

**EVALUACIÓN DE HARINA DE SEMILLA DE MORINGA COMO AGENTE
FLOCULANTE EN LA SEPARACIÓN DE BIOMASA MICROALGAL
CHLORELLA VULGARIS DE SU MEDIO DE CULTIVO**

LAURA NATALIA VALDERRAMA ZORRO

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

**EVALUACIÓN DE HARINA DE SEMILLA DE MORINGA COMO AGENTE
FLOCULANTE EN LA SEPARACIÓN DE BIOMASA MICROALGAL
CHLORELLA VULGARIS DE SU MEDIO DE CULTIVO**

LAURA NATALIA VALDERRAMA ZORRO

**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

Presidente del jurado

Jurado 1

Jurado 2

Bogotá, D.C., noviembre 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

Dedico este trabajo de grado a Dios quien siempre me lleva de su mano para poder superar todos los obstáculos que existan en el camino. A mi familia, especialmente a los que ya no están conmigo y a mi madre Ivon Zorro López quien con tanto amor y comprensión me motiva a perseguir mis sueños. También a todas las personas que me brindaron su amistad y con los que compartí momentos inolvidables a lo largo de mi carrera.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos especiales a:

La empresa de acueducto alcantarillado y aseo de Bogotá y a la planta de tratamiento EL SALITRE por el préstamo de sus instalaciones para el desarrollo de este proyecto.

El coordinador de laboratorio de la planta de tratamiento el salitre Abel Eduardo López Niño, por su colaboración en la parte experimental del proyecto.

Al director de trabajo de grado el ingeniero Juan Andrés Sandoval Herrera por su ayuda, dedicación y aporte de conocimientos para la realización de este proyecto de grado.

A la ingeniera Elizabeth Torres Gámez por su apoyo y colaboración en el desarrollo del proyecto

Al profesor y director del grupo de investigación BIOTECFUA Diego Rubio por su colaboración en el proyecto.

Por ultimo agradecer todas las personas que me colaboraron con la realización del proyecto de grado.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	21
OBJETIVOS	23
1. MARCO TEÓRICO	24
1.1 MICROALGAS	24
1.2 APLICACIONES DE LAS MICROALGAS	24
1.2.1 Alimentos nutricionales	24
1.2.2 Biocombustibles	25
1.2.3 Bioremediación	26
1.2.4 Fertilizantes	27
1.3 CULTIVO DE MICROALGAS	27
1.3.1 Sistemas de cultivo	27
1.3.1.1 Sistemas abiertos	27
1.3.1.2 Sistemas cerrados	27
1.3.2 Parámetros para el cultivo de microalgas	27
1.3.2.1 Luz	28
1.3.2.2 Nutrientes	28
1.3.2.3 pH y CO ₂	28
1.3.2.4 Temperatura	28
1.4 MÉTODOS DE COSECHA	28
1.4.1 Centrifugación	28
1.4.2 Filtración	29
1.4.3 Flotación	29
1.4.4 Electroforesis	29
1.4.5 Floculación	29
1.5 MORINGA OLEÍFERA	31
2. METODOLOGÍA	32
2.1 MATERIALES	32
2.1.1 Medio de cultivo	32
2.1.2 Cepa de trabajo	33
2.1.3 Semilla de Moringa oleífera	33
2.2 EQUIPOS	33
2.3 METODOLOGÍA	35
2.3.1 Acondicionamiento del cultivo <i>Chlorella vulgaris</i>	36
2.3.1.1 Preparación del medio de cultivo	36
2.3.1.2 Esterilización de materiales	36
2.3.2.3 Parámetros del cultivo	36
2.3.1.4 Cultivo inicial	37
2.3.1.5 Escalamiento de cultivo	37

2.3.2 Floculación	38
2.3.2.1 Preparación de la harina de semilla de moringa	39
2.3.2.2 Preparación de floculantes	40
2.3.2.3 Determinación de la concentración adecuada de floculante harina de semilla de moringa	40
2.3.2.4 Determinación del pH adecuado de floculación con harina de semilla de moringa	41
2.3.3 Caracterización	42
2.3.3.1 Conteo celular	42
2.3.3.2 Densidad óptica	44
2.3.4 cálculo de eficiencia	44
2.3.5 Comparación con el método de centrifugación	44
3. RESULTADOS	45
3.1 CULTIVO DE LA MICROALGA <i>CHLORELLA VULGARIS</i>	45
3.1.1 Escalamiento del cultivo	46
3.2 PREPARACIÓN DE LA HARINA DE SEMILLA DE MORINGA	46
3.3 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FLOCULANTE HARINA DE SEMILLA DE MORINGA	48
3.3.1 Test de jarras	48
3.3.2 Conteo celular	51
3.3.3 Densidad óptica	52
3.3.4 Cálculo eficiencia	52
3.4 DETERMINACIÓN DEL pH ADECUADO PARA LA FLOCULACIÓN CON HARINA DE SEMILLA DE MORINGA	53
3.4.1 Ensayo de jarras	53
3.4.2 Conteo celular	55
3.4.3 Densidad óptica	56
3.4.4 cálculo eficiencia	56
3.5 COMPARACIÓN MÉTODO DE CENTRIFUGACIÓN	57
3.5.1 Medida de DO y cálculo de eficiencia	57
4. DISCUSIÓN	58
4.1 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FLOCULANTE HARINA DE SEMILLA DE MORINGA	58
4.1.1 Test de jarras	58
4.1.2 Conteo celular	69
4.1.3 Densidad óptica	60
4.1.4 Eficiencia	60
4.2 DETERMINACIÓN DEL pH ÓPTIMO DE FLOCULACIÓN CON HARINA DE SEMILLA DE MORINGA	62
4.2.1 Test de jarras	62
4.2.2 Conteo celular	62
4.2.3 Densidad óptica	63
4.2.4 Eficiencia	63

5. ANÁLISIS DE COSTOS	65
5.1 COSTOS PROCESO DE FLOCULACIÓN	65
5.2 COMPARACIÓN CON EL MÉTODO DE CENTRIFUGACIÓN	65
6. CONCLUSIONES	67
7. RECOMENDACIONES	68
BIBLIOGRAFIA	69
ANEXOS	72

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1: Contenido de lípidos para algas comerciales con posible uso como materia prima para la producción de biodiesel	26
Tabla 2. Composición fertilizante foliar	32
Tabla 3. Condiciones iniciales test de jarras	40
Tabla 4. Jarras y concentraciones para la determinación de la concentración de floculante HSM	41
Tabla 5. Jarras y pH para la determinación del pH adecuado de floculación	42
Tabla 6. Promedio del número de células y su desviación estándar	51
Tabla 7. Número de células y concentración celular antes y después de la floculación	52
Tabla 8. Valores de DO a las distintas concentraciones de floculante harina de semilla de moringa	53
Tabla 9. Eficiencia de la floculación a las distintas concentraciones de floculante harina de semilla de moringa	53
Tabla 10. DO y eficiencia del floculante $Al_2(SO_4)_3$	53
Tabla 11. Promedio de células y desviaciones a los distintos pHs	55
Tabla 12. Número de células y concentración celular a los distintos pH	56
Tabla 13. Medida de DO a los distintos pH	56
Tabla 14. Eficiencia floculación a distintos pH	56
Tabla 15. Datos de DO para el proceso de centrifugación	57
Tabla 16 Eficiencia proceso de centrifugación	57

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Fertilizante Efe-agro	32
Figura 2. Ceba microalga <i>Chlorella vulgaris</i>	33
Figura 3. Semilla de Moringa Oleífera	33
Figura 4. Molino de martillos	34
Figura 5. Equipo tamizado	34
Figura 6. Cámara de Neubauer	34
Figura 7. Espectrofotómetro	34
Figura 8. Equipo test de jarras	35
Figura 9. pH metro	35
Figura 10. Centrifuga	35
Figura 11. Microoscopio	35
Figura 12. Diagrama proceso acondicionamiento del cultivo de <i>Chlorella Vulgaris</i>	35
Figura 13. Diagrama escalamiento cultivo <i>Chlorella vulgaris</i>	38
Figura 14. Diagrama de proceso de floculación	38
Figura 15. Floculante harina de semilla de moringa	40
Figura 16. Cuadrícula área de 0.0025 mm	43
Figura 17 Dirección conteo de células	43
Figura 18. Fases del crecimiento microalgal	45
Figura 19. Cultivo inicial a los 17 días de ser cultivado	45
Figura 20. Escalamiento y crecimiento de la microalga <i>Chlorella vulgaris</i>	46
Figura 21. Cotiledones de la semilla de moringa	46
Figura 22. Harina de semilla de moringa después del tamizado	47
Figura 23. Primer test de jarras determinación de la concentración	48
Figura 24. Jarra floculante sulfato de aluminio 1 g/L	49
Figura 25. . Desestabilización de partículas y precipitación de flóculos con harina de semilla de moringa	49
Figura 26. Test de jarras determinación del pH	53

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Equipos utilizados.	34
Cuadro 2. Ensayo jarras determinación de la concentración de floculante HSM.	50
Cuadro 3. Ensayo jarras determinación del pH adecuado de floculación con HSM.	54

LISTA DE GRÁFICOS

	pág.
Gráfico 1. Concentración celular vs concentración de floculante harina de semilla de moringa.	59
Gráfico 2. Efecto de la DO a las distintas concentraciones de floculante	60
Gráfico 3. . Eficiencia vs concentraciones de floculante harina de semilla de moringa	61
Gráfico 4. Concentración celular a diferentes pH	62
Gráfico 5. Influencia del pH en la DO	63
Gráfico 6. Eficiencia de la floculación a distintos pH	64

LISTA DE ECUACIONES

	pág.
Ecuación 1. Cálculo de volumen de floculante	41
Ecuación 2. Ecuación concentración celular	44
Ecuación 3. Calculo eficiencia de la floculación	44

LISTA DE ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

Abs. Absorbancia

cel: Células

DO: Densidad óptica

g: Gramos

HSM: Harina de semilla de moringa

L: Litros.

Mg: Miligramos

mL: Mililitros

mm: Milímetros

rpm: Revoluciones por minuto.

LISTA DE ANEXOS

	pág
Anexo A. informe ideam mes de abril	72
Anexo B. Análisis Anova determinación del pH	74

GLOSARIO

AUTOCLAVE: equipo a alta presión que permite esterilizar sustancias o instrumentos en su interior.

BIORREMEDIACIÓN: cualquier proceso que utilice microorganismos, hongos, plantas o las enzimas derivadas de ellos para retornar un medio ambiente alterado por contaminantes a su condición natural.

CHLORELLA VULGARIS: es un alga unicelular de color verde, de forma esférica, con un diámetro que es entre 100 y 1.000 veces menor a 1 mm. El color verde lo obtiene de los cloroplastos, que son las estructuras encargadas de realizar la fotosíntesis. Debido a su rápido crecimiento, se utiliza para producir biodiesel. Contiene grandes cantidades de proteínas, vitamina C, betacaroteno y vitaminas B (B1, B2, B6 y B12). Es utilizada para fabricar suplementos alimenticios.

COTILEDÓN: hojas que se encuentran en el germen de la semilla de Moringa.

FERTILIZANTE FOLIAR: fertilizante que aporta nutrientes indispensables para las plantas que por diferentes factores no son suministrados por el suelo.

FLOCULACIÓN: agregación de partículas sólidas en una dispersión coloidal, en general por la adición de algún agente.

FOTOPERIODO: tiempo en el que la microalga es expuesta a la luz, ya sea solar o artificial.

FOTOINHIBICIÓN: disminución de la actividad fotosintética debido a la saturación o destrucción de los pigmentos fotosintéticos.

MICROALGAS: las microalgas son organismos microscopios uni o pluricelulares. Poseen clorofila y otros pigmentos como ácidos grasos, realizan fotosíntesis oxigénica¹.

MORINGA OLEIFERA: es un árbol originario del norte de la India, que actualmente abunda en todo el trópico. Es una de esas especies resistentes que requieren poca atención hortícola y crece rápidamente, hasta cuatro metros en un año².

¹ DEL POZO PÉREZ, Ángel. *Producción y valorización de biomasa de microalgas: un enfoque de biorrefinería: EN El hombre y el medio ambiente: XIV Jornadas Ambientales*. Ediciones Universidad de Salamanca, 2014.

² FOLKARD, Geott; SUTHERLAND, John. *Moringa oleifera un árbol con enormes potencialidades*. 1998.

pH: Se expresa como el logaritmo negativo en base 10 de la actividad de iones de hidrógeno. Establece el nivel de acidez o alcalinidad de una sustancia.

RESUMEN

La finalidad de este proyecto de investigación fue evaluar la harina de moringa como agente floculante en la separación de biomasa microalgal *Chlorella vulgaris* de su medio de cultivo.

Para esto se realizó el cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* garantizando todas las condiciones para su adecuado crecimiento como: el medio de cultivo, fotoperiodos, agitación y pH. Se llevaron a cabo los escalamientos del cultivo necesarios para obtener aproximadamente 6 L de microalga.

Posteriormente se evaluó el floculante harina de semilla de moringa mediante ensayos de jarras tomando muestras de 200 mL de cultivo microalgal, para determinar la concentración y el pH óptimo de floculación.

Para la determinación de la concentración se escogieron los valores de 0,2; 0,6; 1,0 y 1,4 g/L de harina de semilla de moringa, se realizó un conteo celular para establecer la concentración celular presente en la muestra de microalga antes y después de la floculación y posteriormente se midió la densidad óptica, DO, para calcular la eficiencia del proceso. Se obtuvo como resultado que la mayor eficiencia: 67,88 %, se dio a una concentración de 1,4 g/L de harina de semilla de moringa.

El pH óptimo de floculación se determinó ajustando este parámetro de cultivo de microalga *Chlorella vulgaris* a los valores de 4; 7; 8,5; 9,39 y 10,4, se realizó el ensayo de jarras, se contaron las células microalgales, se midió la DO y se calculó la eficiencia del proceso encontrando que a pH de 8,5 se obtuvo una eficiencia del 71,66%.

PALABRAS CLAVE: *Chlorella Vulgaris*, separación de biomasa, pH, concentración, densidad óptica, eficiencia, floculación

INTRODUCCIÓN

Las microalgas se han convertido en una opción importante para obtener productos de valor agregado como biodiesel dado que presentan ventajas en su cultivo en comparación a los cultivos de materias primas utilizadas para producir biocombustibles y acumulan aproximadamente entre 20 y 80% de aceites³ en su biomasa seca. También las microalgas son utilizadas para la producción alimentos funcionales debido a que la biomasa microalgal tiene proteínas que aportan nutrientes y ayudan al correcto funcionamiento del organismo humano. Por ultimo otra de las aplicaciones importantes es la biorremediación de aguas donde las microalgas actúan reduciendo compuestos contaminantes presentes en las aguas residuales y ayudando con parámetros como la DQO (demanda química de oxígeno) y DBO (demanda biológica de oxígeno)⁴. Sin embargo, la cosecha de la microalga o la separación de la biomasa microalgal de su medio de cultivo limita el aprovechamiento y uso de las microalgas a mayor escala, ya que los métodos de cosecha son costosos, ineficientes y no aptos para todo tipo de células microalgales. Todo esto, debido al pequeño tamaño de las células microalgales y su densidad similar a la del agua.

Existen diferentes métodos de separación de biomasa; uno de los más usados es la centrifugación puesto que puede recuperar biomasa microalgal alrededor de un 90%. Pero es un proceso que requiere una continua demanda de energía aproximadamente 8 kWh/m⁵; otro, sería la filtración que se realiza con membranas filtradoras costosas y usualmente se emplea para separar células microalgales de Tomado de gran tamaño. Adicional a estos, se utiliza la floculación química, que es una de las técnicas de separación más viable, eficiente y económica para obtener biomasa microalgal; no obstante, puede dejar residuos contaminantes al utilizar agentes químicos como sales para flocular, que impiden la extracción eficiente de sustancias de las microalgas.

En este trabajo de grado se propone evaluar un floculante natural, la harina de semilla de moringa debido que distintos estudios para tratamiento de aguas⁶ y para separación de biomasa microalgal⁷ se ha determinado que tiene una acción

³ Tomado de: Fernández-Linares, Luis Carlos, et al. "Producción de biocombustibles a partir de microalgas." *Ra Ximhai* 8.3b (2012): p.106

⁴ CARTAGENA ARÉVALO, Julián Camilo; MALO MALO, Brian Orlando. *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*. 2017. Tesis de Licenciatura. Fundación Universidad de América

⁵ Tomado de :VANDAMME, Dries. Flocculation based harvesting processes for microalgae biomass production. 2013. p. 18.

⁶ MENDOZA, Iván, et al. Uso de la *Moringa oleifera* como coagulante en la potabilización de las aguas. *Ciencia*, 2000, vol. 8, no 2.

⁷ ENDUT, Azizah, et al. Moringa oleifera seed derivatives as potential bio-coagulant for microalgae chlorella sp. harvesting. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 2016, vol. 20, no 2, p. 401-412.

coagulante- floculante, también es un floculante no tóxico, de fácil adquisición, y precio semejante al de otros floculantes. Esto convierte a la floculación con harina de semilla de moringa en una alternativa promisorio para el proceso de separación de biomasa microalgal.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el uso de la harina de semilla de moringa como agente floculante para la separación de biomasa microalgal *Chlorella vulgaris* de su medio de cultivo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Acondicionar el cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris*.
- Evaluar la eficiencia del proceso de separación de biomasa microalgal con el floculante harina de semilla de moringa con respecto a la eficiencia con un floculante comercial.
- Analizar los costos del proceso de floculación con harina de semilla de moringa.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 MICROALGAS

Las microalgas son algas microscópicas conocidas también como fitoplancton que tienen clorofila y producen oxígeno al captar el dióxido de carbono de la atmósfera a través de la fotosíntesis⁸. Se pueden encontrar en casi todos los ambientes dentro de plantas acuáticas, sobre sustratos como madera o botellas, en lagunas, ciénagas, pantanos, nieve, lagos de agua dulce o salina⁹. En su mayoría son microorganismos unicelulares.

1.1.1 *Chlorella vulgaris*. Es un alga unicelular, tiene pigmentación verde debido a la presencia de cloroplastos donde se lleva a cabo la fotosíntesis. Contiene proteínas, vitamina C, betacaroteno y vitaminas B (B1, B2, B6 y B12)¹⁰, además de un gran contenido lipídico. Es utilizada para la producción de biocombustibles y fabricación de suplementos alimenticios.

1.2 APLICACIONES DE LAS MICROALGAS

La aplicación más conocida de las microalgas es su uso como alimento tanto para el hombre como para los animales; sin embargo, estudios recientes han demostrado que éstos microorganismos pueden utilizarse en infinidad de aplicaciones tales como producción de biocombustibles, tratamiento de aguas, biorremediación de aire y suelos¹¹; y obtención de productos con valor agregado como biofertilizantes, ácidos grasos, principios activos para medicamentos, entre otros.

1.2.1 Alimentos nutricionales. Productos a base de microalgas, *Chlorella*, *Spirulina* y *Dunaliella* se consumen mundialmente al representar una buena fuente de proteína¹²; además por su valor medicinal al contener nutrientes que aportan al buen funcionamiento del organismo y ayudan a la salud humana por ejemplo: La *Chlorella* protege contra la insuficiencia renal y promoción del crecimiento de *Lactobacillus* intestinales. También favorece la disminución de colesterol

⁸. *Microalgae pioneering the future-application and utilization*. SUMI, Yoshihiko NISTEP Science & Technology Foresight Center, 2009.

⁹. *Evaluación técnico económica de la producción de biocombustibles a partir de microalgas*. 2011. JARAMILLO, J Tesis Doctoral. Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de: Magister en Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia. Maestría en Ingeniería-Ingeniería Química Manizales, Colombia pág. 1-100.

¹⁰ Tomado de : http://contenidos.ceibal.edu.uy/fichas_educativas/_pdf/ciencias-naturales/reino-protista/002-chlorella-vulgaris.pdf

¹¹MONTES, Santos, et al. Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas. 2014.

¹²LUNA, Liliana M. Gómez. Microalgas: Aspectos ecológicos y biotecnológicos. *Revista cubana de Química*, 2007, vol. 19, no 2, p. 3-20.

sanguíneo¹³.

Las microalgas se emplean mayormente en la acuicultura como alimento de peces, moluscos, camarones en su etapa de estados larvarios aportando los nutrientes necesarios para su buen crecimiento.

1.2.2 Biocombustibles. Uno de los usos más importantes, investigados y al que se debe el incremento de los cultivos de microalgas en el mundo es la producción de biocombustibles¹⁴. El cambio climático y el pronto agotamiento de los combustibles fósiles han impulsado la producción de biocombustibles tales como el biodiesel cuya materia prima son los aceites vegetales y sus principales fuentes de obtención son la palma, colza y soya, además del girasol, coco, cacahuete, oliva, mostaza, entre otros. Sin embargo, estos cultivos se destinan principalmente a la producción de aceites comestibles lo que resulta más rentable y además requieren grandes cantidades de suelo fértil, lo que causa un debate al preferir utilizar estos terrenos para la siembra de alimentos ante la escasez de suelos cultivables¹⁵.

El empleo de las microalgas para la producción de biodiesel evaluado en estudios como el de Fernández¹⁶ es una alternativa novedosa y prometedora. Las microalgas presentan algunas ventajas en su cultivo ya que tienen mayor eficiencia fotosintética, tienen periodos de crecimiento cortos, asimilan eficazmente el CO₂ y otros nutrientes, acumulan aproximadamente entre 20 y 80% de triglicéridos en su biomasa seca, no requieren grandes extensiones de tierras cultivables, presentan menor consumo de agua y pueden cultivarse en agua salada.

¹³HERNÁNDEZ-PÉREZ, Alexis; LABBÉ, José I. Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de biología marina y oceanografía*, 2014, vol. 49, no 2, p. 157-173.

¹⁴MONTES, Santos, et al. Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas. 2014.

¹⁵Fernández-Linares, Luis Carlos, et al. "Producción de biocombustibles a partir de microalgas." *Ra Ximhai* 8.3b (2012): 101-115.

¹⁶ Ibid, p. 101-115

Tabla 1. Contenido de lípidos para algas comerciales con posible uso como materia prima para la producción de biodiesel.

Microalga	Contenido de Aceite (% masa en base seca)
<i>Botryococcus braunii</i>	25-77
<i>Chlorella sp.</i>	28-32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Dunaliella primolecta</i>	16-37
<i>Isochrysis sp.</i>	25-33
<i>Monallanthus salina</i>	>20
<i>Nannochloris sp.</i>	20-35
<i>Nannochloropsis sp.</i>	31-68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35-54
<i>Nitzschia sp.</i>	45-47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20-30
<i>Schizochytrium sp.</i>	50-77
<i>Tetraselmis sueica</i>	15-23

Tomada de: Fernández-Linares, Luis Carlos, et al. "Producción de biocombustibles a partir de microalgas."

1.2.3 Biorremediación. La microalgas son potencialmente útiles en la bioremediación de aguas residuales. Pueden remover NH^{+4} (amonio), NO^{-2} (nitrito) y NO^{-3} (nitrato), fosfatos como PO_3^{-4} (ortofosfato)¹⁷, compuestos presentes en aguas residuales, debido a que para el crecimiento de su biomasa, las microalgas absorben directamente los nutrientes nitrógeno y fósforo. También se ha comprobado que ayudan en dos parámetros importantes evaluados en el tratamiento de aguas como la DQO (demanda química de oxígeno) y (DBO) Demanda biológica de oxígeno¹⁸, y además en la remoción de metales pesados de aguas industriales.

Un inconveniente del empleo de microalgas en el tratamiento de aguas a gran escala es la dificultad y coste de la separación de la biomasa generada del agua depurada¹⁹. Para esto se deben buscar métodos menos costosos y más eficientes que los empleados actualmente.

Por otra parte, las microalgas almacenan aproximadamente el 50% de su biomasa en carbono, esto las convierte en grandes candidatas para captar el CO_2 producido como contaminante del aire en distintas operaciones industriales y de esta manera contribuir a la disminución de emisiones de gases invernadero a la atmósfera.

¹⁷ LUNA, Liliana M. Gómez. Microalgas: Aspectos ecológicos y biotecnológicos. *Revista cubana de Química*, 2007, vol. 19, no 2, p. 3-20

¹⁸ CARTAGENA ARÉVALO, Julián Camilo; MALO MALO, Brian Orlando. *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*. 2017. Tesis de Licenciatura. Fundación Universidad de América.

¹⁹ MONTES, Santos, et al. *Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas*. 2014.

1.2.4 Fertilizante. La productividad de los cultivos está limitada principalmente por la disponibilidad de Nitrógeno asimilable. En consecuencia, se consumen enormes cantidades de fertilizantes nitrogenados producidos químicamente en todo el mundo. Las microalgas tienen un gran potencial como biofertilizantes. Muchas especies como *Anabena*, que son *diazotrofos*, es decir pueden utilizar el N₂ como única fuente de nitrógeno para producir proteínas y otras sustancias químicas necesarias, se han utilizado para proporcionar hasta 40 kg de nitrógeno por hectárea en el cultivo de arroz. Potencialmente la capacidad de fijar nitrógeno es de 300 kg por hectárea por año²⁰. Existe gran interés en el cultivo a gran escala de varias microalgas para su uso como fertilizantes

1.2 CULTIVO DE MICROALGAS

Existen diferentes tipos de cultivo de microalgas debido a la gran cantidad de especies microalgales y al producto final que se quiera obtener a partir de su biomasa: Cultivos fototróficos, heterotróficos, mixotróficos.

1.2.1 Sistemas de cultivo. Los sistemas de cultivo de microalgas son:

1.3.1.1 Sistemas abiertos. Tienen gran capacidad de producción de biomasa microalgal, disponibilidad de luz solar, agua, CO₂ y su costo de fabricación es económico. Sin embargo, está condicionado a los cambios ambientales y es difícil controlar algunos de los parámetros de cultivo como temperatura, intensidad lumínica, pH y CO₂. Además, estos sistemas son susceptibles a la contaminación con otros microorganismos.

1.3.1.2 Sistema de cultivo cerrado. Permiten controlar los parámetros de cultivo mejorando la eficiencia en la fotosíntesis para que la biomasa microalgal contenga la cantidad de sustancias deseada para el producto final que se quiera obtener, además la biomasa cultivada es de mayor pureza ya que no permite la contaminación con bacterias. Existen diferentes tipos de fotobiorreactores: reactores planos o en placas, agitados mediante burbujeo; reactores tubulares verticales u horizontales con agitación por burbujeo u otro; y reactores anulares, entre otros²¹.

1.2.1 Parámetros para el cultivo de microalgas.

1.3.2.1 Luz: parámetro importante a tener en cuenta en el cultivo de microalgas ya que al ser microorganismos fotosintéticos las microalgas necesitan energía solar

²⁰CHISTI, Yusuf. MICROALGAE AS SUSTAINABLE CELL FACTORIES. *Environmental Engineering & Management Journal (EEMJ)*, 2006, vol. 5, no 3.

²¹DEL POZO PÉREZ, Ángel. Producción y valorización de biomasa de microalgas: un enfoque de biorrefinería. *EN: El hombre y el medio ambiente: XIV Jornadas Ambientales*. Ediciones Universidad de Salamanca, 2014

para transformarla en energía química, y esta primera energía proviene de la luz ya sea solar o artificial, para alimentarse y aumentar su biomasa. También debe considerarse la intensidad lumínica y los fotoperiodos: el tiempo que la microalga está expuesta a la radiación, ya que a intensidades de luz muy altas puede presentarse fotoinhibición: el descenso de la actividad fotosintética debido a la saturación o destrucción de los pigmentos fotosintéticos²².

1.3.2.2 Nutrientes. Del medio de cultivo de las microalgas depende tanto su crecimiento como también la cantidad de sustancias que acumulen en su biomasa. Los principales nutrientes que deben estar presentes en el medio de cultivo, son nitrógeno, que regula la cantidad de lípidos segregados por las células microalgales; y, fósforo, que ayuda a la formación de ácidos nucleicos y a la transferencia de energía.²³

1.3.2.3 pH y CO₂. Cada especie de microalga tiene un rango de pH adecuado para su crecimiento. El pH depende del medio de cultivo, de la actividad microbiana y del CO₂ presente. Las microalgas de agua dulces tienen un pH óptimo básico entre 7 y 8. El CO₂ se puede obtener directamente de la atmósfera ya sea de emisiones industriales o carbonatos solubles²⁴ y es absorbido en gran cantidad por los microorganismos. Ayuda al metabolismo y rápido crecimiento de las células microalgales.

1.2.3.4 Temperatura. Al igual que el pH cada especie de microalga se tiene un rango de temperatura y una temperatura óptima de crecimiento entre 17°C y 25°C, para evitar el estrés térmico que ocasiona la muerte celular.

1.4 MÉTODOS DE COSECHA

Los métodos de cosecha hacen referencia a los diversos procedimientos para separar la microalga de su medio de cultivo, con el fin de obtener biomasa seca para su utilización en distintos procesos de producción.

1.4.1 Centrifugación. La centrifugación es un método de separación de partículas en función de su densidad, la generación de una fuerza centrífuga que actúa radialmente acelera la separación de partículas provocando que las de mayor

²² TOVAR SALAMANCA, Jhonnathan Camilo; RUÍZ DÍAZ, Jenny Paola. *Propuesta de escalamiento de un fotobio reactor para la micro alga Chlorella Vulgaris a nivel piloto*. 2016. Tesis de Licenciatura. Fundación Universidad de América.

²³Grobbelaar JU. 2004. Algal nutrition: mineral nutrition. In: Richmond A (ed). *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and app*

²⁴MONTES, Santos, et al. *Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas*. 2014.

densidad sedimenten²⁵. Para la separación de biomasa microalgal se requieren altas fuerzas centrífugas, por lo tanto, se necesita una entrada alta de energía para conseguir la separación debido a que la densidad de las células microalgales es similar a la del agua²⁶. Por otra parte, la centrifugación puede operarse de forma continua y puede ser utilizada para casi todos los tipos de microalgas. Generalmente, tres tipos de centrifugadoras se utilizan para la recolección de microalgas: paquete de discos, decantador y centrifugadoras de placas en espiral²⁷.

1.4.2 Filtración. Es un método comúnmente utilizado para la separación sólido-líquido. Es considerado eficiente en la separación de células grandes, como *Spirulina* pero no para especies de menor tamaño como es el caso de *Chlorella* y *Scenedesmus*. Estos métodos tienden a ser costosos en energía, con reemplazos frecuentes de membrana y bombeo continuo de la biomasa.

1.4.3 Flotación. La flotación es un procedimiento de separación basado en la adhesión de las partículas a las burbujas de aire o de gas, que llevan las partículas a la superficie del líquido, lo que permite una separación adicional por lo general a través de espumado.

1.4.4 Electroforesis. Este método utiliza un campo cargado eléctricamente que conduce a la microalga hacia la superficie de la solución. Debido a la hidrólisis del agua que genera hidrógeno el cual se adhiere a los flóculos de las microalgas y les lleva a la superficie²⁸. No requiere la adición de ninguna sustancia química.

1.4.5 Floculación- coagulación. La floculación es el proceso por el que se inducen partículas desestabilizadas para coagular, hacer contacto, y de ese modo formar aglomerados más grandes. La floculación de suspensiones de partículas a menudo se puede atribuir a cuatro mecanismos de coagulación, actuando solo o en combinación: Neutralización de carga, es el fenómeno en el que los iones cargados, los polímeros o coloides absorben fuertemente en la superficie opuesta de una partícula cargada, seguido de desestabilización, la coagulación y la floculación. El mecanismo de parche electrostático, es el fenómeno en el que un polímero cargado se une a una partícula con carga opuesta. El polímero invierte localmente la carga de la superficie de la partícula, lo que resulta en parches de

²⁵ BERMEO CASTILLO, Lorena Elizabeth. *Estudio del cosechado de cultivos de microalgas en agua residual mediante técnicas de centrifugado*. 2011. Tesis de Maestría. Universidad de Cádiz/2011.

²⁶ VANDAMME, Dries. Flocculation based harvesting processes for microalgae biomass production. 2013. p. 18.

²⁷ Ibid ,p.19

²⁸ Michele Greque De Morais, J.A.V.C., Biofixation of Carbon Dioxide by *Spirulina* Sp. And *Scenedesmus Obliquus* Cultivated in A Three-Stage Serial Tubular Photobioreactor. *Journal of Biotechnology*, 2007. 129: P. 439-445.

carga opuesta en la superficie de la partícula. Las partículas posteriormente se conectan entre sí a través de parches de carga opuesta, provocando la floculación. “*Bridging*”, o “formación de puentes”, es el fenómeno en el que los polímeros o coloides cargados se unen simultáneamente a la superficie de dos partículas diferentes para formar un puente entre ellos. Este puente lleva las partículas entre sí y causa floculación. Y finalmente, la floculación por barrido, es el proceso en el que las partículas se atrapan en una precipitación masiva de un mineral que induce la floculación de las partículas²⁹.

Floculación química: Sales metálicas tales como alumbre y cloruro férrico son comúnmente utilizadas para la floculación en tratamiento del agua y en industrias como la minería. Estas sales se están aplicando para la floculación de microalgas³⁰. Su utilización da como resultado altas concentraciones de metales en la biomasa cosechada. Estos metales permanecen en el residuo de biomasa después de la extracción de los lípidos o carotenoides, pero pueden interferir con el uso de la fracción de proteína en este residuo. A pesar de este inconveniente, los coagulantes de sales metálicas proporcionan un buen sistema modelo para estudiar la interacción entre los floculantes y células de microalgas porque sus propiedades se conocen bien. Otros floculantes químicos de uso común en otras industrias son polímeros de poliacrilamida sintéticos. Sin embargo, estos pueden contener trazas de acrilamida tóxica y por lo tanto también contaminar la biomasa de microalgas. Los floculantes basados en biopolímeros naturales son, por tanto, una alternativa más segura, por ejemplo, el quitosano. Para ser capaz de interactuar con la carga superficial negativa de las células de microalgas, estos biopolímeros deben estar cargados positivamente, lo que es raro en la naturaleza³¹. Una alternativa al quitosano es un almidón catiónico, que se prepara a partir de almidón mediante la adición de grupos de amonio cuaternario. Otros ejemplos de biopolímeros que se pueden utilizar para flocular son los presentes en la harina de semillas de *Moringa oleífera*.

Floculación inducida: La floculación se produce de forma espontánea en el cultivo de microalgas, cuando aumenta el pH por encima de 9. Este tipo de floculación se refiere a menudo como autofloculación ya que se produce de forma espontánea en el cultivo de microalgas, como resultado de un aumento del pH debido al agotamiento del CO₂ fotosintético. La autofloculación se asocia con la formación de precipitados de calcio o magnesio. Dependiendo de las condiciones, estos precipitados llevan cargas superficiales positivas y pueden inducir la floculación

²⁹ VANDAMME, Dries. *Flocculation based harvesting processes for microalgae biomass production*. 2013. Tesis Doctoral. UGent.P.18

³⁰ Ibid,p.19

³¹ HANSEL, Philip A.; RIEFLER, R. Guy; STUART, Benjamin J. Efficient flocculation of microalgae for biomass production using cationic starch. *Algal Research*, 2014, vol. 5, p. 133-139

por barrido.³²

1.3 MORINGA OLEIFERA

Es un árbol originario del Himalaya (India) que actualmente abunda en todo el trópico. Es una de esas especies resistentes que no requieren condiciones especiales en su cultivo, altura entre 10-12 m; tronco leñoso y recto; y de diámetro entre 20 a 40 cm. Crece rápidamente, hasta cuatro metros en un año³³.

Últimamente se ha hecho famoso debido a que con sus hojas se elaboran productos con innumerables beneficios para la salud humana.

También distintos artículos e investigaciones como los de Ali³⁴ y Mendoza³⁵ han demostrado que la harina de sus semillas tiene propiedades coagulantes y floculantes. Presenta un alto potencial de floculación en el tratamiento del agua, logrando una eficiencia de floculación entre 92-97%³⁶, lo que convierte a la harina de semilla de moringa en una alternativa potencial como biofloculante.

En Colombia existen cultivos de este árbol en los departamentos de Santander, Tolima, Meta, Antioquia y Bolívar los cultivos son destinados principalmente a comercialización de productos nutricionales y medicamentos.

³² VANDAMME, Dries. *Flocculation based harvesting processes for microalgae biomass production*. 2013. Tesis Doctoral. UGent.P.18

³³ Folkard, Geott; Sutherland, John. *Moringa oleifera un árbol con enormes potencialidades*. 1998.

³⁴ ALI, Eman N., et al. *Moringa oleifera seeds as natural coagulant for water treatment*. 2009.

³⁵ MENDOZA, Iván, et al. *Uso de la Moringa oleifera como coagulante en la potabilización de las aguas*. *Ciencia*, 2000, vol. 8, no 2.

³⁶ Muyibi, S. A. and Evison, L. M. (1995). *Moringa Oleifera Seeds for Softening Hardwater*. *Water Research*. 29(4): 1099 – 1104

2. METODOLOGIA

2.1 MATERIALES

2.1.1 Medio de cultivo. Para un adecuado crecimiento, la microalga *Chlorella vulgaris* necesita de agua y de nutrientes tales como nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio³⁷ para su desarrollo y producción de aceites. Con el fin de garantizar que estos nutrientes estén presentes en el medio de cultivo se utiliza el fertilizante foliar, de nombre comercial, Efe-agro, mostrado en la Figura 1, cuya composición se muestra en la tabla 2.

Figura 1. Fertilizante Efe-agro



Tabla 2. Composición fertilizante foliar

Compuesto	Composición
Nitrógeno total (N)	100,0 g/L
Nitrógeno amoniacal (N)	72,0 g/L
Nitrógeno nítrico (N)	3,2 g/L
Nitrógeno ureico (N)	24,8 g/L
Fósforo asimilable (P ₂ O ₅)	300,0 g/L
Potasio soluble en agua (K ₂ O)	100,0 g/L
Calcio (CaO)*	0,2 g/L
Magnesio (MgO)*	0,2 g/L
Azufre total (S)	0,8 g/L
Boro (B)	0,2 g/L
Cobre (Cu)*	0,2 g/L

³⁷ JARAMILLO OBANDO, Juan Jacobo, et al. *Evaluación tecno-económica de la producción de biocombustibles a partir de microalgas= techno-economic assessment of biofuel production from microalgae*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Colombia-Sede Manizales.

Tabla 2. (continuación)

Compuesto	Composición
Hierro (Fe)*	0,4 g/L
Manganeso (Mn)*	0,4 g/L
Molibdeno (Mo)	0,03 g/L
Zinc (Zn)*	0,5 g/L

2.1.2 Cepa de trabajo. La cepa de la microalga *Chlorella vulgaris* fue proporcionada por el grupo de investigación de la Fundación Universidad de América, BIOTECFUA. (Figura 2)

Figura 2. Cepa microalga *Chlorella vulgaris*



2.1.2 Semilla de *Moringa oleífera*. La semilla de moringa (Figura 3) fue obtenida de la empresa La moringa S.A.S PROHAMOR dedicada a elaborar productos beneficiosos para la salud humana a base de este árbol y cuyos cultivos se encuentran en Melgar, Tolima.






Figura 3: Semilla de *Moringa Oleífera*






2.2 EQUIPOS

Los equipos utilizados en la experimentación se muestran en el cuadro 1.

Cuadro1. Equipos

Figura	Equipo
<p data-bbox="311 310 716 346">Figura 4. Molino de martillos</p> 	<p data-bbox="894 310 1182 346">- Molino de martillos</p>
<p data-bbox="311 583 688 619">Figura 5. Equipo tamizado</p> 	<p data-bbox="894 583 1252 619">- Tamiz mallas 710 y 500</p>
<p data-bbox="311 926 756 961">Figura 6. Cámara de Neubauer</p> 	<p data-bbox="943 926 1295 961">- Cámara de Neubauer</p>
<p data-bbox="311 1157 711 1192">Figura 7. Espectrofotómetro</p> 	<p data-bbox="943 1157 1458 1234">- Espectrofotómetro HACH DR 2800.</p>
<p data-bbox="311 1822 760 1858">Figura 8. Equipo test de jarras.</p> 	<p data-bbox="943 1486 1305 1522">- Test de jarras F6-300</p>

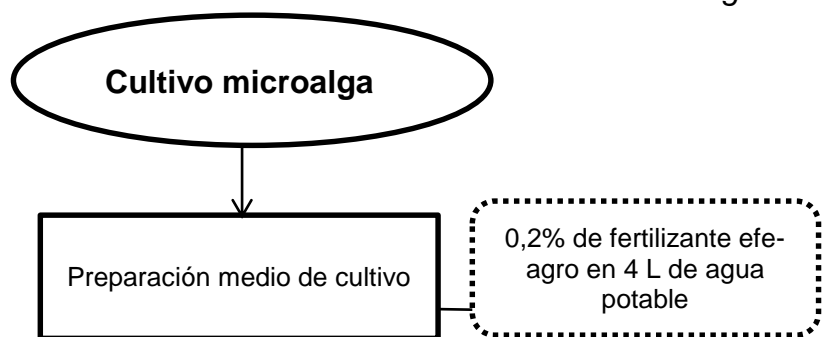
Cuadro1. (continuación)

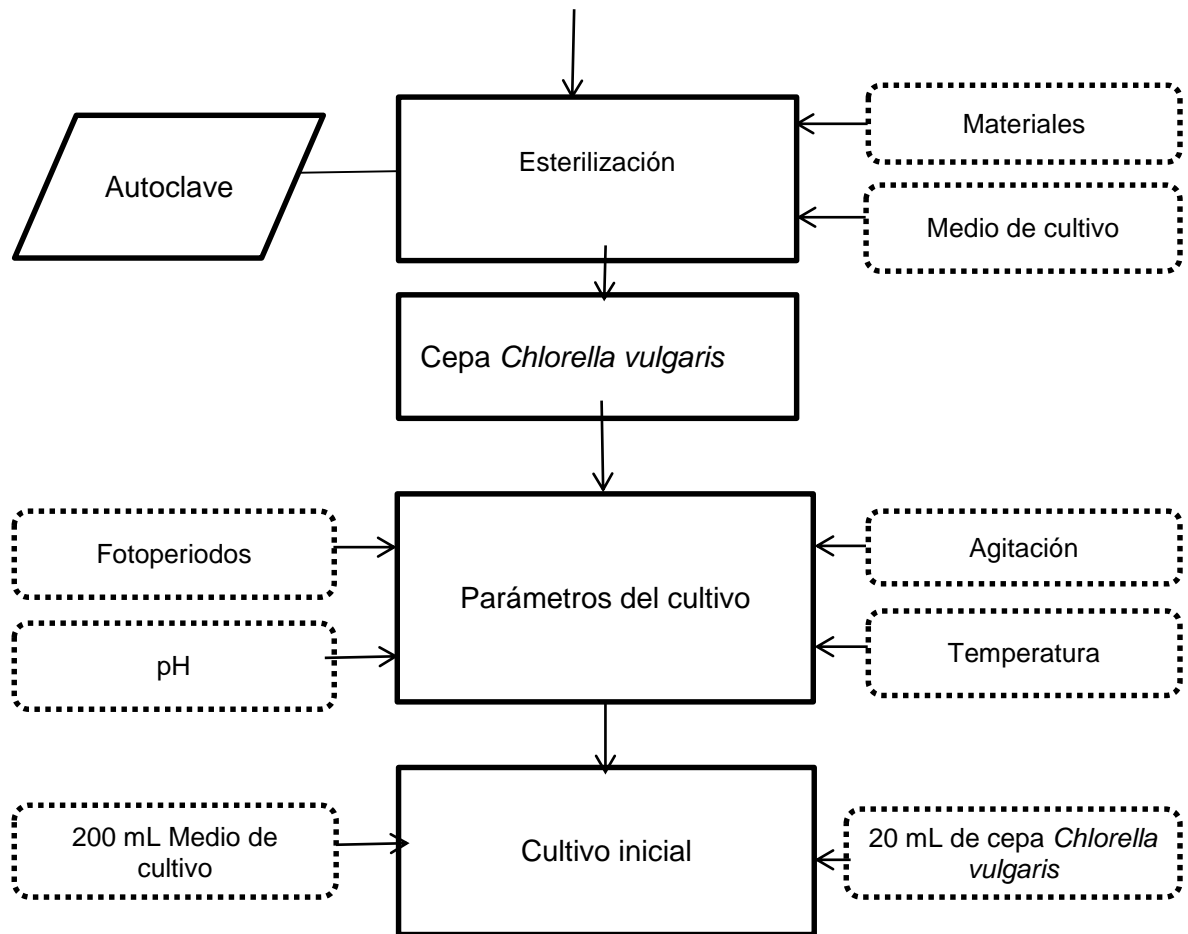
Figura	Equipo
<p data-bbox="313 317 581 352">Figura 9. pH metro</p> 	<p data-bbox="938 279 1409 352">- PH metro Handylab SCHOTT</p>
<p data-bbox="313 558 613 594">Figura 10. Centrifuga</p> 	<p data-bbox="938 558 1458 625">- Centrifuga Thermo labofuge 4000</p>
<p data-bbox="313 930 654 966">Figura 11. Microscopio</p> 	<p data-bbox="938 930 1458 1003">- Microscopio Referencia CH20 Olympus</p>

2.3 METODOLOGÍA

2.3.1 Acondicionamiento cultivo *Chlorella vulgaris*. El cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* se desarrolla según el diagrama mostrado en la figura 12.

Figura 12. Diagrama proceso acondicionamiento del cultivo de *Chlorella vulgaris*





2.3.1.1 Preparación del medio de cultivo. Para la preparación del medio se mezcla el fertilizante con 4 L de agua potable embotellada en una disolución de 0,2 % volumen / volumen³⁸ a esta disolución se obtiene un medio de cultivo con los nutrientes necesarios para el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* .

2.3.1.2 Esterilización de materiales. Los elementos tales como reactores, frascos, pipetas, tubos de ensayo y medio de cultivo se esterilizaron en una autoclave a 121 °C por 2 horas, para garantizar que al momento de realizar el cultivo no se presenten contaminantes que puedan interferir en el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*.

2.3.1.3 Parámetros del cultivo. Los parámetros que se debe controlar en el cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* son:

³⁸ Tomado de: 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.

- Fotoperiodos: La microalga *Chlorella vulgaris* es una microalga autótrofa esto quiere decir que realiza fotosíntesis y por lo tanto necesita de luz, ya sea luz solar o artificial. En el cultivo se utilizaron las dos fuentes de luz por un periodo de 12 horas : la luz solar y artificial esta última otorgada por lámparas led con la intensidad de luz necesaria entre 200- 5000 Lux³⁹ para el adecuado crecimiento y desarrollo metabólico de la microalga sin que se ocurra daño fotoquímico, este daño es producido cuando el cultivo es sometido a intensidades de luz mayores a las indicadas en el rango que causan la degradación de proteínas intracelulares, y por tanto la muerte celular.
- pH: El rango de pH apropiado para el cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* es de 7-9⁴⁰. En el cultivo se realizaron mediciones de este parámetro con cintas de pH.
- Agitación: Para el crecimiento y producción de biomasa de la microalga *Chlorella vulgaris* es necesario que exista una buena agitación. Para ello, se utilizan bombas de acuario con capacidad de 4L que suministran aire dentro del fotobiorreactor garantizando una buena distribución de la luz para el crecimiento celular, así como una correcta circulación de CO₂. Otra finalidad de la agitación es evitar que la biomasa se precipite y se pegue a las paredes del reactor.
- Temperatura. Para mantener la temperatura en el rango de crecimiento del cultivo de *Chlorella vulgaris* se usa una caja de cartón que permite el aislamiento térmico. El cultivo se lleva a cabo a la temperatura ambiente.

2.3.1.4 Cultivo inicial. El cultivo inicial de la microalga es realizado con 200 mL del medio de cultivo y 20 mL de la cepa microalgal (Figura 2) , según el protocolo del cultivo realizado en la Tesis de Cartagena y Malo⁴¹. Se prepararon dos cultivos iniciales. A los 17 días de cultivada la microalga, ésta alcanza su fase estacionaria donde ya no hay crecimiento celular.

2.3.1.5 Escalamiento del cultivo. Para obtener el volumen de biomasa microalgal suficiente, es necesario hacer un escalamiento del cultivo. Una disolución de 100 mL del cultivo inicial y 1 L del medio de cultivo, se traslada a un reactor de

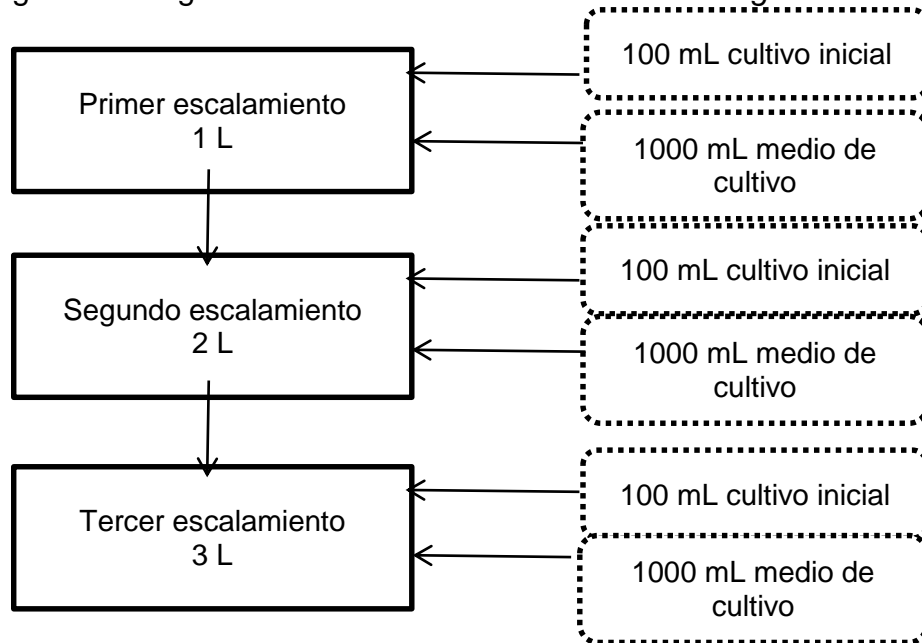
³⁹ Tomado de: RIVERO GONZALEZ, Roger Dennis, et al. Cultivo de *Chlorella vulgaris* sobre residuales industriales: buena alternativa responsable y útil. En *Universidad 2010. Co Internacional de la Educación Superior*, e-libro, Corp., 2010.

⁴⁰ Montes, Santos, et al. Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas.

⁴¹ CARTAGENA ARÉVALO, Julián Camilo; MALO MALO, Brian Orlando. *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*. 2017. Tesis de Licenciatura. Fundación Universidad de América.

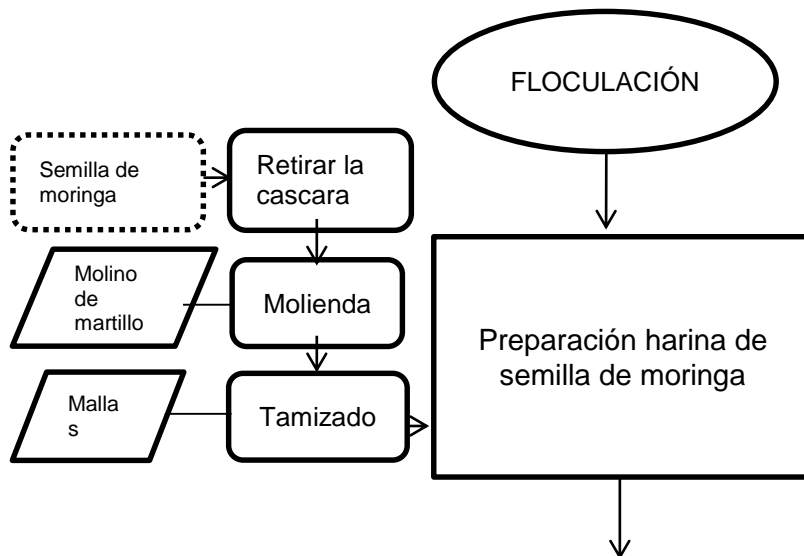
capacidad de 4 L. Al alcanzar la fase de latencia a los 34 días de hacer el cultivo inicial se realiza un segundo escalamiento con la misma disolución 1/10. A los 63 días se procede al último escalamiento. En la figura 13 se muestran lo escalamientos realizados para el cultivo:

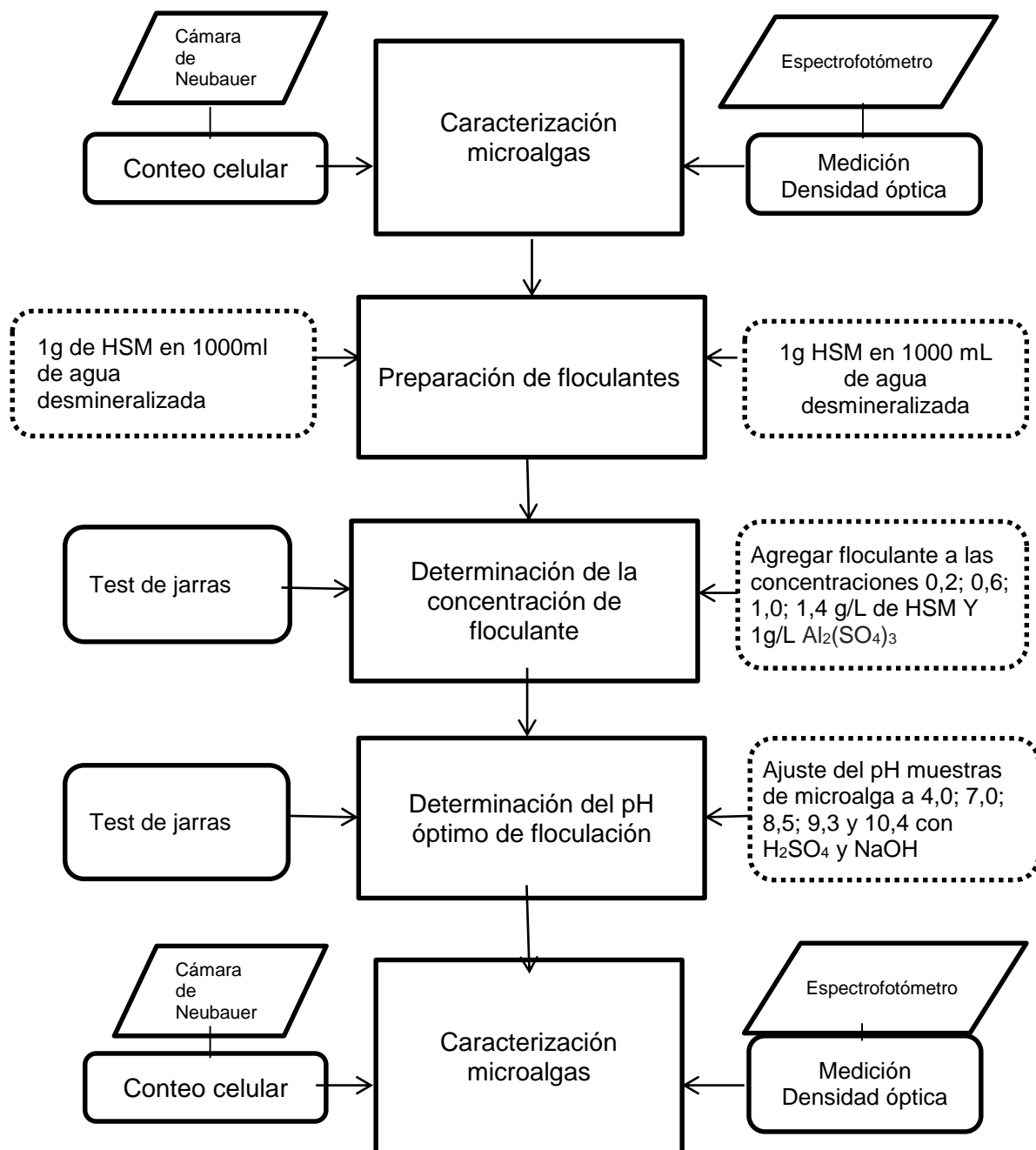
Figura 13. Diagrama escalamiento cultivo *Chlorella vulgaris*



2.3.2 Floculación. El proceso de floculación se describe en la figura 14

Figura 14. Diagrama de proceso de floculación





2.3.2.1 Preparación de la harina de semilla de moringa (HSM). Para obtener la harina de semilla de moringa se retira la cascara manualmente del cotiledón. Posteriormente se lleva a un proceso de molienda en un molino de martillos, (Figura 4), después se tamiza pasándola por dos mallas, la primera de 710 μm y la segunda de 500 μm de tamaño de poro durante 5 minutos (Figura 5). Finalmente, la harina se empaca en bolsas herméticas para evitar su contaminación.

2.3.2.2 Preparación de floculantes Se prepararon dos soluciones de harina de semilla de moringa: la primera para la determinación de la concentración donde 1,0 g de harina se disuelve en aproximadamente 100 mL de agua desmineralizada figura 15; y la segunda para evaluar el pH 1,4 g de harina de moringa en 1 litro de agua desmineralizada.

Figura 15. Floculante harina de semilla de moringa.



El floculante sulfato de aluminio se prepara con 1,0 g de sulfato de aluminio en polvo en 1 litro de agua desmineralizada, para comparar su acción floculante con la HSM.

2.3.2.3 Determinación de la concentración adecuada de floculante harina de semilla de moringa. La floculación se realiza en un equipo de test de jarras (Figura 8) a Las condiciones iniciales de agitación mostradas en la tabla 3 estas se determinaron por la revisión de los artículos de Edut y Texeria .

Tabla 3. Condiciones iniciales test de jarras.

Tipo de agitación	Velocidad	Tiempo
Agitación rápida	100 rpm	5 min
Agitación lenta	20 rpm	30 min

La agitación rápida se hizo a 100 rpm por 5 minutos; en esta agitación el coagulante interactúa con la microalga y procede a desestabilizar las partículas coloidales. La agitación lenta dura 30 min y se realiza a 20 rpm donde las partículas desestabilizadas se aglomeran formando flóculos.

En el primer test de jarras se evalúa el floculante harina de semilla de moringa a las concentraciones 0,2; 0,6; 1,0 y 1,4 g/L. En la tabla 4 se especifican las jarras con cada concentración. En este ensayo el pH de la microalga fue ajustado a 8.48 con H₂SO₄ y NaOH una concentración de 1 M ya que es el pH en el cual se

encuentra la mayoría de cultivos de la microalga *Chlorella vulgaris*⁴²

Tabla 4. Jarras y concentraciones para la determinación de la concentración de floculante HSM

Jarra	Concentración
1	Blanco 200ml de microalga
2	0,2 g/L HSM
3	0,6 g/L HSM
4	1,0 g/L HSM
5	1,4 g/L

Para determinar el volumen de floculante que se agrega a cada muestra de microalga, se utiliza la ecuación 1, utilizada en los ensayos de jarras para el tratamiento de aguas donde c_1 : concentración de la solución de floculante preparada. v_1 : volumen de floculante a agregar c_2 : concentración de floculante deseada y v_2 : volumen de muestra de microalga.

Ecuación 1. Cálculo de volumen de floculante

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

2.3.2.4 Determinación del pH adecuado del floculante harina de semilla de moringa. En ensayo de jarras se evalúa la floculación escogiendo valores de pH en los rangos ácido, neutro y básico dado que en estudios como los de Santos⁴³, Texeira⁴⁴ y Hamit⁴⁵ sobre la harina de semilla como agente floculante para tratamiento de aguas y floculantes usados para la separación de biomasa microalgal los pH óptimos se encuentran en los 3 rangos expuestos en la tabla 5.

⁴² Teixeira, C. M. L. L., Kirsten, F. V., & Teixeira, P. C. N. (2012). Evaluation of *Moringa oleifera* seed flour as a flocculating agent for potential biodiesel producer microalgae. *Journal of applied phycology*, 24(3), 557-563. Pg 559

⁴³ SANTOS, A. F. S., et al. Detection of water soluble lectin and antioxidant component from *Moringa oleifera* seeds. *Water Research*, 2005, vol. 39, no 6, p. 975-980.

⁴⁴ TEIXEIRA, Cláudia Maria Luz Lapa; KIRSTEN, Fabiana Vasconcelos; TEIXEIRA, Pedro Celso Nogueira. Evaluation of *Moringa oleifera* seed flour as a flocculating agent for potential biodiesel producer microalgae. *Journal of applied phycology*, 2012, vol. 24, no 3, p. 557-563

⁴⁵ HAMID, Siti Hajar Abdul, et al. Harvesting microalgae, *Chlorella* sp. by bio-flocculation of *Moringa oleifera* seed derivatives from aquaculture wastewater phytoremediation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2014, vol. 95, p. 270-275

Tabla 5. Jarras y pH para la determinación del pH adecuado de floculación

Jarras	pH
1	Blanco 200 ml de microalga
2	4
3	7
4	8,5
5	9,39
6	10,4

- Medición del pH: La medición se lleva a cabo con un pH metro mostrado en la figura 9. La muestra de microalga se introduce en un agitador magnético al que se le agregan H₂SO₄ y NaOH a una concentración de 1 M para ajustar la muestra a los rangos de pH requeridos. Posteriormente se sumerge un electrodo de pH hasta la lectura final.

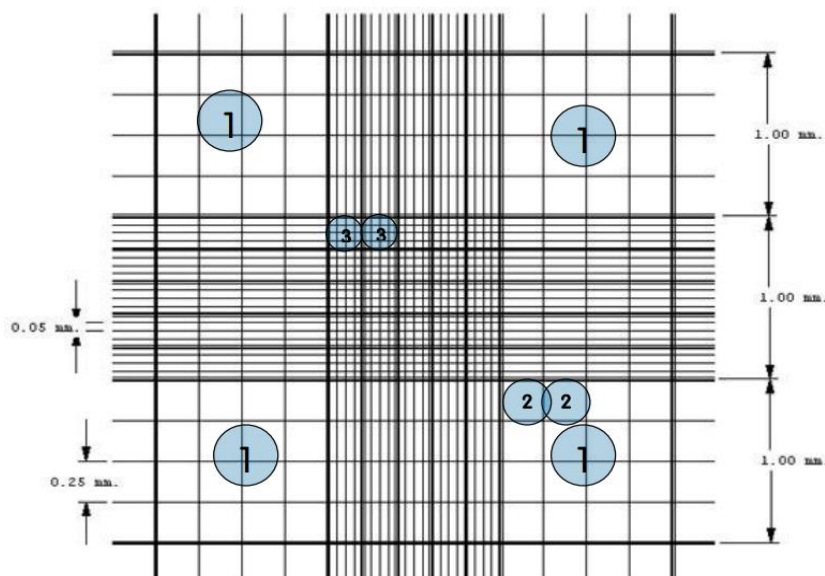
2.3.3 Caracterización. Para evaluar el proceso de floculación se realizan dos caracterizaciones de las muestras de microalga antes y después de la floculación. Primero un recuento celular y segundo una medición de la densidad óptica de las muestras.

2.3.3.1 Conteo celular. Se realiza un conteo celular antes y después de la separación utilizando una cámara de Neubauer (figura 6). Esta cámara cuenta con dos zonas de conteo una superior con una cuadrícula de área de 0.1000 mm y una inferior con 0.0025 mm².

Se contaron las células microalgales en la cuadrícula de la zona inferior figura 16. Debido al diámetro de las células de *Chlorella vulgaris* que se encuentran en un rango de 2- 10 µm⁴⁶ se utilizó el cuadrado central figura 16 numeral 3 dividido en 25 cuadrados medianos de 0,2 mm de lado, y cada uno de estos cuadros se subdivide a su vez en 16 cuadrados pequeños.

⁴⁶ Fernández-Linares, L. C., Montiel-Montoya, J., & Millán-Oropeza, A. (2012). Producción de biocombustibles a partir de microalgas. Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable. 8(3), 2012. México, D.F., MX: Red Universidad Autónoma Indígena de México. Retrieved from <http://www.ebrary.com>

Figura 16. Cuadrícula área de 0.0025 mm⁴⁷

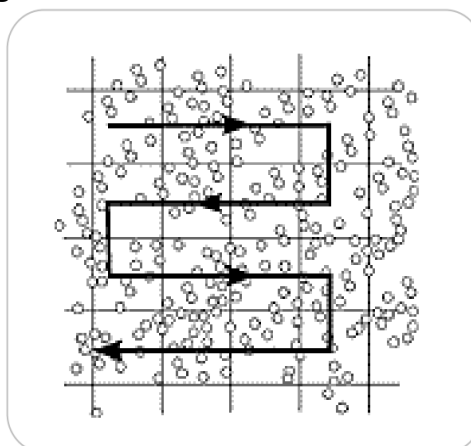


Fuente: CELEROMICS, Disponible en : www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/Conteo-Camara-Neubauer.pdf

Se coloca un cubreobjetos encima de la cámara de Neubauer. Posteriormente, se toma una muestra de microalga con un tubo capilar que se introduce entre la cámara y el cubreobjetos garantizando que la muestra penetre y cubra toda la cuadrícula.

Por medio de un microscopio, Figura 11, con un lente de 40x/16 se observan las células microalgales y se procede con el conteo horizontalmente de derecha a izquierda como se muestra en la figura 17.

Figura 17. Dirección conteo de células



⁴⁷ Tomado de :

www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/Conteo-Camara-Neubauer.pdf

Fuente: Disponible en : http://insilico.ehu.es/camara_contaje/neubauer_improved.php

Para determinar la concentración celular de las muestras, se usa la siguiente ecuación⁴⁸ la cual da en número de células en cada ml de muestra.

Ecuación 2. Ecuación concentración celular

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

2.3.3.2 Densidad óptica. La Densidad óptica se mide en el espectrofotómetro mostrado en la figura 9 a una longitud de onda de 680 nm⁴⁹. Se calibra introduciendo una celda con el blanco, en este caso agua destilada, y ajustando a cero; después la alícuota de la microalga en la celda, se instala en el espectrofotómetro, para la lectura de su absorbancia⁵⁰.

2.3.4 Calculo de eficiencia. La eficiencia de la floculación se calcula con la ecuación 3.

Ecuación 3. Calculo eficiencia de la floculación

$$\text{Eficiencia \%} = \frac{DO_{\text{inicial}} - DO_{\text{final}}}{DO_{\text{inicial}}} * 100$$

2.3.5 Comparación con el método de centrifugación Con el fin de comparar resultados con el método tradicional de separación de biomasa microalgal usado en la industria, se separaron 200 mL de cultivo *Chlorella vulgaris* en una centrifuga industrial figura 10 a una velocidad angular de 4000 rpm durante 10 min.

⁴⁸ Obtenido de:

< http://insilico.ehu.es/camara_contaje/neubauer_improved.php >

⁴⁹ Endut, A., Hamid, S. H. A., Lananan, F., & Khatoon, H. (2016). *Moringa oleifera* SEED DERIVATIVES AS POTENTIAL BIO-COAGULANT FOR MICROALGAE *Chlorella* Sp. HARVESTING. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 20(2), 401-412.

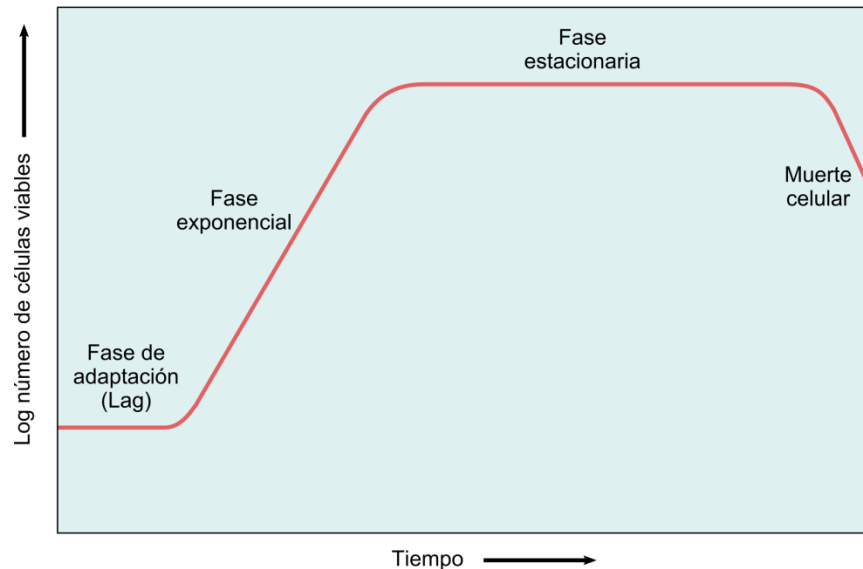
⁵⁰ VEGA, BERTHA OLIVIA ARREDONDO; VOLTOLINA, DOMENICO. Concentración, recuento celular y tasa de crecimiento. VEGA, BOA; VOLTOLINA, D. *Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal*, 2007, vol. 1, p. 17-25.

3. RESULTADOS

3.1 CULTIVO DE MICROALGA *CHLORELLA VULGARIS*

El crecimiento microalgal tiene diferentes fases mostradas en la Figura 18. A los 17 días de realizarse el cultivo de la microalga, ésta alcanza su fase estacionaria en la cual las células microalgales con las condiciones de crecimiento adecuadas han absorbido todos los nutrientes del medio de cultivo y han alcanzado su tasa máxima de crecimiento, por lo tanto, el número de las células permanece constante. Esta fase se puede evidenciar en el cultivo inicial (Figura 19), donde el cultivo cambia de un color verde claro a un color verde oscuro y su volumen inicial disminuye debido al consumo de nutrientes.

Figura 18. Fases del crecimiento microalgal
Curva de crecimiento bacteriano



Fuente: Disponible en: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Curva_de_crecimiento_svg

Figura 19: cultivo inicial a los 17 días de ser cultivado



3.1.1 Escalamiento del cultivo. El primer escalamiento se realiza a las diluciones mencionadas en la metodología. A los 17 días de realizado el segundo escalamiento se observa que el color de la microalga no era el verde oscuro esperado. Con el fin de estimular el crecimiento microalgal, se instala una lámpara led para proporcionar mayor intensidad lumínica al cultivo, debido a que la luz solar en los fotoperiodos de 12 horas no es suficiente, por lo tanto, la microalga no puede realizar la fotosíntesis y no crece adecuadamente. Una posible causa de que la luz solar sea insuficiente, pudo ser que en el período de tiempo en el que se ha realizado el cultivo, se presenta una temporada de lluvias inusual que trae consigo la disminución de la intensidad de luz solar debido a la nubosidad. (ANEXO A: Informe IDEAM, mes de abril).

A los 8 días de intensificar la luz, por medio de luz artificial, la microalga alcanzó su fase estacionaria. A los 23 días de realizado el segundo escalamiento, se llevó a cabo la tercera dilución alcanzando su fase de estacionaria a los 18 días de realizada para obtener un volumen total aproximado de 6 L de microalga (Figura 20)

Figura 20. Escalamiento y crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*



3.2. PREPARACIÓN DE LA HARINA DE SEMILLA DE MORINGA

Se retira la cascará de la semilla de moringa hasta obtener los cotiledones, estos se empacaron en una bolsa hermética para evitar posibles contaminantes (Figura 21).

Figura 21: Cotiledones de la semilla de moringa



Los cotiledones se pesaron en una balanza analítica. El peso inicial fue 207,2 g. Luego se llevan al molino de martillos. Al final de la molienda se pesa la harina dando un valor de 172,3 g, esto debido a que parte del material se aglutinó y quedó pegado a las paredes del molino.

Por último, se realiza el tamizado. La literatura dice que el tamaño de partícula adecuado para harina de semilla de moringa es de 860- 420 μm ⁵¹; sin embargo, en el laboratorio no hay mallas con 420 μm de diámetro de poro por lo que se decide utilizar mallas de 750 μm y 500 μm . Se tamiza la harina por 5 minutos.

Se halla la masa retenida de harina de moringa en cada malla con la ecuación 4:

Ecuación 4. Masa de HSM retenida

$$\text{Masa retenida} = \text{peso final del tamiz} - \text{peso inicial del tamiz}$$

Y el porcentaje retenido de harina de moringa en cada malla con la ecuación 5:

Ecuación 5. Porcentaje de HSM retenido

$$\% \text{ retenido} = \frac{\text{masa retenida}}{\text{masa inicial}} \times 100\%$$

Para la malla con diámetro de poro de 750 μm el peso inicial fue 367.3 g y el peso final de 398.3 g. El peso retenido fue de 31 g y el porcentaje de masa retenido de: 18%.

Para la malla de 500 μm cuyo peso inicial fue de 337,1 g y peso final 362,6 g el peso retenido fue de 25,5 g de harina y el porcentaje retenido de 14,8%

El peso final en el fondo del tamiz fue de 100,7 g con un diámetro de partícula de 500 μm (Figura 22). El porcentaje de retención en los fondos fue 58,44%

Figura 22. Harina de semilla de moringa después del tamizado



⁵¹ TEIXEIRA, Cláudia Maria Luz Lapa; KIRSTEN, Fabiana Vasconcelos; TEIXEIRA, Pedro Celso Nogueira. Evaluation of Moringa oleifera seed flour as a flocculating agent for potential biodiesel producer microalgae. *Journal of applied phycology*, 2012, vol. 24, no 3, p. 557-563.

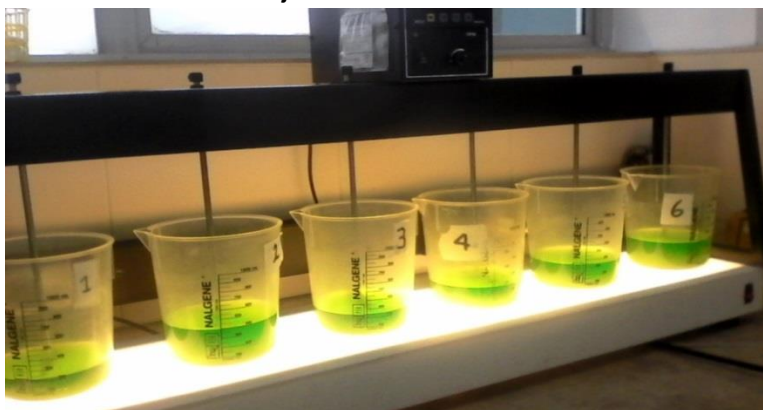
3.3. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FLOCULANTE HARINA DE SEMILLA DE MORINGA

Para determinar la concentración adecuada de floculante harina de semilla de moringa, HSM, en la separación de biomasa microalgal *Chlorella vulgaris* se realiza el diseño de experimentos con los siguientes valores: 0,2; 0,6; 1,0 y 1,4 g/L, considerando que, según Teixeira⁵², a éstos valores se puede obtener una eficiencia alta, hasta de un 85% en la floculación.

3.3.1 Test de jarras. El test, o ensayo, de jarras se utiliza a nivel laboratorio para evaluar los procesos de coagulación y floculación de aguas residuales. Consta de 6 jarras con sus respectivos agitadores, que a unas determinadas y contantes revoluciones por minutos (rpm) optimizan los procesos de floculación y coagulación para así determinar principalmente las dosis de floculantes y coagulantes, el pH óptimo, y el tiempo de sedimentación que se deben utilizar en este proceso.

En el test se colocaron 6 jarras con 200 mL de la microalga *Chlorella vulgaris*. El volumen de floculante agregado a cada jarra se calcula con la ecuación 1 para obtener así las concentraciones deseadas: jarra 1: Blanco; jarra 2: 1,0 g/L de floculante sulfato de aluminio; jarra 3: 0,2 g/L; jarra 4: 0,6; jarra 5: 1,0 g/L y jarra 6: 1,4 g/L de harina de semilla de moringa, como se ve en la figura 23.

Figura 23. Primer test de jarras determinación de la concentración

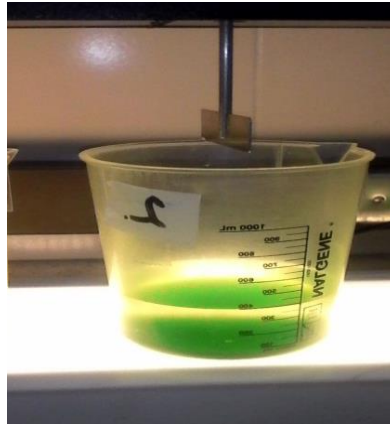


Se realiza el test de jarras a las condiciones iniciales mostradas en la tabla 3: primero la agitación rápida, donde el floculante interactúa con el cultivo de microalga *Chlorella vulgaris* y se desestabilizan las partículas coloidales: en este caso, las células microalgales. Después, se realiza la agitación lenta para la formación de flóculos, aglomeración y posterior precipitación. En jarras con el

⁵²TEIXEIRA, Cláudia Maria Luz Lapa; KIRSTEN, Fabiana Vasconcelos; TEIXEIRA, Pedro Celso Nogueira. Evaluation of Moringa oleifera seed flour as a flocculating agent for potential biodiesel producer microalgae. *Journal of applied phycology*, 2012, vol. 24, no 3, p. 557-563.

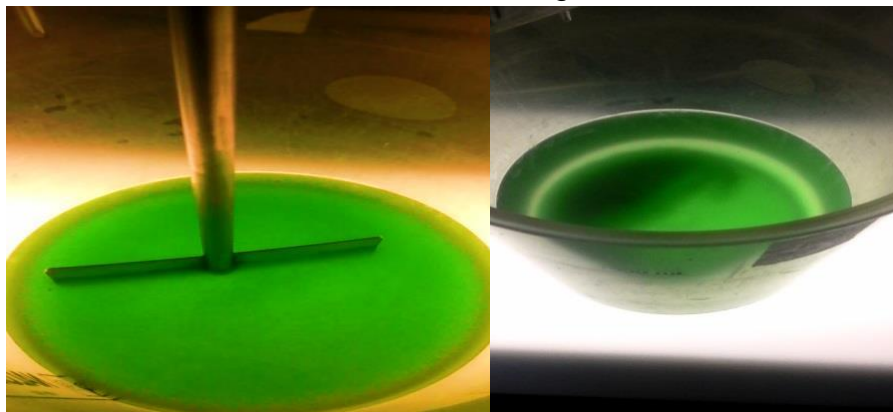
floculante HSM no se logra observar los procesos de coagulación y floculación, se dejan más tiempo (40 min) en la agitación lenta; sin embargo, se sigue observando el mismo comportamiento. En este test de jarras se evalúa la acción floculante del sulfato de aluminio (jarra 2) para su comparación con el floculante HSM. En la jarra 2 se observa la formación y aglomeración de flóculos, con un tiempo de sedimentación medido de 7 min, precipitando la mayoría de los flóculos formados, como se observa en la Figura 24.

Figura 24: Jarra floculante sulfato de aluminio 1,0 g/L


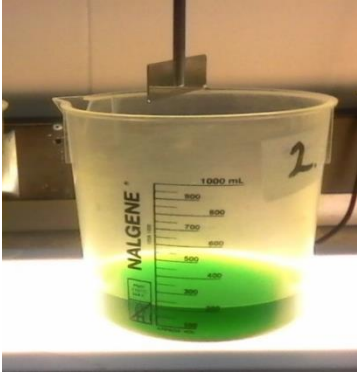
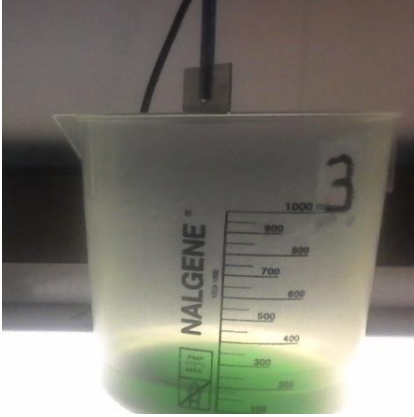


Se realiza el test de jarras utilizando un nuevo lote de harina de semilla de moringa con un diámetro de partícula de 720 μm mayor al anteriormente indicado debido a que sólo se contaba con una malla de ese diámetro, y está dentro del rango anteriormente mencionado en la metodología. El test se hace a las condiciones iniciales y las concentraciones mostradas en las tablas 2 y 3 respectivamente. El tiempo de sedimentación medido es de 60 min hasta observar que la mayoría de flóculos formados han precipitado. Ver Figura 25.


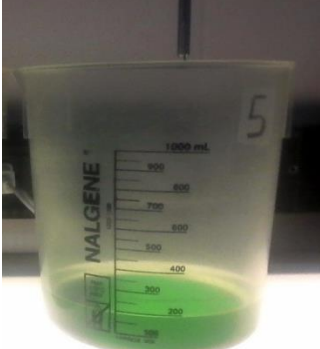
Figura 25. Desestabilización de partículas y precipitación de flóculos con harina de semilla de moringa



Cuadro2. Ensayo jarra determinación de la concentración de floculante HSM

 <p>Blanco test de jarras concentración</p>	<p>Blanco cultivo de <i>Chlorella vulgaris</i> sin floculante.</p>
	<p>En la jarra 2, a la concentración de 0,2 g/L de harina de semilla de moringa se observa poca formación de flóculos casi imperceptible. Después del tiempo de sedimentación poca cantidad de biomasa precipita al fondo de la jarra.</p>
	<p>A la concentración de 0,3 g/L de harina de semilla de moringa se observa mayor formación de flóculos de pequeño tamaño; sin embargo, éste está disperso y esto impide que precipite al fondo de jarra. Después del tiempo de sedimentación de 60min se notó formación de las 2 fases, el sobrenadante y el producto precipitado, la biomasa microalgal.</p>

Cuadro2. (continuación)

 <p>Una jarra de plástico con una etiqueta que dice '4'. Contiene un líquido verde turbio que se ha sedimentado, dejando un líquido más claro en la parte superior y una capa de flocos verdes en la parte inferior.</p>	<p>La jarra con la concentración de 1 g/L de floculante forma una alta cantidad de flóculos. Después del tiempo de sedimentación no todos los flóculos precipitaron; parte de ellos se quedaron en el sobrenadante, debido a su pequeño tamaño.</p>
 <p>Una jarra de plástico con una etiqueta que dice '5'. Contiene un líquido verde turbio que se ha sedimentado, dejando un líquido más claro en la parte superior y una capa de flocos verdes en la parte inferior.</p>	<p>A la concentración de 1,4 g/L el comportamiento del floculante es similar al de la concentración de 1 g/L sin embargo a 1,4 g/L sedimentó más flóculos; se logra ver menos turbio el sobrenadante.</p>

3.3.2. Conteo celular. Con la Cámara de Neubauer se contaron las células microalgales antes y después de la floculación realizada con el nuevo lote de harina de semilla de moringa de diámetro de partícula de 720 μ m a las concentraciones de floculante anteriormente dadas. Para calcular la concentración de células presentes en el cultivo, cada conteo se realizó por triplicado y se sacó un promedio de las células presentes. Con la ecuación 2 se calcula la concentración celular por cada mililitro de muestra.

Tabla 6. Promedio del número de células y su desviación estándar a distintas concentraciones de floculante

g/L Floculante	Promedio Número de células	Desviación estándar
Sin flocular	509 inicial	8,71
1,0 SO ₄ Al	15	2,03
0,2 HSM	367	4,74
0,6 HSM	265	5,56
1,0 HSM	202	8,14
1,4 HSM	220	7,02

Tabla 7. Número de células y concentración celular a distintas concentraciones de floculante

g/L Floculante	Número de células	Concentración cel./mL
Sin flocular	509 inicial	5,1E+06 inicial
1,0 SO ₄ Al	15	1,5E+05
0,2 HSM	367	3,7E+06
0,6 HSM	265	2,65E+06
1,0 HSM	202	2,02E+06
1,4 HSM	220	2,20E+06

3.3.3 Densidad óptica. La densidad óptica (DO) es una medida indirecta que permite evaluar de manera rápida la concentración microalgal. Se tomó una muestra de la parte clara de la floculación en una celda que se introdujo el espectrofotómetro para la lectura de DO a una longitud de onda de 680 nm⁵³.

Tabla 8. Valores de DO a las distintas concentraciones de floculante harina de semilla de moringa

Concentración de floculante	DO muestras (Abs a 480nm)
Do inicial muestra sin floculante	2,01
0,2 g/L	1,32
0,6 g/L	0,81
1,0 g/L	0,73
1,4 g/L	0,65

Los valores de DO mostrados en la tabla 8 son valores promediados se realizaron medidas por triplicado y se obtuvo el promedio.

3.3.4 Cálculo de la eficiencia. Para calcular la eficiencia de la floculación se utiliza la ecuación 3

Ecuación 3. Cálculo de la eficiencia

$$\% \text{ Eficiencia} = \frac{DO_{\text{final}} - DO_{\text{inicial}}}{DO_{\text{inicial}}} \times 100$$

⁵³Ibid p.403

Tabla 9. Eficiencia de la floculación a las distintas concentraciones de floculante harina de semilla de moringa.

Concentración g/L	Eficiencia (%)
0,2	34,33%
0,6	59,70%
1,0	63,68%
1,4	67,66%

Tabla 10. DO y eficiencia del floculante $Al_2(SO_4)_3$

Concentración $Al_2(SO_4)_3$	DO mg/L	Eficiencia (%)
1g/L	0,01	99,50%

3.4 DETERMINACIÓN DEL pH ADECUADO DEL FLOCULANTE HARINA DE SEMILLA DE MORINGA

Para la determinación del pH adecuado de la floculación en el diseño de experimentos se toma la concentración de 1,4 g/L debido a que fue la concentración a la que se encontraron eficiencias mayores. Se establecen 5 pH's abarcando los rangos ácido, neutro y básico, los valores son: 4,0; 7,0; 8,5; 9,4 y 10,4.


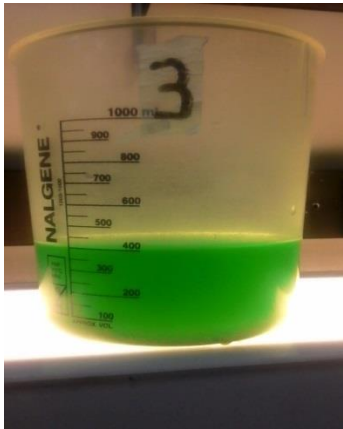
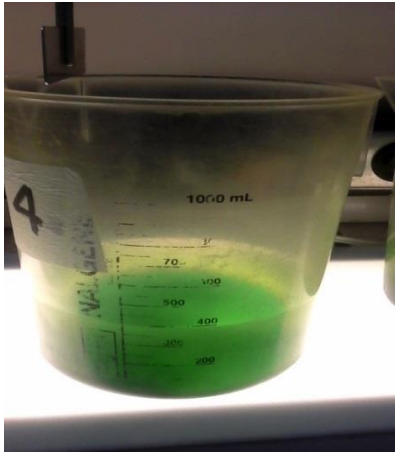
3.4.1 Ensayo de jarras. El test de jarras se realiza a una concentración de floculante harina de semilla de moringa de 1,4 g/L y a los pH's mostrados en la tabla 5

Figura 26. Test de jarras determinación del pH





La agitación rápida y la agitación lenta se llevan a cabo por el mismo periodo de tiempo que en el test de jarras de la concentración a 5 y 30 min respectivamente.

Cuadro 3. Ensayo jarras determinación del pH óptimo de floculación con HSM

 <p>A 1000 mL beaker with a green liquid. A handwritten '2' is on the side. The liquid is clear with a thin green layer on top.</p>	<p>La jarra con el pH de la microalga ajustado a 4 presenta una especie de nata de color verde en la superficie. Después del tiempo de sedimentación se observa que parte de microalga precipitó.</p>
 <p>A 1000 mL beaker with a green liquid. A handwritten '3' is on the side. The liquid is clear with a thin green layer on top.</p>	<p>La jarra 3 con el pH neutro 7,0 de la microalga forma pocos flóculos. Después del tiempo de sedimentación no se pudo observar correctamente la clarificación.</p>
 <p>A 1000 mL beaker with a green liquid. A handwritten 'A' is on the side. The liquid is clear with a thin green layer on top.</p>	<p>En el pH ajustado de 8,5 el floculante harina de semilla desestabilizó las células microalgales que formaron flóculos de pequeño tamaño y después de 3 60 min sedimentaron en el fondo de la jarra.</p>

Cuadro 3.(continuación)

	<p>Al pH de 9,39 se observa la formación de flóculos pequeños y su posterior precipitación después de 60 min de tiempo de sedimentación.</p>
	<p>Al pH 10,4 el proceso de floculación se observa la formación de las 2 fases el sobrenadante y el producto sedimentado igual que a los pH 8,5 y 9,3pH</p>

3.4.2 Conteo celular. Se contaron las células microalgales y se saca el promedio como se muestra en la tabla 11.

Tabla 11. Promedio de células y desviaciones a los distintos pHs .

pH	Promedio Número de células	Desviación estándar
7,02 Sin flocular	219 inicial	8,14
4,0	118	3,46
7,0	136	4,32
8,5	70	5,72
9,39	69	3,13
10,4	103	7,33

El número de células se fue menor que en la determinación de la concentración mostrada en la tabla 8 puesto que se agregó mayor volumen de floculante usando la preparación más diluida; por esto a la muestra de microalga tomada de 200 mL usada para el blanco se diluyó a un volumen de 400 mL con agua destilada con el fin de obtener la misma disolución que en las jarras de floculante y evitar errores en el conteo.

Los datos de número y concentración celular inicial y al terminar el proceso floculación con un tiempo de sedimentación de 60 min son mostrados en la tabla 12.

Tabla 12. Número de células y concentración celular a los distintos pH

pH	Número de células	Concentración celular
7,02 Sin flocular	219 inicial	2,19E+6 INICIAL
4,0	118	1,18E+6
7	136	1,36 E+6
8,5	70	7,00E+5
9,39	69	6,90E+5
10,4	103	1,03E+6

3.4.3 Densidad óptica. Se tomaron las mediciones de densidad óptica en el espectrofotómetro por triplicado y se sacó un promedio en la tabla 13 se muestran los resultados

Tabla 13. Medida de DO a los distintos pH

pH	DO (Abs a 480 nm)
7,02 pH inicial	1,5 DO inicial sin flocular
4	0,50
7	0,57
8,5	0,43
9,39	0,46
10,4	0,49

3.4.4 Calculo de la eficiencia. La eficiencia de la floculación a los diferentes pH se calculó con la ecuación 6.

Tabla 14. Eficiencia floculación a distintos pH

pH	Eficiencia (%)
4	66,66%
7	62,00%

Tabla 15.(continuación)

pH	Eficiencia (%)
8,5	71,33%
9,39	69,33%
10,4	67,33%

3.5 COMPARACIÓN CON EL MÉTODO DE CENTRIFUGACIÓN

La muestra de 200 mL se separa por método más utilizado en la industria: la centrifugación, a las condiciones mostradas en la metodología.

3.5.1 Medida de densidad óptica y cálculo de eficiencia. Se mide la DO antes y después del proceso de centrifugación para calcular la eficiencia; los resultados de absorbancia se muestran en la tabla 15.

Tabla 15. Datos de DO para el proceso de centrifugación

Do inicial	Do final (Abs a 680nm)
2,08	0,04

La eficiencia se calcula con la ecuación 6 y sus resultados de muestra en la tabla 16.

Tabla 16. Eficiencia proceso de centrifugación

Eficiencia Centrifugación	98,07%
----------------------------------	--------

4. DISCUSIÓN

4.1 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE HARINA DE SEMILLA DE MORINGA

En el diseño de experimentos se escogieron los valores de concentración: 0,2; 0,6; 1 y 1,4 g/L por las razones indicadas en la metodología. Artículos de Endut⁵⁴, Hamid⁵⁵, usa concentraciones alrededor de 1 mg/L de harina de moringa, mucho menores a las escogidas y obtienen eficiencias del 95 %, debido a que la semilla de moringa es purificada retirando la grasa, que representa aproximadamente el 40% en peso de la semilla⁵⁶ y posteriormente se somete a un proceso de extracción de la proteína catiónica coagulante.

4.1.1 Ensayo de jarras. La principal causa de la deficiente floculación en el primer test de jarras, es la harina de semilla de moringa porque dura bastante tiempo, (aproximadamente un mes) en el empaque que no está herméticamente sellado. Esto causa que la harina absorba humedad afectando directamente las proteínas catiónicas coagulantes, impidiendo que se diese correctamente la floculación.

En el segundo test de jarras realizado con el nuevo lote de harina de semilla de moringa se observa una mayor separación de la biomasa microalgal. El tiempo de agitación rápida fue de 5 minutos, después de los cuales ocurre la desestabilización de las partículas coloidales. El tiempo de agitación rápida es de 30 minutos, durante los cuales se forman los flóculos pequeños que se aglomeran de manera regular para su posterior precipitación. El tiempo de sedimentación es de 60 minutos, al final de los cuales, se observa que la mayoría de los flóculos formados precipitan y se forman las 2 fases: el sobrenadante y el producto sedimentado. En el artículo de Teixeira⁵⁷ el tiempo de sedimentación en el que ocurre la mayor separación de biomasa microalgal es de 460 min, en este tiempo no sólo influye la acción del floculante, sino también, al dejar el cultivo de microalga sin agitación por más de 60 min parte de las células sedimentan por un fenómeno denominado autofloculación y también por acción de la gravedad. Como lo explica Hansel en su tesis⁵⁸ ocurre la autofloculación cuando las células

⁵⁴ENDUT, Azizah, et al. Moringa oleifera SEED DERIVATIVES AS POTENTIAL BIO-COAGULANT FOR MICROALGAE *Chlorella* Sp. HARVESTING. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 2016, vol. 20, no 2, p. 401-412.

⁵⁵ HAMID, Siti Hajar Abdul, et al. Harvesting microalgae, *Chlorella* sp. by bio-flocculation of Moringa oleifera seed derivatives from aquaculture wastewater phytoremediation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2014, vol. 95, p. 270-275.

⁵⁶ MENDOZA, Iván, et al. Uso de la Moringa oleifera como coagulante en la potabilización de las aguas. *Ciencia*, 2000, vol. 8, no 2.

⁵⁷ Ibid., p.557

⁵⁸ HANSEL, Philip A.; RIEFLER, R. Guy; STUART, Benjamin J. sobre Efficient flocculation of microalgae for biomass production using cationic starch. *Algal Research*, 2014, vol. 5, p. 133-139.

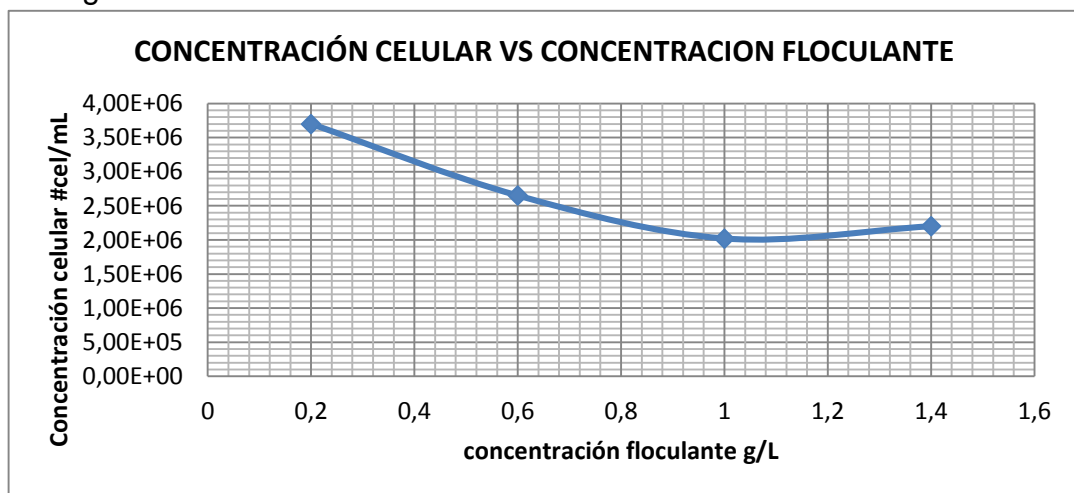
microalgales en su fase estacionaria acumulan sustancias como lípidos, proteínas y polisacáridos; éstos últimos son los responsables de que las células microalgales se unan y precipiten.

La harina de semilla de moringa ha sido estudiada en la separación de biomasa microalga por su acción coagulante, dado que la proteína catiónica de la semilla es adsorbida sobre la superficie de las partículas coloides o células microalgales con carga negativa por medio de fuerzas intermoleculares como interacciones dipolo, puentes de hidrogeno y fuerzas de van der Waals. Esto produce la neutralización de la carga y en seguida la estabilización de las partículas coloidales y la formación de flóculos⁵⁹.

Sin embargo, en la experimentación y los test de jarras realizados la acción floculante de la harina de semilla de moringa es baja, al observarse que los flóculos formados no se aglomeraban para formar masas mayores. Por lo tanto, esto hacía difícil que precipitaran y que los flóculos de menor tamaño no permitieran una correcta clarificación.

4.1.2 Conteo celular. El gráfico 1 presenta el comportamiento de la concentración celular de las muestras de microalga dada en #cel/ml con respecto a las concentraciones de floculante harina de semilla de moringa

Gráfico 1: Concentración celular vs concentración de floculante harina de semilla de moringa.



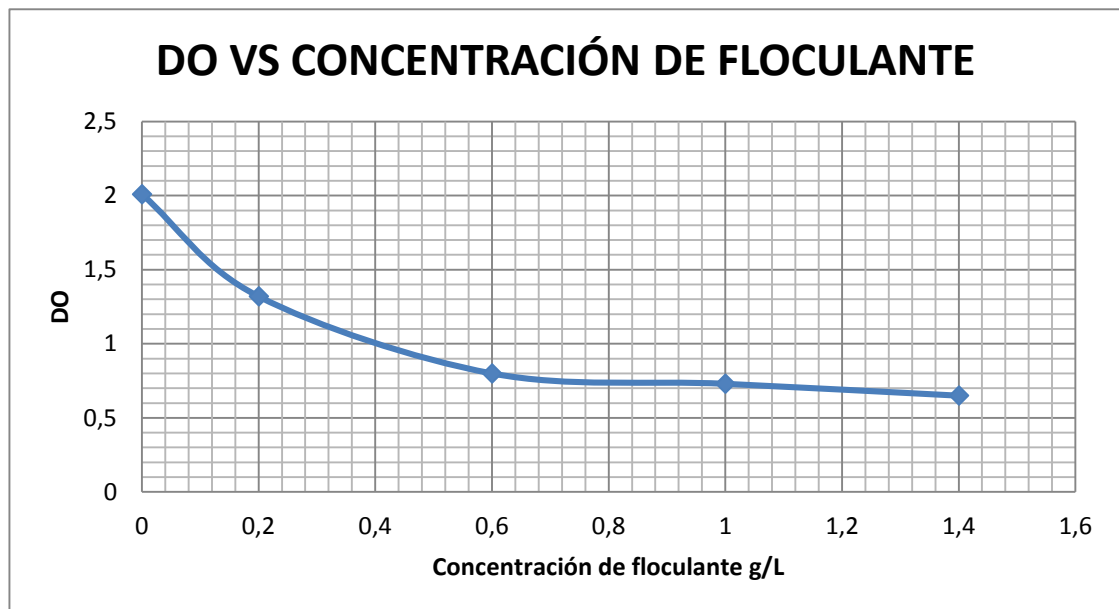
En el gráfico 1 y la tabla 7 se observa que a medida que aumenta la concentración de floculante, disminuye la concentración de células mostrando una relación

⁵⁹ HAMID, Siti Hajar Abdul, et al. Harvesting microalgae, *Chlorella* sp. by bio-flocculation of *Moringa oleifera* seed derivatives from aquaculture wastewater phytoremediation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2014, vol. 95, p. 270-275.

proporcional. Sin embargo, la concentración celular a 1 g/L de floculante da mayor que la concentración de celular a 1,4 g/L de floculante, aunque no varía significativamente; esto se debe que al ser un conteo manual se pueden presentar errores humanos.

4.1.3 Densidad óptica. En el gráfico 2 se muestra el comportamiento de la DO a las distintas concentraciones de floculante harina de semilla de moringa.

Gráfico 2. Efecto de la DO a las distintas concentraciones de floculante.

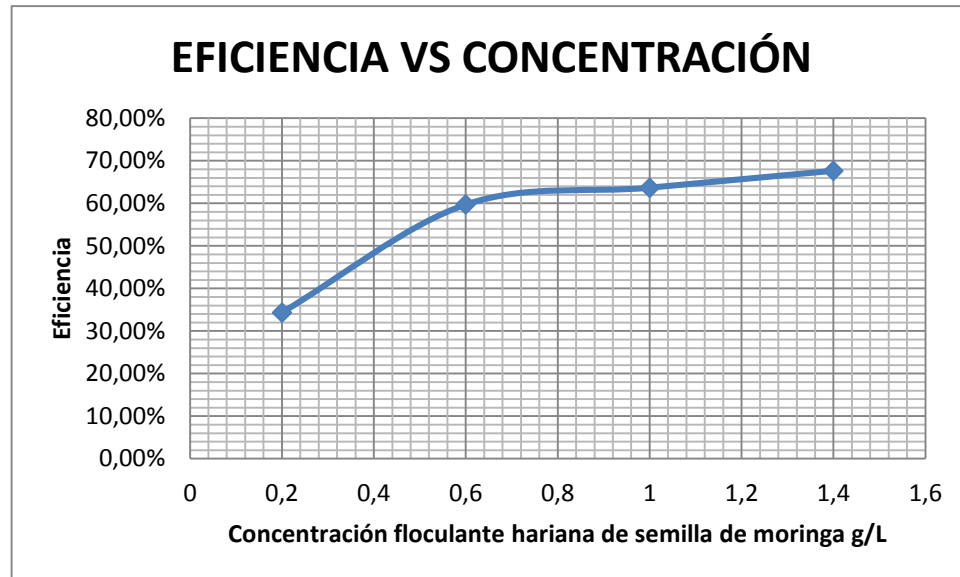


El gráfico 2 presenta el comportamiento de la DO con respecto a la concentración del floculante harina de semilla de moringa. La DO es una medida indirecta de la concentración celular por esto se puede observar que, a mayor concentración de floculante, menor DO y por consiguiente menor presencia de células en la muestra del sobrenadante, lo que es bueno ya que se presenta mayor acción floculante y existe una mayor separación de la biomasa microalgal.

La tabla 8 muestra que a partir de la concentración de 0,6 g/L de harina de moringa, los valores de DO no tienen un decrecimiento significativo, por lo tanto, entre 0,6 y 1,4 g/L se puede encontrar la concentración óptima de floculante.

4.1.4 Eficiencia. En el gráfico 3 se observa la eficiencia de la floculación a las distintas concentraciones de floculante.

Gráfico 3. Eficiencia vs concentraciones de floculante harina de semilla de moringa



En la tabla 9 y el gráfico 3 se puede observar que la eficiencia más alta para la separación de biomasa *Chlorella vulgaris* con un porcentaje de 67,7% se encontró a la concentración de 1,4 g/L de HSM. En los estudios de Hamit⁶⁰, Edut⁶¹ realizados con la harina de semilla de moringa como agente floculante para la separación de biomasa microalgal obtienen eficiencias mayores hasta de un 99 %. El valor de eficiencia de la floculación puede estar influenciado por la preparación de la harina de moringa dado que no se realizó ningún proceso de purificación⁶² además el diámetro de partícula de la harina es grande (720 μm) y al preparar el floculante la harina de semilla no se disolvió correctamente ya que podía contener rastros de cáscara. También el valor de la eficiencia está influenciado por el tiempo de sedimentación que como se mencionó anteriormente, en diferentes estudios manejan tiempos más largos.

El sulfato de aluminio tiene una eficiencia mayor mostrada en la tabla 10 en comparación con la harina de semilla de moringa mostrada en la tabla 9. Este floculante tiene una mejor interacción, desestabilización de las partículas coloidales y mayor formación de flóculos grandes. También un mejor tiempo de sedimentación de 5 min, menor al de la semilla de moringa que es de 60 min.

⁶⁰ HAMID, Siti Hajar Abdul, et al. Harvesting microalgae, *Chlorella* sp. by bio-flocculation of Moringa oleifera seed derivatives from aquaculture wastewater phytoremediation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2014, vol. 95, p. 270-275.

⁶¹ ENDUT, Azizah, et al. Moringa oleifera seed derivatives as potential bio-coagulant for microalgae *Chlorella* sp. harvesting. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 2016, vol. 20, no 2, p. 401-412

⁶² ALI, Eman N., et al. Moringa oleifera seeds as natural coagulant for water treatment. 2009.

No obstante, a pesar de tener una alta eficiencia el sulfato de aluminio deja residuos metálicos en la biomasa microalgal, que pueden interferir en la extracción de lípidos y carotenoides, para su uso destinado a la producción de biodiesel y ácidos grasos. También, afecta en la fracción proteica de la microalga utilizada en la fabricación de alimentos nutricionales⁶³.

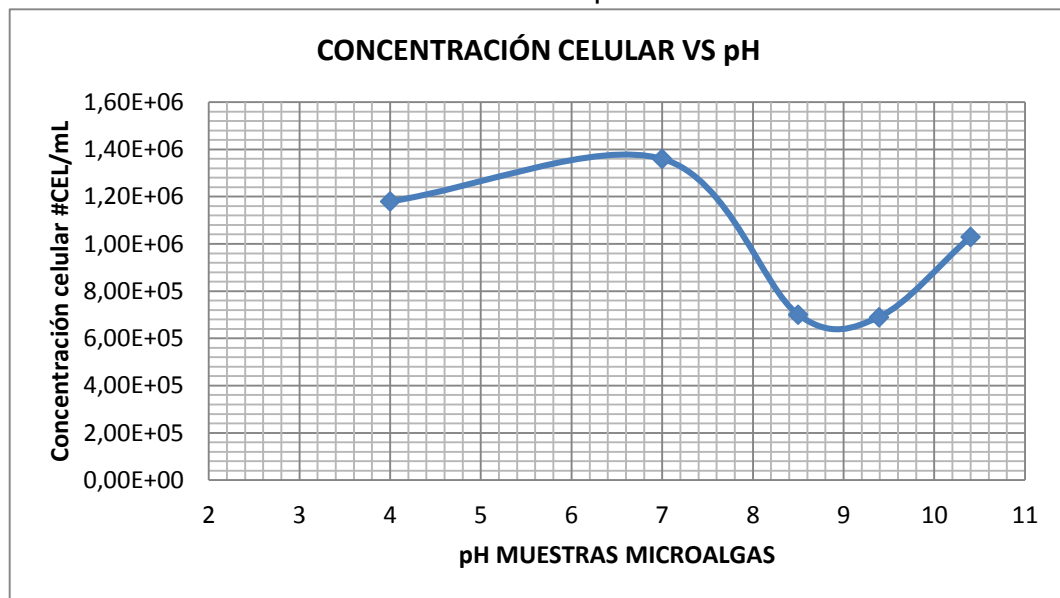
4.2 DETERMINACIÓN DEL pH ÓPTIMO DE FLOCULACIÓN CON HARINA DE SEMILLA DE MORINGA

En ensayo de jarras se evaluó la floculación escogiendo valores de pH en los rangos ácido, neutro y básico.

4.2.1 Test de jarras. En la jarra 2 con el pH 4, rango ácido, el cultivo microalgal de *Chlorella vulgaris* formó una nata en la superficie como consecuencia de que a pH ácidos ocurre muerte celular, la membrana se rompe y el contenido intracelular como lípidos y proteínas son liberados al medio⁶⁴.

4.2.1 Conteo celular. El gráfico 4 presenta el comportamiento de la concentración celular con respecto a la variación de pH de las muestras microalgales en el proceso de floculación.

Gráfico 4. Concentración celular a diferentes pH



⁶³ VANDAMME, Dries. Flocculation based harvesting processes for microalgae biomass production. 2013.

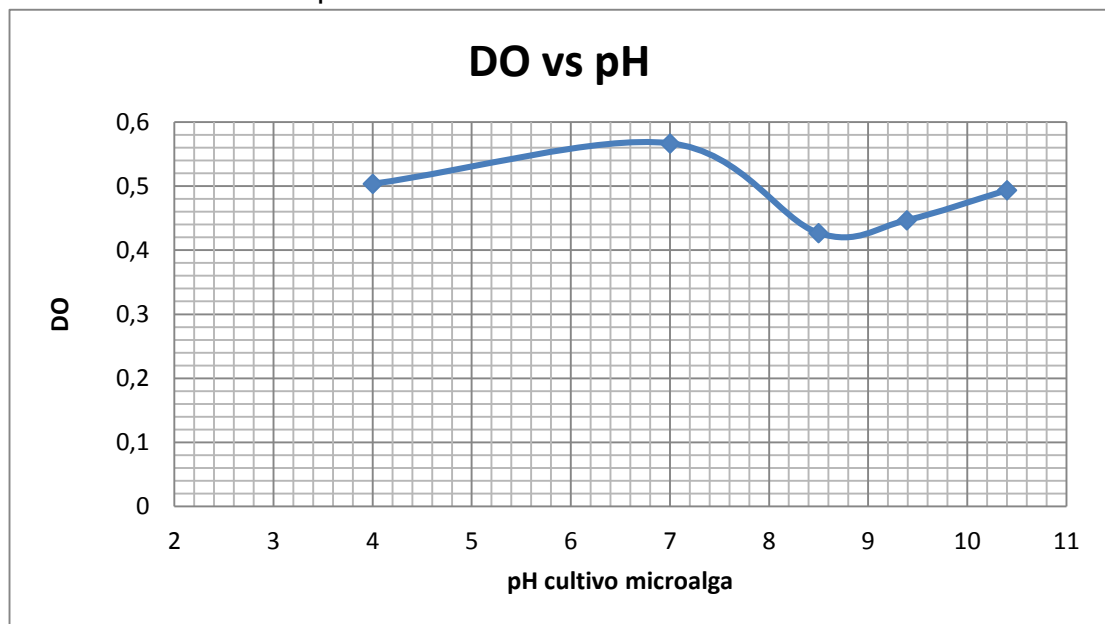
⁶⁴ BERMÚDEZ, José Luis; LODEIROS, César; MORALES, Ever. Producción de biomasa de la microalga marina *Chroomonas* sp., en función del pH, intensidad luminosa y salinidad. 2002

En el gráfico 4 se evidencia que, no hay una relación proporcional entre la concentración celular y los pH. También se observa que a rangos de pH básicos: entre 8 y 9, hay menor concentración de células microalgales. Los datos de concentración celular pueden estar influenciados por errores humanos debido a que al realizar el conteo en el microscopio las células microalgales estaban agrupadas en pequeños flóculos que no sedimentaron y esto hizo difícil su visualización y correcta contabilización.

4.2.2 Densidad óptica DO Los datos de DO tomados para los distintos pH eran similares. Se realizó un análisis de varianza anexo 2.

El valor de F es menor al esperado; por lo tanto, se rechazó la hipótesis nula. En consecuencia, se acepta la hipótesis verdadera: existe un efecto en la DO cuando se varía el pH del cultivo.

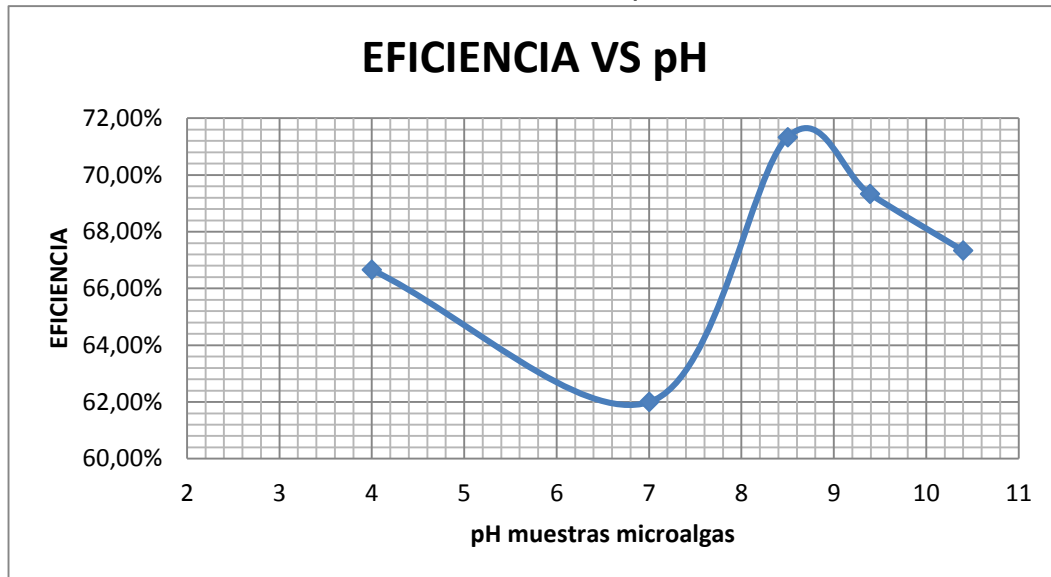
Gráfico 5. Influencia del pH en la DO



En el gráfico 5 se puede observar que la DO a los distintos pH no tiene un comportamiento proporcional. A pH neutro aumenta, en pH básico de 8,5 se encuentra el mayor decrecimiento de DO, pero a medida que se hace más básico el medio la DO vuelve a aumentar.

4.2.3 Cálculo de eficiencia. El gráfico 6 presenta la eficiencia de la floculación a los distintos pH.

Gráfico 6. Eficiencia de la floculación a distintos pH



Al evaluar el pH 4, ácido, se tuvo en cuenta un estudio realizado por Santos⁶⁵, la caracterización de la semilla de harina de moringa, donde se encontró que existe una proteína coagulante, lectina, soluble en agua, cuyo pH óptimo de acción es 4.5. Sin embargo, este estudio fue realizado para el tratamiento de aguas. Para separación de biomasa microalgal la moringa puede comportarse de otra manera por los iones presentes en el medio. Por esto, se observó en la tabla 14 que la eficiencia a pH 4 fue de 66,66 no cambió significativamente a la dada en la tabla 9 67,66% a la concentración de 1,4 g/L.

Los cultivos de *Chlorella vulgaris* se encuentran en los rangos de pH neutros y básicos siendo el pH de 8,2 – 8,7 el óptimo para su crecimiento. El mismo rango en el que se encontró la mayor eficiencia para la floculación 71 %. Se esperaba que a medida que se hiciera más básico el medio aumentará la acción floculante de la moringa puesto que en los estudios realizados las mayores eficiencias se encuentran cerca de pH 9. No obstante, a pH más básicos disminuyó la eficiencia

El pH máximo escogido fue 10,4, ya que a partir de pH mayores a 10,5 se presenta un fenómeno llamado auto floculación por alto pH. Como Vandamme ⁶⁶lo explica en su trabajo de grado a pH alrededor de 10,5 y 11 se forman precipitados de calcio o magnesio debido a la dureza del agua. Estos precipitados llevan cargas superficiales positivas y pueden inducir la floculación, por arrastre o por neutralización de cargas superficiales.

⁶⁵ SANTOS, A. F. S., et al. Detection of water soluble lectin and antioxidant component from Moringa oleifera seeds. *Water Research*, 2005, vol. 39, no 6, p. 975-980.

⁶⁶ Vandamme, D., Foubert, I., Fraeye, I., Meesschaert, B., & Muylaert, K. (2012). Flocculation of *Chlorella vulgaris* induced by high pH: role of magnesium and calcium and practical implications. *Bioresource technology*, 105, 114-119.

5. ANÁLISIS DE COSTOS

El análisis de costos se realiza comparando el proceso de floculación con harina de semilla de moringa con el proceso más usado en la industria para la separación de biomasa microalgal: la centrifugación.

5.1 COSTO PROCESOS FLOCULACIÓN.

Para analizar los costos del proceso de floculación se parte de una producción de microalga de 1200 L este volumen base se escogió del artículo: Desarrollo, producción y beneficio ambiental de la producción de microalga. La experiencia en La Guajira, Colombia⁶⁷ dado que es un dato de un cultivo experimental de microalga realizado en Colombia puesto que en este país no se encuentran datos de refinerías dedicadas al cultivo de microalga.

Se realiza el cálculo para saber cuántos kg de floculante harina de semilla de moringa se necesitan para separar el volumen base de producción. Utilizando la concentración de 1,0 g/L dado que con esta se encontró menor concentración celular y se obtuvieron eficiencias similares a las de 1,4 g/L, hasta que realice se un nuevo estudio que determine que se debe usar 1,4 g/L DE HSM se calculan los costos con la concentración de 1,0 g/L.

$$kg \text{ de harina de moringa} = \frac{1,0g}{1l} * 1200L = 1200g * \frac{1Kg}{1000g} = 1,2 Kg$$

Posteriormente, se calcula el costo de la semilla de moringa teniendo en cuenta que al retirar la cáscara y moler la semilla, existe una pérdida aproximada del 30% en peso.

$$1kg - (1kg * 0,3) = 0,7kg$$

$$1,2kg * \frac{50000 \text{ pesos}}{0,7kg} = 85.720 \text{ pesos}$$

5.2 COMPARACIÓN CON EL PROCESO DE CENTRIFUGACIÓN

Para estimar los costos de centrifugación se requiere saber el tiempo de funcionamiento de la centrifuga para separar el volumen de microalga requerido.

⁶⁷ GOMEZ, Mario A. Colorado; TIRADO, Diego A. Moreno; POSADA, Jesica L. Perez. Desarrollo, producción y beneficio ambiental de la producción de microalgas. La experiencia en La Guajira, Colombia. *Ambiente y Desarrollo*, 2013, vol. 17, no 32, p. 113.

Para esto se parte de la conversión que un volumen de microalga 720 mL que es la capacidad de la centrifuga utilizada es separado en 10 min.

$$1200 L * \frac{10 \text{ min}}{0,72 L} * \frac{1h}{60 \text{ min}} = 278 h \sim 280 h$$

Para calcular la cantidad de energía que se tiene la potencia máxima que consume una centrifuga con esa capacidad que es de 850 W⁶⁸.

$$850 W * \frac{1kW}{1000 W} * 280 h = 238 kWh$$

Por ultimo este valor de potencia se multiplica por el valor del kWh en Colombia que es de 471.91 pesos ⁶⁹

$$238 kWh * 471,91 \text{ pesos} = 112.315 \text{ pesos}$$

En comparación el método de centrifugación tiene una mayor eficiencia del 98,07%. que el método de floculación con un porcentaje de 64% a una concentración de 1,0 g/L HSM. Sin embargo el primero genera costos mayores de 112.315 pesos , mientras el de floculación tiene costos de 85.720 pesos esto hace más viable el uso de HSM para la separación de biomasa microalgal de su medio de cultivo.

⁶⁸ Tomado de: <http://www.cienytec.com/lab2centrifugas.htm>

⁶⁹ Tomado de: <http://www.celsia.com/Portals/0/contenidos-celsia/nuestra-empresa/pdf/marco-regulatorio/tarifas/tarifas-2017/tarifas-epsa-enero-2017.pdf>

6. CONCLUSIONES

- En el cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* se determinó que un factor fundamental para el crecimiento microalgal son los fotoperiodos debido a que el cultivo requiere estar expuesto a luz para que la microalga realice una correcta fotosíntesis y de esta manera pueda aumentar su biomasa.
- Mediante ensayos de jarras se determinó que la concentración adecuada de floculante harina de semilla de moringa para la separación de biomasa microalga *Chlorella vulgaris* es de 1,4 g/L dando una eficiencia de floculación del 67,66% y con un tiempo de sedimentación de 60 min hora. La concentración encontrada fue evaluada sin realizar ningún proceso de purificación de la semilla como extracción de aceites o extracción de la proteína coagulante.
- A la concentración de 1,0 g/L de harina de semilla de moringa se encontró una menor concentración de celular, sin embargo tiene una alta desviación que puede ser causada por errores humanos.
- El pH óptimo de floculación con harina de semilla de moringa se encontró en el rango básico con un valor de 8,5. Este valor hace más viable el uso del floculante harina de semilla de moringa ya que está en el rango de pH óptimo de crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* y en el cual se encuentran la mayoría de cultivos.
- La harina de semilla de moringa sería una alternativa para la separación de biomasa microalgal para aplicaciones tales como suplementos nutricionales, dado que no deja residuos que puedan afectar la parte proteica de la microalga.
- Al analizar los costos del proceso de floculación con harina de semilla de moringa se encontró que este proceso (1,0 g/L de HSM) es menos costoso que el comúnmente utilizado en la industria: la centrifugación; sin embargo es necesario realizar un estudio más profundo en donde se confirme la mejor concentración de HSM que se debe emplear.

7. RECOMENDACIONES

- Es recomendable moler y tamizar la harina de semilla de moringa en un diámetro de 500- 420 μm para evitar que quede contaminada con residuos de cáscara.
- Se recomienda realizar una curva de crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* para determinar con más exactitud el tiempo de cada fase del crecimiento microalgal.
- Se recomienda realizar la purificación de la harina de semilla de moringa extrayendo los aceites presentes y la proteína catiónica coagulante para así obtener mayores eficiencias en la floculación.
- Se recomienda realizar una curva de calibración que relacione los datos de densidad óptica y concentración celular para obtener datos más precisos en cuanto a la concentración de células presentes en las muestras después de la floculación.
- Se recomienda realizar el proceso de floculación evaluando el rango neutro con más valores de pH ya que en este rango se encuentra la mayor eficiencia.

BIBLIOGRAFIA

ALI, Eman N., et al. Moringa oleifera seeds as natural coagulant for water treatment. 2009.

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.

BERMEO CASTILLO, Lorena Elizabeth. *Estudio del cosechado de cultivos de microalgas en agua residual mediante técnicas de centrifugado*. 2011. Tesis de Maestría. Universidad de Cádiz/2011.

CARTAGENA ARÉVALO, Julián Camilo; MALO MALO, Brian Orlando. *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*. 2017. Tesis de Licenciatura. Fundación Universidad de América.

DEL POZO PÉREZ, Ángel. Producción y valorización de biomasa de microalgas: un enfoque de biorrefinería. *EN: El hombre y el medio ambiente: XIV Jornadas Ambientales*. Ediciones Universidad de Salamanca, 2014.

ENDUT, Azizah, et al. Moringa oleifera seed derivatives as potential bio-coagulant for microalgae *Chlorella* sp. harvesting. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 2016, vol. 20, no 2, p. 401-412.

FERNÁNDEZ-LINARES, Luis Carlos, et al. Producción de biocombustibles a partir de microalgas. *Ra Ximhai*, 2012, vol. 8, no 3b, p. 101-115.

FOLKARD, Geott; SUTHERLAND, John. *Moringa oleífera* un árbol con enormes potencialidades. 1998.

GOMEZ, Mario A. Colorado; TIRADO, Diego A. Moreno; POSADA, Jesica L. Perez. Desarrollo, producción y beneficio ambiental de la producción de microalgas. La experiencia en La Guajira, Colombia. *Ambiente y Desarrollo*, 2013, vol. 17, no 32, p. 113.

GROBBELAAR, Johan U. Algal Nutrition–Mineral Nutrition. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology, 2004, p. 95-115.

HAMID, Siti Hajar Abdul, et al. Harvesting microalgae, *Chlorella* sp. by bio-flocculation of *Moringa oleifera* seed derivatives from aquaculture wastewater phytoremediation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2014, vol. 95, p. 270-275.

HANSEL, Philip A.; RIEFLER, R. Guy; STUART, Benjamin J. Efficient flocculation of microalgae for biomass production using cationic starch. *Algal Research*, 2014, vol. 5, p. 133-139.

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. 110p.

_____. 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.

JARAMILLO OBANDO, Juan Jacobo, et al. *Evaluación tecno-económica de la producción de biocombustibles a partir de microalgas - Techno-economic assessment of biofuel production from microalgae*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Colombia-Sede Manizales.

MENDOZA, Iván, et al. Uso de la *Moringa oleifera* como coagulante en la potabilización de las aguas. *Ciencia*, 2000, vol. 8, no 2.

MICHELE Greque De Morais, J.A.V.C., Biofixation of Carbon Dioxide by *Spirulina* Sp. and *Scenedesmus Obliquus* Cultivated in a Three-Stage Serial Tubular Photobioreactor. *Journal Of Biotechnology*, 2007. 129: P. 439-445.

MONTES, Santos, et al. Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas. 2014

MUYIBI, Suleyman A.; EVISON, Lilian M. *Moringa oleifera* seeds for softening hardwater. *Water Research*, 1995, vol. 29, no 4, p. 1099-1104.

RIVERO GONZALEZ, Roger Dennis, et al. Cultivo de *Chlorella vulgaris* sobre residuales industriales: buena alternativa responsable y útil. En *Universidad 2010. Co Internacional de la Educación Superior*, e-libro, Corp., 2010.

SANDOVAL, Juan Andrés; RUBIO, Diego. Revisión de artículos sobre floculación de microalgas. *Revista de investigación*, 2016, Vol. 9, No.2, p. 114-132

SANTOS, A. F. S., et al. Detection of water soluble lectin and antioxidant component from *Moringa oleifera* seeds. *Water Research*, 2005, vol. 39, no 6, p. 975-980.

TEIXEIRA, Cláudia Maria Luz Lapa; KIRSTEN, Fabiana Vasconcelos; TEIXEIRA, Pedro Celso Nogueira. Evaluation of *Moringa oleifera* seed flour as a flocculating agent for potential biodiesel producer microalgae. *Journal of applied phycology*, 2012, vol. 24, no 3, p. 557-563.

TOVAR SALAMANCA, Jhonnathan Camilo; RUÍZ DÍAZ, Jenny Paola. *Propuesta de escalamiento de un fotobioreactor para la microalga Chlorella Vulgaris a nivel piloto*. 2016. Tesis de Licenciatura. Fundación Universidad de América.

VANDAMME, Dries, et al. Flocculation of *Chlorella vulgaris* induced by high pH: role of magnesium and calcium and practical implications. *Bioresource technology*, 2012, vol. 105, p. 114-119.


VANDAMME, Dries. Flocculation based harvesting processes for microalgae biomass production. 2013.

VEGA, Bertha Olivia ARREDONDO; VOLTOLINA, DOMENICO. Concentración, recuento celular y tasa de crecimiento.

VEGA, BOA; VOLTOLINA, D. Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal, 2007, vol. 1, p. 17-25.

ANEXO A

INFORME DEL IDEAM PARA EL MES DE ABRIL

 INSTITUTO DE METEOROLOGÍA Y CLIMATOLOGÍA DE COLOMBIA

Boletín Climatológico Mensual

ABRIL DE 2017

Contenido

1. LO MÁS DESTACADO
2. CONDICIONES DE MACROESCALA
3. CONDICIONES METEOROLÓGICAS
 - 3.1 PRECIPITACIÓN
 - 3.2 TEMPERATURA
 - 3.3 SEGUIMIENTO DIARIO-MENSUAL-SEMESTRAL Y ANUAL DE LA PRECIPITACIÓN Y LA TEMPERATURA

1. LO MÁS DESTACADO

Un ENSO-neutral persistió durante el mes de abril, con temperaturas cerca del promedio en la superficie del océano (SST, por sus siglas en inglés) observadas a través del centro del Océano Ecuatorial del Pacífico y por encima del promedio en el este del Pacífico.

La mayoría de los modelos predicen la aparición de El Niño (el promedio-de 3 meses del Niño-3.4 igual o mayor de 0.5°C) durante el verano del Hemisferio Norte.

Históricamente en abril se generalizan las lluvias en todo el país, con el inicio de la temporada de lluvias en las regiones Orinoquía y Caribe y la continuación de esta temporada en la región Andina. En el Pacífico y en la Amazonia se mantienen las lluvias abundantes. Este año durante este mes las lluvias estuvieron entre normales y por debajo de lo normal en gran parte del país.

2. CONDICIONES DE MACROESCALA

Los valores semanales más recientes del índice de El Niño estuvieron en +0.5°C en las regiones del Niño-3 y del Niño-3.4, y en +0.3 y +0.8°C en las regiones del Niño-4 y el Niño-1+2, respectivamente. Las anomalías del contenido de calor en la capa alta del océano estuvieron ligeramente positivas durante el mes de abril, indicando el fortalecimiento por encima del promedio de las temperaturas en profundidad alrededor de la región de la Línea de Cambio de Fecha. Las anomalías de la convección atmosférica fueron débiles sobre el Pacífico tropical central y en el Continente Marítimo, mientras que los vientos en los niveles-bajos y niveles-altos estuvieron cerca del promedio sobre gran parte del Pacífico Tropical. En gran medida, el sistema océano - atmósfera se mantiene consistente con un evento de ENSO-neutral.

3. CONDICIONES METEOROLÓGICAS

3.1 PRECIPITACIÓN

Históricamente durante el mes de marzo el tiempo es seco en la región Caribe, con cantidades de precipitación muy bajas en toda de la región, con valores entre 0 y 100 milímetros en promedio; de igual manera en la Orinoquia en donde en la mayor parte de la región se presentan registros inferiores a los 150 milímetros, los registros más altos, por encima de los 200 mm, ocurren en el suroccidente y norte de la región sobre el piedemonte llanero, mientras que durante marzo, generalmente, se inicia la primera temporada lluviosa del año en la mayor parte de la región Andina, más de la mitad de la región se encuentra entre los 100 y 200 mm; con sectores entre 0 y 100 mm, y en algunas áreas aisladas registros por encima de los 300 mm. En la mayor parte de la región Pacífica durante marzo las lluvias son abundantes y frecuentes superando los 200 mm en promedio, igualmente se presentan registros más altos, superiores a los 400 mm, en extensos núcleos a lo largo de la región. En la Amazonia, durante el mes de marzo, las precipitaciones aumentan ligeramente, con respecto al mes anterior, en casi toda la región las lluvias son superiores a los 200 milímetros (mm) en promedio, las áreas con mayores volúmenes de precipitación, superiores a los 300 mm, se registran al sur de la región. (Figura 2-izquierda); en general para marzo de este año, las lluvias presentaron un incremento importante con relación a los valores promedios en gran parte del territorio nacional.

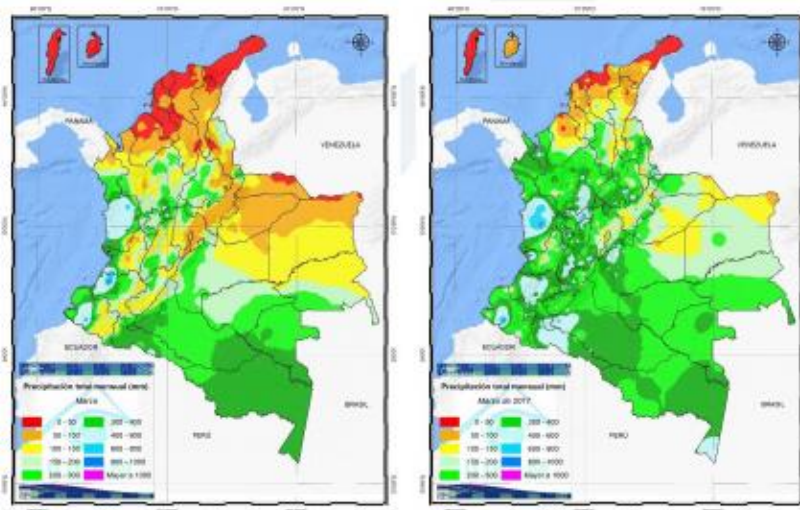


Figura 2. Lluvia total mensual promedio histórico o condición normal Periodo 1981-2010 (derecha) y lluvia total mensual mes actual (izquierda).

ANEXO B
ANÁLISIS ANOVA DETERMINACIÓN pH

pH	4	7	8,5	9,39	10,4
	0,4	0,52	0,42	0,42	0,46
	0,55	0,58	0,43	0,46	0,52
	0,56	0,6	0,43	0,46	0,5


Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	3	1,51	0,50333333	0,0080333 3
Columna 2	3	1,7	0,56666667	0,0017333 3
Columna 3	3	1,28	0,42666667	3,3333E- 05
Columna 4	3	1,34	0,44666667	0,0005333 3
Columna 5	3	1,48	0,49333333	0,0009333 3

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,03576	4	0,00894	3,9674556 2	0,0351021 1	3,4780496 9
Dentro de los grupos	0,0225333 3	10	0,00225333			
Total	0,0582933 3	14				


 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




Yo Laura Natalia Valderrama Zorro en calidad de titular de la obra **Evaluación de la harina de semilla de moringa como agente floculante en la separación de biomasa microalgal *Chlorella Vulgaris*** de su medio de cultivo , elaborada en el año 2016 , autorizo 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 me corresponde y que incluyen: la reproducción, comunicación pública, distribución al público, transformación, en conformidad con la normatividad 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 Autor manifiesto 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 autor establezco las siguientes condiciones de uso de mi 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.	<input type="checkbox"/>
	Atribución – no comercial: permite distribuir, crear obras derivadas, sin fines comerciales con reconocimiento del autor.	<input checked="" type="checkbox"/>
	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.	<input type="checkbox"/>

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 su autor.

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

AUTORIZO (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 indicaré (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 03 días del mes de noviembre del año 2017.

EL AUTOR:

Autor

Nombres	Apellidos
Laura Natalia	Valderrama Zorro
Documento de Identificación No	Firma
1026288012	