

Agua de laguna eutrofizada: una alternativa de medio de cultivo para la producción de microalgas

Eutrophicated lagoon water: an alternative growing medium for microalgae production

Sheila Genoveva Pérez Bravo^{1*}, Ana Anzures Mendoza¹, Mónica Fabiola Briones Baez¹,
María del Refugio Castañeda Chávez², Luciano Aguilera Vázquez¹,

¹ Instituto Tecnológico de Ciudad Madero, División de Estudios de Posgrado e Investigación, Av. 1 ° de Mayo esq. Sor Juana Inés de la Cruz s/n, Col. Los Mangos, Cd. Madero, 89440, Tamaulipas, México.

² Instituto Tecnológico de Boca del Rio, Departamento de Posgrado e Investigación, Carretera Veracruz-Córdoba, km 12, Boca del Rio, 94290, Veracruz, México.
sheila.pb@cdmadero.tecnm.mx

Resumen

Las microalgas almacenan metabolitos de interés como las proteínas, pigmentos, carbohidratos y lípidos, para lograr su explotación industrial es necesario reducir los costos de producción de biomasa. El costo de los medios de cultivo artificiales y su esterilización es una gran desventaja. Debido a que las aguas eutrofizadas de cuerpos de agua naturales no han sido empleadas en el cultivo de microalgas. Esta investigación tiene el objetivo de evaluar tres métodos de desinfección de agua de laguna eutrofizada como alternativa de bajo costo para cultivar microalgas. El método de tratamiento térmico en autoclave a 120 °C, 15 psi durante 5 min demostró ser eficaz en la eliminación de microorganismos, lo cual se comprobó mediante sembrado en estrías en placas de agar Czapek y Dextrosa Sabouraud. Por lo tanto, el agua de laguna eutrofizada tratada con el método propuesto puede sustituir a los medios de cultivo artificiales que se esterilizan antes de la inoculación.

Palabras Claves: medio de cultivo, microalgas, agua eutrofizada, biorremediación

Abstract

Microalgae store metabolites of interest such as proteins, pigments, carbohydrates and lipids. In order to achieve their industrial exploitation, it is necessary to reduce biomass production costs. The cost of artificial culture media and their sterilization is a major disadvantage. Because the eutrophicated waters of natural water bodies have not been used for microalgae cultivation. This research aims to evaluate three methods of disinfection of eutrophicated lagoon water as a low-cost alternative to cultivate microalgae. The autoclave heat treatment method at 120 °C, 15 psi for 5 min proved to be effective in eliminating microorganisms, which was verified by culture media on Czapek and Dextrose Sabouraud agar plates. Therefore, eutrophicated lagoon water treated with the proposed method can replace artificial culture media that are sterilized prior to inoculation.

Key Words: culture medium, microalgae, eutrophicated water, bioremediation

Introducción

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos que se desarrollan a partir de materia orgánica, y requieren algunos elementos inorgánicos: el carbono, hidrógeno y oxígeno pueden provenir del agua y del aire, los demás elementos del medio de cultivo (Enamala *et al.*, 2018). Los elementos inorgánicos como el nitrógeno, fósforo, hierro, potasio y silicio deben ser proporcionados por el medio de cultivo (Alam, Mobin and Chowdhury, 2015). Entre los metabolitos sintetizados por las microalgas se encuentran los aminoácidos, ácidos grasos, carotenoides, y sacáridos (Marinho *et al.*, 2022). Útiles en la industria alimenticia y producción de biocombustibles, sin embargo, el 75% del costo de producción de la biomasa microalgal se atribuye al medio de cultivo (Medina Villadiego, Mauricio; Ospino Roa, Yesid; Tejeda Benitez, 2015), motivo por el cual es necesario la investigación de medios de cultivo alternativos de bajo costo.

Los factores que influyen en el crecimiento microalgal son la disponibilidad de nutrientes, relación C:N, penetración de luz, fuente de carbono, pH, salinidad y temperatura (Shah *et al.*, 2016). En las Tablas 1 y 2 se resumen los medios de cultivo artificiales que se han utilizado para el crecimiento de microalgas bajo metabolismos fototrófico y mixotrófico respectivamente.

En las Tablas 1 y 2, se observa la preferencia por los medios de cultivo BG-11, BBM y su modificación en la concentración de nitrato BBM-3N, entre otros medios de cultivo artificiales como el TAP, Bristol, enfocados en el crecimiento celular, productividad de biomasa y lípidos. En la Tabla 2 se observa la suplementación de los medios de cultivo artificiales con residuos orgánicos de la industria alimenticia, compuestos nitrogenados y urea, como nutrientes alternativos.

Tabla 1. Medios de cultivo sintéticos empleados en el cultivo de microalgas bajo metabolismo fototrófico

Medio de cultivo	Microalga	Condiciones de cultivo	Productos	Referencia
BG-11	<i>Chlorella vulgaris</i>	150 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 16:8 L:O, 20 $\pm$ 2 °C	Clorofila a 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$	(Chia, Lombardi and Melão, 2013)
BG-11	<i>Scenedesmus</i> sp.	400 - 1200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 16:8 L:O	29% lípidos	(Guldhe <i>et al.</i> , 2014)
BG-11	<i>Scenedesmus</i> sp.	28 $\pm$ 5 °C, 12:12 L:O, 3000 lux	279.1 $\pm$ 49.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ proteínas 173.3 $\pm$ 13.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ carbohidratos 116.2 $\pm$ 7.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ lípidos	(Anand <i>et al.</i> , 2020)
BG-11	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	42 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 16:8 L:O, 25 $\pm$ 2 °C	26 $\pm$ 1.3 mg/L/d lípidos	(Sharma and Chauhan, 2016)
BG-11	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	14:10 L:O, 1500 lux	3.12 g/L biomasa 1.04 g/L lípidos	(Zhang, Wu and Zhong, 2021)
BG11	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 12:12 L:O, 25 °C	23.25 $\pm$ 0.02 mg/L/d biomasa, 5.48 $\pm$ 0.02 mg/L/d lípidos, 17 $\pm$ 0.1 % lípidos	(Ogbonna <i>et al.</i> , 2024)
BG-11	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	42 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 16:8 L:O, 25 $\pm$ 2 °C	14 $\pm$ 0.7 mg/L/d lípidos	(Sharma and Chauhan, 2016)
BG-11	<i>Scenedesmus</i> sp.	132 - 148 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 24 $\pm$ 1 °C	27.4 $\times$ 10 ⁶ cel/mL, 49.11 $\mu\text{g}/\text{mL}$ clorofila a, 24.93 $\mu\text{g}/\text{mL}$ caroteno	(Durvasula <i>et al.</i> , 2015)
TAP	<i>Scenedesmus</i> sp.	132 - 148 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, 24 $\pm$ 1 °C	0.96 $\times$ 10 ⁶ cel/mL, 2.61 $\mu\text{g}/\text{mL}$ clorofila a, 1.30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ caroteno	(Durvasula <i>et al.</i> , 2015)
BBM	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	120 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 16:8 L:O	96.44 mg/L/d biomasa, 29.62 % proteína	(Manzoor <i>et al.</i> , 2019)
LC Oligo	<i>Chlorella vulgaris</i>	150 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 16:8 L:O, 20 $\pm$ 2 °C	2.74 $\times$ 10 ⁶ cel/ mL Clorofila a 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$	(Chia, Lombardi and Melão, 2013)
Konvey	<i>Chlorella vulgaris</i>	2000 lux, 12:12 L:O,	0.298 g biomasa 31% lípidos	(Xaaldi Kalhor <i>et al.</i> , 2016)

Artículos

		25 °C		
Borowitzka	<i>Dunaliella salina</i>	47 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$, 26-35 °C, 12 días	6.90 x 10 ⁶ cel/mL 1.19 g/mL biomasa	(Mayorga and Manso, 2017)
CHU	<i>Scenedesmus</i> sp.	80 $\mu\text{mol/m}^2$ 12:12 L:O, 25 $\pm$ 2 °C	34.6 mg/ L/d biomasa	(De Souza <i>et al.</i> , 2021)

Tabla 2. Medios de cultivo artificiales suplementados empleados en el cultivo de microalgas bajo metabolismo mixotrófico.

Medio de cultivo	Microalga	Condiciones de cultivo	Productos	Referencia
BG-11 + Hidrolizado de orujo de manzana 2% P/V + CO ₂	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	12:12 L:O	140.37 mg/L/día biomasa	(Laraib <i>et al.</i> , 2021)
BG-11 + CO ₂	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	12:12 L:O	96.55 mg/L/día biomasa	(Laraib <i>et al.</i> , 2021)
BG-11 + Urea	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	2500 – 3000 lux, 16:8 L:O, 25 °C	1.523 mg/L/día 34 % lípidos	(Chandra, Goswami and Biotech, 2011)
BG-11 + Urea	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	2500 – 3000 lux, 16:8 L:O, 25 °C	1.266 mg/L/día 31 % lípidos	(Chandra, Goswami and Biotech, 2011)
BG-11 + NaNO ₃ (9mM)	<i>Tetrademus bernardii</i>	300 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$, CO ₂ (1 %)	5.83 g/L biomasa	(Gao <i>et al.</i> , 2019)
BG-11 + NaNO ₃ (18 mM) + glucosa (30 g/L)	<i>Tetrademus bernardii</i>	300 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$, CO ₂ (1 %)	10.82 g/L biomasa 54.74 % lípidos	(Gao <i>et al.</i> , 2019)
BG11 + glucosa (0.2 %)	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	40 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$, 12:12 L:O, 25 °C	83.88 $\pm$ 0.05 mg/L/d biomasa, 17.11 $\pm$ 0.04 mg/L/d lípidos, 20.40 $\pm$ 0.04 % lípidos	(Ogbonna <i>et al.</i> , 2024)
BBM + Hidrolizado de bagazo de caña 5 g/L + aire 11 L/min	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	120 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$, 16:8 L:O	119.25 mg/L/día biomasa, 34.09% proteína	(Manzoor <i>et al.</i> , 2019)
BBM + Hidrolizado de bagazo de caña 10 g/L + aire 11 L/min	<i>Scenedesmus dimorphus</i>		105.92 mg/L/día biomasa, 34.82% proteína	
3N-BBM + CO ₂	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	CO ₂ 5% 0.1 L/min, 12:12 L:O, 12 días	-	(Avula, Belovich and Xu, 2017)
BBM + CO ₂ (fermentación alcohólica)	<i>Scenedesmus</i> sp.	12:12 L:O, 2500 lux, pH 7.5	73.20x10 ⁶ cel. /mL	(Hernández-Rojo, Jiménez-Islas and Venegas-Sánchez, 2017)
BBM + aire	<i>Scenedesmus</i> sp.		48.6 x10 ⁶ cel. /mL	
BBM + CO ₂ (fermentación alcohólica)	<i>Chlorella protothecoides</i>	12:12 L:O, 2500 lux, pH 7.5	90.0x10 ⁶ cel. /mL	(Hernández-Rojo, Jiménez-Islas and Venegas-Sánchez, 2017) (Hernández-Rojo, Jiménez-Islas and Venegas-Sánchez, 2017)
BBM + aire	<i>Chlorella protothecoides</i>		25.83x10 ⁶ cel. /mL	
Bristol	<i>Chlorella vulgaris</i>	8.59 $\mu\text{E/m}^2/\text{s}$, 22 $\pm$ 2.3 °C, aire 0.45 L/min	4122 $\pm$ 112 x10 ⁴ cel./ mL	(Silveira-Font <i>et al.</i> , 2018)
Conway + agua de mar	<i>Chlorella</i> sp.	350 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$, 12:12 L:O, 21 $\pm$ 1 °C	6.43x10 ⁶ cell/mL	(Paes <i>et al.</i> , 2016)
Conway + agua de mar	<i>Nannochloropsis oculata</i>	350 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$, 12:12 L:O, 21 $\pm$ 1 °C	6.96x10 ⁷ cell/mL	(Paes <i>et al.</i> , 2016)

El uso de aguas residuales que contienen nitrógeno y fósforo, dos de los nutrientes esenciales para el crecimiento microalgal en

el cultivo de microalgas tiene la ventaja de la purificación del agua, reduciendo así la contaminación ambiental (Zhou *et al.*, 2017).

También se ha reportado que reducen el contenido de nitratos, fosfatos y amonio de las aguas residuales, además de descomponer moléculas de hidrocarburos, antibióticos y compuestos clorados (Mondal *et al.*, 2019), incluso han sido utilizadas para la remediación de aguas residuales de la industria textil (Fazal *et al.*, 2018). Sin embargo, no se ha explorado el uso de aguas naturales eutrofizadas como medios de cultivo en la producción de biomasa.

Los medios de cultivo artificiales son elaborados en laboratorio y se esterilizan previamente a la inoculación, lo que conlleva un gran consumo energético en la producción de biomasa. Esta investigación tiene el propósito de determinar el método óptimo de desinfección de agua de laguna eutrofizada para poder ser utilizada como medio de cultivo de microalgas.

Materiales y Métodos

Muestras de agua

La laguna El Conejo se ubica en las coordenadas, latitud: 22.41881 y longitud: -97.87649, en el municipio de Altamira, Tamaulipas, México, ha sido clasificada como contaminada (Secretaría de Gobierno, 2016). Presenta las especies acuáticas *Eichhornia crassipes* y *Pistia stratiotes*, conocidas como lirio y lechuga de agua respectivamente, ambas plantas acuáticas son indicadores de un alto contenido de nitratos (Amado Álvarez, Jesús Pilar; Pérez Cutillas, edro; Ramírez Valle, Orlando; Alarcón Cabañero, 2016). El agua se recolecta en recipientes de polipropileno de 19 L y se mantuvo a temperatura ambiente.

Métodos de desinfección

Se evalúan tres diferentes tratamientos. Método 1: tratamiento térmico en autoclave a 5 psi y 107 °C durante 5 min seguido de enfriamiento a temperatura ambiente. Método 2: desinfección por exposición a luz ultravioleta de 9 W durante 20 min. Método 3: tratamiento térmico en autoclave a 15 psi y 120 °C durante 5 min. Cada tratamiento se realizó por triplicado.

Prueba de desinfección

Debido a que en ambientes acuáticos naturales existe la presencia de bacterias y/o hongos saprófitos, que se encargan de la degradación de material orgánico (Laezza, Salbitani and Carfagna, 2022). Se verificó la ausencia de bacterias y/o hongos saprófitos contenidas en el agua de laguna mediante sembrado en estrías en placas Petri con Agar Czapek y Agar Dextrosa Sabraud (BD Bioxon) en incubadora FE-145 marca Felisa durante 5 días. Uno de los principales problemas en los cultivos de microalgas es la contaminación biológica (Di Caprio, 2020). La cual puede ser ocasionada por hongos y bacterias, provocando competencia por los nutrientes, disminución de la productividad de biomasa, daños repentinos y la muerte celular (Wang *et al.*, 2013).

Prueba de crecimiento microalgal

La cepa *Tetrademus dimorphus*, proporcionada por el laboratorio de ficología de la Universidad Autónoma Metropolitana de Iztapalapa, se sembró en agua de laguna eutrofizada sometida al tratamiento número 3, por duplicado. Se utilizó 20% de inóculo, 80% de medio de cultivo, fotoperiodo natural 13.5:10.5 luz: oscuridad, condiciones naturales de radiación y temperatura, volumen de trabajo 375 mL, durante 10 días. El crecimiento de biomasa se determinó con una curva de calibración que relaciona la absorbancia a 685 nm con la concentración en peso seco (mg/mL), $R^2 = 0.9768$ y la Ecuación 1. Las microalgas contienen clorofila en sus cloroplastos, las clorofilas A y B se leen en el rango de 652 a 750 nm (Fernández-Linares *et al.*, 2017), la clorofila A tiene una banda centrada alrededor de 685 nm in vivo (Lehmuskero, Skogen Chauton and Boström, 2018).

$$y = 3.3239x - 0.0685 \quad \text{Ecuación (1)}$$

Al finalizar el cultivo, se realizó la microfiltración al vacío y secado de la biomasa en horno a 60 °C durante 24 h.

Resultados

En la Figura 1 y 2, se observan unidades formadoras de colonias (UFC), es decir, crecimiento de bacterias y/o hongos saprófitos contenidas en el agua de laguna, que no se identificaron en las placas sembradas con aguas tratadas correspondiente a los métodos de tratamiento 1 y 2. En consecuencia se considera que estos métodos no son eficaces en la eliminación de bacterias y/o hongos saprófitos, por lo tanto, el método 3; el

tratamiento en autoclave a 15 psi, 120 °C, durante 5 min es el apropiado para la desinfección del agua de laguna eutrofizada, en la Figura 3 se muestra la ausencia de UFC en ambas placas Petri. El método 3 es una mejor alternativa a la esterilización de medios a 121 °C durante 1 h que ha sido utilizado para tratar agua de mar antes de adicionarla con medio artificial Conway para cultivar *Chlorella sp* y *Nannochloropsis oculata* (Paes et al., 2016)

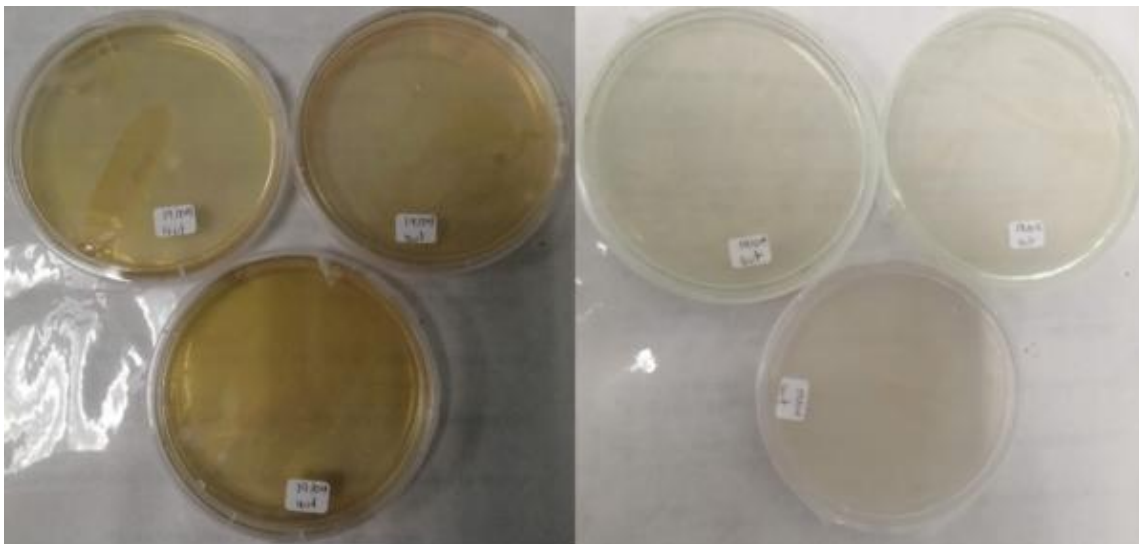


Figura 1. Placas de Agar Dextrosa Sabouraud y Czapek inoculadas con agua de laguna eutrofizada previamente tratada con el método 1.

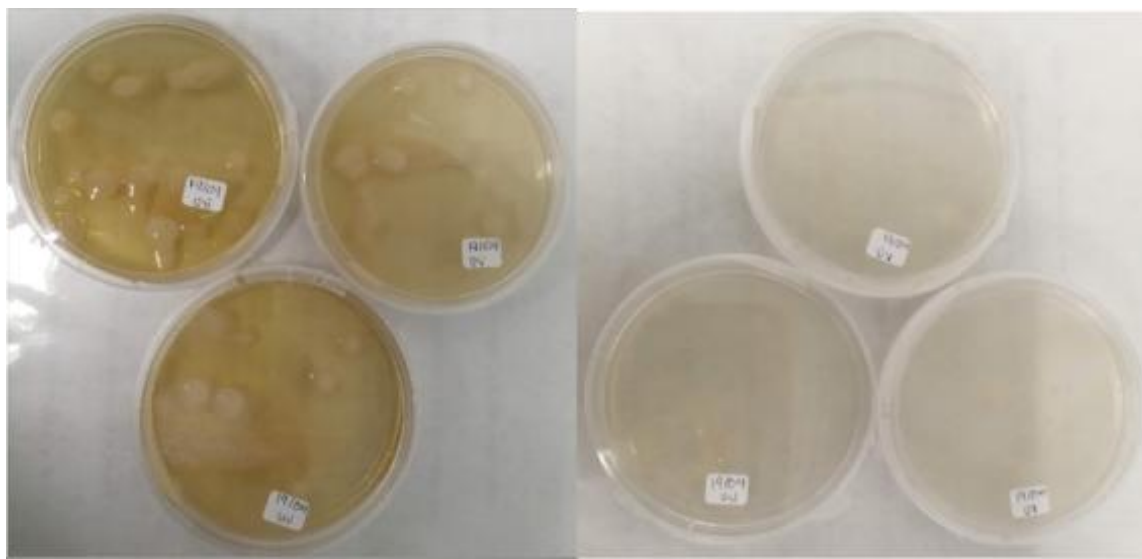


Figura 2. Placas de Agar Dextrosa Sabouraud y Czapek inoculadas con agua de laguna eutrofizada previamente tratada con el método 2.

Artículos

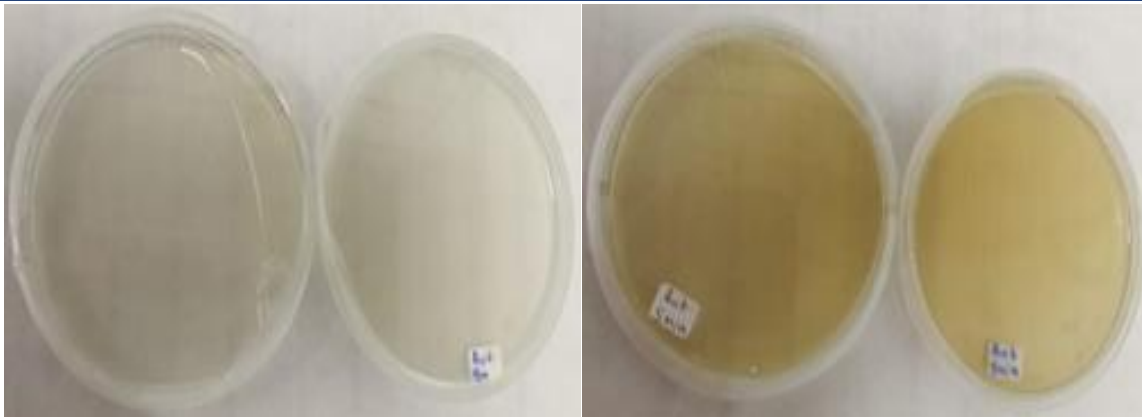


Figura 3. Placas de Agar Dextrosa Sabouraud y Czapek inoculadas con agua de laguna eutrofizada previamente tratada con el método 3.

En las pruebas de crecimiento microalgal, se comprobó que es posible el crecimiento de *Tetrademus dimorphus* utilizando como medio de cultivo el agua de la laguna El Conejo previamente desinfectada con el método 3. Los experimentos se observan en la Figura 4. Por otro lado, las concentraciones obtenidas de biomasa con la Ecuación 1,

fueron 0.168 y 0.189 mg/mL en los experimentos 1 y 2 respectivamente. La Figura 5 muestra la biomasa húmeda obtenida por filtración al vacío en papel filtro de 1.5 μm de 10 cm de diámetro, marca Ahlstrom Muncksjö, mientras que en la Figura 6 se aprecia la biomasa deshidratada.



Figura 4. Cultivo de *Tetrademus dimorphus* en agua de laguna El Conejo desinfectada con el método 3.



Figura 5. Biomasa húmeda de *Tetrademus dimorphus* cultivada en agua de laguna El Conejo desinfectada con el método 3.

Artículos

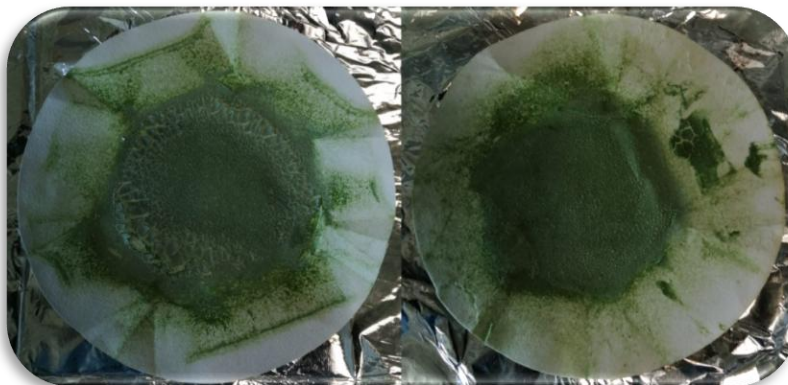


Figura 6. Biomasa deshidratada de *Tetrademus dimorphus* cultivada en agua de laguna El Conejo desinfectada con el método 3

En la Tabla 3 se observan los medios de cultivo alternativos que han sido utilizados para el cultivo de microalgas, principalmente aguas residuales domésticas e industriales. El uso de aguas residuales minimiza la necesidad de agua dulce y nutrientes, reduciendo el costo de producción, el crecimiento de microalgas está relacionado con la eficiencia de remoción de nutrientes. Se

observa que los tratamientos aplicados a aguas residuales utilizadas como medios de cultivo son nulos o sencillos para el cultivo de microalgas ya que el objetivo principal es aprovechar los nutrientes presentes en dicha agua, sin embargo, sin un proceso de desinfección puede haber competencia entre microorganismos presentes en las aguas residuales.

Tabla 3. Medios de cultivo no artificiales empleados en el cultivo de microalgas bajo metabolismo mixotrófico.

Medio de cultivo	Microalga	Condiciones de cultivo	Productos	Remoción	Referencia
Agua residual de lechería	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	10 W/m ² , 12:12 L:O, 25 °C	6.8 g/L biomasa	80-85% P, 60-80% N	(Kothari <i>et al.</i> , 2012)
Agua residual cruda de PTAR	<i>Chlorella vulgaris</i>	37 klx, 12:12 L:O, 25 ± 5 °C	69.8 mg/L/d	66 % Nitratos, 65.2 % DQO	(Sacristán-de Alva <i>et al.</i> , 2014)
Agua contaminada con petróleo crudo (10g/L)	<i>Chlorella vulgaris</i>	2000 lux, 12:12 L:O, 25 °C	0.335 g biomasa 37.33 % lípidos	-	(Xaaldi Kalhor <i>et al.</i> , 2016)
Agua contaminada con petróleo crudo (20g/L)	<i>Chlorella vulgaris</i>	2000 lux, 12:12 L:O, 25 °C	0.413 g biomasa 37.16 % lípidos	-	(Xaaldi Kalhor <i>et al.</i> , 2016)
Agua residual de reactor biológico	<i>Chlorella vulgaris</i>	180 µmol/m ² /s, 12:12 L:O, 24 ± 1 °C	1.167 g/L biomasa, 300 mg/L lípidos, 325 mg/L proteínas, 7.49 mg/L pigmentos	100% NH ₄ , 100% DQO	(Fernández-Linares <i>et al.</i> , 2017)
Agua residual de reactor biológico + Bayfolan (1 mL/L)	<i>Chlorella vulgaris</i>	180 µmol/m ² /s, 12:12 L:O, 24 ± 1 °C	2.250 g/L biomasa, 258 mg/L lípidos, 1070 mg/L proteínas, 61.20 mg/L pigmentos	99.92% NH ₄ , 49.9% NH ₃ , 8.05% PO ₄ -3 P, 100% DQO	(Fernández-Linares <i>et al.</i> , 2017)
Agua residual municipal C:N=4	<i>Chlorella vulgaris</i>	70 µmol/m ² /s 28±1 °C, aeration, 200 mL/min	1.080 ± 0.026 g/L biomasa		(Ayatollahi, Esmailzadeh and Mowla, 2020)

Agua residual cruda de PTAR	<i>Scenedesmus acutus</i>	37 klx, 12:12 L:O, 25 ± 5 °C	61.5 mg/L/d	70.8 % Nitratos, 77.2 % DQO	(Sacristán-de Alva <i>et al.</i> , 2014)
Agua residual domestica + CO ₂ (2.5 %)	<i>Scenedesmus</i> sp.	60 µmol/m ² /s, 14:10 L:O, 25 ± 2 °C	196 ± 5.1 mg/L/d biomasa	98.3% NH ₄ , 70.2% NO ₃ ⁻ , 78.9% PO ₄ ³⁻ , 95.9% DQO	(Nayak, Karemore and Sen, 2016)
Agua residual municipal	<i>Scenedesmus dimorphus</i> y <i>Scenedesmus minutum</i>	150 µmol/m ² , 16:8 L:O, 22 ± 2 °C	Biomasa con 35% lípidos	79% N-NH ₃ , 93.7% PT	(Kudahettige, Pickova and Gentili, 2018)
Agua residual con ácido láctico + 0.8 g/L NaNO ₃ + 4 mg/L H ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	14:10 L:O, 1500 lux	4.51 g/L biomasa 1.15 g/L lípidos	-	(Zhang, Wu and Zhong, 2021)
Agua residual con ácido láctico	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	14:10 L:O, 1500 lux	2.5 g/L biomasa 1 g/L lípidos	-	(Zhang, Wu and Zhong, 2021)
Agua residual de ác. láctico + 0.8 g/L NaNO ₃ + 10 mg/L H ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	14:10 L:O, 1500 lux	4.30 g/L biomasa	-	(Zhang, Wu and Zhong, 2021)
Lixiviado de vertedero sanitario (80 %)	<i>Scenedesmus</i> sp.	80 µmol/m ² 12:12 L:O, 25 ± 2 °C	421.9 mg/ L/d	87.4 % PO ₄ ³⁻ , 24 % NO ₃ ⁻ , 65.4 % NO ₂ ⁻	(De Souza <i>et al.</i> , 2021)

Entre los pretratamientos de aguas residuales previo a la inoculación, se reporta la filtración con un filtro Whatman No.1 para eliminar sólidos grandes seguido de esterilización en autoclave a 121 °C durante 15 min como medio de cultivo (Nayak, Karemore and Sen, 2016). También la doble filtración con papel de celulosa a una velocidad de 1.3 L/cm²/min sólo para la eliminación de partículas grandes (Kudahettige, Pickova and Gentili, 2018), en otra investigación dónde utilizan aguas residuales de una granja de cerdo, rica en estiércol, se realiza la filtración y dilución con agua potable (Xu, Shen and Chen, 2015). Sacristán *et al.* (Sacristán-de Alva *et al.*, 2014) sólo realizaron el cribado y sedimentación del agua residual de una planta de tratamiento de aguas residuales, mientras que Fernández *et al.* (Fernández-Linares *et al.*, 2017) aclaran que el agua residual proveniente del reactor biológico se utilizó sin esterilizar, Paladino *et al.* (Paladino and Neviani, 2021) utilizaron agua residual del lavado de biodiésel, rica en glicerol sin tratamiento previo al cultivo.

Las microalgas tienen gran potencial en el tratamiento de aguas con producción de biomasa y eliminación de nutrientes, las tasas de eliminación varían mucho entre especies y los regímenes de luz (Fan *et al.*, 2020). Los cultivos mixotróficos presentan mayor producción de biomasa, además de un aumento en el contenido de lípidos y

pigmentos en las células (Uma Devi, Swapna and Suneetha, 2014).

En otra investigación se comprobó la efectividad del agua de laguna El Conejo como medio de cultivo, se obtuvo una productividad de biomasa de 0.016 ± 0.002 g/Ld, remoción de 23.6 ± 3.90 % nitratos y 7.2 ± 0.51 % DQO cuando se cultivó *Tetradasmus dimorphus* en un fotobiorreactor de placa plana con sedimentador de 12 L durante 15 días en condiciones naturales de radiación y temperatura (Pérez Bravo, Sheila Genoveva; Castañeda Chávez, María del Refugio; Aguilera Vázquez, 2024). Por otro lado, también se utilizó como medio de cultivo cuando se cultivó la misma cepa bajo un fotoperiodo de 10.5:13.5 L:O, con iluminación LED 18W, a 25 °C en un fotobiorreactor de 1.25 L durante 33 días, donde se obtuvo una productividad de 0.053 ± 0.0015 g/Ld y una remoción de 95.6 ± 1.36 % DQO (Pérez Bravo *et al.*, 2023). Cabe destacar que la productividad de biomasa está influenciada por las condiciones de cultivo.

Conclusiones

El agua de laguna eutrofizada es una alternativa a los medios de cultivo artificiales y convencionales utilizados en el cultivo de microalgas, pretratarla en autoclave a 120 °C y 15 psi durante 5 min es un método óptimo para desinfectarla y prevenir la competencia

entre microorganismos, este proceso de desinfección requiere menor energía y tiempo que la esterilización de medios de cultivo artificiales, además de tener un costo nulo.

Agradecimientos

Agradecemos al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías CONAHCYT por las becas nacionales 729401, 692130 y 749907 otorgadas al primer autor, primer y segundo coautor respectivamente para realizar estudios de Doctorado. en Ciencias de la Ingeniería en el Tecnológico Nacional de México campus Instituto Tecnológico de Ciudad Madero.

Referencias

Alam, F., Mobin, S., & Chowdhury, H. (2015). 'Third generation biofuel from Algae', *Procedia Engineering*, 105, pp. 763–768. doi: 10.1016/j.proeng.2015.05.068.

Amado Álvarez, Jesús Pilar, Pérez Cutillas, Pedro, Ramírez Valle, Orlando, & Alarcón Cabañero, J. J. (2016). 'Análisis de la calidad del agua en las lagunas de Bustillos Y de los Mexicanos (Chihuahua, México). Water quality analysis in the Bustillos and Los Mexicanos Lagoons (Chihuahua, México)', *Papeles de Geografía*, (62), pp. 107–118. doi: 10.6018/geografia/2016/255811.

Anand, V. *et al.* (2020) 'Spectroscopic insights exploring triacylglyceride accumulation in *Scenedesmus sp.* via biomolecular transitions', *Bioresource Technology Reports*, 12(October), p. 100593. doi: 10.1016/j.biteb.2020.100593.

Avula, S. G. C., Belovich, J. M., & Xu, Y. (2017). 'Determination of fatty acid methyl esters derived from algae *Scenedesmus dimorphus* biomass by GC–MS with one-step esterification of free fatty acids and transesterification of glycerolipids', *Journal of Separation Science*, 40(10), pp. 2214–2227. doi: 10.1002/jssc.201601336.

Ayatollahi, S. Z., Esmaeilzadeh, F., & Mowla, D. (2020). 'Integrated CO₂ capture, nutrients removal and biodiesel production using *Chlorella vulgaris*', *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(2), p. 104763. doi: 10.1016/j.jece.2020.104763.

Chandra, R., & Goswami, D. (2011). '*Scenedesmus dimorphus* and *Scenedesmus quadricauda* two potent indigenous microalgae strains for biomass production and CO₂ mitigation', *J. Algal Biomass Utiln.*, 2(4), pp. 42–49. Available at: <https://pdfs.semanticscholar.org/9874/6c87fce372e744d9ba4071fb23867f6abd7d.pdf>.

Chia, M., Lombardi, A. T., & Melão, M. D. G. (2013). 'Growth and biochemical composition of *Chlorella vulgaris* in different growth media.', *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 85(4), pp. 1427–38. doi: 10.1590/0001-3765201393312.

Di Caprio, F. (2020). Methods to quantify biological contaminants in microalgae cultures. *Algal Research*, 49(March), 101943. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101943>.

Durvasula, R. *et al.* (2015). 'Culture, growth, pigments and lipid content of *Scenedesmus* species, an extremophile microalga from Soda Dam, New Mexico in wastewater', *Algal Research*, 10, pp. 128–133. doi: 10.1016/j.algal.2015.04.003.

Enamala, M. K. *et al.* (2018). 'Production of biofuels from microalgae - A review on cultivation, harvesting, lipid extraction, and numerous applications of microalgae', *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 94(May 2017), pp. 49–68. doi: 10.1016/j.rser.2018.05.012.

Fan, H. *et al.* (2020). 'A comparative study on growth characters and nutrients removal from wastewater by two microalgae under optimized light regimes', *Environmental Technology and Innovation*, 19(5), p. 100849. doi: 10.1016/j.eti.2020.100849.

Fazal, T. *et al.* (2018). 'Bioremediation of textile wastewater and successive biodiesel production using microalgae', *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 82, pp. 3107–3126. doi: 10.1016/j.rser.2017.10.029.

Fernández-Linares, L. C. *et al.* (2017). 'Assessment of *Chlorella vulgaris* and indigenous microalgae biomass with treated wastewater as growth culture medium', *Bioresource Technology*, 244, pp. 400–406. doi: 10.1016/j.biortech.2017.07.141.

Gao, B. *et al.* (2019). 'Bilateral and simultaneous accumulation of lipid and biomass in the novel oleaginous green

microalga *Tetrademus bernardii* under mixotrophic growth', *Algal Research*, 37(November 2018), pp. 64–73. doi: 10.1016/j.algal.2018.11.012.

Guldhe, A. et al. (2014). 'Synthesis of biodiesel from *Scenedesmus sp* by microwave and ultrasound assisted *in situ* transesterification using tungstated zirconia as a solid acid catalyst', *Chemical Engineering Research and Design*, 92(14), pp. 1503–1511. doi: 10.1016/j.cherd.2014.05.012.

Hernández-Rojas, A., Jiménez-Islas, D. & Venegas-Sánchez, J. A. (2017). 'Comparación de la producción de biodiesel de *Chlorella Protothecoides* y *Scenedesmus sp* mediante la adición de CO₂ de la fermentación alcohólica', *Revista de Sistemas Experimentales*, 4(12), pp. 11–17. Available at: http://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournal/s/Sistemas_Experimentales/vol4num12/Revisita_de_Sistemas_Experimentales_V4_N12_2.pdf.

Kothari, R. et al. (2012). 'Experimental study for growth potential of unicellular alga *Chlorella pyrenoidosa* on dairy waste water: An integrated approach for treatment and biofuel production', *Bioresource Technology*, 116, pp. 466–470. doi: 10.1016/j.biortech.2012.03.121.

Kudahettige, N. P., Pickova, J. & Gentili, F. G. (2018). 'Stressing algae for biofuel production: Biomass and biochemical composition of *Scenedesmus dimorphus* and *Selenastrum minutum* grown in municipal untreated wastewater', *Frontiers in Energy Research*, 6(DEC), pp. 1–10. doi: 10.3389/fenrg.2018.00132.

Laezza, C., Salbitani, G., & Carfagna, S. (2022). Fungal Contamination in Microalgal Cultivation: Biological and Biotechnological Aspects of Fungi-Microalgae Interaction. *Journal of Fungi*, 8(10), 48–54. <https://doi.org/10.3390/jof8101099>.

Laraib, N. et al. (2021). 'Mixotrophic Cultivation of *Scenedesmus dimorphus* for Enhancing Biomass Productivity and Lipid Yield', *Iranian Journal of Science and Technology, Transaction A: Science*, 45(2), pp. 397–403. doi: 10.1007/s40995-020-01055-3.

Lehmuskero, A., Skogen Chauton, M., & Boström, T. (2018). Light and photosynthetic

microalgae: A review of cellular- and molecular-scale optical processes. *Progress in Oceanography*, 168, 43–56. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2018.09.002>.

Manzoor, M. et al. (2019). 'Mixotrophic cultivation of *Scenedesmus dimorphus* in sugarcane bagasse hydrolysate', *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 39(2), pp. 1–9. doi: 10.1002/ep.13334.

Marinho, Y. F. et al. (2022). 'Usage of Moringa oleifera residual seeds promotes efficient flocculation of *Tetrademus dimorphus* biomass', *Biomass Conversion and Biorefinery*, (0123456789). doi: 10.1007/s13399-022-02789-3.

Mayorga, C. & Manso, L. (2017) 'Crecimiento de la microalga *Dunaliella salina* en un cultivador Raceway en condiciones de laboratorio Growth of the *Dunaliella salina* microalga in a Raceway cultivator in laboratory conditions', *Revista de Iniciación Científica*, 3(1), pp. 85–91.

Medina Villadiego, Mauricio, Ospino Roa, Yesid, & Tejeda Benitez, L. (2015). 'Esterificación y Transesterificación de aceites residuales para obtener biodiésel', *Luna Azul*, enero-juni(40), pp. 25–34. doi: 10.17151/luaz.2015.40.3.

Mondal, M. et al. (2019). 'Bioremediation of Organic and Inorganic Pollutants Using Microalgae', in *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier B.V., pp. 223–235. doi: 10.1016/b978-0-444-63504-4.00017-7.

Nayak, M., Karemore, A. & Sen, R. (2016). 'Performance evaluation of microalgae for concomitant wastewater bioremediation, CO₂ biofixation and lipid biosynthesis for biodiesel application', *Algal Research*, 16, pp. 216–223. doi: 10.1016/j.algal.2016.03.020.

Ogbonna, K. E. et al. (2024). 'Effect of organic carbon sources on growth, lipid production and fatty acid profile in mixotrophic culture of *Scenedesmus dimorphus* (Turpin) Kützing', *The Microbe*, 3, p. 100064. doi: 10.1016/j.microb.2024.100064.

Paes, C. R. P. S. et al. (2016). 'Growth, nutrient uptake and chemical composition of *Chlorella sp.* and *Nannochloropsis oculata* under nitrogen starvation', *Lat. Am. J. Aquat.*

- Res., 44, pp. 275–292. doi: 10.3856/vol44-issue2-fulltext-9.
- Paladino, O. & Neviani, M. (2021). 'Airlift photo-bioreactors for *Chlorella vulgaris* cultivation in closed-loop zero waste biorefineries', *Biomass and Bioenergy*, 144(January 2020), p. 105926. doi: 10.1016/j.biombioe.2020.105926.
- Pérez Bravo, Sheila Genoveva, Castañeda Chávez, María del Refugio, & Aguilera Vázquez, L. (2024) 'Prototype flat photobioreactor with a settler for the cultivation of *Tetrademus dimorphus* under mixotrophic metabolism under ambient conditions', *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 23(3), p. 24287.
- Pérez Bravo, S. G. *et al.* (2023). 'Evaluation of *Scenedesmus dimorphus* under Different Photoperiods with Eutrophicated Lagoon Water', *Resources*, 12(12). doi: 10.3390/resources12120140.
- Sacristán-de Alva, M. *et al.* (2014). 'Producción de biodiésel a partir de microalgas y una cianobacteria cultivadas en diferentes calidades de agua', *Agrociencia*, 48(3), pp. 271–284.
- Secretaría de Gobierno (2016). 'Programa municipal de ordenamiento territorial y desarrollo urbano de Altamira, tamaulipas', *Periodico Oficial del Estado de Tamaulipas*, (Plan 2012), p. 218.
- Shah, S. H. *et al.* (2016). 'Improvement in lipids extraction processes for biodiesel production from wet microalgal pellets grown on diammonium phosphate and sodium bicarbonate combinations', *Bioresource Technology*, 214, pp. 199–209. doi: 10.1016/j.biortech.2016.04.036.
- Sharma, T. & Chauhan, R. S. (2016). 'Comparative transcriptomics reveals molecular components associated with differential lipid accumulation between microalgal sp., *Scenedesmus dimorphus* and *Scenedesmus quadricauda*', *Algal Research*, 19, pp. 109–122. doi: 10.1016/j.algal.2016.07.020.
- Silveira-Font, Y. *et al.* (2018). 'Variación de la composición de pigmentos de *Chlorella vulgaris* Beijerinck, con la aplicación del campo magnético estático', *Revista Cubana de Química*, 30(1), pp. 55–67.
- De Souza, L. *et al.* (2021). 'Biopolishing sanitary landfill leachate via cultivation of lipid-rich *Scenedesmus microalgae*', *Journal of Cleaner Production*, 303. doi: 10.1016/j.jclepro.2021.127094.
- Uma Devi, K., Swapna, G. & Suneetha, S. (2014) 'Microalgae in Bioremediation: Sequestration of Greenhouse Gases, Clearout of Fugitive Nutrient Minerals, and Subtraction of Toxic Elements from Waters', in *Microbial Biodegradation and Bioremediation*. Elsevier Inc., pp. 436–456. doi: 10.1016/B978-0-12-800021-2.00019-4.
- Wang, H., Zhang, W., Chen, L., Wang, J., & Liu, T. (2013). The contamination and control of biological pollutants in mass cultivation of microalgae. *Bioresource Technology*, 128, 745–750.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.158>
- Xaaldi Kalhor, A. *et al.* (2016). 'Biodiesel production in crude oil contaminated environment using *Chlorella vulgaris*', *Bioresource Technology*, 222, pp. 190–194. doi: 10.1016/j.biortech.2016.09.110.
- Xu, X., Shen, Y. & Chen, J. (2015). 'Cultivation of *Scenedesmus dimorphus* for C/N/P removal and lipid production', *Electronic Journal of Biotechnology*, 18(1), pp. 46–50. doi: 10.1016/j.ejbt.2014.12.003.
- Zhang, C., Wu, D. J. & Zhong, C. Q. (2021). 'Cultivating *Scenedesmus dimorphus* in lactic acid wastewater for cost-effective biodiesel production', *Science of the Total Environment*, 792, p. 148428. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.148428.
- Zhou, D. *et al.* (2017). 'Continuous production of biodiesel from microalgae by extraction coupling with transesterification under supercritical conditions', *Bioresource Technology*, 238, pp. 609–615. doi: 10.1016/j.biortech.2017.04.097.