calculó midiendo el volumen total del biorreactor entre el caudal del influente en un tiempo determinado de acuerdo a la ecuación que indica es que existe una relación entre el volumen del sistema, V_r , (m^3) y el caudal del influente, Q_i , (m^3/d), se realizaron los ajustes de calibración de la bomba peristáltica, hasta obtener el volumen deseado según los tiempos de retención a evaluados (24, 36 y 48 h). El flujo de aire fue proporcionado por un compresor mca. Evans con capacidad de 500L, contando con un rotámetro para regular el flujo.

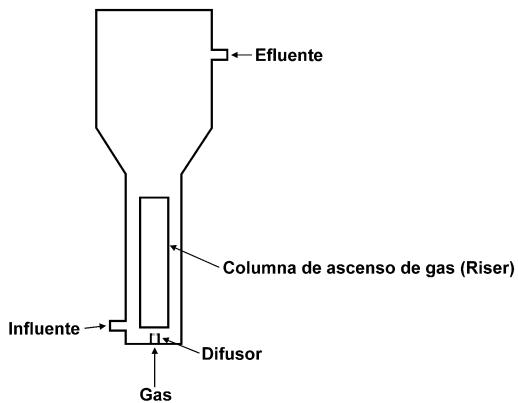


Fig. 3 Configuración del Biorreactor Airlift empleado durante este proyecto.

2.2. Microorganismo usado

Durante la etapa experimental del proyecto se empleó una cepa microalgal axénica de *C. vulgaris*, la cual fue proporcionada por el Laboratorio de Bioprocessos de la Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas.

2.3. Propagación de la biomasa

Se propagó la biomasa de *C. vulgaris* en Algae Media, la composición del medio de cultivo es descrita en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición del medio de cultivo

Componente	gL^{-1}
NaNO ₃	1
K ₂ HPO ₄	0.25
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.513
NH ₄ Cl	0.05
CaCl	0.058
FeCl	0.003

2.4. Muestreo

La muestra de agua residual fue recolectada del influente de la Planta Tratadora de aguas residuales (PTAR) del Gran Bosque Urbano, su función es el tratamiento de las aguas residuales generadas en la ciudad y su rehuso para saneamiento de los cauces superficiales que atraviesan los Municipios de Ramos Arizpe y Saltillo, además del riego de áreas verdes. Está ubicada en la lateral por periférico Luis Echeverría esquina con calle 2 de Abril (IDEAL, 2006) en la ciudad de Saltillo, Coahuila y tiene una capacidad de tratamiento 70 litros por segundo (L/s).

Se realizó un muestreo simple para la caracterización y tratamiento del agua residual, para cada uno de los TRH de 24, 36 y 48 h, cada uno se realizó por triplicado, las muestras fueron tomadas del influente de entrada a la PTAR Gran Bosque Urbano.

2.5. Caracterización de aguas residuales

Se analizaron los siguientes parámetros pH (NMX-AA-008-SCFI-2011) para ello se empleo un Potenciómetro mca. Thermo, nitrógeno (NMX-AA-026-SCFI-2010), fosforo (NMX-AA-029-SCFI-2001), DQO (NMX-AA-030-SCFI-2001), , todos se realizaron por triplicado de acuerdo a lo descrito por las Normas Mexicanas para tratamiento de aguas para la digestion de las muestras se utilizó un termoreactor para DQO (COD) y posteriormente se midió la densidad optima en un Espectrofotómetro HASH-DR 3900.

2.6. Análisis Estadístico

Se realizó un análisis estadístico en el software MINITAB EXPRESS Versión 1.4, en este se realizó un análisis de varianza por sus siglas en ingles ANOVA (Analysis of Variance), el cual es una herramienta utilizada para el control de procesos en laboratorios de análisis y control de métodos analíticos entre otros, se realizaron 3 análisis estadísticos para evaluar las principales variables estudiadas en el proyecto. Así como también se llevó a cabo una prueba de medias para observar los contrastes de comparaciones múltiples y saber si las medias difieren una de otra, para ello se usó la prueba de medias de Tukey que se utiliza en ANOVA para crear intervalos de confianza para todas las diferencias en parejas entre las medias.

3. RESULTADOS

Se realizó la caracterización de la muestra de agua residual en el tiempo cero y posteriormente después de cada tratamiento a las 24, 36 y 48 h. En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos en la caracterización de cada uno de los parametros analizados del agua residual, cada resultado se analizó por triplicado y se realizó la comparación con los límites máximos permisibles (LMP) establecidos en la legislación mexicana (NOM-001-SEMARNAT-1996).

Tabla 2 Caracterización del agua residual en el tiempo cero y despues de cada tratamiento evaluado.

Parámetros	0	24	36	48
Temperatura (°C)	28 .29± 0.44	28 .30± 0.40	28.23 ±0.95	28 .73± 0.76
pH	7.34± 0.07	8.22±0.05	8.43 ±0.23	8.46 ±0.24
DQO (mg/L)	378.54 ± 15.5	270.22 ±9.11	283.08 ±17.7	156.67 ±26.32
Nitrógeno (mg/L)	54.06 ± 1.79	31.98±6.62	44±9.91	45.15 ±2.15
Fosforo (mg/L)	112.57± 7.23	40.35 ±8.71	87.42±5.01	38.13 ±6.72

3.1. pH

Respecto a los resultados mostrados en la Tabla 2 se encontro que durante la etapa experimental el pH aumentó, ya que al determinar el pH en el agua cruda se obtuvieron valores entre 7 y 7.5 mientras que durante el tratamiento los valores de pH aumentaron hasta alcanzar valores que se encontraban entre 8 y 9.

3.2. Temperatura

La temperatura empleada para esta investigación fue a condiciones ambientales los valores se encuentran en la tabla 2, la temperatura se estuvo monitoreando durante las series experimentales obteniéndose valores entre rangos de 28 ± 2°C.

Tabla 3. Eficiencias de remoción (%) obtenidas en el biorreactor airlift a diferentes TRH, empleando *C. vulgaris*.

Parámetros	24	36	48
	(%)		
DQO	22.90±3.95	39.87±2.00	49.68±5.48
Nitrógeno	28.90±6.37	23.32±12.59	27.45±1.77
Fosforo	44.24±2.06	48.89±1.26	54.22±6.20

En la Tabla 3 se muestran las eficiencias de remoción que se alcanzaron durante el proyecto en la cual se puede apreciar que las eficiencias de remoción fueron en aumento en función del tiempo de tratamiento, esto indica que es necesario modificar el tiempo de retención hidráulica TRH y así encontrar el tiempo idóneo para que tratamiento alcance un mayor porcentaje de remoción, ya que se encontró que estadísticamente la variación en remoción no es significativa.

El límite máximo permisible de la temperatura es de 40°C, medida en forma instantánea a cada una de las muestras simples, las temperaturas observadas no rebasaron los 30° C por

lo tanto estas también se encuentran dentro del límite establecido en la NOM-001-SEMARNAT 1996.

El nitrógeno tiene un límite máximo permisible de 40mg/L, durante la etapa experimental se obtuvo únicamente un valor dentro de ese límite el cual fue de 31.98 mg/L en el tratamiento de 24h, el resto de los tratamientos estuvieron fuera de límite.

El fósforo se encontró muy por encima de los rangos establecidos en la NOM-001-SEMARNAT-1996, no se logró definir qué fue lo que provocó estos resultados se encontraran fuera de rango.

4. DISCUSIONES

El pH como se mencionó anteriormente, es uno de los factores más relevantes en cualesquier proceso de bioremediación o biodegradación. En el caso del presente trabajo se observó una disminución de pH durante los primeros días (3), posterior a este periodo el pH se estabilizó hasta obtener valores máximos de entre 8 y 9, sin embargo en un estudio realizado por Pérez (2009) se encontró que en los tratamientos con *C. vulgaris* ya sea sola o co-inmovilizada, se registra una disminución del pH a valores próximos a 4, al tercer día del cultivo, más allá del día 3 no se registraron cambios significativos de pH. Sin embargo Pizarro Huerta (2012), quien realizó dos etapas experimentales en condiciones *indoor* (interior, condiciones controladas) y *outdoor* (exterior; expuesto a condiciones medioambiental), encontró que los valores de pH en la etapa experimental *indoor* se mantuvieron estables registrando un valor promedio de 8.32 ± 0.06 mientras que en la etapa experimental *outdoor* el valor del pH tuvo un valor de 8.25 ± 0.24 el cual se incrementó hasta llegar a 9.81 ± 0.14 . El rango óptimo de pH para cada especie de microalga se puede ubicar en un rango entre 7 y 8. Un descenso de pH suele ser letal, en cambio suelen soportar mejor los incrementos del pH, hasta un cierto límite (Richmond, 2000), así lo describe Mora *et al.* (2005), quien concluyó que los mayores crecimientos experimentados por *C. vulgaris* se encontraban en un rango de pH 8.0 y 9.0.

El crecimiento de las microalgas depende también de la temperatura, por lo que se requiere conocer un valor óptimo para una tasa máxima de crecimiento. Los sistemas fotosintéticos siempre generan calor a causa de la ineficiencia de la fotosíntesis de convertir la energía lumínosa a energía química (Boshale, 2004). Las temperaturas registradas fueron de $28 \pm 2^\circ\text{C}$, la temperatura óptima para el cultivo de microalgas se encuentra generalmente entre los 20 y 24°C , no obstante estas pueden variar dependiendo del medio de cultivo, la especie y la cepa utilizada. Comúnmente los cultivos de microalgas toleran temperaturas de entre 16 y 27°C , en donde a temperaturas menores a 16°C disminuyen el crecimiento, mientras que una temperatura mayor a los 35°C resulta ser letal para un gran número de especies (Mehlitz, 2009).

La eficiencia de remoción de los distintos componentes presentes en el agua residual por *C. vulgaris* fueron de 49.68% para DQO, 27.45% de N y 54.22% de F en un tiempo final de 48 h, estos resultados difieren con los encontrados en la literatura ya que los tiempos manejados fueron relativamente cortos comparados con lo reportado por, Lau *et al.* (1996) en donde estudiaron la capacidad de la microalga *C. vulgaris* previamente inducida en aguas residuales por un período de 14 días antes del tratamiento, reportando una eficiencia

de remoción de nutrientes del 86% de N inorgánico y el 78% para P inorgánico con un tiempo de retención de 2días. Comparando con lo reportado por Shi *et al.* (2007), con cultivos inmovilizados de *C. vulgaris* y *Scenedesmus sp.* con un influente de alrededor de 20 mg/L de NH₄⁺ y 3.0 mg/L de PO₄⁻³, obtuvieron en 9 días eficiencias de remoción del 94 y 89%, mientras que en un estudio realizado por Hernández et al. (2003), el cultivo de *C. vulgaris* alcanzó en 20 días una remoción del 99.0 y 49.2% en polietileno y del 99.9 y 72.1% en lufa, respectivamente, esto podría ser debido al tipo de inmovilización que utilizaron (doble capa).

Pizarro (2012) reportó en condiciones *indoor* con *C. vulgaris*; que los niveles de nitratos registraron una reducción significativa del 57.47% para el día 8.

Cabe destacar que en el presente estudio se decidió tratar con TRH cortos, por que se busca optimizar los tiempos de retención para proyectos posteriores que se realizaran en el laboratorio de biotecnología, así como también se pretendía evaluar el porcentaje de remoción alcanzado con la cepa de *C. vulgaris*.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al CONACYT por su apoyo a travez de la beca a la I.Q. Jessica Lourdes Borja Aragón

REFERENCIAS

- Bhosale P. 2004. Environmental and cultural stimulants in the production of carotenoids from microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 63(4): 351-361.
- CONAGUA 2011. Comisión Nacional del Agua. Estadísticas del agua en México.<http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/SGP-1-11-EAM2011.pdf>
- Chisti-Y. & Moo-Young M. 1987. Airlift Reactors: Characteristics, Applications and Design Considerations, *Chemical Engineerin Communications*. 60(1-6):195-242.
- Chisti M.Y. 1989. Airlift bioreactors, First Edition Elsevier Applied Science.
- Chisti-Y. & Moo-Young M. 2002. Bioreactors, *Encyclopedia of Physical Science and Technology*, Third Edition Elsevier Science Ltd.
- Garza M.T., Almaguer V., Rivera J. & Loredo D.J. 2010. Bioingeniería aplicada a una columna empacada con *Chorella sp.* Inmovilizada para la remoción de metales pesados. *Ciencia UNAL*. 13(2): 174-177.
- Garzón-Jiménez C., Barragán-Huerta B.E. 2008. Inmovilización microbiana: Técnicas y usos en el tratamiento de residuos tóxicos. *Revista Sistemas Ambientales*. 2(1): 23-34.

Hernández-Sánchez J.P. 2003. Evaluación de un sistema de microalgas, y bacterias para la eliminación de nutrientes de las aguas residuales domésticas. Centro interdisciplinario de las ciencias marinas. Tesis de Maestría en Manejo de Recursos Marinos. Instituto Politécnico Nacional

LAN. Ley de Aguas Nacionales 2014. Art. 88 Bis, sección II.

Lau P.S.; Tam N.F. Y.; Wong Y.S. 1996. Wastewater nutrients removal by *Chlorella vulgaris*: Optimization through acclimation. Environmental Technology. 17(2): 183-189.

López-Gómez O., Morales-Noriega J., Ventura-Canseco L.M.C., Gutiérrez-Miceli F.A., Castañón-González J.H. 1997. Caracterización hidrodinámica de un biorreactor multifuncional, Revista Multidisciplinaria de ciencia y tecnología de la UNACH. 1(2): 19-28.

López-Ayala F.A., Rojas-Prada R.C. 2010. Diseño y montaje de un fotobiorreactor a escala laboratorio para la producción de microalgas. Tesis para obtener Titulo de Ingeniero Químico, Universidad Industrial de Santander, Buramanga.

Madigan M.T., Martinko J.M., Parcker J. 2004. Brock, Biología de los microorganismos 10ma Edición. Pearson Education. Madrid. pp 137.

Mehlitz T.H. 2009. Temperature Influence and Heat Management Requirements of Microalgae Cultivation in Photobioreactors, Tesis de Maestría, Faculty of California Polytechnic State University. pp 143.

Merchuk J. C. & Gluz M. 2010. Biorreactors, airlift reactors, Research Gate, 320-322.

Mora F. ; Novoa L. ; González C. ; Figueroa R. 2005. Acceptability of gramineous and leguminous for grazing swine. Revista Unellez de Ciencia y Tecnología, Producción Agrícola. (23): 1-7.

Pérez-García R.O. 2009. Eliminación de nutrientes para el tratamiento biológico de agua residual usando un sistema inmovilizado microalga-bacteria en crecimiento, autotrófico, heterotrófico y mixotrófico. Tesis de Maestría en Ciencias con orientación en Biotecnología, Centro de Investigaciones biológicas del norte, S.C. pp 1-30.

Pizarro-Huerta R. 2012. Crecimiento y capacidad de biorremediación de *Chlorella vulgaris* cultivada en aguas residuales generadas en la producción de *Seriola lalandi* (Valenciennes, 1833), Tesis de Ingeniero en acuicultura, Universidad de Antofagasta Facultad de Recursos del Mar Departamento de Acuicultura, pp 1-32.

Proyecto COAH-2010-C14-149646, Plan integral de reúso de las aguas residuales municipales tratadas (ARMT) de Saltillo, Ramos Arizpe y Arteaga. Anexo B. pp 7.

Richmond A 2000. Microalgal biotechnology at the turn of the millennium: a personal view. *J. Appl. Phycol.* (12): 441-451.

Ruiz-Martínez A. 2011. Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente. Tesis Maestría en Ingeniería Hidráulica y Medio Ambiente Universidad Politécnica de Valencia. pp 23-92.

Salazar-González M. 2005. Aplicación e importancia de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales. Laboratorio de Microbiología Ambiental y Tratamiento de Aguas Residuales. Depto. de Biotecnología UAM-I. pp 64-70.

Santos A.M., González-Arechavala Y., & Martin-Sastre C. 2014. Uso y Aplicaciones Potenciales de las Microalgas. Instituto de Investigación Tecnológica de la ETSI ICAI de la Universidad Pontificia Comillas de Madrid. pp 20-28.

Scragg A. 1997. Biotecnología para ingenieros, sistemas biológicos en procesos tecnológicos, LIMUSA, México.

Scriban R. 1985. Biotecnología. El Manual Moderno. México.

SEMARNAT 1996. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (1996).Norma Oficial Mexicana: NOM-001-SEMARNAT-1996. Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.

SEMARNAT 2011. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2011). Norma Mexicana: NMX-AA-008-SCFI-2011 Análisis de agua – Determinación del pH-método de prueba (Cancela a la NMX-AA-008-SCFI-2000) Secretaría de Economía. México.

SEMARNAT 2010. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2010). Norma Mexicana: NMX-AA-026-SCFI-2010 análisis de agua - medición de nitrógeno total kjeldahl en aguas naturales, residuales y Residuales tratadas - método de prueba - (CANCELADA LA NMX-AA-026-SCFI-2001).

SEMARNAT 2001. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2001). Norma Mexicana: NMX-AA-029-SCFI-2001 Análisis de aguas - determinación de fósforo total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba (cancela a la nmx-aa-029-1981).

SEMARNAT 2001. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2001). Norma Mexicana NMX-AA-030-SCFI-2001 Análisis de agua – Determinación de la

Demanda Química de Oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas – Método de prueba (Cancela a la NMX-AA-030-1981) Secretaría de Economía.

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.

Verlaan, P., Vos, J. C., & Riet, K. 1988. From bubble column to airlift-loop reactor: Hydrodynamics and axial dispersion of the transition flow regiem. In: Proceeding of the International Conference of Bioreactor Fluid Dynamics, R. King (ed.), Cambridge, UK. 259-275.