

Aproximación al tratamiento de aguas residuales del lavado del café con las microalgas *Parachlorella kessreli* y *Desmodesmus armatus*

An Approach for Treating Wet Coffee Processing Wastewater Using Microalgae *Parachlorella kessreli* and *Desmodesmus armatus*

Iván Alberto Sandoval Salazar^{ac}, Mohamed Toufic Darwich Cedeño^b, María Del Rosario Castañeda^{ad}, Wilmer Andrés Torres Munar^a, Luis Carlos Montenegro Ruiz^{be}

^a Grupo de Investigación Yamboró, Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA), Pitalito, Huila, Colombia

^b Laboratorio de Cultivo de Algas, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Colombia.

^c <https://orcid.org/0000-0002-5679-7798>

^d <https://orcid.org/0000-0002-6171-7756>

^e lcmontenegro@unal.edu.co | <https://orcid.org/0000-0002-6662-1833>

RESUMEN

Colombia es uno de los mayores productores de café en el mundo, con un mercado que superó los 13,9 millones de sacos en 2020. Sin embargo, en el proceso de beneficio húmedo del café se emplean grandes cantidades de agua, aproximadamente 4.154.354 m³, en las fases de despulpado, lavado y transporte del grano, generando aguas residuales contaminadas que tienen poco tratamiento antes de ser vertidas a las fuentes hídricas. En el presente trabajo se buscó aislar especies de microalgas que crezcan en estos ambientes, utilizar estas especies en procesos de depuración de aguas residuales del proceso de lavado del café y buscar una aplicación de la biomasa resultante. Para la obtención de las cepas de microalgas se utilizaron técnicas de agotamiento. Con el fin de evaluar su capacidad de depuración, estas fueron cultivadas en agua residual de diferentes concentraciones bajo condiciones de laboratorio, determinando la remoción de materia orgánica. Adicionalmente, se caracterizó bioquímicamente la biomasa algal para determinar posibles usos biotecnológicos o industriales. Se encontró dos Chloroficeae cocales, *Parachlorella kessreli* y *Desmodesmus armatus*, las cuales demostraron una alta eficiencia en la remoción de nitrógeno total (> 50 %) y fósforo total

Citation: Sandoval-Salazar, I. A., Darwich-Cedeño, M. T., Castañeda, M. R., Torres-Munar, W. A. y Montenegro-Ruiz, L. C. (2021). Aproximación al tratamiento de aguas residuales del lavado del café con las microalgas *Parachlorella kessreli* y *Desmodesmus armatus*. *Mutis*, 11(2), 32-43. <https://doi.org/10.21789/22561498.1755>

Recibido: 19 de mayo de 2021. **Aceptado:** 30 de junio de 2021.

Copyright: ©2021. Sandoval-Salazar, I. A., Darwich-Cedeño, M. T., Castañeda, M. R., Torres-Munar, W. A. y Montenegro-Ruiz, L. C. (2021). This is an open-access article, which permits unrestricted use, distributions and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Competing Interests: The authors have no conflict of interest.



(> 70 %), así como una disminución significativa de la DQO (> 70 %) en los mejores tratamientos. Finalmente, se encontró para *Parachlorella kessreli* alta producción de lípidos y para *Desmodesmus armatus* alta producción de proteína.

Palabras clave: café, aguas residuales, *Parachlorella*, *Desmodesmus*, depuración de agua, microalgas.

ABSTRACT

Colombia is one of the largest coffee producers in the world, with a market that exceeded 13.9 million bags in 2020. However, wet coffee processing requires large amounts of water —approximately 4,154, 354 m³— in the pulping, washing and transportation phases, generating contaminated wastewater that has little treatment before being discharged to water sources. Hence, this work sought to isolate microalgae species that grow in these environments to use them wastewater treatment processes from the coffee washing process and seek an application of the resulting biomass. Depletion techniques were used to obtain the microalgae strains. In order to evaluate their purification capacity, the microalgae were cultivated in wastewater at different concentrations under laboratory conditions, determining the removal of organic matter. Additionally, the algal biomass was biochemically characterized to determine possible biotechnological or industrial uses. Two coccal Chloroficeae, *Parachlorella kessreli* and *Desmodesmus armatus*, were found after this process. Both of them showed high efficiency in removing total nitrogen (>50%) and total phosphorus (>70%) while decreasing COD by more than 70% in the best treatments. High lipid production was found for *P. kessreli*, and high protein production for *D. armatus*.

Keywords: Coffee, wastewater, *Parachlorella*, *Desmodesmus*, water purification, microalgae.

INTRODUCCIÓN

El departamento del Huila es uno de los mayores productores de café en Colombia, con 2,5 millones de sacos producidos por año y 147.275 hectáreas sembradas en 35 de sus 37 municipios. El café producido en este departamento es reconocido a nivel mundial por la diversidad de sabores en taza, aroma y calidad, además de ser el principal factor económico y social de la región. A pesar de su importancia, el proceso de beneficio húmedo del café emplea grandes cantidades de agua en las etapas de despulpado, lavado y transporte del grano, registrando consumos aproximados de 4.154.354 m³ que equivalen a 37,2 L/kg de café pergamino seco (Rodríguez *et al.*, 2015). El proceso, a su vez, genera grandes volúmenes de aguas residuales que contaminan las aguas y los suelos de las zonas circundantes a las áreas de producción. Debido a los altos volúmenes de agua residual se hace imposible aplicar tratamientos antes de su vertimiento a cielo abierto, lo que deteriora las fuentes hídricas en las épocas de cosecha. En cuanto al grado de contaminación causado por las aguas mieles del café en un cuerpo de agua, se ha determinado que la demanda biológica de oxígeno (DBO5) aproximada es de 25.109 t, los sólidos

totales disueltos alcanzan 23.830 t y el DQO registra un valor de 55.000 mg/L (Rodríguez *et al.*, 2015).

En ese contexto, los impactos ambientales generados por el procesamiento del café se relacionan con la pérdida de la biodiversidad en aguas y suelos, una disminución en la calidad de vida de los productores, quienes reportan problemas de salud por el consumo de aguas contaminadas, la presencia de malos olores, la aparición de insectos vectores, y un menor rendimiento de los suelos, ocasionado por el alto contenido de materia orgánica y acidez que altera el microbiota. Por lo anterior, la mitigación de los impactos ambientales causados por las aguas residuales del café mediante el uso de microorganismos nativos como microalgas y cianobacterias se convierte en una alternativa viable y con potencial para el tratamiento terciario de este subproducto del café en el departamento del Huila.

Durante los últimos años, las microalgas y cianobacterias se han utilizado como sistemas biológicos alternativos al tratamiento de aguas residuales, en gran parte por su capacidad de combinar su metabolismo autótrofo con el heterótrofo, con lo cual consumen sales e iones en presencia de luz, a la

vez que pueden consumir moléculas orgánicas. Investigaciones desarrolladas por Li Wu *et al.* (2018), quienes cultivaron la cianobacteria *Scytonema javanicum* en aguas residuales sintéticas artificiales, determinaron el potencial remediador de nitrógeno y fosfatos de este organismo. Por su parte, Lynch *et al.* (2015) aislaron siete especies nativas de cianobacterias y un alga verde con el fin de evaluar su capacidad de eliminación de nutrientes, logrando con ello eliminar totalmente el fosfato y el amonio, y obteniendo al final un alto contenido de biomasa. Gorain *et al.* (2019) evaluaron la eliminación de nitrógeno y fosfato en aguas residuales agrícolas utilizando la cianobacteria *Anabaena sphaerica* y *A. variabilis* durante 30 días en un sistema de cultivo semicontinuo, encontrando que cerca del 90 % de N y P fueron eliminados, además de que la biomasa producida reportaba altos contenidos de ácidos grasos esenciales con potencial para su uso en la producción de nutraceuticos.

Sumado a lo anterior, se ha evaluado también el uso conjunto de microalgas y cianobacterias (*Oscillatoria sp.*) para la eliminación de nitrógeno y fósforo inorgánico en aguas residuales, encontrando que es posible eliminar 36 mg de N y 0,35 mg de P por día y generar una producción de biomasa de 0,15mg/día (Arias *et al.*, 2017). Otras algas y cianobacterias que han dado buenos resultados en depuración son *Phomidium sp.*, capaz de eliminar 100 % de ortofosfato, 87 % de nitrato, 68 % de fosfato total y 48 % de ion amonio (Cañizares-Villanueva *et al.*, 1994), *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus*, empleadas para la remoción de cromo en aguas de curtiembres (Ardila *et al.*, 2017).

Para aguas residuales del proceso productivo de café no se han realizado tratamientos con algas, hasta donde conocemos, aunque sí se ha avanzado en la investigación con otros microorganismos que resultan ser eficientes en la depuración de las aguas finales del proceso. Entre los trabajos que se destacan por dar resultados positivos está el de Ashenafi *et al.* (2021), quienes evaluaron a escala laboratorio la eficiencia de las bacterias *Pseudomonas fluorescence* y *Escherichia coli*, obteniendo en 144 horas reducción de DBO₅, DQO y TS. De otro lado, Pires *et al.* (2021) desarrollaron un protocolo para la obtención de microorganismos con potencial para la remoción de la carga orgánica a partir de la microbiota autóctona de las aguas residuales de la producción de café,

logrando efectividad en un consorcio bacteriano compuesto por *Serratia marcescens*, *Corynebacterium flavescens* y *Acetobacter indonesiensisk*, con el que se logró disminuir 85 % la DBO₅, 60 % la DQO y 80 % el fósforo y el nitrógeno. Resultados similares se alcanzaron con cepas bacterianas autóctonas aisladas de las aguas residuales del despulpado de la cereza de café (*Enterobacter ludwigii*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter cloacae*), disminuyendo hasta en 40 % la DQO (Jenifer *et al.*, 2020). También se han realizado trabajos con los hongos *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus*, microorganismos aislados de las mismas aguas residuales, alcanzando una reducción de hasta 80 % de DQO y DBO (Navitha & Kousar, 2018).

Teniendo en cuenta lo anterior, el presente trabajo llevó a cabo una exploración de especies de microalgas aisladas de los procesos de producción de café con alta capacidad para depurar las aguas residuales y, a la vez, hacer posible que la biomasa algal producida tenga un valor agregado para su utilización en procesos tanto biotecnológicos como industriales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de algas y obtención de cepas

Las muestras analizadas provienen de fincas cafeteras del municipio de Isnos (Huila, Colombia). Se realizó toma de muestras en los tanques de almacenamiento de pulpa de café, mucilago y en los procesos de filtrado de aguas residuales del proceso de producción de café. Las muestras de agua se recolectaron en tubos Falcon de 50 mL para luego ser etiquetadas y conservadas en oscuridad a temperatura ambiente hasta el momento de su procesamiento.

Para la obtención de cepas unialgales se utilizó la técnica de rayado en agar por agotamiento. Como medio de cultivo se utilizó medio básico Bold (BBM) enriquecido con agar-agar 1,5 %. En esta fase se hicieron tantos repiques como fueron necesarios hasta alcanzar una cepa unialgal (Andersen, 2005).

Identificación molecular de las cepas

Para la identificación de las cepas se aisló ADN siguiendo el protocolo del kit ZYMO Research Quick-DNA TM Plant/Seed Micropep (ZYMO Research Corp.,

Irvine, Estados Unidos, catálogo D6020). Para comprobar la obtención de ADN se realizó electroforesis en gel de agarosa a 1,5 %, utilizando como marcador buffer de carga e HydraGreen™ Safe DNA Dye-Thomas Scientific. Para las cepas se amplificó el gen 18s con los cebadores 18s F (AACCTGGTTGATCTGCCAG) y 18s R (CACCAGACTTGCCCTCCA).

Todas las reacciones se realizaron en un termociclador MyCycler™ (Bio-Rad laboratorios Inc., Hercules, CA, EE. UU.) en alícuotas de 20 µL que contenían 10 µL de PCR mix – 100 2X (Corpogen, Colombia), 1 µL de cebador F, 1 µL de cebador R (cada cebador a una concentración de 10 µM), 0,5 µL de ADN y agua grado biología molecular, hasta alcanzar un volumen final de 20 µL. El programa de PCR fue 94 °C durante 5 minutos, seguidos de 35 ciclos de 94 °C durante 1 min, 55 °C por 1 s y 72 °C durante 3 min, así como una extensión final a 72 °C durante 10 min.

La limpieza de los productos de PCR se realizó con el Kit DNA Clean & Concentration TM-5 (ZYMO Research Corp., Irvine, Estados Unidos, catálogo D4013). La electroforesis se corrió en gel de agarosa al 1 % con marcador HydraGreen™ Safe DNA Dye-Thomas Scientific por aproximadamente una hora, con voltaje de 100 V. Finalmente, se observó el resultado en un documentador de geles (Gel Doc™ XR+, BioRad).

Los productos purificados de PCR fueron enviados a la casa comercial (SSigMOL, Instituto de Genética, Universidad Nacional, Colombia) para el respectivo secuenciamiento. Las secuencias se editaron usando el programa Sequencher 5.1 (Gene Code Corporation, 2017). Las comparaciones de secuencias se llevaron a cabo utilizando las bases de datos BLAST del National Center for Biotechnology Information.

Caracterización bioquímica de las cepas seleccionadas

Las dos cepas fueron cultivadas en medio BBM en un volumen de 1 L, las condiciones de cultivo fueron irradiancia de 300 µmol de fotones m⁻² s⁻¹, fotoperíodo de 12:12 horas luz/oscuridad, 25 °C +/- 3 °C y burbujeo permanente con aire del ambiente. La biomasa se recolectó en fase estacionaria, siendo deshidratada a baja temperatura.

La determinación de proteínas se realizó por el método de Bradford (1976), para lo cual se pesó

aproximadamente 0,01 g de biomasa liofilizada en tubos Falcon de 15 ml, se adicionó 6 ml de buffer de fosfato de sodio [0,02 M; pH 6] (Melgarejo, 2010) y perlas de sílice (para asegurar el rompimiento celular). Esta muestra se pasó por vórtex durante 5 min y se centrifugó a 6.000 rpm por 5 min. Se extrajo 0,8 ml de sobrenadante, el cual fue dispuesto en tubo Eppendorf de 2 ml, añadiendo 0,2 ml de reactivo de Bradford (Bio-Rad 2006) y agitando fuertemente en un vórtex por un minuto, para luego incubar por cinco minutos y medir la absorbancia a 595 nm. Cada mezcla de reacción se realizó por triplicado.

La determinación de carbohidratos se realizó por el método de DuBois (DuBois *et al.*, 1956; Gerchakov & Hatcher 1972; Melgarejo 2010), para lo cual se pesó aproximadamente 0,01 g de biomasa liofilizada en tubos Falcon de 15 ml, agregando 6 ml de H₂O destilada y desionizada y perlas de sílice (para asegurar el rompimiento celular). La muestra se pasó por vórtex durante 5 min y se centrifugó a 6.000 rpm por 5 min. Se extrajo 210 µl de sobrenadante, el cual fue dispuesto en tubo Eppendorf de 2 ml, posteriormente añadiendo 0,2 ml de fenol al 80 % y 1 ml ácido sulfúrico (H₂SO₄), para luego agitar la muestra fuertemente en un vórtex por un minuto y dejar enfriar a temperatura ambiente y en oscuridad (el compuesto que se forma es estable por 36 horas). Se midió la absorbancia a 485 nm. Cada mezcla de reacción se realizó por triplicado.

La determinación de lípidos se realizó por el método de Sulfofosfovainillina (Byreddy *et al.*, 2016; Cheng *et al.*, 2011; Mishra *et al.*, 2014). Se pesó aproximadamente 0,01 g de biomasa liofilizada en tubos Falcon de 15 ml, se adicionó 2 ml de cloroformo:metanol [1:1] y perlas de sílice (para asegurar el rompimiento celular), pasando la muestra por vórtex durante 5 min y centrifugando a 6.000 rpm por 5 min. Se extrajo 60 µl de sobrenadante, siendo este dispuesto en tubo Eppendorf de 2 ml, para luego añadir 300 µl de ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado y someter la muestra a baño María de 90 °C durante 20 min, para así evaporar los solventes y propiciar la reacción de hidrólisis. La muestra fue luego enfriada en un congelador durante 10 min y se agregó 500 µl de ácido fosfórico al 17 % - Vainillina [0,2 g de vainillina/ml ácido fosfórico al 17 %]. Se agitó por vórtex y se midió a 540 nm. Todas las extracciones se realizaron por triplicado.

Tratamiento de aguas residuales del lavado de café

Para los tratamientos se utilizó agua proveniente del tanque del proceso de lavado del café, la cual fue recolectada en envases plásticos de 20 L y almacenada a -20 °C hasta el momento de su uso. Para limpiar las aguas residuales con microalgas se realizaron 2 experimentos con los siguientes tratamientos:

Experimento 1 (*Parachlorella kessleri*)

- Agua residual al 100 % + *P. kessleri*
- Agua residual al 50 % + *P. kessleri*
- Agua residual al 25 % + *P. kessleri*

Experimento 2 (*Desmodesmus armatus*)

- Agua residual al 100 % + *D. armatus*
- Agua residual al 50 % + *D. armatus*
- Agua residual al 25 % + *D. armatus*

Las aguas residuales se filtraron con ayuda de una bomba al vacío, usando filtros de 0,45 µm. Seguidamente, estas fueron esterilizadas durante 20 minutos a 120 °C y 15 PSI. Las diluciones del agua residual se realizaron con agua destilada desionizada. La unidad experimenta fue un frasco de vidrio 2,5 L, al que se añadió 1,85 L de agua residual y 0,15 L de inóculo de alga, para una concentración final de algas de 1×10^6 células/mL.

Las condiciones de cultivo fueron irradiancia de 300 µmol de fotones $m^{-2} s^{-1}$, fotoperíodo de 12:12 horas luz/oscuridad, 25 °C +/- 3 °C y burbujeo permanente con aire del ambiente. Los cultivos se mantuvieron por 15 días.

Para cada tratamientos se determinó DQO, fósforo total y nitrógeno total. Las mediciones se hicieron al inicio y final del cultivo, con el fin de determinar el efecto de las algas en la limpieza de aguas residuales del proceso de producción de café.

Análisis estadístico

Se realizó una estadística descriptiva, determinando la media para el resultado de cada tratamiento con su respectiva desviación estándar. Para los experimentos de limpieza de agua la unidad experimental fueron

recipientes con 1,8 L de medio, luego de 4 repeticiones por tratamiento.

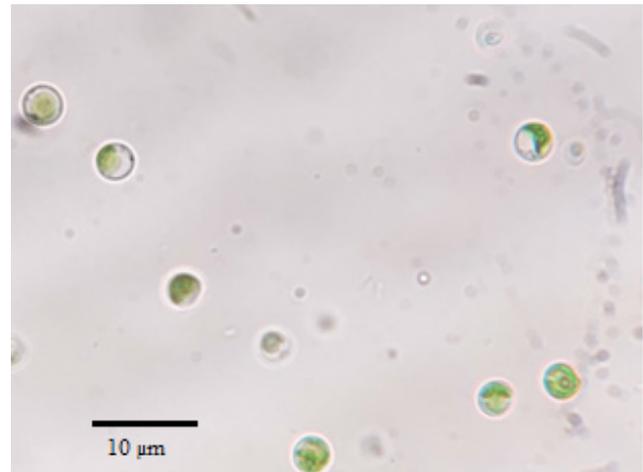
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención de cepas unialgal

Se obtuvieron dos cepas de microalgas de la clase Chlorophyceae:

- Cepa 1: *Parachlorella kessleri* (Fott & Nováková) Krienitz, E.H.Hegewald, Hepperle, V.Huss, T.Rohr & M.Wolf 2004 (figura 1).

Figura 1. *Parachlorella kessleri* (1.000x)



Fuente: Luis Carlos Montenegro Ruíz.

La secuencia que se obtuvo del gen ribosomal 18s fue:

```
CCAGTAGTCATATGCTTGTCTCAAAGATTAAGCCATGCATGTCTAA-
GTATAAACTGCTTTATACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTAAAT-
CAGTTATAGTTTATTGATGGTACCTTACTACCGGATAACCGTAG-
TAATTCTAGAGCTAATACGTGCGTAAAYCCCGACTYCTGGAAGG-
GRCGTATTTATTAGATTTAAGGCCGACCCGGCTCTGCCGGTCTC-
GCCGGTGAATCATGATAACTTACGAATCGCATGGCCTTGCCCG-
GCGATGTTTCATTCAAATTTCTGCCCTATCAACTTTCGATGGTAG-
GATAGAGGCTACCATGGTGTAACGGGTGACGGAGGATTAG-
GGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACATC-
CAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCTGACACAG-
GGAGGTAGTGACAATAAATAACAATACCGGGCCTTTTCAGGTCT-
GGTAATTGGAATGAGTACAATCTAA
```

El resultado del Blast se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Resultado del Blast para la cepa 1

Accesión	Nombre	Porcentaje de identidad	Fuente
AB162911.1	<i>Parachlorella kessleri</i>	99,41 %	Hoshina <i>et al.</i> (2004)
AB080309.1	<i>Parachlorella kessleri</i>	99,41 %	Yamamoto <i>et al.</i> (2003)
LC473527.1	<i>Parachlorella kessleri</i>	99,41 %	Sasaki <i>et al.</i> (2020)

Fuente: elaboración propia.

- Cepa 2: *Desmodesmus armatus* (Chodat) E.H.Hegewald 2000 (figura 2).

Figura 2. *Desmodesmus armatus* (1.000x)



La secuencia que se obtuvo del gen ribosomal 18s fue:

```
GATCCTGCCAGTAGTCATATGCTTGTCTCAAAGATTAAGCCATGCATGTCTAAGTA-
TAAACTGCTTATACTGTGAAACTGCGAATGGCTCATTAAATCAGTTATAGTTATTTG-
GTGGTACCTTCTTACTCGGAATAACCGTAAGAAATTTAGAGCTAATACGTGCGTAA-
ATCCCGACTTCTGGAAGGGACGTATATATTAGATAAAAGGCCGACCGGGCTCTGCC-
CGACCCGCGGTGAATCATGATATCTTACGAAGCGCATGGCCTTGTGCCGGCGCTG-
TTCCATTCAAATTTCTGCCCTATCAACTTTCGATGGTAGGATAGAGGCCTACCATGGT-
GGTAACGGGTGACGGAGGATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAAC-
GGTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCAATCCTGATACGGG-
GAGGTAGTGACAATAAATAACAATACCGGCATTTCATGTCTGGTAATTGGAATGAG-
TACAATCTAAATCCCTAACGAGGATCCATTGGA
```

El resultado del Blast para esta cepa se muestra en la tabla 2.

Fuente: Luis Carlos Montenegro Ruíz.

Tabla 2. Resultado del Blast para la cepa 2

Accesión	Nombre	Porcentaje de identidad	Fuente
KP281291.1	<i>Desmodesmus armatus</i>	100 %	Westblade <i>et al.</i> (2015)
MK541733.1	<i>Desmodesmus armatus</i>	100 %	Rad-Menendez (2019)

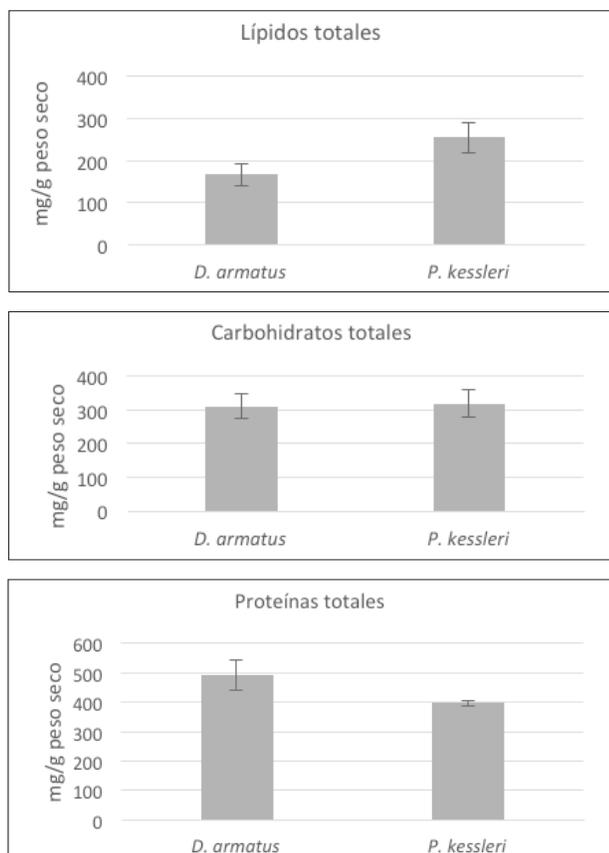
Fuente: elaboración propia.

Análisis bioquímicos de las cepas de *D. armatus* y *P. kessleri*

Se encontró que bajo condiciones de cultivo óptimas, en el día 10, durante la fase estacionaria, la composición bioquímica de *D. armatus* fue: proteínas 493,33 mg/g peso seco, carbohidratos 310,01 mg/g peso seco y lípidos 166,66 mg/g peso seco. Para *P. kessleri* la composición fue: proteínas 396,66 mg/g peso seco, carbohidratos 320,03 mg/g peso seco y lípidos 255,05 mg/g peso seco (figura 3).

Los resultados obtenidos muestran que *D. armatus* y *P. kessleri* tienen contenidos de proteínas, carbohidratos y lípidos similares a los reportados para las especies de los géneros *Chlorella*, *Parachlorella*, *Desmodesmus* y *Scenedesmus* (Gómez *et al.*, 2017; Palomino *et al.*, 2019; Serrano *et al.*, 2020). Además, se destaca el alto contenido de proteínas en *D. armatus* y el alto contenido de lípidos en *P. kessleri*, dando buenas expectativas para su uso biotecnológico en diferentes sistemas.

Figura 3. Contenido de lípidos, carbohidratos y proteínas en *D. armatus* y *P. kessleri* cultivadas bajo condiciones óptimas



Fuente: elaboración propia.

Las microalgas con alta producción de lípidos son consideradas como materia prima de tercera generación para la producción de biocombustibles (Palomino *et al.*, 2019; Serrano *et al.*, 2020). Los altos contenidos de proteína pueden ser aprovechados para el consumo humano o la elaboración de alimentos concentrados para animales (Chew *et al.*, 2017; González-Delgado *et al.*, 2017; Guccione *et al.*, 2014). Además, se ha encontrado actividad antimicrobiana en varias proteínas en géneros de *Parachlorella* y *Chorella* (Yu-Cheng *et al.*, 2019), por lo que otro mercado importante es el de pigmentos obtenidos a partir de estas algas, los cuales son utilizados en la industria alimenticia o nutraceútica como antioxidantes (Kulkarni & Nikolov 2014; Pozzobona *et al.*, 2020; Safi *et al.*, 2014).

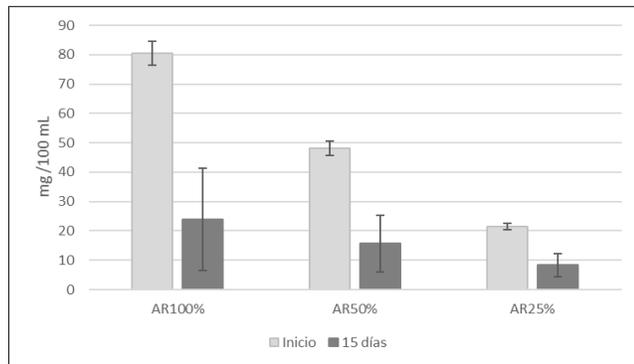
Como se mencionó, después del tratamiento de aguas residuales, la biomasa de microalgas resultante se puede convertir en múltiples productos con alto valor agregado. Las proteínas corresponden a uno de los principales constituyentes de las microalgas y representan entre 50 y 70 %, junto con rendimientos en carbohidratos y grasas con valores cercanos a 40 y 30 % de la biomasa en peso seco, respectivamente (Alavijeh *et al.*, 2020); esto, en función de las especies utilizadas y la fase de crecimiento del cultivo al momento de la cosecha. En el género *Chlorella* sp., cercano a *Parachlorella*, algunos estudios han realizado aproximaciones a sus rendimientos de macromoléculas, obteniendo porcentajes en aguas residuales de 51-63 % de contenido proteico, 12-17 % de carbohidratos y 14-22 % de lípidos (Mtaki *et al.*, 2021). Por otro lado, en el género *Desmodesmus* sp. se reportan rendimientos de 11-25 % de proteína, 17-37 % de carbohidratos (Sun *et al.*, 2020) y 26-60 % de lípidos (Chen *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020). A partir de estos hallazgos, se evidencia que el tratamiento de aguas residuales con microalgas puede tener un doble propósito, puesto que también contribuye a reducir la huella hídrica en algunos procesos productivos (Chen *et al.*, 2020).

Remoción de nutrientes de aguas residuales del café

Se observó que *P. kessleri* y *D. armatus* son eficientes para la remoción de nitrógeno en aguas residuales, sin importar la concentración inicial de la misma. *P. kessleri* remueve 70, 67 y 61 % del nitrógeno de las aguas al 100, 50 y 25 % de concentración, respectivamente.

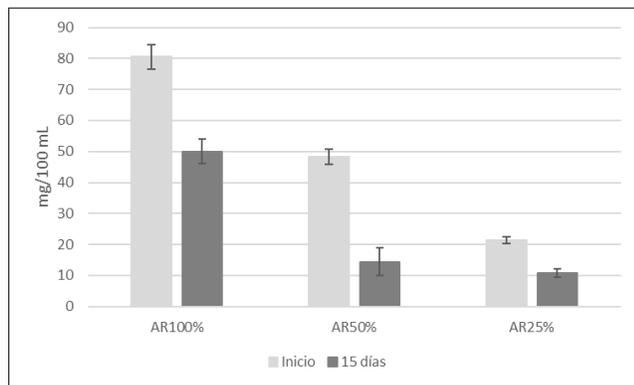
Por su parte, *D. armatus* remueve 38, 70 y 50 % del nitrógeno al 100, 50 y 25 % de concentración, respectivamente (figuras 4 y 5).

Figura 4. Disminución del contenido de nitrógeno total en aguas residuales del lavado de café utilizando *P. kessreli* durante 15 días de tratamiento



Fuente: elaboración propia.

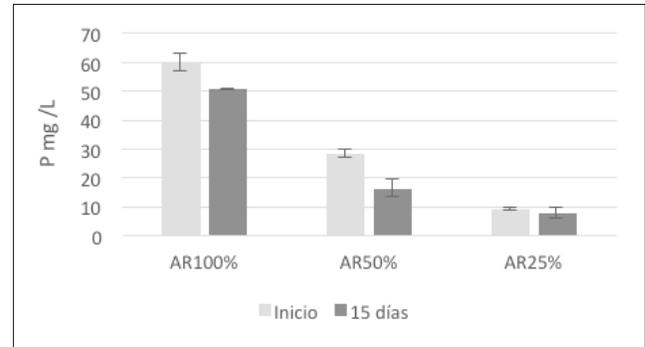
Figura 5. Disminución del contenido de nitrógeno total en aguas residuales del lavado de café utilizando *D. armatus* durante 15 días de tratamiento



Fuente: elaboración propia.

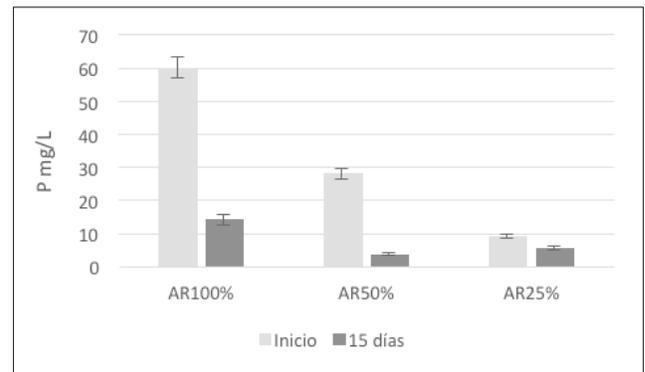
De otro lado, los resultados muestran que *D. armatus* es más eficiente en la remoción de fósforo que *P. kessreli*. Para ambas especies, la capacidad de consumir fósforo es baja a bajas concentraciones de agua residual, puesto que *P. kessreli* remueve 15, 42 y 15 % del fósforo al 100, 50 y 25 % de concentración, respectivamente, mientras que *D. armatus* remueve 77, 87 y 38 % de este elemento al 100, 50 y 25 % de concentración, respectivamente (figuras 6 y 7).

Figura 6. Disminución del contenido de fósforo total en aguas residuales del lavado de café utilizando *P. kessreli* durante 15 días de tratamiento



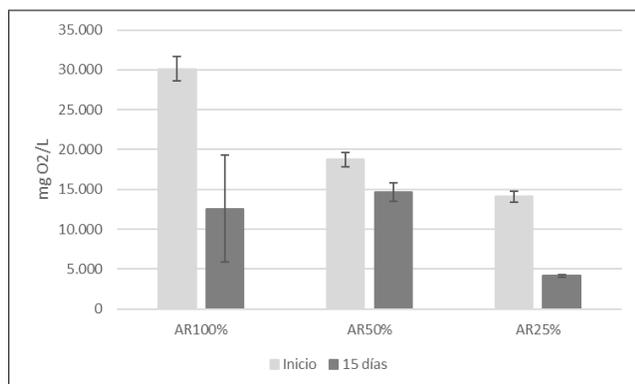
Fuente: elaboración propia.

Figura 7. Disminución del contenido de fósforo total en aguas residuales del lavado de café utilizando *D. armatus* durante 15 días de tratamiento

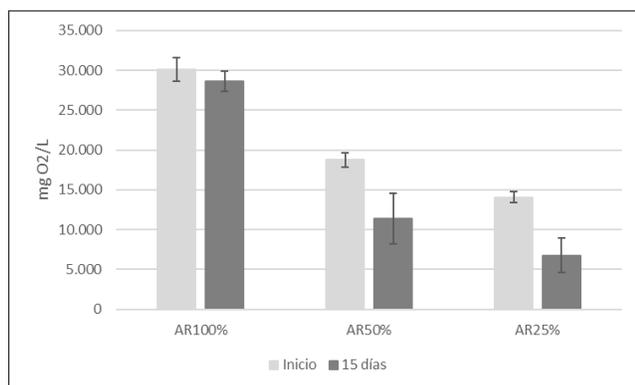


Fuente: elaboración propia.

También se observó que *P. kessreli* es más eficiente disminuyendo la DQO que *D. armatus*, alcanzando cifras de remoción entre 60 y 70 %, de acuerdo con la concentración inicial. Por su parte, *D. armatus* solo disminuyó la DQO un 50 % a baja concentración, sin alcanzar valores importantes en altas concentraciones de agua residual (figuras 8 y 9).

Figura 8. Disminución de la DQO en aguas residuales del lavado de café utilizando *P. kessreli* durante 15 días de tratamiento

Fuente: elaboración propia.

Figura 9. Disminución de la DQO en aguas residuales del lavado de café utilizando *D. armatus* durante 15 días de tratamiento

Fuente: elaboración propia.

Las aguas residuales producto de las industrias agropecuarias se caracterizan por altas cargas de materia orgánica, nitrógeno amoniacal y fósforo. Estos compuestos constituyen un factor crítico para problemáticas ambientales como la erosión del suelo, la contaminación atmosférica producto de la volatilización de amoníaco y sulfuro de hidrógeno y la eutrofización de cuerpos de agua (Mousavi *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020). En la actualidad, las aguas residuales se suelen someter a procesos oxidativos en lagunas para luego ser tratadas en lagunas anaeróbicas y, como etapa final, en lagunas aeróbicas facultativas o reactores de película con lecho móvil (Wang *et al.*, 2020), donde las microalgas son las protagonistas, ya

que no solo gobiernan el consumo de CO₂ sino que también brindan una alternativa segura y rentable a la aireación mecánica (Chen *et al.*, 2020). Las microalgas juegan un papel esencial en estas últimas etapas, demostrando una notable capacidad de absorber nitrógeno y fósforo inorgánicos de forma eficiente, puesto que en este punto los contaminantes han sido degradados y mineralizados por acción de microorganismos heterotróficos (Nur & Buma, 2019; Wang *et al.*, 2020).

Especies de algas como *Scenedesmus obliquus* y *Chlorella sp.* han sido estudiadas para el tratamiento de aguas residuales, generando resultados prometedores en la eliminación de DQO, P y N, con rendimientos aproximados para el género *Desmodesmus sp.* de 92,9 % para amonio y 88,5 % para nitrógeno total, así como remociones de 40,8 % para fósforo y 61,9 % para carbono orgánico disuelto (COD) en 14-17 días de tratamiento (Chen *et al.*, 2020; Ferreira *et al.*, 2017). Por otro lado, *Chlorrella sp.* reporta rendimientos para remoción de nitrógeno total de 95-100 %, fósforo de 85-95 % y COD de 90 % en 14-24 días de tratamiento (Chen *et al.*, 2020; Sepehri *et al.*, 2020), resultados similares a los encontrados en el presente trabajo.

CONCLUSIONES

Las microalgas *Parachlorella kessreli* y *Desmodesmus armatus* son eficientes en la depuración de aguas residuales provenientes del lavado del café. Nuestros hallazgos muestran que en 15 días estas algas disminuyen el contenido de sustancias nitrogenadas y fosfatos en cifras superiores a 50 %, comprobando su potencial para los sistemas rurales de tratamiento de aguas contaminadas con características similares a los analizados en esta investigación.

Aunque existe una gran diversidad de microalgas con alto potencial para el tratamiento de aguas residuales, son pocas las que permiten su aislamiento y cultivo *in vitro*. En el presente estudio se alcanzó a tener dos cepas de clorofíceas *Parachlorella kessreli* y *Desmodesmus armatus*.

Debido al alto contenido de lípidos de *Parachlorella kessreli* se recomienda su uso para la producción de biocombustibles o alimento para animales, mientras que *Desmodesmus armatus* resulta ser adecuada para la alimentación humana y animal, gracias a su alta producción de proteína.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Servicio de Aprendizaje Nacional (SENA), convocatoria SENNOVA 2020.

REFERENCIAS

- Alavijeh, R. S., Karimi, K., Wijffels, R. H., van den-Berg, C., & Eppink, M. (2020). Combined bead milling and enzymatic hydrolysis for efficient fractionation of lipids, proteins, and carbohydrates of *Chlorella vulgaris* microalgae. *Bioresource Technology*, 309, 123321. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123321>
- Andersen, R. (2005). *Algal culturing techniques*. Elsevier Academic Press.
- Ardila, L., Godoy, R. D., & Montenegro, L. C. (2017). Sorption capacity measurement of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* to remove chromium from tannery wastewater. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 83, 012031. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/83/1/012031>
- Arias, D. M., Uggetti, E., García-Galán, M. J., & García J. (2017). Cultivation and selection of cyanobacteria in a closed photobioreactor used for secondary effluent and digestate treatment. *Science of The Total Environment*, 587-588, 157-167. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.097>
- Ashenafi, F. (2019). *Treatment of wastewater effluent from coffee industry using anaerobic mixed culture pseudomonas florescence and Escherichia coli bacteria and with gypsum: A case in Dilla-Ethiopia* (Tesis de maestría, Addis Ababa Institute of Technology). Repositorio Addis Ababa Institute of Technology.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Crop Journal*, 72, 248-254. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2017.04.003>
- Byreddy, A., Gupta, A., Barrow, C., & Puri, M. (2016). A quick colorimetric method for total lipid quantification in microalgae. *Journal of Microbiological Methods*, 125, 28-32. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.04.002>
- Cañizares-Villanueva, R. O., Ramos A., Corona, A. I., Monroy, O., de-la-Torre, M., Gomez-Lojero, C., & Travieso L. (1994). Phormidium treatment of anaerobically treated swine wastewater. *Water Research*, 9(28), 1891-1895. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)90164-3](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)90164-3)
- Chen, C. Y., Kuo, E. W., Nagarajan, D., Ho, S. H., Dong, C. D., Lee, D. J., & Chang, J. S. (2020). Cultivating *Chlorella sorokiniana* AK-1 with swine wastewater for simultaneous wastewater treatment and algal biomass production. *Bioresource Technology*, 302, 122814. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122814>
- Chen, Z., Shao, S., He, Y., Luo, Q., Zheng, M., Zheng, M., Chen, B., & Wang, M. (2020). Nutrients removal from piggery wastewater coupled to lipid production by a newly isolated self-flocculating microalga *Desmodesmus sp.* PW1. *Bioresource Technology*, 302, 122806. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122806>
- Cheng, Y. S., Zheng, Y., & Vander-Gheynst, J. S. (2011). Rapid quantitative analysis of lipids using a colorimetric method in a microplate format. *Lipids*, 46(1), 95-103. <https://doi.org/10.1007/s11745-010-3494-0>
- Chew, K. W., Yap, J. Y., Show, P. L., Suan, N. H., Juan, J. C., Ling, T. C., Lee, D. J., & Chang, J. S. (2017). Microalgae biorefinery: High value products perspectives. *Bioresource Technology*, 229, 53-62. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.006>
- DuBois, M., Gilles, K., Hamilton, J., Rebers, P., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Ferreira, A., Ribeiro, B., Marques, P. A. S., Ferreira, A. F., Dias, A. P., Pinheiro, H. M., Reis, A., & Gouveia, L. (2017). *Scenedesmus obliquus* mediated brewery wastewater remediation and CO₂ biofixation for green energy purposes. *Journal of Cleaner Production*, 165, 1316-1327. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.07.232>

- Gerchakov, S., & Hatcher, P. (1972). Improved technique for analysis of carbohydrates in sediments. *Limnology and Oceanography*, 17(6), 938-943. <https://doi.org/10.4319/lo.1972.17.6.0938>
- Gómez-Pérez, C., Espinosa, J. J., Montenegro, L. C., & Van-Boxtela, J. B. (2017). Twisted tubular photobioreactor fluid dynamics evaluation for energy consumption minimization. *Algal Research*, 27, 65-72. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.08.019>
- González-Delgado, A. D., Barajas-Solano, A., & Ardila-Álvarez, A. M. (2017). Producción de biomasa y proteínas de *Chlorella vulgaris* Beyerinck (Chlorellales:Chlorellaceae) a través del diseño de medios de cultivo selectivos. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 18(3). https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num3_art:736
- Gorain, P. C., Paul, I., Singh, P., & Pala, R. (2019). An integrated approach towards agricultural wastewater remediation with fatty acid production by two cyanobacteria in bubble column photobioreactors. *Algal Research*, 42, 101-594. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101594>
- Guccione, A., Biondi, N., Sampietro, G., Rodolfi, L., Bassi, N., & Tredici, M. R. (2014). *Chlorella* for protein and biofuels: from strain selection to outdoor cultivation in a green wall panel photobioreactor. *Biotechnology for Biofuels*, 7, 84. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-7-84>
- Hoshina, R., Kamako, S. I., & Imamura, N. (2004). Phylogenetic position of endosymbiotic green algae in *Paramecium bursaria* Ehrenberg from Japan. *Plant Biology*, 6(4), 447-453. <https://doi.org/10.1055/s-2004-820888>
- Jennifer, A. A., Chandran, T., Muthunarayanan, V., Ravindran, B., Nguyen, V. K., Nguyen, X. C., Bui, X. T., Ngo, H. H., Nguyen, X. H., Chang, S. W., & Nguyen, D. D. (2020). Evaluation of efficacy of indigenous acidophile- bacterial consortia for removal of pollutants from coffee cherry pulping wastewater. *Bioresource Technology Reports*, 11(September), 100533. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100533>
- Kulkarni, S., & Nikolov, Z. (2018). Process for selective extraction of pigments and functional proteins from *Chlorella vulgaris*. *Algal Research*, 35, 185-193. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.08.024>
- Lynch, F., Santana-Sánchez, A., Jämsä, M., Sivonen, K., Aro, E. A., & Allahverdiyeva, Y. (2015). Screening native isolates of cyanobacteria and a green alga for integrated wastewater treatment, biomass accumulation and neutral lipid production. *Algal Research*, 11, 411-420. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.05.015>
- Melgarejo, L. (2010). *Experimentos en fisiología vegetal*. Universidad Nacional de Colombia.
- Mishra, S., Suh, W., Farooq, W., Moon, M., Shrivastav, A., Park, M., & Yang, J. (2014). Rapid quantification of microalgal lipids in aqueous medium by a simple colorimetric method. *Bioresource Technology*, 155, 330-333. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.077>
- Mousavi, S. A., Sarshad, M., & Soltani, S. (2020). Negative impacts of nomadic livestock grazing on common rangelands' function in soil and water conservation. *Ecological Indicators*, 110, 105946. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105946>
- Mtaki, K., Kyewalyanga, M. S., & Mtolera, M. S. P. (2021). Supplementing wastewater with NPK fertilizer as a cheap source of nutrients in cultivating live food (*Chlorella vulgaris*). *Annals of Microbiology*, 71(7). <https://doi.org/10.1186/s13213-020-01618-0>
- Navitha, K. R., & Kousar, H. (2018). A comparative study on the potential of *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* for the treatment of coffee processing effluent. *International Journal of Environment, Ecology, Family and Urban Studies*, 8(4), 17-22. <https://doi.org/10.24247/ijeeefusaug20182>
- Nur, M. M. A., & Buma, A. G. J. (2019). Opportunities and challenges of microalgal cultivation on wastewater, with special focus on palm oil mill effluent and the production of high value compounds. *Waste and Biomass Valorization*, 10(8), 2079-2097. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0256-3>

- Palomino, A., Montenegro, L. C., & Godoy, R. D. (2019). Evaluation of yield-predictive models of biocrude from hydrothermal liquefaction of microalgae. *Algal Research*, 44, 101669. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101669>
- Pires, J. F., Viana, D. C., Braga, R. A., Schwan, R. F., & Silva, C. F. (2021). Protocol to select efficient microorganisms to treat coffee wastewater. *Journal of Environmental Management*, 278(P2), 111541. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111541>
- Pozzobona, V., Levasseura, W., Guerina, C., Gaveau-Vaillantb, N., Pointchevala, M., & Perréa, P. (2020). *Desmodesmus* sp. pigment and FAME profiles under different illuminations and nitrogen status. *Bioresource Technology Reports*, 10, 100409. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100409>
- Rodriguez, N. V., Sanz, J. R., Oliveros, C. E., & Ramirez, C. G. (2015). *Beneficio del café en Colombia*. Federación Nacional de Cafeteros/Cenicafé.
- Safi, C., Camy, S., Frances, C., Montero-Varela, M., Calvo-Badia, E., Pontalier, P., & Vaca-Garcia C. (2014). Extraction of lipids and pigments of *Chlorella vulgaris* by supercritical carbon dioxide: influence of bead milling on extraction performance. *Journal of Applied Phycology*, 26, 1711-1718. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0212-3>
- Sepahri, A., Sarrafzadeh, M. H., & Avateffazeli, M. (2020). Interaction between *Chlorella vulgaris* and nitrifying-enriched activated sludge in the treatment of wastewater with low C/N ratio. *Journal of Cleaner Production*, 247, 119164. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.119164>
- Serrano, L. M., Montenegro, L. C., & Godoy, R. D. (2020). Effect of CO₂ aeration, irradiance, and photoperiod on biomass and lipid accumulation in a microalga autotrophically cultured and selected from four Colombian-native strains. *Bioresource Technology Reports*, 12, 100578. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100578>
- Sun, X., Li, P., Liu, X., Wang, X., Liu, Y., Turaib, A., & Cheng, Z. (2020). Strategies for enhanced lipid production of *Desmodesmus* sp. mutated by atmospheric and room temperature plasma with a new efficient screening method. *Journal of Cleaner Production*, 250, 119509. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.119509>
- Wang, Y., Wang, S., Sun, L., Sun, Z., & Li, D. (2020). Screening of a *Chlorella*-bacteria consortium and research on piggery wastewater purification. *Algal Research*, 47, 101840. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101840>
- Westblade, L. F., Ranganath, S., Dunne, W. M., Burnham, C. A., Fader, R., & Ford, B. A. (2015). Infection with a chlorophyllic eukaryote after a traumatic freshwater injury. *The New England Journal of Medicine*, 372(10), 982-984.
- Wu, L., Zhu, Q., Yang, L., Li, B., Hu, C., & Lan S. (2018). Nutrient transferring from wastewater to desert through artificial cultivation of desert cyanobacteria. *Bioresource Technology*, 247, 947-953. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.127>
- Yamamoto, M., Nozaki, H., Miyazawa, Y., Koide, T., & Kawano, S. (2003). Relationship between presence of a mother cell wall and speciation in the unicellular microalga *Nannochloris* (Chlorophyta). *Phycology*, 39, 172-184. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2003.02052.x>
- Zhang, Y., Huang, Z., Zheng, H., Wang, Q., & Li, A. (2020). Growth, biochemical composition and photosynthetic performance of *Scenedesmus acuminatus* under different initial sulfur supplies. *Algal Research*, 45, 101728. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101728>