

Uso de efluentes mineros para la producción de colorantes a base de algas

Use of mining effluents for the production of algal-based colorants

Michael E. Pérez-Roa^{1,2}  Maria D. Ortiz-Álvarez^{1,3}  Janet B. García-Martínez³  Andrés F. Barajas-Solano³  Crisóstomo Barajas-Solano¹ 

¹Escuela de Ingeniería Química, Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia.

²Departamento de Ingeniería Química, Materiales y Ambiental, Sapienza Universidad. Roma, Italy

³Departamento de Ciencias del medio ambiente, Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente, Universidad Francisco de Paula Santander. Cúcuta, Colombia

Resumen

En esta investigación se utilizó un efluente minero para producir biomasa microalgal y cianobacterial para la obtención de pigmentos rojos (carotenoides) y azules (ficocianina). Se aislaron dos cepas de una fuente hidrotermal de Norte de Santander y se cultivaron en aguas residuales mineras mezcladas al 50% con medio BG-11 para la cianobacteria Osci_UFPS01 y al 50% con medio Bold Basal para la microalga Chlo_UFPS01. Se desarrolló un diseño experimental de carbono, nitrógeno y fósforo, y posteriormente se utilizó el análisis de superficie de respuesta (RSM) para determinar las condiciones de operación óptimas para la formación de los productos de interés. Se observó una notable disminución de la producción de pigmentos en comparación con la de los controles sin aguas residuales mineras. En conjunto, se obtuvo un 45% de ficocianina (C PC) por unidad de peso seco (PS) y un 1.129% (p/p) de carotenoides en los cultivos con mezcla de aguas residuales mineras en los procesos finales de optimización.

Abstract

In this research, a mining effluent was used to produce microalgal and cyanobacterial biomass to obtain red (carotenoids) and blue pigments (phycocyanin). Two strains were isolated from a hydrothermal source in Norte de Santander and grown in mining wastewater mixed with 50% BG-11 medium for the Osci_UFPS01 cyanobacterium and 50% with Bold Basal medium for the Chlo_UFPS01 microalgae. A carbon, nitrogen, and phosphorus experiment design was developed, and subsequent response surface analysis (RSM) was used to determine the optimal operating conditions for the formation of the products of interest. A notable decrease in pigment production was observed compared to that in the controls without mining wastewater. Overall, 45% of phycocyanin (C PC) per unit dry weight (DW) and 1,129% (w/w) of carotenoids were obtained in the cultures with a mining wastewater mixture in the final optimization processes.

Keywords: acid mine drainage; Carotenoids; Cyanobacteria; Microalgae; Phycocyanin; Response surface.

Palabras clave: drenaje ácido de mina; Carotenoides; Cianobacterias; Microalgas; Ficocianina; Superficie de respuesta.

¿Cómo citar?

Pérez-Roa, M.E., Ortiz-Álvarez, M.D., García-Martínez, J.B., Barajas-Solano, A.F., Barajas-Solano, C. Uso de efluentes mineros para la producción de colorantes a base de algas. Ingeniería y Competitividad, 2024, 26(3)e-20313752

<https://doi.org/10.25100/iyc.v26i3.13752>

Recibido: 6-04-24

Aceptado: 11-08-24

Correspondencia:

perezroa.michaelgardo@uniroma1.it

Esta obra está bajo una licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License.

Conflicto de intereses: ninguno declarado



OPEN  ACCESS

¿Por qué se realizó?:

El estudio tuvo como objetivo investigar el uso de efluentes mineros para la producción de biomasa de microalgas y cianobacterias para obtener compuestos valiosos como pigmentos rojos (carotenoides) y pigmentos azules (ficocianina), al mismo tiempo que se abordan los problemas ambientales causados por el drenaje ácido de minas (DAM).

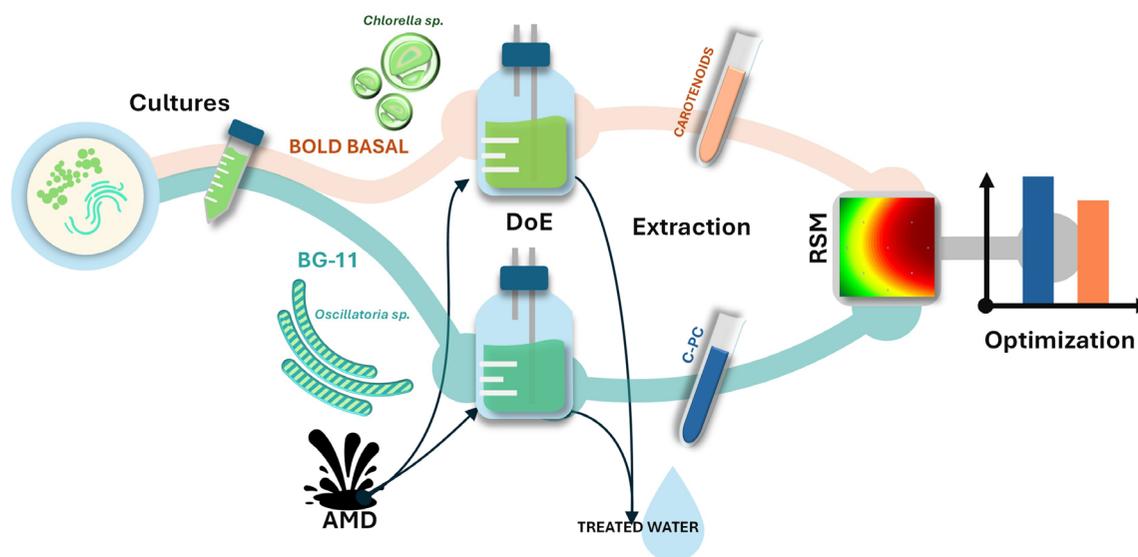
¿Cuáles fueron los resultados más relevantes?

El estudio aisló dos cepas de una fuente hidrotermal en Norte de Santander y las cultivó en efluentes mineros mezclados con medio BG-11 para la cianobacteria *Osci_UFPS01* y medio Bold Basal para la microalga *Chlo_UFPS01*. Las condiciones óptimas para la producción de ficocianina se determinaron mediante análisis de superficie de respuesta (MSR). Los procesos finales de optimización arrojaron 45% de ficocianina (C-PC) por unidad de peso seco (PS) y 1,129% (p/p) de carotenoides en los cultivos con una mezcla de efluentes mineros.

¿Qué aportan estos resultados?

Este estudio aporta una metodología para valorizar el drenaje ácido de mina (DAM) convirtiéndolo en biomasa, produciendo así pigmentos y tratando el efluente contaminado.

Graphical Abstract



Introducción

Las actividades mineras, que implican la extracción de carbón y metales, tienen efectos adversos significativos en el medio ambiente, principalmente debido a la creación de drenaje ácido de mina (DMAE) y las fluctuaciones posteriores en los niveles de pH que oscilan entre 2 y 8. La DMAE es un subproducto de la oxidación mineral tras la exposición al agua, lo que conduce a la formación de ácido sulfúrico, varios iones metálicos (como Cu, Cd, Ag, Pb, Sn, Zn, Fe y Al), sulfatos, bicarbonatos y otros compuestos. Estos contaminantes tienen el potencial de bioacumularse en los organismos que residen en los cuerpos de agua afectados por la DMAE, lo que representa riesgos para el ecosistema (1-4)

El uso de microorganismos, especialmente los fotosintéticos, se ha estudiado utilizando cerdos, maricultura y aguas residuales sintéticas, entre otros, como medio de cultivo para evaluar la producción de biomasa y la capacidad de los cultivos para eliminar nutrientes (5-10). Estos desarrollos tienen importancia debido a las tecnologías modernas que se están estudiando para la reutilización de residuos y la producción de productos valiosos y energía (11-15). Se proponen cianobacterias y/o microalgas para tratar la DMAE, ya que ciertas cepas pueden crecer de forma natural en estos ambientes contaminados (16-19), y se pueden obtener buenos porcentajes de eliminación de la demanda bioquímica (DQO) y de la demanda biológica de oxígeno (DBO) (20,21). La biomasa producida en el tratamiento de aguas residuales tiene potencial para su uso en la extracción de compuestos antioxidantes, los cuales, a pesar de la necesidad de una mayor caracterización para determinar los efectos secundarios debido a su medio de cultivo, han demostrado tener efectos beneficiosos sobre el metabolismo de organismos como *Drosophila melanogaster* (22).

Estas características beneficiosas de los microorganismos fotosintéticos se deben a su capacidad para producir compuestos antibióticos y antioxidantes extracelulares e intracelulares, que tienen un gran potencial como agentes de biocontrol y medicamentos (23). Estos microorganismos tienen supramoléculas colectoras de luz (ficobilisomas) ubicadas en la membrana del tilacoide y están compuestas por pigmentos de antena llamados ficobiliproteínas (PBP), cuyas características les confieren potencial para su uso como agentes fluorescentes y antioxidantes (24). Los compuestos antioxidantes pueden prevenir y retrasar el daño causado por las especies reactivas de oxígeno (ROS). Las ROS son moléculas altamente reactivas producidas por el metabolismo anaeróbico y, en condiciones normales, regulan las vías metabólicas. La ficocianina (PC) es un pigmento antioxidante de la familia de las ficobiliproteínas, tiene un color azul y forma parte del sistema fotosintético de cianobacterias, algas rojas y algunos protistas. La producción de ficocianina a partir de cianobacterias (C-PC) ha llamado la atención de la industria, ya que el C-PC tiene características anticancerígenas, como la obtenida con *Oscillatoria tenuis*, que ha demostrado tener una alta capacidad antioxidante y un efecto citoprotector sobre las células cancerígenas (25). Se ha demostrado que el C-PC tiene efectos neuroprotectores (26) y hepatoprotectores, ya que previene el daño de las células renales causado por el mercurio (27). La producción, extracción y purificación de C-PC se han estudiado utilizando medios diazótrofos Zarrouk, BG-11 y BZ-11 (BG-110) para cepas como *Arthrospira platensis* (28) y *Nostoc* sp. NK en BG-110 para aumentar la producción de C-PC (29). También se debe considerar la resistencia de estos microorganismos a otros efectos adversos que pueden inducir la producción de C-PC, por lo que el uso de efluentes mineros residuales como sustrato para microorganismos es una alternativa interesante no solo para el tratamiento de la DMAE sino también para la producción de biomasa fotosintética.

Materiales y métodos

Proceso de aislamiento de cepas

Las cepas se obtuvieron de un manantial termal ubicado en el seminario mayor de Cúcuta, Norte de Santander. El cultivo inicial se realizó en placas de Petri utilizando medio BG-11 a pH 7 para cianobacterias (para la producción de ficocianinas) y medio Bold Basal a pH 7 para microalgas (para la producción de carotenoides). El crecimiento de estas cepas se facilitó bajo una intensidad lumínica de 1800 lúmenes, con un fotoperiodo de 24 horas utilizando lámparas fluorescentes frías, manteniendo una temperatura de $30^{\circ}\text{C} \pm 2$. Este proceso de cultivo se repitió hasta que el crecimiento puro de cada microorganismo se confirmó visualmente bajo un microscopio. La

identificación posterior de la cepa se llevó a cabo mediante un examen microscópico tras el aislamiento de las microalgas, utilizando las claves taxonómicas esbozadas por Rivera et al. (30) y Baker (31).

Producción de biomasa

Las cepas aisladas se mantuvieron inicialmente en placas de Petri. Posteriormente, una parte de la biomasa de estas placas se raspó cuidadosamente y se transfirió a microtubos de 1,5 mL que contenían medio de cultivo líquido. Estos cultivos de microtubos se dejaron crecer durante un período de 10 días.

Después de la fase inicial de crecimiento en microtubos, el contenido de biomasa se transfirió a tubos cónicos de plástico de 15 mL llenos de medio de cultivo líquido fresco. Estos cultivos de mayor volumen se incubaron durante 15 días adicionales con un crecimiento suficiente. Se utilizaron señales visuales para evaluar el crecimiento de los cultivos. En el caso de las microalgas, el color del medio de cultivo en los tubos pasó a un tono verde distintivo. En el caso de las cianobacterias, se observó la formación de colonias similares a las observadas en los cultivos originales de placas de Petri.

Este enfoque escalonado, a partir de cultivos en placas de Petri y escalado gradual a volúmenes más grandes, facilitó la propagación exitosa de los microorganismos aislados mientras mantenía sus patrones de crecimiento y pigmentación característicos.

Caracterización fisicoquímica del agua procedente de la DMAE

El proceso de muestreo siguió la metodología descrita por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM), y los parámetros analizados fueron: demanda bioquímica de oxígeno (DBO5), demanda química de oxígeno (DQO), sólidos volátiles en suspensión (SSV), sólidos suspendidos totales (SST), sólidos totales (ST), sólidos sedimentables (SS), pH, nitratos (NO₃), fosfatos (PO₄) y cenizas, acidez total, alcalinidad total, dureza total y dureza cálcica.

Cuantificación de biomasa

Las mediciones de biomasa

se llevaron a cabo mediante el método de peso seco (DW) utilizando filtros de fibra de 47 mm de Pall Corporation.

Cuantificación de ficocianinas

Se utilizó el método modificado de Bennett A & Bogorad L. (32): la biomasa y el residuo de filtro obtenidos de la etapa de peso seco se destruyeron sometidos a disrupción mecánica en un tubo cónico de 15 mL utilizando un agitador Heidolph Vortex Reax Top durante 15 minutos. Este proceso se facilitó mediante la adición de 10 mL de una solución tampón de fosfato de 0,05 M, compuesta por una mezcla de hidrogenofosfato de potasio (K₂HPO₄) y dihidrógeno fosfato de potasio (KH₂PO₄), ajustada a un pH de 6,8. Después de la interrupción, la mezcla resultante se refrigeró a 5 °C durante un período de 24 horas para permitir la extracción completa de los compuestos deseados. El proceso de cuantificación de ficobiliproteínas se realizó centrifugando los tubos (15 minutos a 5000 rpm) y leyéndolos en un espectrofotómetro GENESYS10S UV-Vis. Las concentraciones de ficocianina (C-PC), aloficocianina (APC) y ficoeritrina (PE) y la pureza del C-PC se calcularon utilizando las ecuaciones 1, 2, 3 y 4, respectivamente (32,33):

$$C - PC \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{A_{620} - 0.474 A_{652}}{5.34} \quad (1)$$

$$APC \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{A_{652} - 0.208 A_{620}}{5.09} \quad (2)$$

$$PE \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{A_{562} - 2.41 (PC) - 0.849(APC)}{9.62} \quad (3)$$

$$Purity C - PC = \frac{A_{620}}{A_{280}} \quad (4)$$

Cuantificación de carotenoides

El contenido de pigmento se cuantificó utilizando un protocolo modificado basado en el método descrito por Pibyl et al. (34). El proceso de extracción comenzó con la rotura de las células de biomasa seca utilizando perlas de vidrio y 3 mL de tampón de fosfato (pH 7,4). Este paso se llevó a cabo utilizando un agitador superior HEILDOLPH Vortex Reax durante 10 minutos. A continuación, la mezcla resultante se sometió a centrifugación a 3000 rpm durante 10 minutos. Para garantizar la precisión, este procedimiento de extracción se realizó por duplicado.

Después de la centrifugación, se empleó cloroformo (6 mL) como solvente de extracción, y la solución obtenida se dejó reposar durante 24 horas a una temperatura de 18 °C. El contenido de carotenoides se determinó espectrofotométricamente midiendo la absorbancia del extracto de cloroformo a una longitud de onda de 464 nm utilizando un espectrofotómetro GENESYS10S UV-Vis. Posteriormente, se calculó la concentración de carotenoides mediante la siguiente fórmula:

$$Carotenoids \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{A_{464} - 0.0222}{0.0325} \quad (5)$$

Cultivos de cianobacterias

Fase 1. Cultivos en incubadoras

Los experimentos se llevaron a cabo en matraces Erlenmeyer de 500 mL, utilizando solo 250 mL de medio de cultivo BG-11 por reactor. Los matraces se sellaron con tapones y se colocaron en una incubadora equipada con capacidad de agitación orbital. La temperatura se mantuvo entre 35 ± 2 °C, y la velocidad de agitación se estableció en 100 rpm o 150 rpm, dependiendo de las condiciones experimentales.

Fase 2. Cultivos en reactores aireados

Las cepas que exhibieron rendimientos superiores de ficocianina y biomasa identificadas en la fase 1 se seleccionaron para su posterior cultivo en reactores aireados especializados. Estos reactores eran matraces azules con tapón de rosca equipados con un tapón, un filtro de aire y un inyector para facilitar la aireación. Cada reactor se preparó inoculando 50 mL de biomasa en un volumen total de medio líquido de 250 mL (BG-11) dentro de un recipiente con una capacidad de 500 mL.

Las condiciones de cultivo incluyeron un fotoperiodo de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad, con una intensidad lumínica de 1800 lúmenes proporcionada por luces fluorescentes frías. El aire estéril se suministró continuamente a una tasa de 12 L/min para garantizar un crecimiento óptimo. La temperatura se mantuvo a 30 ± 2 °C y el pH se controló a 7 ± 0.2 durante todo el período de cultivo.

La cuantificación de la biomasa se llevó a cabo midiendo el peso seco, mediante el filtrado de 50 mL del contenido del reactor (con cinco filtraciones/muestras realizadas por reactor). Después de un período de incubación de quince días después de la inoculación, se evaluó la producción de nitrato, ficocianina (C-PC), aloficocianina (APC) y ficoeritrina (PE). Además, se determinó la pureza de las ficocianinas para evaluar la calidad de los compuestos producidos.

Esta estrategia de cultivo optimizada tenía como objetivo maximizar la producción de ficocianina y, al mismo tiempo, garantizar un crecimiento robusto de la biomasa en condiciones ambientales controladas, sentando las bases para procesos de extracción de pigmentos eficientes y de alta calidad.

Fase 3. Cultivos en reactores aireados con una mezcla de AMD

La cepa seleccionada para el cultivo fue *Oscillatoria sp.*, designado como Osci_UFPS01. Esta cepa se cultivó en reactores aireados que contenían drenaje ácido de mina (DMAE) a concentraciones variables de 10%, 30%, 50% y 70% (v/v) en medio BG-11. Los reactores estaban equipados con tapas con tres orificios, dos de los cuales servían para la salida y uno como entrada de aire, utilizando una pipeta Pasteur de 253 mm como inyector de aire. Se utilizaron tapones de algodón para reemplazar los filtros de aire.

El ensamblaje de los reactores se llevó a cabo tanto con condiciones de pH no ajustadas como con el pH ajustado a 7 utilizando NaOH 0,1 M. Antes de la filtración, los reactores se sometieron a una homogeneización mediante agitación magnética en una placa calefactora Thermo Scientific ajustada a la velocidad máxima (1200 rpm) durante aproximadamente 30 minutos. Este proceso garantizó una mezcla completa y una distribución uniforme de los componentes del cultivo dentro de los reactores.

Fase 4. El cultivo se optimizó con una mezcla de agua de minería

Para mejorar la producción de C-PC, se implementó un diseño central no factorial durante un período de 15 días, con concentraciones de fósforo, carbono y nitrógeno como variables (como se detalla en la tabla 1). Los experimentos se llevaron a cabo en matraces de 500 mL con tapa azul que contenían una mezcla 1:1 de aguas residuales estériles y medio de cultivo BG-11. Antes de la inoculación, se dejó sedimentar el agua residual de la mina, se ajustó el pH a 7 y posteriormente se utilizó en los experimentos. La inoculación de las cepas se llevó a cabo hasta alcanzar una densidad celular que osciló entre 0,1 y 0,2. La configuración experimental comprendía 17 reactores, incluidos dos controles, y cada experimento mantenía las variables especificadas determinadas por el software STATISTICA 7. Las soluciones de fosfato y carbonato de sodio utilizadas reflejaron las que se encuentran convencionalmente en los medios de cultivo BG-11.

Tabla 1. Variables para evaluar la producción de ficocianina.

Nutriente	K ₂ HPO ₄	PO ₄	Na ₂ CO ₃	C	NaNO ₃	NO ₃
	(mL/L)	(ppm)	(mL/L)	(ppm)	(g/L)	(ppm)
Nivel bajo	0.5	10.90	2	1,13	0.75	547.14
Centro	0.75	16.36	4	2,27	1.5	1094.27
Nivel alto	1	21.81	6	3,40	2.25	1641.41

Cultivos de microalgas

Fase 1. Crecimiento de los reactores aireados

La cepa de microalgas aislada, designada como Chlo_UFPS01, se cultivó en matraces azules de rosca de 500 mL equipados con tapones, filtros de aire e inyectores. Se añadió un total de 50 mL de inóculo a 200 mL de medio de cultivo BG-11, lo que resultó en un volumen de trabajo final de 250 mL en cada reactor.

Los cultivos se sometieron a un fotoperiodo luz/oscuridad 12:12, con una intensidad lumínica de 1800 lúmenes proporcionada por lámparas fluorescentes frías. El aire estéril se suministró a un caudal de 12 L/min y la temperatura se mantuvo entre 30 °C ± 2 °C. El pH del medio de cultivo se ajustó a 7 ± 0,2.

Para monitorear la producción de biomasa, se extrajeron muestras de 50 mL de cada reactor y se filtraron (cinco filtraciones/muestras por reactor). A continuación, se determinó el peso seco de la biomasa. Además, se cuantificaron las concentraciones de nitrato y carotenoides a lo largo del proceso de cultivo.

Esta configuración de cultivo controlada en fotobiorreactores permitió optimizar las condiciones de crecimiento, asegurando resultados consistentes y reproducibles para la cepa Chlo_UFPS01, al tiempo que permitió la medición de parámetros clave como los niveles de biomasa, nitrato y carotenoides.

Fase 2. Crecimiento en reactores con medio mezclado con AMD

Chlo_UFPS01 se cultivó en reactores aireados con DMAE a concentraciones de 10%, 30%, 50% y 70% (v/v) en un reactor Bold Basal con el pH ajustado a 7.

Fase 3. El cultivo se optimizó con una mezcla de agua de minería

La cepa de microalgas Chlo_UFPS01 se inoculó en matraces estériles de 500 mL de tapa azul, cada uno de los cuales contenía 250 mL de una mezcla 1:1 de agua residual estéril y medio de cultivo Bold-Basal. Esta configuración de cultivo se realizó de acuerdo con las pautas de diseño experimental descritas en la tabla 2.

El uso de matraces de 500 ml permitió aumentar el volumen de cultivo manteniendo las condiciones estériles. La proporción de 1:1 entre el agua residual de DAM y el medio Bold-Basal proporcionó los nutrientes y factores de crecimiento necesarios para que la cepa Chlo_UFPS01 prosperara en un entorno controlado.

Al seguir los parámetros experimentales especificados en la tabla 2, los autores aseguraron la consistencia y la reproducibilidad en el cultivo de Chlo_UFPS01, lo que permitió la recopilación de datos confiables para el análisis posterior y la optimización de la producción de pigmentos.

Tabla 2 Variables para evaluar la producción de carotenoides.

Nutriente	K ₂ HPO ₄	PO ₄	Na ₂ CO ₃	C	NaNO ₃	NO ₃
	(mL/L)	(ppm)	(mL/L)	(ppm)	(g/L)	(ppm)
Nivel bajo	6	97.81	0.2	22.644	6	109.43
Centro	7	114.11	0.3	33.966	7	127.67
Nivel alto	8	130.41	0.4	45.288	8	145.90

Resultados y discusión

Caracterización fisicoquímica de la DMAE

Los resultados del análisis fisicoquímico se presentan en la tabla 5. Observamos que los parámetros que no cumplen con la resolución colombiana 0631 de 2015 son los sólidos suspendidos totales (SST) y el pH.

Cultivos de cianobacterias

Fase 2. Cultivos en reactores aireados

Los experimentos aireados produjeron más biomasa debido a las fuentes adicionales de oxígeno y nitrógeno proporcionadas por la corriente de aire. Como se muestra en la figura 1, la producción de C-PC de Osci_UFPS01 aumentó drásticamente en comparación con la de los experimentos preliminares, alcanzando los 301,4 mg/L DE C-PC y superando así la producción de todas las cepas analizadas, incluida Spirulina maxima, cuya producción fue de aproximadamente 13 mg/L DE C-PC cultivada en medio Zarrouk.

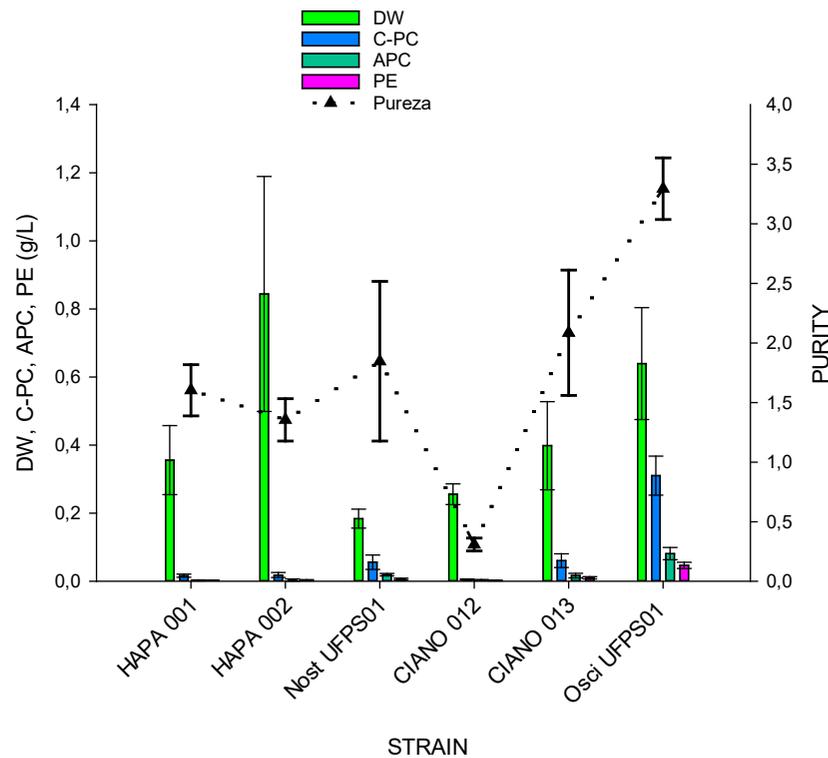


Figura 1. Producción de biomasa, C-PC, pureza, APC y PE en reactores aireados

La concentración de C-PC medida para *S. máxima* en el presente estudio fue menor que los valores reportados por Prates et al. (35) y Dejsungkranont et al. (36) en sus respectivos experimentos de control. Prates et al. (35) reportaron una concentración de C-PC de 46,36 mg/L, mientras que Dejsungkranont et al. (36) reportaron un valor de 84,55 mg/g. La discrepancia en las concentraciones de C-PC entre el estudio actual y los estudios antes mencionados puede atribuirse a las diferencias en las condiciones de cultivo: empleado. En concreto, Prates et al. (35) utilizaron un biorreactor tubular e inyección de aire comprimido a 0,05 vvm, mientras que Dejsungkranont et al. (36) burbujearon el cultivo con 2% de CO₂ en aire (v/v) a un caudal de 11 L h⁻¹.

El medio residual del reactor Osci_UFPS01 exhibió una coloración marrón oscura atribuida a la síntesis de un exopolisacárido. Los estudios de Li et al. (37) sobre cepas de *Oscillatoria* sp. han indicado que la motilidad de estas cianobacterias se ve facilitada por las fibrillas superficiales y la liberación continua de limo extracelular a través de una red de poros. Se sabe que las cianobacterias pertenecientes a este grupo producen heteropolisacáridos sulfatados como floculantes extracelulares, a menudo unidos a ácidos grasos y proteínas.

Al liberarse en el medio ambiente, los capsulares y exopolisacáridos de estas cianobacterias pueden contener una variedad de monosacáridos como xilosa, arabinosa, fucosa, ramnosa, galactosa, glucosa, manosa y ácido urónico, con una composición específica que varía según las cepas. En particular, el rendimiento de exopolisacáridos alcanzado por Osci_UFPS01 superó el reportado para *Oscillatoria quadripunctulata* por Soni et al. (38) y *Oscillatoria tenuis* por Thangam et al. (25). Sobre la base de las mediciones de absorbancia a 620 nm y 650 nm, se informaron concentraciones de 274,3 mg/L y 146 mg/L de C-PC en el extracto crudo, respectivamente.

Esta observación pone de relieve la importante capacidad de producción de exopolisacáridos de Osci_UFPS01 en comparación con las cepas de *Oscillatoria* relacionadas, respaldada por los datos cuantitativos obtenidos de las lecturas de absorbancia.

El aislado hidrotermal Nost_UFPS01 produjo 56.3 mg/L de C-PC (C-ficocianina), lo cual es relativamente bajo en comparación con los valores reportados por Lee et al. (29). En su estudio, Lee y sus colegas obtuvieron concentraciones de C-PC cercanas a 650 mg/L en cultivos diazotróficos de BG-11 y de 850 mg/L en cultivos no diazotróficos de BG-11 de *Nostoc* sp. NK.

Curiosamente, Lee et al. también observaron que *Nostoc* sp. NK libera espontáneamente ficobiliproteínas, incluida la C-PC, de las células al medio de cultivo cuando se cultivan previamente en medio diazotrófico y luego se almacenan en la oscuridad a 5 °C. Este fenómeno sugiere que los factores ambientales, como la disponibilidad de nitrógeno y las condiciones de luz, pueden influir significativamente en la producción y liberación de C-PC en las especies de *Nostoc*.

El menor rendimiento de C-PC obtenido con Nost_UFPS01 en el presente estudio, que representa solo alrededor del 6% de las concentraciones reportadas por Lee et al., destaca la necesidad de una mayor optimización de las condiciones de cultivo para mejorar la producción de ficocianina por este aislado hidrotermal. Deben investigarse factores como las fuentes de nitrógeno, la intensidad de la luz y la temperatura para aprovechar todo el potencial de Nost_UFPS01 como productor de C-PC.

Fase 3. Cultivos en reactores aireados con una mezcla de AMD

La Figura 2 ilustra la producción de peso seco (DW), C-PC, pureza, APC y PE después de un período de 15 días. Los datos revelan una correlación entre el DW y la concentración de drenaje ácido de mina (DMAE) en el medio de cultivo, lo que indica un aumento de la DW con mayores concentraciones de DMAE. Sin embargo, la producción de pigmentos y su pureza muestran tendencias contrastantes. Específicamente, C-PC, APC y PE disminuyen con porcentajes elevados de agua residual, lo que sugiere una influencia positiva única inducida por los solutos presentes en AMD en la producción de biomasa. Este fenómeno conduce a una reducción en la producción de pigmento por parte de las células.

En el grupo control, la producción de DW se registró en 0,640 g/L, con niveles de C-PC en 300 mg/L. En comparación, los reactores que contenían DMAE mixta mostraron una producción de DW de $0,53 \pm 0,04$ g/L y niveles de C-PC de 293 ± 30 mg/L para el reactor del 10% (v/v), que demostró la mayor concentración de ficocianina. Los reactores de 30% y 70% (v/v) mostraron niveles similares de producción de C-PC (176 ± 30 mg/L y 171 ± 30 mg/L, respectivamente), pero mostraron concentraciones de biomasa variables ($0,765 \pm 0,1$ g/L y $1,210 \pm 0,1$ g/L, respectivamente). En particular, el reactor con una mezcla de agua al 50% produjo niveles de C-PC de 193 ± 20 mg/L y una producción de DW de $1.124 \pm 0,13$ g/L, lo que indica la idoneidad para una mayor experimentación.

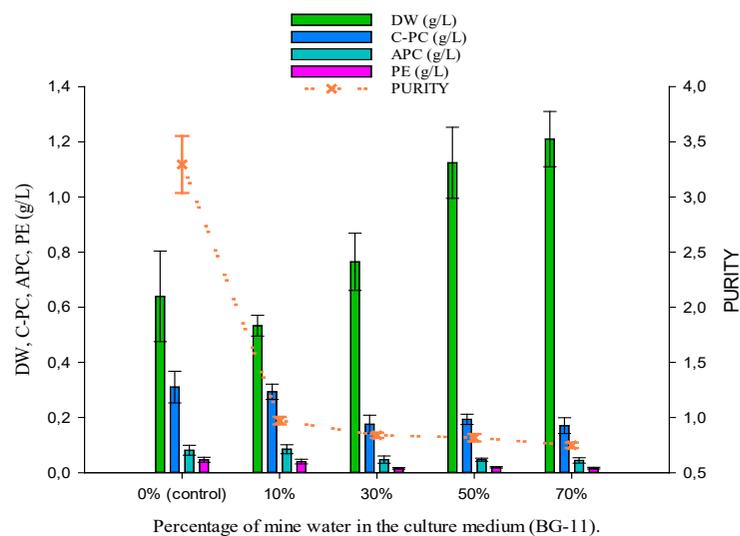


Figura 2 DW, C-PC, APC, PE y pureza en función de la concentración de AMD en el medio Fase 4. Optimización del cultivo con una mezcla de agua de minería

En el reactor 14 se logró la mayor producción de ficocianina, exhibiendo una pureza de 0.89 ± 0.095 y una relación C-PC (g/L) a DW (g/L) de $39.63 \pm 8.5\%$, resultando en rendimientos de 190 ± 0.033 mg/L de C-PC y 0.482 ± 0.02 g/L de peso seco. En particular, la pureza del C-PC en el reactor de control experimentó una disminución significativa en comparación con las ejecuciones experimentales anteriores.

El análisis estadístico realizado con el software STATISTICA 7 reveló que la interacción con NaNO₃ tuvo un impacto sustancial en el porcentaje de C-PC y APC, como se muestra en el diagrama de Pareto (Figura 3). Además, se generaron gráficos de respuesta superficial (Figura 4) para evaluar las tendencias de producción de pigmento y biomasa en el montaje experimental.

Estos hallazgos ponen de manifiesto la importancia de las condiciones del reactor, en particular la influencia de la interacción de NaNO₃, en la producción de ficocianina y aloficocianina, lo que subraya la importancia de optimizar los parámetros de nutrientes para mejorar el rendimiento de pigmentos en el sistema de cultivo.

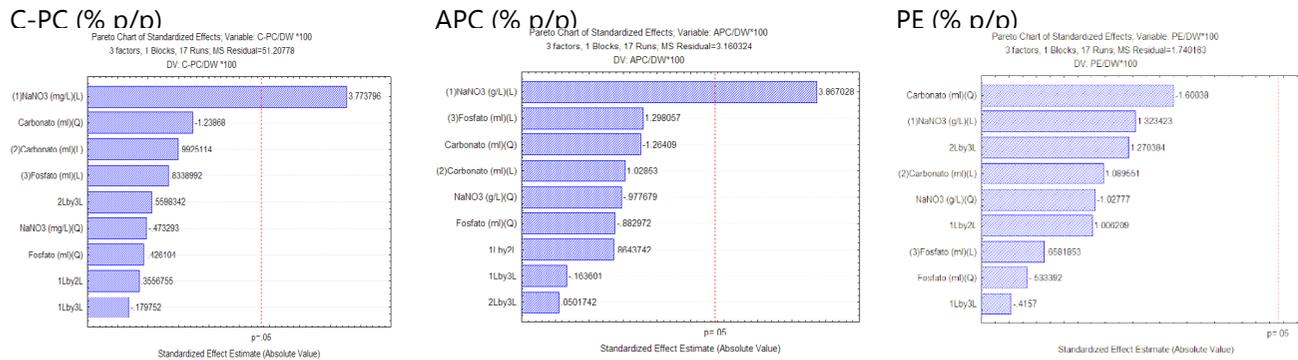
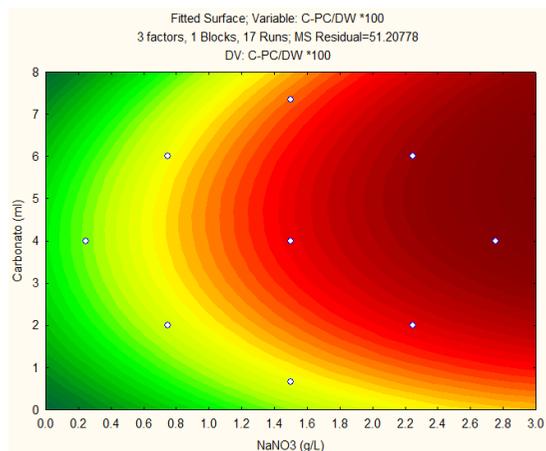


Figura 3 Diagrama de Pareto para Osci_UFPS01

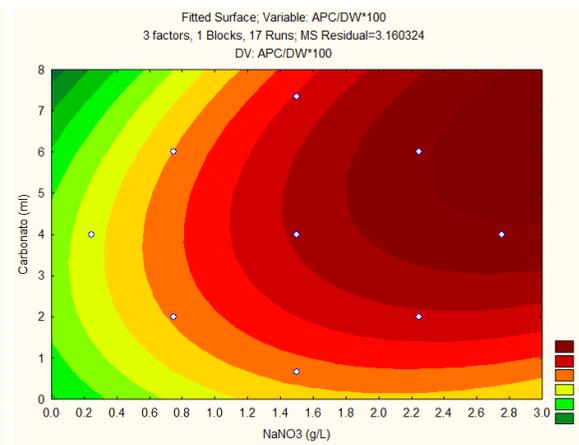
La presencia de AMD tuvo un impacto negativo directo en la producción de biomasa después de un período de cultivo de 15 días. Curiosamente, esta inhibición pareció afectar principalmente a la tasa de crecimiento más que al potencial general de producción total de biomasa de Osci_UFPS01. A pesar de la presencia de DMAE en algunos reactores, el crecimiento aún era evidente después del período de 15 días, mientras que en los reactores de control sin DMAE, la cepa mostró signos de decoloración.

Sorprendentemente, se lograron purzas de hasta 0,9 en experimentos con una mezcla que contenía DMAE. Esto sugiere que, si bien la DMAE puede obstaculizar las tasas de crecimiento, no necesariamente impide el potencial general de producción de biomasa de Osci_UFPS01, lo que pone de manifiesto la resistencia de la cepa en condiciones adversas.

a) % C-PC



b) % APC



c) % PE

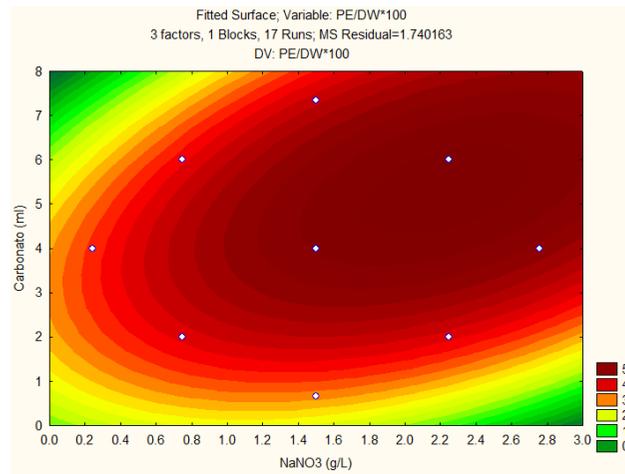


Figura 4 Gráficos de superficie de respuesta para los experimentos con *Oscillatoria* sp.

De acuerdo con el gráfico de superficie de respuesta, a una concentración media de fósforo (0,75 mL de la solución madre de K_2HPO_4), el porcentaje de producción de C-ficocianina (C-PC) por unidad de peso seco (DW) aumentó al 50% a concentraciones superiores a 2,2 g/L de $NaNO_3$ y 3 mL de Na_2CO_3 . El porcentaje de aloficocianina (APC) alcanzó el 12% a concentraciones que oscilaron entre 2,8 y 3,0 g/L de $NaNO_3$ y de 4 a 6 mL de Na_2CO_3 . Además, el porcentaje de ficoeritrina (PE) alcanzó el 5% a concentraciones entre 1,6 y 2,8 g/L de $NaNO_3$ y de 3 a 5 mL de Na_2CO_3 .

Se derivaron las siguientes ecuaciones para predecir los porcentajes de C-PC, APC y PE, donde X representa la concentración en gramos de $NaNO_3$ e Y denota el volumen en mililitros de la solución de Na_2CO_3 (el número al final de la ecuación es el término de error):

$$\begin{aligned} \%C - PC = & 4.5618889197466 + 14.598124983093 * X - 1.8049794032073 * X^2 \\ & + 3.2529090217226 * Y - 0.6643006507269 * Y^2 + 0.59990933216839 * XY \\ & - 2.4254614136054 * 0.75 * x + 2.8327771229723 * 0.75 * Y + 7.3113305 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \%APC = & -3.7003699122271 + 4.2268563796414 * X - 0.92626629782189 * X^2 \\ & + 1.0046385321818 * Y - 0.16841459005952 * Y^2 + 0.3621857510719 * XY \\ & - 0.54841127883985 * 0.75 * X + 0.063071167352759 * 0.75 * Y + 6.5399345 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \%PE = & 1.0568889821739 + 2.3229171464158 * X - 0.72254632634233 * X^2 \\ & + 0.10257706718479 * Y - 0.15821718961931 * Y^2 + 0.31285766744181 * XY \\ & - 1.0340194137713 * 0.75 * X + 1.1849909139598 * 0.75 * y + 0.212976917 \end{aligned}$$

Los valores óptimos de pigmento se calcularon a partir de las ecuaciones 6, 7 y 8, con las cuales se realizó el ensamblaje final para verificar que los valores de $NaNO_3$, Na_2CO_3 y K_2HPO_4 determinados por el programa se ajustaron al comportamiento real del microorganismo utilizando una mezcla de DMAE al 50%. Estos valores se muestran en la tabla 3.

Tabla 3 Concentraciones de N, C y P y porcentaje esperado de C-PC en el cultivo de Osci_UFPS01

NaNO ₃ (g/L)	NO ₃ (ppm)	Na ₂ CO ₃ (ml/L)	C (ppm)	K ₂ HPO ₄ (mL/L)	PO ₄ (ppm)	Porcentaje esperado de C-PC
3	2188.54	4	2,27	0.75	16.36	52.05

Después de un período de crecimiento de 15 días del reactor optimizado (figura 5), se realizaron evaluaciones de producción y calidad de pigmentos en el medio residual. El patrón de crecimiento de las cianobacterias en el reactor optimizado se parecía mucho al del grupo de control; sin embargo, el medio residual no mostró una coloración oscura como se observó en algunos casos. El análisis cuantitativo reveló que el reactor optimizado produjo porcentajes de pigmento del 45,0% para C-PC, 10,8% para APC y 8,9% para PE. Las discrepancias entre los porcentajes obtenidos y los valores calculados fueron mínimas, con valores reales de 52,046% para C-PC, 11,809% para APC y 4,597% para PE. Estos resultados indican un alto grado de precisión y consistencia en la producción de pigmentos dentro del sistema de reactor optimizado.

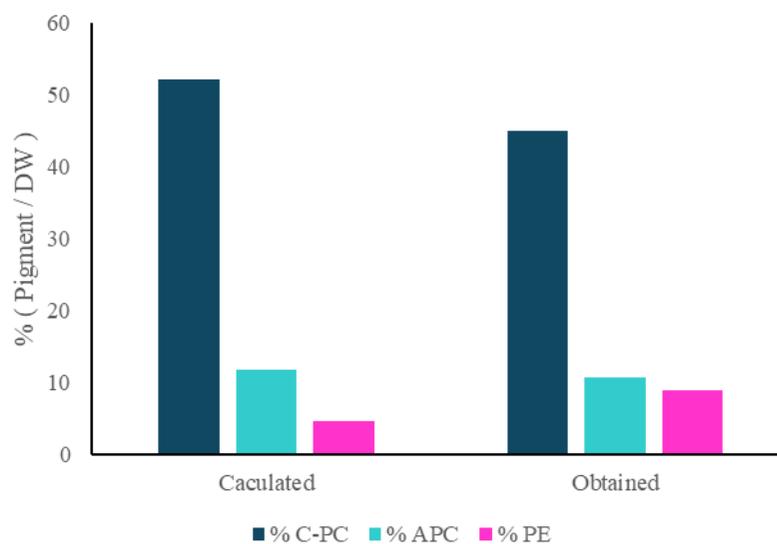


Figura 5 Porcentajes de C-PC, APC y PE calculados por la ecuación de superficie de respuesta y los datos experimentales obtenidos del reactor optimizado.

Si bien la literatura sobre el cultivo de cianobacterias en aguas residuales para la producción de pigmentos es limitada, el proceso de optimización con drenaje ácido de mina (DMAE) dio como resultado una concentración de C-ficocianina (C-PC) de 89 mg/L. Este rendimiento es notablemente menor en comparación con estudios previos realizados sin DMAE, según lo informado por Soni et al. y Thangam et al. Esta disminución en la producción de pigmento se atribuye a la presencia de solutos tóxicos en la DMAE, como destaca Aduvire O. (39). A pesar de este desafío, la cepa muestra un potencial significativo para la producción de C-PC en cultivos BG-11 tanto en ausencia como en presencia de DMAE.

Cultivos de microalgas

Fase 2. Cultivos en reactores con medio mezclado con DMAE

Los resultados del análisis factorial se presentan en la figura 6, que muestra los datos experimentales para el peso seco (DW, g/L) y el contenido de carotenoides (% p/p). La producción de biomasa aumentó de 0,5 DW g/L en los cultivos control a 0,98 DW g/L en el diseño experimental. Esta mejora se atribuyó a la adición de una fuente externa de carbono, ya que no se observó una diferencia significativa entre el medio control (CM) y el medio basal negra modificada (CBB). Esto sugiere que la presencia de drenaje ácido de mina (DMAE) no influyó sustancialmente en la producción de biomasa o carotenoides.

Los rendimientos de carotenoides fueron mayores en los cultivos control, alcanzando 77.855 mg/L para MC y 89.363 mg/L para CBB. En contraste, la producción de carotenoides en los reactores suplementados con carbonato de sodio (Na₂CO₃) como fuente de carbono fue menor, oscilando entre 60,7 mg/L y menor o igual a este valor. En consecuencia, los cultivos control exhibieron contenidos de carotenoides de hasta 3% (p/p), mientras que los reactores con fuente de carbono agregada tuvieron niveles de carotenoides por debajo de 1,5% (p/p).

Estos hallazgos indican que, si bien la adición de una fuente de carbono mejoró la producción de biomasa, tuvo un impacto negativo en los rendimientos de carotenoides en comparación con los cultivos de control. La presencia de DMAE no alteró significativamente la producción de biomasa o carotenoides en las condiciones probadas.

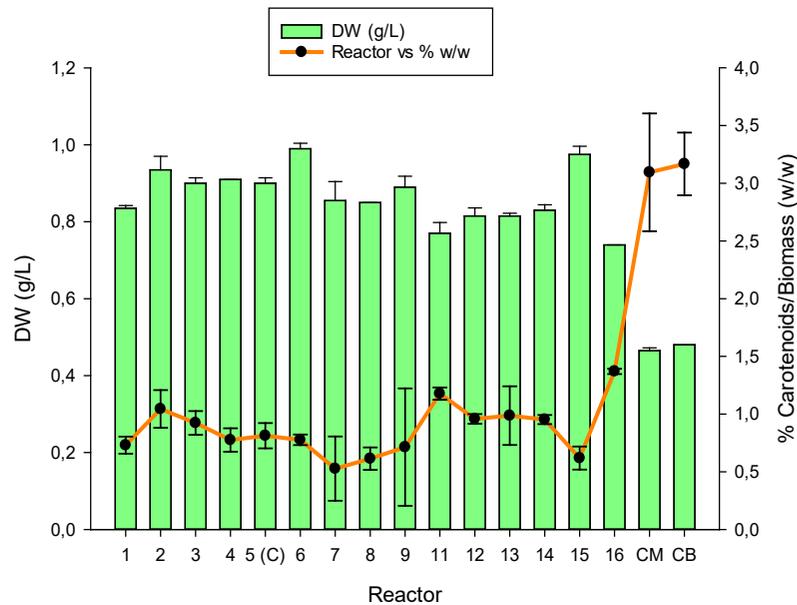


Figura 6 Biomasa y porcentaje p/p de carotenoides producidos en los experimentos por la cepa Chlo_UFPS01.

Los diagramas de Pareto presentados en la figura 7 revelan que la interacción más significativa es el % p/p debido al factor carbono. Sin embargo, el peso seco (PD) no se ve influenciado significativamente por la interacción de ninguna de las variables estudiadas.

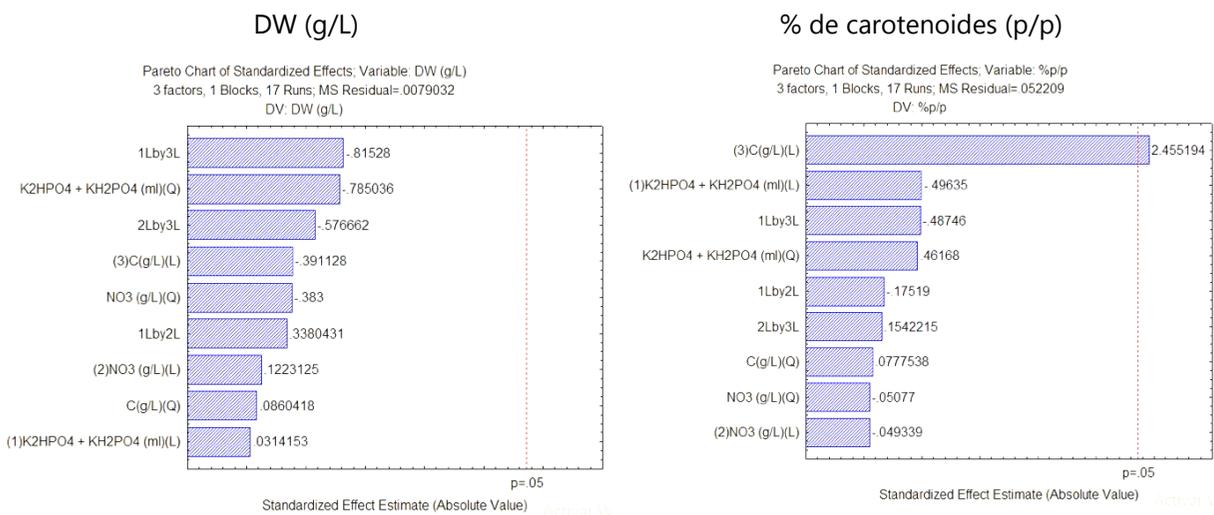


Figura 7 Diagramas de Pareto para experimentos realizados con Chlo_UFPS01

Los gráficos de superficie de respuesta (Figura 8) generados a partir de los datos del diseño experimental revelaron las concentraciones óptimas de fósforo (P) y carbono (C) para la producción de biomasa y carotenoides. La concentración media de NaNO₃ se mantuvo a 7 mL/L de la solución madre.

Para lograr un peso seco máximo (DW) de 0,95 g/L, las concentraciones de soluciones madre de K₂HPO₄ y KH₂PO₄ deben estar entre 7,5 y 9 mL/L, mientras que las concentraciones de Na₂CO₃ deben oscilar entre 0,1 y 0,15 g/L. Se encontró que valores superiores a 0,45 g/L de Na₂CO₃ son perjudiciales para la producción de biomasa.

Por otro lado, para maximizar el contenido de carotenoides (p/p) al 1,4%, las condiciones óptimas fueron entre 5 y 5,5 mL/L de las soluciones madre de K₂HPO₄ y KH₂PO₄ y mayores de 0,45 g/L de Na₂CO₃. Sobre la base de estos hallazgos, se establecieron dos biorreactores para realizar nuevos experimentos de optimización, ambos con 5 mL/L de las soluciones madre K₂HPO₄ y KH₂PO₄, pero con diferentes concentraciones de Na₂CO₃ de 1,0 y 0,5 g/L (tabla 4).

Estos resultados demuestran la importancia de optimizar las concentraciones de nutrientes, particularmente las fuentes de fósforo y carbono, para lograr la máxima producción de biomasa y carotenoides en los cultivos de microalgas. La metodología de superficie de respuesta proporcionó información valiosa sobre los efectos interactivos de estas variables en los resultados deseados.

a) DW (g/L)

b) % de carotenoides (p/p)

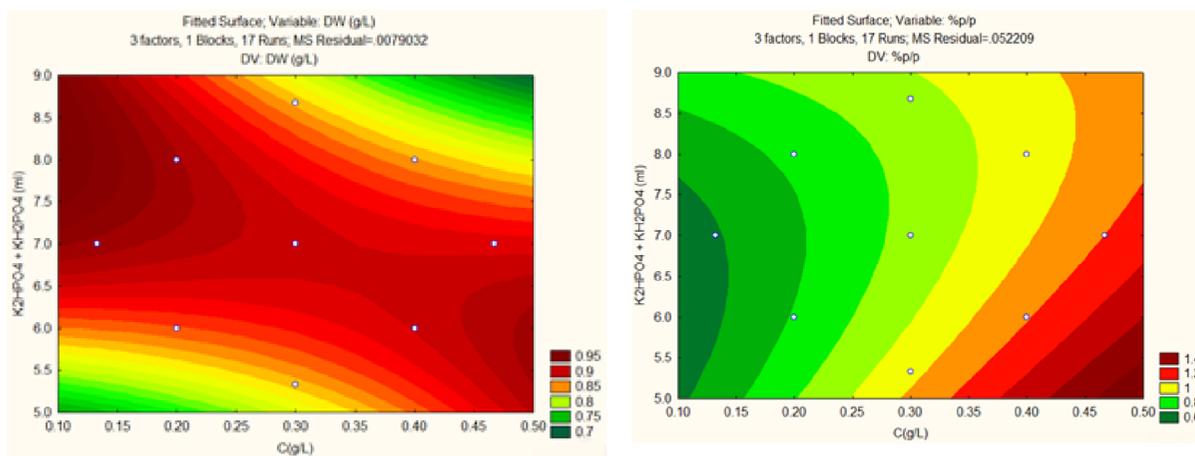


Figura 8 Gráficos de superficie de respuesta para los experimentos desarrollados con Chlo_UFPS01

A continuación se presentan las ecuaciones obtenidas a partir de las superficies de respuesta utilizadas para optimizar el cultivo de DMAE, donde el valor de X corresponde al g/L de Na₂CO₃ e Y al mL/L de las soluciones madre de K₂HPO₄ y KH₂PO₄.

$$\begin{aligned}
 W \left(\frac{g}{L} \right) = & -1.0061819532424 + 0.29615503627186 * Y - 0.020921266233767 * Y^2 \\
 & + 2.8306319102345 * X + 0.22930194805186 * X^2 + 0.010625000000001 \\
 & * 7.* Y - 0.256250000000001 * YX - 0.181250000000001 * 7.* X \\
 & + 0.380781649
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Carotenoids } \left(\frac{P}{P} \right) &= 0.78074513888654 - 0.25627677266931 * Y + 0.031623522343061 * Y^2 \\ &+ 3.086089772363 * X + 0.53258741202192 * X^2 - 0.014152622699261 \\ &* 7.0 * Y - 0.39379159030069 * YX + 0.12458696184803 * 7.0 * X \\ &+ 0.580849051 \end{aligned}$$

A partir de las ecuaciones 9 y 10 se determinaron los valores óptimos para la producción de biomasa y el porcentaje de carotenoides, y se realizó el montaje de dos reactores con diferentes condiciones de Na₂CO₃:

Tabla 4. Concentraciones de N, C y P y resultados esperados de DW y %p/p de carotenoides para la optimización del cultivo de Chlo_UFPS01

Reactor	Soluciones madre de K ₂ HPO ₄ y KH ₂ PO ₄ (ml/L)	PO ₄ (ppm)	Na ₂ CO ₃ (g/L)	C (ppm)	Solución madre de NaNO ₃ (mL/L)	NO ₃ (ppm)	Resultado DW (g/L)	Resultado esperado de
1	5	81.51	0.5	56.61	7	127.67	0.90	1.50
2	5	81.51	1	113.22	7	127.67	1.21	2.90

En la optimización, se encontró que solo el reactor 1 se asemejó a los valores calculados por las ecuaciones 9 y 10, con valores de 0,84 DW g/L y 1,13% (p/p), mientras que los valores del reactor 2 estuvieron lejos de los calculados por las ecuaciones, con valores de 0,65 DW g/L y 0,76% (p/p) (Figura 9).

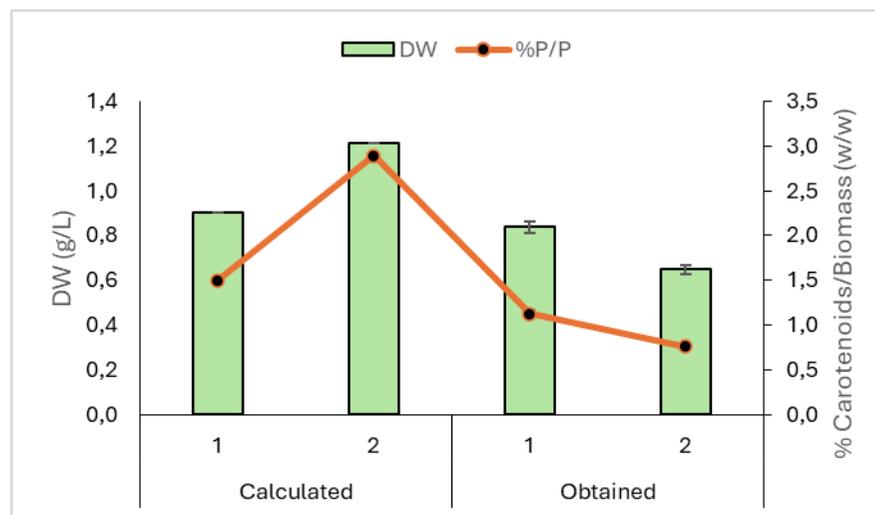


Figura 9 DWs (g/L) y porcentajes de carotenoides calculados por la ecuación de superficie de respuesta y los obtenidos en los reactores optimizados.

En comparación con los hallazgos reportados por Barajas Solano et al., (40), la producción de biomasa obtenida en el presente estudio fue generalmente menor. En su trabajo, los cultivos de *Chlorella vulgaris* aireados con inyección de CO₂ mostraron niveles mejorados de biomasa y

clorofila. En concreto, observaron concentraciones de biomasa de 1.416 g/L y 2.199 g/L, junto con concentraciones de clorofila de 40 mg/L y 70 mg/L, a concentraciones de NaNO₃ de 0,59 mM y 1,18 mM, respectivamente. Cabe destacar que estas concentraciones de NaNO₃ son inferiores a la concentración estándar utilizada en el medio Bold Basal (2,94 mM).

Estudios anteriores han demostrado que la suplementación del medio Bold Basal con fuentes alternativas de carbono puede mejorar significativamente los rendimientos de biomasa. Estévez-Landazábal et al. (41) informaron que la utilización de acetato y glicerol residual de la producción de biodiesel como sustratos de carbono resultó en aumentos notables en la producción de biomasa. Sus hallazgos indicaron rendimientos de biomasa de 3,4 g/L con acetato de 20 mM y de 3,15 g/L con glicerol al 1% v/v, superando la producción de biomasa de 1,75 g/L observada en cultivos control utilizando medio basal Bold estándar.

Estos análisis comparativos sugieren que la optimización de las concentraciones de nutrientes, en particular las fuentes de nitrógeno, y la suplementación de los medios de crecimiento con sustratos de carbono adecuados podrían mejorar la producción de biomasa y el rendimiento de pigmentos en las cepas de microalgas y cianobacterias investigadas en el estudio actual.

En un estudio de González-Delgado et al. (42), los cultivos de *Chlorella vulgaris* suplementados con carbonato mostraron una relación significativa entre el nitrato de sodio (1,96 mM) y el fosfato de potasio (2,11 mM) en términos de producción de biomasa (2,17 g/L), según lo indicado por el diagrama de Pareto. Sin embargo, este hallazgo difiere de los resultados obtenidos para la cepa Chlo_UFPS01 en el presente estudio, donde la fuente de carbono (carbonato) tuvo un efecto directo sobre el %p/p de carotenos, pero no sobre la producción de biomasa. Esta discrepancia puede atribuirse a las diferencias en las condiciones de cultivo entre los dos estudios.

El uso de aguas residuales como medio de crecimiento de microalgas ha mostrado resultados prometedores en términos de producción de carotenoides. Rodrigues et al. (43) reportaron un cultivo exitoso de *Phormidium autumnale* en residuos industriales, mientras que Ge et al. (44) observaron un aumento en la producción de biomasa y carotenoides utilizando aguas residuales de digestión anaeróbica en plantas de tratamiento de aguas residuales y glicerol de procesos de transesterificación de lípidos. Además, Chen et al. (45) encontraron que la incorporación de cenizas ricas en nutrientes y gases de combustión generados en plantas de energía de biomasa en el medio de cultivo BG-11 mejoró la producción de biomasa de *Chlorella* sp. hasta en un 35%. Sin embargo, en el presente estudio, el uso del drenaje ácido de mina (DMAE) para el cultivo de microalgas no impactó significativamente la producción de biomasa y carotenoides, como se observó en el diseño experimental. Estos hallazgos sugieren que la producción de carotenoides en la cepa Chlo_UFPS01 está más estrechamente relacionada con la fuente de carbono.

La metodología de extracción y la sinergia de disolventes juegan un papel crucial en la obtención de carotenoides. Damergi et al. (46) utilizaron por primera vez 2-metiltetrahidrofurano (MTHF), un compuesto orgánico heterocíclico renovable, en la extracción de carotenoides, que produjo el 45% del total de carotenoides extraídos de *Chlorella vulgaris*. Curiosamente, este porcentaje aumentó al 66% cuando se empleó una mezcla 1:1 de metanol y MTHF. La aplicación de diversas técnicas de extracción, como se ha informado en estudios previos (11,28,47-50), tiene el potencial de aumentar significativamente el rendimiento de pigmento hasta en un 92%. Además, la implementación de la adaptación cromática complementaria en experimentos realizados por Johnson et al. (51) y Lee et al. (29) ha demostrado efectos prometedores sobre la producción de pigmentos y su liberación espontánea en el medio de cultivo en condiciones diazotróficas.

Las investigaciones futuras también deberían explorar la producción de exopolisacáridos por la cepa Osci_UFPS01 cianobacteria. Además, hay un número limitado de estudios que investigan los cultivos de microalgas en medios de drenaje ácido de mina (DMAE). Uno de estos estudios realizado por Torres et al. (20) se centró en el potencial de biorremediación de las microalgas, pero no optimizó la producción de biomasa y los rendimientos de carotenoides.

En resumen, la aplicación estratégica de técnicas de extracción y la adaptación cromática complementaria podrían mejorar significativamente los rendimientos de pigmento. Además, la exploración de la producción de exopolisacáridos por Osci_UFPS01 y la optimización del crecimiento de microalgas en medios AMD para la producción de biomasa y carotenoides son vías prometedoras para futuras investigaciones.



Características finales del medio residual con DMAE

En la Tabla 5 se presenta una comparación de las propiedades fisicoquímicas del medio residual al 50% de AMD utilizado en las etapas finales de optimización y las características del drenaje ácido de mina generado por las operaciones mineras. Tras el proceso de optimización con las cepas, se observaron cambios notables en la composición del agua. Específicamente, el total de sólidos suspendidos disminuyó significativamente de 350 mg/L a 25 mg/L cuando se utilizó Osci_UFPS01. Además, el nivel de pH mostró un aumento sustancial de 1,22 a 8,62 con la misma cepa, lo que provocó alteraciones significativas en la acidez total y la alcalinidad total.

Por lo general, la DMAE no tratada requiere un tratamiento primario, como la sedimentación, para cumplir con los estándares regulatorios de descarga y los requisitos de pH descritos en las regulaciones colombianas. Este enfoque se alinea con las recomendaciones propuestas por Torres et al. en su estudio realizado en las minas de la empresa de IC Minas la Aurora S.A.S, enfatizando la importancia de métodos de tratamiento efectivos para enfrentar el impacto ambiental de las actividades mineras.

Tabla 5 Caracterización fisicoquímica del medio residual de cada una de las optimizaciones finales

Parámetro	Unidades	Osci_UFPS01	Chlo_UFPS01 (reactor 1)	Chlo_UFPS01 (reactor 2)	AMD	Resolución 0631 de 2015
Sólidos totales (ST)	mg/L	584±3	2124±13	2556±16	4533.33±177.19	NA
Sólidos volátiles en suspensión (SSV)	mg/L	17,5±0,09	20±0.15	17,5±1,36	57±17	NA
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	mg/L	25±0.2	230±2	30±0.4	352±52	50
Sólidos Suspendidos Fijos (SSF)	mg/L	7±0.05	210±1.5	12±1.12	295±57	NA
Sedimentación de sólidos (SS)	ml/L	0	0	0	Efesios 12±2	2
Demanda bioquímica de oxígeno (DBO5)	mg/L	2.4	5,4±0,85	7,8±0,85	12.0±0.60	50
Demanda química de oxígeno (DQO)	mg/L	NR	NR	NR	NR	150
Potencial de hidrógeno (pH)	pH	8.62	9.7	9.86	1.22	6 a 9
Conductividad	µs	5.87	2.16	2.89	2.14	NA
Temperatura (T)	°C	26	26	26	26.6	NA
Sólidos disueltos totales (tds)	ppm	4.12	1.52	2.03	1.94*	NA
Salinidad	ppm	2.53	1.21	1.64	1.13*	NA
Nitratos (NO3)	ppm	1520	29	44	72±5	Ayr
Fosfatos (PO4)	mg/L	0.359	0.539	0	0	NA
Turbidez	FAU	44	39	25	209	NA
Cenizas	g/L	3,66±1,26	1.148±0.1	1.588±0,23	2.088±0.1	NA
Acidez total	mg CaCO3/L	0	0	0	150±2	Ayr
Alcalinidad total	mg CaCO3/L	145.6±10	500±36.8	980±40	0	Ayr
Dureza total	mg CaCO3/L	332±35	80±10	82±10	470±20	Ayr
Dureza Ca	mg CaCO3/L	200±40	40±5	20±3	100±10	Ayr
Dureza Mg	mg CaCO3/L	132±10	40±7	62±10	370±20	Ayr

Nota: NR: No registrado, NA: no aplicable, Ayr: Análisis e Informe. Los valores con un * tienen unidades ppt.

Conclusiones

La cepa Osci_UFPS01 aislada de Norte de Santander produce 300 mg/L DE C-PC en condiciones normales de BG-11; sin embargo, su producción disminuyó por debajo de 90 mg/L C-PC cuando el medio se mezcló con agua residual DAM. No obstante, este proceso sigue dando como resultado una buena producción de pigmentos. La metodología de extracción y la sinergia de solventes juegan un papel vital en la eficiencia de la extracción de carotenoides. Se ha demostrado que varias técnicas de extracción mejoran significativamente el rendimiento de pigmentos. Las futuras vías de investigación incluyen la exploración de la producción de exopolisacáridos mediante Osci_UFPS01 y la optimización del crecimiento de microalgas en medios de AMD para mejorar la producción de biomasa y carotenoides. El estudio subraya la importancia de la optimización personalizada de nutrientes para maximizar los rendimientos de pigmentos en los sistemas de cultivo de microalgas y cianobacterias.

Referencias

1. Skousen J, Sexstone A, Ziemkiewicz P. Control y tratamiento del drenaje ácido de minas. Reclamar perturbar drásticamente las tierras. 2000;
2. Akcil A, Koldas S. Drenaje ácido de minas (AMD): causas, tratamiento y estudios de casos. J Clean Prod [Internet]. 2006; 14(12):1139–45. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652605000600>
3. Chen T, Zheng W, Yang F, Bai Y, Wong Y-S. Cultivo mixotrófico de alto contenido de selenio *Spirulina platensis* en acetato y la producción mejorada de pigmentos fotosintéticos. Enzima Microb Technol. 2006; 39:103–7.
4. Strosnider WHJ, Llanos López FS, Nairn RW. Drenaje ácido de mina en Cerro Rico de Potosí II: degradación severa de la cuenca del Río Pilcomayo Superior. Environ Earth Sci [Internet]. 2011; 64(4):911–23. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12665-010-0899-2>
5. Alva M, Luna-Pabello V, Ledesma MT, Cruz-Gómez M. Remoción de carbono, nitrógeno y fósforo y producción de lípidos por tres microalgas salinas cultivadas en aguas residuales sintéticas irradiadas con diferentes flujos de fotones. Res. de Algas 2018; 34:97–103.
6. Ferro L, Gojkovic Z, Muñoz R, Funk C. Rendimiento del crecimiento y eliminación de nutrientes de un *Chlorella vulgaris*-*Rhizobium* Cocultivo de sp. durante el cultivo de piensos mixotróficos en aguas residuales sintéticas. Algal Res [Internet]. 2019;44:101690. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926419305107>
7. Makut BB, Das D, Goswami G. Producción de materia prima de biomasa microbiana mediante el cocultivo de un consorcio de microalgas y bacterias junto con un tratamiento eficaz de aguas residuales: un enfoque sostenible. Algal Res [Internet]. 2019; 37:228–39. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926418303217>
8. Li X, Yang C, Zeng G, Wu S, Lin Y, Zhou Q, et al. Eliminación de nutrientes de las aguas residuales porcinas con el crecimiento de microalgas a diversas concentraciones de zinc. Algal Res [Internet]. 2020;46:101804. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926419308367>
9. Arrojo MÁ, Regalado L, Calvo Orquín J, Figueroa FL, Abdala Díaz RT. Potencial de las microalgas *Chlorella fusca* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) para la producción de biomasa y ficoremediación de aguas residuales urbanas. AMB Express [Internet]. 2022; 12(1). Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85128263237&doi=10.1186%2Fs13568-022-01384-z&partnerID=40&md5=30231ddb688bb4baa9e01799ecc7a621>
10. El-Naggar NE -A., Hamouda RA, Abou-El-Souod GW. Optimización estadística para la eliminación simultánea del rojo de metilo y la producción de ésteres metílicos de ácidos grasos utilizando algas frescas *Scenedesmus obliquus*. Sci Rep [Internet]. 2022; 12(1). Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85129259034&doi=10.1038%2Fs41598-022-11069-z&partnerID=40&md5=e8d768a4f9bc8f9f78fe46f7c3855626>

11. Sánchez-Galvis EM, Cárdenas-Gutiérrez IY, Contreras-Ropero JE, García-Martínez JB, Barajas-Solano AF, Zuorro A. Un equipo innovador de bajo coste para la electroconcentración de biomasa de microalgas. Vol. 10, Ciencias Aplicadas. 2020.
12. Zuorro A. Extracción mejorada de licopeno de cáscaras de tomate mediante mezclas optimizadas de solventes de polaridad mixta. Vol. 25, Moléculas. 2020.
13. Zuorro A, Lavecchia R. Polifenoles y recuperación de energía a partir de posos de café usados. Chem Eng Trans. 1 de enero de 2011; 25:285–90.
14. Zuorro A, Iannone A, Natali S, Lavecchia R. Síntesis verde de nanopartículas de plata utilizando extractos de residuos de arándano y grosella roja. Vol. 7, Procesos. 2019.
15. Montanaro D, Lavecchia R, Petrucci E, Zuorro A. Degradación electroquímica asistida por UV de cumarina en electrodos de diamante dopados con boro. Chem Eng J [Internet]. 2017; 323:512–9. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894717307258>
16. Obuekwe IS, Vaz MGM V, Genuário DB, Castro NV, Almeida AVM, Veloso RW, et al. Sedimentos contaminados con arsénico de zonas mineras como fuente de linajes cianobacterianos morfológicos y filogenéticos distintos. Algal Res [Internet]. 2019;42:101589. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926419300827>
17. Samiotis G, Stamatakis K, Amanatidou E. Dimensionamiento del fotobiorreactor de cultivo *Synechococcus elongatus* PCC 7492 para la valorización de los recursos de aguas residuales. Chem Eng J [Internet]. 2022;435. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85123870300&doi=10.1016%2Fj.cej.2022.134895&partnerID=40&md5=3b2eb065ba41020525a4afd13ad117fc>
18. Nur MMA. Coproducción de polihidroxibutirato y C-ficocianina a partir de *Arthrospira platensis* creciendo en los efluentes de los molinos de aceite de palma mediante el empleo de irradiación UV-C. J Appl Phycol [Internet]. 2022; Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85128173986&doi=10.1007%2Fs10811-022-02738-7&partnerID=40&md5=573d81314f645c37e3457b81bcb2b032>
19. Madera JL, Takemoto JY, Sims RC. Reactor rotativo de biofilm de algas para la gestión y valorización de las aguas residuales producidas. Front Energy Res [Internet]. 2022;10. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85124281462&doi=10.3389%2Ffengr.2022.774760&partnerID=40&md5=80fd4e5bc24a1cfa3a6901dfdefb2e51>
20. Torres DD, Cáceres Sepúlveda S, Roa AL, Suárez Gelvez JH, Urbina Suárez NA. Utilización de microalgas de la división Chlorophyta en el tratamiento biológico de drenajes ácidos de minas de carbón. Rev Colomb Biotecnol. 2017; 19(2):95–104.
21. Zuorro A, Maffei G, Lavecchia R. Modelado cinético de la adsorción de colorantes azoicos en células no vivas de *Nannochloropsis oceanica*. J Environ Chem Eng [Internet]. 2017; 5(4):4121–7. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213343717303822>
22. Qiu S, Shen Y, Zhang L, Ma B, Amadu AA, Ge S. Evaluación antioxidante de aguas residuales cultivadas *Chlorella sorokiniana* en *Drosophila melanogaster*. Algal Res [Internet]. 2020;46:101795. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926419311336>
23. Xue Y, Zhao P, Quan C, Zhao Z, Gao W, Li J, et al. Antibióticos peptídicos derivados de cianobacterias descubiertos desde el año 2000. Péptidos. 2018; 107:17–24.
24. Sekar S, Chandramohan M. Ficobiliproteínas como materia prima: tendencias en investigación aplicada, patentes y comercialización. J Appl Phycol [Internet]. 2008; 20(2):113–36. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9188-1>

25. Thangam R, Suresh V, Asenath Princy W, Rajkumar M, Senthilkumar N, Gunasekaran P, et al. C-Ficocianina de *Oscillatoria tenuis* exhibieron una actividad antioxidante y antiproliferativa in vitro a través de la inducción de la apoptosis y la detención del ciclo celular G0/G1. *Química de los Alimentos* 2013; 140(1–2):262–72.
26. Fernández-Rojas B, Hernández-Juárez J, Pedraza-Chaverri J. Propiedades nutraceuticas de la ficocianina. *J Funct Foods* [Internet]. 2014; 11:375–92. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S175646461400317X>
27. Rodríguez-Sánchez R, Ortiz-Butrón R, Blas-Valdivia V, Hernández-García A, Cano-Europa E. Ficobiliproteínas o C-ficocianina de *Arthrospira* (Espirulina) Maxima protegen contra el estrés oxidativo causado por la HgCl₂ y el daño renal. *Food Chem* [Internet]. 2012; 135(4):2359–65. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814612011776>
28. Tavanandi HA, Mittal R, Chandrasekhar J, Raghavarao KSMS. Método simple y eficiente para la extracción de C-Ficocianina de biomasa seca de *Arthrospira platensis*. *Algal Res* [Internet]. 2018; 31:239–51. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926417307750>
29. Lee NK, Oh H-M, Kim H-S, Ahn C-Y. Mayor producción de C-ficocianina por el cultivo libre de nitrógeno (diazotrófico) de *Nostoc* sp. NK y extracción simplificada por choque oscuro-frío. *Bioresour Technol* [Internet]. 2017; 227:164–70. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852416317230>
30. Rivera P, Parra O, González M, Dellarossa V, Orellana M. Manual taxonómico del fitoplancton de aguas continentales con especial referencia al fitoplancton de Chile. IV. Bacillariophyceae. 1982.
31. Baker AL, Baker JC, Lee Murby A, Wyatt L, Ryan Beagen W, Stockwell Elliott C. Phycokey -- una clave basada en imágenes para algas (PS Protista), cianobacterias y otros objetos acuáticos. Centro de Biología de Agua Dulce de la Universidad de New Hampshire. 2012.
32. Bennett A, Bogorad L. Adaptación cromática complementaria en un azul filamentoso—Alga verde. *J Cell Biol*. 1973; 58(2):419–35.
33. Patil G, Chethana S, Sridevi AS, Raghavarao KSMS. Método para la obtención de C-ficocianina de alta pureza. *J Chromatogr A* [Internet]. 2006; 1127(1):76–81. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967306011009>
34. Pĕibyl P, Cepák V, Kaštánek P, Zachleder V. Producción elevada de carotenoides por un nuevo aislado de *Scenedesmus* sp. *Res. Algas* 2015; 11:22–7.
35. Prates D da F, Radmann EM, Duarte JH, Morais MG de, Costa JAV. *Espirulina* cultivado bajo diferentes diodos emisores de luz: Mejora el crecimiento celular y la producción de ficocianina. *Bioresour Technol* [Internet]. 2018; 256:38–43. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852418301445>
36. Dejsungkranont M, Chen H-H, Sirisansaneeyakul S. Mejora de la actividad antioxidante de la C-ficocianina de *Espirulina* Polvo tratado con dióxido de carbono fluido supercrítico. *Agric Nat Resour* [Internet]. 2017; 51(5):347–54. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452316X1730635X>
37. Li P, Harding SE, Liu Z. Exopolisacáridos cianobacterianos: su naturaleza y posibles aplicaciones biotecnológicas. *Biotechnol Genet Eng Rev* [Internet]. 2001; 18(1):375–404. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/02648725.2001.10648020>
38. Soni B, Kalavadia B, Trivedi U, Madamwar D. Extracción, purificación y caracterización de ficocianina de *Oscillatoria quadripunctulata*—Aislado de las costas rocosas de Bet-Dwarka, Gujarat, India. *Proceso Biochem* [Internet]. 2006; 41(9):2017–23. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511306001735>
39. Aduvire O. Drenaje ácido de mina, generación y tratamiento. [Internet]. Madrid; 2006. Available from: http://info.igme.es/SidPDF/113000/258/113258_0000001.pdf

40. Barajas Solano AF, Godoy Ruiz CA, Monroy Davila JD, Barajas Ferreira C, Kafarov V. Mejoramiento del secuestro de CO₂ por *Chlorella vulgaris* UTEX 1803 en fotobiorreactores a escala laboratorio . Vol. 25, Revista ION . scieloco ; 2012. p. 39–47.
41. Estévez-Landazábal L-L, Barajas-Solano A-F, Barajas-Ferreira C, Kafarov V. MEJORA DE LA PRODUCTIVIDAD LIPÍDICA EN *Chlorella vulgaris* UTILIZANDO GLICEROL DE DESECHO Y ACETATO DE SODIO. Vol. 5, CT&F - Ciencia, Tecnología y Futuro . Scieloco ; 2013. Págs. 113-26.
42. González-Delgado ÁD, Barajas-Solano AF, Ardila-Álvarez AM. Producción de biomasa y proteínas de *Chlorella vulgaris* Beyerinck (Chlorellales: Chlorellaceae) a través del diseño de medios de cultivo selectivos. Cienc y Tecnol Agropecu. 2017 Aug; 18(3 SE-Acuicultura y pesca):451–61.
43. Rodrigues DB, Flores ÉMM, Barin JS, Mercadante AZ, Jacob-Lopes E, Zepka LQ. Producción de carotenoides a partir de microalgas cultivadas a partir de residuos agroindustriales. Food Res Int [Internet]. 2014; 65:144–8. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996914004426>
44. Ge S, Qiu S, Tremblay D, Viner K, Champagne P, Jessop PG. Tratamiento de aguas residuales centradas con *Chlorella vulgaris*: Mejora simultánea de la eliminación de nutrientes, la biomasa y la producción de lípidos. Chem Eng J [Internet]. 2018; 342:310–20. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894718302596>
45. Chen H, Wang J, Zheng Y, Zhan J, He C, Wang Q. Biorremediación acoplada de la producción de biocombustibles de algas de residuos de centrales eléctricas de biomasa basada en *Chlorella* Cultivo de C₂. Appl Energy [Internet]. 2018; 211:296–305. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306261917316434>
46. Damergi E, Schwitzguébel J-P, Refardt D, Sharma S, Holliger C, Ludwig C. Extracción de carotenoides de *Chlorella vulgaris* Uso de disolventes verdes y producción de gas de síntesis a partir de biomasa residual. Algal Res [Internet]. 2017; 25:488–95. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926416303903>
47. Zorro A, Malavasi V, Cao G, Lavecchia R. Uso de enzimas degradadoras de la pared celular para mejorar la recuperación de lípidos de *Chlorella sorokiniana*. Chem Eng J [Internet]. 2019;377:120325. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894718322575>
48. Zorro A, Lavecchia R, Maffei G, Marra F, Miglietta S, Petrangeli A, et al. Extracción mejorada de lípidos de células de microalgas intactas mediante enzimas. Chem Eng Trans [Internet]. 20 de mayo de 2015; 43:211-216 SE-Artículos de investigación. Disponible en: <https://www.cetjournal.it/index.php/cet/article/view/CET1543036>
49. Barajas-Solano A, Garcia Martinez J, Ayala E, reyes oscar, Zorro A, Barajas C. Evaluación de un sistema de extracción en dos fases de carbohidratos y proteínas a partir de *Chlorella vulgaris* Utex 1803. 10 de abril de 2016;49:355.
50. Zorro A, García-Martínez JB, Barajas-Solano AF. La aplicación de procesos catalíticos en la producción de biocombustibles a base de algas: una revisión. Vol. 11, Catalizadores. 2021.
51. Johnson EM, Kumar K, Das D. Optimización de parámetros fisicoquímicos y purificación de ficobiliproteínas a partir del aislado *Nostoc* sp. Bioresour Technol [Internet]. 2014; 166:541–7. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852414008050>