



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ

CARBÓN ACTIVADO CÓMO ADSORBENTE DE TOLUENO EN BIORREACTOR DE CHLORELLA VULGARIS”

REPORTE FINAL DE RESIDENCIA PROFESIONAL QUE PRESENTA:

MAURICIO LLAVEN RUIZ

COMO REQUISITO PARA ACREDITAR LA RESIDENCIA PROFESIONAL DE LA
LICENCIATURA EN:

INGENIERIA QUÍMICA

ASESORES:

**ENCISO SAENZ SAMUEL
ALVARADO DE LA VEGA MARIO ALBERTO**

Revisores:

**GÓMEZ GUTIÉRREZ LEONARDO
VILLALOBOS MALDONADO JUAN JOSE**

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas



Carretera Panamericana Km. 1080, C.P. 29050, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas | tuxtla.tecnm.mx
Tel. (961) 615 0461, 615 0138, 615 4808, ext. 408, correo: vin_tgutierrez@tecnm.mx



Ricardo
2022 Flores
Año de
Magón
PRESENCIA DE LA REVOLUCIÓN MEXICANA

Capítulo I. Preliminares

Agradecimientos

A Dios por darme fuerza e inspiración para continuar en este camino de poder obtener una de mis metas principales, por guiarme y cuidarme a lo largo de mi vida y de mi formación académica, por ser el apoyo y mi fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

Al Instituto Tecnológico Nacional de México campus Tuxtla Gutiérrez por abrirme las puertas de la educación y permitir realizar el tema de investigación dentro de sus instalaciones.

A mis padres: Yolanda y Sergio por ser mi mayor motivación, mi pilar, mi segunda mano desde pequeño, por su amor, paciencia, por confiar y creer en mí, por los consejos, valores y principios que me han inculcado. Por no dejarme solo en ninguna situación de la vida y por siempre estar presentes en los logros de mi vida.

A mi hermana Rocío, por todas las veces que estuvo conmigo, en momentos que más necesitaba, darme palabras de ánimos para seguir creciendo en mil formas.

A mi familia por estar siempre para mí, por el cariño que me han demostrado, por ayudarme emocional y anímicamente en poder cumplir mis objetivos, porque me acompañan en todas mis metas, en los retos y en los problemas ayudándome a buscar la solución, por siempre creer en mí y no dejarme solo.

A Andrea, por acompañarme en parte de la licenciatura, por creer en mí incluso cuando yo dejaba de hacerlo, por motivarme cuando sentía que no podía más, por sus consejos y nunca dejarme solo, por ayudarme y siempre ver lo mejor en mí.

A mis asesores, al Ing. Mario Alberto Alvarado de la Vega y al Dr. Samuel Enciso Sáenz, asesores externos e internos respectivamente durante todo este proyecto, quienes me apoyaron y aconsejaron con su conocimiento, enseñanza, y me permitieron el desarrollo de este trabajo.

A mis compañeros de clases que se convirtieron en amigos, gracias por los momentos que compartí dentro y fuera de las aulas, por su amistad que me han brindado durante estos años. Amigos que se están convirtiendo en amigos de toda la vida y quienes nunca me abandonaron, gracias por todo.

A mis amistades fuera de la escuela, quienes me aconsejaron, me motivaron y me apoyaron a lo largo de la carrera, amigos que siempre estuvieron y siempre estarán, gracias por su entusiasmo y su fe en mí.

Resumen

La contaminación en el medio ambiente requiere gran importancia, tanto como lo es la del medio acuático.

Los derrames constantes de líquidos contaminantes sobre los cuerpos de agua se han vuelto algo tan común que la población lo ve como algo normal, es por ello que se piensa buscar un adsorbente que haga un excelente trabajo, que limpie el cuerpo líquido y, además, lo purifique, es por este motivo que se elige al carbón activado.

Es de gran importancia realizar un estudio en el marco teórico para identificar el panorama general y hacia dónde se dirige los parámetros de investigación referente al carbón activado y sus aplicaciones. Es sabido que es un purificador de excelente calidad y con unos resultados positivos, por ello, forma parte de la investigación y limpie de manera positiva el contaminante que se planea investigar, el tolueno.

Los contaminantes están presentes siempre en el medio ambiente, la empresa del petróleo ha estado en crecimiento muy notablemente y no sólo esa, la de pinturas, adhesivos, etc. Por ende, las descargas de hidrocarburos como el Tolueno ha venido al alza, es por tal motivo que el carbón activado actuará como un limpiador de este para poder convertirlo en una fuente de carbono óptima para el crecimiento de una microalga, *Chlorella Vulgaris*.

Las microalgas poseen una capacidad ficorremediadora que consiste en la eliminación o biotransformación de contaminantes de un medio líquido o gaseoso. Estos compuestos contaminantes son captados por la biomasa algal y pueden ser recuperados mediante su cosecha. La elección del tipo de sistema de cultivo es importante, y debe realizarse en base a factores biológicos, técnicos, ambientales y económicos, definidos previamente. Todo esto adquiere una gran importancia debido a los problemas ambientales globales existentes en la actualidad. El presente trabajo, recopila de forma general la información sobre diferentes aspectos y parámetros de importancia en el cultivo de microalgas, sus múltiples usos y beneficios, así como también el manejo de estas al entrar en contacto con algún contaminante, esperando obtener resultados positivos.

Abstract

Pollution in the environment requires great importance, as much as it is in the aquatic environment.

The constant spills of contaminating liquids on bodies of water have become so common that the population sees it as something normal, so they think about looking for an adsorbent that does an excellent job, that cleans the liquid body and, in addition, purifies it, that is why activated carbon is chosen.

It is of great importance to carry out a study in the theoretical framework to identify the general panorama and where the research parameters regarding activated carbon and its applications are directed. It is known that it is an excellent quality purifier and with positive results, therefore, it is part of the investigation and positively cleans the contaminant that is planned to be investigated, toluene.

Pollutants are always present in the environment, the oil company has been growing very remarkably and not only that, that of paints, adhesives, etc. Therefore, hydrocarbon discharges such as Toluene have been on the rise, it is for this reason that activated carbon will act as a cleaner for it in order to convert it into an optimal carbon source for the growth of a microalgae, *Chlorella Vulgaris*.

Microalgae have a phycoremediation capacity that consists of the elimination or biotransformation of contaminants from a liquid or gaseous medium. These polluting compounds are captured by the algal biomass and can be recovered by harvesting them. The choice of the type of culture system is important, and must be made based on previously defined biological, technical, environmental and economic factors. All this acquires great importance due to the global environmental problems that exist today. The present work, collects in a general way the information on different aspects and parameters of importance in the cultivation of microalgae, its multiple uses and benefits, as well as the management of these when coming into contact with a contaminant, hoping to obtain positive results.

Índice General

Capítulo I. Preliminares	2
Agradecimientos	2
Resumen	4
Abstract.....	5
Capítulo II. Generalidades del proyecto	10
Introducción.....	10
Descripción de la empresa	12
Problemas que resolver	14
Objetivos	14
Objetivo General	14
Objetivos Específicos.....	14
Justificación.....	15
Capítulo III. Marco Teórico	16
2.1 Carbón activado	16
2.1.1 Estructura del carbón activado	16
2.1.2 Proceso de adsorción	17
2.1.3 Isotermas de adsorción.....	19
2.1.4 Remoción de Hidrocarburos con carbón activado.....	21
2.2 Hidrocarburos aromáticos	21
2.2.1 Contaminación por hidrocarburos.....	23
2.2.3 Contaminación por Hidrocarburos en México.....	24
2.2.4 Normativa	24
2.3 Tolueno	25
2.3.1 Daños a la salud	26
2.3.2 Tolueno en el medio ambiente.....	26
2.3.3 Riesgos	27
2.4 Microalgas.....	27
2.4.1 Identificación de microalgas	27
2.4.2 Aplicación de las microalgas	28
2.4.3 Fotosíntesis	28
2.4.4 Cultivo de microalga	29

2.5 Chlorella Vulgaris	33
CARACTERÍSTICAS	33
2.6 Absorbancia microbiana	34
Capítulo IV. Desarrollo.....	35
Elaboración del medio bold basal	35
Esterilización	36
Incubación.....	37
Prueba microscópica (1)	37
Proceso de aireación.....	37
Sembrado de cultivo	38
Prueba microscópica (2)	38
Figuras (2.2.1, 2.2.2, 2.2.3, 2.2.4, 2.2.5). Microalgas encontradas en el microscopio.	41
Figuras (2.3.1, 2.3.2, 2.3.3, 2.3.4, 2.3.5, 2.3.6).....	42
Figuras (4.1.1, 4.1.2, 4.1.3, 4.1.4, 4.1.5, 4.1.6).....	43
Figuras (4.2.1, 4.2.2, 4.2.3, 4.2.4, 4.2.5).	45
Figuras (4.3.1, 4.3.2, 4.3.3, 4.3.4, 4.3.5, 4.3.6).....	46
Pruebas	49
Capítulo V. Resultados	51
Capítulo VI. Conclusiones	54
Recomendaciones.....	55
Experiencia personal adquirida.....	56
Capítulo VII. Competencias desarrolladas	57
Capítulo VIII. Fuentes de información	58
Capítulo IX. Anexos	61

Índice de Tablas

Tabla 1. Stock solutions, componente y nombre químico	35
Tabla 2. Micronutrientes para el medio bold basal, componente y nombre químico.....	36
Tabla 3. Tabla comparativa de microalgas.	47
Tabla 4. Tabla de controles.	49
Tabla 5. Tabla comparativa de microalgas.	51
Tabla 6. Absorbancias de cada método con respecto a los días.	53

Índice de Figuras

Figura 1. Esquema representativo del (A) arreglo estructural de las capas planas del grafito, (B) estructura propuesta de las capas del carbón activado.	17
Figura 2. Representación esquemática del proceso de adsorción.....	18
Figura 3. Tipos de Isotermas en un sistema sólido-gas de acuerdo con la clasificación IUPAC.	20
Figura 4. Hidrocarburos aromáticos.	22
Figura 5. Estructura del Tolueno	25
Figura 6. Identificación de microalgas con nombre y sus especies.....	27
Figura 7. Fotosíntesis de microalgas.....	29
Figura 8. Crecimiento de la microalga comparada con las plantas de microalga.....	30
Figura 9. Distintos tipos de microalgas.	31
Figura 10. Microalga Chlorella Vulgaris	33
Figura 12. Autoclave para esterilización.	36
Figura 13. Incubadora para el crecimiento del alga.	37
Figura 14. Matraz Erlenmeyer sometido a proceso de aireación con la microalga Chlorella Vulgaris.....	37
Figura 15. Sembrado de cultivo en tubos de ensayo.	38

Figura 16. Tubos de ensayo estudiados.....	38
Figura 19. Portaobjetos.....	39
Figura 17. Pipeta de un solo canal.....	39
Figura 18. Cubreobjetos.....	39
Figuras 20. Lente utilizado Programa utilizado para ver las microalgas en la computadora ...	40
Figuras (2.2.1, 2.2.2, 2.2.3, 2.2.4, 2.2.5). Microalgas encontradas en el microscopio.....	41
Figuras (2.3.1, 2.3.2, 2.3.3, 2.3.4, 2.3.5, 2.3.6)	42
Figuras (4.1.1, 4.1.2, 4.1.3, 4.1.4, 4.1.5, 4.1.6)	43
Figuras (4.2.1, 4.2.2, 4.2.3, 4.2.4, 4.2.5).	45
Figuras (4.3.1, 4.3.2, 4.3.3, 4.3.4, 4.3.5, 4.3.6)	46
Figura 21. Tubos de ensayo.....	49
Figura 22. Tubos de ensayo con muestra Chlorella.....	50
Figura 23. Gráfica de la curva de crecimiento.	51
Figura 25. Muestra de microalga.....	51
Figura 24. Muestra de microalga.....	51
Figura 26. Valor en el espectrofotómetro.....	52
Figura 29. Tolueno en tubo de ensayo.....	52
Figura 28. Tolueno en tubo de ensayo.....	52
Figura 27. Tolueno en tubo de ensayo.....	52
Figura 30. Curvas de absorbancia respecto a los días.....	53
Figura 31. Ubicación geográfica del ITTG.....	61
Figura 32. Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez.....	61
Figura 33. Lugar de Realización de la residencia, Polo tecnológico.....	61

Capítulo II. Generalidades del proyecto

Introducción

La contaminación del agua es un tema que se ha abordado durante los últimos años y que es una problemática que ha generado revuelo y molestia por las personas. El desemboque de contaminantes sólidos o líquidos a los cuerpos acuáticos es una situación bastante alarmante, ya que para algunas poblaciones utilizan este vital líquido como su uso común en el día a día, la contaminación por hidrocarburos orgánicos es un problema que se encuentra presente a nivel mundial.

Los contaminantes en cuestión suponen un riesgo inminente para la salud, ya que, a lo largo de los años el uso de combustibles fósiles y el desarrollo de las industrias ha venido en aumento, por lo que, tras su crecimiento, la contaminación de recursos naturales ha crecido a la par, como por ejemplo la del agua y el aire.

Existen distintos métodos para la eliminación de dichos contaminantes en el medio acuático, por ello, se ha optado por una eliminación de los hidrocarburos, la alternativa que se tiene presente y que se pretende estudiar es la eliminación de estos compuestos mediante métodos de adsorción.

La eliminación de los HA, la adsorción es un proceso en el cuál los átomos del contaminante son retenidos en una superficie. Por ejemplo, un contaminante soluble (adsorbato) es eliminado del agua mediante el contacto con una superficie sólida (adsorbente).

Pretendiéndose utilizar microalgas como ejemplo de crecimiento con un contaminante que ha sido removido y adsorbido por un purificador. Las microalgas, en general, son las más eficientes convertoras de energía solar debido a su sencilla estructura celular. Además, tienden a tener un mejor acceso al CO₂.

Sabiendo el método en cuestión para la remoción de estos compuestos se utilizan las microalgas como una muestra de crecimiento mezclándose con uno de uno de estos arenos (purificados por el carbón activado), por ejemplo, el Tolueno, y que este sirva como fuente de carbono para el crecimiento de esta.

Para llevar a cabo cada paso es necesario saber el manejo de cada uno de los materiales, elegir el método adecuado para poder medir la absorbancia de la microalga y realizar una gráfica que nos arroje los resultados obtenidos.

Descripción de la empresa

En la década de los 70's, se incorpora el estado de Chiapas al movimiento educativo nacional extensión educativa, por intervención del Gobierno del Estado de Chiapas ante la federación. Gracias a esta gestión se dio la creación del Instituto Tecnológico Regional de Tuxtla Gutiérrez (ITRTG) hoy **Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez (ITTG)**.

En 1972, específicamente el 22 de Octubre, con una infraestructura de 2 edificios con 8 aulas, 2 laboratorios y un edificio para talleres abre sus puertas el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez con las carreras de Técnico en Máquinas de Combustión Interna, Electricidad, Laboratorista Químico y Máquinas y Herramientas.

La institución se encuentra estratégicamente ubicada en Carretera Panamericana km 1080, en la ciudad de Tuxtla Gutiérrez del municipio de Chiapas, México. (16°45'30"N 93°10'20"O) la cual tiene una extensión territorial de 685.6 km².

Misión

Formar de manera integral profesionales de excelencia en el campo de la ciencia y la tecnología con actitud emprendedora, respeto al medio ambiente y apego a los valores éticos.

Visión

Ser una Institución de excelencia en la educación superior tecnológica del sureste, comprometida con el desarrollo socioeconómico sustentable de la región.

Valores

El ser humano.

El espíritu de servicio.

El liderazgo.

El trabajo en equipo.

La calidad.

El alto desempeño.

Respeto al medio ambiente.

Descripción del Puesto o Área de trabajo

Dentro de la institución en dónde se realizó la residencia existe un área en la que se llevó a cabo la residencia. El lugar fue el Polo del ITTG, específicamente en el Aula 5, en la cual se hizo todo el proyecto durante el semestre cursado.

Problemas que resolver

La contaminación medioambiental del aire es un problema bastante grande al igual que la del agua y suelo, el tolueno puede liberarse al aire mediante distintas formas, por ejemplo, desde el tubo de escape de los autos o de algunos materiales que puedan emitir esta sustancia, tales como pinturas, algunos esmaltes para uñas, etc. Mientras que la contaminación por el medio líquido puede darse por el petróleo. Es por ello que se tiene un extenso interés en encontrar una medida segura de adsorber las partículas de este contaminante, ya que representa un compuesto extremadamente peligroso para la salud. Por tanto, se pretende utilizar el carbón activado como un adsorbente de tolueno y entrar en contacto con la microalga *Chlorella Vulgaris*, ver y estudiar si funciona como una fuente de carbono viable para el crecimiento.

Por el interés sobre una solución viable es necesario reducir la cantidad de tolueno mediante la adsorción para lograr analizar cómo se comporta como fuente de energía, de forma que exista un mayor interés por reducir la contaminación por hidrocarburos aromáticos.

Objetivos

Objetivo General

Verificar el crecimiento de *Chlorella Vulgaris* con Tolueno como fuente de carbono.

Objetivos Específicos

- Establecer las condiciones de cultivo de *C. Vulgaris* para un óptimo crecimiento a escala laboratorio.
- Determinar la curva de crecimiento para una cuantificación por medio de una técnica de espectroscopia.

Justificación

El derrame constante del contaminante en cuestión ha llegado a tal punto de buscar alternativas favorables para la reducción de estas acciones. Materiales a base de carbono pueden implementarse en aguas contaminadas, disminuyendo así la toxicidad que se encuentra en cualquier cuerpo de agua.

Por lo anterior, la finalidad del trabajo se basa en utilizar un contaminante volátil adsorbido como fuente de carbono sobre un organismo vivo como lo es una microalga, analizar el crecimiento y cómo se comporta con el paso del tiempo.

Capítulo III. Marco Teórico

2.1 Carbón activado

Existe, en todo el mundo, materiales capaces de adsorber distintas sustancias, la zeolita, silica gel, etc. Pero ninguno cómo lo es el carbón activado, claro, cada material lo distingue del otro y cada uno es efectivo a su manera.

El carbón activado tiene propiedades purificantes para diferentes aplicaciones y es uno de los purificadores más utilizados por el humano, desde el uso de laboratorios, en casa y a nivel industrial, por ejemplo, en ciertas aplicaciones tan diversas como la depuración (principalmente de aire y agua), reciclaje, decoloración, eliminación de olores, separación, y almacenamiento de gases.

Pueden fabricarse a partir de ciertos materiales con características orgánicas altas en carbono y que se carbonizan a altas temperaturas. Este material llega a pasar por un estricto proceso de carbonización a temperaturas muy elevadas (entre 600 y 900 °C o 1100 y 1650 °F). Gracias a este proceso se da la famosa “activación”, lo que significa que se obtiene un carbón un poco más poroso que el habitual, de ahí el nombre “carbón activado”.

2.1.1 Estructura del carbón activado

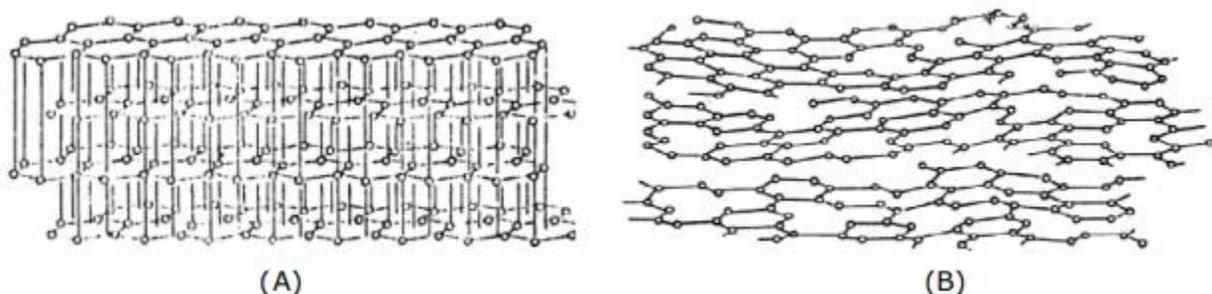
El CA cuenta con características específicas las cuales dependen de la materia prima, el proceso de carbonización y la activación química; estas propiedades le permiten a este material sea utilizado en una gran gama de aplicaciones.

El carbón activado se conforma principalmente de átomos de carbón los cuales están unidos mediante enlaces covalentes, pudiendo inclusive tener heteroátomos (oxígeno, nitrógeno y azufre) provenientes del material precursor (Rodríguez-Reinoso, 1998).

Su estructura carbonosa y sus propiedades, al igual que la de otros tipos de carbones, son similares a las del grafito, donde la estructura cristalina reticular que posee el CA sólo difiere a la de este último en el orden de las láminas de grafito, las cuales están apiladas de forma menos perfecta (GONZÁLEZ NAVARRETE, 2017) como podemos apreciar en la representación de la Figura 1.

Figura 1.

Esquema representativo del (A) arreglo estructural de las capas planas del grafito, (B) estructura propuesta de las capas del carbón activado.



Nota. Adaptado de la tesis Desarrollo de carbón activado a partir de desechos agroindustriales con aplicación en adsorción de arsénico (p. 18), por B.D. González Navarrete, 2017, de la Universidad de Chile.

Gracias a esto puede entenderse que la estructura está constituida, en mayoría, por algunos microcristales de grafito.

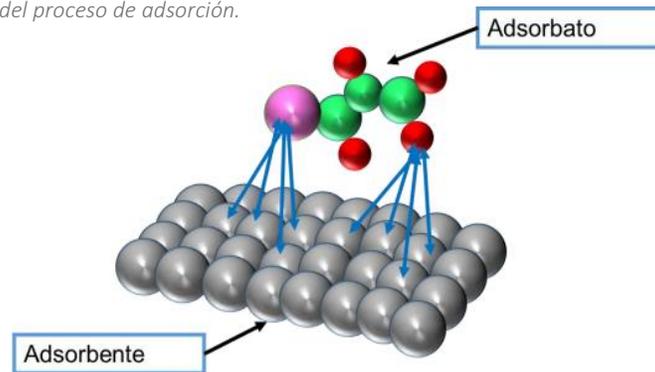
2.1.2 Proceso de adsorción

La adsorción es un proceso que consiste mayormente en la captación de ciertas sustancias las cuales son solubles en cualquier superficie sólida. La adsorción es un proceso de separación en la que ciertos componentes de una fase fluida (adsorbato) se transfieren por atracción hacia la superficie de un sólido adsorbente (GONZÁLEZ NAVARRETE, 2017). La necesidad de poder obtener una calidad alta de las aguas está logrando que el tratamiento antes mencionado tenga un crecimiento bastante importante, considerándolo un tratamiento de refinó.

La adsorción es el enriquecimiento de uno o más componentes, en una interfase o superficie interfacial (IUPAC, 1977). Por ende, se entiende en palabras un poco más resumidas que la adsorbancia significa un proceso en el cual existe una transferencia de masa.

Figura 2.

Representación esquemática del proceso de adsorción.



Nota. Adaptado de la tesis Modificación de carbón activado con La (III) para la remoción de fluoruros del agua (p. 7), por E. Vences Álvarez, 2017, del INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA.

El mecanismo puede ser declarado un proceso en el cual exista un tratamiento fisicoquímico de aguas residuales, el cual ha ganado una gran importancia debido a la calidad de los efluentes tratados, los cuales pueden contener bajas concentraciones de ciertos compuestos orgánicos disueltos.

La adsorción es considerada una de las mejores técnicas y una de las más empleadas para la remoción de contaminantes orgánicos e inorgánicos del agua (Franca, et al., 2010).

Sus aplicaciones en usos ambientales abarcan desde las soluciones acuosas hasta las gaseosas, teniendo en este rubro mucha importancia en la adsorción que contaminantes en el agua gracias a sus propiedades superficiales tanto físicas (porosidad y área superficial) como químicas (grupos superficiales) las cuales favorecen la adsorción de contaminantes. (Rodríguez y col. 2019; Alahabadi y col., 2020).

La principal ventaja de los procesos de adsorción reside en su efectividad para eliminar los COVs en un amplio rango de concentraciones. Concentraciones bajas logran que los procesos de adsorción arrojen una ventaja bastante importante frente al método de oxidación.

Si la interacción entre el adsorbato y la superficie del adsorbente se debe sólo a las fuerzas de van der Waals, se trata de una adsorción física (GONZÁLEZ NAVARRETE, 2017), esto significa que las moléculas adsorbidas son ligadas débilmente y los calores de adsorción son bajos. Además, el aumento de temperatura disminuye considerablemente la adsorción.

Por otro lado, si las moléculas químicas adsorbidas reaccionan químicamente con la superficie, el fenómeno se denomina adsorción. (GONZÁLEZ NAVARRETE, 2017) Para este caso, se forman y rompen enlaces.

Factores que influyen en la adsorción de compuestos presentes en el agua

- El tipo de compuesto que se planea eliminar. Elementos con un peso molecular elevado y una solubilidad demasiado baja se pueden adsorber de una manera más rápida y práctica.
- La concentración del compuesto que se desea eliminar. Si la concentración es más alta, más carbón es necesario.
- El pH del agua. Por ejemplo, los compuestos ácidos se eliminan más fácilmente a pH bajos.

2.1.3 Isotermas de adsorción

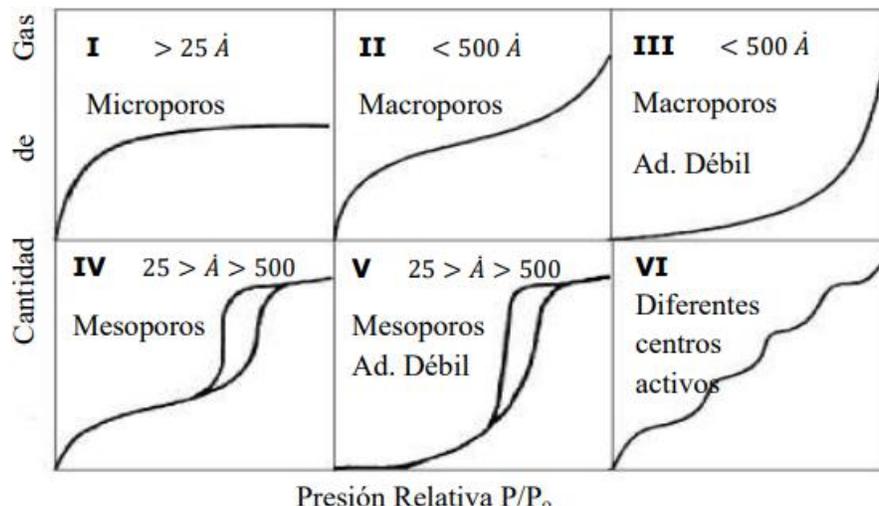
Las isotermas de adsorción son representaciones gráficas del comportamiento de una partícula adsorbida, sobre la superficie de un sólido o líquido, cuando se incrementa su concentración (Bolívar, 2020).

La cantidad de adsorbato que puede retener un adsorbente y su cinética llegan a depender de las características y de la concentración que contiene el adsorbato, de la superficie activa del adsorbente y sus propiedades y de la temperatura. Sin embargo, para obtener el isoterma de adsorción, es necesario determinar la cantidad de materia adsorbida como una función de la concentración a temperatura constante.

Las isothermas de adsorción presentan formas diferentes según la naturaleza del sistema que se esté estudiando. Aunque existe una considerable variedad, en la forma de las isothermas estas se pueden agrupar en seis tipos generales de isothermas según la IUPAC, las cuales se muestran en la Figura 3 (K. S. W. Sing y col. 1985).

Figura 3.

Tipos de Isothermas en un sistema sólido-gas de acuerdo con la clasificación IUPAC.



Nota. Adaptado de la tesis Desarrollo de carbón activado a partir de desechos agroindustriales con aplicación en adsorción de arsénico (p. 29), por B.D. González Navarrete, 2017, de la Universidad de Chile.

Hay que poder analizar la isoterma ya que con esto se puede deducir si la superficie es lisa, porosa, o microporosa.

Por ejemplo, la isoterma del tipo I es una característica de sólidos microporosos en los que existe una fuerte interacción entre el adsorbato y el adsorbente. Este tipo se caracteriza porque la adsorción se produce a presiones realmente bajas, alcanzando con rapidez un máximo, el cual se asocia con el llenado completo de la monocapa.

La isoterma del tipo II es una característica muy común de sólidos macroporosos o no porosos. En este tipo de sistemas se brinda la formación de una monocapa de adsorbato sobre la superficie cuando las presiones relativas son bajas.

La isoterma del tipo III llega a ocurrir cuando la interacción entre el adsorbato y el adsorbente es muy baja.

Las isothermas del tipo IV y V son idénticas a las isothermas de tipo II y III cuando el

sólido presenta mesoporos, en el cual el proceso de la adsorción no llega a ser el mismo que el de desorción y esto es gracias a que se produce una condensación capilar que hace más difícil el camino de salida del sólido.

La isoterma del tipo VI (en escalones) ocurre en superficies uniformes no porosas, y representa una adsorción capa a capa.

2.1.4 Remoción de Hidrocarburos con carbón activado

La adsorción de compuestos orgánicos de soluciones acuosas depende principalmente de dos, factores que favorecen la acumulación del adsorbato en la superficie del adsorbente. La solubilidad de aquél en el solvente es la propiedad determinante para evaluarla intensidad del primer factor (W.J. Weber, Jr. 1972).

Una de las ventajas de la adsorción en cuestión de hidrocarburos es la posibilidad de poder recuperar el producto y reutilizarlo, así como la regeneración del carbón activado empleado como adsorbente cuando se satura.

Aquellas moléculas que sean orgánicas y puedan ionizarse serán adsorbidas por medio de las interacciones electrostáticas entre el adsorbente y el adsorbato. El estudio de remoción de compuestos orgánicos solubles es realmente escaso, sin embargo, el estudio de estos es de gran importancia ya que la contaminación por ciertos Hidrocarburos derramados en cuerpos de agua es muy común y se busca una alternativa ecológica rentable, amigable con el ambiente y efectiva.

2.2 Hidrocarburos aromáticos

Los hidrocarburos aromáticos son aquellos hidrocarburos que poseen las propiedades especiales asociadas con el núcleo o anillo del benceno, en el cual hay seis grupos de carbono-hidrógeno unidos a cada uno de los vértices de un hexágono.

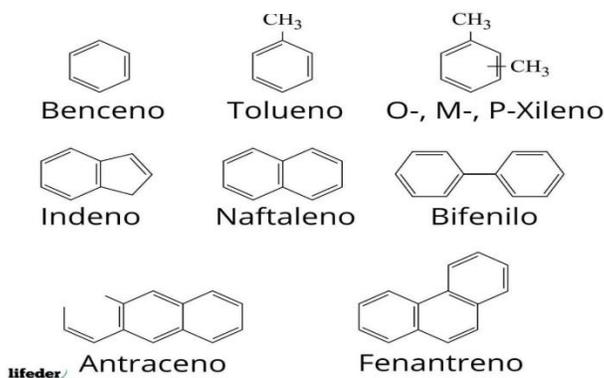
Los hidrocarburos aromáticos y sus derivados son compuestos los cuales sus moléculas están formadas por una o más estructuras de anillo estables del tipo antes

descrito y pueden ser considerados derivados del benceno de acuerdo con tres procesos básicos:

1. Por sustitución de los átomos de hidrógeno por radicales de hidrocarburos alifático.
2. Por la unión de dos o más anillos de benceno, ya sea directamente o mediante cadenas alifáticas u otros radicales intermedios.
3. Por condensación de los anillos de benceno

Estos pueden llegar a tener características fisicoquímicas que resultan de más impacto hacia la salud humana y ambiental. Se les denomina aromáticos debido a que muchos de estos compuestos de esta serie tienen olores intensos.

Figura 4.
Hidrocarburos aromáticos.



Nota. Adaptado de Hidrocarburos aromáticos: propiedades, ejemplos, aplicaciones (fotografía), por Gabriel Bolívar, 2020, Lifeder (<https://www.lifeder.com/hidrocarburos-aromaticos/>)

Uno de los fluidos que se caracteriza es el petróleo, ya que contiene numerosos hidrocarburos aromáticos. De los hidrocarburos más estudiados son el tolueno, naftaleno, antraceno, fenantreno y dibenzotiofeno, debido a que estos anillos aromáticos, forman parte de una amplia variedad de productos de importancia biológica, química e industrial.

Estos compuestos son un importante contaminante del aire y agua presente en los gases y aguas residuales de muchas aplicaciones industriales (Cai C y col. 2010).

En la actualidad, los principales usos de los compuestos aromáticos como productos puros son: la síntesis química de plásticos, caucho sintético, pinturas, pigmentos, explosivos, pesticidas, detergentes, perfumes y fármacos. También se utilizan, principalmente en forma de mezclas, como disolventes y como constituyentes, en proporción variable, de la gasolina. (Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo: <https://www.insst.es/documents/94886/162038/6.+Hidrocarburos+arom%C3%A1ticos+-+Hidrocarburos+arom%C3%A1ticos+halogenados+-+Hidrocarburos+poliarom%C3%A1ticos+-+Isocianatos+-+Cetonas>)

Es por tal motivo que estos hidrocarburos tienen que ser removidos o la concentración debe ser sustancialmente reducida del ambiente.

2.2.1 Contaminación por hidrocarburos

La contaminación de las aguas causada por los hidrocarburos en ciertos sistemas de almacenamiento, en fuentes de abastecimiento subterráneo y superficial, así como en otros cuerpos de agua es una acción que se suscita de una manera muy frecuente. Hoy en día la constante liberación de estos a los cuerpos de agua es uno de los problemas con mayor impacto ambiental.

La emisión de estos contaminantes al medio acuoso puede conllevar a distintos efectos, tanto directos como indirectos, en el funcionamiento del ecosistema. Especies sensibles pueden reducirse en su número de individuos por concentraciones letales o subletales de compuestos tóxicos; esto conlleva una cascada trófica de alteraciones que inducen cambios en la dinámica de poblaciones, nutrientes y disponibilidad de oxígeno. Los efectos pueden detectarse hasta décadas después de haberse registrado el evento (Kingston, 2002).

Como consecuencia del incremento en el uso del petróleo y sus derivados, la probabilidad de detectar estos tipos de hidrocarburos en el ambiente acuático se ha extendido de cuerpos superficiales como ríos y lagos, hasta lugares alejados como los mares y océanos, donde los valores de salinidad pueden variar desde 60 mg/L en agua

dulce, hasta 17 y 35 mg/L en aguas salobres y marinas, respectivamente (Díaz y Martínez, 1999).

Los impactos al medio ambiente que se generan por consecuencia del derrame de estos contaminantes se deben a la liberación de los Hidrocarburos al medio y estos están relacionados con el desemboque al exterior sin tomar las medidas necesarias, esto ocurre durante las labores de exploración y de transporte.

De acuerdo con estudios toxicológicos, podría decirse que los hidrocarburos más solubles son los más tóxicos a los organismos (Riazi y Roomi, 2008).

2.2.3 Contaminación por Hidrocarburos en México

Según la propia Conagua, el 70 por ciento de los recursos de agua dulce en México están afectados por la contaminación y el 31 por ciento se describe como extremadamente contaminado. (Elva Mendoza, 2021).

A nivel nacional, de los 176 reportes hechos en el Centro de Coordinación y Apoyo a Emergencias (CCAEE) de Pemex del 2018 a 2021, 156 fueron derrames y 20 correspondieron a fugas. En el caso de los primeros, 148 se vertieron en suelo y 8 en agua, principalmente derivados de hidrocarburo. (Ramírez P. 2022).

Conociendo qué tipo de sustancias se derraman, se tiene en cuenta que entre los compuestos más dañinos del crudo derramado destacan hidrocarburos aromáticos simples y los policíclicos, cuyos estudios los catalogan como cancerígenos.

2.2.4 Normativa

En México para poder tratar a los contaminantes, de cualquier tipo y en cualquier situación, se desarrollan ciertas normativas las cuales ayudan a entender los límites que el contaminante en cuestión puede tener dentro de algún cuerpo terrestre, acuático o ambiental. Para este caso se recurre a buscar una norma que especifique la cantidad de contaminante permitida en un cuerpo de agua:

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-143-SEMARNAT-2003, QUE ESTABLECE LAS ESPECIFICACIONES AMBIENTALES PARA EL MANEJO DE AGUA CONGÉNITA ASOCIADA A HIDROCARBUROS.

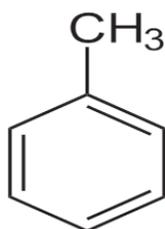
La norma tiene como objetivo establecer especificaciones en materia ambiental para el manejo e inyección en formaciones receptoras, del agua congénita que se asocia a hidrocarburos y los límites máximos permisibles de los parámetros para su descarga a cuerpos receptores.

2.3 Tolueno

El Tolueno es un derivado monosustituyente del benceno en el cual uno de los seis átomos de hidrógeno llega a ser reemplazado por un grupo CH₃, por tanto, también es conocido como metilbenceno.

El tolueno cuya fórmula se representa C₆H₅CH₃, es un líquido incoloro, inflamable con un olor fuerte y dulce, de manera natural puede encontrarse en el petróleo crudo, ya de manera industrial se produce en la manufactura de gasolina, manufactura de coque de carbón y otros combustibles a partir del petróleo crudo. La estructura química de dicho elemento se representa en la siguiente imagen.

Figura 5.
Estructura del Tolueno



Nota. Adaptado de Estructura del tolueno (fotografía), por quimicafácil.net, 2021, quimicafácil.net (<https://quimicafacil.net/compuesto-de-la-semana/tolueno-metilbenceno/>)

El tolueno se usa como disolvente y en la fabricación de pinturas, diluyentes de pinturas, medicamentos, tintes, explosivos, insecticidas, esmaltes para las uñas, lacas, quitamanchas, anticongelante, adhesivos y pegamentos de caucho y plástico, tintura

para madera y en ciertos procesos de imprenta y curtido de cuero. El tolueno también se usa en la producción de otras sustancias químicas, nailon y plásticos. También se agrega a la gasolina junto con benceno y xileno para mejorar el índice de octano (ATDSR, 2017).

Dicho hidrocarburo es una importante materia prima para síntesis orgánicas, como las de cloruro de benzoilo y bencilideno, sacarina, trinitrotolueno y un gran número de colorantes. El tolueno también es un componente del combustible destinado para los aviones y de la gasolina para automóviles.

El tolueno reacciona unas 25 veces más rápido que el benceno bajo las mismas condiciones. Se dice que el tolueno está activado frente a las reacciones de sustitución electrofílica aromática. (Wade, 2010).

2.3.1 Daños a la salud

En cuanto a salud, el tolueno puede llegar a afectar al sistema nervioso, puede producir pérdida de la memoria, ausencia de apetito, náuseas, entre otros.

Debido a su toxicidad, la exposición a altas concentraciones de tolueno puede provocar afecciones en el sistema nervioso de las personas. A bajas concentraciones pueden producir síntomas como cansancio, confusión, debilidad, pérdida de memoria, náuseas, pérdida del apetito y de vista. La sintomatología generalmente desaparece cuando cesa la exposición. Los vapores de tolueno presentan un ligero efecto narcótico e irritan los ojos. Su inhalación durante un período breve de tiempo puede provocar que la persona sufra mareos, e incluso si la cantidad es muy elevada, que pierda el conocimiento (Environmental Protection Agency, 2005).

2.3.2 Tolueno en el medio ambiente

Este contaminante, al estar presente en el estado líquido, puede llegar a aguas de la superficie (lagos y arroyos), aguas subterráneas o en dado caso a la tierra, esto solamente si los solventes o productos de petróleo se derraman por accidente, o a causa de un derrame de tanques subterráneos de almacenaje en gasolineras y otras

instalaciones. Cuando se dejan productos que contienen tolueno en vertederos o sitios de desechos, el tolueno puede penetrar la tierra o llegar al agua cerca de estos sitios.

Respecto a su afección, el tolueno es biodegradable por ciertos microorganismos, sin embargo, en grandes cantidades, presenta una cierta toxicidad sobre la vida acuática y por lo tanto es catalogado como sustancia peligrosa. (De Yuso Ariza, 2012).

2.3.3 Riesgos

Incendio y explosión. El tolueno emite vapores sumamente inflamables a todas las temperaturas normales de trabajo. En las zonas donde se manipule este líquido o donde pueda encontrarse, aunque sea por accidente, estarán prohibidas todas las llamas desnudas y otros elementos capaces de incendiar los vapores. Esta sustancia exige unas instalaciones adecuadas para su almacenamiento y transporte.

2.4 Microalgas

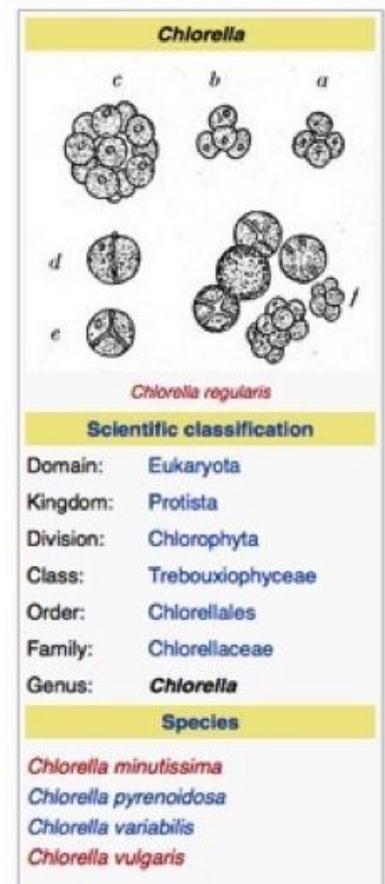
Las microalgas y las cianobacterias son microorganismos unicelulares que tienen la capacidad de realizar la fotosíntesis. (Fernández Sevilla, 2014). Esto es, que tienen la capacidad de generar una biomasa orgánica a partir de la captura del CO₂ y la luz, usando al agua como dador de electrones, oxidándola a O₂.

2.4.1 Identificación de microalgas

Las microalgas se clasifican por reino, división, clase, orden, familia, género y especie. Un ejemplo claro es cuando se puede apreciar un nombre de dos palabras tal como "Nannochloropsis gaditana" se está viendo el género y la especie. Esta es la información necesaria para poder averiguar las necesidades nutricionales de una microalga de manera que podamos fabricarle un medio adecuado.

Figura 6.

Identificación de microalgas con nombre y sus especies



Nota. Adaptado de Chlorella (fotografía), por wikipedia, 2021, Wikipedia. (<https://es.wikipedia.org/wiki/Chlorella>)

Todas las microalgas de la misma especie son esencialmente la misma en casi todos sus aspectos bioquímicos. Sin embargo, incluso entre la misma especie pueden darse diferencias. Cuando es necesario distinguir entre microalgas de la misma especie, se habla de "cepas" (strains). (Fernández Sevilla, 2014).

2.4.2 Aplicación de las microalgas

Las microalgas, como organismos fotosintéticos, son imprescindibles en el mantenimiento de la vida en La Tierra ya que proporcionan compuestos orgánicos reducidos y oxígeno para soportar al resto de la vida del planeta. Las microalgas son la principal fuente de producción fotosintética del planeta.

Como organismos unicelulares que son, tienen una capacidad de crecimiento y de generación de biomasa mucho mayor que las plantas superiores, ya que no necesitan arraigar o generar estructuras reproductoras, lo que les permite duplicarse en cuestión de horas. (Fernández Sevilla, 2014).

Finalmente, decir que las microalgas son capaces de ajustar su composición bioquímica a las condiciones de cultivo. Bajos niveles de nitrógeno inducen la acumulación de grasas. Elevados niveles de luz aumentan la acumulación de algunos carotenoides.

La biomasa de microalgas puede ser utilizada en la fertilización y acondicionamiento de suelos para uso agrícola, en la detección de contaminantes y evaluación de ecotoxicidad, en la depuración de aguas residuales y gases contaminantes y fundamentalmente, en la generación fotosintética de productos de interés agrícola, alimentario, industrial y energético.

2.4.3 Fotosíntesis

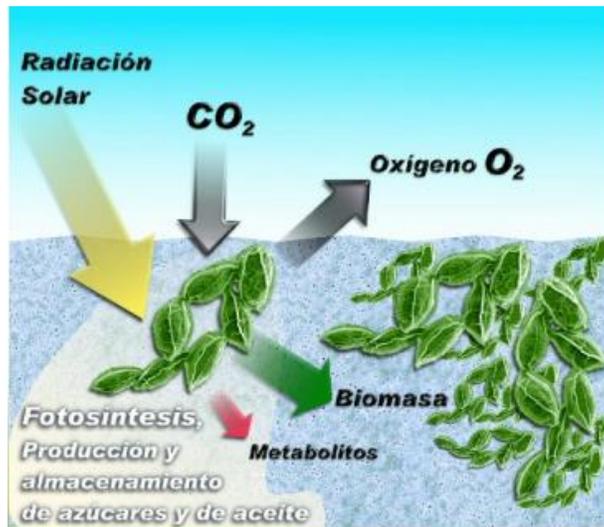
La fotosíntesis es un proceso metabólico que llevan a cabo algunas células de organismos autótrofos para sintetizar sustancias orgánicas a partir de otras inorgánicas. (González Céspedes, 2015).

De esta forma la energía puede convertirse en una energía química estable para las microalgas. El ATP (Adenosín Trifosfato) es la primera molécula en la cual dicha energía química se queda almacenada. Este proceso de fotosíntesis es totalmente

imprescindible para poder desarrollar la vida en el planeta ya que, a partir de luz y materia inorgánica, se puede sintetizar la materia orgánica y esto puede permitir fijar el dióxido de carbono (CO_2) y con ello liberarse el Oxígeno (O_2). Se representa de mejor manera en la siguiente imagen:

Figura 7.

Fotosíntesis de microalgas.



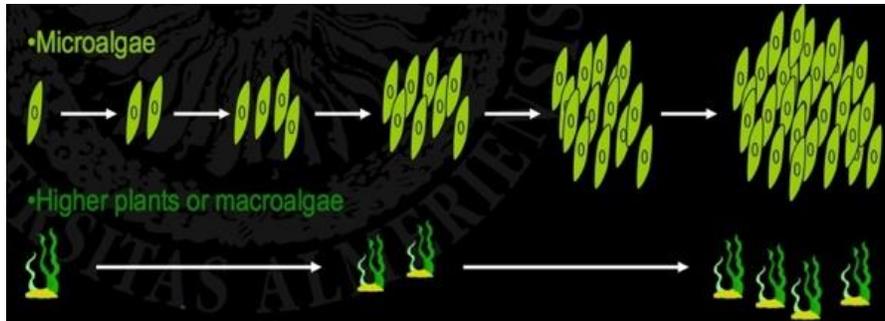
Nota. Adaptado de proceso de fotosíntesis realizado por microalgas (fotografía), por caja mar ADN agro, 2015, Cajamar. (<https://www.cajamar.es/storage/documents/microalgas-1444391623-ca345.pdf>)

2.4.4 Cultivo de microalga

Es de suma importancia poder conocer las condiciones óptimas y los límites de tolerancia que tiene una microalga para el mayor número de parámetros, tanto de manera individual como para el tratado en conjunto. En el cultivo masivo de microalgas el rendimiento alcanzado depende tanto de la concentración de células en el cultivo como del grado en que las células pueden desarrollar su potencial de crecimiento. Por tanto, para conseguir un cultivo de microalgas en crecimiento activo es necesario un inóculo viable, un suministro mínimo de nutrientes y microelementos y adecuadas condiciones químicas y físicas: luz, aireación, temperatura, salinidad y energía (Cañizares y col., 1994).

Figura 8.

Crecimiento de la microalga comparada con las plantas de microalga.



Nota. Adaptado de Chlorella (fotografía), por wikipedia, 2021, Wikipedia. (<https://es.wikipedia.org/wiki/Chlorella>)

Los factores para la producción de algas son varios, cómo para todo crecimiento de cualquier organismo existen factores que pueden alterar el desarrollo, como la temperatura, el medio, la concentración, el pH, nutrientes etc. Para un buen desarrollo de la microalga se requiere de CO₂, nitrógeno, fosforo, potasio, magnesio y otros nutrientes menores tal es el caso cómo los metales.

Los parámetros deben de determinarse previamente en el laboratorio y observar que las condiciones sean positivas para su manejo y sean de gran ayuda para la comprensión de las condiciones óptimas para el desarrollo de las distintas especies de cultivo.

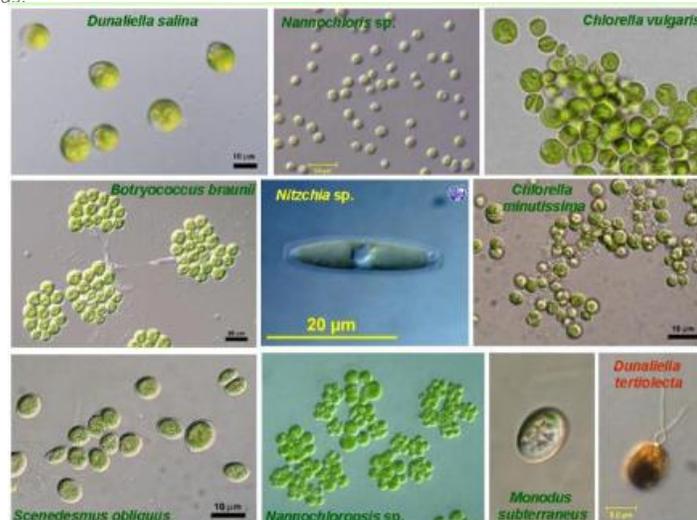
Especies de microalgas

La elección de las especies a cultivar depende directamente de la finalidad que se le desea brindar a la biomasa resultante y/o si el cultivo es para fitorremediación. Las especies algales predominantes dentro de un sistema abierto dependen de factores ambientales, operacionales y parámetros biológicos (McGriff & McKinney, 1972) (Abdel-Raouf et al. 2012).

Algunas especies presentes en aguas contaminadas son utilizadas en tratamientos de aguas residuales por su elevada tolerancia. Además, varias de éstas también son utilizadas para fines comerciales. Los géneros Chlorella, Ankistrodesmus, Scenedesmus, Euglena, Chlamydomonas, Oscillatoria, Micractinium, Golenkinia, Phormidium, Botryococcus, Spirulina, Nitzschia, Navicula y Stigeoclonium han sido

registrados en aguas residuales desde distintas procedencias (Borowitzka 1999, Rawat et al. 2011, Abdel-Raouf et al. 2012). Varias de éstas llegan a ser comercialmente interesantes para la alimentación humana y/o animal, la obtención de biocombustibles, aceites esenciales, pigmentos, entre otros usos.

Figura 9.
Distintos tipos de microalgas.



Nota. Adaptado de Microalgas (fotografía), por silo.tips, 2017, silo.tips.
(<https://silo.tips/download/microalgas-oleaginosas-grupo-de-bioenergia-facultad-de-ciencias-fisico-matematic>)

Luz

La intensidad lumínica es uno de los principales parámetros a considerar en un cultivo. En ausencia de limitación por nutrientes, la fotosíntesis se incrementa con el aumento de la intensidad lumínica, hasta alcanzar la máxima tasa de crecimiento específica para cada especie en el punto de saturación por luz (Park. 2011a). Si en dado caso se llega a pasar este punto, es decir, dar un excedente de luz puede llegarse a dar resultados perjudiciales para la misma célula e incluso la muerte, implicando pérdida de eficiencia fotosintética y productividad del cultivo.

Temperatura

En cuanto a la temperatura, la mayoría de las especies crecen entre de los 10 a 35 °C, con una temperatura óptima de 16-24°C. En el cultivo de microalgas existen 3 temperaturas a considerar: una temperatura mínima, la cual no es posible que se genere un crecimiento (aproximadamente 16°C), una temperatura óptima que ronda entre los 16 y 27 °C dependiendo de cada microalga y es una temperatura a la cual se produce el crecimiento más rápido, y finalmente una temperatura máxima, alrededor de 35°C, por encima de la cual el crecimiento no es posible.

En un sistema de cultivo cerrado, la temperatura se puede controlar por varios mecanismos, tales como rociadores de agua, inmersión del colector solar en piscinas, reactor dentro de un invernadero, etc. (Martínez 2008).

Aireación

Este paso es de suma importancia para lograr una homogeneización de los nutrientes y evitar la sedimentación de las microalgas. Un adecuado mezclado favorece una distribución homogénea de las células, de los metabolitos, el calor y la transferencia de gases a través de la interfase gas-líquido. (Caja mar ADN agro, 2015) Sin embargo, exceder el proceso de la agitación puede llegar a tener consecuencias, cómo por ejemplo, disminuir la tasa de crecimiento de la alga.

pH y CO₂

El pH del cultivo está influenciado por varios factores como la productividad algal, la respiración, la alcalinidad y composición iónica del medio de cultivo, la actividad microbiana autotrófica y heterotrófica y la eficiencia del sistema de adición de CO₂. (Martínez 2008) El CO₂ adecuado puede provocar la prolongación de un crecimiento exponencial a las microalgas. El CO₂ y el bicarbonato de sodio pueden afectar al pH del cultivo, el cual tiene que mantenerse controlado en óptimas condiciones para no matar a la microalga.

El pH puede controlarse con un sistema automatizado de inyección de CO₂, o incluso, con adicción de ácido o base permitiendo, además, suministrar CO₂ necesario para

cultivos de alta productividad. Cada microorganismo crece en un intervalo de pH particular y normalmente existe un pH óptimo que está bien definido para cada microalga, por ejemplo, se encuentra un poco por encima del pH neutro.

Atendiendo a la fuente de energía y de carbono las microalgas se pueden cultivar en distintos modos (Makareviciene et al., 2013):

- Autotrófico: Utiliza luz, natural o artificial, como fuente de energía y CO₂ como fuente de carbono.
- Heterotrófico: La energía y el carbono se obtienen de la oxidación de sustratos orgánicos. No todas las especies de microalgas pueden crecer en heterotrofia. Los costes de operación y riesgos de contaminación son elevados pero el control del proceso es máximo rindiendo elevadas productividades (Doucha y Lívanský, 2011; Perez-Garcia et al., 2011).
- Mixotrófico: Las microalgas realizan la fotosíntesis, pero en presencia de una fuente de carbono orgánico (Abreu et al., 2012; Mitra et al., 2012).

2.5 Chlorella Vulgaris

Del Reino Bacteria protista, es un alga unicelular de color verde, tiene un orden Chlorococcales, pertenece a la familia Oocytaceae y de género Chlorella.

CARACTERÍSTICAS

El alga tiene forma esférica, con un diámetro que es entre 100 y 1.000 veces menor a 1 mm. El color verde lo obtiene de los cloroplastos, que son las estructuras encargadas de realizar la fotosíntesis, Se conocen asociaciones simbióticas de esta alga con esponjas, paramecios e hidras.

Figura 10.
Microalga Chlorella Vulgaris



Nota. Adaptado de Chlorella vulgaris (fotografía), ArtisMicropia, ArtisMicropia. (https://www.micropia.nl/en/discover/microbiology/chlorella-vulgaris/)

La característica color verde le da nombre Chlorella al género, que significa pequeño verde.

2.6 Absorbancia microbiana

Para poder realizar los ensayos microbiológicos necesarios es un requerimiento muy importante trabajar con la misma cantidad de biomasa en una fase de crecimiento similar.

Una de las formas para medir la biomasa y determinar las fases de crecimiento de la misma es utilizando un método que relacione dicha biomasa con la magnitud física, este método se conoce como la absorbancia de luz la cual para obtener las determinaciones se utiliza un espectrofotómetro, en el cual la luz atraviesa un tubo conteniendo el cultivo bacteriano. El cambio entre la intensidad de luz que incide en el cultivo y la transmitida se registra en el espectrofotómetro como absorbancia. (Caracterización Microbiológica., s. f.)

A medida que la concentración celular aumenta, el cultivo se hace más turbio y se reduce la cantidad de luz transmitida que alcanza la célula fotoeléctrica. Esta reducción de la intensidad de luz transmitida es consecuencia de la difracción de la luz por parte de las células. Sin embargo, la absorbancia no es una medida directa del número de células, por lo cual es necesario realizar una curva de calibración para obtener la correspondencia entre las medidas de la biomasa en el cultivo y las de Absorbancia (medidas a 600 nm de longitud de onda).

El conteo en placa o de colonias es un método de medición de biomasa que permite el recuento de células viables y consiste en determinar el número de células capaces de reproducirse y generar colonias sobre un medio sólido (cada célula viable da origen a una colonia). Por lo tanto, este método no es capaz de cuantificar células vivas pero incapaces de reproducirse. (Caracterización Microbiológica., s. f.).

Capitulo IV. Desarrollo

Antes de comenzar el desarrollo hay que aclarar diversas situaciones, por ejemplo, la primera es que el cultivo de la microalga *Chlorella Vulgaris* estuvo 1 año en incubación, esperando por el crecimiento y desarrollo para posteriormente utilizarse.

A pesar de esto, se explicará todo, desde el primer paso hasta el último, pero siempre recordando el periodo de incubación que tuvo el medio de cultivo.

Elaboración del medio bold basal

El Medio Bold Basal es un medio de algas de agua dulce que se ha utilizado para cultivar una variedad de cultivos de algas verdes sin necesidad de extracto de suelo o vitaminas (Brown et al., 1964; Nichols y Bold, 1965).

La composición de este medio está constituida por soluciones comunes y Micronutrientes, los cuales se presentan a continuación:

Tabla 1.

Stock solutions, componente y nombre químico

Componente	Nombre
NaNO₃	Nitrato de sodio
CaCl₂·2H₂O	Cloruro de calcio dihidratado
K₂HPO₄	Fosfato dipotásico
KH₂PO₄	Fosfato monopotásico
MgSO₄·7H₂O	Sulfato de magnesio (heptahidratado)
NaCl	Cloruro de sodio
KOH	Hidróxido de potasio
FeSO₄·7H₂O	Sulfato de hierro (heptahidratado)
H₂SO₄	Ácido sulfúrico
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético

Tabla 2.

Micronutrientes para el medio bold basal, componente y nombre químico.

Componente	Nombre
ZnSO₄·7H₂O	Sulfato de Zinc (Heptahidratado)
CuSO₄·5H₂O	Sulfato de Cobre (II) (Pentahidratado)
CO(NO₃)₂·3H₂O	Nitrato de Cobre (II) (Trihidratado)
MnCl₂·4H₂O	Cloruro de Magnesio (II) (Tetrahidratado)

El motivo de realizar este paso es porque se necesita un medio de cultivo apropiado y en óptimas condiciones para que la microalga pueda crecer y desarrollarse, que sea un medio en el que los nutrientes sirvan para un crecimiento positivo.

Los componentes en la tabla anterior son mezclados en un recipiente con agua destilada, todo ello con tal de obtener el medio de cultivo adecuado. Hay que ajustar el pH 6.8 ± 0.2 .

Esterilización

Una vez obtenida la homogenización del medio cultivo se procede a una esterilización, es decir, son llevados a una autoclave para eliminar cualquier carga microbiana, ya sea patógena o no, de los productos. El tiempo que estará la muestra dentro del autoclave es aproximadamente 20 minutos a una presión de 1 atmósfera y una temperatura promedio de 120 °C.

Figura 12.

Autoclave para esterilización.



Incubación

Controlar la temperatura, la humedad y otras condiciones bajo las cuales pueda crecer un cultivo microbiológico. Este es el proceso de desarrollo y multiplicación al cual se somete *Chlorella Vulgaris*.

La muestra estuvo a una temperatura de entre 25 °C y 30 °C, con la iluminación de una luz cálida de 20 W, un espectro de luz de 2 700 K/Cálida.

Figura 13.

Incubadora para el crecimiento del alga.



Prueba microscópica (1)

Se observaron al microscopio para ver que las células estuvieran vivas.

Proceso de aireación

Regula el proceso de crecimiento en funciones biológicas de la *Chlorella Vulgaris*.

Se tuvo en cuenta la aireación en donde el CO₂ que se inyectó fue de 380 ppm, la cual fue suministrada por bombas de aire para acuario de dos salidas, la parte inferior de cada manguera se instaló un difusor con el fin de evitar la sedimentación del cultivo y su caudal de aire se reguló mediante válvulas.

Figura 14.

*Matraz Erlenmeyer sometido a proceso de aireación con la microalga *Chlorella Vulgaris*.*



Sembrado de cultivo

Introducir artificialmente una porción de muestra a un medio adecuado, con el fin de iniciar un cultivo microbiano. 1 año de crecimiento y purificación.

Figura 15.

Sembrado de cultivo en tubos de ensayo.



Prueba microscópica (2)

Se realizaron pruebas en el microscopio de 5 tubos con la microalga *Chlorella Vulgaris* para poder observar su composición de cada uno de los tubos y verificar de qué está compuesto.

Los tubos venían indicados en una numeración, la cual era: 2.2, 2.3, 4.1, 4.2, 4.3. Se realizaron las pruebas de cada tubo y de ellas se tomaron al menos 5 o 6 fotografías de la microalga.

Figura 16.

Tubos de ensayo estudiados.



El procedimiento que se realizó para poder ver la microalga fue, tomar el tubo en donde se encontraba la muestra y succionar solamente una gota, dicha acción se realizó con una pipeta de un solo canal (Todas las muestras fueron sacadas por una pipeta de un solo canal), se colocaba en el portaobjetos, previamente limpiado con alcohol y una servilleta, y se le ponía el cubreobjetos para que la muestra se esparciera (igualmente limpio).

Figura 17.
Pipeta de un solo canal.



Figura 18.
Cubreobjetos.

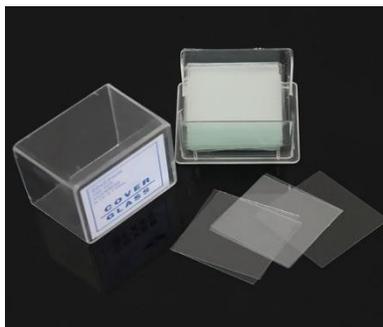


Figura 19.
Portaobjetos.

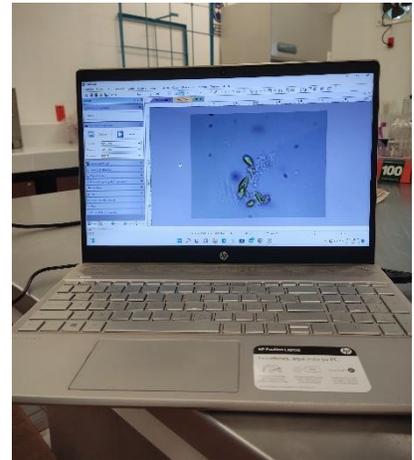


Una vez colocado todo, se procedía a colocar el portaobjetos en el microscopio con el objetivo de 40 para poder observar de buena manera la muestra. Para poder observar las muestras y poder fotografiarlas se utilizó una cámara para el microscopio denominada AmScope MD35 que se coloca en uno de los oculares, se conecta a la computadora y se instala un Software para poder apreciar de buena manera lo que el microscopio proyecta.

Figuras 20.

Lente utilizado

Programa utilizado para ver las microalgas en la computadora.



Para poder saber realmente lo que se ve en las fotografías es necesario saber todo sobre esta microalga, es decir, su morfología, su tamaño, si comparte espacio con otra microalga, cómo se comporta, etc. Es por ello que en el marco teórico se especificó cada una de estas características y con ello poder identificarla de mejor manera por el microscopio.

Ahora, una vez sabiendo la información “estándar” de la microalga realizaremos la comparación de esta con las imágenes sacadas de los distintos tubos que se utilizaron y veremos en cuántos de estos se encuentra de manera exacta.

Tubo 2.2

En este tubo se tomaron 5 fotografías en las que se veía una comunidad verde.

La ilustración 1 es la primera fotografía que se realizó al tubo en cuestión, se ve una comunidad verde, la forma que tienen no son circulares por lo que se cree es otro tipo de microalga, la cual recibe el nombre de Scenedesmus Acutus.

Se puede observar que dicha comunidad verde tiene como cierta forma de “ojo” en las inmediaciones de su morfología.

No obstante, también se encontró en los distintos tubos estudiados otro tipo de microalga habitante de nombre Monodus Subterraneus y que más adelante se expondrá la forma que tiene.

Se pondrán a continuación las siguientes imágenes que fueron tomadas y se verá cuántas microalgas hay en el tubo 2.2

Figuras (2.2.1, 2.2.2, 2.2.3, 2.2.4, 2.2.5).
Microalgas encontradas en el microscopio.

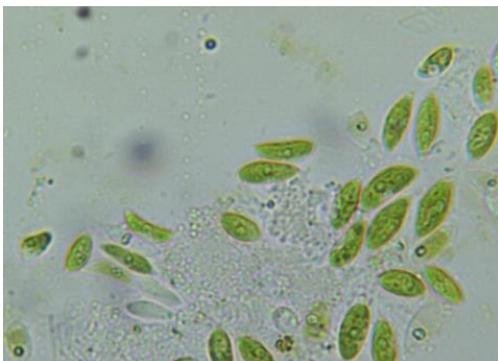


Figura 2.2.1



Figura 2.2.2



Figura 2.2.3

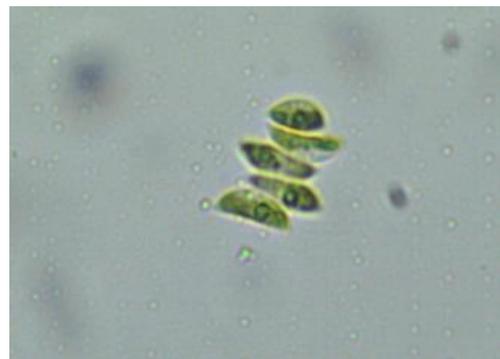


Figura 2.2.4



Figura 2.2.5

De las imágenes puestas anteriormente la imagen número 4 contiene la microalga de *Scenedesmus Acutus* mientras que la Ilustración 1, 2 y 5 hay un círculo pequeño lo cual nos indica que es la microalga *Chlorella Vulgaris*. Y de la microalga denominada *Monodus Subterraneus* se aprecia en la Ilustración 3.

Tubo 2.3

Ahora se pondrán las imágenes del tubo 2.3 en el cual se tomaron 6 imágenes, las cuales se presentarán a continuación y se observara nuevamente qué tipo de microalga contiene este tubo.

Figuras (2.3.1, 2.3.2, 2.3.3, 2.3.4, 2.3.5, 2.3.6).

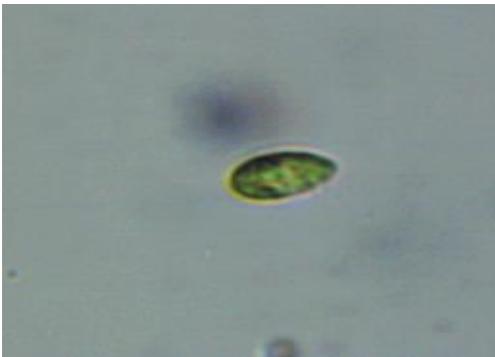


Figura 2.3.1



Figura 2.3.2

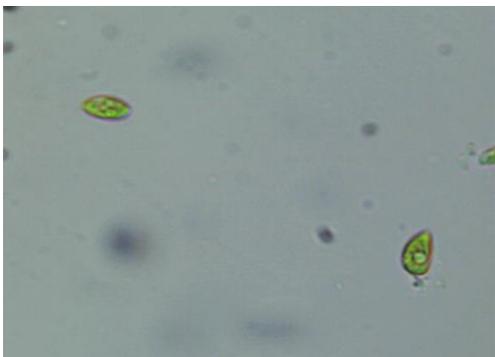


Figura 2.3.3



Figura 2.3.4



Figura 2.3.5



Figura 2.3.6

De las ilustraciones puestas para este tubo, podría ser que en la ilustración 2 esté *Chlorella Vulgaris*, en la ilustración 1, 4 y 6 se puede apreciar a *Monodus Subterraneus* y en las demás la comunidad que más abunda es la de *Scenedesmus Acutus*.

Tubo 4.1

Ahora será la ocasión de mostrar las imágenes del tubo 4.1 y verificar qué tipo tiene.

Figuras (4.1.1, 4.1.2, 4.1.3, 4.1.4, 4.1.5, 4.1.6).



Figura 4.1.1



Figura 4.1.2



Figura 4.1.3

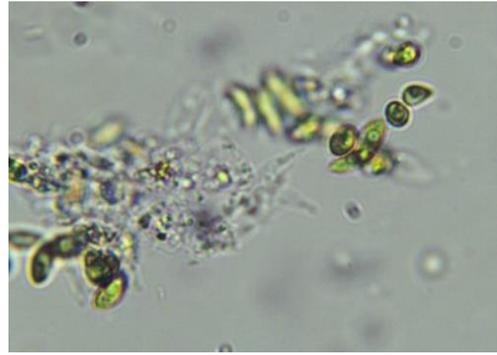


Figura 4.1.4



Figura 4.1.5



Figura 4.1.6

Del tubo en cuestión podemos notar que en la ilustración 1, 2 y 4 contiene al menos una microalga de *Chlorella Vulgaris* mientras que en las demás imágenes (Incluidas las mencionadas) contienen *Scenedesmus Acutus*. Por su parte la microalga de *Monodus Subterraneus* podría estar presente en la ilustración 2, 4, 5 y 6.

Tubo 4.2

Figuras (4.2.1, 4.2.2, 4.2.3, 4.2.4, 4.2.5).



Figura 4.2.1



Figura 4.2.2



Figura 4.2.3

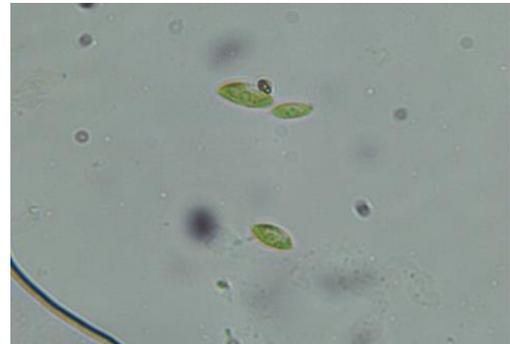


Figura 4.2.4

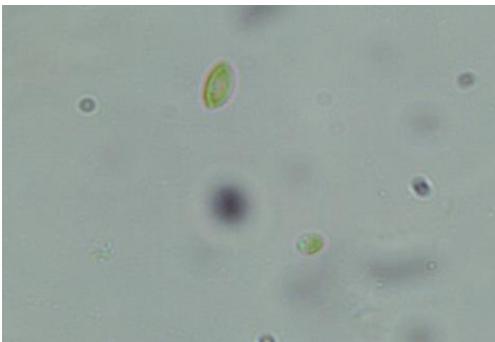


Figura 4.2.5

Para el tubo en cuestión se puede encontrar una sola microalga *Chlorella Vulgaris* en la ilustración 3 y 5.

Tubo 4.3

Figuras (4.3.1, 4.3.2, 4.3.3, 4.3.4, 4.3.5, 4.3.6).



Figura 4.3.1



Figura 4.3.2

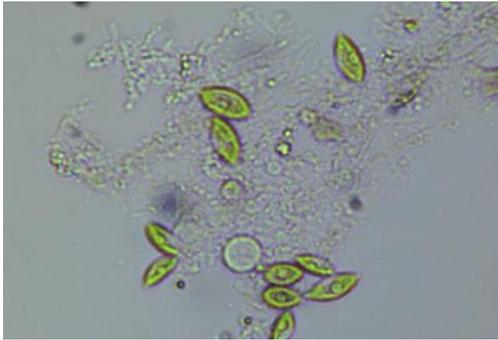


Figura 4.3.3



Figura 4.3.4

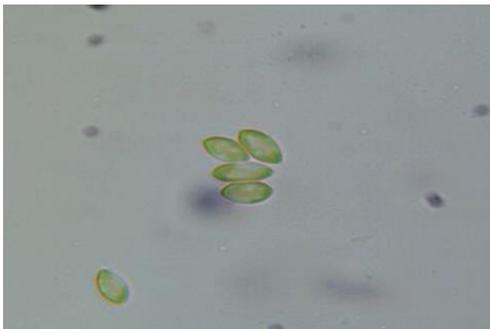


Figura 4.3.5



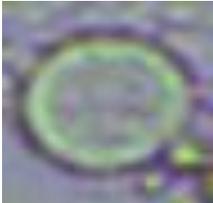
Figura 4.3.6

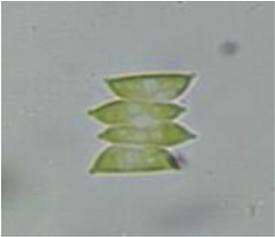
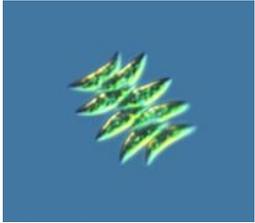
Para este último tubo se mostró una colonia verde incluso mayor que tubos anteriores, pero no de *Chlorella*, solamente en la Ilustración 1 y la Ilustración 3 se tiene presencia de ella. Así mismo *Monodus Subterraneus* se encuentra en las Ilustraciones 4, 5 y 6; logrando con esto que el tubo 4.3 sea el que más población tenga de esta misma.

Se realiza una tabla comparativa en la que se colocan las microalgas encontradas en los tubos con las microalgas que se buscan en internet: (en la parte de la segunda imagen se aprecia que son de 2 tipos, pero en la búsqueda se opta por elegir *Scenedesmus* ya que es la colonia con características que más se acercan a las encontradas en la muestra práctica, el fin de la tabla es mostrar las variantes que hay y sus características para identificarlas).

Tabla 3.

Tabla comparativa de microalgas.

Microalgas capturadas en el microscopio	Microalgas buscadas en internet que sea idéntica	Características	DIVISIÓN	Familia
<p><i>Chlorella Vulgaris</i></p>  <p>Figura 1</p>	<p><i>Chlorella Vulgaris</i></p>  <p>Figura 1.1</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Es una célula microscópica esférica con un diámetro de 2 a 10 µm. - Contiene los pigmentos verdes fotosintetizadores clorofila a y b en su cloroplasto. - Es una célula reproductiva no móvil que se reproduce asexualmente.¹ 	<p>CHLOROPHYT A</p>	<p>CHLORELLACEAE</p>

 <p>Figura 2</p>	<p>2.1- <i>Scenedesmus Acutus</i></p>  <p>Figura 2.1</p> <p>2.2- <i>Desmodesmus</i></p>  <p>Figura 2.2</p>	<p>2.1</p> <ul style="list-style-type: none"> - Está constituido por algas verdes que se alinean en filas cortas de 4, 8 o 16 células. Así, unas veces forman una hilera simple, otras veces doble. - Rondan los 20 μm.² <p>2.2</p> <ul style="list-style-type: none"> - Son organismos coloniales, la colonia es plana y formada en general por 2, 4, 8, 16 e incluso 32 células. -Las células pueden ser elipsoides, ovoides, fusiformes o lunadas.³ - Rondan de los 10 – 25 μm.⁴ 	<p>CHLOROPHYT A</p>	<p>SCENEDESMACEAE</p>
 <p>Figura 1</p>	<p>3.1.- <i>Monodus Subterraneus</i></p>  <p>Figura 3.1</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Pueden llegar a medir desde 5 hasta 10 μm - Está constituido mayormente por algas verdes y las formas pueden ser ovaladas u ovoides.⁵ 	<p>XANTHOPHYT A</p>	<p>PLEUROCLORIDÁCEA S</p>

Pruebas

Se realizaron 3 ensayos en los que son distintas mezclas, observando cómo se comportan al mezclarse y si son realmente compatibles, conocer

Se realiza una tabla con la simbología adecuada para representar lo que se hace en el ensayo y tener en cuenta para obtener los resultados.

Tabla 4.

Tabla de controles.

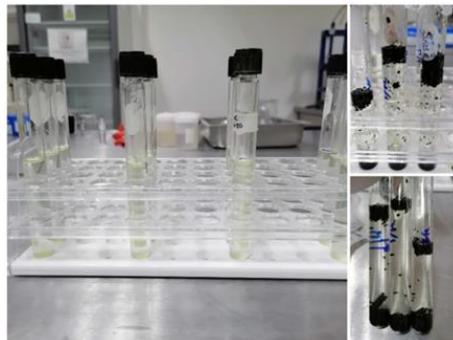
Control 1	Solo medio de cultivo (S.M)
Control 2	Medio de cultivo con Tolueno (M+T)
Control 3	Medio de cultivo con Tolueno + Carbón activado (M+T+C)
Control 4	Medio de cultivo con Carbón activado (M+C)

Ensayo 1

Se compone de un tubo de ensayo que sirve normalmente cómo un biorreactor, comienza siendo (S.M) para posteriormente pasar a ser (M+T), luego se le agrega (C+M) para que al final quede compuesto como (M+ T + C).

Figura 21.

Tubos de ensayo.



Ensayo 2

El ensayo es prácticamente el mismo procedimiento que el ensayo 1, la única diferencia acá es la concentración de Tolueno, ya que se aplicó en mayor cantidad para valorar y apreciar cómo actúa la microalga.

Ensayo 3

Para este proceso, el ensayo cambia de orden, ya que de primera instancia se empieza con el (S.M), posteriormente se le agrega carbón activado para quedar (M + C), finalmente se le agrega el contaminante usado, tolueno (C + M + T).

Figura 22.

Tubos de ensayo con muestra Chlorella.



Capitulo V. Resultados

Crecimiento cultivo patrón

El cultivo se mantuvo a 25-30°C, con aireación y en presencia de luz durante 12 días, fotoperiodo de 12:12h, para favorecer el crecimiento de Chlorella.

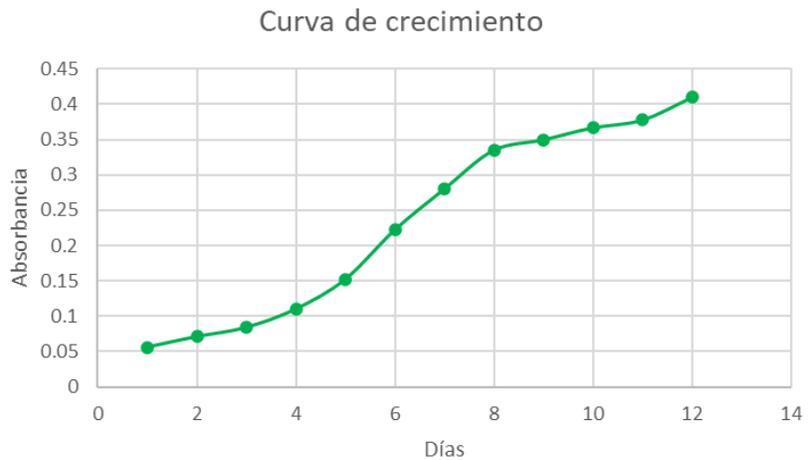
Tabla 5.

Tabla comparativa de microalgas.

Días	Adsorbancia
1	0.056
2	0.071
3	0.084
4	0.11
5	0.152
6	0.222
7	0.28
8	0.335
9	0.35
10	0.367
11	0.378
12	0.41

Figura 23.

Gráfica de la curva de crecimiento.



Para esta parte se plasman los resultados obtenidos de cada ensayo.

Ensayo 1

Para esta parte del ensayo se observó, gracias a las actividades realizadas, que la microalga Chlorella Vulgaris si presenta crecimiento con la aplicación de tolueno.

Figura 24.

Muestra de microalga.



Figura 25.

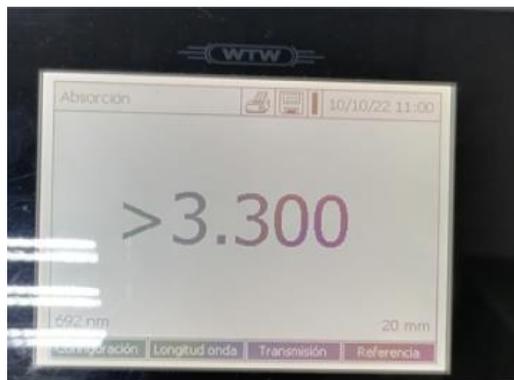
Muestra de microalga



Se coloca la muestra en el espectrofotómetro para medir su absorbancia, obteniendo el valor a continuación presentado en la imagen.

Figura 26.

Valor en el espectrofotómetro.



Ensayo 2

Para este paso se descarta el ensayo 2 ya que existen dos motivos o razones por las cuales este ensayo se descarta:

- El Tolueno sí influye a mayores concentraciones
- Si aumenta la concentración de Tolueno se debe aumentar la cantidad de carbón activado.

Figura 27.

Tolueno en tubo de ensayo.



Figura 28.

Tolueno en tubo de ensayo.



Figura 29.

Tolueno en tubo de ensayo.



Ensayo 3

Para el último ensayo se recrea una tabla comparada con una gráfica para representar la absorbancia que tuvo la microalga con respecto a los días transcurridos.

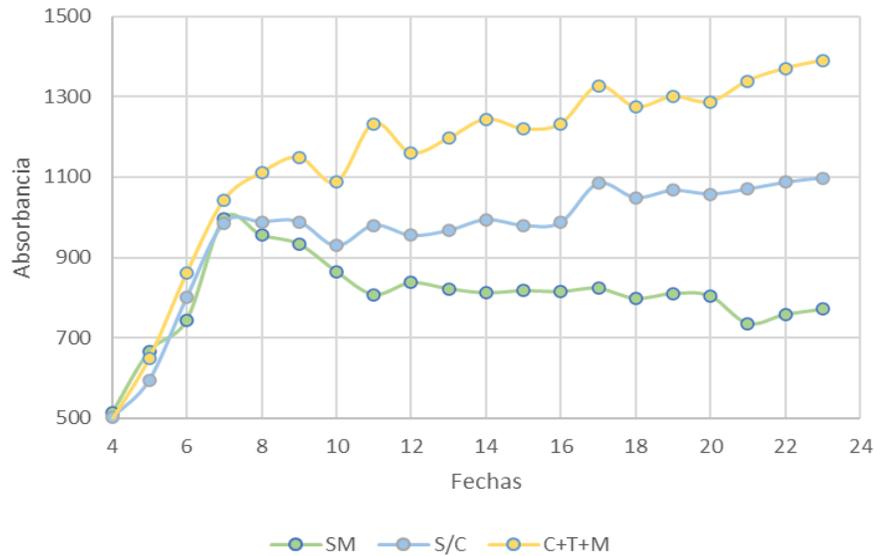
Tabla 6.

Absorbancias de cada método con respecto a los días.

Días	Fecha	SM	SM/C	C+T+M
1	4	513	501	496
2	5	667	595	650
3	6	744	800	861
4	7	996	986	1043
5	8	955	989	1111
6	9	933	989	1149
7	10	865	929	1087
8	11	808	980	1233
9	12	837	955	1160
10	13	822	967	1196
11	14	812	994	1244
12	15	817	980	1220
13	16	815	987	1232
14	17	823	1084	1326
15	18	798	1049	1274
16	19	810	1067	1300
17	20	804	1058	1287
18	21	736	1070	1339
19	22	758	1087	1370
20	23	771	1098	1390

Figura 30.

Curvas de absorbancia respecto a los días.



Capitulo VI. Conclusiones

De manera general podemos decir que al termino del proyecto se lograron cosas buenas, se obtuvieron muestras en óptimas condiciones, cultivos en buen estado y cada paso que se llevó a cabo fueron cumplidos a la perfección para poder lograr los objetivos que se establecieron desde un inicio.

Se llevo a la conclusión que se obtuvieron resultados favorables y acertados a los objetivos planteados en el proyecto.

Ya que el carbón activado junto con el tolueno trabaja de manera positiva y buena para hacer crecer la Chlorella, teniendo en cuenta que el carbón activado sirve muy bien cómo adsorbente y purificador tanto en los cuerpos de agua cómo en el aire. Los carbones activados mantienen su capacidad de adsorción después de varios ciclos de adsorción-desorción, por lo que resultan aptos para su aplicación industrial.

Por los resultados que se obtuvieron en este estudio, se sugiere la factibilidad del uso de los carbones activados cómo un adsorbente de los compuestos aromáticos solubles en el agua, sirven demasiado para la pureza de estos contaminantes.

Gracias a las pruebas realizadas en el espectrofotómetro la absorbancia obtenida fue una señal de optimismo, ya que se tuvieron valores favorables, los cuales se establecen dentro de los rangos, tanto así que sabíamos que la prueba estaba siendo bien ejecutada.

Como punto final del presente estudio, se mostraron una tasa de crecimiento en las algas expuestas a las concentraciones de tolueno, siendo mayor el efecto positivo a bajas concentraciones, pero a medida que la concentración de tolueno aumenta debe aumentar el purificador, con ello se tiene una idea buena sobre el uso de estos contaminantes purificados cómo una excelente fuente de carbono para las microalgas.

Recomendaciones

Como recomendaciones para llevar a cabo la investigación y/o mejorarla se puede mencionar lo siguiente:

- Tener cuidado en realizar este experimento con un tiempo espacial lo más aproximado posible.
- Realizar el medio bold basal con anticipación y con los volúmenes y cantidades exactos.
- Manejar de manera cuidadosa la autoclave y con extrema precaución.
- Manejar con extrema precaución la solución (Tolueno) al entrar en contacto con las microalgas y carbón activado.

Experiencia personal adquirida

Fue un gusto para mí como estudiante de ingeniería química poder realizar mi residencia profesional en el Instituto Tecnológico de Tuxtla, debido a que es un centro de estudio de alto prestigio en el estado y en la capital de la ciudad, ya que cuentan con docentes especializados en su ámbito, con conocimientos para preparar jóvenes y futuros investigadores capaces de contribuir a la sociedad con soluciones a problemas nacionales en el área de competencia de investigación.

La experiencia personal adquirida en esta institución fue gracias a que se pertenece al ámbito de investigación, pues generé diferentes habilidades y destrezas para poder analizar información de diferentes fuentes y con ello, ir construyendo un nuevo conocimiento, una nueva aportación, una nueva opinión. Además, aprendí técnicas para buscar, leer y comprender de una mejor manera las artículos y revistas científicas.

La experiencia adquirida dentro de la residencia profesional también abarca la manera en trabajar en equipo, como lo fue la comunicación con mis asesores. Los conocimientos adquiridos sobre los hidrocarburos aromáticos, la contaminación de aguas por hidrocarburos, su manejo y tratamiento, carbones activados, microalgas de todo tipo y cómo se cultivan, siendo temas fundamentales que no se ven a lo largo de cada semestre. Aplicar los conocimientos adquiridos en la escuela y utilizarlos en un panorama de investigación, fue notablemente bueno, todo esto fue posible gracias al apoyo de mis asesores.

Capítulo VII. Competencias desarrolladas

Dentro de las distintas actividades realizadas durante el tiempo de la residencia profesional en TecNM campus Tuxtla Gutiérrez, gracias a este proyecto desempeñé la búsqueda y revisión bibliográfica respecto a las microalgas, BTEX (Benceno, Tolueno, Etilbenceno y Xileno), carbones activados y mediante las indagatorias de información se conocieron cómo actúan las microalgas, cómo funciona el carbón activado en contacto con algún hidrocarburo y esto enfocado en la adsorción de Tolueno en un carbón activado con *Chlorella Vulgaris*.

Se utilizaron diferentes herramientas como fuentes de información y plataformas que permitan el acceso a información, tales como artículos, revistas científicas, libros, páginas web, etc. Se indagaron las estructuras de los distintos materiales estudiados y ver cómo se comportan cada uno de ellos. Leer, comprender, analizar y describir los pasos que se llevaron a cabo para obtener la curva de crecimiento de la microalga. Describir las principales procesos y técnicas utilizadas. Es imprescindible llevar a cabo una metodología bien estructurada para tener los resultados más precisos. Se reforzó el uso de aparatos cómo pipetas, microscopios, muestras en portaobjetos, etc.

Capítulo VIII. Fuentes de información

¹ EcuRed. (s. f.). Chlorella Vulgaris - EcuRed. https://www.ecured.cu/Chlorella_Vulgaris

² Flickr. (s.f.). SCENEDESMUS ACUTUS, EL FRÍO DE LAS LUNAS, EMBALSE DE LA GRAJERA – Flickr. <https://www.flickr.com/photos/microagua/32794390290/in/photostream/>

³ Desmodesmus. (s. f.). fitoplancton. <https://pcpulido.wixsite.com/fitoplancton/desmodesmus>

⁴ Desmodesmus protuberans (F. E. Fritsch & M. F. Rich) E. Hegewald; AlgaeBase. (s. f.). https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=42437

⁵ <https://ccala.butbn.cas.cz/en/monodopsis-subterranea-j-b-petersen-hibberd>

Abdel-Raouf N, AA Al-Homaidan & IBM Ibraheem. 2012. *Microalgae and wastewater treatment*. Saudi Journal of Biological Sciences 19: 257-275.

Alahabadi, A., Singh, P., Raizada, P., Anastopoulos, L., Sivamani, S., Dotto, G., Landarani, M., Ivanets, A., Kyzas, G. & Hosseini-Bandegharai, A. (2020). *Activated carbon from Wood wastes for the removal of uranium and thorium ions through modification with mineral acid*. Journal of Colloids and surface a: Physicochemical and engineering aspects. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2020.125516

ATDSR. (1 de Junio de 2017). ToxFAQs - Tolueno (Toluene). https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts56.html

Bolívar, G. (2020, 26 mayo). *Isotermas de adsorción: concepto, tipos, ejemplos*. Lifeder. <https://www.lifeder.com/isotermas-de-adsorcion/>

Brown, R.M., Larson, D.A., and H.C. Bold. (1964) Science 143 (3606), 583-585.

Cai C, Geng F, Tie X, Yu Q, An J. (2010). *Characteristics and source apportionment of VOCs measured in Shanghai, China*. Atmospheric Environment, 44(38): 5005–5014

Caja mar ADN agro, 2015, Cajamar. (<https://www.cajamar.es/storage/documents/microalgas-1444391623-ca345.pdf>)

Cañizares, R.O., Rivas, L., Montes, C., Domínguez, A.R., Travieso, L., Benítez, F. (1994). *Aerted swine wastewater treatment with k-carrageenan immobilized Spirulina máxima*. Bioresource Technol 47:89-91.

Caracterización Microbiológica. (s. f.). http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2685/5_-_Caracterizaci%C3%B3n_microbiol%C3%B3gica.pdf?sequence=10&isAllowed=y

De Yuso Ariza, A.M. (2012). *DESARROLLO DE CARBONES ACTIVADOS A PARTIR DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS PARA LA ADSORCIÓN Y RECUPERACIÓN DE TOLUENO Y N-HEXANO* (Tesis de Doctorado. Universidad San Jorge.)

<file:///C:/Users/llave/OneDrive/Documentos/Residencia/Realizaci%C3%B3n%20de%20la%20residencia/Documentos%20descargados/DESARROLLO%20DE%20CARBONES%20ACTIVADOS%20A%20PARTIR%20DE%20RESIDUOS%20LIGNOCELUL%C3%93SICOS%20PARA%20LA%20ADSORCI%C3%93N%20Y%20RECUPE RACI%C3%93N%20DE%20TOLUENO%20Y%20N-HEXANO.pdf>

Franca, A. S., Oliveira, L. S., Nunes, A. A., & Alves, C. C. O. (2010). *Microwave assisted thermal treatment of defective coffee beans press cake for the production of adsorbents*. *Bioresource Technology*, 101, 1068–1074.

Elva Mendoza @elva_contra. (2021, 4 noviembre). *Contaminados, siete de cada 10 ríos de México*. Contralínea. <https://contralinea.com.mx/portada/contaminados-siete-de-cada-10-rios-de-mexico/>

Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. *PROPIEDADES DE LOS HIDROCARBUROS AROMATICOS*. <https://www.insst.es/documents/94886/162038/6.+Hidrocarburos+arom%C3%A1ticos+-+Hidrocarburos+arom%C3%A1ticos+halogenados+-+Hidrocarburos+poliarom%C3%A1ticos+-+Isocianatos+-+Cetonas>

Environmental Protection Agency. (2005). *Toxicological Review of Toluene*. EPA/635/R-05/004. Estados Unidos: Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA).

Fernández Sevilla, J. M. (2014). *Microalgas - definición y características*. Ingeniería de Procesos aplicada a la Biotecnología de Microalgas. <https://w3.ual.es/%7Ejfernand/ProcMicro70801207/tema-1---generalidades/1-1-microalgas.html>

González Céspedes, A. (2015, octubre). *¿Qué son las microalgas? Interés y uso*. Cajamar ADN agro. <https://www.cajamar.es/storage/documents/microalgas-1444391623-ca345.pdf>

GONZÁLEZ NAVARRETE, B. D. (2017). *DESARROLLO DE CARBÓN ACTIVADO A PARTIR DE DESECHOS AGROINDUSTRIALES CON APLICACIÓN EN ADSORCIÓN DE ARSÉNICO* (Tesis de Licenciatura, Universidad de Chile). <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/147405/Desarrollo-de-carb%C3%B3n->

activado-a-partir-de-desechos-agroindustriales-con-aplicacion-en-adsorcion.pdf?sequence=1&isAllowed=y

IUPAC, 1977. *Compendium of chemical terminology: the gold book*, segunda edición, recopilado por McNaught, A.D. y Wilkinson, A. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

K. S. W. Sing, D. H. Everett, R. a. W. Haul, L. Moscou, L. a. Pierotti, J. Rouquerol, and T. Siemieniowska (1985). *Reporting physisorption data for gas/soils systems with special reference to the determination of surface area and porosity*, Pure Appl. Chem., vol. 57, no. 4, pp. 603–619.

Kingston, P.F. (2002). Long-term Environmental Impact Of Oil Spills. *Spill Science & Technology Bulletin*, 7, 53-61.

Martínez L. 2008. *Eliminación de CO₂ con microalgas autóctonas*. (Tesis Doctoral, Instituto de Recursos Naturales, Universidad de León).

McGriff J & RE McKinney. 1972. *The removal of nutrients and organics by activated algae*. *Water Research* 6: 1155-1164.

Nichols H.W., and H.C. Bold (1965) *J. Phycology* 1, 34-38.

Park J, R Craggs & A Shilton. (2011) a. *Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production*. *Bioresource Technology* 102: 35-42.

Ramírez, P. (2022). *Pemex registra 176 derrames y fugas de alto impacto ambiental de 2018 a 2021*. *Causa Natura*. <https://causanatura.org/periodismo-cn/pemex-registra-176-derrames-y-fugas-de-alto-impacto-ambiental-de-2018-a-2021>

Prieto Díaz, V.I., & Martínez de Villa Pérez, A. (1999). *La contaminación de las aguas por hidrocarburos: un enfoque para abordar su estudio*. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 37, 13-20.

Riazi, M.R., & Roomi, Y. A. (2008). A Model to Predict Rate of Dissolution of Toxic Compounds into Seawater from an Oil Spill. *International Journal of Toxicology*, 27, 379-386.

Rodrigues, E., Almeida, O., Fernandes, H., Moraes, D. & Reis, M. (2019). *Adsorption of chromium (VI) on hydroxalcite-hydroxyapatite material doped with carbon nanotubes: Equilibrium, kinetic and thermodynamic study*. *Journal of Applied clay science*. 57-64. DOI: 10.1016/J.CLAY.2019.02.018

Rodríguez-Reinoso, F. (1998). *The role of carbon materials in heterogeneous catalysis*. Journal of Carbon. 159-175. DOI: 10.1016/S0008-6223(97)00173-5

W.J. Weber, Jr., (1972). *Physicochemical Processes for Water Quality Control*, Wiley-Interscience, Nueva York.

Wade, L. G. (2010). *Química Orgánica* (7ma ed., Vol. 2). Pearson Education, Inc., pp. 759.

Capítulo IX. Anexos

Figura 31.

Ubicación geográfica del ITTG.

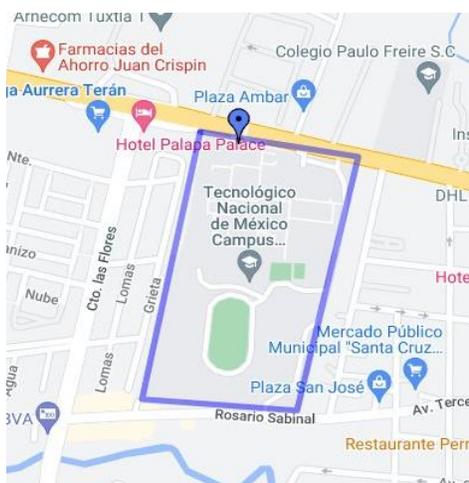


Figura 32.

Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez.



Figura 33.

Lugar de Realización de la residencia, Polo tecnológico.

