

**EVALUACIÓN DEL USO DE LA MICROALGA *Chlorella vulgaris* EN LA
REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA DE LAS AGUAS RESIDUALES DE LA
PTAR EL SALITRE A NIVEL LABORATORIO**

**JULIÁN CAMILO CARTAGENA ARÉVALO
BRIAN ORLANDO MALO MALO**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.
2017**

**EVALUACIÓN DEL USO DE LA MICROALGA *Chlorella vulgaris* EN LA
REMOCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA DE LAS AGUAS RESIDUALES DE LA
PTAR EL SALITRE A NIVEL LABORATORIO**

**JULIÁN CAMILO CARTAGENA ARÉVALO
BRIAN ORLANDO MALO MALO**

**Proyecto integral de grado para optar por el título de
INGENIERO QUÍMICO**

**Director
JUAN ANDRÉS SANDOVAL HERRERA
Ingeniero Químico**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.
2017**

Nota de aceptación

Ing. Elizabethn Torres

Microb. Adriana Páez

Ing. Martha Malagón

Bogotá, D.C., Marzo de 2017

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro.

Dr. Jaime Posada Díaz

Vicerrector de Desarrollo y Recursos Humanos.

Dr. Luis Jaime Posada García-Peña

Vicerrectora Académica y de Posgrados.

Dra. Ana Josefa Herrera Vargas

Secretario General.

Dr. Juan Carlos Posada García-Peña

Decano Facultad de Ingenierías.

Ing. Julio Cesar Fuentes Arismendi

Director Programa de Ingeniería Química.

Ing. Leonardo de Jesús Herrera Gutiérrez

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento.

Estos corresponden únicamente a los autores.

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a todas aquellas personas que forman parte importante de mi vida y que de una u otra forma hicieron posible la culminación de éste.

A mi padre Jorge que es mi ejemplo a seguir y siempre me ha apoyado de todas las formas posibles en cada momento de mi vida.

A mi madre Janeth que ha sido mi amiga, mi confidente y que siempre me ha brindado el amor puro y sincero que solo las madres pueden dar.

A mi hermano Leonardo que con el transcurrir de los años me enseña como se debe vivir la vida y ha estado presente en muchos de los eventos importantes de mi vida.

A todos mis familiares con los sé que puedo contar, en especial a mi mama Emperita, y a mi papa German que sé que desde el cielo está orgulloso de mi.

Y por ultimo, pero no menos importantes, a todos mis amigos con los que compartir esta bella etapa de la vida como lo es la universidad.

Julián Camilo Cartagena Arévalo

DEDICATORIA

Este trabajo de grado se lo dedico

A mi padre, que aunque no se encuentre siempre lo llevaré en mi mente y en mi corazón, este logro es para ti, gracias por tus enseñanzas y por dejarme ver que a pesar de las adversidades, en nombre de Dios todo es posible.

A mi madre por creer en mí, darme alientos porque sin ti nada de esto sería posible, gracias por formarme como persona y por ayudarme a cumplir un logro más en mi vida, todo lo que soy y seré como persona es gracias a ti.

A mis hermanos Luisa y Cristian, que son mi ejemplo a seguir, gracias por su apoyo y compañía incondicional durante mi vida haciendo que este sueño fuera posible.

A mi novia Lina, por llegar a mi vida y ser un apoyo incondicional en los momentos más difíciles y acompañarme a alcanzar esta meta.

A mis amigos, los cuales hicieron también posible este sueño con sus palabras de aliento y su compañía durante esta etapa de mi vida.

Brian Orlando Malo Malo

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a:

A la Fundación Universidad de América por formarnos como Ingenieros Químicos y darnos las bases necesarias para la realización del trabajo.

A Juan Andrés Sandoval Herrera, Ingeniero Químico y docente de la Universidad de América por dirigir el proyecto, apoyarnos, guiarnos durante todo el proceso y lograr así la culminación del mismo.

A Elizabeth Torres, quien fue la orientadora del trabajo y gracias a su experiencia y conocimientos nos permitió realizar de forma acertada todas las etapas del mismo.

A Adriana Páez microbióloga y docente de la Universidad de América, quien nos ayudó con la esterilización de los materiales, nos enseñó como realizar los conteos celulares y por el tiempo que nos dedicó para resolver nuestras dudas.

A Eduardo López coordinador de laboratorios de la PTAR El Salitre, quien mediante su experiencia nos orientó, apoyó, enseñó y estuvo pendiente de que el trabajo culminara satisfactoriamente.

A Alexandra Barriga quien hace parte de la gestión social de la PTAR El Salitre, gracias a su apoyo incondicional hizo posible la realización del trabajo en las instalaciones de la PTAR El Salitre.

A Yolima Guzmán analista en los laboratorios de la PTAR El Salitre, quien gracias a su experiencia nos brindó su apoyo y conocimientos al momento de realizar los análisis correspondientes.

A la PTAR El Salitre por prestarnos sus instalaciones y brindarnos el apoyo necesario para la realización del trabajo.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	21
OBJETIVOS	23
1. MARCO TEÓRICO	24
1.1 AGUAS RESIDUALES	24
1.2 AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS (ARD)	24
1.3 TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES	24
1.4 TRATAMIENTO PRELIMINAR	24
1.5 TRATAMIENTO PRIMARIO	25
1.6 TRATAMIENTO SECUNDARIO	25
1.7 TRATAMIENTO TERCARIO	26
1.8 BIORREMEDIACIÓN	26
1.9 MICROALGAS	26
1.10 <i>Chlorella vulgaris</i>	27
1.11 CULTIVO DE MICROALGAS	28
1.12 pH	28
1.13 SALINIDAD	29
1.14 FOTOPERIODO	29
1.15 AGITACIÓN	29
1.16 TEMPERATURA	30
1.17 MEDIO DE CULTIVO	30
1.18 DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)	30
1.19 ALCALINIDAD	31
1.20 TURBIEDAD	31
1.21 CONDUCTIVIDAD	32
1.22 SÓLIDOS TOTALES	32
1.23 SÓLIDOS VOLÁTILES	32
1.24 SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES	32
1.25 SÓLIDOS SUSPENDIDOS VOLÁTILES	33
2. METODOLOGÍA	34
2.1 PRIMERA ETAPA	37
2.1.1 Condiciones para el crecimiento de la microalga <i>Chlorella vulgaris</i>	37
2.1.2 Medio de cultivo	37
2.1.3 Esterilización de materiales	38
2.1.4 Crecimiento celular	38
2.1.5 Escalamiento del cultivo	39
2.2 SEGUNDA ETAPA	40

2.2.1 Pre-experimentación 1	40
2.2.2 Pre-experimentación 2	41
2.2.3 Cámara de Neubauer	41
2.2.4 Conteo celular en las pre-experimentaciones	42
2.2.5 Análisis de las características fisicoquímicas del agua residual tratada por la PTAR El Salitre	43
2.3 TERCERA ETAPA	43
2.3.1 Experimentación	43
2.3.2 Separación de la microalga del agua residual tratada	45
2.4 CUARTA ETAPA	45
2.4.1 Sólidos totales (ST)	45
2.4.2 Sólidos volátiles (SV)	46
2.4.3 Sólidos suspendidos totales (SST)	46
2.4.4 Sólidos suspendidos volátiles (SSV)	48
2.4.5 pH	48
2.4.6 Turbidez	49
2.4.7 Demanda química de oxígeno (DQO)	50
2.4.8 Alcalinidad	51
2.4.9 Conductividad	51
3. RESULTADOS	53
3.1 PRIMERA ETAPA	53
3.1.1 Crecimiento de la cepa inicial	53
3.1.2 Escalamiento del cultivo	53
3.2 SEGUNDA ETAPA	54
3.2.1 Pre-experimentación 1	54
3.2.2 Pre-experimentación 2	56
3.2.3 Características fisicoquímicas del agua residual tratada por la PTAR El Salitre	57
3.3 TERCERA ETAPA	59
3.3.1 Experimentación	59
3.3.2 Separación de la microalga del agua residual tratada	61
3.4 ANALISIS DESPUÉS DEL BIOTRATAMIENTO	61
3.4.1 Sólidos totales (ST)	61
3.4.2 Sólidos volátiles (SV)	62
3.4.3 Sólidos suspendidos totales (SST)	63
3.4.4 Sólidos suspendidos volátiles (SSV)	64
3.4.5 pH	65
3.4.6 Turbiedad	65

3.4.7 Demanda química de oxígeno (DQO)	65
3.4.8 Alcalinidad	66
3.4.9 Conductividad	67
3.4.10 Remoción de materia orgánica después del biotratamiento	67
4. ANÁLISIS DE RESULTADOS	69
4.1 PRIMERA ETAPA	69
4.1.1 Crecimiento de la cepa inicial	69
4.1.2 Escalamiento del cultivo	69
4.2 SEGUNDA ETAPA	70
4.2.1 Pre-experimentación 1	70
4.2.2 Pre-experimentación 2	71
4.3 TERCERA ETAPA	72
4.3.1 Experimentación	72
4.4 CUARTA ETAPA	74
4.4.1 Sólidos totales (ST)	75
4.4.2 Sólidos volátiles (SV)	76
4.4.3 Sólidos suspendidos volátiles (SSV)	76
4.4.4 pH	77
4.4.5 Turbidez	78
4.4.6 Alcalinidad	79
4.4.7 Conductividad	80
4.4.8 Remoción de materia orgánica a partir de SST y DQO	81
5. CONCLUSIONES	86
6. RECOMENDACIONES	87
BIBLIOGRAFÍA	88
ANEXOS	

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Composición del fertilizante agrícola Foliagro.	38
Tabla 2. Composiciones de las muestras utilizadas en la experimentación.	44
Tabla 3. Concentración inicial de los cultivos.	44
Tabla 4. Composiciones de la Pre-experimentación 1.	54
Tabla 5. Conteo celular de la muestra 1.	55
Tabla 6. Conteo celular de la muestra 2.	55
Tabla 7. Composiciones de la Pre-experimentación 2.	56
Tabla 8. Conteo celular de la muestra 3.	57
Tabla 9. Conteo celular de la muestra 4.	57
Tabla 10. Caracterización fisicoquímica del agua residual tratada.	58
Tabla 11. Composiciones de la Experimentación.	59
Tabla 12. Conteo celular de la Experimentación.	60
Tabla 13. Determinación de los Sólidos Totales.	62
Tabla 14. Determinación de los Sólidos Volátiles.	62
Tabla 15. Determinación de los Sólidos Suspendidos Totales.	63
Tabla 16. Determinación de los Sólidos Suspendidos Volátiles.	64
Tabla 17. Determinación del pH.	65
Tabla 18. Determinación de la Turbiedad.	65
Tabla 19. Determinación del DQO.	66
Tabla 20. Determinación de la Alcalinidad.	66
Tabla 21. Determinación de la Conductividad.	67
Tabla 22. Factores de dilución.	67
Tabla 23. Porcentajes de Remoción de Materia Orgánica.	68
Tabla 24. Velocidad de Crecimiento.	72
Tabla 25. Resumen de los mejores resultados de la Experimentación.	85

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Microalga <i>Chlorella vulgaris</i> .	28
Figura 2. Diagrama del proceso.	35
Figura 3. Fertilizante Foliagro.	38
Figura 4. Medio de Cultivo.	38
Figura 5. Cepa Inicial de Microalga <i>Chlorella Vulgaris</i> .	39
Figura 6. Cultivo Inicial.	39
Figura 7. Escalamiento del Cultivo.	40
Figura 8. Pre-experimentación 1.	40
Figura 9. Pre-experimentación 2.	41
Figura 10. Cultivo Microalga Adaptada.	41
Figura 11. Cámara de Neubauer.	42
Figura 12. Experimentación.	45
Figura 13. Cápsula para Sólidos Totales.	46
Figura 14. Cápsula para Sólidos Volátiles.	46
Figura 15. Papel filtro de fibra de vidrio antes del análisis.	47
Figura 16. Montaje de embudos Gush conectados a bomba de vacío.	47
Figura 17. Horno.	48
Figura 18. Papel filtro de fibra de vidrio.	48
Figura 19. pHmetro.	49
Figura 20. Turbidímetro.	49
Figura 21. Digestor para DQO.	50
Figura 22. Espectrofotómetro.	50
Figura 23. Potenciómetro usado para determinar la alcalinidad.	51
Figura 24. Conductímetro.	52
Figura 25. Crecimiento del cultivo inicial.	53
Figura 26. Escalamiento del Cultivo.	54
Figura 27. Pre-experimentación 1.	55
Figura 28. Pre-experimentación 2.	56
Figura 29. Experimentación.	59
Figura 30. Centrifugación.	61
Figura 31. Crecimiento de la Cepa Inicial.	69

LISTA DE GRÁFICAS

	pág.
Gráfica 1. Curva de crecimiento celular de la pre-experimentación 1.	70
Gráfica 2. Curva de crecimiento celular de la pre-experimentación 2.	71
Gráfica 3. Curva de crecimiento celular de las muestras con MA.	73
Gráfica 4. Curva de crecimiento celular de las muestras con MNA.	73
Gráfica 5. Comparación entre la muestra 3 y la muestra 4.	74
Gráfica 6. Determinación de Sólidos Totales.	75
Gráfica 7. Determinación de Sólidos Volátiles.	76
Gráfica 8. Determinación de Sólidos Suspendidos Volátiles.	77
Gráfica 9. Determinación del pH.	78
Gráfica 10. Determinación de Turbiedad.	79
Gráfica 11. Determinación de Alcalinidad.	80
Gráfica 12. Determinación de Conductividad.	80
Gráfica 13. Determinación y remoción de la DQO después del biotratamiento.	82
Gráfica 14. Determinación y remoción de los SST después del biotratamiento.	83

LISTA DE ECUACIONES

	pág.
Ecuación 1. Cálculo de la concentración celular.	42
Ecuación 2. Cálculo del porcentaje de remoción.	58
Ecuación 3. Cálculo de los Sólidos Totales.	61
Ecuación 4. Cálculo de los Sólidos Volátiles.	62
Ecuación 5. Cálculo de los Sólidos Suspendidos Totales.	63
Ecuación 6. Cálculo de los Sólidos Suspendidos Volátiles.	64
Ecuación 7. Cálculo de la Alcalinidad.	66
Ecuación 8. Cálculo de remoción de materia orgánica después del Biotratamiento.	67
Ecuación 9. Cálculo de la Velocidad de Crecimiento.	72

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. certificado de análisis del cloruro de sodio utilizado como patrón en los ST	92
Anexo B. Certificado de análisis de kaolin como patrón en los SST	93
Anexo C. Certificado de calibración del equipo utilizado para el análisis de pH	94
Anexo D. Certificado de calibración del equipo para el análisis de turbiedad	95
Anexo E. Certificado de la solución A para la DQO	96
Anexo F. Certificado de la solución B para la DQO	97
Anexo G. Certificado del ácido sulfúrico usado en el análisis de alcalinidad	98
Anexo H. Certificado del ácido sulfúrico usado en el análisis de conductividad	99
Anexo I. Valores promedio de los parámetros medidos por la PTAR El Salitre Del agua cruda y el agua tratada	100

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

%v/v: Porcentaje volumen/volumen
μs: Micro *siémens*
μ: Velocidad de Crecimiento
ART: Agua residual tratada.
cel: Células.
cm: Centímetro.
DQO: Demanda química de oxígeno.
g: Gramos
L: Litros.
m: Metros
MA: Microalga Adaptada
mg: Miligramos
mL: Mililitros
mm: Milímetros
MNA: Microalga no adaptada.
NTU: Unidades nefelométricas.
PTAR: Planta de tratamiento de aguas residuales.
rpm: Revoluciones por minuto.
s: Segundos.
ST: Sólidos totales
SST: Sólidos suspendidos totales
SSV: Sólidos suspendidos volátiles
SV: Sólidos volátiles.
v/v: Relación volumen/volumen.

GLOSARIO

AMBIENTE ESTÉRIL: lugar físico el cual esta libre de microorganismos a través de procedimientos físicos, químicos o mecánicos.

AUTOCLAVE: dispositivo de laboratorio destinado a la esterilización de material de laboratorio utilizando vapor a presión y temperaturas elevadas.

BIOMASA: materia orgánica generada en un proceso biológico, espontáneo o provocado, utilizable como fuente de energía.

BIOPROCESO: proceso industrial que involucra la manipulación de organismos vivos o sus componentes celulares para proveer bienes o servicios.

BIORREMEDIACIÓN: se refiere al uso de seres vivos para restaurar ambientes contaminados en donde se utiliza plantas, algas, hongos o bacterias para absorber, degradar o transformar los contaminantes que pueden estar presentes en suelo agua o aire.

BIOTRATAMIENTO: bioproceso utilizado para el tratamiento de aguas residuales.

CÁMARA DE NEUBAUER: instrumento utilizado para realizar recuentos celulares.

CENTRIFUGACIÓN: método de separación de mezclas usado cuando la sedimentación es muy lenta, en donde por acción de la fuerza centrífuga los componentes más pesados se sedimentan más rápidamente y los livianos quedan como sobrenadante.

CEPA: microorganismos definidos por lo menos a nivel de género y especie, depositados y mantenidos en una Colección de Cultivos.

CHLORELLA VULGARIS: microalga unicelular perteneciente al reino protista de forma esférica de diámetro aproximado de 2 a 10µm de color verde presente en la mayoría de cuerpos de agua dulce.

CURVA DE CRECIMIENTO: representación gráfica que ilustra el número de células en un cultivo de microorganismos en el tiempo, en un medio determinado.

DIGESTIÓN AEROBIA: tratamiento biológico para aguas residuales que consiste en la descomposición de materia orgánica mediante la utilización de oxígeno a partir de los microorganismos presentes en el agua residual.

FERTILIZANTE FOLIAR: sustancia utilizada como complemento a la fertilización del suelo cuando la nutrición proveniente de este es ineficiente.

FOTOPERIODO: relación entre horas de luz y oscuridad a la que está sometido un microorganismo.

FOTOSÍNTESIS: proceso en el cual un microorganismo con clorofila captura la energía en forma de luz y la transforma en energía química.

INÓCULO: suspensión de microorganismos vivos adaptados para reproducirse en un medio específico.

MEDIO DE CULTIVO: mezcla de nutrientes que en concentraciones adecuadas y condiciones físicas óptimas permiten el crecimiento de los microorganismos.

RESUMEN

El objetivo de este proyecto de investigación es evaluar el uso de la microalga *Chlorella vulgaris* en la remoción de materia orgánica de las aguas residuales tratadas por la PTAR El Salitre; haciendo énfasis en la remoción por la demanda química de oxígeno (DQO) y por los sólidos suspendidos totales (SST), los cuales son los parámetros en los que se basa la PTAR El Salitre para evaluar la remoción de materia orgánica en su proceso. También fue evaluada la incidencia de la microalga *Chlorella vulgaris* en otros parámetros fisicoquímicos como lo son: Sólidos Totales (ST), Sólidos Volátiles (SV), Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV), pH, Turbiedad, Alcalinidad y Conductividad.

La metodología que se llevó a cabo para la realización del proyecto consistió en la revisión bibliográfica para conocer las condiciones de un adecuado crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*, posteriormente se realizó el cultivo de la misma obteniendo un volumen de 7 L de microalga aproximadamente. Luego se realizaron 2 pre-experimentaciones, la primera con el fin de conocer si la microalga en porcentajes de volumen de 33% y 50%, se adaptaba y crecía en el Agua Residual Tratada (ART) por la PTAR El Salitre; en la segunda se realizó un cultivo con microalga ya adaptada a éste nuevo sustrato y se evaluó el crecimiento de la microalga ya adaptada disminuyendo el porcentaje en volumen de microalga a 10% y 30%.

Seguido a esto se ejecutó el biotratamiento por medio de una experimentación que constó de 7 muestras en las cuáles se varió el porcentaje en volumen de microalga, microalga adaptada (MA) y microalga no adaptada (MNA) al nuevo sustrato, y un blanco analítico que en este caso fue agua residual tratada por la PTAR El Salitre. Culminado el biotratamiento por medio de una centrifugación se separó la microalga y se analizaron los parámetros fisicoquímicos mencionados anteriormente al sobrenadante, esto con el fin de poder comparar los resultados del tratamiento químico realizado por la PTAR El Salitre donde se obtuvo una remoción por DQO de 35,30% y 57,51% por SST y el biotratamiento realizado por la microalga *Chlorella vulgaris* siendo el cultivo realizado con microalga adaptada a un porcentaje en volumen de microalga de un 10% la que mejores resultados reportó (81,80% por DQO y 89,91% por SST). Sirviendo como tratamiento complementario.

Palabras Claves: *Chlorella vulgaris*, Remoción de materia orgánica, Aguas residuales domésticas, Demanda Química de Oxígeno, Sólidos Suspendidos Totales.

INTRODUCCIÓN

La ciudad de Bogotá cuenta con la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR el Salitre) ubicada en el noroccidente de la ciudad en la intersección del río Bogotá, vía Lisboa, Suba km 1,5 para contribuir con el plan de saneamiento del río Bogotá. Esta planta trata 4 m³/s de aguas residuales provenientes de la cuenca El Salitre -Torca, la cuál se encuentra conformada por seis localidades a saber: Suba, Engativá, Chapinero, Barrios Unidos, Teusaquillo y Usaquén, siendo el número aproximado de habitantes que descargan a ésta cuenca 2.850.200 personas.

Las aguas residuales provenientes de la cuenca son captadas en la PTAR El Salitre para su tratamiento, siendo el primer paso del proceso el cribado grueso, el cuál consiste en retener los residuos sólidos mediante rejas paralelas de aproximadamente cinco centímetros (5 cm) de distancia entre los barrotes. Dichos residuos son depositados en un container para su disposición final en el relleno sanitario Doña Juana. Posteriormente el agua es transportada a través de los tornillos de Arquimedes hacia el pretratamiento. La función principal de los tornillos consiste en airear y elevar el agua captada.

En las estructuras de pretratamiento se realiza la medición del caudal mediante un canal denominado Venturi. De allí son conducidas al cribado fino, en donde se retiran los residuos más pequeños por medio de rastrillos los cuáles depositan los residuos en una banda transportadora y finalmente al container respectivo para su recolección.

Posteriormente, en los canales de grasas y arenas o desarenadores, se adiciona cloruro férrico y un polímero (polielectrolito aniónico) para facilitar la coagulación de las partículas en suspensión y poder separar las arenas y las grasas por sedimentación y decantación respectivamente. Después el agua pasa a unos decantadores para la remoción de la materia que aún sigue presente en ella.¹

Al terminar el proceso, el agua se descarga al río Bogotá con un porcentaje de 40% a 50% (60 % SST) aproximadamente de materia orgánica; en la PTAR el Salitre se desea a futuro realizar la fase II del tratamiento de agua, la cuál estará enfocada en un proceso biológico. Esto ofrece una oportunidad de investigación y desarrollo en nuevas tecnologías que sean más eficientes y menos costosas comparadas con las utilizadas actualmente en la planta.

Dentro de estas nuevas tecnologías se encuentran la Electrocoagulación, la Radiación ultravioleta, el uso de ultrasonido y la Biorremediación. Ésta última se basa en la utilización de microorganismos para la depuración de contaminantes en

¹ Acueducto AGUA Y ALCANTARILLADO DE BOGOTÁ. Planta de Tratamiento de Aguas Residuales PTAR El Salitre. [en línea] <<http://www.acueducto.com.co/>> [citado el 16 de Agosto de 2016].

suelos y aguas.² Un caso específico de la Biorremediación consiste en un sistema de depuración de aguas residuales, basado en la utilización de la microalga *Chlorella vulgaris*. De esta manera se abre la posibilidad de aplicar este proceso a las aguas residuales de la PTAR El Salitre I como un tratamiento complementario.

² Garbisu, C., Amezaga, I. y Alkorta, I. Biorremediación y Ecología. (2003). Publicado en la revista científica y técnica de ecología y medio ambiente.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el uso de la microalga *Chlorella vulgaris* para la remoción de materia orgánica de las aguas tratadas en la PTAR el Salitre a nivel de laboratorio.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer las condiciones de cultivo de la microalga *Chlorella Vulgaris* para un adecuado crecimiento a escala laboratorio.
- Adaptar la microalga *Chlorella vulgaris* a un nuevo sustrato, caso: agua residual.
- Seleccionar las condiciones de remoción de carga orgánica mediante la microalga *Chlorella vulgaris* por medio de un desarrollo experimental.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 AGUAS RESIDUALES

El agua residual se puede definir como la combinación de los residuos o desechos, los cuales provienen o son procedentes tanto de instituciones públicas, establecimientos industriales, comerciales y residencias a lo que se les puede agregar; eventualmente, aguas subterráneas, superficiales y pluviales.³

1.2 AGUAS RESIDUALES DOMESTICAS (ARD)

Esta clasificación de las aguas residuales son las procedentes de las actividades domésticas de la vida cotidiana como lavado de baños, ropa, cocinas, preparación de alimentos, limpieza, etc. Estos desechos o residuos presentan un alto contenido de materia orgánica, grasas y detergentes. Su composición varía dependiendo de los hábitos de la población que los genera.⁴

1.3 TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

Consiste en una serie de procesos químicos, biológicos y físicos que tienen como finalidad eliminar contaminantes físicos, químicos y biológicos presentes en el agua efluente del uso humano. El tratamiento de agua normalmente se divide en tratamiento primario, secundario, terciario y antes de ello se realiza un tratamiento preliminar en los cuales se realiza la depuración de contaminantes específicos.⁵

1.4 TRATAMIENTO PRELIMINAR

Se hacen como antecedentes a los tratamientos primarios, secundarios o terciarios, debido a que las aguas residuales pueden venir con desechos muy grandes y voluminosos que no pueden entrar a la planta de tratamiento y cuando se eliminan aumentan la efectividad de estos procesos. Para ello se utilizan rejillas, tamices y micro filtros.

- Rejillas: con está se retiene todo el material grueso, su principal objetivo es retener basuras grandes debido a que el material sólido grueso puede afectar el funcionamiento de las bombas, válvulas, aireadores, etc. Se construyen con barras de diferente distancia entre barrotes y es el primer filtro para retención de basuras.
- Tamices: Su objetivo es remover un porcentaje de sólidos de menor tamaño con el fin de evitar taponamiento de tuberías, filtros biológicos. Tienen una

³Romero, J. Tratamiento de aguas residuales: Teoría y principios de diseño. (2004). Universidad de San Carlos Guatemala.

⁴ Cosquete, A y Choez, I. Contaminación hídrica por aguas residuales (31 de mayo 2014).

⁵ Ramalho, R. Tratamiento de aguas residuales. (mayo del 2003). p. 10-14.

inclinación la cuál permite que circule el agua y del mismo modo deslizar los desechos por fuera de la malla.

- Micro filtros: son planillas giratorias plásticas o de acero, cuyo objetivo es recoger los desechos y las basuras en su interior, estos poseen un sistema de lavado que permite mantener las mallas limpias.⁶

1.5 TRATAMIENTO PRIMARIO

Tiene como fin eliminar los sólidos en suspensión a partir de procesos de sedimentación simple por gravedad o asistida por coagulantes y floculantes. Para aumentar la eficiencia de este proceso se agregan compuestos químicos como sales de hierro, aluminio, cloruro férrico y polielectrolitos floculantes; para precipitar el fósforo, los sólidos en suspensión muy finos o aquellos en estado de coloide.

Este proceso se realiza en tanques de sedimentación primarios o clarificadores primarios con una profundidad que oscila entre 2 a 5 m. Diseñados para suprimir aquellas partículas con tasas de sedimentación de 0.3 a 0.7 mm/s. Esto se hace en un proceso de retención corto de 1 a 2 horas. En esta etapa se elimina por precipitación del 60% al 70% de los sólidos en suspensión. Normalmente las plantas trabajan varios sedimentadores primarios, donde su forma puede ser circular, cuadrada o rectangular.⁷

1.6 TRATAMIENTO SECUNDARIO

Su función es eliminar la materia orgánica en disolución y en estado coloidal por medio de un proceso de oxidación biológica seguido por uno de sedimentación. Este proceso es natural controlado, en donde participan microorganismos presentes en el agua residual. Estos microorganismos que en su mayoría son bacterias se alimentan de los sólidos en suspensión y en estado coloidal produciendo en su degradación una biomasa bacteriana que precipita en el decantador secundario. De esta manera el agua queda limpia, pero con unos lodos los cuales deben ser eliminados.

Las estructuras usadas para este tratamiento son filtros de arena intermitentes, percoladores, contadores biológicos rotarios, lechos fluidizados, tanques de lodos activos y sistema de digestión de lodos.⁸

⁶ *Ibíd.*, Cap 3.

⁷ *Ibíd.*, Cap 3.

⁸ *Ibíd.*, Cap 6.

1.7 TRATAMIENTO TERCIARIO

Tiene como fin depurar algunos contaminantes específicos en el agua residual como lo son los fosfatos que provienen del uso de detergentes domésticos e industriales, metales pesados y elementos tóxicos presentes en el agua. No todas las plantas tienen esta etapa, dependerá de la composición del agua residual y del destino que se le dará.⁹

1.8 BIORREMEDIACIÓN

Es una tecnología emergente en la cuál se utilizan organismos vivos como plantas, algas, hongos y bacterias para absorber, degradar o transformar los contaminantes y retirarlos, inactivarlos o mitigar su efecto en el suelo, agua y aire.

La Biorremediación de aguas residuales con microorganismos consiste en un tratamiento secundario de una planta de tratamiento de aguas residuales donde se utilizan los microorganismos para eliminar la materia orgánica del agua, siendo esta su fuente de alimento que al ser digerida desprenden dióxido de carbono y metano. Esta digestión puede hacerse de forma aerobia o anaerobia.¹⁰

1.9 MICROALGAS

Son microorganismos que pertenecen al reino protista, que es aquel en el cuál se agrupan todos aquellos organismos, que no pueden categorizarse dentro de los animales plantas u hongos. Por medio del fotolisis del agua (fotosíntesis) generan oxígeno; proceso que llevan a cabo gracias a los cloroplastos; estos microorganismos son capaces de retener la luz solar gracias a unas estructuras especiales llamadas cloroplastos.

Las microalgas se encuentran en el agua, en el suelo e inclusive en el aire. Desde la antigüedad se han utilizado como alimento o productos terapéuticos en las civilizaciones como la griega, romana, azteca y china. Estos microorganismos son eucariotas, unicelulares o filamentosas que varían en tamaño y forma, viven en todos los hábitats; mayormente acuáticos, tanto en ambientes marinos como dulceacuícolas, y algunas en la tierra. Las más abundantes se encuentran formando parte del plancton de los océanos, estimándose que el 90% de la fotosíntesis total de la Tierra es realizado por estos vegetales.¹¹

Tienen importancia ecológica y económica gracias a su diversidad taxonómica. Para su crecimiento requieren de CO₂, Nitrógeno, Fósforo, Potasio, Magnesio y

⁹ *Ibíd.*, Cap 8.

¹⁰ GARBISU, Op.cit.

¹¹ Abalde, J. Microalgas: Cultivo y aplicaciones. (1999). Universidad de la Coruña. p.13

otros nutrientes menores como metales; los cuales son esenciales por que actúan como cofactor de enzimas esenciales para su metabolismo.

La importancia y las aplicaciones de estos microorganismos es que son el primer eslabón de la cadena alimenticia en el mar; se utilizan como fuente de Biocombustibles, fertilizantes, alimentación animal y otros usos en la industria alimentaria, y en la industria de medicamentos; son utilizados también en el tratamiento de aguas residuales; gracias a su capacidad de absorber CO₂ y otros gases de efecto invernadero como los óxidos de nitrógeno, contribuyen a mitigar el cambio climático.¹²

1.10 *CHLORELLA VULGARIS*

Su taxonomía es la siguiente:

Reino: Protista, División: Chlorophyta, Clase: Chlorophyceae, Orden: Chlorococcales, Familia: Oocystaceae, Genero: Chlorella, Especie: vulgaris.¹³

Esta es una microalga unicelular de color verde, de forma esférica, con un diámetro que está entre 100 y 1000 veces menor a 1 milímetro. El color verde lo obtiene gracias a los cloroplastos que son las estructuras encargadas de hacer la fotosíntesis, no presenta flagelo y en la mayoría de veces se encuentra en los cuerpos de agua dulce; se reproduce de forma acelerada y de forma asexual. Para eso precisa el carbono que obtiene de la fotosíntesis, agua, luz y pequeñas cantidades de minerales. Contiene grandes cantidades de proteínas, vitamina C, betacaroteno y vitaminas B (B1, B2, B6 y B12).¹⁴

Su composición química es de 51-58% de proteína, 12-17% de carbohidratos, 14-22% de lípidos, estos porcentajes se presentan en materia seca. Cuando sus células alcanzan su tamaño máximo, el núcleo se divide en cuatro u ocho partes y en el interior de la célula madre se forman de cuatro a ocho células más pequeñas idénticas a la célula madre, estas son las autoesporas que son liberadas por la célula madre por eclosión, transformándose entonces en nuevas *Chlorellas* al crecer; estas microalgas pueden resistir temperaturas de hasta 36°C.¹⁵ En la Figura 1 se muestra la microalga *Chlorella vulgaris* vista desde el microscopio.

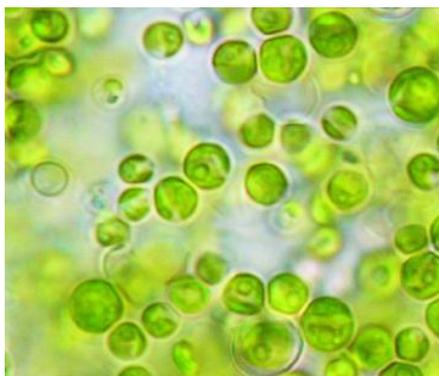
¹² Velasquez, M. Botánica Vegetales inferiores (1981).

¹³ *Chlorella vulgaris*. Eured. Obtenido de http://www.eured.cu/Chlorella_Vulgaris. Revisado el 15 de abril de 2016.

¹⁴ WANG, L. Cultivation of Green Algae Chlorella in Different Wastewater for Municipal Wastewater treatment plant. (2009). University of Minnesota, Nanchang University. p. 11

¹⁵ *Ibid.*, p. 24

Figura 1. Microalga *Chlorella Vulgaris*.



Fuente. Disponible desde Internet en: <<https://harmonicarts.ca/2013/04/chlorella-chlorella-vulgaris/>>

1.11 CULTIVO DE MICROALGAS

Los factores que influyen en el crecimiento de las microalgas son similares, sin embargo, cada especie y subespecie de microalga presenta sus propias características respecto a sus condiciones óptimas de crecimiento, así como unas productividades máximas alcanzadas en diferentes configuraciones de sistemas de cultivo.

Su productividad está determinada, principalmente, por el pH del medio, la salinidad, la disponibilidad y concentración de nutrientes, la intensidad y el tipo de luz, la densidad celular del cultivo, la temperatura y la contaminación o la depuración de otros microorganismos.

En promedio, las microalgas duplican su biomasa en 24 horas. Sin embargo, en la fase exponencial algunas microalgas pueden doblar su biomasa en tiempos tan cortos como tres horas y media.¹⁶

1.12 pH

Cada especie de microalga tiene un rango de pH en el cuál su crecimiento es óptimo, dependiendo de qué especies químicas este más habituada a asimilar. El pH en la mayoría de los cultivos de microalgas se encuentra entre 7-9 unidades, siendo entre 8,2-8,7 unidades, el más óptimo.

El proceso fotosintético de fijación de CO₂ provoca un aumento gradual del pH en el medio debido a la acumulación de OH⁻, lo que puede promover la eliminación de nitrógeno en forma de amoníaco a la atmósfera y la eliminación de fósforo por

¹⁶ ABALDE. Op.cit., p.30

precipitación de ortofosfatos. El control de pH se logra mediante la aireación o inyección controlada de CO₂, aunque también mediante la adición de ácidos o bases.

El descenso del pH puede ser letal para el crecimiento de la microalga, sin embargo, los aumentos de pH suelen resistirlos.¹⁷

1.13 SALINIDAD

La salinidad del medio de cultivo tiene una gran influencia en el crecimiento de las microalgas, así como en la productividad de lípidos para biodiesel u otras sustancias de valor. Araujo en el 2011 hizo un estudio con 10 cepas de microalgas diferentes donde observo como cada especie respondía de modo distinto ante los cambios en la salinidad del medio cambiando de 25g/L a 35g/L, calculando los resultados de rendimiento y productividad de biomasa. Aunque algunas especies de microalgas no respondieron frente a los cambios en la salinidad la mayor productividad se alcanzó con *Chlorella vulgaris*, la cual alcanzó una relación de biomasa inicial: final de 1:10.¹⁸

1.14 FOTOPERIODO

Uno de los principales parámetros a considerar es la intensidad lumínica. En ausencia de limitación por nutrientes, la fotosíntesis va aumentando con el incremento de la intensidad lumínica, hasta que se alcanza la máxima tasa de crecimiento por cada especie en el punto de saturación por luz. Si se pasa este punto, se alcanza el denominado punto de fotoinhibición, obteniendo resultados perjudiciales para la misma y productividad del cultivo.¹⁹

El rango de crecimiento de *Chlorella Vulgaris* esta entre los 650 y 22.200 lux.²⁰

1.15 AGITACIÓN

La agitación facilita la eficiencia en el transporte, impidiendo la sedimentación de las microalgas y su adherencia a las paredes del recipiente que lo contiene, homogeniza el pH y asegura la distribución de los gases y de la luz. Con una correcta agitación se somete a las microalgas a ciclos rápidos de mezclado en las que en cuestión de milisegundos pasan de una zona oscura a una zona iluminada.

¹⁷ Aplicaciones de las Microalgas: estado de la técnica. (2013).

¹⁸ Moronta, R., Mora, R y Morales, E. Respuesta de la microalga *Chlorella sorokiniana* al pH, salinidad y temperatura en condijos axénicos y no axénicos. (enero 2006). Rev.Fac. Agron. v.23. n.1 Caracas.

¹⁹ ABALDE. Op.cit., p.21

²⁰ PEARSALL W. H., LOOSE L., The Growth of *Chlorella vulgaris* impure cultura. Londres, 1936, p.41.

La agitación incide debido a que en primer lugar ésta garantiza una distribución homogénea de las células y los nutrientes dentro del cultivo, mejora la distribución de la luz y evita que las células se sedimenten en el medio de cultivo.²¹

1.16 TEMPERATURA

La producción algal se incrementa proporcionalmente con la temperatura hasta llegar a una temperatura óptima de cada especie. Cuando se está por encima de esta temperatura, se aumenta la respiración y la fotorrespiración reduce la productividad global. La temperatura óptima varía entre las especies; pero en general está entre 28°C y 35°C.²²

1.17 MEDIO DE CULTIVO

Para el crecimiento de las microalgas el medio de cultivo es de vital importancia, éste va a contribuir con los macronutrientes y micronutrientes necesarios para el crecimiento adecuado de la microalga, por ello se debe tener en cuenta que existen diferentes tipos documentados en la literatura; el tipo de medio de cultivo que se va a utilizar depende de la clase de microalga la cual se quiere hacer crecer.

Se utiliza como medio de cultivo el fertilizante agrícola foliar, que posee nutrientes similares a los del medio Bold Basal, la concentración recomendada de medio de cultivo preparado con foliar líquido llamado FOLIAGRO es de 0,2% Volumen/Volumen por contar con los macronutrientes y micronutrientes necesarios que requieren las microalgas para lograr un buen crecimiento celular.²³

1.18 DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO (DQO)

El DQO es la medida del equivalente de oxígeno del contenido de materia orgánica susceptible de oxidación por medio de un agente químico oxidante fuerte. En otros términos, es la cantidad de oxígeno que requiere el agua para descomponer toda la materia orgánica e inorgánica que tiene.

²¹ Acosta, E. Evaluación de la remoción de nutrientes de aguas de porqueriza mediante el uso de microalgas. (2004). Universidad Nacional de Colombia.

²² ABALDE. Op.cit., p. 32

²³ ÁNGEL, C.;PIMENTA W. Evaluación de la incidencia del nitrógeno en el medio de cultivo bold basal para la producción de biomasa de la microalga *Chlorella vulgaris* en un fotobiorreactor, para la obtención de ácidos grasos. Tesis de investigación Ingeniería Química. Universidad de América. Facultad de Ingeniería, Programa de Ingeniería Química. 2012. p. 64.

Este parámetro requiere de unas condiciones de análisis específicas como un tiempo mínimo de reacción de dos horas y una serie de sustancias analíticas específicas.²⁴

1.19 ALCALINIDAD

La alcalinidad de un agua puede definirse como su capacidad para neutralizar ácidos, su capacidad para reaccionar con iones hidrógeno, su capacidad para aceptar protones o como la medida de su contenido total de sustancias alcalinas (OH⁻). La determinación de la alcalinidad total y de las distintas formas de alcalinidad es importante en los procesos de coagulación química, ablandamiento, control de corrosión y evaluación de la capacidad tampón de un agua.²⁵

1.20 TURBIDEZ

La turbidez o turbiedad es una expresión de la propiedad o efecto óptico que es causado por la dispersión e interferencia de los rayos luminosos que pasan a través de una muestra de agua; en otras palabras, es la propiedad óptica de una suspensión que hace que la luz sea reemitida y no transmitida a través de la suspensión. La turbidez en el agua puede ocasionarse por una gran cantidad de materiales que se encuentren en suspensión que varían en tamaño, desde dispersiones coloidales hasta partículas gruesas, entre otros arcillas, limo, materia orgánica e inorgánica finamente dividida, organismos planctónicos y microorganismos.

En la actualidad el método más utilizado para determinar la turbidez es el método nefelométrico, en el cual se mide la turbiedad mediante un nefelómetro, el cual es un detector de luz dispersa localizada a 90° del haz incidente; su precisión, sensibilidad y aplicabilidad sobre un rango de turbiedad amplio hace que el método nefelométrico sea preferible a los métodos visuales.²⁶ Se expresan los resultados en unidades de turbidez nefelométrica (NTU). Con este método se compara la intensidad de la luz dispersada por la muestra con la intensidad de luz dispersada por una suspensión estándar de referencia en las mismas condiciones de medida. Cuanto mayor sea la intensidad de luz dispersada, mayor será la turbiedad.²⁷

²⁴ Standar Methods for the examination of water and wastewater. 22ND Edition (2012). American Public Health Association, American Water Works Association y Water Environment Federation. P. 5-16

²⁵ ROMERO, Jairo. Calidad del Agua. Segunda Edición (2005). P. 119.

²⁶ CARPIO, T. Turbiedad por nefelometría (método B). (2007). Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM).

²⁷ ROMERO. Op.cit., p. 107.

1.21 CONDUCTIVIDAD

La conductividad del agua es una expresión numérica de su habilidad para transportar una corriente eléctrica, que depende de la concentración total de sustancias disueltas ionizadas en el agua y de la temperatura a la cual se haga la determinación. Por tanto, cualquier cambio en la cantidad de sustancias disueltas, en la movilidad de los iones disueltos y en su valencia, implica un cambio en la conductividad. Por esta razón, el valor de la conductividad se usa mucho en análisis de agua para obtener un estimativo rápido del contenido de sólidos disueltos.²⁸

1.22 SÓLIDOS TOTALES

Los sólidos totales (ST) se definen como la materia que permanece como residuo luego de una evaporación y secado a 103°C-105°C. El valor obtenido de los sólidos totales incluye tanto materia disuelta (porción de sólidos totales que pasa a través del filtro), como materia no disuelta (porción de sólidos totales que es retenida por el filtro).

Los análisis de sólidos son de importancia en el proceso de tratamiento biológico y físico de aguas residuales, para evaluar el cumplimiento de las limitaciones que regulan vertimiento.²⁹

1.23 SÓLIDOS VOLÁTILES

Los sólidos volátiles (SV) son aquellos que se volatilizan a una temperatura de 550°C. Cuando los sólidos totales se someten a combustión bajo una temperatura de 550°C durante 20 minutos, la materia orgánica se convierte en dióxido de carbono y agua. Esta pérdida de peso se interpreta en términos de materia orgánica o volátil.³⁰

1.24 SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES

Los sólidos suspendidos totales (SST), se consideran como la cantidad de residuos retenidos en un filtro de fibra de vidrio con tamaño de poro nominal de 0.45 micras y hacen referencia al material particulado que se mantiene en suspensión en las corrientes de agua superficial y/o residual. Estos sólidos causan turbiedad en el agua y reducen la penetración de la luz solar al cuerpo de agua,

²⁸ *Ibíd.*, p. 114.

²⁹ Carpio, T. Sólidos Totales Secados a 103-105°C. (2007). Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM).

³⁰ American Public Health Association. *Op.cit.*, p. 2-67.

los sólidos suspendidos totales son una limitante para el crecimiento de vegetación en los cuerpos de agua.³¹

1.25 SÓLIDOS SUSPENDIDOS VOLÁTILES

Los sólidos suspendidos volátiles (SSV) son los sólidos que pueden ser incinerados o calcinados a una temperatura de 500 +/- 50°C, la concentración de estos sólidos se suele considerar como una medida aproximada del contenido de materia orgánica.³²

³¹ Sólidos Suspendidos Totales. Obtenido de https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/pib/ambientales/Sima/solidos_suspension.

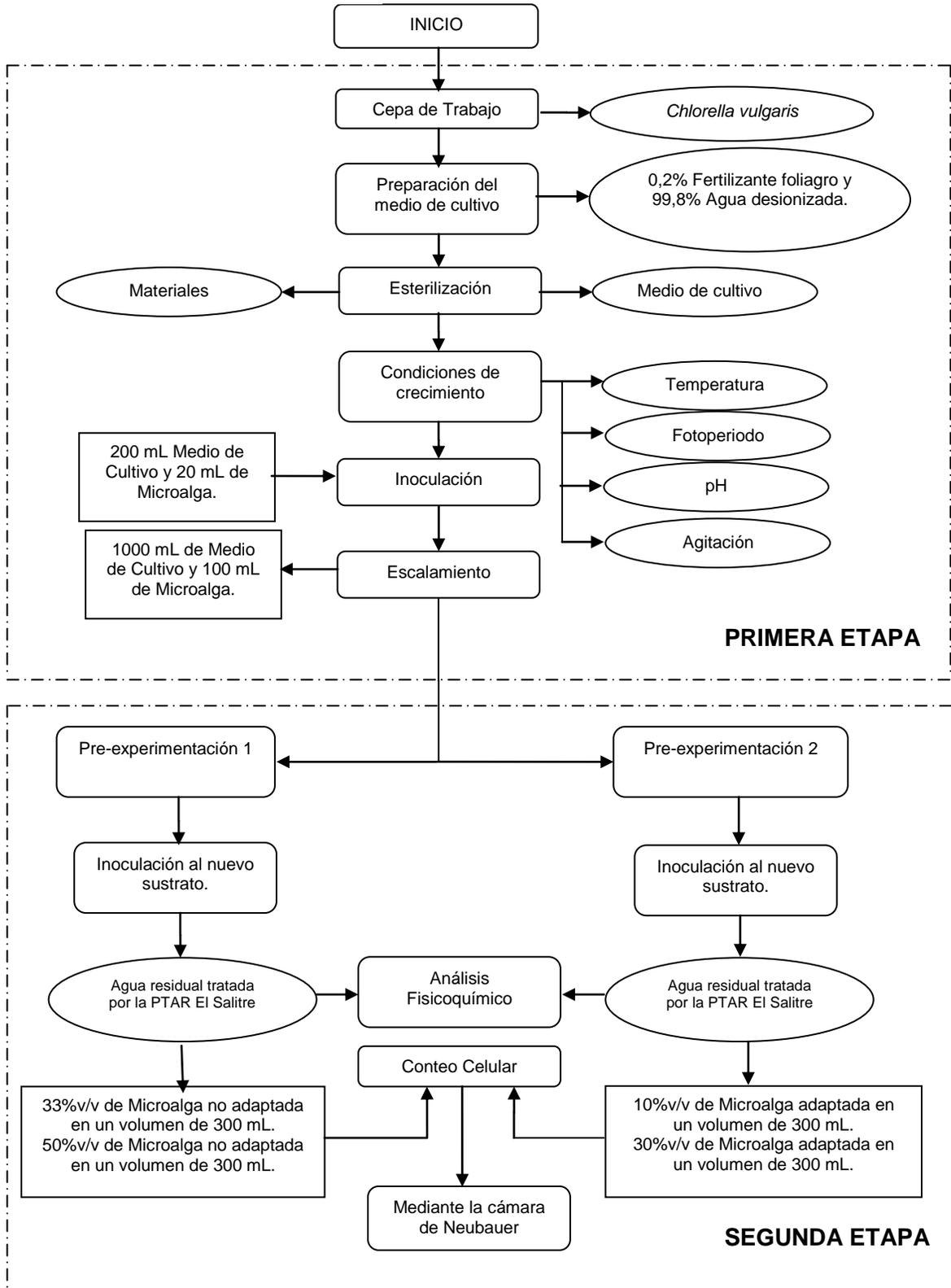
³² Metcalf & Eddy. Ingeniería de Aguas Residuales. (2003).

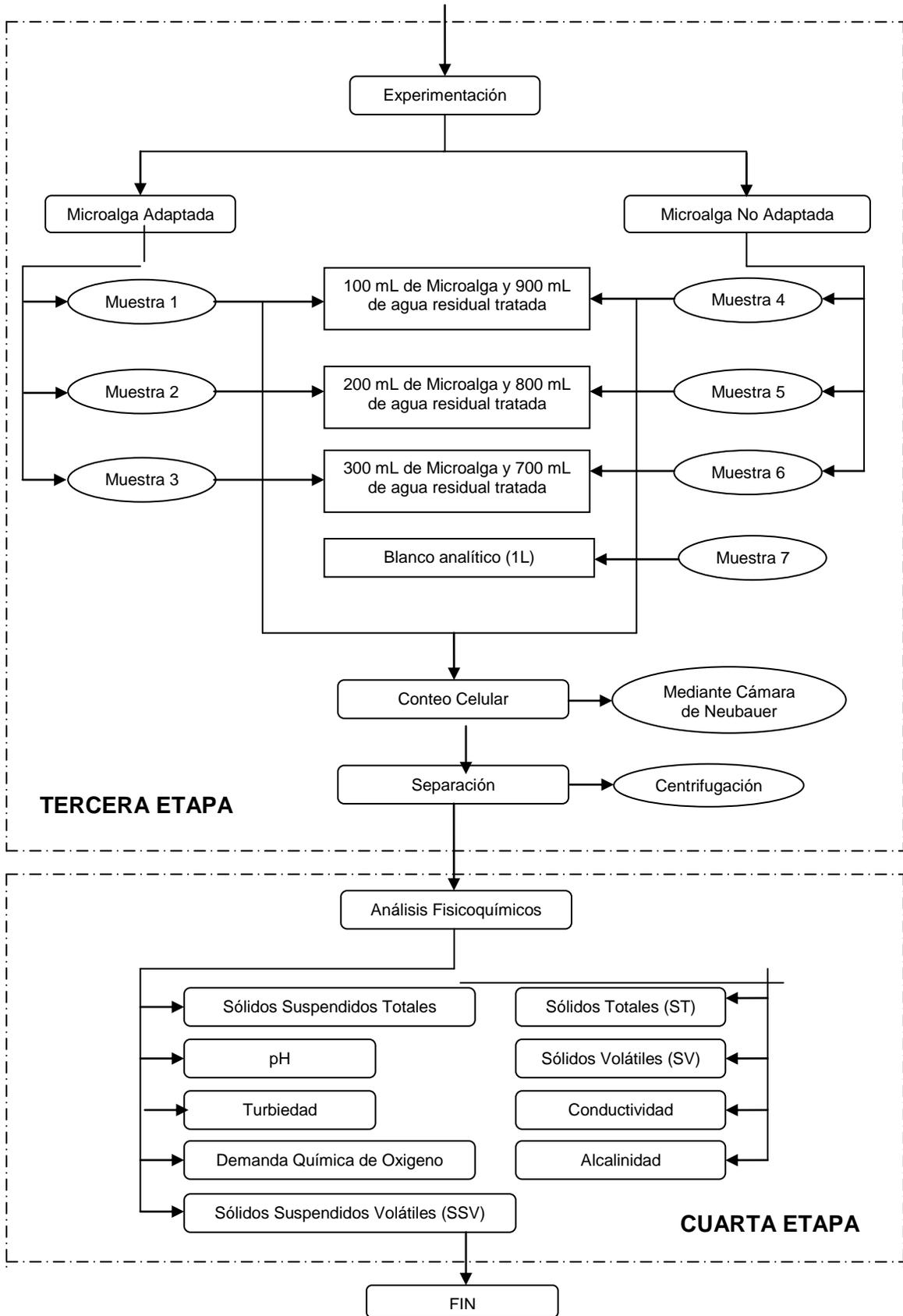
2. METODOLOGÍA

El trabajo de grado se realizó en 4 etapas como se muestra en la Figura 2; en la primera se llevó a cabo la revisión bibliográfica con el fin de obtener la información necesaria para obtener el cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* en las condiciones adecuadas para favorecer su crecimiento, y se sembró el cultivo.

En la segunda etapa se realizaron las pruebas pre-experimentales con el fin de conocer si la microalga crecía en el nuevo sustrato Agua Residual Tratada (ART), junto con el análisis de las características fisicoquímicas del agua residual tratada por la PTAR El Salitre. La tercera etapa fue el desarrollo experimental que consistió en la selección de los porcentajes de volumen de microalga para el biotratamiento y finalmente en la cuarta etapa se analizó el agua residual tratada luego del biotratamiento con la microalga.

Figura 2. Diagrama del proceso





2.1 PRIMERA ETAPA

Se inició con la selección de las condiciones de crecimiento para la adaptación de la microalga al medio de cultivo y su posterior escalamiento, basados en las investigaciones realizadas con anterioridad en el grupo de investigación de biotecnología (BIOTECFUA).

2.1.1 Condiciones para el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*. Para cumplir el objetivo de obtener volumen suficiente de microalga es necesario seleccionar las condiciones de crecimiento adecuadas. Con base en la literatura la microalga *Chlorella vulgaris* no se ve significativamente influenciada a temperaturas entre los 25°C y 35°C; el crecimiento se llevó a cabo a una temperatura de 22°C ± 3°C que es en donde se reportan mayores tasas de crecimiento³³, también es importante una buena agitación para evitar que ésta se sedimente y así reciba de manera uniforme la luz solar para lo cual se utilizaron bombas con capacidad de 4 L/min conectadas a mangueras para inyectar aire como agitación al sistema.

La fuente de intensidad lumínica que recibieron directamente las muestras fue la luz solar, variando este parámetro de acuerdo a los niveles de radiación solar en la ciudad de Bogotá en los meses de Junio y Julio del año 2016, con un promedio de 3,5 a 4 kW/m²/día³⁴; la microalga *Chlorella vulgaris* presenta un pH óptimo de crecimiento entre 6 y 7 llevándose la medición del pH con cintas medidoras de pH.³⁵

2.1.2 Medio de cultivo. Para el medio de cultivo se utilizó el fertilizante agrícola foliar llamado FOLIAGRO, éste presenta nutrientes similares al medio de cultivo bolt basal, el cuál es el utilizado para el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*. Agregándose fertilizante al 0.2% v/v (2 mL) junto con agua desionizada en un volumen total de 1L³⁶. En la Figura 3 se muestra el fertilizante agrícola foliagro, en la Figura 4 se muestra el medio de cultivo y en la Tabla 1 se muestra la composición del fertilizante utilizado para el medio.

³³ CONVERTI, Attilio; CASAZZA, Alessandro A.; ORTIZ, Erika Y.; PEREGO, Patrizia; BORGHI, Marco; "Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production"; Department of Chemical and Process Engineering; University of Genoa; Italia; 2009.

⁴² SOLOVCHENKO, A. E; "Physiological Role of Neutral Lipid Accumulation in Eukaryotic Microalgae under Stresses"; Faculty of Biology, Moscow State University; Moscow; 2011.

³⁴ Atlas de radiación solar de Colombia. Visto en <http://atlas.ideam.gov.co/visorAtlasRadiacion.html>, el 22 de febrero de 2017

³⁵ Abalde. Op.cit., p. 37

³⁶ ÁNGEL, C.; PIMENTA W. Evaluación de la incidencia del nitrógeno en el medio de cultivo bold basal para la producción de biomasa de la microalga *Chlorella vulgaris* en un fotobiorreactor, para la obtención de ácidos grasos. Tesis de investigación Ingeniería Química. Universidad de América. Facultad de Ingeniería, Programa de Ingeniería Química. 2012. p. 64.

Figura 3. Fertilizante Foliagro



Figura 4. Medio de Cultivo



Tabla 1. Composición del fertilizante agrícola Foliagro.

Nitrógeno Total (N)	100,00 g/L	Boro (B)	0,20 g/L
Nitrógeno Amoniacal (N)	72,00 g/L	Cobre (Cu)*	0,20 g/L
Nitrógeno Nitrico (N)	3,20 g/L	Hierro (Fe)*	0,40 g/L
Nitrógeno Ureico (N)	24,80 g/L	Manganeso (Mn)*	0,40 g/L
Fósforo Asimilable (P ₂ O ₅)	300,00 g/L	Molibdeno (Mo)	0,03 g/L
Potasio Soluble en Agua (K ₂ O)	100,00 g/L	Zinc (Zn)*	0,50 g/L
Calcio (CaO)*	0,20 g/L	pH en solución al 10%	6,5
Magnesio (MgO)*	0,20 g/L	Densidad a 20 °C	1,3
Azufre Total (S)	0,80 g/L	*Quelutados con EDTA y ácido cítrico	g/mL

2.1.3 Esterilización de materiales. Si se quiere garantizar un buen crecimiento de la microalga es importante contar con un ambiente estéril, por ello, es necesario la eliminación de cualquier agente contaminante o microorganismo indeseable en todos los materiales involucrados en el proceso, especialmente los que entran en contacto directo con la microalga *Chlorella vulgaris*. Se esterilizaron los materiales junto con el medio de cultivo por medio de una autoclave de laboratorio a 121°C y 15 psi durante 20 minutos.

2.1.4 Crecimiento celular. Luego de seleccionar las condiciones de crecimiento y tener los materiales junto con el medio de cultivo libre de contaminantes, se realizó la inoculación de la microalga suministrada por el grupo de investigación BIOTECFUA, la cuál se muestra en la Figura 5; en cuatro recipientes a los que se adicionó 200 mL de medio de cultivo y 20 mL de microalga manteniendo una relación 1/10 v/v, metodología utilizada en los trabajos del grupo de investigación;

al noveno día de la inoculación se adicionó 40 mL de medio de cultivo a cada recipiente. En la Figura 6 se muestra el esquema del cultivo inicial.

Figura 5. Cepa Inicial de Microalga *Chlorella Vulgaris*



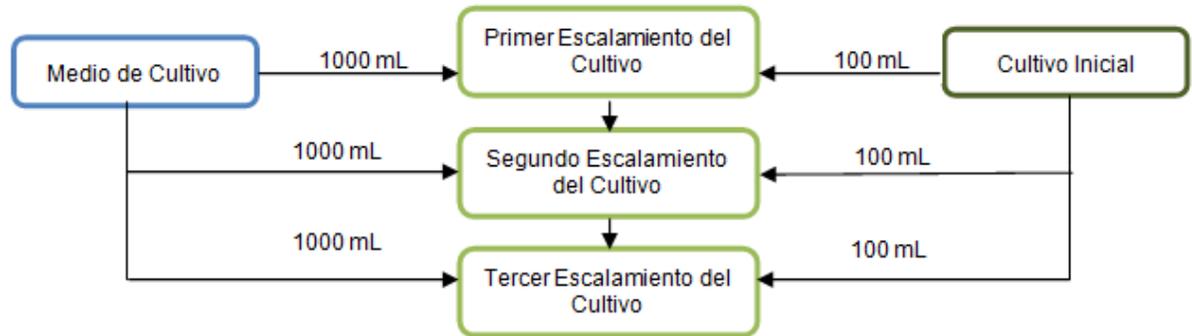
Figura 6. Cultivo Inicial.



2.1.5 Escalamiento del cultivo. Dieciséis días después de la inoculación se realizó el primer escalamiento que se ejecutó en dos recipientes de 4 L que fueron previamente esterilizados; fueron adicionados 1000 mL de medio de cultivo y 100 mL de la microalga cultivada en los recipientes mencionados anteriormente. Este procedimiento fue ejecutado dos veces más, a los 33 y 41 días después de la inoculación inicial en los recipientes pequeños, alcanzando finalmente 3,5 L de microalga en ambos recipientes. La relación microalga-medio de cultivo, se estableció teniendo en cuenta que durante la fase de crecimiento es necesario que los microorganismos dispongan de una buena cantidad de nutrientes minerales³⁷. En la Figura 7 se muestra el esquema del escalamiento del cultivo.

³⁷ SOLOVCHENKO, A. E; "Physiological Role of Neutral Lipid Accumulation in Eukaryotic Microalgae under Stresses"; Faculty of Biology, Moscow State University; Moscow; 2011.

Figura 7. Escalamiento del Cultivo.



2.2 SEGUNDA ETAPA

Se inoculó la microalga en un nuevo sustrato que en este caso fue el agua residual tratada por la PTAR El Salitre, sin embargo, era necesario tener la certeza de que la microalga se iba a acoplar a éste nuevo medio y que incrementaría su concentración celular. Teniendo en cuenta que éste nuevo medio viene con una carga microbiológica con diferentes microorganismos que podían afectar o inhibir su crecimiento, se realizaron dos pre-experimentaciones antes del biotratamiento.

2.2.1 Pre-experimentación 1. Esta pre-experimentación se realizó con el fin de conocer si la microalga *Chlorella vulgaris* crecía en éste nuevo sustrato (ART), teniendo en cuenta la presencia de otros microorganismos, se llevó a cabo la inoculación en dos recipientes de 300 mL en los que se adicionó agua residual tratada y microalga. En el recipiente uno se inoculó 33,3% (v/v) de microalga con una concentración inicial de $8,1 \times 10^6$ cel/mL y en el recipiente dos se inoculó 50% (v/v) de microalga con una concentración inicial de $1,0 \times 10^7$ cel/mL. En la Figura 8 se muestra el esquema de las cantidades iniciales de la pre-experimentación 1.

Figura 8. Pre-experimentación 1.



Esta pre-experimentación tuvo una duración de 11 días, ya que según la literatura la microalga tarda aproximadamente dos semanas en alcanzar su fase estacionaria³⁸; en estos días se llevó el conteo celular cuatro días a la semana de

³⁸ Álvarez, I., Gómez, L., Rivero, R. Cultivo de *Chlorella vulgaris* sobre residual de soja con la aplicación de un campo magnético. (2011). Publicado en la Revista Colombiana de Biotecnología Vol. 13, Núm. 2.

forma manual con ayuda de la cámara de Neubauer y manteniendo las condiciones para un adecuado crecimiento mencionadas anteriormente.

2.2.2 Pre-experimentación 2. Luego de realizar la pre-experimentación 1 a porcentajes en volumen de microalga de 33,3% v/v y 50% v/v, estos porcentajes al momento de hacer un escalamiento a nivel industrial no serían viables, razón por la cual en la segunda pre-experimentación se disminuyó el porcentaje en volumen de microalga inoculada; se decidió inocular la microalga en porcentajes de volumen de 10% con una concentración inicial de $2,9 \times 10^6$ cel/mL y 30% con una concentración inicial de $2,4 \times 10^6$ cel/mL en un volumen total de 300 mL.

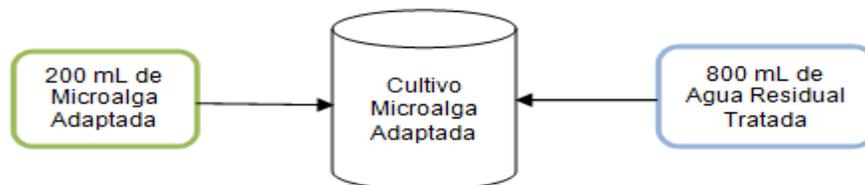
Al mismo tiempo se cultivó microalga ya adaptada al nuevo sustrato (ART), al cual se inoculó 20% en volumen de microalga en un volumen total de 1L, que posteriormente fue utilizado en el biotratamiento.

Esta segunda pre-experimentación duró 15 días, en estos se llevó un control del crecimiento mediante un conteo celular cuatro días a la semana de forma manual con ayuda de la cámara de Neubauer y manteniendo las condiciones mencionadas anteriormente para un adecuado crecimiento. En las Figuras 9 y 10 se muestra el esquema de las cantidades iniciales de la pre-experimentación 2 y Medio de cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* adaptada respectivamente.

Figura 9. Pre-experimentación 2



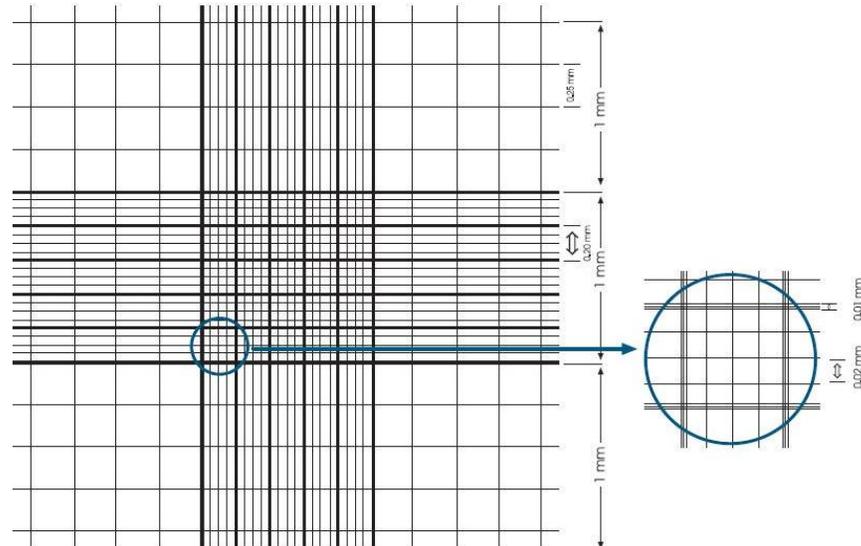
Figura 10. Cultivo Microalga Adaptada.



2.2.3 Cámara de Neubauer. La cámara de Neubauer cuenta con una cuadrícula de recuento que muestra 9 cuadrados grandes, cada uno de 1mm^2 . Los cuadrados grandes que se encuentran en las esquinas están divididos en 16 cuadrados con aristas de 0,25 mm. El cuadrado grande del centro está dividido en 25 cuadrados medianos con aristas de 0,2 mm en donde cada cuadrado mediano está subdividido en 16 cuadrados pequeños con aristas de 0,05 mm y una superficie

de $0,0025 \text{ mm}^2$.³⁹ El conteo fue realizado en el cuadro grande del centro, éste se utiliza para células de menor tamaño como lo son las microalgas, mientras que los demás cuadrados son utilizados para células de mayor tamaño. En la Figura 11 se muestra la cuadrícula de la cámara de Neubauer.

Figura 11. Cámara de Neubauer.



Para determinar la concentración celular por medio de la cámara de Neubauer se utilizó la siguiente ecuación⁴⁰:

Ecuación 1. Cálculo de la concentración celular.

$$\text{Concentración} \frac{\text{cel}}{\text{mL}} = \left(\frac{\text{Número de las células} * \text{Inverso de la dilución}}{(\text{área} * \text{profundidad} * \text{volumen}) * \frac{\# \text{cuadros leídos}}{25}} \right) * \left(\frac{\text{mm}^3}{0,001 \text{mL}} \right)$$

Es importante aclarar que no se realizó ninguna dilución al momento de hacer los conteos celulares, por ende, el inverso de la dilución en este caso sería igual a 1.

2.2.4 Conteo celular en las pre-experimentaciones. Para llevar un control del crecimiento en la concentración celular en las dos pre-experimentaciones se llevó a cabo un conteo celular por medio de la cámara de Neubauer. El conteo fue realizado en un microscopio binocular con aumento de 40X, con éste aumento se

³⁹ BASTIDAS, Oscar. Conteo Celular con Cámara de Neubauer. Celeromics. [en línea] <www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/Conteo-Camara-Neubauer.pdf> Revisado en agosto 2016.

⁴⁰ Dpto. Inmunología, Microbiología y Parasitología. Cámara de Contaje Neubauer improved. Universidad del país vasco. [en línea] <http://insilico.ehu.es/camara_contaje/neubauer_improved.php> Revisado en agosto 2016.

pueden visualizar claramente las células de la microalga *Chlorella vulgaris*. El procedimiento para realizar el conteo fue llevado de la siguiente manera:

Se colocó el cubreobjetos sobre la cámara de Neubauer, luego se introdujo un tubo capilar en un tubo de ensayo que contenía la muestra para que ésta quedara dentro del tubo capilar; posteriormente se ubicó el tubo capilar entre el borde del cubreobjetos y la cámara de Neubauer con el fin de que la muestra penetrara por capilaridad, en seguida se situó la cámara en la bandeja del microscopio; luego se enfocó para poder visualizar las células y se realizó el conteo.

2.2.5 Análisis de las características fisicoquímicas del agua residual tratada por la PTAR El Salitre. Se realizaron los análisis fisicoquímicos correspondientes a la muestra de agua residual de la mañana del 5 de septiembre del 2016 comprendida desde las 00:00 am hasta las 12:00 m, en donde se evaluaron los siguientes parámetros:

- Sólidos Suspendidos Totales (SST)
- pH
- Turbiedad
- Demanda Química de Oxígeno (DQO)
- Alcalinidad
- Conductividad
- Sólidos Totales (ST)
- Sólidos Volátiles (SV)
- Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)

Es necesario tener estos valores antes del biotratamiento, para luego hacer una comparación y conocer qué tan eficiente puede ser el uso de la microalga *Chlorella vulgaris* como un tratamiento complementario en la remoción de materia orgánica en éste tipo de agua.

2.3 TERCERA ETAPA

Luego de comprobar que la microalga *Chlorella vulgaris* se adaptó en el nuevo sustrato (ART), se ejecutó el biotratamiento.

2.3.1 Experimentación. Para la experimentación se usaron los mismos porcentajes en volumen utilizados en la segunda pre-experimentación, los cuales fueron 10%, 20% y 30% de microalga en un volumen total de 1L. Con el objetivo de conocer cuál era la incidencia en la adaptación de la microalga *Chlorella vulgaris* al nuevo sustrato (agua residual tratada) al momento de realizar el biotratamiento se utilizó microalga adaptada (microalga que había entrado en contacto con el nuevo sustrato, MA) y microalga que no había entrado en contacto con este nuevo sustrato, es decir, microalga no adaptada (MNA); se realizó la experimentación en 7 recipientes (siendo el séptimo recipiente el blanco analítico

que en éste caso fue agua residual tratada), cada uno con un contenido de 1L. En la Tabla 2 se presentan las composiciones de cada una de las muestras.

Tabla 2. Composiciones de las muestras utilizadas en la experimentación.

Muestra	Volumen	Microalga	% en Volumen de microalga
1	100 mL Microalga 900 mL Agua Residual Tratada	Adaptada	10%
2	200 mL Microalga 800 mL Agua Residual Tratada	Adaptada	20%
3	300 mL Microalga 700 mL Agua Residual Tratada	Adaptada	30%
4	100 mL Microalga 900 mL Agua Residual Tratada	No Adaptada	10%
5	200 mL Microalga 800 mL Agua Residual Tratada	No Adaptada	20%
6	300 mL Microalga 700 mL Agua Residual Tratada	No Adaptada	30%
7 (Blanco)	1000 mL Agua Residual Tratada	No Aplica	0%

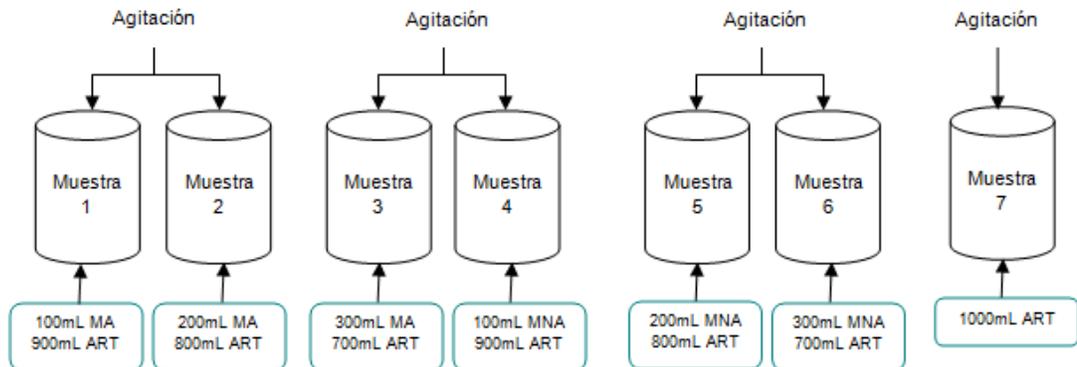
Antes de realizar la inoculación se llevó a cabo un conteo del cultivo de la microalga adaptada y del cultivo de la microalga no adaptada, y se conoció su concentración celular inicial, lo cual se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Concentración inicial de los cultivos.

Cultivo Microalga	Concentración Celular Inicial (cel/mL)
Adapta	$6,5 \times 10^6$
No Adaptada	$6,9 \times 10^6$

En los 15 días que duró el biotratamiento, se realizaron conteos celulares periódicos para observar el crecimiento celular de la microalga en las condiciones de temperatura, agitación e intensidad lumínica mencionadas en la sección 2.1.1. En la Figura 12 se muestra el esquema de la experimentación.

Figura 12. Experimentación.



2.3.2 Separación de la microalga del agua residual tratada. Transcurridos los 15 días del biotratamiento se efectuó la separación de la microalga del agua residual tratada por medio de una centrifuga, siendo ésta la manera más rápida y eficiente, es necesario separar bien el agua tratada de la microalga para su posterior caracterización⁴¹; esto se realizó con ayuda de una centrifuga HERAEUS LABOFUGE 400 de la marca Thermo electron Corporation programada a 4000 rpm durante 5 minutos. Luego de la separación se depositó el sobrenadante en recipientes para su posterior análisis, que se realizó en la cuarta etapa.

2.4 CUARTA ETAPA

Con el objetivo de conocer la incidencia de la microalga en éste tipo de agua se realizaron los análisis fisicoquímicos, siendo los sólidos suspendidos totales (SST) y la demanda química de oxígeno (DQO) los parámetros con los cuales se calcula la remoción de materia orgánica en la PTAR El Salitre, sin embargo, se calcularon también otros parámetros ya mencionados en la sección 2.2.5 para evaluar si la microalga afectaba de alguna forma éstos, y por último comparar los datos obtenidos antes y después del Biotratamiento con el objetivo de conocer si éste serviría como un tratamiento complementario.

2.4.1 Sólidos totales (ST). Se utilizó una cápsula de porcelana previamente pesada y se adicionaron 70 mL de muestra; fue llevada a un horno a 105°C hasta que se secó, se dejó enfriar y se leyó el peso final. Los datos obtenidos se reportan en mg/L.⁴² Para este análisis se utiliza un patrón de 500 mg/L de cloruro de sodio. El certificado de análisis para el cloruro de sodio se muestra en el anexo A. En la figura 13 se muestra la cápsula de porcelana empleada para este parámetro.

⁴¹ Lenntech. Centrifugación y Centrifugadores. [en línea] < <http://www.lenntech.es/centrifugacion.htm>>. Revisado en septiembre 2016.

⁴² American Public Health Assosiation. Op.cit., p. 2-64.

Figura 13. Cápsula para Sólidos Totales.



2.4.2 Sólidos volátiles (SV). Se empleó la cápsula con el peso final de los sólidos totales y se llevó a una mufla a una temperatura de 500-550°C por 10 minutos, se dejó enfriar y se leyó el peso final. Los datos obtenidos se reportan en mg/L. En la figura 14 se muestra la cápsula empleada para este parámetro.

Figura 14. Cápsula para Sólidos Volátiles.



2.4.3 Sólidos suspendidos totales (SST). En éste análisis se utilizó un papel filtro de fibra de vidrio que se situó en un embudo Gush, el cuál está conectado a una bomba de vacío. Se filtraron 50 mL de muestra agitada previamente, luego el papel filtro fue llevado a un horno de secado a 105°C de 30 a 60 minutos, transcurrido este tiempo se colocó en un desecador por 30 minutos con el fin de enfriarlo y finalmente fue pesado en una balanza analítica.⁴³ Para este análisis se utiliza un patrón de 100 mg/L a 200 mg/L de Kaolin, el certificado de análisis para este patrón se muestra en el Anexo B. En la figura 15 se muestra el papel filtro de fibra de vidrio, en la figura 16 se muestra el montaje de embudos Gush y en la

⁴³ American Public Health. Op.cit., p. 2-66.

figura 17 el horno utilizados en este análisis. Al igual que en el análisis anterior los datos se reportan en mg/L.

Figura 15. Papel filtro de fibra de vidrio antes del análisis.



Figura 16. Montaje de embudos Gush conectados a bomba de vacío.



Figura 17. Horno de secado.



2.4.4 Sólidos suspendidos volátiles (SSV). Se empleó el papel filtro con el peso final de los sólidos suspendidos totales y se llevó a una mufla a una temperatura de 500-550°C por 10 minutos, se dejó enfriar y se leyó el peso final. En la figura 18 se muestra el papel filtro de fibra de vidrio utilizado en este análisis. Los datos obtenidos se reportan en mg/L.⁴⁴

Figura 18. Papel filtro de fibra de vidrio.



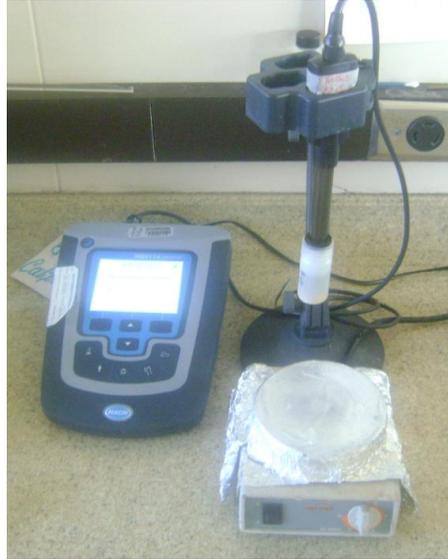
2.4.5 pH. Este análisis se realizó en un pHmetro HQ411d pH/mV de la marca HACH, donde la muestra fue agitada por medio de un agitador magnético para homogenizarla, luego se le sumergió un electrodo calibrado, el cuál permitió la lectura del pH en unidades.⁴⁵ En la figura 19 se muestra el pHmetro empleado en

⁴⁴ Ibid., p. 2-68.

⁴⁵ Ibid., p. 4-91

este análisis. El certificado de la calibración del equipo para este análisis de muestra en el Anexo C.

Figura 19. pHmetro.



2.4.6 Turbidez. Se realizó en un turbidímetro 2100N de la marca HACH calibrado anteriormente y se agregó en una celda la muestra previamente agitada para su posterior lectura. Los datos obtenidos se reportan en unidades nefelométricas (NTU).⁴⁶ En la figura 20 se muestra el turbidímetro utilizado en este análisis. El certificado de la calibración del equipo para este análisis se encuentra en el Anexo D.

Figura 20. Turbidímetro.



⁴⁶ *Ibíd.*, p. 2-12

2.4.7 Demanda química de oxígeno (DQO). Se utilizó para éste análisis un digester y un espectrofotómetro DR 2800 de la marca HACH a 587 nanómetros, 3 mL de muestra se adicionó en un tubo de ensayo junto con una mezcla de ácido sulfúrico (H_2SO_4), dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$), sulfato de plata (Ag_2SO_4) y sulfato de mercurio (Hg_2SO_4). Esta mezcla se calentó a $148^\circ C$ por 2 horas en un digester; pasadas estas 2 horas se dejó enfriar la mezcla, para realizar su respectiva lectura en el espectrofotómetro. Los datos obtenidos se reportan en mg/L de O_2 .⁴⁷ En los anexos E y F se muestran los certificados de las soluciones A y B para la DQO. En la figura 21 se muestra el digester y en la figura 22 se muestra el espectrofotómetro, equipos utilizados para determinar éste parámetro.

Figura 21. Digestor para DQO.



Figura 22. Espectrofotómetro para DQO.



⁴⁷ *Ibíd.*, p. 5-16.

2.4.8 Alcalinidad. Este análisis se realizó en un potenciómetro Titroline alpha plus TA20 plus de la marca SI Analytics, éste mide el pH de la muestra y cuando llega a 4,3 registra el volumen de ácido gastado en la titulación; se utilizó ácido sulfúrico en una concentración de 0,1 N para la titulación, se adicionaron 50 mL de muestra y se tituló hasta que el pH llegara a 4.3, luego de esto se realiza el cálculo de la alcalinidad; técnica que se utiliza en la PTAR El Salitre para el cálculo de este parámetro. Los datos obtenidos se expresan en mg/L de Carbonato de Calcio.⁴⁸ El certificado del ácido sulfúrico para la titulación de este análisis se muestra en el anexo G. En la figura 21 se muestra el potenciómetro utilizado para medir el pH y registrar la cantidad de ácido gastado en la titulación y realizar el respectivo cálculo.

Figura 23. Potenciómetro usado para determinar la alcalinidad.



2.4.9 Conductividad. Se utilizó un conductímetro HQ14d de la marca HACH, para saber cuál era la conductividad de las muestras analizadas, ésta característica se encuentra en todo material y es medida en microsiemens, μs ; el análisis se llevó a cabo sumergiendo el electrodo en la muestra, y el equipo reportó el resultado en $\mu\text{s}/\text{cm}$.⁴⁹ En la figura 24 se muestra el conductímetro empleado para este análisis. El certificado de este análisis se puede ver en el Anexo H.

⁴⁸ *Ibíd.*, p. 2-34.

⁴⁹ *Ibíd.*, p. 2-52.

Figura 24. Conductímetro.



3. RESULTADOS

3.1 PRIMERA ETAPA

A continuación, se muestran los resultados obtenidos del cultivo y el escalamiento de la microalga *Chlorella vulgaris*.

3.1.1 Crecimiento de la cepa Inicial. Con base en las especificaciones expuestas en la sección 2.1.1 se logró tener las condiciones adecuadas para el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* en el medio de cultivo Foliagro, con el transcurrir de los días la tonalidad fue cambiando de un verde claro a un verde más oscuro debido al incremento en la concentración de la biomasa microalgal, lo cual indicaba el consumo de nutrientes provenientes del medio de cultivo por parte de la microalga, que se veía reflejado en la disminución del volumen inicial. En la Figura 25 se muestra el cambio en el cultivo inicial del día 1 al día 17.

Figura 25. Crecimiento del cultivo inicial.



El cultivo en estos recipientes duró 17 días, según la literatura la microalga tarda este tiempo en alcanzar su fase estacionaria, por ende, se pudo proceder con el escalamiento.

3.1.2 Escalamiento del cultivo. Luego del crecimiento de la microalga en los recipientes pequeños, se llevó a cabo el escalamiento en dos recipientes de 4 L, en los que se logró llegar de un volumen inicial de 1 L a un volumen final de 3.5 L en un tiempo de 45 días, en los cuales se adicionaron 1000 mL de medio de cultivo y 100 mL de la microalga cultivada en los recipientes pequeños, a los 17 y 25 días respectivamente de iniciado el escalamiento

Al igual que en los recipientes pequeños se evidenciaron los mismos cambios físicos, en donde la disminución en el volumen iba acompañada del cambio en la coloración y se realizó la adición de medio de cultivo al observar estos cambios.

En la Figura 26 se muestra el escalamiento del cultivo.

Figura 26. Escalamiento del Cultivo.



3.2 SEGUNDA ETAPA

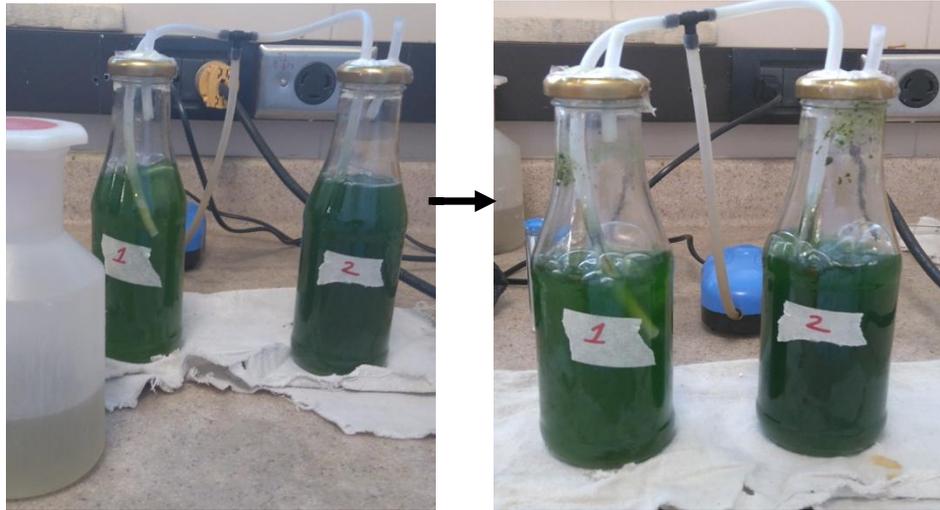
En esta sección se presentan los resultados obtenidos de las pre-experimentaciones y el análisis fisicoquímico del agua residual tratada antes del biotratamiento.

3.2.1 Pre-experimentación 1. Para conocer si la microalga crecía en este nuevo sustrato (ART), se llevó a cabo ésta pre-experimentación que tuvo una duración de 11 días, en donde se realizó un conteo periódico de forma manual con ayuda de la cámara de Neubauer dando como resultado un aumento en la concentración celular, mostrando de forma indirecta que la presencia de materia orgánica en el agua residual tratada puede traer los nutrientes necesarios para el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* y al mismo tiempo realizar la Biorremediación. En la Tabla 4 se muestran las composiciones utilizadas en esta pre-experimentación.

Tabla 4. Composiciones de la Pre-experimentación 1.

Muestra	Microalga	Agua Residual Tratada
1	100 mL	200 MI
2	150 mL	150 MI

Figura 27. Pre-experimentación 1.



En la Figura 27 se muestra el cambio entre el día 1 y el día 11 de la pre-experimentación 1. Se realizó el conteo celular por triplicado a cada muestra los días que se llevó el control del crecimiento, estos datos se promediaron. Los resultados obtenidos del promedio del conteo celular por medio de la cámara de Neubauer se muestran en las Tablas 5 y 6; donde la columna de número de células corresponde a las células contadas en la cámara de Neubauer.

Tabla 5. Conteo celular de la muestra 1.

Tiempo (días)	Concentración celular (cel/mL)	Número de células
1	$8,0 \times 10^6$	805
3	$7,7 \times 10^6$	766
4	$8,8 \times 10^6$	875
8	$8,8 \times 10^6$	882
9	$9,4 \times 10^6$	940
10	$1,0 \times 10^7$	1049
11	$1,0 \times 10^7$	1046

Tabla 6. Conteo celular de la muestra 2.

Tiempo (días)	Concentración celular (cel/mL)	Número de células
1	$1,0 \times 10^7$	1005
3	$9,3 \times 10^6$	928
4	$1,1 \times 10^7$	1149
8	$1,1 \times 10^7$	1116
9	$1,2 \times 10^7$	1162

Tabla 6. (Continuación)

Tiempo (días)	Concentración celular (cel/mL)	Número de células
10	$1,3 \times 10^7$	1262
11	$1,2 \times 10^7$	1196

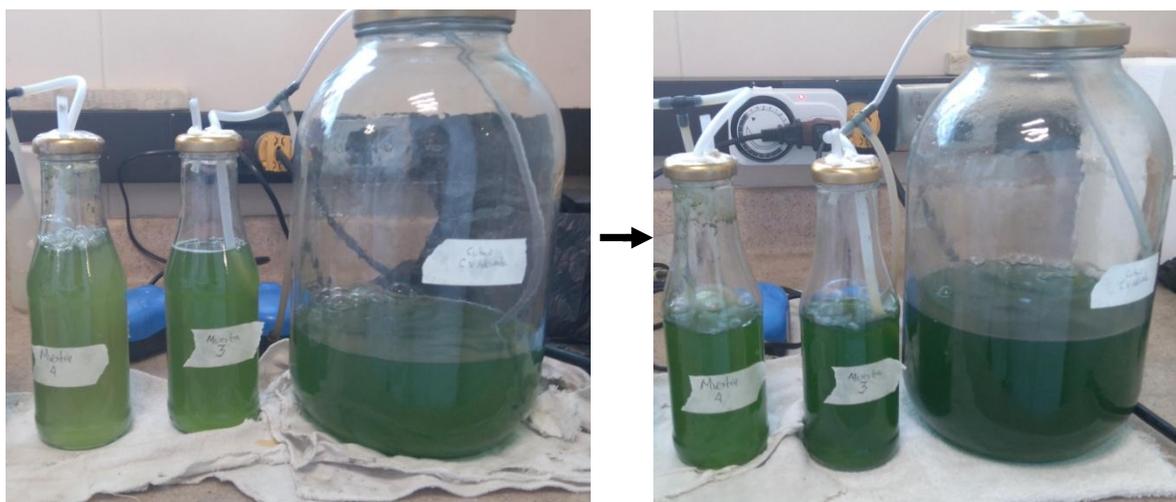
3.2.2 Pre-experimentación 2. Al observar los resultados obtenidos en la pre-experimentación 1, se comprobó que a porcentajes en volumen de 33% y 50% de microalga, esta se acopló al nuevo sustrato (ART), por lo cual en la segunda pre-experimentación se ejecutó el mismo procedimiento a porcentajes en volumen de microalga de 10% y 30%, que para efectos de escalamiento a nivel industrial es más económico si se trabaja con estos porcentajes en volumen de microalga; esta pre-experimentación tardó 15 días.

De igual manera se cultivó microalga ya adaptada a este nuevo sustrato, en el cuál se inoculó un 20% de microalga en un volumen total de 1L. En la Tabla 7 se muestran las composiciones de la Pre-experimentación 2.

Tabla 7. Composiciones de la Pre-experimentación 2.

Muestra	Microalga Adaptada	Agua Residual Tratada
3	90 mL	210 mL
4	30 mL	270 mL

Figura 28. Pre-experimentación 2.



En la Figura 28 se muestra el cambio entre el día 1 y el día 15 de la pre-experimentación 2. Cuando se realizó el cultivo en estas dos pre-experimentaciones se evidenció un claro crecimiento de la concentración celular de acuerdo con los valores que se obtenían en cada uno de los conteos los cuales iban incrementando el número de células; además del cambio en el color y una

disminución en el volumen inicial de la inoculación.

Se realizó el conteo celular por triplicado a cada muestra los días que se llevó el control del crecimiento, estos datos fueron promediados. Los resultados obtenidos del promedio del conteo celular por medio de la cámara de Neubauer se muestran en las Tablas 8 y 9.

Tabla 8. Conteo celular de la muestra 3.

Tiempo (días)	Concentración celular (cel/mL)	Número de células
1	$2,9 \times 10^6$	289
4	$3,9 \times 10^6$	389
6	$4,7 \times 10^6$	466
7	$5,2 \times 10^6$	524
8	$5,4 \times 10^6$	541
11	$5,5 \times 10^6$	597
13	$6,1 \times 10^6$	606
14	$6,6 \times 10^6$	661
15	$7,6 \times 10^6$	756

Tabla 9. Conteo celular de la muestra 4.

Tiempo (días)	Concentración celular (cel/mL)	Número de células
1	$2,4 \times 10^6$	238
4	$2,8 \times 10^6$	277
6	$3,1 \times 10^6$	313
7	$3,6 \times 10^6$	360
8	$3,7 \times 10^6$	366
11	$4,5 \times 10^6$	445
13	$4,5 \times 10^6$	454
14	$4,7 \times 10^6$	469
15	$4,7 \times 10^6$	465

3.2.3 Características fisicoquímicas del agua residual tratada por la PTAR El Salitre. Los resultados obtenidos luego de tratar el agua cruda que ingresó a la PTAR El Salitre la mañana del 5 septiembre del 2016, en un intervalo de tiempo desde las 00:00 am hasta las 12:00 m se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10. Caracterización fisicoquímica del agua residual tratada.

Características Fisicoquímicas	Resultado	Unidades
pH	7,63	Unidad
Características Fisicoquímicas	Resultado	Unidades
Alcalinidad	225	mg- CaCO ₃ /L
Conductividad	833	µs/cm
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	116	mg/L
Sólidos Totales (ST)	704	mg/L
Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)	92	mg/L
Sólidos Volátiles (SV)	410	mg/L
DQO	361	mg/L-O ₂
Turbiedad	89	NTU

El porcentaje de remoción de materia orgánica que logro la PTAR El Salitre el día 5 de septiembre del 2016, de la muestra con la cual se realizó la experimentación, se determina bajo dos parámetros que son los sólidos suspendidos totales (SST) y la demanda química de oxígeno (DQO), por medio de la siguiente ecuación:

Ecuación 2. Cálculo del porcentaje de remoción.

$$\% \text{ Remoción} = \frac{\text{Entrada (agua cruda)} - \text{Salida (agua tratada)}}{\text{Entrada (agua cruda)}} \times 100\%$$

Los datos de los sólidos suspendidos totales (SST) y la demanda química de oxígeno (DQO) que registró el agua cruda el 5 de septiembre fueron suministrados por la PTAR el Salitre. En el anexo I se muestran los valores promedio de los parámetros medidos por la PTAR El Salitre del agua cruda y el agua tratada.

El porcentaje de remoción de esa muestra por SST fue:

$$\% \text{ Remoción} = \frac{273\text{mg/L} - 116\text{mg/L}}{273\text{mg/L}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Remoción} = 57,51$$

El porcentaje de remoción de esa muestra por DQO fue:

$$\% \text{ Remoción} = \frac{558\text{mg/L } O_2 - 361\text{mg/L } O_2}{558\text{mg/L } O_2} \times 100\%$$

$$\% \text{ Remoción} = 35,30$$

3.3 TERCERA ETAPA

Los resultados obtenidos en la experimentación y en la separación de la microalga del agua residual tratada después del biotratamiento se muestran en esta sección.

3.3.1 Experimentación. El biotratamiento tuvo una duración de 15 días en los que se realizó un conteo celular manual con la ayuda de la cámara de Neubauer de manera periódica y como era de esperarse se evidenció un crecimiento en la biomasa microalgal al momento de realizar los conteos, además de los mismos cambios físicos que se venían presentando. Las composiciones utilizadas para cada una de las muestras se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11. Composiciones de la Experimentación.

Muestra	Volumen	Microalga	Porcentaje en Volumen de microalga
1	100 mL Microalga 900 mL Agua Residual Tratada	Adaptada	10%
2	200 mL Microalga 800 mL Agua Residual Tratada	Adaptada	20%
3	300 mL Microalga 700 mL Agua Residual Tratada	Adaptada	30%
4	100 mL Microalga 900 mL Agua Residual Tratada	No Adaptada	10%
5	200 mL Microalga 800 mL Agua Residual Tratada	No Adaptada	20%
6	300 mL Microalga 700 mL Agua Residual Tratada	No Adaptada	30%
7 (Blanco)	1000mL Agua Residual Tratada	No Aplica	0%

En la Figura 29 se muestra la experimentación, donde A corresponde al inicio y B al final del biotratamiento.

Figura 29. Experimentación.



Los resultados obtenidos del conteo celular por medio de la cámara de Neubauer realizados en la experimentación se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12. Conteo celular de la Experimentación.

Tiempo (días)	Muestra 1		Muestra 2		Muestra 3		Muestra 4		Muestra 5		Muestra 6	
	Concentración celular (cel/mL)	Número de células										
1	1,4x10 ⁶	135	2,5x10 ⁶	252	2,3x10 ⁶	226	1,1x10 ⁶	114	2,4x10 ⁶	244	2,4x10 ⁶	244
2	1,5x10 ⁶	148	2,6x10 ⁶	256	2,3x10 ⁶	233	1,1x10 ⁶	112	2,3x10 ⁶	226	2,4x10 ⁶	237
4	1,7x10 ⁶	169	2,6x10 ⁶	260	2,6x10 ⁶	259	1,2x10 ⁶	122	2,3x10 ⁶	233	2,4x10 ⁶	242
5	1,7x10 ⁶	166	2,9x10 ⁶	285	2,9x10 ⁶	289	1,5x10 ⁶	152	2,3x10 ⁶	234	2,7x10 ⁶	266
9	2,1x10 ⁶	214	3,1x10 ⁶	307	3,4x10 ⁶	341	2,0x10 ⁶	202	2,8x10 ⁶	281	3,4x10 ⁶	339
10	2,2x10 ⁶	215	3,2x10 ⁶	321	3,7x10 ⁶	372	2,2x10 ⁶	222	3,3x10 ⁶	326	3,6x10 ⁶	356
11	2,2x10 ⁶	223	3,5x10 ⁶	354	4,0x10 ⁶	400	2,7x10 ⁶	274	3,7x10 ⁶	370	4,4x10 ⁶	435
12	2,2x10 ⁶	224	3,1x10 ⁶	306	5,0x10 ⁶	500	3,2x10 ⁶	322	4,0x10 ⁶	395	4,2x10 ⁶	422
15	3,0x10 ⁶	302	3,7x10 ⁶	367	4,7x10 ⁶	469	3,7x10 ⁶	366	4,3x10 ⁶	431	5,1x10 ⁶	510

3.3.2 Separación de la microalga del agua residual tratada. Después de los 15 días del biotratamiento se llevó a cabo la separación por medio de una centrifuga, la separación se realizó a 4000 rpm por un tiempo de 5 minutos por cada una de las muestras en donde se separó la microalga del agua residual tratada para su posterior análisis. En la Figura 30 se muestra la separación de la microalga del agua residual tratada.

Figura 30. Centrifugación.



3.4 ANÁLISIS DESPUÉS DEL BIOTRATAMIENTO

Una vez terminada la centrifugación se obtuvo el sobrenadante al cual se le analizaron los mismos parámetros fisicoquímicos que fueron realizados al agua residual tratada por la PTAR El Salitre; se obtuvo también un sedimento correspondiente a la biomasa microalgal que fue dispuesta según los protocolos de la PTAR.

3.4.1 Sólidos totales (ST). La ecuación utilizada para obtener los resultados de sólidos totales fue la siguiente:

Ecuación 3. Cálculo de los Sólidos Totales.

$$ST = \frac{\text{Peso final (g)} - \text{Peso inicial(g)}}{\text{Volumen Muestra (mL)}} \times 1000000 \frac{\text{mL} * \text{mg}}{\text{L} * \text{g}}$$

En donde 1.000.000 es el factor de conversión que se utilizó para obtener los resultados de los sólidos totales en mg/L; los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Determinación de los Sólidos Totales.

ST				
MUESTRA	PESO INICIAL (g)	PESO FINAL (105°C) (g)	VOLUMEN MUESTRA (mL)	ST mg/L
BLANCO	80,0107	80,0364	70	367
M 1	91,8734	91,8989	70	364
M 2	93,2394	93,2678	70	406
M 3	79,5803	79,6153	70	500
M 4	91,4544	91,4834	70	414
M 5	98,9731	99,0130	70	570
M 6	78,5881	78,6372	70	701

3.4.2 Sólidos volátiles (SV). La ecuación utilizada para obtener los resultados de sólidos volátiles fue la siguiente:

Ecuación 4. Cálculo de los Sólidos Volátiles.

$$SV = \frac{\text{Peso inicial (g)} - \text{Peso final (g)}}{\text{Volumen Muestra (mL)}} \times 1000000 \frac{\text{mL} * \text{mg}}{\text{L} * \text{g}}$$

En donde el peso inicial en este caso hace referencia al peso final del análisis de sólidos totales (ST) y el 1.000.000 es el factor de conversión que se utilizó para obtener los resultados de los sólidos volátiles en mg/L; los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14. Determinación de los Sólidos Volátiles.

SV				
MUESTRA	PESO INICIAL (105 °C) (g)	PESO FINAL (550 °C) (g)	VOLUMEN MUESTRA (mL)	SV mg/L
BLANCO	80,0364	80,0281	70	119
M 1	91,8989	91,892	70	99
M 2	93,2678	93,2587	70	130
M 3	79,6153	79,6028	70	179
M4	91,4834	91,4737	70	138
M5	99,0130	98,9959	70	294
M6	78,6372	78,6162	70	300

3.4.3 Sólidos suspendidos totales (SST). La ecuación utilizada para obtener los resultados de sólidos suspendidos totales fue:

Ecuación 5. Cálculo de los Sólidos Suspendidos Totales.

$$SST = \frac{\text{Peso final (g)} - \text{Peso inicial(g)}}{\text{Volumen Muestra (mL)}} \times 1000000 \frac{\text{mL} * \text{mg}}{\text{L} * \text{g}}$$

En donde 1.000.000 es el factor de conversión que se utilizó para obtener los resultados de los sólidos totales en mg/L; los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 15.

Tabla 15. Determinación de los Sólidos Suspendidos Totales.

SST					
MUESTRA	PESO INICIAL	PESO FINAL (105 °C)	VOLUMEN MUESTRA (mL)	SST mg/L	PROMEDIO
BLANCO	0,1091	0,1113	100	22	20
	0,1098	0,1107	50	18	
	0,1092	0,1102	50	20	
M 1	0,109	0,1096	50	12	13
	0,1115	0,1121	50	12	
	0,1119	0,1126	50	14	
M 2	0,1114	0,113	50	32	30
	0,112	0,1134	50	28	
	0,1117	0,1132	50	30	
M 3	0,1135	0,1159	50	48	43
	0,1137	0,1155	50	36	
	0,1089	0,1111	50	44	
M 4	0,1092	0,1112	50	40	41
	0,1093	0,1114	50	42	
	0,1087	0,1107	50	40	
M 5	0,1082	0,1115	50	66	65
	0,1095	0,1127	50	64	
	0,1093	0,1125	50	64	
M 6	0,109	0,1124	50	68	70
	0,1095	0,113	50	70	
	0,1097	0,1133	50	72	

3.4.4 Sólidos suspendidos volátiles (SSV). La ecuación utilizada para obtener los resultados de sólidos suspendidos volátiles fue:

Ecuación 6. Cálculo de los Sólidos Suspendidos Volátiles.

$$SSV = \frac{\text{Peso inicial (g)} - \text{Peso final (g)}}{\text{Volumen Muestra (mL)}} \times 1000000 \frac{\text{mL} * \text{mg}}{\text{L} * \text{g}}$$

En donde el peso inicial en este caso hace referencia al peso final del análisis de sólidos suspendidos totales (ST) y el 1.000.000 es el factor de conversión que se utilizó para obtener los resultados de los sólidos suspendidos volátiles en mg/L; los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 16.

Tabla 16. Determinación de los Sólidos Suspendidos Volátiles.

SSV					
MUESTRA	PESO INICIAL (105°C) (g)	PESO FINAL (550 °C) (g)	VOLUMEN MUESTRA (mL)	SSV mg/L	PROMEDIO
BLANCO	0,1113	0,1092	100	21	18
	0,1107	0,1098	50	18	
	0,1102	0,1094	50	16	
M 1	0,1096	0,1089	50	14	13
	0,1121	0,1114	50	14	
	0,1126	0,112	50	12	
M 2	0,113	0,1114	50	31	27
	0,1134	0,1124	50	20	
	0,1132	0,1117	50	29	
M 3	0,1159	0,1138	50	42	41
	0,1155	0,1136	50	38	
	0,1111	0,109	50	42	
M 4	0,1112	0,1096	50	32	35
	0,1114	0,1096	50	36	
	0,1107	0,1089	50	36	
M 5	0,1115	0,1082	50	66	65
	0,1127	0,1094	50	66	
	0,1125	0,1093	50	64	
M 6	0,1124	0,1089	50	70	69
	0,113	0,1095	50	70	
	0,1133	0,1099	50	68	

3.4.5 pH. Los datos obtenidos fueron leídos directamente desde el equipo utilizado. Los resultados se muestran en la Tabla 17.

Tabla 17. Determinación del pH.

pH (Unidad)	
BLANCO	8.08
M1	6.30
M2	6.08
M3	5.80
M4	8.06
M5	6.86
M6	6.42

3.4.6 Turbiedad. Los datos obtenidos fueron leídos directamente desde el equipo utilizado. Los resultados se muestran en la Tabla 18.

Tabla 18. Determinación de la Turbiedad.

Turbiedad (NTU)	
BLANCO	11
M1	7
M2	14
M3	18
M4	15
M5	22
M6	22

3.4.7 Demanda química de oxígeno (DQO). Los datos obtenidos fueron leídos directamente desde el equipo utilizado. Los resultados se muestran en la Tabla 19.

Tabla 19. Determinación del DQO.

DQO (mg/L-O ₂)		
Muestra	Valor	Promedio
BLANCO	78	78
	78	
M 1	72	73
	73	

Tabla 19. (Continuación)

DQO (mg/L-O ₂)		
M 2	132 110	121
M 3	144 129	137
M 4	115 100	113
M 5	160 156	158
M 6	164 174	169

3.4.8 Alcalinidad. El dato del volumen de ácido gastado fue leído directamente desde el equipo utilizado. Para calcular la alcalinidad se utilizó la siguiente ecuación:

Ecuación 7. Cálculo de la Alcalinidad.

$$Alcalinidad = \frac{AxNx50000}{Volumen\ Muestra}$$

Donde N es la normalidad del ácido sulfúrico (H₂SO₄)

A es el volumen de ácido gastado.

50000 es un valor de conversion.

Los resultados obtenidos muestran en la Tabla 20.

Tabla 20. Determinación de la Alcalinidad.

ALCALINIDAD (mg-CaCO ₃ /L)	
BLANCO	134
M1	19
M2	23
M3	18
M4	108
M5	54
M6	45

3.4.9 Conductividad. Los datos obtenidos fueron leídos directamente desde el equipo utilizado. Los resultados se muestran en la Tabla 21.

Tabla 21. Determinación de la Conductividad.

CONDUCTIVIDAD ($\mu\text{s/cm}$)	
BLANCO	985
M1	609
M2	927
M3	701
M4	799
M5	815
M6	971

3.4.10 Remoción de materia orgánica después del biotratamiento. Como se mencionó en la sección 3.2.3 se tienen en cuenta dos parámetros fisicoquímicos para el cálculo de la remoción de materia orgánica, los sólidos suspendidos totales (SST) y la demanda química de oxígeno (DQO); en éste caso la ecuación 2 se modifica agregando un factor de dilución y se obtiene la siguiente ecuación.

Ecuación 8. Cálculo de remoción de materia orgánica después del biotratamiento.

$$\% \text{ Remoción} = \frac{\text{Entrada (agua tratada)} - \text{Salida (agua despues del biotratamiento)}}{\text{Entrada (agua tratada)}} \times \text{Factor de dilución} \times 100\%$$

Para poder comparar los datos de remoción obtenidos por la PTAR el Salitre y los datos obtenidos después del biotratamiento es necesario hacer éste factor de dilución debido a que las muestras no contienen únicamente agua residual tratada y el resultado sería erróneo, un porcentaje en volumen es de microalga. En la Tabla 22 se muestra el factor de dilución que se empleó para cada muestra, en la muestra 7 no se utilizó este factor por que ésta correspondía al blanco analítico el cuál solo contenía agua residual tratada.

Tabla 22. Factores de dilución.

Muestra	Volumen	Factor de dilución
1	100 mL MA 900 mL ART	0,9
2	200 mL MA 800 mL ART	0,8
3	300 mL MA 700 mL ART	0,7
4	100 mL MNA 900 mL ART	0,9

Tabla 22. (Continuación)

Muestra	Volumen	Factor de dilución
5	200 mL MNA 800 mL ART	0,8
6	300 mL MNA 700 mL ART	0,7

En la Tabla 23 se muestra el resultado de la remoción de materia orgánica bajo los parámetros fisicoquímicos SST y DQO obtenida después del biotratamiento.

Tabla 23. Porcentaje de Remoción de Materia Orgánica.

Muestra	%Remoción por SST	%Remoción por DQO
Muestra 1	89,91	81,80
Muestra 2	79,31	73,19
Muestra 3	72,84	73,43
Muestra 4	68,19	71,83
Muestra 5	55,17	64,99
Muestra 6	57,76	64,99
Blanco	82,76	62,55

4. ANALISIS DE RESULTADOS

4.1 PRIMERA ETAPA

En esta etapa se llevó a cabo el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* por medio de un análisis cualitativo, debido a que el objetivo era tener gran cantidad de microalga sin necesidad de cuantificar su concentración, por lo cual no se realizó un conteo celular para este cultivo.

4.1.1 Crecimiento de la cepa Inicial. El cultivo inicial se mantuvo durante dos semanas en las que se alcanzó un aumento en la concentración celular, reflejado con la disminución en el volumen de cada una de las muestras junto con un cambio en la tonalidad de éstas, lo que indicaba que las microalgas estaban consumiendo los nutrientes presentes en el medio de cultivo.

En la Figura 31 se observa la evolución del cultivo desde el inicio (parte superior izquierda), hasta el comienzo del escalamiento (parte inferior derecha).

Figura 31. Crecimiento de la Cepa Inicial.



4.1.2 Escalamiento del cultivo. Transcurridas las dos semanas del crecimiento de la cepa inicial se realizó el escalamiento en dos recipientes adicionando en cada uno 1000 mL de medio de cultivo por cada 100 mL de microalga en cada

uno, a medida que se observaron los cambios en el volumen y en la tonalidad se fue adicionando esta relación de medio de cultivo y microalga obteniendo una cantidad de 3.5 L de microalga en cada recipiente suficientes para llevar a cabo este trabajo.

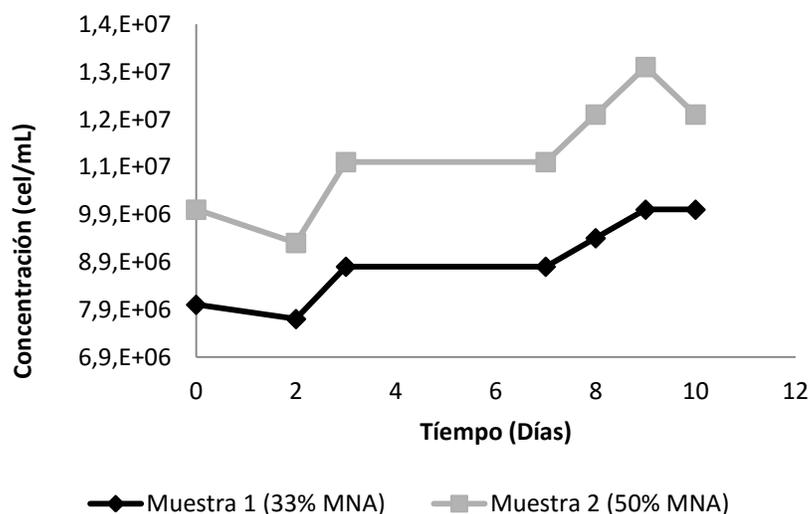
4.2 SEGUNDA ETAPA

En esta sección se analizan los datos obtenidos de los conteos celulares en cada una de las pre-experimentaciones.

4.2.1. Pre-experimentación 1. En la Gráfica 1 se ilustran los conteos de la Pre-experimentación 1, con respecto a la muestra 1. En los primeros dos días luego de la inoculación se observó una disminución en la concentración celular, que posiblemente se puede atribuir al cambio del sustrato y/o al porcentaje en volumen de microalga con la que se inició la pre-experimentación, al haber un 33% en volumen de microalga en un volumen total de 300 mL, con una concentración inicial de $8,1 \cdot 10^6$ cel/mL; la competencia por los nutrientes presentes en el cultivo puede ser mayor, generando una disminución en la concentración celular. Del segundo al tercer día se evidenció un crecimiento celular constante; del tercer al séptimo día tuvo un comportamiento estacionario y a partir del séptimo día se observó de nuevo un crecimiento constante hasta el noveno día.

De acuerdo con los datos de la Tabla 5 y la Tabla 6 se obtiene la siguiente gráfica.

Gráfica 1. Curva de crecimiento celular de la Pre-experimentación 1.



Con respecto a la muestra 2 se observa un comportamiento similar al de la muestra 1; sin embargo, esta muestra evidenció una mayor disminución en la concentración celular en los primeros dos días, posiblemente porque ésta contenía

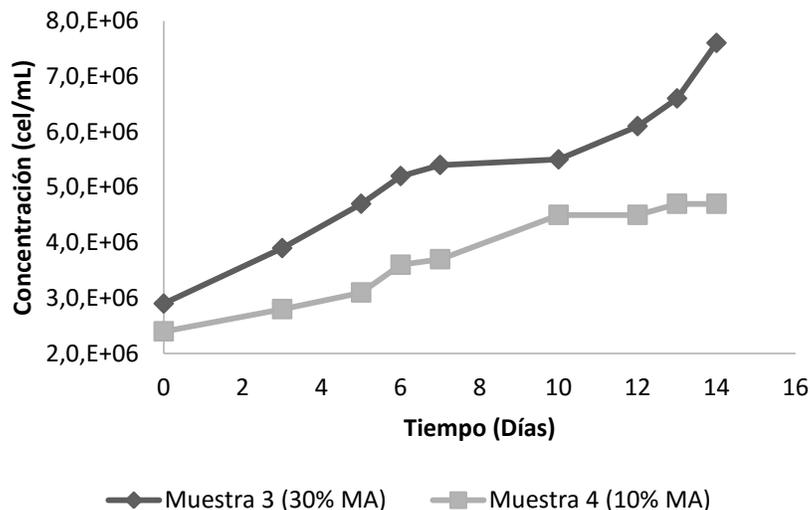
un 50% en volumen de microalga en un volumen total de 300 mL, con una concentración inicial de $1 \cdot 10^7$ cel/mL, lo que posiblemente generaba que la competencia por los nutrientes del sustrato fuera mayor.

Otro posible factor que generó una disminución en la concentración celular en la fase de adaptación de la microalga en ambas muestras pudo ser que el nuevo sustrato (ART) contenía microorganismos que afectaran el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*; a diferencia de la muestra 1, la muestra 2 a partir del noveno día entra en su fase de muerte.

4.2.2 Pre-experimentación 2. En la Gráfica 2 se muestra el crecimiento celular de la Pre-experimentación 2, con respecto a la muestra 3 se observa que en este caso la microalga no tuvo una fase de adaptación, probablemente porque en esta pre-experimentación se disminuyeron los porcentajes en volumen de microalga y se utilizó microalga ya adaptada al ART.

De acuerdo con los datos de la Tabla 8 y la Tabla 9 se obtiene la siguiente gráfica.

Gráfica 2. Curva de crecimiento celular de la Pre-experimentación 2.



Como se puede ver en la Gráfica 2, desde el día de la inoculación al séptimo día la microalga tuvo una fase de crecimiento, del séptimo al doceavo día se observó una fase estacionaria y por último del día doce al día catorce volvió a tener una tendencia de crecimiento.

En cuanto a la muestra 4, se observa que la microalga tuvo un crecimiento celular continuo desde el día de la inoculación al día once, luego entró en una fase estacionaria hasta el día doce y nuevamente tuvo una tendencia de crecimiento hasta el día catorce.

A partir de la Gráfica 2 se observa que en la pre-experimentación 2 no se evidenció una disminución en la concentración celular en los primeros días y que al disminuir los porcentajes en volumen de microalga la competencia por los nutrientes que trae el ART se podría hacer menor y por ende la microalga tendería a aumentar su concentración celular más que en la pre-experimentación 1.

4.3 TERCERA ETAPA

Se analizan los resultados obtenidos en los conteos celulares en cada muestra utilizada en la experimentación.

4.3.1 Experimentación. La cantidad inoculada de microalga tanto adaptada como no adaptada es diferente para cada muestra, el valor de la concentración inicial no es igual, por ende, se calcula el parámetro de la velocidad de crecimiento (μ) para determinar cuál muestra creció de forma más rápida y conocer que cantidad de microalga adaptada o no adaptada podría ser más eficaz en la remoción de materia orgánica.

Para calcular la velocidad de crecimiento se utiliza la siguiente ecuación⁵⁰:

Ecuación 9. Cálculo de la Velocidad de Crecimiento.

$$\mu = \frac{\ln\left(\frac{X_2}{X_1}\right)}{(t_2 - t_1)}$$

Donde X_2 y X_1 corresponden a la concentración final e inicial de la fase exponencial respectivamente, t_2 y t_1 corresponden a los tiempos de estas.

Tabla 24. Velocidad de Crecimiento (μ).

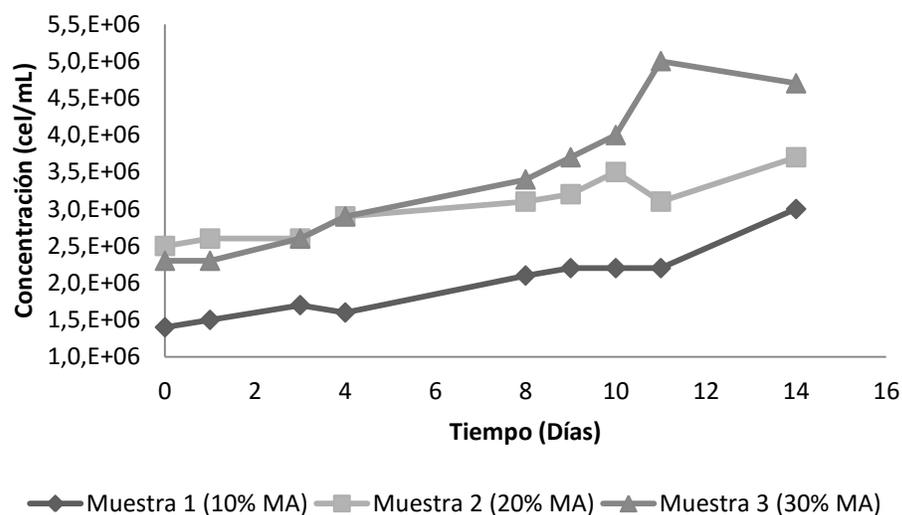
Muestra	μ (h^{-1})
1	0,063
2	0,032
3	0,078
4	0,093
5	0,063
6	0,069

La muestra 7 corresponde al blanco analítico por lo cual no se le realizó un conteo celular, por ende, tampoco se le realizó el cálculo de la velocidad de crecimiento porque ésta contenía solo agua residual tratada por la PTAR El Salitre.

De acuerdo con los datos de la Tabla 12 se obtiene la siguiente gráfica.

⁵⁰ Arredondo, B. Voltolina, D. Métodos y Herramientas Analíticas en la Evaluación de la Biomasa Microalgal. (2007). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. p. 27.

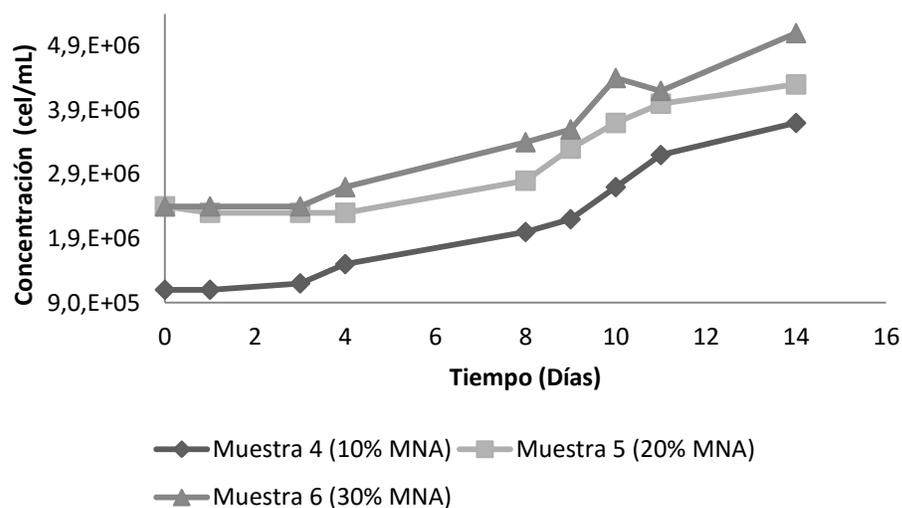
Gráfica 3. Curva de crecimiento celular de las muestras con MA.



En la Gráfica 3 se puede observar como era de esperarse de acuerdo a los resultados de la pre-experimentación 2 que la microalga adaptada al nuevo sustrato (ART) tiene una fase de adaptación corta y pasan a su fase exponencial a los pocos días de su inoculación. De acuerdo con la Tabla 24 se puede deducir que la mejor muestra cultivada con microalga adaptada con respecto a la velocidad de crecimiento corresponde a la muestra 3.

De acuerdo con los datos de la Tabla 12 se obtiene la siguiente gráfica.

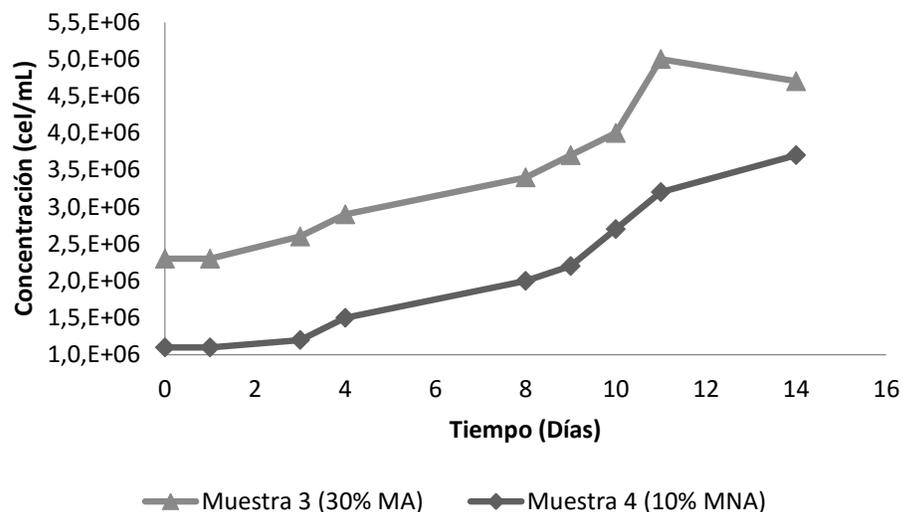
Gráfica 4. Curva de crecimiento celular de las muestras con MNA.



En la Gráfica 4 se ilustra como cada una de las muestras cultivadas con microalga no adaptada tienen una fase de adaptación más prolongada comparada con las muestras cultivadas con MA. Con respecto a la velocidad de crecimiento que se presenta en la Tabla 24, la muestra con mayor velocidad de crecimiento es la número 4.

De acuerdo con la Tabla 24 se realiza una comparación de las muestras tanto con MA y con MNA con mayor velocidad de crecimiento para obtener la siguiente gráfica.

Gráfica 5. Comparación entre la muestra 3 y la muestra 4.



En la Gráfica 5 se hace una comparación entre las muestras con mayor velocidad de crecimiento cultivadas con microalga adaptada (muestra 3) y microalga no adaptada (muestra 4); sin embargo, entre estas dos muestras la que mayor velocidad de crecimiento tiene de acuerdo a la Tabla 24 es la muestra 4.

De acuerdo con los resultados de la experimentación para que las muestras cultivadas con microalga adaptada tengan una mayor velocidad de crecimiento se debe inocular un porcentaje del 30% de MA; mientras que, en las muestras cultivadas con microalga no adaptada se obtiene una mayor velocidad de crecimiento si se trabaja con un porcentaje del 10% de MNA, en volumen.

4.4 CUARTA ETAPA

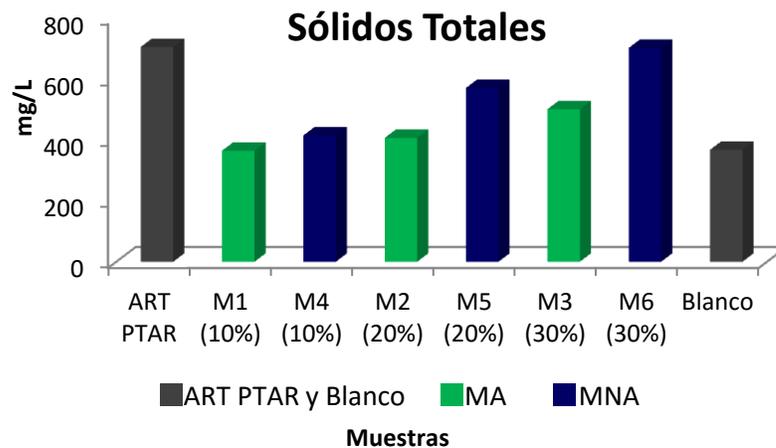
En esta sección se analizan los resultados obtenidos de los parámetros fisicoquímicos del agua residual tratada luego del biotratamiento, haciendo énfasis en los SST y en la DQO con los que se determina el porcentaje de remoción de materia orgánica en la PTAR El Salitre; analizando también cuál es la incidencia

de la microalga respecto a los demás parámetros.

4.4.1 Sólidos totales (ST). En la Gráfica 6 se puede observar que las muestras cultivadas con microalga adaptada tuvieron mejores resultados que las cultivadas con microalga no adaptada, esto puede ser consecuencia de que al inocular la microalga adaptada su fase de adaptación es más corta, lo que genera posiblemente un consumo más rápido de los nutrientes presentes en el ART, haciendo que tarde menos en entrar en su fase de crecimiento como se puede ver en la gráfica 4 en comparación con la microalga no adaptada que se muestra en la gráfica 5.

De acuerdo con los datos de la Tabla 13 se obtiene la gráfica 6.

Gráfica 6. Determinación de los Sólidos Totales.



Aunque la muestra 4 presentó una mayor velocidad de crecimiento como se ve en la Tabla 24, no obtuvo los mejores resultados con respecto a los sólidos totales como se ve en la Gráfica 6, siendo la muestra 1 la que registro menos sólidos totales sin importar que fuera una de las muestras que menor velocidad de crecimiento tuvo ($0,063 \text{ h}^{-1}$).

Como se ve en la Gráfica 6 la microalga tiene una incidencia en éste parámetro, los sólidos totales secados entre 103°C y 105°C son la suma de la materia disuelta y la materia no disuelta (sólidos en suspensión)⁵¹, por lo cual la reducción en este parámetro puede atribuirse a la presencia tanto de materia orgánica que requiere la microalga para su crecimiento, como de materia inorgánica la cual por medio de la fotosíntesis que realiza la microalga *Chlorella vulgaris* a partir de unas estructuras llamadas cloroplastos es transformada en materia orgánica para

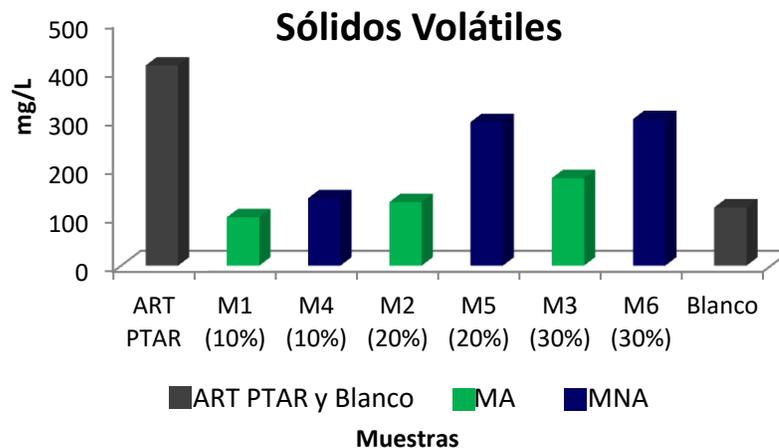
⁵¹ Sólidos Totales Secados a $103-105^{\circ}\text{C}$. (2007). Carpio, T. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales.

favorecer su crecimiento.⁵²

4.4.2 Sólidos volátiles (SV). Al igual que en el parámetro anterior las muestras cultivadas con microalga adaptada tuvieron mejores resultados con respecto a las muestras cultivadas con microalga no adaptada, los sólidos volátiles hacen referencia a la fracción orgánica de los sólidos totales.⁵³

Según los datos de la Tabla 14 se obtiene la gráfica 7.

Grafica 7. Determinación de los Sólidos Volátiles.



En la Gráfica 7 se evidencia que las muestras que mejores resultados presentaron en la disminución de los sólidos volátiles fueron la 1 y la 2 a pesar de que tuvieron las menores velocidades de crecimiento, $0,063 \text{ h}^{-1}$ y $0,032 \text{ h}^{-1}$ respectivamente; sin embargo, se evidencia que el blanco analítico también genera una reducción significativa de sólidos volátiles con respecto al agua residual tratada por la PTAR El Salitre, debido a que al inyectar aire como agitación el oxígeno presente en éste realiza un proceso de digestión aerobia, en donde éste sumado a las bacterias, demás microorganismos y materia orgánica presentes en el ART realizan un tratamiento biológico.⁵⁴ Sin embargo, se puede ver que la muestra 1 logra una mayor reducción de este parámetro en comparación al blanco analítico debido a que la microalga inoculada en la muestra 1 potencializa la acción de las bacterias presentes en el ART.

4.4.3 Sólidos suspendidos volátiles (SSV). En la Gráfica 8 se ilustra cómo las muestras cultivadas con microalga adaptada tienen mejores resultados en los sólidos suspendidos volátiles comparados con las muestras cultivadas con

⁵² ABALDE. Op.cit., p. 82

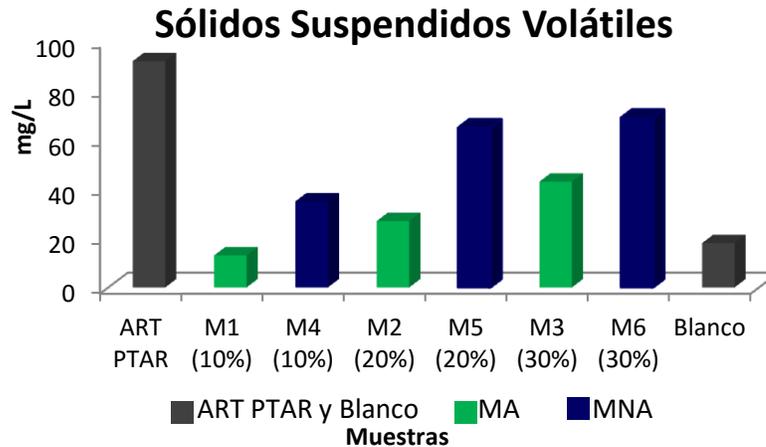
⁵³ Tratamiento de Aguas Residuales. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. Guerrero, J. (1996).

⁵⁴ Peralta, J. Varea, L. Digestión Aerobia. Diseño De Procesos en Ingeniería Ambiental. Pag 8.

microalga no adaptada.

De acuerdo con los datos de la Tabla 16 se obtiene la gráfica 8.

Gráfica 8. Determinación de los Sólidos Suspendidos Volátiles.



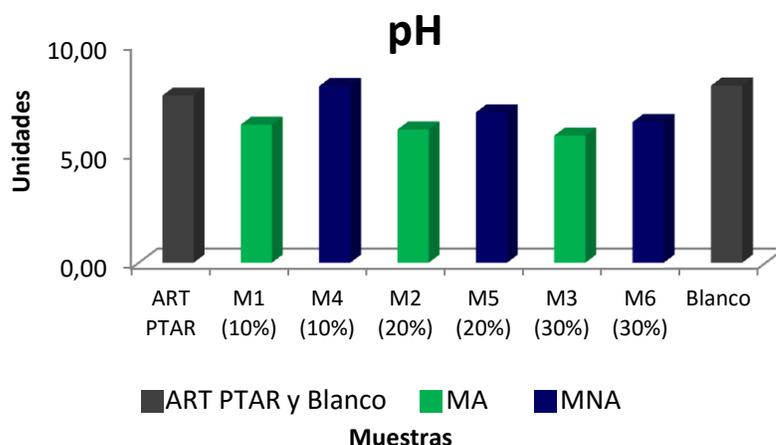
Con respecto a la velocidad de crecimiento que se muestra en la Tabla 24 se puede observar que la muestra 1 y la muestra 2 son las que menor velocidad de crecimiento tienen; sin embargo, son las que presentan los mejores resultados junto con el blanco analítico en cuanto al análisis de sólidos suspendidos volátiles.

4.4.4 pH. Como se puede observar en la Gráfica 9 el valor de pH más alto (8,06 unidades) se presenta en la muestra 4 y en el blanco analítico (8,08) siendo valores que se aproximan a las unidades de pH óptimas para el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* (8,2-8,7 unidades)⁵⁵, lo cual explica porque la muestra 4 presenta la velocidad de crecimiento mas alta (0,093 h⁻¹).

Según los datos de la Tabla 17 se obtiene la gráfica 9.

⁵⁵ Malgas. Aplicaciones de las Microalgas: Estado de la técnica. (2013). p.11

Gráfica 9. Resultados del pH.



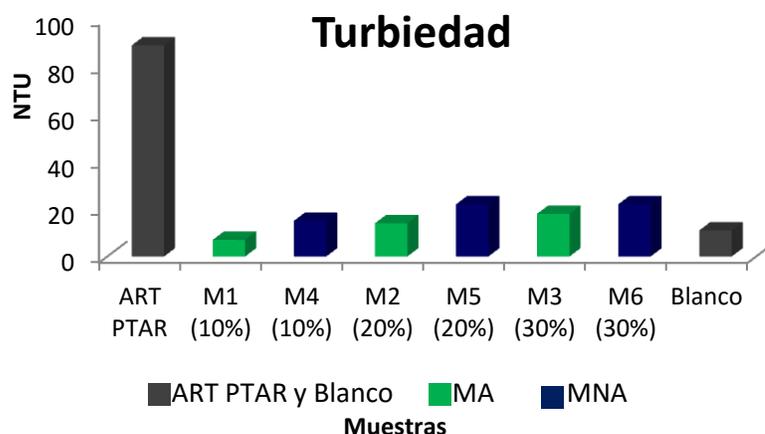
Partiendo de que el pH de la muestra suministrada por la PTAR El Salitre con la que se realizó la experimentación presentaba un pH de 7,63 unidades, se puede observar en la Gráfica 9 que las muestras en donde hubo una disminución en el pH no tuvieron un crecimiento considerable, un descenso en el pH puede ser letal para el crecimiento de la microalga mientras que los aumentos en el pH suelen resistirlos; el rango de pH donde las microalgas crecen es de 7 a 9 unidades.⁵⁶

4.4.5 Turbidez. En la Gráfica 10 se evidencia la importancia de la luz en el crecimiento celular, si la turbidez del agua es alta habría muchas partículas suspendidas en ella. Estas partículas sólidas bloquearían la luz solar y evitarían que las microalgas obtengan la luz que necesitan para realizar la fotosíntesis.

De acuerdo con los datos de la Tabla 18 se obtiene la gráfica 10.

⁵⁶ *Ibíd.*, p.11

Gráfica 10. Determinación de la Turbiedad.



Razón por la cual como se puede ver en la Gráfica 10 la muestra cultivada con un porcentaje del 10% de MA, en volumen, (muestra 1) y el blanco analítico, dieron como resultado una turbidez menor que las demás, como consecuencia de que al estar más diluidas la absorción de luz solar será mayor y por ende su crecimiento celular.

4.4.6 Alcalinidad. La alcalinidad desempeña un rol principal en el crecimiento de las microalgas sirviendo como una fuente de reserva para la fotosíntesis⁵⁷, en cultivos de *Chlorella vulgaris* se ha observado que la alcalinidad del medio de cultivo puede inducir en la formación de agregados celulares, mostrando un incremento en la reproducción celular y tasa de respiración.⁵⁸

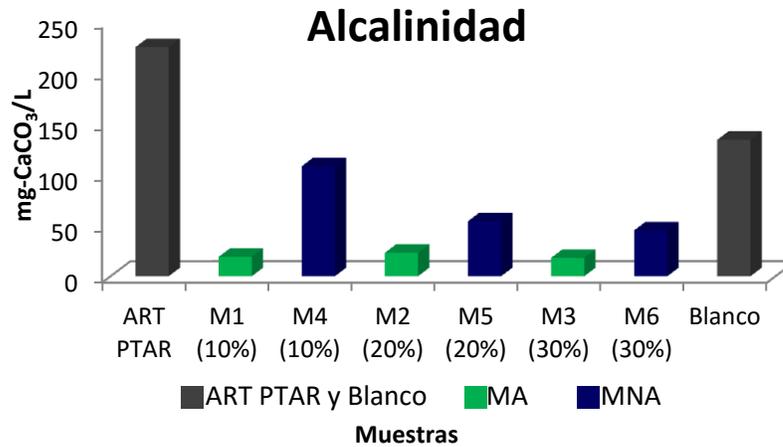
Según los datos de la Tabla 20 se obtiene la gráfica 11.

⁵⁷ Parametros Fisicoquimicos: Alcalinidad. [en línea] <

<http://www.uprm.edu/biology/profs/massol/manual/p2-alcalinidad.pdf>> Revisado en octubre de 2016.

⁵⁸ Monroy, C. Cultivo de *Chlorella vulgaris* en Medio Basal Bold Modificado en Condiciones de Luminocidad Baja y Caracterización de Extracto Líquido de Lombricomposta Como Sustituto de Medio de Cultivo. Universidad Veracruzana Facultad de Biología. p.11. (2014).

Gráfica 11. Determinación de la Alcalinidad.



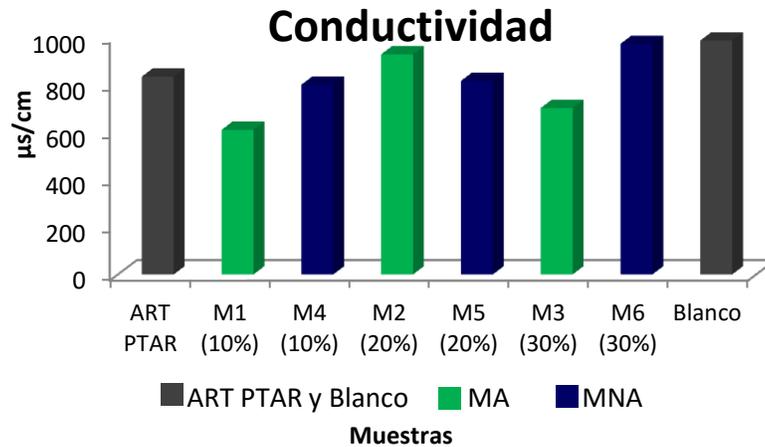
Las muestras 1, 2 y 3 entran en su fase de crecimiento desde el día de su inoculación por estar adaptadas al ART como se muestra en la Gráfica 3; razón por la cual probablemente hay un mayor consumo de nutrientes y de la reserva fotosintética que es directamente proporcional a la alcalinidad del medio, comparadas con las muestras cultivadas con microalga no adaptada, las cuales entran en su fase de crecimiento al 3 día después de su inoculación (M4, M5 y M6) como se muestra en la gráfica 4, lo cual explica la notable diferencia en la alcalinidad entre el cultivo con microalga adaptada y no adaptada como se puede observar en la Gráfica 11.

Con respecto a la alcalinidad reportada por el blanco analítico se puede analizar que ésta es significativamente mayor, posiblemente porque al no haber presencia de microalga el consumo de nutrientes y de la reserva fotosintética por parte de las bacterias y demás microorganismos presentes en el ART puede ser menor. Como se ha venido observando en los demás parámetros, la presencia de la microalga *Chlorella vulgaris* potencializa la acción de las bacterias logrando una mayor reducción de los parámetros.

4.4.7 Conductividad. En la Gráfica 12 se ilustra cómo las muestras cultivadas con microalga adaptada (muestra 1 y muestra 3) tienen mejores resultados en la conductividad comparados con las muestras cultivadas con microalga no adaptada.

De acuerdo con los datos de la Tabla 21 se obtiene la gráfica 12.

Grafica 12. Determinación de la Conductividad.



Con respecto a la velocidad de crecimiento que se muestra en la Tabla 24 se puede observar que la muestra 1 es una de las que menor velocidad de crecimiento tiene ($0,063 \text{ h}^{-1}$), sin embargo, tiene los mejores resultados en la disminución de la conductividad ($609 \text{ } \mu\text{s/cm}$) con relación a la muestra suministrada de ART por la PTAR El Salitre.

Como se observa en la Gráfica 12 el blanco analítico para éste análisis aumentó la conductividad con respecto al ART por la PTAR El Salitre, posiblemente porque al no haber presencia de microalga la reducción en las sales disueltas o sólidos disueltos fue menor con respecto a las demás muestras; la conductividad refleja la capacidad del agua para conducir corriente eléctrica, y está directamente relacionada con la concentración de sales disueltas en el agua; Cualquier cambio en la cantidad de sustancias disueltas, en la movilidad de los iones disueltos y en su valencia, implica un cambio en la conductividad. Por esta razón, el valor de la conductividad se usa mucho en análisis de agua para obtener un estimativo rápido del contenido de sólidos disueltos. debido a que la conductividad esta relacionada con los sólidos disueltos totales.⁵⁹

4.4.10 Remoción de materia orgánica a partir de SST y DQO. La DQO es la cantidad de oxígeno que requiere el agua para descomponer toda la materia orgánica e inorgánica que ésta contiene⁶⁰; se puede observar en la Gráfica 13 que la muestra 1 cultivada con 10% en volumen de microalga adaptada tuvo una DQO de 73 g/L-O_2 que aplicando la ecuación 8 corresponde a un porcentaje de remoción de materia orgánica de 81,8% siendo la más efectiva, sin importar que su velocidad de crecimiento no fue tan alta ($0,063 \text{ h}^{-1}$) con respecto a las demás

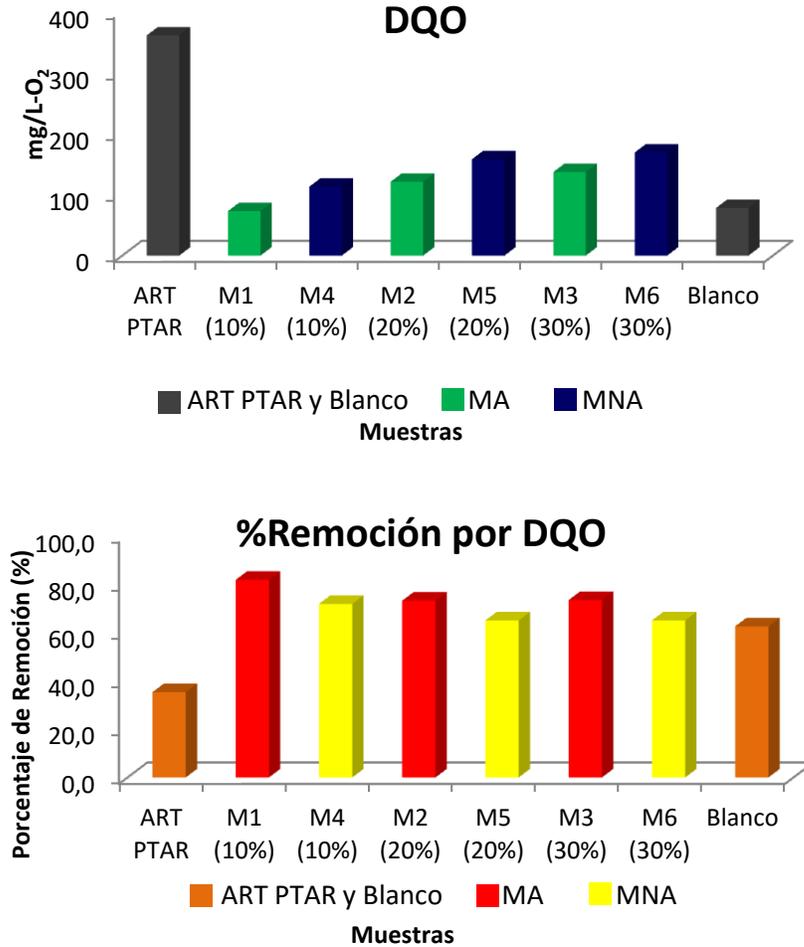
⁵⁹ SMART. La Conductividad Eléctrica del Agua. [en línea] < <http://www.smart-fertilizer.com/es/articulos/electrical-conductivity>>. Revisado el 20 de Octubre de 2016.

⁶⁰ American Public Health Assosiation. Op.cit., p. 5-16

muestras como se ve en la Tabla 24.

De acuerdo con la Tabla 19 y 23 se obtiene la gráfica 13.

Gráfica 13. Determinación y remoción de la DQO después del biotratamiento.



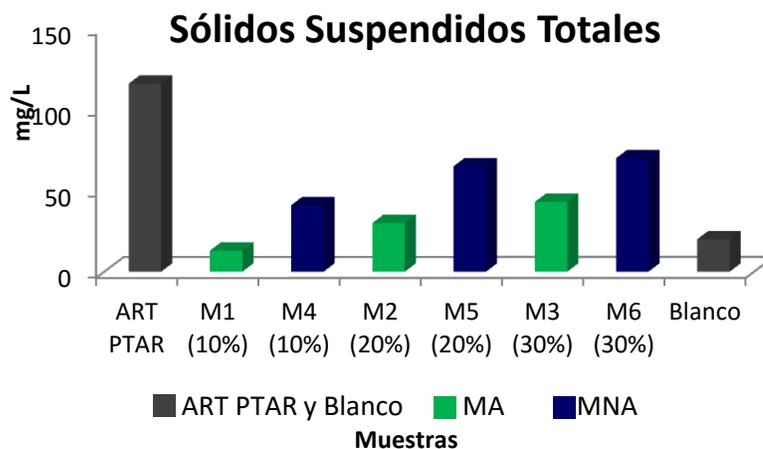
El blanco analítico registró una DQO de 78 g/L-O₂ debido a que las bacterias presentes en el ART realizan una disminución en este parámetro; pero al momento de realizar el cálculo de la remoción de materia orgánica fue el menos efectivo con relación a las demás muestras aplicando la ecuación 8, posiblemente porque el blanco analítico contenía solamente las bacterias y demás microorganismos presentes en el ART, debido a que la mayoría de los compuestos orgánicos pueden servir de alimento para las bacterias y otros microorganismos, que obtienen la energía necesaria para sus funciones vitales y para la síntesis celular a

partir de la oxidación de la materia orgánica⁶¹; estos fueron los encargados de realizar la disminución de la DQO, mientras que las demás muestras contenían bacterias y demás microorganismos sumados a la microalga *Chlorella vulgaris* que potencializa la acción de las bacterias, lo que da como resultado una mayor remoción de la materia orgánica biodegradable gracias a una mayor presencia de microorganismos que consumieran ésta.

Con la utilización de microalga adaptada se obtiene un porcentaje de remoción de materia orgánica entre 73,19% y 81,80%, mientras que las muestras cultivadas con microalga no adaptada se registraron valores entre 64,99% y 71,83%; comparables con el artículo “Cultivation of Green Algae *Chlorella* sp. In Different Wastewaters from Municipal Wastewater Treatment Plant” realizado por Wang (2009). En conclusión, con el proceso de Biorremediación se logra una remoción considerable de materia orgánica con cada una de las muestras en relación a la obtenida por la PTAR El Salitre, sirviendo como un tratamiento complementario.

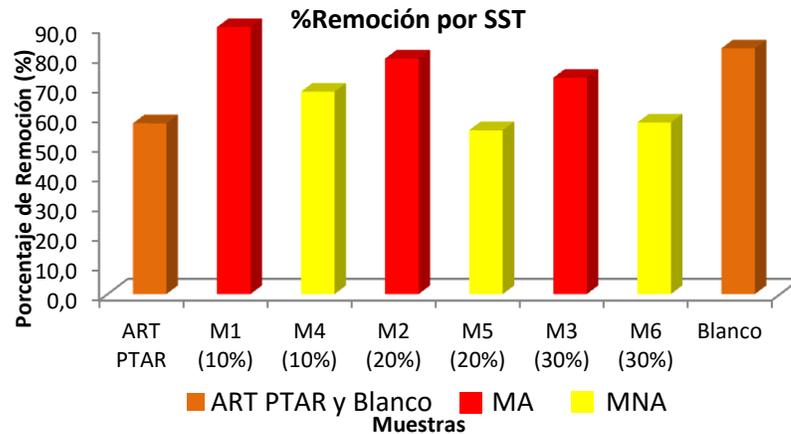
De acuerdo con las Tablas 15 y 23 se obtiene la gráfica 14.

Gráfica 14. Determinación y remoción de los SST después del biotratamiento.



⁶¹ Depuración biológica de las Aguas Residuales Urbanas. Visto en: <http://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/5909/08Mjkm08de18.pdf?sequence>, el 22 de febrero de 2017

Gráfica 14. (Continuación)



Estos sólidos hacen referencia al material particulado que se mantiene en suspensión en las corrientes de agua superficial y/o residual, pueden contener tanto materia orgánica como materia inorgánica; como se puede ver en la Gráfica 14 las muestras cultivadas con microalga adaptada obtuvieron mejores resultados con respecto a la cantidad de sólidos suspendidos totales en comparación con los cultivos de microalga no adaptada, consecuencia de que las muestras cultivadas con microalga adaptada entraban en su fase de crecimiento en un tiempo menor y por ende, probablemente consumían más rápido la materia orgánica presente en el ART.

Con respecto al porcentaje de remoción de materia orgánica se evidencia en la Gráfica 14 que la muestra 1 junto con el blanco analítico tuvieron una mayor remoción; siendo la muestra 1 la más efectiva debido a que tenía un porcentaje menor de microalga adaptada (10%), lo cual posiblemente favorece la captación de luz por su baja turbidez y así mismo su proceso de fotosíntesis, realizando el proceso de Biorremediación sin importar que no tuviera la mayor velocidad de crecimiento como se muestra en la Tabla 24.

En conclusión, con el proceso de Biorremediación se logra una remoción considerable de materia orgánica con cada una de las muestras, incluyendo el blanco analítico, en relación a la obtenida por la PTAR El Salitre, sirviendo como un tratamiento complementario.

Tabla 25. Resumen de los mejores resultados de la experimentación.

Parámetro	Resultados		
	ART PTAR	Muestra 1	Blanco
Sólidos Totales (mg/L)	704	364	367
Sólidos Volátiles (mg/L)	410	99	119
Sólidos Suspendidos Volátiles (mg/L)	92	13	18
pH (unidades)	7,63	6,3	8,08
Turbiedad (NTU)	89	7	11
Alcalinidad (mg-CaCO ₃ /L)	225	19	134
Conductividad (µs/cm)	833	609	985
Sólidos Suspendidos Totales (mg/L)	116	13	20
Demanda Química de Oxígeno (mg/L-O ₂)	361	73	78
% remoción de materia orgánica por SST	57,5	89,9	82,9
% remoción de materia orgánica por DQO	35,3	81,8	62,5

En la Tabla 25 se muestra un resumen de los resultados de los parámetros fisicoquímicos en donde se puede comparar la muestra que mejores resultados reportó, que fue la muestra 1, el blanco analítico y la caracterización del agua residual tratada por la PTAR El Salitre con la que se inició el trabajo.

5. CONCLUSIONES

- Se demostró que a condiciones de temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, agitación durante 12 horas diarias por medio de bombas y una intensidad lumínica de acuerdo con los niveles de radiación solar en los meses de Junio y Julio en el año 2016, la microalga *Chlorella vulgaris* se adaptó al medio de cultivo fertilizante agrícola foliar Foliagro. Obteniendo la cantidad de microalga necesaria para el escalamiento y poder desarrollar el trabajo.
- Por medio de los resultados obtenidos en el análisis de los demás parámetros fisicoquímicos (ST, SV, SSV, pH, Turbiedad, Alcalinidad y Conductividad) después del biotratamiento, se evidenció que las muestras cultivadas con microalga adaptada y con microalga no adaptada al ART tuvieron un efecto con relación a los valores obtenidos en la caracterización de éstos parámetros realizada por la PTAR El Salitre; donde las muestras cultivadas con microalga adaptada presentaron mejores resultados. Se encontró que no existe una relación directa entre la velocidad de crecimiento con respecto a la remoción de materia orgánica y a la reducción de los demás parámetros fisicoquímicos; la muestra 1 obtuvo mejores resultados en los análisis realizados después del biotratamiento como se puede observar en la Tabla 25.
- El blanco analítico reportó resultados muy similares a los de la muestra 1, al utilizar inyección de aire como fuente de agitación, el oxígeno presente en éste realiza un tratamiento biológico, lo cual no justificaría el uso de la microalga para la remoción de materia orgánica a escala de laboratorio; sin embargo, a nivel industrial la inyección de oxígeno no es rentable, mientras que el biotratamiento con la microalga *Chlorella vulgaris* podría ser viable de acuerdo a los resultados obtenidos en la experimentación, debido a que se obtendría la agitación por medio del flujo continuo del agua.
- Se determinó que la mayor remoción de materia orgánica se logró en condiciones de cultivo con microalga adaptada en un porcentaje de volumen de microalga del 10% que corresponde a la muestra 1 de la experimentación, manteniendo las condiciones para un adecuado crecimiento (agitación, temperatura e intensidad lumínica) dentro de sus rangos; logrando un porcentaje de remoción de materia orgánica por DQO y por SST de 81,8% y 89,91% respectivamente. Siendo mayores a la remoción lograda por la PTAR El Salitre que fue de 35,3% por DQO y 57,51% por SST.

6. RECOMENDACIONES

- Desarrollar la experimentación con porcentajes de microalga *Chlorella vulgaris* menores a los utilizados, los cuales podrían ser 5%, 7% y 9% en volumen de microalga; para conocer que resultados se obtendrían si se cultiva la microalga con estos porcentajes en volumen y a las mismas condiciones de crecimiento (temperatura, agitación y fotoperiodo).
- Utilizar un sistema de agitación diferente a la inyección de aire, como los agitadores magnéticos, con el fin de comprobar que la remoción de materia orgánica se produce mayoritariamente por el biotratamiento con la microalga *Chlorella vulgaris* y no por otros tratamientos biológicos como la digestión aerobia.
- Utilizar la biomasa microalgal que se obtiene como sedimento luego de la centrifugación en el desarrollo de otro tipo de investigación o como producto comercial.

BIBLIOGRAFÍA

ABALDE, Julio. Concepción, Microalgas: Cultivo y Aplicaciones. Coruña: Universidad de la Coruña 1995 p. 21.

ACOSTA, E. Evaluación de la remoción de nutrientes de aguas de porqueriza mediante el uso de microalgas. Universidad Nacional de Colombia. 2004.

ACUEDUCTO, AGUA Y ALCANTARILLADO DE BOGOTÁ. Planta de tratamiento de aguas residuales PTAR El Salitre. Bogotá. {en línea} {16 de agosto de 2016} Disponible en (<http://www.acueducto.com.co/>).

American Public Health Assosiation, American Water Works Assosiation, Water Enviroment Federeation. Estándar Methods for the examination of wáter ans wastewater. 22ND edition 2012. p. 2-12 – 5-16

ANGEL, C; PIMENTA, W. Evaluación de la insidencia del nitrógeno en el medio de cultivo bold basal para la producción de biomasa de la microalga *Chlorella vulgaris* en un fotobioreactor, para la obtención de acidos grasos. Fundación Universidad de América. 2012. p. 64.

ARREDONDO, B; VOLTOLINA, D. Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Centro de Investigaciones biológicas del noroeste. 2007. p. 27.

BASHAN, Y. Bacterias promotoras de crecimiento de microalgas: Una nueva aproximación en el trataiento de aguas residuales. Revista Colombiana de Biotecnología. Volumen V. No. 2. Diciembre del 2003.

BASTIDAS, O. Conteo celular con cámara de Neubauer. Celeromics. {en línea} Disponible en (www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/Conteo-Camara-Neubauer.pdf) Revisado en agosto 2016.

CARPIO, T. Turbiedad por nefelimetría (método B). Instituto de Hidrología, meteorología y estudios ambientales (IDEAM). 2007.

CARPIO, T. Sólidos toteles secados a 103-105°C. Instituto de Hidrología, meteorología y estudios ambientales (IDEAM). 2007.

CHACON, C; ANDRADE, C; CARDENAS, C ARAUJO, I; MORALES, E. Uso de *Chlorella sp* y *scenedesmus sp* en la remoción de nitrógeno, fosforo y DQO de aguas residuales urbanas de Maracaibo, Venezuela. Universidad de Zulia-Maracaibo.

COSQUETE, A; CHOEZ, I. Contaminación hídrica por aguas residuales. 31 de

mayo de 2014.

DPTO. INMUNOLOGÍA, MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA. Cámara de contaje Neubauer improved. Universidad del país vasco. {en línea} Disponible en (http://insilico.ehu.es/camara_contaje/neubauer_improved.php) Revisado en agosto 2016.

ECURED. *Chlorella vulgaris*. {en línea} {15 de abril de 2016} Disponible en (http://www.ecured.cu/Chlorella_Vulgaris).

GARBISU, C; AMEZAGA, I; ALKORTA, I. Biorremediación y ecología. En: Revista científica y técnica de ecología y medio ambiente. 2003.

GOMEZ, L. Microalgas: aspectos ecológicos y biotecnológicos. Universidad de Oriente. v. XIX. 2007.

GONZALES, L. Influencia de la deficiencia de nitrógeno y fosforo en las interacciones competitivas entre *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus*. Universidad Nacional de Colombia. 2010.

GUERRERO, J. Tratamiento de aguas residuales. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. 1996.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS Y CERTIFICACIÓN. Documentación, presentación de tesis, trabajos de grado y otros trabajos de investigación. NTC 1486. Sexta actualización. Bogotá D.C.: El Instituto, 2008. 110 p.

_____. Referencias bibliográficas, contenido, forma y estructura. NTC 5613. Bogotá D.C.: El instituto, 2008. 38 p.

_____. Referencias documentales, para fuentes de informaciones electrónicas. NTC 4490. Bogotá D.C.: El instituto, 2008. 30 p.

LENNTECH. Centrifugación y centrifugadores. {en línea} Disponible en (<http://www.lenntech.es/centrifugacion.htm>). Revisado en septiembre 2016.

MALGAS. Aplicaciones de las microalgas: Estado de la técnica. 2013.

METCALF & Eddy. Ingeniería de Aguas Residuales. (2003).

MONROY, C. Cultivo de *Chlorella vulgaris* en medio bold basal modificado en condiciones de luminosidad baja y caracterización de extracto líquido de lombricomposta como sustituto de medio de cultivo. Universidad Veracruzana

Faculta de Biologia. 2014. p. 11.

MORONTA, R; MORA, R; MORALES, E. Respuesta de la microalga *Chlorella sorokiniana* al pH, salinidad y temperatura en condiciones axenicas y no axenicas. Caracas. Rev. Fac. Agron. V. 23. n.1. 2006.

OLARTE, E; VALENCIA, M. Evaluación del uso de la microalga *Chlorella vulgaris* en el tratamiento de aguas industriales (Vinazas). Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. 2016.

Parametros Fisicoquimicos: Alcalinidad. {en línea} Disponible en (<http://www.uprm.edu/biology/profs/massol/manual/p2-alcalinidad.pdf>) Revisado en octubre de 2016.

PEARSALL. W; LOOSE, L. The Growth of *Chlorella vulgaris* impure cultura. Londres. 1936. p. 41.

PERALTA, J; VAREA, L. Digestión aerobia. Diseño de procesos en ingeniería ambiental. p. 8.

RAMALHO, R. Tratamiento de aguas residuales. Mayo del 2003. p. 10-14.

ROMERO, J. Calidad del Agua. Colombia. Editorial Colombiana de Ingeniería. Segunda Edición. 2005. p. 107-119

ROMERO, J. Tratamiento de aguas residuales: Teoria y principios de diseño. Guatemala: Universidad de San Carlos 2004.

SMART. La conductividad eléctrica del agua. {en línea} Disponible en (<http://www.smart-fertilizer.com/es/articles/electrical-conductivity>). Revisado el 20 de Octubre del 2016.

VELASCO, L; BARROS, J; OSPINA, G; TRUJILLO, C. Efecto de la intensidad lumínica, temperarura y salinidad sobre el crecimenton de la microalga *Isochrysis galbana*. Revista intropica Colombia. 2009.

VELASQUEZ, M. Botánica vegetales inferiores. 1981.

WANG, L. Cultivation of Green Algae *Chlorella* in Different Wastewater for Municipal Wastewater treatment plant. University of Minnesota, Nanchang University. 2009.

ANEXOS

ANEXO A

CERTIFICADO DE ANÁLISIS DEL CLORURO DE SODIO UTILIZADO COMO PATRÓN EN LOS ST



Right from
the Start.

J. T. Baker
Una División de Mallin
Plomo No. 2, Fracc. in
Xalostoc, 55320 Ecatepec
Tel. 5569-1100 Fax
Lada 01-800-70-01800

CERTIFICADO DE ANALISIS

No. de Producto: 3624

No. de Lote: X36C54

Producto: CLORURO DE SODIO CRISTAL RA

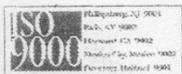
Fecha: NOVIEMBRE 8, 2002

PRUEBAS

RESULTADOS

Ensayo (NaCl)	99.7 %
Materia Insoluble	<0.005 %
pH de Solución al 5% a 25°C	7.6
Yoduro (I)	0.002 %
Bromuro (Br)	0.01 %
Clorato y Nitrato (como NO ₃)	<0.001 %
Sulfato (SO ₄)	<0.003 %
Bario (Ba)	Pasa Prueba
Calcio (Ca)	0.002 %
Potasio (K)	0.005 %
Magnesio (Mg)	0.001 %
Compuestos Nitrogenados (como N)	5 ppm
Trazas de Impurezas (en ppm):	
Fosfato (PO ₄)	<5
Metales Pesados (como Pb)	<2
Hierro (Fe)	<1

Por este medio se certifica que los resultados arriba indicados son copia fiel del informe de análisis del lote indicado.



J.M.D.

Ing. Jorge M. del Campo
Gte. De Aseguramiento de

Calidad

ANEXO B

CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE KAOLIN COMO PATRÓN EN LOS SST

FROM : LABORATORIOS WAC

PHONE NO. : 912011066

Feb. 12 2004 10:52AM P01

Página 1 de 1

Identidad principal

De: "Roberto Guevara" <rguevara@mallkmex.com.mx>
Para: "Laboratorios Wacol Ltda" <lw@wacol.com.co>
Enviado: Miércoles, 11 de Febrero de 2004 04:36 p.m.
Asunto: Certificate of Analysis 2242-Y02624 (B)



Certificate of Analysis
Kaolin, Powder
U.S.P. - F.C.C.

Product No. 2242

Lot No. Y02624

Release Date
01/21/2003

Formula

F.W.

TEST

SPECIFICATION

RESULT

Meets U.S.P. & F.C.C. Requirements
Identification
Loss on Ignition
Acid-Soluble Substances
Carbonate (CO3)
Iron (Fe)
Heavy Metals (as Pb)
Lead (Pb)
Arsenic (As)
Sulfide (S)
Particulate Matter

Passes Test
15.0 % max.
2.0 % max.
Passes Test
Passes Test
0.004 % max.
10 ppm max.
3 ppm max.
Passes Test
Passes Test

Passes Test
2.2 %
1.6 %
Passes Test
Passes Test
0.0004 %
2 ppm
0.3 ppm
Passes Test
Passes Test

Microbial Limits:

Escherichia Coli
Organic Volatile Impurities (1)

Passes Test

Passes Test

Conforms to USP/NF Conforms to USP/NF

(1) The manufacturer has assurance, based on knowledge of the manufacturing process and controlled handling, shipping, and storage of the material, that there is no potential for organic volatile impurities to be present as described in the current U.S.P. In this case "unnecessary testing may be avoided".



Phillipsburg, NJ 08865
Phone: 908-859-2151
Fax: 908-859-6905

Marcy M. Matlack
Director of QA & Regulatory Affairs

J.T. Baker - A Division of Mallinckrodt, Inc. - 222 Red School Lane
Phone: 908-859-2151 - Fax: 908-859-6905

Phillipsburg, NJ 08865 -

Anexo C

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DEL EQUIPO UTILIZADO PARA EL ANÁLISIS DE Ph



Certificate of Analysis

Certipur® Certified Reference Material

Producer:	Merck KGaA, Frankfurter Str. 250, 64293 Darmstadt, Germany.
Accreditation:	Merck KGaA is accredited as calibration laboratory according to DIN EN ISO/IEC 17025.
Description of CRM:	Buffer solution Set 2 (25°C) pH 4.01, pH 7.00, pH 10.00 Certified Reference Material for measurement of pH value
Ord. No.:	1.99006.0001
Lot No.:	HC54519006 (HC54519201, HC54519102, HC54520304)
Composition:	pH 4.01: potassium hydrogenphthalate pH 7.00: potassium dihydrogenphosphate/disodium hydrogenphosphate pH 10.00: boric acid / potassium chloride / sodium hydroxide
Certified value and uncertainty:	pH value 4.01 ± 0.01 (25°C) pH value 7.00 ± 0.01 (25°C) pH value 10.00 ± 0.02 (25°C) pH value with expanded measurement uncertainty The expanded measurement uncertainty U is calculated as $U = k \cdot U_{\text{characterisation}}$, where $k = 2$ is the coverage factor for a 95% coverage probability and $U_{\text{characterisation}}$ is the combined measurement uncertainty in accordance to DIN EN ISO/IEC 17025.
Method of Analysis:	pH value is measured with a combined glass electrode after 5-point calibration according to DIN 19268 with reference buffer solutions prepared according to DIN 19266.
Traceability:	This certified buffer solution is directly traceable to Merck's primary certified reference materials (characterised by PTB) and SRM's from NIST. NIST 189c, 188, 185i8, 186lg, 186llg, 187e PTB OX-179/10, TA-212/11, PHT-232/12, PHOA-243/12, BO-244/12 PTB: Physikalisch Technische Bundesanstalt, Braunschweig, Germany NIST: National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, USA.
Preparation:	These reference materials are prepared gravimetrically from potassium hydrogenphthalate, potassium dihydrogenphosphate, disodium hydrogenphosphate, boric acid, potassium chloride, sodium hydroxide and high purity water.
Storage:	Store at +15°C to +25°C tightly closed in the original container.
Date of release:	2015/01/19
Minimum shelf life:	2017/01/31

A. Yildirim

Dipl.-Ing. Ayfer Yildirim
(Laboratory manager)

Merck KGaA · Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Germany: +49 6151 72-0

EMD Millipore Corp. · 290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA: +1-781-533-6000

ANEXO D

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DEL EQUIPO PARA EL ANÁLISIS DE LA TURBIEDAD

HACH STABLCAL® STABILIZED FORMAZIN STANDARDS*
CERTIFICATE OF COMPLIANCE
StablCal® Calibration Set # 26621-05

TEST PERFORMED: The Standards listed below were measured using a Hach 2100AN Turbidimeter. This instrument was calibrated on fresh formazin standards that are traceable to the Stock Primary Standard Formazin Suspension as specified in Standard Methods, Section 2130 B, part 3b.

	Cat. No.	Value	Variation
Standard #1	26597-01	<0.1 NTU	n/a
Standard #2	26601-01	20 NTU	+/- 1.0 NTU
Standard #3	26604-01	200 NTU	+/- 10 NTU
Standard #4	26606-01	1000 NTU	+/- 50 NTU
Standard #5	2461-02	4000 NTU	+/- 200 NTU

*StablCal® Stabilized Formazin Standards are cited as primary calibration standards in Hach Method 8195, an acceptable version of USEPA Method 180.1.

Signed: *[Signature]*
on behalf of Hach Company

August 24, 2015
Date

Patent no. 5777011
Hach Cat. No. 26621-87

Anexo E.

CERTIFICADO DE LA SOLUCIÓN A PARA LA DQO



Certificate of Analysis

1.14538.0065 COD solution A for measuring range 4.0 - 40.0; 10 - 150 and 100 - 1500 mg/l; 0.30 ml per determination Spectroquant®

Batch HC411285

Batch Values		
Assay (HgSO ₄)	15.0 - 16.0	%
Assay (H ₂ SO ₄)	14.0 - 14.9	%

Date of release (DD.MM.YYYY) 26.02.2014
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 31.10.2018

Ayfer Yildirim
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.



Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany); +49 6151 72-0
EMD Millipore Corporation - A division of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA, Phone: (978) 715-4321
SALSA 990001030710 / V. 168017 Date: 26.02.2014

Page 1 of 1

Anexo F

CERTIFICADO DE LA SOLUCIÓN B PARA LA DQO



Certificate of Analysis

1.14539.0495 COD solution B for measuring range 100 - 1500 mg/l; 2.30 ml per
determination Spectroquant®
Batch HC41507739

Batch Values

Suitability	conforms
-------------	----------

Date of release (DD.MM.YYYY) 06.03.2014
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 28.02.2017

Dr. Stefan Frey
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.



Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany); +49 6151 72-0
EMD Millipore Corporation - A division of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA, Phone: (978) 715-4321
SALSA 9900C0105584/ V. 172021 Date: 06.03.2014

Page 1 of 1

Anexo G

CERTIFICADO DEL ÁCIDO SULFÚRICO USADO EN EL ANÁLISIS DE ALCALINIDAD



Certificate of Analysis

1.09981.0001 Sulfuric acid for 1000 ml, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0.5 \text{ mol/l}$ (1 N) Titrisol®
Batch HC302779

Concentration after dilution to 1 liter: $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0.5 \text{ mol/l}$

Batch Values	
Amount-of-substance concentration	0.5000 mol/l

The concentration of this solution was determined with volumetric standard Tris(hydroxymethyl)aminomethane (article number 1.02408). The determined titer at 20°C was 1.000 with an expanded measurement uncertainty of ± 0.004 ($k=2$ coverage factor for 95% coverage probability). The certified value is traceable to primary standard NIST SRM 723e (NIST: National Institute of Standards and Technology, USA) by means of volumetric standard Tris(hydroxymethyl)aminomethane, measured in the accredited calibration laboratory of Merck KGaA in accordance to DIN EN ISO/IEC 17025.

Date of release (DD.MM.YYYY) 21.10.2013
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 30.09.2018

Ayfer Yildirim
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.



Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany): +49 6151 72-0
EMD Millipore Corporation - A division of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA, Phone: (978) 715-4321
SALSA 990000066390/ V. 179469 Date: 24.03.2014

Page 1 of 1

Anexo H

CERTIFICADO DEL EQUIPO UTILIZADO PARA EL ANÁLISIS DE LA CONDUCTIVIDAD



Certificate of Analysis

Certipur® Certified Reference Material

Producer: Merck KGaA, Frankfurter Str. 250, 64293 Darmstadt, Germany.

Accreditation: Merck KGaA is accredited as calibration Laboratory according to DIN EN ISO/IEC 17025.

Description of CRM: **Potassium Chloride Solution (nominal 1.41 mS/cm)**
Certified Reference Material for Measurement of Electrolytic Conductivity

Ord. No.: 1.01553.0001

Lot No.: HC42633153

Composition: KCl in H₂O ($c_{\text{KCl}} = 0.01 \text{ mol/l}$)

Certified value and uncertainty: **1.416 mS/cm (25.0°C) ± 0.020 mS/cm (± 1.42%)**
Electrolytic Conductivity with expanded measurement uncertainty
The expanded measurement uncertainty U is calculated as $U = k \cdot u_{\text{characterisation}}$, where $k = 2$ is the coverage factor for a 95% coverage probability and $u_{\text{characterisation}}$ is the combined measurement uncertainty in accordance to DIN EN ISO/IEC 17025.

Method of Analysis: Electrolytic conductivity is measured with a 4-pole-measuring cell (WTW TetraCON 96) using a conductivity meter (WTW LF 3000) and calibrated with Primary Reference Material.

Traceability: This Certified Reference Material is directly traceable to the corresponding Merck-KCl 0.01-264/13 primary reference material (characterized by the PTB) and measured against **NIST SRM® 3193**.
PTB: Physikalisch Technische Bundesanstalt, Braunschweig, Germany
NIST: National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, USA.

Preparation: This reference material is prepared gravimetrically from potassium chloride (Merck item 1.04936) and high purity water (Merck item 1.16754). After preparation the solution was allowed to equilibrate with atmospheric carbon dioxide. The certified value given above is based on this equilibrium condition and the solution should not be degassed before use.

Storage: Store at +2°C to +8°C tightly closed in the original container.

Date of release: 2014/06/12

Minimum shelf life: 2017/06/30

A. Yildirim
Dipl.-Ing. Ayfer Yildirim
(Laboratory manager)

Merck KGaA · Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Germany: +49 6151 72-0
EMD Millipore Corp. · 290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA: +1-781-533-6000

Anexo I

VALORES PROMEDIO DE LOS PARÁMETROS MEDIDOS POR LA PTAR EL SALITRE DEL AGUA CRUDA Y EL AGUA TRATADA

PARÁMETRO	agua cruda	agua tratada	
	valores	PARÁMETRO	valores
Alcalinidad (mg/L)	316	Aceites y Grasas	8
Aluminio total (mg/L)	0,7	Alcalinidad Total (mg/L)	276
Amonio (mg/L)	61	Aluminio total	0,38
Arsenico (mg/L)	0,01	Amonio	57
Bario (mg/L)	0,05	Arsenico Total (mg/L)	0,01
Boro (mg/L)	0,04	Bario	0,03
Cadmio (mg/L)	0,01	Boro	0,05
Calcio (mg/L)	19,66	Cadmio	0,01
Carbamatos (µg/L)	0,03	Calcio	16,74
Cianuro (mg/L)	0,005	Carbamatos (µg/L)	0,0300
Cloruros (mg/L)	67	Cianuro total (mg/L)	0,0050
Cobre (mg/L)	0,02	Cloruros (mg/L)	102
Conductividad (Us/c)	877	Cobre Total (mg/L)	0,02
Cromo total (mg/L)	0,01	Conductividad (uS/cm)	909
Cromo hexavalente	0,005	Cromo Hexavalente (mg/L)	0,001
DBO5 (mg/L)	287	Cromo total	0,010
DQO Total (mg/L)	542	DBO5 (mg/L)	209
Fenoles Totales (mg)	0,24	DQO Total (mg/L)	380
Fósforo total (mg/L)	7,41	Fenoles Totales (mg/L)	0,530
Hierro total (mg/L)	1,1	Fósforo soluble	
Magnesio (mg/L)	2,88	Fósforo total	6,00
Mercurio (mg/L)	0,0005	Hierro	4,79
Niquel (mg/L)	0,01	Magnesio	2,84
Nitratos (mg/L)	0,19	Manganeso	
Nitritos (mg/L)	0,019	Mercurio Total (mg/L)	0,0005
NKT (mg/L)	81	Niquel Total (mg/L)	0,01
pH	7,1	Nitratos	0,08
PCB's totales (µg/L)	0,00002	Nitritos	0,01
Plaguicidas Organoclorados	0,000002	NKT	68
Plaguicidas Organofosforados	0,000003	PCB's totales (µg/L)	0,00
Plata (mg/L)	0,01	pH	7,010
Plomo (mg/L)	0,01	Plaguicidas organoclorados totales (mg/L)	0,00
Potasio (mg/L)	24,79	Plaguicidas organofosforados totales (mg/L)	0,00
Sodio (mg/L)	79,63	Plata	0,01
Solidos Suspendido	185	Plomo Total (mg/L)	0,01
Solidos Suspendido Volátiles	165	Potasio	22,53
Solidos Totales Volátiles	276	Selenio (mg/L)	0,01
Solidos Totales (mg)	577	Sodio	78,91
Selenio (mg/L)	0,01	Solidos suspendidos totales (mg/L)	115
Sulfatos (mg/L)	54	Solidos suspendidos volátiles (mg/L)	100
Turbiedad UNT	100	Solidos Totales (mg/L)	457
Aceites y Grasas	19	Solidos Totales Volátiles (mg/L)	144
Zinc Total	0,18	Sulfatos	36
		Turbiedad UNT	40
		Zinc	0,110

 Fundación Universidad de América	FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA	Código:
	PROCESO: GESTIÓN DE BIBLIOTECA	Versión 0
	Autorización para Publicación en el Repositorio Digital Institucional – Lumieres	Julio - 2016

AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL LUMIERES

Nosotros Julián Camilo Cartagena Arévalo y Brian Orlando Malo Malo en calidad de titulares de la obra *Evaluación del uso de la microalga *Chlorella vulgaris* en la remoción de materia orgánica de las aguas residuales de la PTAR el Salitre a nivel laboratorio*, elaborada en el año 2016, autorizamos al Sistema de Bibliotecas de la Fundación Universidad América para que incluya una copia, indexe y divulgue en el Repositorio Digital Institucional – Lumieres, la obra mencionada con el fin de facilitar los procesos de visibilidad e impacto de la misma, conforme a los derechos patrimoniales que nos corresponden y que incluyen: la reproducción, comunicación pública, distribución al público, transformación, en conformidad con la normalidad vigente sobre derechos de autor y derechos conexos (Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, entre otras).

Al respecto como Autores manifestamos conocer que:

- La autorización es de carácter no exclusiva y limitada, esto implica que la licencia tiene una vigencia, que no es perpetua y que el autor puede publicar o difundir su obra en cualquier otro medio, así como llevar a cabo cualquier tipo de acción sobre el documento.
- La autorización tendrá una vigencia de cinco años a partir del momento de la inclusión de la obra en el repositorio, prorrogable indefinidamente por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales del autor y podrá darse por terminada una vez el autor lo manifieste por escrito a la institución, con la salvedad de que la obra es difundida globalmente y cosechada por diferentes buscadores y/o repositorios en Internet, lo que no garantiza que la obra pueda ser retirada de manera inmediata de otros sistemas de información en los que se haya indexado, diferentes al Repositorio Digital Institucional – Lumieres de la Fundación Universidad América.
- La autorización de publicación comprende el formato original de la obra y todos los demás que se requiera, para su publicación en el repositorio. Igualmente, la autorización permite a la institución el cambio de soporte de la obra con fines de preservación (impreso, electrónico, digital, Internet, intranet, o cualquier otro formato conocido o por conocer).
- La autorización es gratuita y se renuncia a recibir cualquier remuneración por los usos de la obra, de acuerdo con la licencia establecida en esta autorización.
- Al firmar esta autorización, se manifiesta que la obra es original y no existe en ella ninguna violación a los derechos de autor de terceros. En caso de que el trabajo haya sido financiado por terceros, el o los autores asumen la responsabilidad del cumplimiento de los acuerdos establecidos sobre los derechos patrimoniales de la obra.
- Frente a cualquier reclamación por terceros, el o los autores serán los responsables. En ningún caso la responsabilidad será asumida por la Fundación Universidad de América.
- Con la autorización, la Universidad puede difundir la obra en índices, buscadores y otros sistemas de información que favorezcan su visibilidad.

 Fundación Universidad de América	FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA	Código:
	PROCESO: GESTIÓN DE BIBLIOTECA	Versión 0
	Autorización para Publicación en el Repositorio Digital Institucional – Lumieres	Julio - 2016

Conforme a las condiciones anteriormente expuestas, como autores establecemos las siguientes condiciones de uso de nuestra obra de acuerdo con la *licencia Creative Commons* que se señala a continuación:



Atribución- no comercial- sin derivar: permite distribuir, sin fines comerciales, sin obras derivadas, con reconocimiento del autor.



Atribución – no comercial: permite distribuir, crear obras derivadas, sin fines comerciales con reconocimiento del autor. X



Atribución – no comercial – compartir igual: permite distribuir, modificar, crear obras derivadas, sin fines económicos, siempre y cuando las obras derivadas estén licenciadas de la misma forma.

Licencias completas: http://co.creativecommons.org/?page_id=13

Siempre y cuando se haga alusión de alguna parte o nota del trabajo, se debe tener en cuenta la correspondiente citación bibliográfica para darle crédito al trabajo y a sus autores.

De igual forma como autores autorizamos la consulta de los medios físicos del presente trabajo de grado así:

AUTORIZAMOS	SI	NO
La consulta física (sólo en las instalaciones de la Biblioteca) del CD-ROM y/o Impreso	X	
La reproducción por cualquier formato conocido o por conocer para efectos de preservación	X	

Información Confidencial: este Trabajo de Grado contiene información privilegiada, estratégica o secreta o se ha pedido su confidencialidad por parte del tercero, sobre quien se desarrolló la investigación. En caso afirmativo expresamente indicaremos, en carta adjunta, tal situación con el fin de que se respete la restricción de acceso.	SI	NO
		X

Para constancia se firma el presente documento en Bogotá D.C., a los 8 días del mes de Marzo del año 2017.

LOS AUTORES:

Autor 1

Nombres

Julián Camilo

Documento de identificación No

1.014.249.411

Apellidos

Cartagena Arévalo

Firma

Autor 2

Nombres

Brian Orlando

Documento de identificación No

1.070.971.588

Apellidos

Malo Malo

Firma

 Fundación Universidad de América	FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA	Código:
	PROCESO: GESTIÓN DE BIBLIOTECA	Versión 0
	Autorización para Publicación en el Repositorio Digital Institucional – Lumieres	Julio - 2016

Nota: Incluya un apartado (copie y pegue el cuadro anterior), para los datos y la firma de cada uno de los autores de la obra.