

EVALUACIÓN DE LA BIOFIJACIÓN DE CO₂ Y PRODUCCIÓN DE BIOMASA A
PARTIR DE LAS MICROALGAS BAJO CONDICIONES DE FOTOBIORREACTOR
A ESCALA LABORATORIO

MARÍA CAMILA PEDRAZA CUESTA
MARÍA CAMILA PRADA GARAVITO

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C
2018

EVALUACIÓN DE LA BIOFIJACIÓN DE CO₂ Y PRODUCCIÓN DE BIOMASA A
PARTIR DE LAS MICROALGAS BAJO CONDICIONES DE
FOTOBIOREACTOR A ESCALA LABORATORIO

MARÍA CAMILA PEDRAZA CUESTA
MARÍA CAMILA PRADA GARAVITO

Proyecto de investigación de grado para optar el título de
INGENIERO QUÍMICO

Director
Diego Rubio
Biólogo

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTA D.C

2018

Nota de aceptación

Firma Docente Investigador

Firma Docente Jurado 1

Firma Docente Jurado 2

Bogotá D.C, febrero de 2018

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 de Investigación

Ing. ARMANDO FERNÁNDEZ CÁRDENAS

Director Programa de Ingeniería Química.

Ing. LEONARDO DE JESUS HERRERA GUTIÉRREZ

Las directivas de la Universidad de América, los jurados, calificadores y el cuerpo de docentes no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

Este proyecto de grado se lo dedico:

A mis padres y mi hermana, Blanca Cecilia Cuesta Suarez, Fernando Pedraza Galeano y María Fernanda Pedraza Cuesta, por su amor y apoyo que me han brindado no solo en el desarrollo de este proyecto de grado sino también durante toda mi carrera profesional.

A mis amigos, Alejandra Parra, Lina Naisa, Emily Bohórquez, Lorena Pinzón, Laura Juliana Hoyos y Julián Díaz quienes me brindaron el apoyo y el ánimo para desarrollar este proyecto de grado y han estado presentes incondicionalmente.

A mi mejor amiga María Camila Prada quien me enseñó qué es trabajar en grupo, escuchando siempre mi más sencillo punto de vista para obtener los mejores resultados, es por esto que sin su presencia, amor, esfuerzo, dedicación y pasión esto no hubiera sido posible. Así mismo ha sido mi apoyo incondicional desde el primer momento que llego a mi vida.

A Diego Rubio por su acompañamiento durante el proyecto, aportando nuevas ideas en cada paso que se daba, y por su comprensión en el desarrollo de este trabajo.

María Camila Pedraza Cuesta

Este proyecto de grado se lo dedico:

A mis padres, Liliana Marcela Garavito y John Jairo Prada, por su apoyo, amor y guía que me brindaron no solo en el desarrollo de este proyecto de grado sino también durante toda mi carrera profesional.

A mis amigos, Alejandra Parra, Lina Naisa, Emily Bohórquez y Juan David Alfonso quienes me brindaron el apoyo y el ánimo para desarrollar este proyecto de grado.

A Camila Pedraza quien me enseñó qué es trabajar en grupo, y entender los puntos de vista de otra persona, para desarrollar un buen proyecto de grado con agrado y compañerismo.

A Diego Rubio por su acompañamiento durante el proyecto, aportando nuevas ideas y corregirnos en cada paso que se daba, y por su comprensión en el desarrollo de este trabajo.

Y por último y más importante, a Dios quién es mi guía espiritual que me acompaña en cada paso que doy en mi día a día, dándome sabiduría y amor para desarrollar mi proyecto de grado.

María Camila Prada Garavito

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

Dios por ser una guía en nuestro camino profesional para el desarrollo de este proyecto, teniendo fe en él y nunca rendirnos para cumplir nuestras metas.

Nuestro director de Diego Rubio por su apoyo, colaboración, enseñanzas e interés que nos brindó en el desarrollo exitoso de este proyecto ya que este no sería lo que es sino hubiese sido por su acompañamiento constante.

Nuestros amigos y compañeros con quienes compartimos una etapa llena de experiencias inolvidables. Les enviamos un gran abrazo y los queremos por ser siempre esas personas que nos han brindado todo su amor.

Por último y no menos importante a nuestras familias por su esfuerzo, dedicación y apoyo incondicional a lo largo de nuestras vidas y carrera profesional.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	19
OBJETIVOS	20
1. ANTECEDENTES	21
1.1 GENERALIDADES DE CO ₂	21
1.1.1 Definición	21
1.1.2 Propiedades físicas del CO ₂ .	21
1.1.3 Propiedades químicas del CO ₂ .	22
1.1.4 Riesgos	22
1.1.4.1 Inhalación	22
1.1.4.2 Contacto con la piel	22
1.1.4.3 Contacto con los ojos	22
1.1.4.5 Peligros químicos	22
1.2 BIOFIJACIÓN DE CO ₂	22
1.2.1 Secuestro de CO ₂ en sumideros biológicos	25
1.3 MICROALGAS	26
1.3.1 Tipos de metabolismo de la microalga	26
1.3.1.1 Mixotrófico	27
1.3.1.2 Fotoheterótrofo	27
1.3.1.3 Heterótrofa	27
1.3.1.4 Autótrofo	27
1.3.1.5 Fotoautótrofo	28
1.3.2 Microalga <i>Chlorella vulgaris</i>	28
1.3.3 Microalga <i>Scenedesmus dimorphus</i>	29
1.3.4 Crecimiento de microalga	30
1.3.4.1 Adaptación	31
1.3.4.2 Exponencial	31
1.3.4.4 Muerte	31
1.4 CONDICIONES DE CRECIMIENTO PARA EL CULTIVO DE MICROALGAS	32
1.4.1 El pH	32
1.4.2 La intensidad de mezclado del cultivo y la aireación	32
1.4.3 La temperatura	32
1.4.4 La intensidad lumínica	32
1.5 FOTOBIORREACTORES	32
1.5.1 Tipos de fotobiorreactores	33
1.5.1.1 Fotobiorreactor de tipo carrusel (a)	34
1.5.1.2 Fotobiorreactor de placas planas (b)	34
1.5.1.3 Fotobiorreactor con iluminación interna (c)	35
1.5.1.4 Fotobiorreactor de serpentín (d)	35

1.6 CUANTIFICACIÓN DEL CRECIMIENTO	35
1.5.1 Tipos de cámaras de conteo celular	36
1.5.1.1 Hemocitómetro o cámara de Neubauer	37
1.5.1.2 Elemento principales para el uso de Hemocitometro de Neubauer	38
2. METODOLOGÍA	40
2.1 CONDICIONES DE OPERACIÓN	43
2.1.1 Condiciones de cultivo	44
2.1.1.1 La intensidad lumínica	45
2.1.1.2 Fotoperiodo	45
2.1.1.3 pH	45
2.1.1.4 Agitación	45
2.1.1.5 Temperatura	45
2.3 SELECCIÓN DE CEPAS DE MICROALGAS	46
2.4 PREPARACIÓN DEL INÓCULO	47
2.4.1 Inóculo de las microalgas	48
2.4.2 Producción inicial de biomasa	48
2.5 FOTOBIORREACTOR PANEL PLANO	49
2.5.1 Elaboración del montaje para el cultivo de las microalgas	50
2.5.1.1 Fuente de CO ₂	51
2.5.1.2 Regulador de CO ₂	52
2.5.1.3 Sensor de CO ₂ K-33 ICB	52
2.5.1.4 Controlador de pH	53
2.6 CULTIVO DE MICROALGAS EN EL FOTOBIORREACTOR PANEL PLANO	54
2.6.1 Condiciones iniciales de trabajo en el fotobiorreactor	54
2.6.2 Primer ensayo	54
2.6.3 Segundo ensayo	55
2.6.4 Tercer ensayo	55
2.6.5 Cuarto ensayo	55
2.6.6 Control 1 y control 2	55
2.7 CONTEO CELULAR	56
2.8 OBTENCIÓN DE BIOMASA SECA Y BIOFIJACIÓN	57
2.8.1 Toma de volumen de la microalga	58
2.8.2 Secado en la estufa	58
2.8.3 Recipientes en el desecador	58
2.8.4 Peso Seco	58
2.8.5 Cálculos de peso seco	58
2.8.6 Determinación de la biofijación de CO ₂ por los cultivos de microalgas	59
2.8.7 Estadística de la biomasa seca obtenida	59
2.8.8 Estadística del grado de biofijación CO ₂	60
3. RESULTADOS Y ANÁLISIS	61

3.1 SELECCIÓN DE CONCENTRACIONES DE DIOXIDO DE CARBONO	61
3.2 CRECIMIENTO DE LAS CEPAS MICROALGALES BAJO DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CO ₂	61
3.2.1 Crecimiento de la microalga <i>Scenedesmus dimorphus</i>	62
3.2.2 Microalga <i>Chlorella vulgaris</i>	64
3.3 DETERMINACIÓN DE LA BIOFIJACIÓN DE DIÓXIDO DE CARBONO EN LA CEPAS CULTIVADAS	66
3.3.1 Obtención de biomasa seca	66
3.3.1.1 Análisis estadístico de biomasa seca	67
3.3.2 Grado de biofijación CO ₂	68
3.3.2.1 Análisis estadístico del grado de biofijación CO ₂	72
4. CONCLUSIONES	74
5. RECOMENDACIONES	75
BIBLIOGRAFÍA	76
ANEXOS	80

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Proceso de fotosíntesis en las microalgas	23
Figura 2. Ciclo de Calvin	24
Figura 3. <i>Chlorella vulgaris</i>	29
Figura 4. <i>Scenedesmus dimorphus</i>	30
Figura 5. Fases de crecimiento microbiano	31
Figura 6. Tipos de Fotobiorreactores	34
Figura 7. Cámara de Neubauer	37
Figura 8. Reglilla de Neubauer	38
Figura 9. Elementos necesarios para realizar un conteo celular con hemocitometro	39
Figura 10. Esquema de la metodología	41
Figura 11. Activación del inóculo	48
Figura 12. Montaje para el crecimiento del inóculo	49
Figura 13. Fotobiorreactor vista lateral y frontal	50
Figura 14. Montaje para la biofijación de CO ₂ y producción de biomasa	51
Figura 15. Fuente de CO ₂	51
Figura 16. Regulador de CO ₂	52
Figura 17. Sensor K-33 ICB	53
Figura 18. Controlador de pH	53
Figura 19. Conteo de células en la cámara de Neubauer	56

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Concentración de CO ₂ tolerable para diversas especies de microalgas	26
Tabla 2. Cámaras utilizadas para el recuento celular de microorganismos	36
Tabla 3. Composición de fertilizante Agrícola Foliagro	46
Tabla 4. Matriz de selección de cepas de microalgas	47
Tabla 5. Microalgas seleccionadas	47
Tabla 6. Dimensiones del FBR panel plano	49
Tabla 7. Ensayos realizados para la producción de biomasa	54
Tabla 8. Concentraciones seleccionadas de CO ₂	61
Tabla 9. Velocidad máxima de <i>Scenedesmus dimorphus</i> a diferentes rangos de CO ₂	63
Tabla 10. Velocidad máxima de <i>Chlorella vulgaris</i> a diferentes rangos de CO ₂	65
Tabla 11. Resultados de biomasa seca	66
Tabla 12. Análisis diseño factorial con una observación por celda para biomasa seca	68
Tabla 13. Composición másica de la <i>Chlorella vulgaris</i>	69
Tabla 14. Datos para la determinación del grado de biofijación de CO ₂	69
Tabla 15. Comparación de los resultados con los antecedentes de la biofijación de <i>Scenedesmus dimorphus</i> a diferentes concentraciones de CO ₂	71
Tabla 16. Comparación de los resultados con los antecedentes de la biofijación de <i>Chlorella vulgaris</i> a diferentes concentraciones de CO ₂	71
Tabla 17. Análisis diseño factorial con una observación por celda para grado de biofijación de CO ₂	73
Tabla 18. Número de células contadas primer ensayo	95
Tabla 19. Número de células contadas segundo ensayo	95
Tabla 20. Número de células contadas tercer ensayo	96
Tabla 21. Número de células contadas cuarto ensayo	96
Tabla 22. Número de células contadas control 1	97
Tabla 23. Número de células contadas control 2	97

LISTA DE GRÁFICAS

	pág.
Gráfica 1. Curva de crecimiento de <i>Scenedesmus dimorphus</i>	62
Gráfica 2. Velocidad de crecimiento de <i>Scenedesmus dimorphus</i>	63
Gráfica 3. Curva crecimiento <i>Chlorella vulgaris</i>	64
Gráfica 4. Velocidad de crecimiento de <i>Chlorella vulgaris</i>	65
Gráfica 5. Peso seco de la biomasa obtenida	67
Gráfica 6. Biofijación CO ₂	70

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Revisión bibliográfica de concentraciones de CO ₂	43
Cuadro 2. Revisión bibliográfica de condiciones de operación	44

ANEXOS

	pág.
Anexo A. Especificaciones sensor K-3	81
Anexo B. Gráficas de concentraciones de dióxido de carbono	93
Anexo C. Conteo de células para cada ensayo	95

GLOSARIO

BIOFIJACIÓN: proceso que se da en la fotosíntesis de las microalgas para captura de CO₂.

BIOMASA: materia orgánica obtenida por residuos o desechos orgánicos ya sea de origen animal o vegetal la cual produce energía por medio de la fotosíntesis.

CÁMARA DE NEUBAUER: instrumento utilizado en microbiología y medicina para realiza recuento celular.

CEPA DE MICROALGA: conjunto de microorganismos de una misma especie las cuales son unicelulares.

Chlorella vulgaris: microalga unicelular de forma esférica sin flagelos, perteneciente al género Chlorophyta.

CO₂: formula molecular del dióxido de carbono.

FOTOBIORREACTOR: equipo que consta de un recipiente el cual es destinado para el cultivo de las microalgas.

INCUBADORA: aparato en donde se mantiene el ambiente de humedad y temperatura para un óptimo crecimiento de los microorganismos.

INOCULO: suspensión de microorganismos en un medio de cultivo que son adaptados para su crecimiento.

MEDIO DE CULTIVO: solución de nutrientes ya sea líquida o gelatinosa, la cual permite el crecimiento de los microorganismos.

nm: abreviatura de nanómetro, unidad de longitud.

ppmv: abreviatura de Partes por millón en volumen, unidad de concentración.

Scenedesmus dimorphus: microalga unicelular de forma lineal de agua dulce, perteneciente al género de Chlorophyta.

SUMIDEROS: es un depósito o estructura encargada de mantener el carbono ya sea natural o artificial.

TERMOSTATO: dispositivo que a partir de una fuente de calor ayuda a controlar la temperatura de manera automática.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación evaluó la biofijación de CO₂ y producción de biomasa a partir de las microalgas *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus dimorphus*, donde se determinó cuál microalga presentó una mayor biofijación bajo condiciones de operación establecidas mediante una revisión bibliográfica pertinente e implementando un fotobiorreactor de panel plano a escala laboratorio.

A partir de esto se desarrollaron cuatro pruebas en las cuales cada microalga fue evaluada bajo diferentes rangos de concentraciones de CO₂ (0-3%) y (6-9%) por un periodo de tiempo de 8 días para cada una. Analizando los resultados obtenidos se evidencia que el crecimiento de las microalgas al suministrar CO₂ es mayor cuando estas son sometidas a concentraciones de (0-3%) donde se obtuvieron crecimientos de $2,61 \times 10^6$ cel/mL para *Chlorella vulgaris* y $3,97 \times 10^6$ cel/mL para *Scenedesmus dimorphus*.

Posteriormente se determinó la biomasa seca generada para cada prueba realizada. Analizando los resultados se obtuvo que la microalga *Scenedesmus dimorphus* proporciona una mayor biomasa seca a diferencia de la microalga *Chlorella vulgaris* independientemente de la concentración a la cual sea sometida. Por último se determinó el grado de biofijación de CO₂, los resultados obtenidos muestran que la microalga *Scenedesmus dimorphus* tiene un mayor grado de biofijación cuando es sometida a concentraciones de (6-9%) CO₂, obteniendo una biofijación de 2,25 g/L*d de CO₂, caso contrario en la microalga *Chlorella vulgaris* la cual presenta un mayor grado de biofijación cuando es sometida a concentraciones de (0-3%) CO₂, obteniendo una biofijación de 1,65 g/L*d.

Palabras Claves: Biofijación, Biomasa, Microalgas.

INTRODUCCIÓN

Unas de las aplicaciones importantes de la microalga es la biofijación del CO₂ ya sea atmosférico o presentado en el agua más conocido como biorremediación. Esta aplicación ha generado mayor interés por los biólogos e ingenieros ya que este proceso es 100% natural y ayuda significativamente a la problemática ambiental que hoy en día se está presentando. Estas investigaciones se han enfocado en determinar qué especies de microalgas presentan un mejor rendimiento en la biofijación del dióxido de carbono cuando se adaptan a concentraciones extremas, en donde se tienen en cuenta los porcentajes de las concentraciones de CO₂, así mismo las temperaturas y presiones que puede soportar la microalga¹.

Por lo tanto, el grupo de investigación BIOTEC FUA de la Universidad de América se ha interesado en evaluar el grado de biofijación del dióxido de carbono en dos cepas de microalga, *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus dimorphus* en un fotobiorreactor de panel plano, con el propósito de ampliar el conocimiento y la funcionalidad de las microalgas, ya que hasta el momento en la universidad solo se ha evaluado la captura del CO₂ a partir de la *Chlorella vulgaris* en un fotobiorreactor tubular.

¹ Hans Wolkers, M. B. (n.d.). *Large-scale sustainable cultivation of microalgae for the production of bulk commodities*. Wageningenur

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la biofijación del dióxido de carbono en las especies *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus dimorphus* mediante el uso de un fotobiorreactor de panel plano a escala laboratorio.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Seleccionar las concentraciones de dióxido de carbono que se implementaran en el FBR panel plano.
- Determinar la concentración del CO₂ a la cual las Microalgas presentan un mayor crecimiento
- Determinar el grado de biofijación del dióxido de carbono en las cepas cultivadas.
- Evaluar estadísticamente el proceso.

1. ANTECEDENTES

Actualmente se ha establecido que el dióxido de carbono puede tener un uso alternativo con su simple captura y almacenamiento. Una de sus principales aplicaciones se ha dado en el campo de la biotecnología, en ella se ha presentado un gran interés en el estudio de las microalgas, ya que son microorganismos fotosintéticos que tienen la capacidad de utilizar el CO₂ para generar biomasa empleando la energía solar. La producción de esta biomasa es de gran interés comercial pues esta puede ser aplicada a grandes procesos industriales.

1.1 GENERALIDADES DE CO₂

1.1.1 Definición. El dióxido de carbono está formado por un átomo de oxígeno y dos átomos de carbono. También es conocido como gas ácido carbónico y Anhídrido carbónico. Se encuentra presente en la atmosfera en una proporción aproximada de 370 ppmv, ya que esto varía de acuerdo a las emisiones generadas por el ser humano en las industrias. Tiene una función importante en la tierra como lo es el ciclo de vida de las plantas y de los animales, ya que cuando sucede la fotosíntesis asimilan el CO₂ y liberan el O₂.²

1.1.2 Propiedades físicas del CO₂. A temperatura y presiones normales, el dióxido de carbono se comporta en estado gaseoso. El estado físico de este depende del nivel de la temperatura y de la presión en que se esté trabajando, es decir, si se trabaja a temperaturas bajas (78°C), el dióxido de carbono se encuentra en estado sólido y si la presión está por debajo de 5.1 bar, el sólido se sublima y pasa a estado vapor. Si se trabaja a temperaturas intermedias (-56,5 °C hasta 31,1°C) el CO₂ pasa de estado gaseoso a estado líquido y si la presión es mayor a 73,9 bar el dióxido de carbono se comporta de forma gaseosa.³

² METZ, Bert; DAVIDSON, Ogunlade; CONNINCK, Heleen; LOOS, Manuela and MEYER, Leo. (Eds).

Cambridge University Press. *IPCC Properties of CO₂ and carbon- based fuels*. PP. 385

³ METZ, Bert; DAVIDSON, Ogunlade; CONNINCK, Heleen; LOOS, Manuela and MEYER, Leo. (Eds). Cambridge University Press. *IPCC Properties of CO₂ and carbon- based fuels*. PP. 385

1.1.3 Propiedades químicas del CO₂. El dióxido de carbono es muy soluble en el agua, pero cuando se aumenta la presión, la temperatura y dependiendo de la salinidad que presenta, genera una disminución en su solubilidad.⁴ Otra propiedad química importante es que no es combustible a temperatura ambiente, por lo tanto, no se necesita almacenarlo en condiciones especiales.

1.1.4 Riesgos.

1.1.4.1 Inhalación. En caso de ser inhalado, genera vértigo, dolor de cabeza, aumenta la presión sanguínea y genera pérdida de conocimiento, por esta razón se debe tener un ambiente con ventilación.⁵

1.1.4.2 Contacto con la piel. La piel se congela cuando tiene contacto con líquido, por lo tanto se recomienda manipularlo con guantes aislante del frío y traje de protección.⁶

1.1.4.3 Contacto con los ojos. Genera congelación cuando está en contacto con líquido, por lo tanto es recomendable usar gafas de seguridad o pantalla facial.⁷

1.1.4.5 Peligros químicos. Cuando la sustancia se calienta por encima de 2000°C produce monóxido de carbono tóxico, eso puede afectar gravemente el metabolismo del ser humano y de los animales.⁸

Por otro lado, el dióxido de Carbono es considerado como uno de los gases principales que genera un cambio climático considerable en el planeta. Se ha estimado que representa el 80% de la emisión mundial de los gases de efecto invernadero.⁹

1.2 BIOFIJACIÓN DE CO₂

Las microalgas obtienen su energía a partir de su capacidad para realizar el proceso de fotosíntesis como se observa en la figura 6, estas son eficientes en la fijación del

⁴ METZ, Bert; DAVIDSON, Ogunlade; CONNINCK, Heleen; LOOS, Manuela and MEYER, Leo. (Eds).

Cambridge University Press. *IPCC Properties of CO₂ and carbon-based fuels*. PP. 385

⁵ IPCS, CE (2007) Ficha internacional de seguridad: dióxido de carbón. Pág. 1

⁶ IPCS, CE (2007) Ficha internacional de seguridad: dióxido de carbón. Pág. 1

⁷ IPCS, CE (2007) Ficha internacional de seguridad: dióxido de carbón. Pág. 1

⁸ IPCS, CE (2007) Ficha internacional de seguridad: dióxido de carbón. Pág. 2

⁹ BALLESTEROS, Henry. G. E. (2007). *INFORMACION TECNICA SOBRE GASES DE EFECTO INVERNADERO Y EL CAMBIO CLIMATICO*. IDEAM-METEO /2008-2007.

CO₂ ya que para su crecimiento se considera una buena fuente de carbono. Dentro de sus principales ventajas se presentan una eficiencia hasta 4 veces mayor que las plantas.

El proceso de fotosíntesis es realizado por plantas, algunas bacterias, y ciertas algas (micro o macro). Contribuyen con el 50 % de la actividad fotosintética del planeta. La fotosíntesis es un proceso metabólico fundamental de gran importancia para todos los organismos vivos. Se caracteriza por el aprovechamiento de la energía principalmente proveniente de la luz para su posterior conversión en energía química utilizable. Es decir, las microalgas producen biomasa a partir del consumo de energía proveniente de la luz solar o alguna otra fuente alterna y usando el CO₂ como fuente de carbono, donde este es absorbido y transformado en material orgánico.¹⁰

Figura 1. Proceso de fotosíntesis en las microalgas.



Fuente: COOPERATIVO CORPORATIVO CAJAMAR. (2015). ¿Qué son las microalgas? Interés y uso. *Cajamar ADN Agro*, 1.

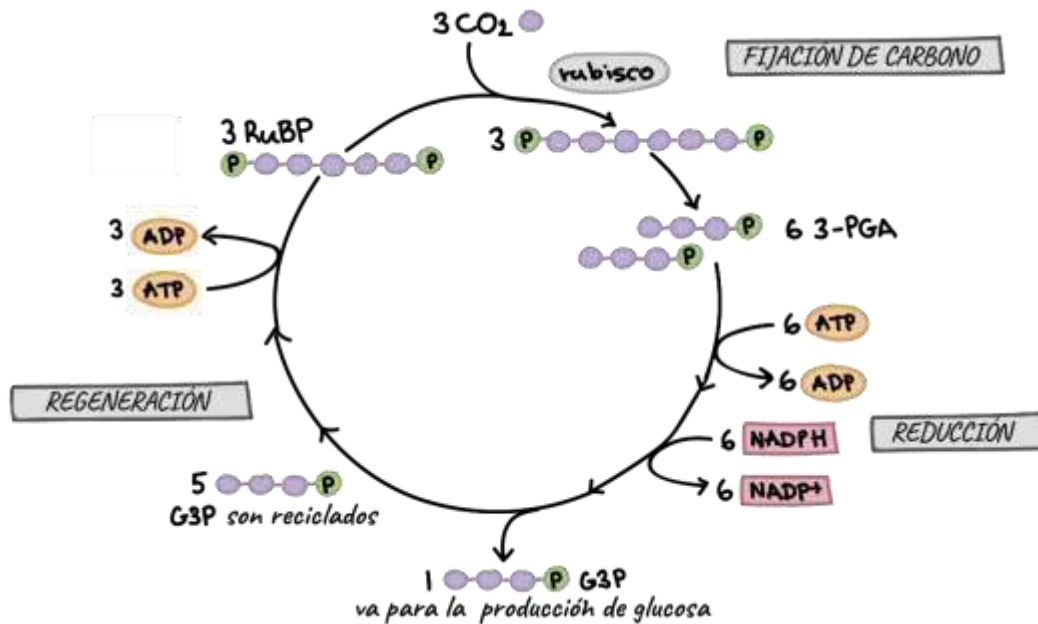
En el proceso fotosintético las microalgas obtienen energía para realizar el proceso de síntesis de carbohidratos, así como también determinan la ruta en la captura y fijación del dióxido de carbono y oxígeno presentes en la atmósfera. El proceso de fijación del CO₂ se realiza mediante el Ciclo de Calvin-Benson como se observa en la figura 2. Este proceso se lleva a cabo en el estroma de los cloroplastos y consiste en procesos biológicos y químicos del cual se derivan dos etapas principalmente.¹¹

¹⁰ Almería, U. d. (2017, noviembre 5). *Ingeniería de procesos aplicada a la biotecnología de microalgas*.

¹¹ KHANACADEMY. (2017, noviembre 1). *KHANACADEMY*. Retrieved from El ciclo de calvin: <https://es.khanacademy.org/science/biology/photosynthesis-in-plants/the-calvin-cycle/a/calvin-cycle>

En la primera etapa se encuentran las reacciones luminosas, aquí se presenta un consumo de la energía de la luz para realizar la oxidación fotoquímica del H₂O. A partir de esta oxidación se obtiene que el agente oxidante NADP⁺ se reduzca a NADPH, obteniendo equivalentes reductores y la liberación del O₂ y también la energía lumínica se captura mediante la fosforilación.

Figura 2.Ciclo de Calvin



Fuente: KHANACADEMY. (2017, noviembre 1). KHANACADEMY. Retrieved from El ciclo de calvin: <https://es.khanacademy.org/science/biology/photosynthesis-in-plants/the-calvin-cycle-reactions/a/calvin-cycle>.

En el segundo subproceso de la fotosíntesis, el NADPH y el ATP producidos por las reacciones luminosas se utilizan para la síntesis reductora de los carbohidratos a partir del CO₂ y el agua.¹²

El carbono inorgánico es utilizado por las microalgas para sintetizar componentes orgánicos. Según varios estudios, entre ellos Rave (2013) en el libro “evaluación de cepas de microalgas para la captura del dióxido de carbono”¹². Han determinado que el CO₂ presenta un mejor aporte a comparación del HCO₃⁻ como fuente de carbono que es asimilada por las células de las microalgas.

¹² RAVE, A. G. (2013). *Evaluación de cepas de microalgas para la captura de dióxido de carbono*. Medellín: Universidad EAFIT, 19.

¹² RAVE, A. G. (2013). *Evaluación de cepas de microalgas para la captura de dióxido de carbono*. Medellín: Universidad EAFIT, 19.

Se han establecido diferentes fuentes de suministro de CO₂ en el medio de cultivo para obtener un mayor aporte de fuente de carbono, ya sea como gas puro u obtenido de una corriente de un proceso de combustión.¹³

1.2.1 Secuestro de CO₂ en sumideros biológicos. Los procesos de reducción de CO₂ pueden ser realizados por organismos acuáticos especialmente microorganismos, los cuales se caracterizan por ser organismos fotosintéticos como macro-micro algas. Las microalgas son microorganismos de aproximadamente 1 a 50 micras de diámetro y por su capacidad de usar la luz como fuente de energía tienen la posibilidad de fijar el CO₂ en forma de biomasa, en este proceso de fotosíntesis, estas producen más del 75 % del oxígeno que es consumido por animales y humanos.¹⁴

En la actualidad la aplicación de las microalgas en los diferentes campos de la industria se ha visto reflejada en la capacidad que presentan estos microorganismos de ser sumideros de CO₂, este lo pueden obtener de los gases producidos por las industrias, que tienen diversas concentraciones de CO₂.

Así mismo las investigaciones que se han realizado recientemente son enfocadas a la determinación de las especies que mejor se adaptan a condiciones extremas que imponen diversas emisiones de gases, donde presentan un apreciable contenido de CO₂, a partir de estas condiciones se busca desarrollar los parámetros óptimos para obtener mayores tasas de crecimiento y productividad de estos microorganismos¹⁵.

En las emisiones proporcionadas por las grandes industrias es posible evidenciar que estas no solamente cuentan con diversas concentraciones de CO₂ sino que también son generadas a temperaturas elevadas y con otros tipos de gases presentes en ellas. Frente a esta característica se ha deseado evaluar microalgas que sean tolerables a condiciones extremas de temperatura y CO₂. Algunos de los resultados obtenidos frente a la evaluación de microalgas que cumplieren dicha característica, indican que diversas especies presentan una buena velocidad de crecimiento a concentraciones con un contenido hasta del 15 % de CO₂¹⁶.

¹³ RAVE, A. G. (2013). *Evaluación de cepas de microalgas para la captura de dióxido de carbono*. Medellín: Universidad EAFIT,19.

¹⁴ Hans Wolkers, M. B. (n.d.). *Large-scale sustainable cultivation of microalgae for the production of bulk commodities*. Wageningenur.

¹⁵ GARCIA, L. M. (n.d.). *Eliminación de CO₂ con microalgas autóctonas*. Universidad de León, Instituto de recursos naturales, Área de Ingeniería Química.

¹⁶ Nobutaka Hanagata, T. T. (1992). *Tolerance of microalgae to high CO₂ and high temperature*. *phytochemistry*.

Las especies *Scenedesmus* y *Chlorella* han mostrado altas tasas de crecimiento celular frente a otras especies de microalgas; *Scenedesmus* se ha caracterizado por ser tolerable a altas concentraciones de CO₂ como se evidencia en la tabla 1 en comparación de *Chlorella*. Estas especies tiene la característica de presentar tasas de crecimiento cercanas cuando se les ha suministrado concentraciones de CO₂ en un rango de 10 -30 %.¹⁷

Tabla 1. Concentración de CO₂ tolerable para diversas especies de microalgas.

Especie	Tolerancia máxima de concentración de CO₂
<i>Cyanidium caldarium</i>	100%
<i>Scenedesmus sp.</i>	80%
<i>Chlorococcum littorale</i>	60%
<i>Synechococcus elongatus</i>	60%
<i>Euglena gracilis</i>	45%
<i>Chlorella sp.</i>	40%
<i>Eudorina sp.</i>	20%
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	15%
<i>Nannochloris sp.</i>	15%
<i>Chlamydomonas sp.</i>	15%
<i>Tetraselmis sp.</i>	14%

Fuente: VEGA, B. O. (n.d.). *CONCENTRACION, RECUENTO CELULAR Y TASA DE CRECIMIENTO*. La Paz, Baja California Sur. Mexico: Centro de Investigaciones Biologicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR) Laboratorio de Biotecnología de Microalgas.

1.3 MICROALGAS

Las Microalgas son, en general, organismos fotoautótrofos, es decir, obtienen la energía de la luz proveniente del sol y se desarrollan a partir de materia inorgánica. Sin embargo, algunas especies son capaces de crecer empleando materia orgánica como fuente de energía o de carbono¹⁸.

1.3.1 Tipos de metabolismo de la microalga. Para que el metabolismo de la microalga sea óptimo, es decir, que su crecimiento sea el adecuado, se debe tener en cuenta la fuente de energía e intensidad lumínica. Para esto existen 5 tipos de metabolismo el cual depende de la cepa de microalga con la que se vaya a trabajar, como, por ejemplo, las microalgas *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus dimorphus*,

¹⁷ Nobutaka Hanagata, T. T. (1992). Tolerance of microalgae to high CO₂ and high temperature. *phytochemistry*.

¹⁸ RUIZ, Ana. Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróticamente. Universidad Politecnica de Valencia 2011. Pag 9-10.

tienen un metabolismo fotoautótrofo, ya que necesitan de una fuente de energía orgánica y la luz para tener un óptimo crecimiento.

1.3.1.1 Mixotrófico. Las microalgas mixotróficas son capaces de crecer bajo procesos tanto autótrofos como heterótrofos, de manera que la fuente de energía es tanto la luz como la materia orgánica, obteniendo el carbono de compuestos orgánicos y del CO₂.¹⁹

1.3.1.2 Fotoheterótrofo. Las microalgas fotoheterótrofas, son microorganismos que necesitan de otros organismos para tomar sus compuestos orgánicos como fuentes de carbono y su fuente de energía es la luz.²⁰

1.3.1.3 Heterótrofa. Las microalgas heterótrofas como las fotoheterótrofas también necesitan de los compuestos orgánicos de otros organismos para proporcionar, tanto la energía como la fuente de carbono, es decir, que no necesitan de la luz para poder desarrollarse, como por ejemplo *Chlorella protothecoides*.²¹

1.3.1.4 Autótrofo. Las microalgas autótrofas pueden emplear como fuente de carbono el CO₂ presente en la atmosfera o en gases de escape, así como los iones de bicarbonato mediante la enzima anhidrasa carbónica. Son capaces de tolerar hasta unas 150000 ppmv de CO₂ en el aire, aunque hay especies de microalgas como la *Chlorella*, que han demostrado que toleran hasta 400000 ppmv de CO₂. Según Octavio Pérez y Juan Pablo Hernández en el artículo “Efficiency of growth and nutrient uptake from wastewater by heterotrophic, auto autotrophic, and mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* immobilized with *Azospirillum brasilense*” se puede calcular estequiometricamente la cantidad de carbono conociendo la composición de la biomasa. Por otro lado, para asegurar que las Microalgas puedan tomar dicho CO₂, la presión parcial en el líquido debe ser de 0.1-0.2 kPa²².

¹⁹ ALCÁNTARA, C ; FERNANDEZ, C ; GARCÍA, P , MUÑOZ, R. “Mixotrophic metabolism of *Chlorella sorokiniana* and algal-bacterial consortia under extended dark-light periods and nutrient starvation” *Environmental Biotechnology* 2015.

²⁰ D. Morales, O. Martinez, J. Kyndt, A. Martinez. “Heterotrophic growth of microalgae: metabolic aspects” 2015

²¹ Ibid.

²² Octavio Perez, Luz E. de-bashan, Juan Pablo Hernandez, Yoav Bashan. “Efficiency of growth and nutrient uptake from wastewater by heterotrophic, auto autotrophic, and mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* immobilized with *Azospirillum brasilense*” 2010.

1.3.1.5 Fotoautótrofo. Las microalgas fotoautótrofas son organismos que necesitan de una fuente inorgánica para obtener el carbono, las principales fuentes para el cultivo en general de las microalgas son el dióxido de carbono en estado gaseoso y el bicarbonato. En donde es más recomendable emplear el dióxido de carbono, ya que energéticamente resulta más económico porque este penetra por difusión a la célula, mientras que el bicarbonato lo hace por transporte activo²³. El método más eficiente que se ha empleado, es inyectar el CO₂ por medio de tuberías que van al fondo de estanques de cultivo o más conocidos como fotobiorreactores. Estas tuberías cuentan con perforaciones de tamaños apropiados para generar un buen nivel de burbujeo, ya que si el tamaño de burbuja es pequeño puede producir flotación en las microalgas y estas no se metabolizarán correctamente.

Otro método empleado es el uso del bicarbonato, ya que se ha comprobado que las microalgas poseen Anhidrasa carbónica, enzima catalizadora en los sistemas biológicos, la cual ayuda al transporte a través de la membrana de la microalga.²⁴ Este método genera un mayor crecimiento en la microalga cuando la presión parcial es baja. También se debe tener cuenta que tipo de cepa microalgal se debe usar, como por ejemplo la *Spirulina* prefiere tomar como fuente inorgánica el bicarbonato, ya que es un organismo que crece en ambiente con alta concentración salina.

Por otro lado, estas microalgas necesitan de luz como su fuente de energía, para su apropiado crecimiento²⁵, es decir, cuando consumen oxígeno lo necesitan hacer en la luz, este fenómeno se conoce como fotorrespiración, el cual puede llegar a ser una causa importante de la excreción o destrucción del carbono inorgánico.²⁶

1.3.2 Microalga *Chlorella vulgaris*. Pertenece al género Chlorophyta, la cual incluye alrededor de 10 especies. Estas microalgas constan de una sola célula, su forma es esférica sin flagelos como se puede observar en la figura 3. Contienen pigmentos fotosintéticos verdes llamados clorofila tipo a y b en el cloroplasto²⁷. La microalga se caracteriza por tener un color verde oscuro. Puede crecer fotoautotróficamente, mixotróficamente y heterotróficamente con una alta acumulación de biomasa. Su reproducción es rápida ya que solo se requiere agua,

²³ COBELAS, Alvarez; GALLARDO, Tomás. Edit. Universidad Complutense. “Una revisión sobre la biotecnología de las microalgas” 1989 . Pág 28-29.

²⁴ Ibid. Pág 26-27.

²⁵ Octavio Perez, Luz E. de-bashan, Juan Pablo Hernandez, Yoav Bashan. “Efficiency of growth and nutrient uptake from wastewater by heterotrophic, auto autotrophic, and mixotrophic cultivation of chlorella vulgaris immobilized with azospirillum brasilense” 2010

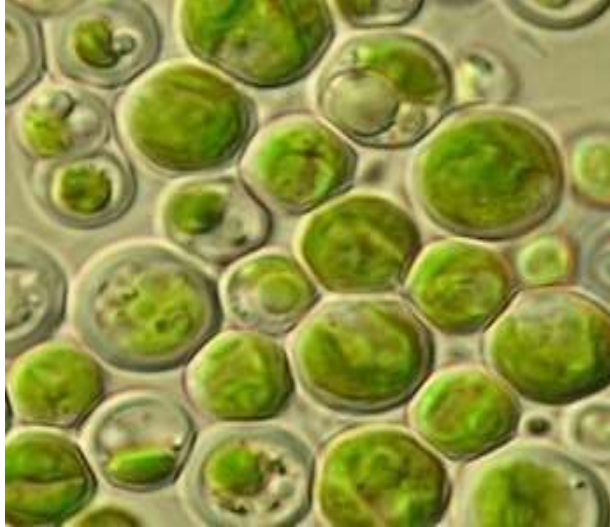
²⁶ Ibid Pág 28-29.

²⁷ ALGAE. (2017). *ALGAE Reach and supply*. Obtenido de Algae cultura, *Chlorella vulgaris*: <https://algaeresearchsupply.com/products/algae-culture-chlorella-vulgaris>

corriente de dióxido de carbono, luz; ya sea artificial o natural y una mínima cantidad de minerales para poder realizar un fotosíntesis efectiva²⁸.

Su composición de ácidos grasos según los estudios previos es de C-14 a C-20 y su contenido de aceite varía de 14 % a 63 % aproximadamente²⁹.

Figura 3. *Chlorella vulgaris*



Fuente: ALGAE. (2017). *ALGAE Reach and supply*. Obtenido de Algae cultura, Chlorella vulgaris: <https://algaeresearchsupply.com/products/algae-culture-chlorella-vulgaris>.

1.3.3 Microalga *Scenedesmus dimorphus*. Pertenece a una colonia plana de 4, 8 o 16 células lineales como se observa en la figura 4, las cuales crecen en agua fresca y ocasionalmente, forman pequeñas poblaciones, ya que no se reproducen con tanta facilidad³⁰.

La región noreste de India- Assam, se caracteriza por tener una biodiversidad rica en microalgas de agua dulce; allí se encuentra una gran cantidad de *Scenedesmus dimorphus*. Estas microalgas tienen un muy buen potencial de producción de biomasa y se han usado en varias investigaciones para la mitigación de los gases

²⁸ ALGAE. (2017). *ALGAE Reach and supply*. Obtenido de Algae cultura, Chlorella vulgaris: <https://algaeresearchsupply.com/products/algae-culture-chlorella-vulgaris>

²⁹ Chen, H., Zheng, Y., Zhan, J., HE, C., & Wang, Q. (2017). Comparative metabolic profiling of the lipidproducing green microalga Chlorella reveals that nitrogen and carbon metabolic pathways contribute to lipid metabolism. *Biotechnol Biofuels*, 1-20.

³⁰ C, C., A, S., M, M., M, C., & R, A. (2012). Influence of media composition on the growth rate of Chlorella vulgaris and Scenedesmus acutus utilized for CO2 mitigation. *J biochem Tch* , 589-594.

nocivos. También se caracteriza por tener una remoción eficiente y económica del CO₂³¹.

Figura 4. *Scenedesmus dimorphus*

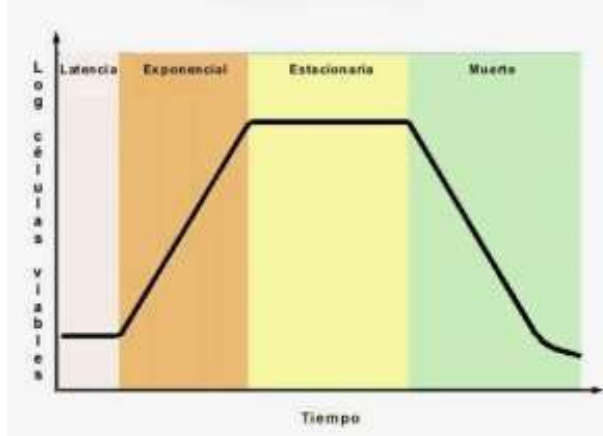


Fuente:The Freshwater Algae. (1 de June de 2013). *Freshwater Algae Culture Collection at the Institute of Hydrobiology*. Obtenido de *Scenedesmus dimorphus*: <http://algae.ihb.ac.cn/english/algaeDetail.aspx?id=772>

1.3.4 Crecimiento de microalga. La cinética del crecimiento es una de las mejores maneras para interpretar el comportamiento del microorganismo y determinar el crecimiento de este. La curva de crecimiento se divide en 4 fases como se puede observar en la figura 5.

³¹ Bordoloi, N., Narzari, R., Sut, D., Saikia, R., Chutia, R. S., & Kataki, R. (2016). Characterization of bio-oil and its sub-fractions from pyrolysis of *Scenedesmus dimorphus*. *Renewable Energy*, 1-9.

Figura 5. Fases de crecimiento microbiano



Fuente: GARCÍA, H. Q. *Microbiología*. Obtenido de Curva de crecimiento disponible en: <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com.co/2014/10/curva-del-crecimiento.html>, [citado el 28 de septiembre del 2017]

1.3.4.1 Adaptación. En esta fase el microorganismo produce las enzimas necesarias para metabolizar la fuente nutricional y depende del periodo de inicio en la que se adapte el microorganismo³².

1.3.4.2 Exponencial. Luego de la adaptación, el microorganismo crece; en esta fase se determina la velocidad de crecimiento y el rendimiento del microorganismo³³.

1.3.4.3 Estacionario. El cultivo de microorganismo como se encuentra en un recipiente cerrado, deja de crecer. Esto se puede dar porque hay acumulación de sustancias tóxicas o hay un agotamiento en nutrientes³⁴.

1.3.4.4 Muerte. Esta fase depende del microorganismo y a las condiciones que está sometido, ya que las células pueden seguir metabolizando pero empieza a disminuir rápidamente las células vivas, por lo tanto empieza la fase de muerte³⁵.

³² GARCÍA, H. Q. *Microbiología*. Obtenido de Curva de crecimiento disponible en: <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com.co/2014/10/curva-del-crecimiento.html>, [citado el 28 de septiembre del 2017]

³³ Ibid.

³⁴ Ibid.

³⁵ GARCÍA, H. Q. *Microbiología*. Obtenido de Curva de crecimiento disponible en: <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com.co/2014/10/curva-del-crecimiento.html>, [citado el 28 de septiembre del 2017]

1.4 CONDICIONES DE CRECIMIENTO PARA EL CULTIVO DE MICROALGAS

La microalga debe estar en ciertas condiciones apropiadas para que tenga un crecimiento óptimo, esto depende de la concentración celular que se da a partir del cultivo. Para que el potencial del crecimiento sea efectivo hay que tener en cuenta las siguientes condiciones de operación.

1.4.1 El pH. El pH óptimo de las microalgas es de 7.5, este incrementa conforme a la edad del cultivo, por la acumulación de minerales y de oxidación de nutrientes. Si el pH supera 7.5 la microalga entra en fase de muerte³⁶.

1.4.2 La intensidad de mezclado del cultivo y la aireación. Este factor depende de la cepa y de la especie de Microalga que se trabaje. Evita que la microalga se sedimente, ayuda a la homogenización de los nutrientes, a una mejor distribución del calor y de la luz para una transferencia uniforme de los gases. Si se lleva a un nivel de agitación alto hace que la tasa de crecimiento disminuya.

1.4.3 La temperatura. Para este parámetro se debe tener en cuenta tres temperaturas óptimas. Para temperatura mínima debe estar aproximadamente en 16 °C, una temperatura óptima está entre 18°C y 27 °C dependiendo de la cepa de microalga que se esté trabajando, y por último una temperatura máxima, la cual no se debe sobrepasar de 35°C, ya que si es mayor, no deja que el crecimiento se lleve a cabo.

1.4.4 La intensidad lumínica. En este parámetro es necesario tener en cuenta dos factores importantes. El fotoperiodo, que es el número de horas en las que la microalga va a estar sometida por días a la irradiación, esta va a reflejar la onda de luz por unidad de área a la cual va a estar expuesta la microalga. Y el otro parámetro es, el intervalo óptimo de luz a la cual la microalga se va a someter, generalmente es entre 400 nm y 700 nm de longitud de onda.³⁷

1.5 FOTOBIOREACTORES

Los fotobiorreactores son dispositivos utilizados para la producción masiva de microorganismos fotosintéticos. En su funcionamiento estos deben mantener un medio estable y controlar las condiciones de temperatura, pH, concentración de O₂ e intensidad de la luz.

³⁶ SANTOS A, GONZALES Y, MARTIN C. Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas. Universidad Pontificia Comillas de Madrid, 2013

³⁷ Angel, M. F. (2013). Diseño, montaje y caracterización de fotobiorreactores airlift para el cultivo de la microalga *Chlorella sorokiniana*. Universidad EAFIT, Departamento de Ingeniería de Procesos, Pág 12.

1.5.1 Tipos de fotobiorreactores. En la industria podemos encontrar dos tipos de sistemas de cultivo, sistemas abiertos y sistemas cerrados. En los sistemas abiertos el cultivo de microalgas está en contacto directo con la atmosfera. Se caracterizan por ser instalaciones económicas; sin embargo, su productividad es baja debido a que el control dentro de estos no es tan estricto y así mismo se encuentran propensos a la contaminación del medio por parte de otros microorganismos. Los sistemas cerrados se caracterizan principalmente porque su estructura es totalmente aislada de la atmosfera, tienen un mayor y eficiente control de las condiciones de crecimiento para las microalgas; por lo tanto proporcionan una mayor productividad en el crecimiento de las microalgas.

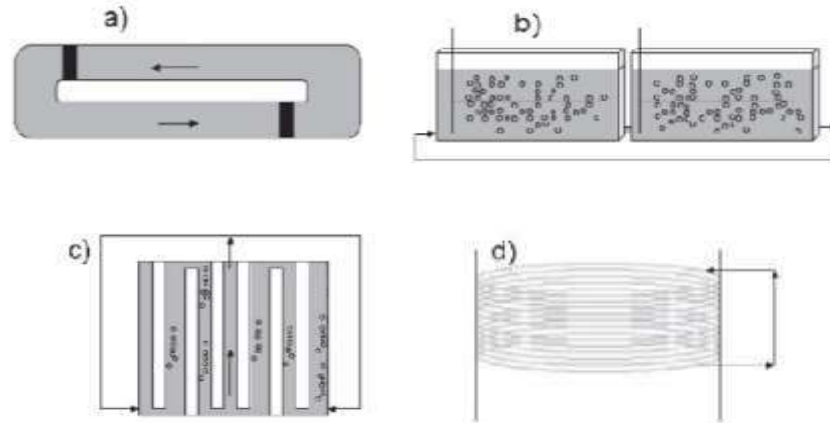
Comúnmente los fotobiorreactores cerrados se encuentran contruidos en materiales transparentes como el vidrio y policarbonato. En su diseño se debe tener presentes las siguientes consideraciones:

1. La trayectoria de la luz debe ser pequeña.
2. Mantener una alta densidad celular.
3. Asegurar un mezclado uniforme para garantizar la exposición lumínica constante de todas las células.
4. Implementar tramos cortos de tubería, con el fin de evitar la inhibición del crecimiento por la acumulación de O₂.
5. Evitar acumulación de sustancias inhibitorias.
6. Controlar condiciones de temperatura y pH óptimos de crecimiento.³⁸

³⁸ Ibid

Actualmente se encuentran una gran variedad en los posibles diseños de los fotobiorreactores, en la figura 6 podemos observar algunos de ellos:

Figura 6. Tipos de Fotobiorreactores



Fuente: Angel, M. F. (2013). Diseño, montaje y caracterización de fotobiorreactores airlift para el cultivo de la microalga *Chlorella sorokiniana*. Universidad EAFIT, Departamento de Ingeniería de Procesos, 12.

1.5.1.1 Fotobiorreactor de tipo carrusel (a). Está conformado por unas aspas (Bloques Negros) que proporcionan la circulación del medio. Generalmente se construyen con configuraciones circulares o longitudinales, son económicos y de fácil construcción. Una de sus desventajas es que presentan un bajo aprovechamiento de la luz, son propensos a sufrir contaminación y una alta evaporación de agua afectando la producción de la biomasa.³⁹

1.5.1.2 Fotobiorreactor de placas planas (b). Se caracterizan porque en ellos se busca el uso más eficiente la luz (distribución uniforme de la luz). Los materiales comúnmente usados en su diseño son vidrio, plexiglass y policarbonato. Si agitación se puede suministrar ya sea por burbujeo a través de uno de sus lados o por rotación mecánica.⁴⁰

³⁹ MORAN, D. (2014, Junio 17). *BIOKET The global conference dedicated to PROCESSES AND TECHNOLOGIES APPLIED TO BIOMASS*. Retrieved from <https://biorrefineria.blogspot.com.co/2014/06/2014-12fotobiorreactores.htm>

⁴⁰ MERIDA, L. G., & Leila Queiroz Zepka, E. J.-L. (2013). Photobioreactor: Tool for mass cultivation of Cyanobacteria. *Universidad de Biotecnología Aplicada, Departamento de Biología . Universidad de Carabobo, Universidad Federal de Santa Maria*, Pág.16.

1.5.1.3 Fotobiorreactor con iluminación interna (c). Los bloques blancos corresponden a zonas de luz. Consisten en columnas cilíndricas fabricadas generalmente en polietileno o vidrio permitiendo una buena penetración de la luz, se introduce el gas por la parte interior de la columna, generando en su interior gran turbulencia y favoreciendo el intercambio del gas.⁴¹

1.5.1.4 Fotobiorreactor de serpentín (d). Está conformado por una serie de tubos generalmente de polietileno, los cuales se encuentran enrollados en un armazón circular abierta, y acoplados a una torre de intercambio de gas y un intercambiador de calor. Contienen una entrada de energía baja pero una alta velocidad de mezcla. Presenta un tubo interno controla la intensidad de luz y trayectoria de ésta para mantener la temperatura adecuada.⁴²

1.6 CUANTIFICACIÓN DEL CRECIMIENTO

El crecimiento de un cultivo de microalgas es expresado generalmente en:

- Número de células (cel/mL)
- Peso seco (total y/o orgánico)
- Cantidad de proteína
- Cantidad de pigmentos
- Volumen de células
- Carbono celular total

Estos deben ser calculados en un periodo de tiempo específico o en la fase de crecimiento.⁴³ Comúnmente el crecimiento de un cultivo de microalgas es expresado como el incremento de su biomasa en forma de número de células.

Para ello se han implementado diferentes métodos de conteo, de los cuales el más común en su aplicación es el recuento celular con el uso del microscopio, contadores de partículas (costosos y debido a esto se limita su aplicación). También se puede determinar por medio de la espectrofotometría evaluando los cambios de densidad óptica del cultivo o se realiza la cuantificación de la biomasa en peso seco.

Siendo el recuento celular el método más sencillo y menos costos, brinda un seguimiento constante del cultivo mediante la inspección visual. Con el uso de este método no solamente se espera conocer la población de células por mililitro,

⁴¹ Ibid. Pág 15.

⁴² Ibid. Pág 16.

⁴³ VEGA, B. O. (n.d.). *CONCENTRACION, RECUENTO CELULAR Y TASA DE CRECIMIENTO*. La Paz, Baja California Sur. Mexico: Centro de Investigaciones Biologicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR) Laboratorio de Biotecnología de Microalgas.

también nos brindara la determinación numérica del grado de división celular en un determinado tiempo.⁴⁴

En este método se desea obtener una adecuada reproducibilidad, por lo cual se deben seleccionar correctamente los siguientes parámetros:

1. Tamaño de la muestra.
2. Dilución de la muestra.
3. Tipo de cámara de recuento.
4. Objetivo del microscopio
5. Técnica de llenado de la cámara.

Generalmente la cámara de recuento que se utiliza es el hemocitometro con reglilla de Neubauer. En la tabla 2, podemos encontrar las cámaras que se utilizan comúnmente y sus principales características.

1.5.1 Tipos de cámaras de conteo celular. Los dispositivos de recuento celular se seleccionan de acuerdo al tamaño de la muestra, la dilución, objetivo del microscopio y la técnica de llenado de la cámara. En la tabla 2 se puede observar las diferentes cámaras utilizadas en la industria.

Tabla 2. Cámaras utilizadas para el recuento celular de microorganismos.

Nombre	Volumen (µL)	Profundidad (mm)	Area (mm ²)	Objetivos	Tamaño Celular (µm)	Cél/ mL
Petroff Hauser	0,2	0,02	10	40-100	0,5-5	10 ⁶ - 10 ⁶
Speirs Levy	0,4	0,2	2	10-20	5-75	10 ⁴ -10 ⁶
Hematocitómetro (Neubauer)	0,9	0,1	9	20-40	2-30	10 ⁴ -10 ⁷
Hematocitómetro (Fuchs-Rosenthal)	3,2	0,2	16	10-20	5-75	10 ⁴ -10 ⁶
Palmer Maloney	100	0,4	250	10-45	5-150	10 ² -10 ⁵
Sedgwick-Rafter	1000	1	1000	2,5-10	50-500	30-10 ⁴

Fuente: VEGA, B. O. (n.d.). *CONCENTRACION, RECUENTO CELULAR Y TASA DE CRECIMIENTO*. La Paz, Baja California Sur. Mexico: Centro de Investigaciones Biologicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR) Laboratorio de Biotecnología de Microalgas.

En la tabla 2 es posible evidenciar las principales y más comunes características de las cámaras de recuento celular, sin embargo en la mayoría de los laboratorios se utiliza para el cultivo de microalgas el hemocitometro de Neubauer, Para microalgas

⁴⁴ VEGA, B. O. (n.d.). *CONCENTRACION, RECUENTO CELULAR Y TASA DE CRECIMIENTO*. La Paz, Baja California Sur. Mexico: Centro de Investigaciones Biologicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR) Laboratorio de Biotecnología de Microalgas.

con mayores dimensiones y que presenten muchos dinioflagelados, los tipos de cámara usados serian Sedgwick-Rafter o Fuchs-Rosentha.

1.5.1.1 Hemocitómetro o cámara de Neubauer. Consiste en una placa de cristal con forma de portaobjetos, sus medidas correspondientes son (30 x 70 mm) y (4 mm) de espesor, en la parte media de la cámara se encuentra grabada una retícula cuadrangular, generalmente existen dos puntos de conteo (superior e inferior) al eje longitudinal de la cámara, como se observa en la figura 7.⁴⁵

Figura 7. Cámara de Neubauer



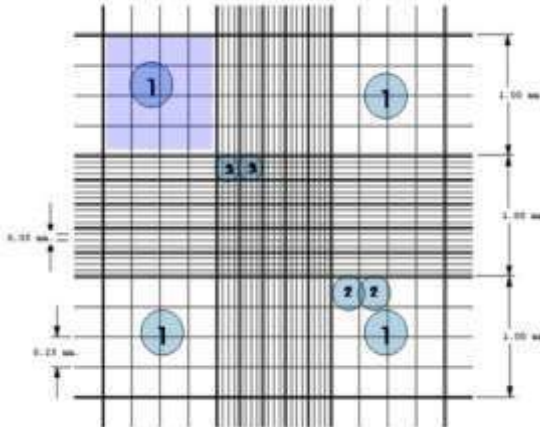
Fuente: Bastidas, O. (2017, octubre 24). *Technical Note - Neubauer Chamber Cell Counting*. Retrieved from Conteo Celular con Hematocitometro: <http://www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/ConteoCamara-Neubauer.pdf>

En la figura 8 se puede observar que presenta nueve cuadros con lados de 1mm (área total de recuento = 0.9 mm^2). Los cuadros están subdivididos en 16 cuadros pequeños. El cuadro del medio (centro) contiene 25 cuadros, cada uno con un área de 0.04 mm^2 , a su vez están divididos en 16 más pequeños.⁴⁶

⁴⁵ BASTIDAS, O. (2017, octubre 24). *Technical Note - Neubauer Chamber Cell Counting*. Retrieved from Conteo Celular con Hematocitometro: <http://www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/ConteoCamara-Neubauer.pdf>

⁴⁶ CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACION PESQUERA (CRIP) Manzanillo, C. (n.d.). Protocolo De Microalgas. *Agencia de Desarrollos TECNOPLADES*, pág.15.

Figura 8. Reglilla de Neubauer.



Fuente: BASTIDAS, O. (2017, octubre 24). *Technical Note - Neubauer Chamber Cell Counting*. Retrieved from [Conteo Celular con Hematocitometro: http://www.celero-mics.com/es/resources/docs/Articles/ConteoCamara-Neubauer.pdf](http://www.celero-mics.com/es/resources/docs/Articles/ConteoCamara-Neubauer.pdf)

1.5.1.2 Elemento principales para el uso de Hemocitometro de Neubauer.

Para realizar el conteo celular se requieren los siguientes instrumentos:

- a) Muestra celular: Obtenida de la homogenización y sobre la cual se realiza el conteo.
- b) Hemocitometro, o cámara de Neubauer: Es un instrumento utilizado para el recuento de células presentes en un medio líquido.
- c) Microscopio: Aparato que facilita la posibilidad de observar objetos de menor tamaño que son imperceptibles a simple vista. Aumenta la imagen para poder obtener una mayor información del objeto a observar, mediante el uso de un juego de lentes y luz visible para aumentar la imagen.
- d) Cubreobjetos: Es un cuadro de cristal que se coloca sobre la cámara de Neubauer de manera que cubra la parte central de la cámara con un tamaño de aproximadamente (22 mm x 22 mm).
- e) Pipeta o Micropipeta: Instrumento de laboratorio que es empleado para succionar y transferir líquidos de volúmenes pequeños y permitir su manejo.

Figura 9. Elementos necesarios para realizar un conteo celular con hemocitometro

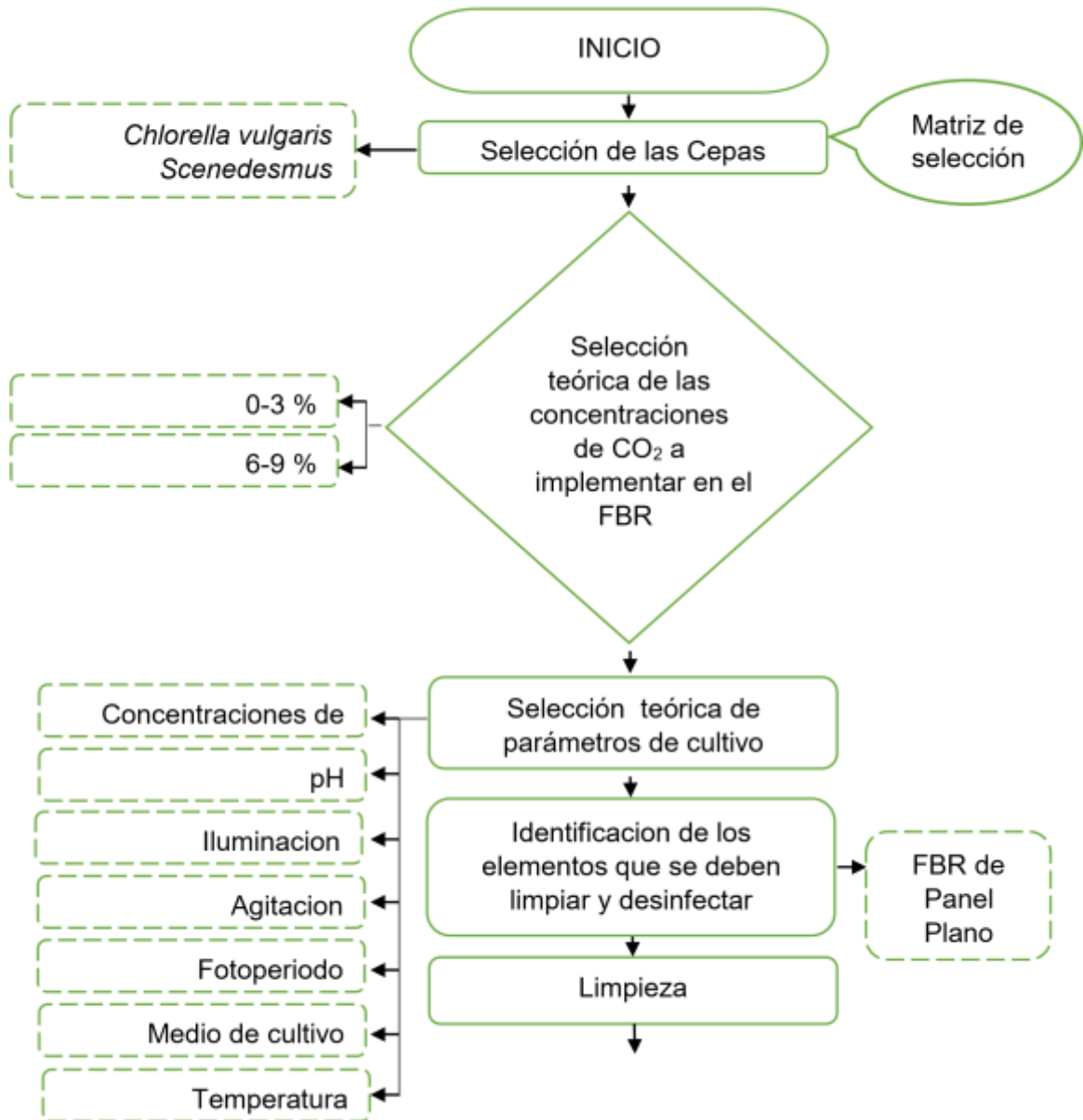


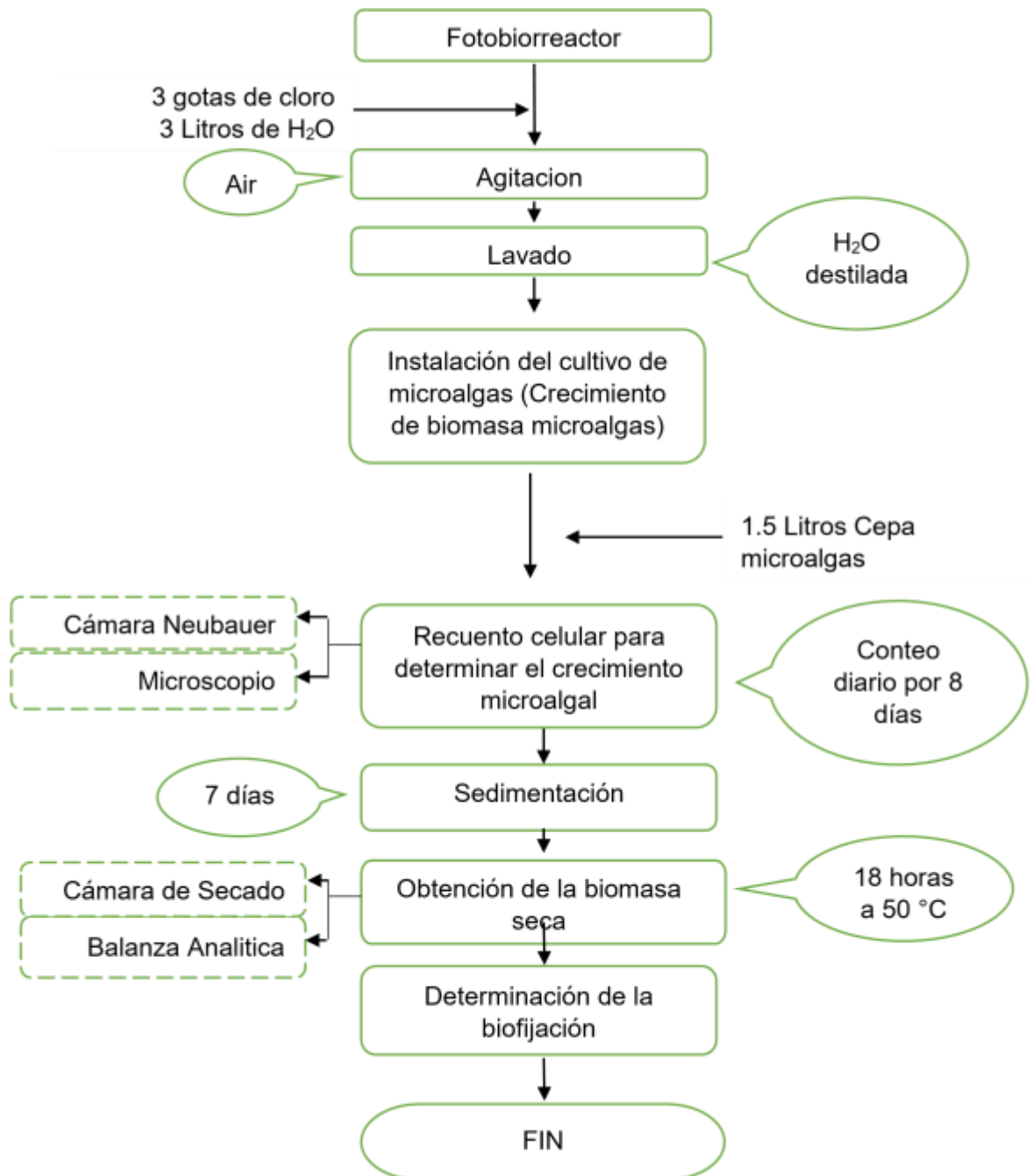
Fuente: Bastidas, O. (2017, octubre 24). *Technical Note - Neubauer Chamber Cell Counting*. Retrieved from *Conteo Celular con Hematocitometro*:<http://www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/ConteoCamara-Neubauer.pdf>

2. METODOLOGÍA

Para el desarrollo del presente proyecto de investigación se necesitan realizar diferentes procesos (figura 10), los cuales inician desde la selección teórica de las condiciones del crecimiento del cultivo y de las concentraciones de dióxido de carbono a las cuales las microalgas presentan un mejor crecimiento; y finalizan con el montaje apropiado para el inicio del proceso experimental, el cual permite llegar a los resultados de crecimiento de las microalgas *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus dimorphus*.

Figura 10. Esquema de la metodología.





2.1 CONDICIONES DE OPERACIÓN

La selección de los rangos de crecimiento para el cultivo de microalgas con CO₂ a nivel de fotobiorreactor se estableció a partir de la revisión bibliográfica, evaluando diferentes artículos (6) y tesis (4). Los artículos se seleccionaron teniendo en cuenta los parámetros de operación establecidos en cada uno, resultados obtenidos frente a mayores tasas de crecimiento, mejor adaptabilidad de la microalga a las concentraciones especificadas en cada uno.

La información adquirida se ordenó en una tabla que permitió comparar las concentraciones. La selección de las concentraciones se consideró a partir de factores como la escala del proceso, la influencia del fotobiorreactor de panel plano, y las especies de microalgas utilizadas.

Adicionalmente a la organización de la información teórica encontrada en artículos y tesis, se consideró importante definir los rangos que representen dos niveles de concentración diferente. Un rango bajo y un rango medio.

Cuadro 1. Revisión bibliográfica de concentraciones de CO₂

Concentración de CO ₂	Referencia
10%-20% (optimo 10%)	(DIAZ OVALLE & RESTREPO MANRIQUE, 2011)
1%-5% (optimo 5%)	(MARTINEZ GARCIA)
2 %	(Rave, 2013)
5% ó 10%	(BENAVENTE VALDES, y otros, 2012 volumen 4, No. 7)
5%	(TEBBANI, Filips, & FILALI, 2016)
5%	(YADAV, KAREMORE, KUMAR DASH, & SEN, 2015)
(0-3) % (6-9) %	(Chaparro, 2014)

Los rangos de estudio que se han tenido en cuenta para la caracterización y selección de diferentes especies en cuanto a su eficiencia de crecimiento y porcentaje de biofijación han sido evaluadas a rangos bajos de dióxido de carbono, donde los resultados indican que son considerados óptimos para el crecimiento de las microalgas.

En los artículos consultados se han proporcionado resultados de crecimiento de varias especies de microalgas cuando le son suministrados flujos de dióxido de carbono bajos cercanos a 2 -5 %, donde se evidencian crecimientos eficientes y alta producción de biomasa. Así mismo continuando la línea de investigación y teniendo en cuenta resultados de proyectos de investigación realizados en la universidad se establecieron los rangos de experimentación con valores de (0-3%) y (6-9%) donde se ha mostrado una mejor adaptabilidad de la microalga a estos porcentajes de dióxido de carbono. Estos rangos se seleccionaron dado que

representan dos concentraciones de CO₂ una baja y una media y se encuentran dentro de los rangos presentados en la literatura en la que se basó (Cuadro 1).

2.1.1 Condiciones de cultivo. Para el desarrollo y producción de biomasa por parte de las microalgas se debe contar con condiciones óptimas de crecimiento. Por lo tanto para que el potencial del crecimiento sea efectivo hay que tener en cuenta los siguientes factores, ya que el correcto control y selección de estos proporcionara un mejor comportamiento de las microalgas.

Cuadro 2. Revisión bibliográfica de condiciones de operación.

pH	Luz		Temperatura	Referencia
	Longitud de Onda	Fotoperiodo		
7	400 nm – 700 nm	12L:12O	15-40°C	(DIAZ OVALLE & RESTREPO MANRIQUE, 2011)
			25-35°C	(MARTINEZ GARCIA)
	250 nm – 700 nm		25 ± 2 °C	(Rave, 2013)
7.5	600 nm – 700 nm		20 y 24 °C	(BENAVENTE VALDES, y otros, 2012 volumen 4, No. 7)
6.8	-		28 ± 2 °C	(YADAV, KAREMORE, KUMAR DASH, & SEN, 2015)
6.6 - 6.9	700 nm		24-26	(ALCALA, GUAUQUE, & RUBIO, 2013)
6.7 - 7.0			22.5 ± 2.5 °C	(CASTRO, ORTIZ, & RUBIO, 2014)
6.8			20 °C	(CORREA, LARROTA, & RUBIO, 2012)

2.1.1.1 La intensidad lumínica. Se emplearon dos bombillas de luz roja incandescente (700 nm) de 21 W de potencia, estas fueron ubicadas en las partes frontales del FBR para proporcionar una iluminación uniforme dentro de este.

2.1.1.2 Fotoperiodo. El fotoperiodo se definió a partir de información bibliográfica (Cuadro 2); para su implementación se utilizó un temporizador el cual se conectó a las bombillas utilizadas para así proporcionar un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad (12L:12O). El suministro de luz iniciaba a partir de las 6 am y finaliza a las 6 pm.

2.1.1.3 pH. Para eso se utilizó un regulador electrónico de CO₂ Deluxe Aquatek con solenoide integrado, su función es actuar sobre la electroválvula, a su vez controla el caudal de CO₂ que ingresa al fotobiorreactor, mediante el controlador de pH previamente establecido a un límite de 7,5 a partir de la revisión teórica como se observa en el cuadro 2, y está conectado al regulador electrónico se tiene un control sobre el valor límite de pH. Esto se realiza con el fin de asegurar en el medio un pH óptimo de crecimiento ya que altas concentraciones de CO₂ acidifican el medio proporcionando un aumento de pH y generando la muerte de la microalga.

2.1.1.4 Agitación. Para ello se utilizó un difusor que presenta aberturas de (2mm) ensamblado en la parte inferior del fotobiorreactor el cual proporciona la agitación en el medio y por el que fluye el CO₂.

2.1.1.5 Temperatura. Un elemento presente en el FBR es el termostato Venus Aqua (100 W), el cual se encuentra sujeto a la parte central a una de las paredes frontales del FBR teniendo contacto directo con el medio, este proporciona la temperatura adecuada de óptimo crecimiento (24°C +- 2.5°C) que se ha establecido a partir de la revisión teórica como se puede observar en la cuadro 2.

2.1.1.6 Medio de cultivo. Para ello se utilizó el medio fertilizante Agrícola Foliagro, cuya composición se observa en la tabla 3, este es característico por presentar un bajo costo en el mercado. El medio de cultivo se preparó diluyendo 2 ml de fertilizante en 1L de agua destilada.

Tabla 3. Composición de fertilizante Agrícola Foliagro

Compuesto	Cantidad (g/L)
Nitrógeno total (N)	100
Fosforo asimilable (P ₂ O ₅)	300
Potasio soluble en agua (K ₂ O)	100
Calcio (CaO)	0,2
Magnesio (MgO)	0,2
Azufre total (S)	0,8
Boro (B)	0,2
Hierro (Fe)	0,4
Manganeso (Mn)	0,4
Molibdeno (Mo)	0,03
Zinc (Zn)	0,5
Cobre (Cu)	0,2

Fuente: CHAPARRO, M. Y. (2014). *Evaluación de la influencia del dióxido de carbono y la concentración inicial de Chlorella vulgaris sobre la producción de lípidos a escala laboratorio*. Bogotá D.C: Fundación Universidad de América, Facultad de Ingeniería Química.

2.3 SELECCIÓN DE CEPAS DE MICROALGAS

En este proyecto de investigación se trabajaron las microalgas *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus dimorphus*, las cuales fueron suministradas por el grupo de investigación BIOTEC-FUA de la Universidad de América, que lo adquirió de la Universidad de Antioquia.

Se realizó una elección de las microalgas, a partir de una matriz de selección como se observa en las tablas 4 y 5, en la que se evaluaron cinco criterios importantes para la biofijación del CO₂. A cada criterio se le dio un porcentaje según el impacto y la importancia que tiene sobre la biofijación. Luego se evaluó de 1 a 10 cada criterio para las 4 microalgas mencionadas en la matriz teniendo en cuenta los antecedentes estudiados y después de una extensa revisión bibliográfica. Finalmente se multiplicó la clasificación de cada microalga con el peso que se le dio a cada criterio para determinar qué microalgas tienen mayor puntaje. Por esta razón y por la fácil obtención de estas dos cepas de microalgas, en este trabajo de grado se realiza la evaluación de la biofijación del dióxido de carbono para *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus dimorphus*.

Tabla 4. Matriz de selección de cepas de microalgas

		MICROALGAS				REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS
		CLASIFICACIÓN				
Criterios de evaluación	Peso	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Spirulina platensis</i>	<i>Nannochloris sp.</i>	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	
Rápido crecimiento	20%	10	2	2	4	• (MARTÍNEZ GARCÍA) • (VÁSQUEZ, 2013)
Capacidad de biofijación de CO ₂	25%	8	2	2	9	□ (MARTÍNEZ GARCÍA)
Fácil manipulación	10%	10	5	5	2	□ (MARTÍNEZ GARCÍA)
Fácil Obtención	25%	10	5	5	10	□ UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
Metabolismo (fotoheterotrofo)	20%	10	10	10	10	• (MARTÍNEZ GARCÍA) • (VÁSQUEZ, 2013)

Tabla 5. Microalgas seleccionadas

		MICROALGAS			
		CLASIFICACIÓN X PESO			
Criterios de evaluación		<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Spirulina platensis</i>	<i>Nannochloris sp.</i>	<i>Scenedesmus dimorphus</i>
Rápido crecimiento		2	0,4	0,4	0,8
Capacidad de biofijación de CO ₂		2	0,5	0,5	2,25
Fácil manipulación		1	0,5	0,5	0,2
Fácil Obtención		2,5	2,5	2,5	2,5
Metabolismo (fotoheterotrofo)		2	2	2	2
TOTAL		9,5	5,9	5,9	7,75

2.4 PREPARACIÓN DEL INÓCULO

El proceso de activación del inóculo así como en el proceso de llevar este a volúmenes mayores, se realizó en un ambiente totalmente esterilizado por medio

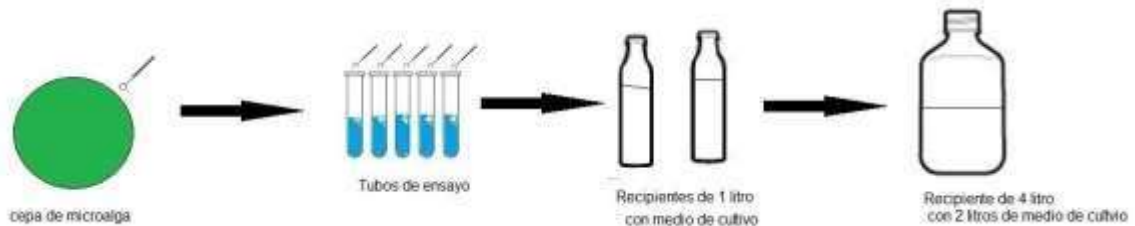
de la Técnica Aséptica⁴⁷, la cual consiste en esterilizar todos los materiales con la ayuda de los mecheros de Bunsen para prevenir la contaminación de la microalga.

2.4.1 Inóculo de las microalgas. Se preparó a partir de la biomasa microalgal de cada cepa, la cual fue extraída por una punta de asa, y se llevó a 5 tubos de ensayos que contenían 5 mL de agua destilada.

Luego de verificar cualitativamente que la microalga en agua destilada no se encontraba contaminada se procedió a llevar el inóculo a volúmenes mayores.

El volumen de microalga en cada tubo de ensayo se pasó a un recipiente de vidrio de 1 L. Después de constatar, de manera cualitativa, que los cultivos estaban en buenas condiciones, es decir que el color de cada cepa era el indicado, y que no presentaba floculaciones ni indicios de contaminación, los cultivos de 1 L se llevaron a un recipiente de 4 L los cuales contenían 2 L de medio de cultivo, como se observa en la figura 11.

Figura 11. Activación del inóculo

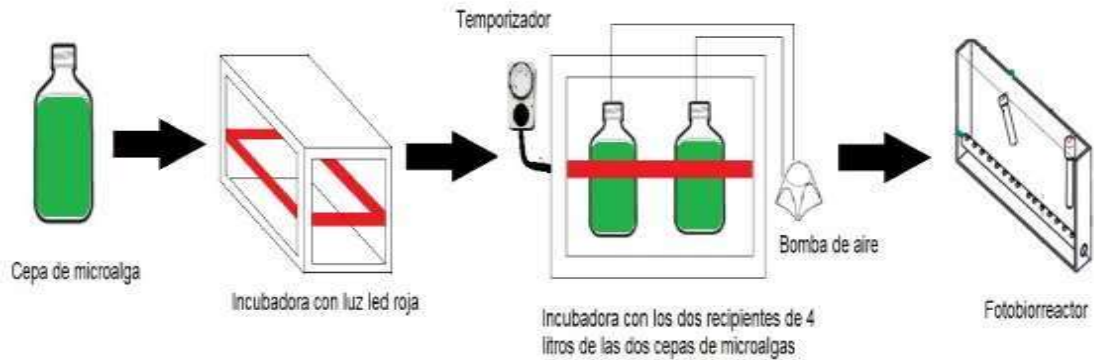


2.4.2 Producción inicial de biomasa. El proceso previo al cultivo de las microalgas a nivel de fotobiorreactor de panel plano a escala laboratorio, consistió en generar volúmenes de cultivo mayores a partir del inóculo.

Los cultivos en los recipientes de 4 L, se llevaron a una incubadora en donde se les suministraron las condiciones de operación apropiadas para su óptimo crecimiento, como la luz led roja, la agitación por medio de una bomba de aire (Sobo modelo Sb-348a) y el fotoperiodo con la ayuda del temporizador conectado a la iluminación (marca CTECH con una potencia de 6 Watts y con 48 leds de color rojo) programado 12 horas luz y 12 horas oscuridad como se observa en la figura 12.

⁴⁷ Universidad Nacional Autónoma de México. Técnica Aséptica. Disponible en: <http://mediacampus.cuaed.unam.mx/node/4209>. [en línea]. 30 de noviembre de 2017

Figura 12. Montaje para el crecimiento del inoculo



2.5 FOTOBIORREACTOR PANEL PLANO

La producción de la biomasa y el procesamiento para evaluar la biofijación del CO₂ se realizaron en el fotobiorreactor panel plano (figura 13), fue suministrado por el grupo de investigación BIOTEC-FUA. Consta de 4 placas de polimetilmetacrilato con las siguientes dimensiones (tabla 6).

Se trabajó en un fotobiorreactor de panel plano, ya que en las investigaciones de la universidad han recomendado evaluar la biofijación en otro tipo de fotobiorreactor ya que solo se ha trabajado en FBR tubular.⁴⁸

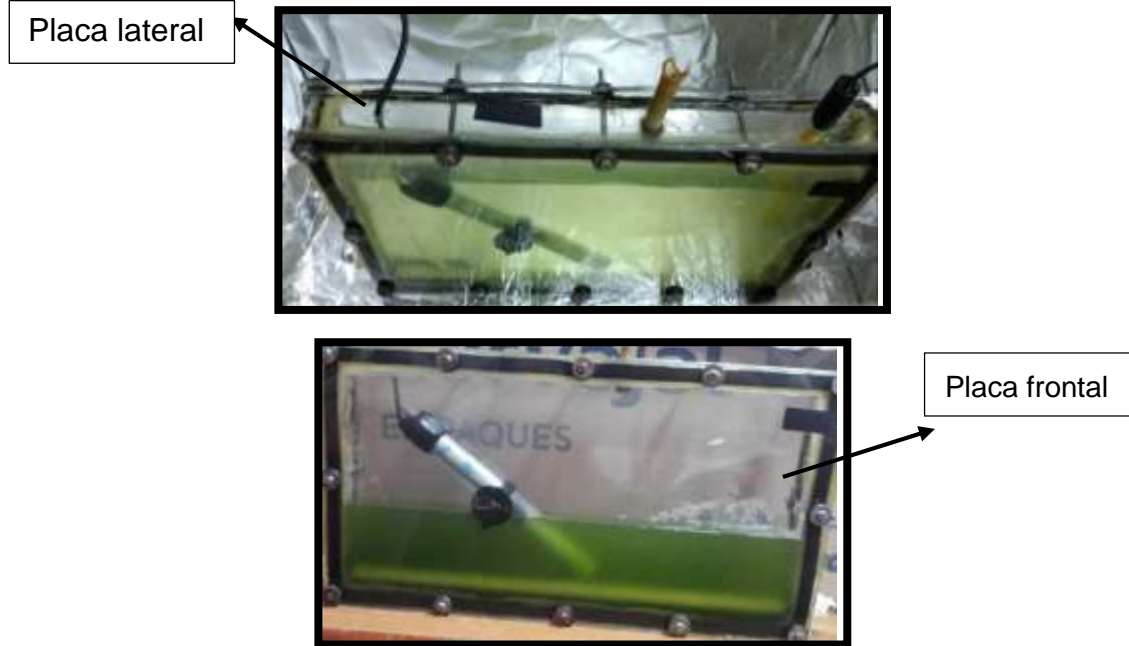
Tabla 6. Dimensiones del FBR panel plano

Dimensiones	Placa lateral	Placa frontal
Ancho	0,05 m	0,4 m
Alto	0,2 m	0,2 m

Fuente: ZAPATA, J. F. (2016). *Evaluación de la disminución en la concentración de CO₂ proveniente de una emisión del tratamiento térmico de residuos mitigado mediante el uso de la microalga *Chlorella vulgaris**. Bogotá, D.C: Fundación Universidad de América, Facultad de Ingeniería Química.

⁴⁸ Zapata, J. F. (2016). *Evaluación de la disminución en la concentración de CO₂ proveniente de una emisión del tratamiento térmico de residuos mitigado mediante el uso de la microalga *Chlorella vulgaris**. Bogotá, D.C: Fundación Universidad de América, Facultad de Ingeniería Química.

Figura 13. Fotobiorreactor vista lateral y frontal

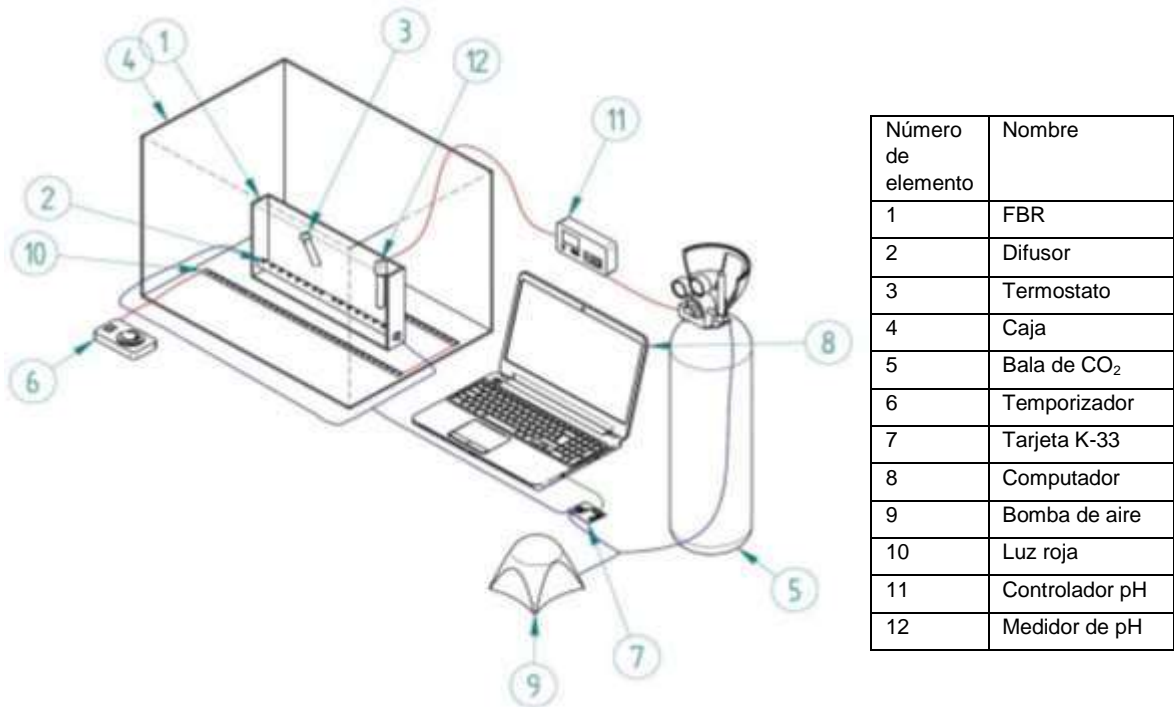


Las placas laterales tienen un ancho de 0,05 m y un alto de 0,2 m, y las placas frontales cuentan con 0,4 m de ancho y 0,2 m de alto. Las 6 placas que componen el fotobiorreactor se sostienen con la ayuda de 12 tornillos de 3 mm de diámetro con su respectivo empaque y tuercas. En la parte inferior del fotobiorreactor se encuentra el tubo de PVC que permite el paso del flujo de CO₂ con la ayuda de las mangueras que van conectadas desde la parte externa del fotobiorreactor a partir de un burbujeo que se da por las perforaciones que este contiene. En la parte central de una de las placas frontales se encuentra el termostato, que permite proporcionar la temperatura óptima para los experimentos y en la placa superior se encuentra un agujero en donde va ubicado el pH-metro.⁴⁹

2.5.1 Elaboración del montaje para el cultivo de las microalgas. Como segundo paso, se inició la elaboración del montaje apropiado (figura 14) para un proceso de biofijación óptimo y producción de biomasa de cada cepa de microalga. El montaje se realizó con los siguientes equipos:

⁴⁹ MIRYAM YESSSENIA SUÁRES CHAPARRO y JULIO ERNESTOCHICAGUI LARROTA, "Evaluación de la influencia del dióxido de carbono y la concentración inicial de *Chlorella vulgaris* sobre la producción de lípidos a escala laboratorio" Bogotá.D.C 2014; Trabajo de grado (ingeniero químico). Universidad de América. Facultad de Ingeniería Química. Departamento de Ingeniería Química

Figura 14. Montaje para la biofijación de CO₂ y producción de biomasa



2.5.1.1 Fuente de CO₂. El flujo del dióxido de carbono es suministrado al fotobiorreactor a partir de un tanque auxiliar con capacidad de 10 kg (figura 15). Esta corriente de CO₂ se controló por medio de un regulador, teniendo en cuenta las concentraciones establecidas de CO₂ en la sección 2.1.1 que se trabajan para la biofijación de la microalga.

Figura 15. Fuente de CO₂



2.5.1.2 Regulador de CO₂. El control de la presión de salida desde la fuente de CO₂ (tanque auxiliar) se realizó por medio de un regulador marca Deluxe Aquatek (figura 16) con un indicador de presión bajo el cual se estaba trabajando.

Figura 16. Regulador de CO₂



2.5.1.3 Sensor de CO₂ K-33 ICB. Permite medir la concentración de CO₂ que está saliendo de la bala y la que va a entrar directamente al fotobiorreactor. Las especificaciones y características del sensor se observan en el Anexo A.

El sensor funciona con la ayuda de una tarjeta K- 33ICB (figura 17) la cual mide el porcentaje de concentración de CO₂ de una corriente de flujo que pasa a través de un tubo de 0,8 mm, este va desde la bala de CO₂ hasta la entrada del sensor, con la ayuda de un filtro de líquido.

Para poder determinar cuánto porcentaje de CO₂ esta entrado al sensor se usa un cable de datos que va conectado al computador y por medio del software GasLab⁵⁰ se va graficando la variación del porcentaje del dióxido de carbono que entra a determinado tiempo. Los datos obtenidos por el software fueron recopilados como se observa en el anexo B. El flujo se puede aumentar o disminuir con la ayuda del regulador.

⁵⁰ CO2Meter. Software& documentation downloads, GasLab Sensor Confiuration & Dtata Logging Software. Disponible en:<https://www.co2meter.com/pages/downloads> [en línea]: 28 noviembre de 2017

Figura 17. Sensor K-33 ICB



2.5.1.4 Controlador de pH. El control del pH se dio interrumpiendo el paso del flujo del CO₂ al cultivo, con la ayuda del sensor del pH marca Milwaukee (figura 18), Este monitorea constantemente el pH del sistema y cierra automáticamente la electroválvula del regulador cuando los valores de pH está por encima de 7 o por debajo de 6.

Figura 18. Controlador de pH



2.6 CULTIVO DE MICROALGAS EN EL FOTOBIORREACTOR PANEL PLANO

A partir del crecimiento de la biomasa inicial, se tomaron para cada ensayo en el fotobiorreactor 1,5 L de microalga y 0,5 L de medio para un volumen total de 2 L.

Tabla 7. Ensayos realizados para la producción de biomasa

Ensayo	Microalga	Volumen (2 Litros)	% CO ₂
Primero	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	Microalga: 1,5 L	(0-3)
Segundo		Medio de cultivo: 0,5 L	(6-9)
Tercero	<i>Chlorella vulgaris</i>	Microalga: 1,5 L	(0-3)
Cuarto		Medio de cultivo: 0,5 L	(6-9)
Control 1	<i>Scenedesmus dimorphus</i>	Microalga: 1,5 L Medio de cultivo: 0,5 L	Aire
Control2	<i>Chlorella vulgaris</i>	Microalga: 1,5L Medio de cultivo: 0,5 L	

Para el proceso de crecimiento y biofijación se realizaron 4 ensayos en los que se varió el porcentaje de concentración y el tipo de microalga como se observa en la tabla 7.

2.6.1 Condiciones iniciales de trabajo en el fotobiorreactor. Previó a la puesta en marcha de los cultivos microalgales, a nivel de fotobiorreactor, se inició con la limpieza y la desinfección del FBR panel plano, con la ayuda de 3 gotas de cloro y 3 litros agua destilada. El fotobiorreactor se dejó funcionando con aire que era suministrado por una bomba Penn Plax Air-Pods de 75 galones, durante una semana. Luego se realizó el cambio del cloro y del agua y se dejó funcionando por otra semana, para asegurar la limpieza total del tubo de difusor.

Después de verificar que el fotobiorreactor se encontraba correctamente esterilizado, se procedió a realizar los ensayos.

2.6.2 Primer ensayo. A partir del montaje mostrado en la sección 2.4 (figura 13), se dio inicio a la crecimiento y biofijación de la microalga *Scenedesmus dimorphus*. Al fotobiorreactor previamente desinfectado, se le añadieron 1.5 litros de microalga y 50 mL de medio de cultivo, se manejó el rango de concentraciones de 0%- 3% de CO₂ durante 7 días y se realizó el conteo celular cada 24 horas.

Pasados los 8 días se desocupó nuevamente el fotobiorreactor y la microalga se llevó a 2 recipientes de 1 litro para su posterior sedimentación. En este primer ensayo se inició con una concentración de $1,28 \times 10^6$ cel/mL de *Scenedesmus dimorphus*.

2.6.3 Segundo ensayo. Luego de la previa desinfección del fotobiorreactor se dio inicio al segundo ensayo, en donde se le adicionó al fotobiorreactor nuevamente 1,5 litros de *Scenedesmus dimorphus* y 500 mL de medio de cultivo. Se manejó un rango de concentración de 6% a 9% de CO₂ durante 8 días, realizando el conteo celular cada 24 horas.

En este ensayo se inició con una concentración de $1,28 \times 10^6$ cel/mL de *Scenedesmus dimorphus*. Al cabo de los 8 días se desocupó el fotobiorreactor y se realizó su desinfección y la microalga se llevó a 2 recipientes de 1 litro para su posterior sedimentación.

2.6.4 Tercer ensayo. Una vez terminada la limpieza del fotobiorreactor, se llevó a cabo el tercer ensayo, en donde se empezó a evaluar el comportamiento de la microalga *Chlorella vulgaris* a un rango de concentración de 0% a 3% de CO₂ durante 8 días. Al fotobiorreactor también se le añadieron 1,5 litros de microalga y 500 mL de medio de cultivo y se realizó el conteo celular cada 24 horas. Este experimento se inició con una concentración de $5,85 \times 10^6$ cel/mL de *Chlorella vulgaris*. Nuevamente se desocupó el fotobiorreactor para el último ensayo y la microalga se llevó a 2 recipientes de 1 litro para su posterior sedimentación.

2.6.5 Cuarto ensayo. Finalmente se llevó a cabo el cuarto ensayo, en donde se evaluó el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* con un flujo de Dióxido de Carbono de 6% a 9% durante 8 días. Luego de la limpieza adecuada para el fotobiorreactor se añadieron 1,5 litros de microalga y 500 mL de medio de cultivo y el conteo se realizó cada 24 horas.

Para este ensayo se inició una concentración de *Chlorella vulgaris* de $6,25 \times 10^6$ cel/mL. Pasados los 8 días la microalga se llevó a 2 recipientes de 1 litro para su correcta sedimentación.

2.6.6 Control 1 y control 2. Se realizó el crecimiento de las dos cepas de microalgas en el fotobiorreactor panel plano con un flujo de aire suministrado por la bomba Penn Plax Air-Pods de 75 galones, para observar la diferencia del crecimiento frente al suministro de CO₂. En este ensayo se inició con una concentración de $7,67 \times 10^5$ cel/ mL de *Scenedesmus dimorphus* y $5,42 \times 10^6$ cel/mL de *Chlorella vulgaris*.

Cabe aclarar que para los ensayos no se realizaron repeticiones por razones de costos, por lo tanto para precisar los datos, se realizaron 3 conteos diarios los cuales se observan en el Anexo C.

2.7 CONTEO CELULAR

El conteo celular se realizó cada 24 horas con la ayuda del microscopio y en la cámara de Neubauer, para determinar el crecimiento celular y producción de biomasa para cada cepa de microalga con sus respectivos rangos de concentración de dióxido de carbono. A partir de este conteo se logra iniciar el análisis de los resultados y el crecimiento de la microalga por medio de la ecuación 1.

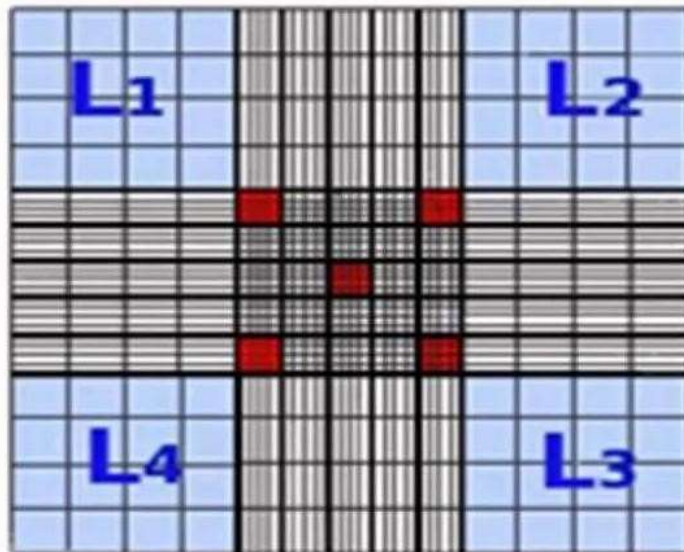
Ecuación 1. Cálculo de concentración celular

$$\text{Concentraciones } \left(\frac{\text{cel}}{\text{mL}}\right) = \frac{\text{número de células} * \text{factor de dilución ml}}{\text{Volumen (ml)}}$$

- Número de células es la suma de todas las células contadas.
- Volumen es el total de todos los cuadros en donde se realizó en recuento. El volumen de 1 cuadro grande es de 0,0001mL.

Fuente: BASTIDAS, Oscar. Conteo celular con hematocitómetro, uso elemental del Hematocitómetro. Disponible en: <http://www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/Conteo-Camara-Neubauer.pdf>. [En línea]. 8 de noviembre de 2017. Pág. 4.

Figura 19. Conteo de células en la cámara de Neubauer



Fuente: YEPIZ, Arturo. Operar equipo y material de laboratorio. Cámara de Neubauer. Disponible en: <http://arturo18yepiz.blogspot.com.co/2009/05/camara-de-neubauer.html> [En línea]. 8 de noviembre de 2017.

Teniendo en cuenta los cuadros en donde se realizó el conteo (figura 19) se calculó correctamente la concentración celular con respecto al volumen utilizado, el cual es 0,2 mm de lado (ancho y alto) y 0,1 mm de profundidad, estos datos se determinan en la cámara de Neubauer. Por lo tanto la ecuación 1 queda de la siguiente manera

$$\begin{aligned} \text{Concentración} \left(\frac{\text{cel}}{\text{ml}} \right) &= \frac{N^{\circ} \text{ células totales} * \text{factor de dilución}}{5 \text{ cuadros} * (0,2 \text{ mm} * 0,2 \text{ mm} * 0,1 \text{ mm})} \\ &= \frac{N^{\circ} \text{ células totales} * \text{factor de dilución}}{5 \text{ cuadros} * (0,004 \text{ mm}^3) * \left(\frac{0,001 \text{ mL}}{1 \text{ mm}^3} \right)} \\ &= \frac{N^{\circ} \text{ células totales} * \text{factor de dilución}}{2 \times 10^{-5} \text{ mL}} \end{aligned}$$

Con respecto al factor de dilución se tiene en cuenta cuando el conteo celular supera los 2,5 millones de células por mL,⁵¹ ya que a este punto, la probabilidad de cometer errores es muy grande, por lo tanto es recomendable realizarle una dilución a la muestra con solución salina. La relación que se tiene en cuenta para la dilución es que por cada 0,5 mL de muestra se adiciona 4,5 mL de solución salina. Si a la primera dilución no es sencillo realizar el conteo, se debe realizar una segunda dilución por lo tanto se multiplicaría por 10² y el factor de dilución sería 10⁻², y así sucesivamente con respecto a la cantidad de diluciones que sea necesario realizar.

Luego de determinar la concentración celular se procedió a determinar la velocidad del crecimiento celular a partir de la ecuación 2

Ecuación 2. Velocidad máxima para el crecimiento de la microalga

$$\ln(N) = \ln(N_0) + \mu_{\text{máx}} * t$$

En donde:

- N= concentración celular a t.
- No= concentración celular en tiempo cero
- $\mu_{\text{máx}}$ = velocidad máxima.
- t= tiempo

2.8 OBTENCIÓN DE BIOMASA SECA Y BIOFIJACIÓN

El protocolo que se utilizó para obtener la biomasa de las dos cepas de microalgas para cada rango de concentración, es la determinación de peso seco tomado del

⁵¹ BASTIDAS, Oscar. Conteo celular con hematocitómetro, uso elemental del Hematocitómetro. Disponible en: <http://www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/Conteo-Camara-Neubauer.pdf>. [En línea]. 8 de noviembre de 2017. Pág, 4.

libro “Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal”⁵² en donde se indican los siguientes pasos.

2.8.1 Toma de volumen de la microalga. Luego de dejar sedimentar cada muestra de microalga por 4 días, se procedió retirar el volumen de agua en exceso que era 971 mL. Posterior a esto, se tomó 29 mL de la parte sedimentada, se homogenizó y se llevó a los recipientes de aluminio. Luego de ser pesados en balanza analítica HT 200e / 0,0001g.

2.8.2 Secado en la estufa. Después de tener el volumen conocido de las muestras en los recipientes de aluminio, se llevó a la cámara de secado Nabertherm TR120, a una temperatura de 50°C durante 18 horas, este tiempo de secado depende del tipo de estufa que se usa y el volumen de la muestra.

2.8.3 Recipientes en el desecador. Pasadas las 18 horas, se retiraron los recipientes de aluminio de la cámara de secado, se pesaron en la balanza analítica, para poder determinar cuánta agua se retiró, y posterior a esto se llevaron a un desecador durante 2 horas, para extraer la humedad sobrante.

2.8.4 Peso Seco. Pasadas las 2 horas en el desecador, se llevaron los recipientes de aluminio a la balanza analítica. Para determinar si el retiro de humedad es considerable o no. si el retiro es muy considerable, se debe repetir nuevamente el protocolo, hasta que el peso de la biomasa seca sea constante.

2.8.5 Cálculos de peso seco. Luego de verificar que el peso de la biomasa es constante, se determina el peso seco total con la ecuación 3.

Ecuación 3. Determinación de peso seco

$$\text{Peso seco } \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{\text{Peso de recipiente de muestra seca (mg)} - \text{Peso de recipiente (mg)}}{\text{Volumen de cultivo secado (L)}}$$

Fuente: ARREDONDO, Bertha; VOLTOLINA, Doménico. Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Centro de investigaciones biológicas, La paz, Baja California sur, México (2007, ISB=9-78-968571-55-15. 1 vol. Cap. III, p.27

⁵² ARREDONDO, Bertha; VOLTOLINA, Doménico. Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Centro de investigaciones biológicas, La paz, Baja California sur, México (2007, ISB=9-78-968571-55-15. 1 vol. Cap. III, p.27

2.8.6 Determinación de la biofijación de CO₂ por los cultivos de microalgas. A partir de la determinación del peso seco, se calculó la Biofijación con las siguientes ecuaciones 4 y 5.

Ecuación 4. Biofijación del Dióxido de Carbono a partir del conteo celular

$$CO_2 \text{ Biofijación} = \frac{X_{m\acute{a}x} - X_0}{t} * C * \frac{MCO_2}{M_c}$$

Fuente: A, Rinanti; E, Kardena; A, Astuti; K, Dewi, et al. "Integrated vertical photobioreactor system for carbón dioxide removal using phototrophic microalgae" *Nigerian journal of technology*. Vol 32 No 2. 2013. Pág. 225-233

Ecuación 5. Biofijación del Dióxido de Carbono a partir de la productividad de biomasa seca

$$CO_2 \text{ Biofijación} = P * C * \frac{MCO_2}{M_c}$$

Fuente: F, Jianhua; X, Hui; L, Yuanchan; W, Minxi; H, Jianke; W, Weiliang, L, Yaunguang, et al. "Impacts of CO₂ concentration on growth, lipid accumulation, and carbon-concentrating mechanism-related gene expression in oleaginous *Chlorella*" *Appl Microbiol Biotechnol*. 2015. Pág. 2451-2462

En donde:

- $X_{m\acute{a}x}$ =Concentración máxima celular.(cel/L)
- X_0 =Concentración celular inicial.(cel/L)
- P= productividad de biomasa seca (g/L*d)
- C=Carbón que contiene la biomasa.
- t= tiempo requerido para llegar a la concentración máxima.(d)
- MCO_2 = peso molecular de CO₂ (g)
- MC= peso molecular de C (g)

2.8.7 Estadística de la biomasa seca obtenida. A partir de diseño factorial con una observación por celda, se pretende analizar si los factores que se cambiaron durante el desarrollo del proyecto intervienen en la obtención de biomasa seca, es decir, si el cambio de microalga y el cambio de concentraciones de CO₂ intervienen en la cantidad de biomasa producida.

2.8.8 Estadística del grado de biofijación CO₂. Se realizó un análisis estadístico para determinar qué factores intervienen en la biofijación de CO₂, teniendo en cuenta el cambio de la cepa de microalga y el cambio de la concentración del dióxido de carbono suministrado. Esto se realizó a partir del diseño factorial con una observación por celda con ANOVA, ya que este tipo de análisis es el indicado para experimentos que por razones de costos y de tiempo no se puede realizar más de una repetición, como en el caso de este proyecto.

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 SELECCIÓN DE CONCENTRACIONES DE DIOXIDO DE CARBONO

Tabla 8. Concentraciones seleccionadas de CO₂

Microalgas	Concentración de CO ₂	
<i>Chlorella vulgaris</i>	(0-3%)	(6-9%)
<i>Scenedesmus dimorphus.</i>		

A partir de la revisión teórica sobre las condiciones de crecimiento que se presentaron en la sección 2.1 se pudo determinar que a concentraciones menores de 10% de CO₂ las microalgas presentan un mejor crecimiento por esta razón, en este proyecto de investigación se realizó el crecimiento y la biofijación en 2 rangos que son de (0-3) %CO₂ y de (6-9) % de CO₂. No se realizó el análisis del crecimiento en el rango de (4-5) %CO₂ debido a que según investigaciones previas en este rango la microalga *Chlorella vulgaris* presenta un comportamiento uniforme a lo largo del tiempo⁵³.

Se han establecido rangos de concentración debido a que el suministro de corrientes con concentraciones de CO₂ específicas generan mayores costos, debido a ello se implementó un montaje adecuado como se mencionó en la sección 2.5.1 en donde se asegura el correcto control del flujo del CO₂.

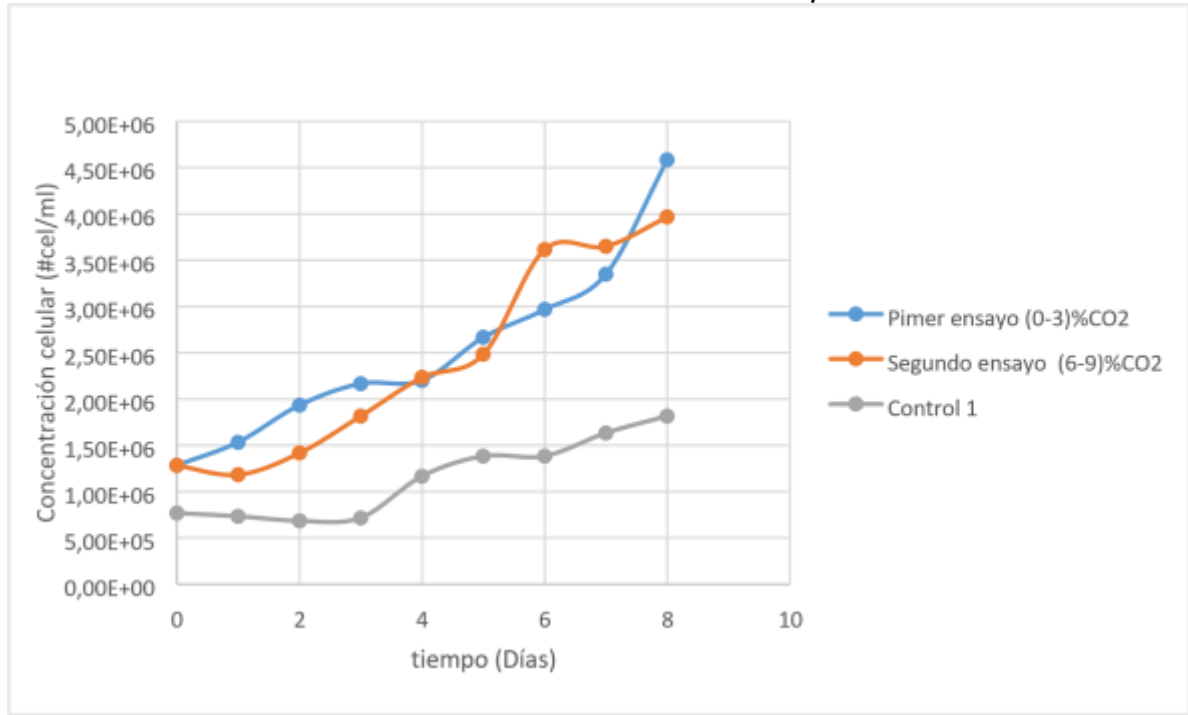
3.2 CRECIMIENTO DE LAS CEPAS MICROALGALES BAJO DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CO₂

Para determinar qué porcentaje de dióxido de carbono proporciona un mayor crecimiento en las microalgas trabajadas en este proyecto, se realizó la curva de crecimiento para cada cepa a los rangos de concentraciones indicados en la sección 3.1 y a 0% de CO₂, para poder observar si al suministrar el dióxido de carbono hace que las microalgas tengan un crecimiento considerable.

⁵³ CHAPARRO, Myriam. (2014). *Evaluación de la influencia del dióxido de carbono y la concentración inicial de Chlorella vulgaris sobre la producción de lípidos a escala laboratorio*. Bogotá D.C: Fundación Universidad de América, Facultad de Ingeniería Química.

3.2.1 Crecimiento de la microalga *Scenedesmus dimorphus*.

Gráfica 1. Curva de crecimiento de *Scenedesmus dimorphus*



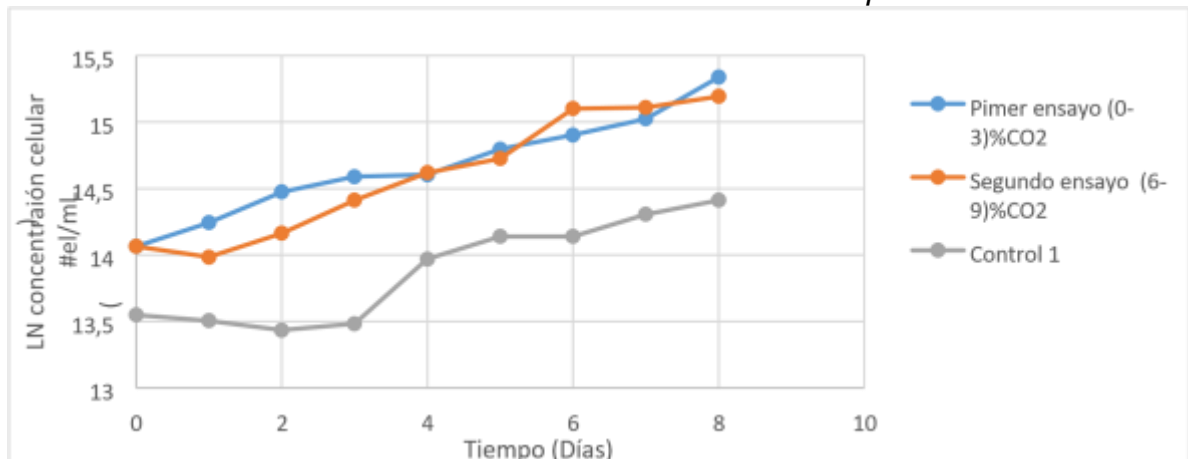
En la gráfica 1 se puede observar el comportamiento que presentó la microalga *Scenedesmus dimorphus* al suministrar los rangos de concentración de dióxido de carbono ya establecidos. Se puede decir que la microalga con el rango de (0-3) % CO₂ tuvo una mayor concentración final que fue de $4,58 \times 10^6$ cel/mL y que tomó solo 1 día para adaptarse al medio y al dióxido de carbono, ya que a partir del segundo día se ve que empieza a crecer satisfactoriamente. Mientras que al suministrar (6-9) % CO₂ la microalga tomó más tiempo para adaptarse que fue de 2 días aproximadamente, y su máxima concentración alcanzada fue de $3,97 \times 10^6$ cel/mL. También indica que la microalga *Scenedesmus dimorphus* en condiciones normales, es decir, sin suministrar corriente de dióxido de carbono, necesita más días para adaptarse al medio foliar que al dióxido de carbono como se observa en la gráfica 1, la *Scenedesmus* con solo foliar se demoró 3 días en adaptación mientras que con dióxido de carbono necesito 1 o 2 días para adaptarse.

Con los resultados anteriores se confirma los datos de las fuentes bibliográficas en donde especifican que el crecimiento de las microalgas es más alta de lo normal cuando se suministra pequeñas concentraciones de CO₂.

En el momento de realizar la curva de crecimiento de la microalga *Scenedesmus dimorphus* se pudo determinar que el crecimiento de esta microalga llega hasta el

día 8, y según el artículo “integrated vertical photobioreactor system for carbón dioxide removal using phototrophic microalge” de la revista NIJOTECH Universidad de Nigeria, indica en sus resultados, que la microalga *Scenedesmus* necesita de 8 días para llegar a su máxima concentración celular. En este artículo estudian el crecimiento de la microalga cuando se le suministra dióxido de carbono al 2%, 5%, 7 % y 8%, y demuestran que en todas las concentraciones la *Scenedesmus* tiene un crecimiento hasta el día 8. Por tal razón, en este proyecto el tiempo de conteo celular para determinar el crecimiento y la biofijación fue de 8 días.

Gráfica 2. Velocidad de crecimiento de *Scenedesmus dimorphus*



En la gráfica 2 se observa la linealización de la curva del crecimiento, para esto, se determinó el logaritmo natural de los datos de las concentraciones celulares, y se graficó con respecto al tiempo. A partir de esta grafica se pudo determinar la ecuación para cada curva y así calcular el $\mu_{\text{máx}}$ (ecuación 2) mencionada en la metodología, es decir la velocidad máxima a la que llegó la microalga para su crecimiento a cada rango de concentración de CO₂.

Tabla 9. Velocidad máxima de *Scenedesmus dimorphus* a diferentes rangos de CO₂

Ensayo	Concentración de CO ₂	Ecuación de la gráfica	$\mu_{\text{máx.}} (\text{d}^{-1})$
Primer	(0%-3%)	$y=0,1417x+14,104$	0,1417
Segundo	(6%-9%)	$y=0,1680x+13,935$	0,1680
Control 1	Foliagro (0%)	$y=0,1320x+13,354$	0,1320

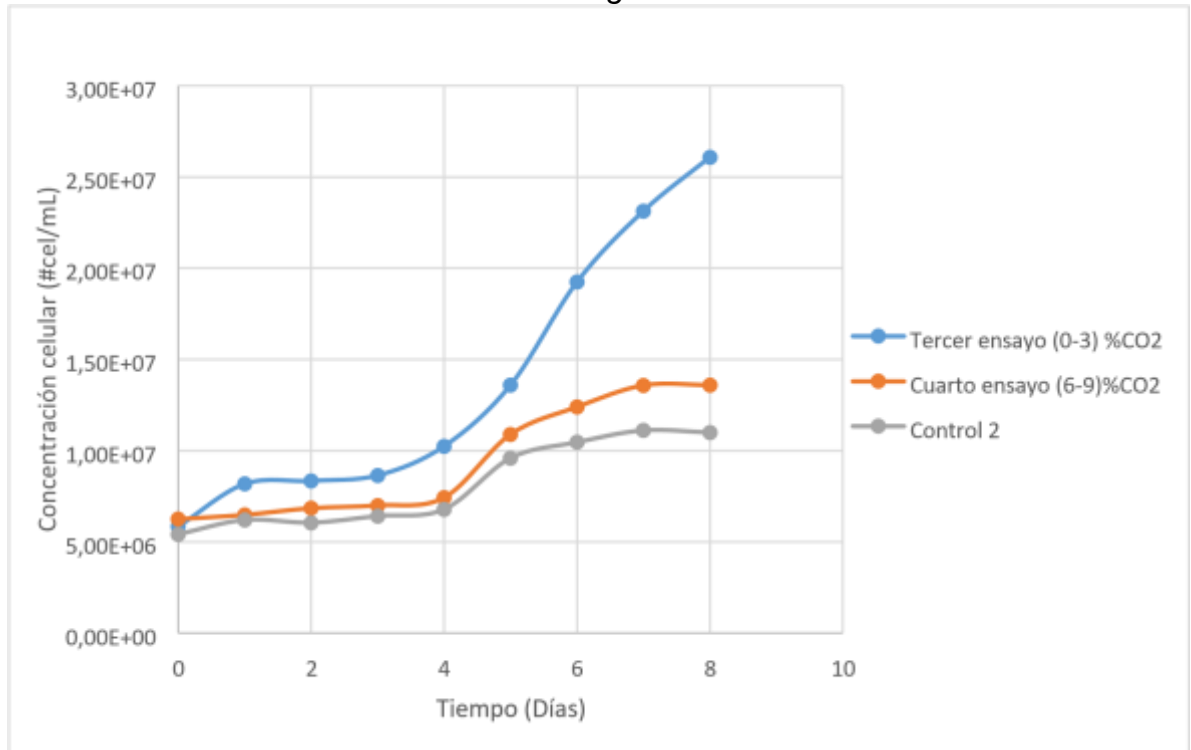
En la tabla 9 están las velocidades máximas de la *Scenedesmus dimorphus* a los rangos de concentración de CO₂ establecidos. Con respecto a estos resultados se puede decir que la microalga que se sometió en un rango de (0-3) % CO₂ genera menor cantidad de masa por día que la microalga que se sometió de (6-9) % CO₂.

la microalga que se sometió a solo aire genera una menor cantidad de masa por unidad de biomasa por cada día.

También se puede observar en las velocidades máximas de cada ensayo no son tan diferentes, por lo tanto las concentraciones en las que inicia cada ensayo no perjudica el crecimiento de la microalga.

3.2.2 Microalga *Chlorella vulgaris*

Gráfica 3. Curva crecimiento *Chlorella vulgaris*

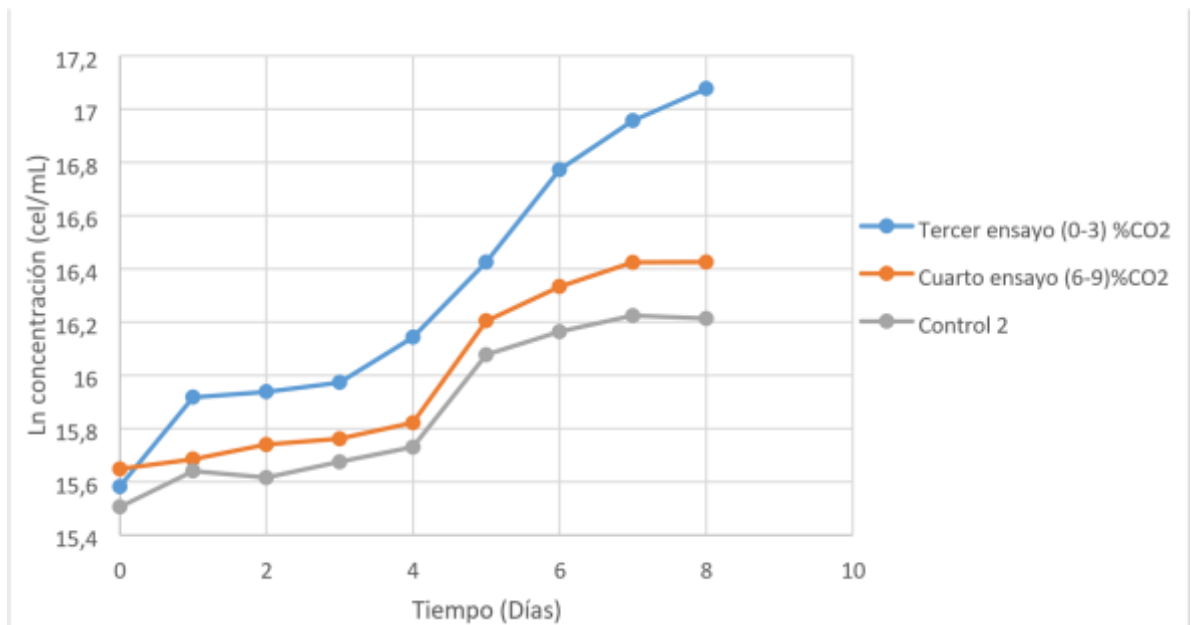


En la gráfica 3 se observa el comportamiento de la *Chlorella vulgaris* al suministrar los diferentes rangos de concentraciones establecidas de dióxido de carbono. Se puede decir que la microalga *Chlorella vulgaris* tiene una fase de adaptación de 4 días sin importar el porcentaje de concentración de dióxido de carbono que se le suministre, ya que como se observa para el tercer y cuarto ensayo tuvo el mismo tiempo de adaptabilidad.

Por otra lado, en estos ensayos también se rectificaron los datos de la bibliografía consultada, en donde indican que a menores concentraciones de CO₂ mayor será el crecimiento microalgal, ya que como se observa el tercer ensayo tiene una concentración máxima de $2,61 \times 10^7$ cel/mL al cabo de los 8 días, mientras que la del cuarto ensayo es de $1,36 \times 10^6$ cel/mL.

Para realizar el conteo celular de la *Chlorella vulgaris* también se tomaron 8 días, ya que este factor puede afectar los resultados al momento de comparar de las dos cepas trabajadas cuando se determine la biomasa seca y el grado de biofijación de CO₂.

Gráfica 4. Velocidad de crecimiento de *Chlorella vulgaris*



La velocidad máxima de la *Chlorella vulgaris* se determinó de la misma forma que la microalga *Scenedesmus dimorphus*. Los resultados se observa en la tabla 10

Tabla 10. Velocidad máxima de *Chlorella vulgaris* a diferentes rangos de CO₂

Ensayo	Concentración de CO ₂	Ecuación de la gráfica	$\mu_{\text{máx.}} (\text{d}^{-1})$
Tercer	(0%-3%)	$y=0,187x+15,561$	0,187
Cuarto	(6%-9%)	$y=0,116x+15,541$	0,116
Control 2	Foliagro (0%)	$y=0,1014+15,466$	0,1014

La velocidad máxima de *Chlorella vulgaris* a (0-3) % de CO₂ es mayor, lo que quiere decir que genera una mayor de cantidad de biomasa por día que cuando se suministra de (6-9) %CO₂, esto se puede evidenciar mejor en los resultados de peso seco. Gráfica 5.

3.3 DETERMINACIÓN DE LA BIOFIJACIÓN DE DIÓXIDO DE CARBONO EN LA CEPAS CULTIVADAS

Para especificar cuál microalga tiene mayor grado de biofijación de dióxido de carbono se debe determinar primero la biomasa seca como se describe en la metodología. Por lo tanto en esta sección, se presentan primero los resultados de la biomasa seca y posterior a esto se presenta el grado de biofijación de cada experimento.

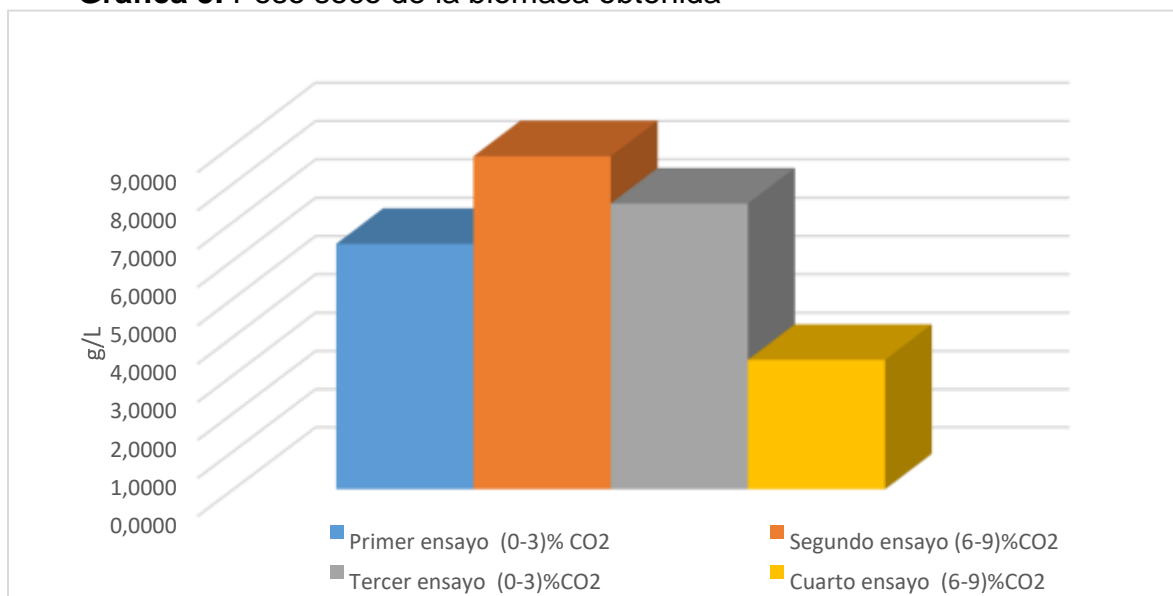
3.3.1 Obtención de biomasa seca. En la tabla 11 se presentan los datos usados para determinar la biomasa seca a partir de la ecuación 3. El peso inicial es el de cada recipiente de aluminio que se usó para poner la muestra en la cámara de secado Nabertherm, el peso final es el del recipiente de aluminio con la muestra seca, y el volumen total que se tomó para cada muestra es de 0,029 L. ya que este volumen fue el mínimo que se obtuvo en las muestras, teniendo en cuenta que para realizar la biomasa seca se necesita el mismo volumen para cada muestra y si se toma volúmenes grandes para secar, se requiere otro tipo de protocolo, por lo que el tiempo y la temperatura usadas en este proceso no serán suficientes para secar las muestras.

Tabla 11. Resultados de biomasa seca

Ensayos	Peso final (g)	Peso inicial (g)	Volumen (L)	Biomasa Seca (g/L)
Primer (0-3)% CO₂	4,3307	4,1445	0,029	6,4207
Segundo (6-9)%CO₂	6,6003	6,3478	0,029	8,7069
Tercer (0-3)%CO₂	4,3665	4,1498	0,029	7,4724
Cuarto (69)%CO₂	4,2616	4,1632	0,029	3,3931

A partir de los resultados que se presentan en la tabla 11, se construyó la gráfica 5, la cual indica la cantidad de biomasa seca por cada litro obtenida en cada experimento.

Gráfica 5. Peso seco de la biomasa obtenida



En la gráfica 5 se puede observar que al suministrar un rango de concentración de (6-9) % CO₂ el rendimiento de microalga *Scenedesmus dimorphus* es el más favorecido para la obtención de biomasa seca ya que se generó 8,71 g/L. Con este dato se corrobora la velocidad máxima obtenida en la sección 3.2.1, en donde se indicó que el experimento con mayor velocidad máxima es el que más cantidad de biomasa genera por día. Lo mismo sucede, si solo se compara la obtención de biomasa seca para la microalga *Chlorella vulgaris*, como se observa en la sección 3.2.2 el experimento con la mayor velocidad máxima es *Chlorella vulgaris* en el rango de (0-3) % CO₂ y como se puede ver en la gráfica 5 nos indica lo que el mismo experimento obtuvo más biomasa seca.

Por otro lado al observar gráfica 5 se podría decir que la microalga *Scenedesmus dimorphus* asimila mejor el carbono que se suministra ya que por esto a medida que se aumenta la concentración de dióxido de carbono mayor será la producción de biomasa seca, como se observa en la gráfica 5 a menor concentración de CO₂ menor producción de biomasa. Mientras que con la microalga *Chlorella vulgaris* sucede lo contrario, esta microalga no asimila tan fácil el carbono y pues a medida que se aumenta la concentración del dióxido de carbono genera una menor biomasa seca.

3.3.1.1 Análisis estadístico de la biomasa seca obtenida. Para el diseño factorial las hipótesis planteadas son las siguientes.

H_{0A}= El cambio de cepa de microalga interviene en la producción de biomasa seca.

H_{1A}= El cambio de cepa de microalga no interviene en la producción de biomasa seca.

H_{0B}= El cambio de concentración de dióxido de carbono interviene en la producción de biomasa seca.

H_{1B} = El cambio de concentración de dióxido de carbono no interviene en la producción de biomasa seca.

Tabla 12. Análisis diseño factorial con una observación por celda para biomasa seca

MICROALGA	(0-3)% CO₂	(6-9) %CO₂	TOTALES
<i>S. dimorphus</i>	6,421	8,707	15,128
<i>C. vulgaris</i>	7,472	3,393	10,866
TOTALES	13,893	12,1	25,993
F_A	0,448	F_{0,05;1;4}	7,71
F_B	0,080	F_{0,05;1;4}	7,71

A partir de los resultados que se muestran en la tabla 12 se confirma que la cepa de microalga que se trabaje si influye en la producción de biomasa como se explicó en la sección 3.3.1, esto se puede determinar debido a que F_A que es la interacción que existe entre la microalga y la biomasa seca es menor al factor crítico $F_{0,05;1;4}$, por lo tanto se acepta la hipótesis nula H_{0A} . Lo mismo sucede con la interacción que existe entre el cambio de concentración de dióxido de carbono y la biomasa producida F_B , es menor al factor crítico $F_{0,05;1;4}$ por lo tanto la hipótesis nula es aceptada, lo que quiere decir que al cambiar la concentración de CO_2 si interviene significativamente en la producción de biomasa.

3.3.2 Grado de biofijación CO_2 . En la tabla 14 se muestran los datos que se necesitan para calcular el grado de biofijación para cada experimento, según la ecuación 5 indicada en la metodología. La producción volumétrica se halla a partir del peso seco calculado en la sección 3.3.1, y mostrado en la tabla 11, se dividido en el tiempo que se realizó cada experimento que es 8 días. C es la cantidad de carbono que tiene cada muestra después de obtener el peso seco, esto se determina según la composición de cada cepa de microalga, en donde la *Chlorella vulgaris* tiene 49,55% de Carbono (Tabla 13) según el libro *CO₂ bifixation by microalgae* de Tebbani, S; Lopez, F; Filali, R; Dumur, D; Pareau, D.⁵⁴

⁵⁴ S, Tebbani; F, Lopez; R, Filali; D, Dumur; D, Pareau, et ISTE Ltd and John Wiley& Sons, Inc. "CO₂ biofication by microalgae" Gran Bretaña, 2014. Pág. 59

Tabla 13. Composición másica de la *Chlorella vulgaris*

Elements	Dry weight (%)
Carbon	49,55
Oxygen	28,83
Hydrogen	6,72
Nitrogen	8,13
Sulfur	0,71

Fuente: S, Tebbani; F, Lopes; R. Filali; D, Dumur; D, Pareau, et ISTE Ltd and John Wiley & Sons Inc. "CO₂ biofixation by microalgae" Gran Bretaña, 2014. Pág. 59

La *Scenedesmus dimorphus* según Rinanti et al (2013) después de realizar un análisis elemental de la microalga, se determinó que contiene un 56,3% de Carbono.⁵⁵

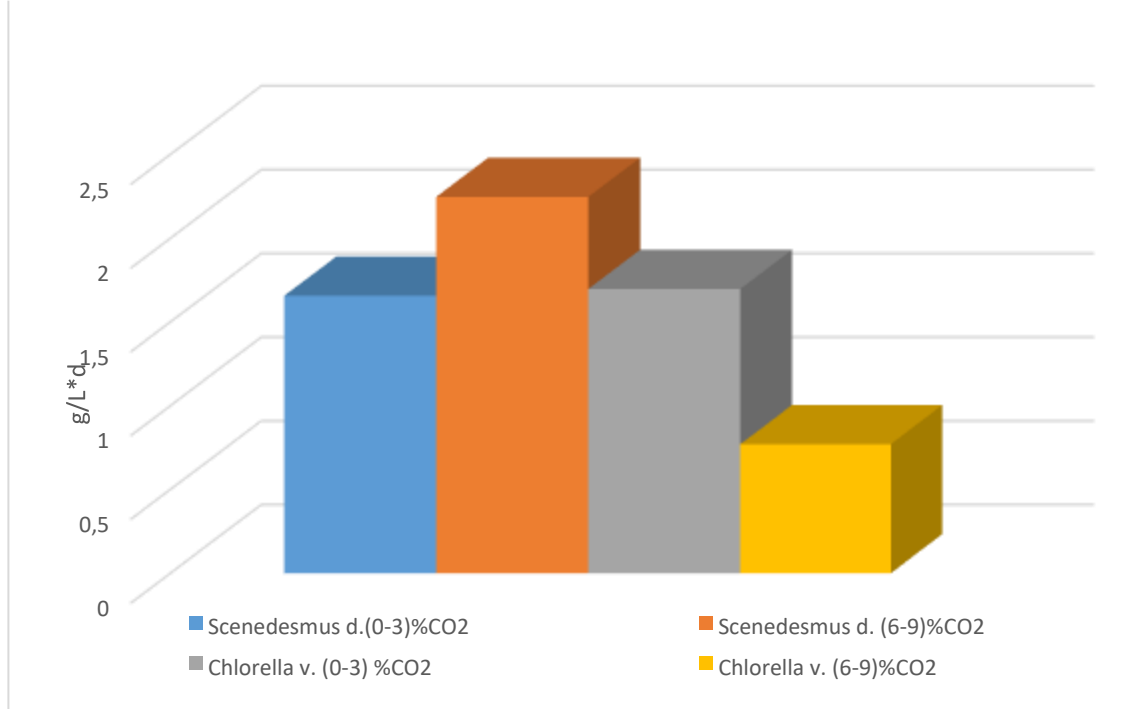
Tabla 14. Datos para la determinación del grado de biofijación de CO₂

Ensayos	Microalgas	Producción volumetrica (g*L ⁻¹ *día ⁻¹)	C	Biofijación (g*L ⁻¹ *día ⁻¹)
Primero	<i>S. dimorphus</i> (0-3)%CO ₂	0,8026	0,563	1,66
Segundo	<i>S. dimorphus</i> (6-9)%CO ₂	1,0884	0,563	2,25
Tercer	<i>C. vulgaris</i> (0-3) %CO ₂	0,9341	0,4955	1,70
Cuarto	<i>C. vulgaris</i> (6-9)%CO ₂	0,4241	0,4955	0,77

A partir de estos datos, se construyó la gráfica 6 en donde se observa el grado de biofijación de CO₂ para cada experimento.

⁵⁵ A, Rinanti; E, Kardena; A, Astuti; K, Dewi, et al. "Integrated vertical photobioreactor system for carbón dioxide removal using phototrophic microalgae" *Nigerian journal of technology*. Vol 32 No 2. 2013. Pág. 225-233

Gráfica 6. Biofijación CO₂



En la gráfica 6 se puede determinar que la microalga *Scenedesmus dimorphus* tiene un mejor grado de biofijación comparada con la *Chlorella vulgaris*. Como se observa, la *Scenedesmus dimorphus* biofijó $2,25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ de CO₂ cuando se le suministró una corriente de dióxido de carbono a una concentración de (6-9) %, mientras que la *Chlorella v.* a la misma concentración de CO₂ biofijó solo $0,77 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$. Pero cuando se suministra una corriente de dióxido de carbono con la concentración de (0-3) % en donde la *S. dimorphus.* y la *C. vulgaris.* biofijaron $1,65 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ y $1,69 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ respectivamente, en donde la biofijación es casi la misma, no hay diferencia significativa. Este comportamiento se puede dar porque como se mencionó en el análisis de la biomasa seca, la microalga *Chlorella vulgaris* asimila más fácil el Carbono y a medida que se aumenta la cantidad de CO₂, genera menor cantidad de biomasa seca y por lo tanto un menor grado de biofijación que la microalga *Scenedesmus dimorphus*.

Los resultados anteriores (tabla 14) también confirman, que las microalgas *Scenedesmus dimorphus* y *Chlorella vulgaris* tienen un buen rendimiento para la biofijación de CO₂ en un fotobiorreactor panel plano.

Tabla 15. Comparación de los resultados con los antecedentes de la biofijación de *Scenedesmus dimorphus* a diferentes concentraciones de CO₂.

Concentraciones de CO ₂ (%)	Biofijación de los antecedentes (g*L ⁻¹ *día ⁻¹)	Concentraciones de CO ₂ (%)	Biofijación (g*L ⁻¹ *día ⁻¹)
(0-2)%	2,00	(0-3)%	1,66
(5-7)%	3,61	(6-9)%	2,25

Fuente: A, Rinanti; E, Kardená; A, Astuti; K, Dewi, et al. "Integrated vertical photobioreactor system for carbón dioxide removal using phototrophic microalgae" Nigerian journal of technology. Vol 32 No 2. 2013. Pág. 225-233

Para corroborar que la biofijación realizada por la *Scenedesmus dimorphus* en este proyecto es coherente se realizó una comparación con los resultados de los 5 antecedentes y se puede decir que tienen relación, como se observa en la tabla 15. En el artículo "Integrated vertical photobioreactor system for carbón dioxide removal using phototrophic microalgae" obtuvieron una biofijación de CO₂ a concentraciones de (0- 2)% de 2,00 g*L⁻¹ *día⁻¹ , mientras que en este proyecto en el rango de (0-3)% CO₂ se obtuvo una biofijación de 1,66 g*L⁻¹ *día⁻¹ lo que quiere decir que los resultados obtenidos son coherentes y que la diferencia que existe sucede por las condiciones a las que se sometieron, ya que en el antecedente en el que se basó la biofijación se realizó en un fotobiorreactor tubular mientras que en el presente proyecto se realizó en un fotobiorreactor de panel plano.

Lo mismo sucede si se observa los resultados de la biofijación de (5- 7) % CO₂ y el rango de (6-9) % de CO₂ son cercanos, lo que quiere decir que el resultados es coherente con respecto a los antecedentes.

Tabla 16. Comparación de los resultados con los antecedentes de la biofijación de *Chlorella vulgaris* a diferentes concentraciones de CO₂.

Concentraciones de CO ₂ (%)	Biofijación de los antecedentes (g*L ⁻¹ *día ⁻¹)	Concentraciones de CO ₂ (%)	Biofijación (g*L ⁻¹ *día ⁻¹)
6%	1,3	(6-9)%	0,77
32%	4,3		

Fuente: ZAPATA, J. F. (2016). Evaluación de la disminución en la concentración de CO₂ proveniente de una emisión del tratamiento térmico de residuos mitigado mediante el uso de la microalga *Chlorella vulgaris*. Bogotá, D.C: Fundación Universidad de América, Facultad de Ingeniería Química.

Se realizó la comparación de los resultados obtenidos de la biofijación del CO₂ de *Chlorella vulgaris* con respecto a la tesis realizada en la Universidad de América en el año 2016 por Zapata titulado “*Evaluación de la disminución en la concentración de CO₂ proveniente de una emisión del tratamiento térmico de residuos mitigado mediante el uso de la microalga Chlorella vulgaris*” en donde uso la concentración de 32% de CO₂ y se basó con el resultado de la biofijación a 6% de CO₂ obtenido por Anjos et al. 2013⁵⁶. A partir de estos datos indicados en la tabla 16 se puede decir que el resultado obtenido en el rango de (6-9) % de CO₂ es coherente ya que no existe diferencia significativa. También se debe tener en cuenta que estas biofijaciones se realizaron en un fotobiorreactores diferentes.

Por otro lado, comparando los resultados se indica que se presenta mayor biofijación de dióxido de carbono en fotobiorreactor tubular que en el fotobiorreactor panel plano, esto se debe al sistema de agitación que tiene cada uno.

3.3.2.1 Análisis estadístico del grado de biofijación CO₂. Se realizó un análisis estadístico para determinar qué factores intervienen en la biofijación de CO₂, teniendo en cuenta el cambio de la cepa de microalga y el cambio de la concentración del dióxido de carbono suministrado. Esto se realizó a partir del diseño factorial con una observación por celda con ANOVA, ya que este tipo de análisis es el indicado para experimentos que por razones de costos y de tiempo no se puede realizar más de una repetición, como en el caso de este proyecto.

Las hipótesis planteadas para el análisis ANOVA son los siguientes:

H_{0A}= El cambio de cepa de microalga interviene en el grado de biofijación de CO₂.

H_{1A}= El cambio de cepa de microalga no interviene en el grado de biofijación de CO₂.

H_{0B}= El cambio de concentración de dióxido de carbono interviene en el grado de biofijación de CO₂.

H_{1B} = El cambio de concentración de dióxido de carbono no interviene en el grado de biofijación de CO₂.

⁵⁶ Anjos et al. Optimization of CO₂ bio-mitigation by *Chlorella vulgaris*. En: Biosource Technology. No. 139, p.149-154. 2013

Tabla 17. Análisis diseño factorial con una observación por celda para grado de biofijación de CO₂

MICROALGA	(0-3)% CO2	(6-9) %CO2	TOTALES
<i>S. dimorphus</i>	1,6568	2,2467	3,9035
<i>C. vulgaris.</i>	1,6970	0,7706	2,4676
TOTALES	3,3538	3,01733	6,3712
F_A	0,8967	F_{0,05,1,4}	7,71
F_B	0,04924	F_{0,05,1,4}	7,71

A partir de los resultados que se muestran en la tabla 19 se corrobora que el cambio de microalga si interviene en el grado de biofijación de CO₂ como se evidencia en la sección 3.3.2, esto se puede determinar debido a que F_A que es la interacción que existe entre la microalga y el grado de biofijación CO₂ es menor al factor crítico F_{0,05,1,4}, por lo tanto se acepta la hipótesis nula H_{0A}. Lo mismo sucede con la interacción que existe entre el cambio de concentración de dióxido de carbono y el grado de biofijación CO₂ F_B, es menor al factor crítico F_{0,05,1,4} por lo tanto la hipótesis nula es aceptada, lo que quiere decir que al cambiar la concentración de CO₂ si interviene significativamente la cantidad de dióxido de carbono que puede biofijar cada microalga.

4. CONCLUSIONES

- La implementación de un fotobioreactor de panel plano proporciona que la microalga *Scenedesmus dimorphus* obtenga un mayor grado de biofijación de CO₂ independientemente de la concentración que le sea suministrada a diferencia de la microalga *Chlorella vulgaris*, obteniendo valores máximos a biofijación de 2,25 g*L⁻¹*día⁻¹ en concentraciones de (6-9) %CO₂.
- El suministro de un porcentaje de (0-3%) de dióxido de carbono proporciona un crecimiento mayor para las dos cepas cultivadas, se presenta un periodo de adaptabilidad corto proporcionando crecimiento mayor obteniendo valores máximos de crecimiento para *Scenedesmus dimorphus* (4,58x 10⁶ cel/mL) y *Chlorella vulgaris* (2,61x 10⁷ cel/mL) a diferencia de implementar concentraciones de (6-9%) CO₂.
- El análisis estadístico muestra que el cambio en la concentración de dióxido de carbono y el cambio de la cepa de microalga intervienen en el grado de biofijación de dióxido de carbono, por lo tanto de evidencia que la microalga *Scenedesmus dimorphus* en concentraciones de (6-9) % CO₂ brinda mejores tasas de biofijación.

5. RECOMENDACIONES

- Este proyecto evaluó el grado de biofijación de CO₂ de dos cepas de microalgas a dos diferentes rangos de concentración de dióxido de carbono porque en el desarrollo del proyecto no fue posible mantener una concentración constante, por lo tanto se recomienda establecer un método que permita mantener la concentración de CO₂ constante y trabajar por lo menos 5 concentraciones diferentes.
- En este proyecto se varió la concentración del dióxido de carbono y el tipo de microalgas, por lo tanto, para futuras investigaciones se recomienda evaluar la biofijación del CO₂ variando otros parámetros como el color de la luz y el tipo de fotobiorreactor.
- Durante la biofijación del CO₂ realizada por la microalga *Scenedesmus dimorphus* se presentaron fluctuación por el tipo de agitación que presenta el fotobiorreactor de panel plano, por lo tanto se recomienda trabajar esta cepa de microalga en otro tipo de fotobiorreactor.
- Cabe resaltar que para futuras investigaciones en base a esta, se recomienda realizar la biofijación más de dos veces para comprobar la veracidad de los resultados, ya que en este proyecto no se realizaron repeticiones por cuestiones de costos de operación.
- Desarrollar un análisis elemental para determinar el porcentaje de carbono resultante en cada muestra después del proceso de biofijación, para obtener resultados certeros.

BIBLIOGRAFÍA

- ALGAE. (2017). *ALGAE Reach and supply*. Obtenido de Algae cultura, Chlorella vulgaris: <https://algaeresearchsupply.com/products/algae-culture-chlorella-vulgaris>
- ANGEL, M. F. (2013). Diseño, montaje y caracterización de fotobiorreactores airlift para el cultivo de la microalga Chlorella sorokiniana. *Universidad EAFIT , Departamento de Ingeniería de Procesos*, 11.
- ARREDONDO, Bertha; VOLTOLINA, Doménico. Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Centro de investigaciones biológicas, La paz, Baja California sur, México (2007, ISB=9-78-968571-55-15. 1 vol. Cap. III, p.27
- ANJOS et al. Optimization of CO2 bio-mitigation by Chlorella vulgaris. En: *Biosource Technology*. No. 139, p. 149-154. 2013
- A, Rinanti; E, Kardena; A, Astuti; K, Dewi, et al. "Integrated vertical photobioreactor system for carbón dioxide removal using phototrophic microalgae" *Nigerian journal of technology*. Vol 32 No 2. 2013. Pág. 225-233
- BALLESTEROS, Henry. G. E. (2007). *Informacion tecnica sobre gases de efecto invernadero y el cambio climatico*. Ideam-meteo /2008-2007.
- BASTIDAS, O. (2017, octubre 24). *Technical Note - Neubauer Chamber Cell Counting*. Retrieved from Conteo Celular con Hematocitometro: <http://www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/ConteoCamaraNeubauer.pdf>
- BORDOLOI, N; NARZARI, R; SUT, D; SAIKIA, R; CHUTIA, R. & Katakai, R. (2016). Characterization of bio-oil and its sub-fractions from pyrolysis of Scenedesmus dimorphus. *Renewable Energy*, 1-9.
- CHEN, H., ZHENG, Y., ZHAN, J., HE, C., & WANG, Q. (2017). Comparative metabolic profiling of the lipid-producing green microalga Chlorella reveals that nitrogen and carbon metabolic pathways contribute to lipid metabolism . *Biotechnol Biofuels*, 1-20.
- COBELAS, Alvarez; GALLARDO, Tomás. Edit. Universidad Complutense. "Una revisión sobre la biotecnología de las microalgas" 1989 . Pág 28-29.

COOPERATIVO CORPORATIVO CAJAMAR. (2015). ¿Qué son las microalgas? Interés y uso. *Cajamar ADN Agro*, 6.

(CRIP) Centro Regional de Investigación Pesquera Manzanillo, C. (n.d.). PROTOCOLO DE MICROALGAS. *Agencia de Desarrollos TECNOPLADES*, 15.

C, C., A, S., M, M., M, C., & R, A. (2012). Influence of media composition on the growth rate of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* utilized for CO₂ mitigation. *J biochem Tch* , 589-594.

C. Alcántara, C. Fernandez, P. García, R. Muñoz. "Mixotrophic metabolism of *Chlorella sorokiniana* and algal-bacterial consortia under extended dark-light periods and nutrient starvation" *Environmental Biotechnology* 2015

D. Morales, O. Martinez, J. Kyndt, A. Martinez. "Heterotrophic growth of microalgae: metabolic aspects" 2015

GARCIA, L. M. (n.d.). *Eliminación de CO₂ con microalgas autoctonas*. Universidad de León , Instituto de recursos naturales , Area de Ingeniería Química.

GARCÍA, H. Q. *Microbiología*. Obtenido de Curva de crecimiento disponible en: <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com.co/2014/10/curva-del-crecimiento.html>

HANS, M. B. (n.d.). *Large-scale sustainable cultivation of microalgae for the production of bulk commodities*. Wageningenur

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN.
Referencias bibliográficas. Contenido forma y estructura. NTC 5613. Bogotá D.C.: El instituto, 2008.33p.c.

_____ Documentación. Presentación de tesis, trabajos de grado y otros trabajos de investigación. NTC 1486. Bogotá D.C.: El instituto, 2008.36p.2008.

_____ Referencias documentales para fuentes de información electrónicas. NTC 4490. Bogotá D.C.: El instituto, 1998.23p

IPCS, CE (2007) Ficha internacional de seguridad: dióxido de carbón.

IPCC. (2005). *IPCC Special Report on Carbon Dioxide Capture and Storage*. Intergovernmental panel on climate change. Retrieved from <https://www.ipcc.ch/report/srccs/>

KHANACADEMY. (2017, noviembre 1). *KHANACADEMY*. Retrieved from El ciclo de calvin:<https://es.khanacademy.org/science/biology/photosynthesis-in-plants/the-calvin-cycle-reactions/a/calvin-cycle-reactions/a/calvin-cycle-plants/the-calvin-cycle-reactions/a/calvin-cycle>

MARTÍNEZ, A. Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente. Universidad Politecnica de Valencia 2011. Pag 9-10.

METZ, Bert; DAVIDSON, Ogunlade; CONNINCK, Heleen; LOOS, Manuela and MEYER, Leo. (Eds). Cambridge University Press. *IPCC Properties of CO₂ and carbon-based fuels*.

MERIDA, L. G., & LEILA, Zepka, E. J.-L. (2013). Photobioreactor: Tool for mass cultivation of Cyanobacteria. *Universidad de Biotecnología Aplicada, Departamento de Biología . Universidad de Carabobo, Universidad Federal de Santa Maria*, 16.

MORAN, D. (2014, Junio 17). *BIOKET The global conference dedicated to processes and technologies applied to biomass*. Retrieved from <https://biorrefineria.blogspot.com.co/2014/06/2014-12fotobiorreactores.htm>

NOBUTAKA, Hanagata, T. T. (1992). Tolerance of microalgae to high CO₂ and high temperature. *phytochemistry*.

PEREZ, O. Luz E. de-bashan, Juan Pablo Hernandez, Yoav Bashan. "Efficiency of growth and nutrient uptake from wastewater by heterotrophic, auto autotrophic, and mixotrophic cultivation of chlorella vulgaris immobilized with azospirillum brasilense" 2010.

RAVE, A. G. (2013). *Evaluacion de cepas de microalgas para la captura de dioxido de carbono*. Medellin: Universidad EAFIT,19.

SAKAI, Y. S. (1995). Chlorella strains from hot springs tolerant to high temperature and high CO₂. *Energy Conversion and Management*.

SANTOS, Ana Maria; GONZALES, Yolanda; MARTIN, Carlos; Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas. Universidad Pontificia Comillas de Madrid, 2013

SUÁRES, M. y ERNESTOCHICAGUI, JULIO. "Evaluación de la influencia del dióxido de carbono y la concentración inicial de *Chlorella vulgaris* sobre la producción de lípidos a escala laboratorio" Bogotá.D.C 2014; Trabajo de grado (ingeniero químico). Universidad de América. Facultad de Ingeniería Química. Departamento de Ingeniería Química

S, Tebbani; F, lopes; R. Filali; D, Dumur; D, Pareau, et ISTE Ltd and John Wiley& Sons, Inc. "CO₂ biofication by microalgae" Gran Bretaña, 2014. Pág. 59

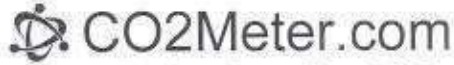
VEGA, B. O. (n.d.). *CONCENTRACION, RECUENTO CELULAR Y TASA DE CRECIMIENTO*. La Paz, Baja California Sur. Mexico: Centro de Investigaciones Biologicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR) Laboratorio de Biotecnología de Microalgas

ZAPATA, J. F. (2016). *Evaluacion de la disminucion en la concentracion de CO2 proveniente de una emision del tratamiento termico de residuos mitigado mediante el uso de la microalga Chlorella vulgaris*. Bogota, D.C: Fundacion Universidad de America, Facultad de Ingenieria Quimica.

ANEXOS

ANEXO A.

ESPECIFICACIONES SENSOR K-33



131 Business Center Drive, A-3, Ormond Beach, FL 32174 Tel: 877.678.4259 | Fax: 866.422.2356
EMAIL: sales@co2meter.com | www.co2meter.com | www.metroco2.com

Packing Slip

P.O. No. 130 Request Date 2017-06-22

Bill To Maria Camila Monsalve Ramirez

Ship To Maria Camila Monsalve Ramirez

1031 NE 211 th st

1031 NE 211 th st

Miami, FL '33179

Miami, FL '33179

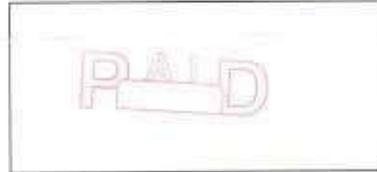
US

US

Requested By Maria Camila Ship Date _____ Ship Via FedEx Express

Product ID	Description	Serial No.	Quantity	Price	Extended Amount
SE-0026	Sensor de CO2 30% K-33 ICB - Sensor K-33 ICB	03164584	1	250.00	\$250.00

We are committed to providing a quality product. These instruments have undergone rigorous testing throughout their manufacture. These instruments were assembled and packed in the USA, and have been factory inspected, tested, and calibrated. Your package has been packed and checked for accuracy.



Inspected by: JW

Printed On: 06/22/17, 2:26:28 pm

Hoja de Datos: Sensor K-33 ICB

El K-33 ICB está diseñado para medir porcentajes de dióxido de carbono hasta 30%. Es útil para aplicaciones biológicas o científicas donde niveles artificialmente altos de CO₂ tienen que mantenerse en un aparato cerrado.

El sensor K-33 ICB puede medir CO₂ del aire en el ambiente o puede utilizar la tapa de adaptador de tubo de 0.8 mm incluido para extraer gas de un local remoto. Tiene que aplicarse un vacío (flujo de 1.5 litros/min) a uno de los tubos mientras que el otro tubo se coloca directamente en el flujo de aire. Utilizando un filtro para atapar líquido, el sensor puede ser configurado para tomar una muestra de CO₂ de una muestra conteniendo casi 100% humedad.

Con múltiples opciones de entrada y salida, y apoyo para comunicaciones I2C, RS485 y Modbus, el K-33 ICB combina la calidad de nuestra tecnología de sensor NDIR doble infrarrojo con opciones de configuración para satisfacer hasta las más exigentes de aplicaciones.

Conexiones a Sistemas Alternativos

Alternativa de Conexión A

El K-33 ICB se incorpora en el sistema del cliente por conexión vía JP5. Comunicación I2C es utilizada para leer la data medida del sensor. Una descripción detallada de la comunicación I2C con ejemplos útiles y solución de problemas puede encontrarse en nuestra guía de comunicación I2C.

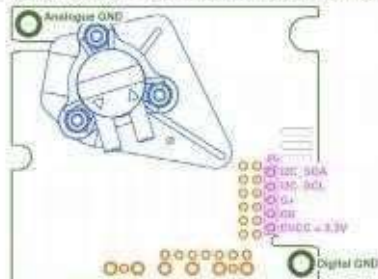


Figura 1. Posibles terminales de conexión para lectura vía I2C
Nota: Tanto GND Digital como GND Análogo están internamente conectados a G0.

Alternativa de Conexión B

El K-33 ICB se incorpora en el sistema del cliente por conexión vía JP1 o alguna parte de él. UART con protocolo de comunicación Modbus se utiliza para leer la data medida del sensor. El K-33 ICB comparte especificaciones y mapa de registro de Modbus con la familia de sensores. Especificaciones pueden encontrarse en nuestra documentación Modbus.

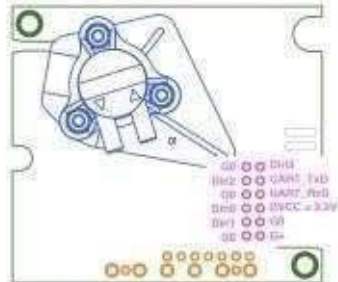


Figura 2. Terminales de conexión posibles para lectura via UART

Alternativa de Conexión C

El K-33 ICB es incorporado en el sistema del cliente por conexión vía terminales. Líneas de señales en estos terminales son protegidos y alambres largos pueden utilizarse para conectar al sistema del cliente.

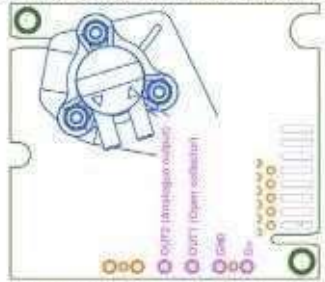


Figura 3a. Separación de 5.08 mm – Posibles terminales de conexión para conexión por alambres largos

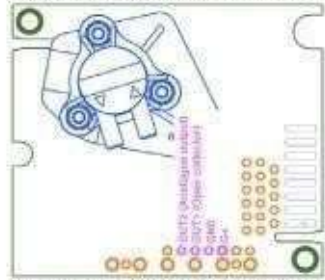


Figure 3b. Separación de 2 mm – Posibles terminales de conexión para conexión por alambres largos

Nota: OUT1, colector abierto está configurado para proveer señal PWM, vea especificaciones abajo.

Descripción de Terminales

La table abajo especifica terminales y opciones E/S disponibles en la plataforma general K33 (vea también la fotos de conexiones alternas arriba).

Grupo Funcional	Descripciones y calificaciones
Fuente de Alimentación (todas las alternativas de conexión)	
G+ referido a G0:	Fuente de Alimentación más el terminal Protegido por resistor serie 3.3R y diodo zener Calificación máxima absoluta 5 a 14V, estabilizado dentro de 10%
G0	Fuente de alimentación menos el terminal Terminal de referencia (tierra) del sensor
DVCC = 3.3V	Salida del regulador de voltaje digital del sensor Resistencia en serie 10R Corriente disponible 12 mA Tolerancia de voltaje (no cargada) $\pm 3\%$ máx. ($\pm 0.75\%$ típ.) Salida puede utilizarse para alimentar el circuito (microcontrolador) en el sistema del cliente o para alimentar el convertidor de niveles de lógica si el procesador master funciona con un voltaje de 5V.
Comunicación	
UART (UART_TxD, UART_RxD)	Capa física CMOS, protocolo de comunicación ModBus. (refiérase a documentación Modbus o versión más reciente para detalles) Línea UART_RxD configurada como entrada digital. Nivel de entrada alto es 2.1V mín Nivel de entrada bajo es 0.8V máx. Línea UART_TxD configurada como salida digital Nivel de salida alto es 2.3V (asumiendo 3.3V DVCC) mín Nivel de salida bajo es 0.75V máx. Entrada UART_RxD es subida a DVCC = 3.3V por 56 k Ω Salida UART_TxD es subida a DVCC = 3.3V por 56 k Ω CALIFICACIÓN MÁXIMA ABSOLUTA G0 -0.5V ... DVCC +0.5V
Extensión I2C (I2C_SCL, I2C_SDA)	Subida a DVCC = 3.3V (refiérase a guía de comunicación I2C para detalles) CALIFICACION MÁXIMA ABSOLUTA G0 -0.5V ... DVCC +0.5V
Salidas	
OUT1, OC (colector abierto)	Salida digital, colector abierto Resistencia en serie 120 R. Corriente de drenaje máx 40 mA. Puede configurarse como: <ol style="list-style-type: none"> 1. Salida de indicación de alarma 2. Salida PWM, resolución 10 (alt. 12 a 16) bit. Periodo 1..1000 ms 3. Largo del pulso proporcional al valor de CO2 medido
OUT2	Salida análoga 0..5V Salida linear con buffer 0..4 o 1..4 VCC o 0..5 V o 1..4 V, dependiendo en la fuente de alimentación especificada y la configuración del sensor. ROUT < 100 W, RLOAD > 5 kW ¡Cargue a tierra solamente! Resolución 5 mV
E/S digitales, utilizadas como entradas en configuración estándar. Puede implementarse como campo de puentes	

Grupo Funcional	Descripciones y calificaciones
Din0 Din1 Din2	Interruptores de entrada digitales en configuración estándar, Pull-up 56 kΩ a DVCC 3.3V. Llevándolo a Bajo o conectándolo a G0 activa la entrada Resistencia pull-up es disminuida a 4..10k durante lectura de entrada o puente Ventajas son menor consumo la mayoría del tiempo que la entrada/puente se mantenga bajo y corriente mayor para puentes leídos para proveer limpieza del contacto. Puede utilizarse para forzar calibración de fondo o en cero. Puede utilizarse para cambiar el rango de salida o para forzar la salida a un estado pre-definido. Todo depende de las necesidades del cliente, vea descripción de apariencia básica abajo.
Din0, Din1, Din2, Din3, Din4	Interruptores de entrada digitales, pull-up 120k a DVCC 3.3V. Llevándolo a Bajo o conectándolo a tierra, G0 activa la entrada. Resistencia pull-up es disminuida a 4..10k durante la lectura de la entrada o puente Ventajas son menor consumo la mayoría del tiempo que la entrada/puente se mantenga bajo y corriente mayor para puentes leídos para proveer limpieza del contacto. Puede utilizarse para inicializar calibración o para cambiar el rango de salida o para forzar la salida a un estado predefinido. Todo depende de las necesidades del cliente.
Din3	Línea de control R/T para conexión UART para controlador de RS485.

Tabla 1. Notaciones E/S utilizadas en este documento para la plataforma K33 con algunas descripciones y calificaciones. Favor, ¡preste atención a los textos colorados rojo que señalan características importantes para la integración del sistema!

Dibujos Mecánicos

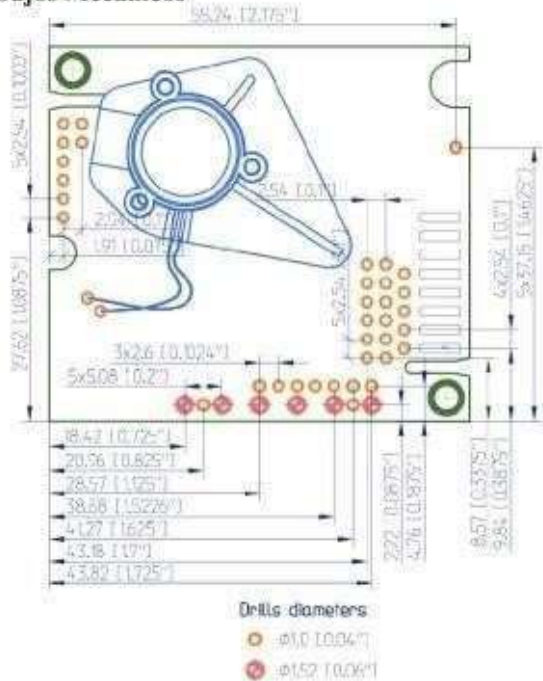


Figura 7. Posiciones de hoyos/contactos.

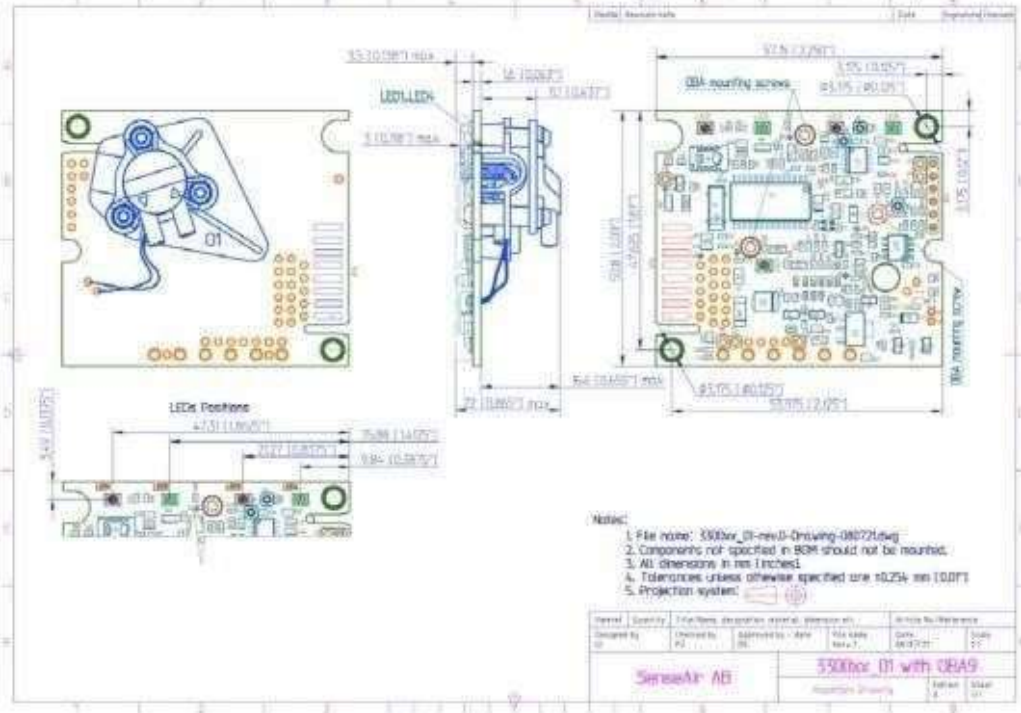


Figura 8. Modelo con Tubos ENTRADA/SALIDA

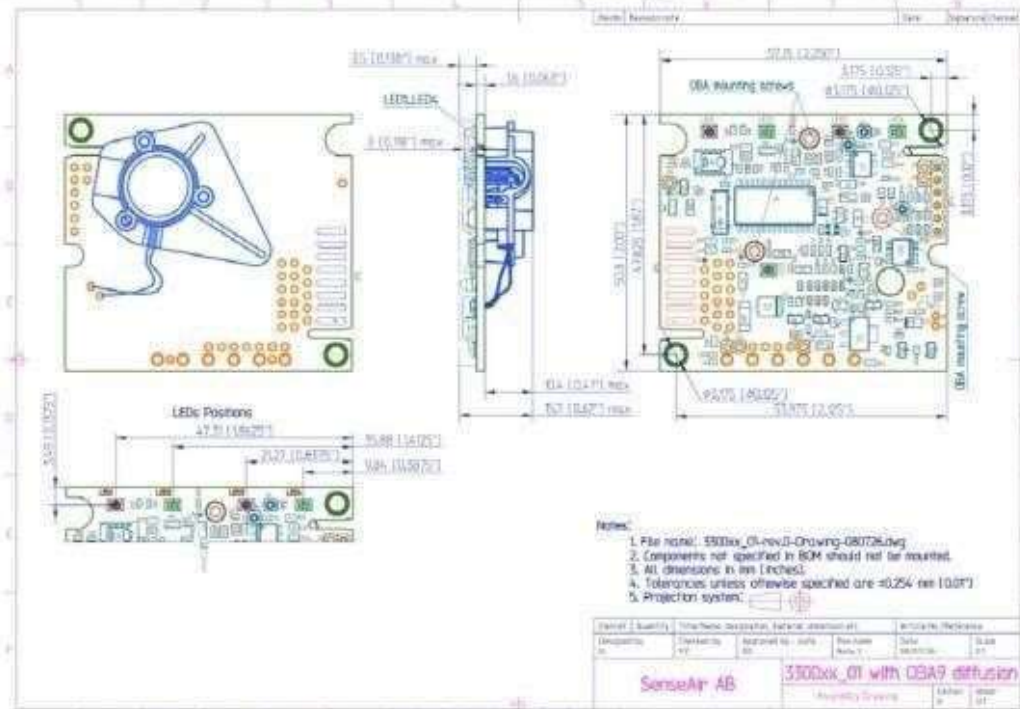


Figura 9. Modelo Difusión Tierra / Accesorios de Blindaje

Tanto la tierra analoga (AGND) como la tierra digital (DGND) están conectadas internamente al terminal G0 del sensor. AGND está conectada a la parte analoga más sensitiva del sensor y DGND está conectada a la parte digital del sensor.

¡NO conecte a AGND y DGND juntos externamente al sensor!

Mantenimiento

El K-33 ICB es básicamente libre de mantenimiento en entornos normales gracias al algoritmo que se auto corrige ABC integrado al sensor. Hable de su aplicación con CO2Meter.com para obtener asesoramiento sobre la estrategia de calibración correcta.

Cuando esté verificando la precisión del sensor, ¡FAVOR NOTE que la precisión del sensor está definida en operación continua (por lo menos 3 semanas después de instalar)!

Calibración

La unidad del sensor OEM básica es libre de mantenimiento bajo condiciones normales gracias al algoritmo integrado, y capaz de autocorrección, Corrección Automática de Referencia (ABC, por sus siglas en ingles). Este algoritmo realiza un seguimiento constante de la lectura más baja del sensor a través de un periodo de 7.5 días y gradualmente corrige por cualquier desvío a largo plazo en comparación con el valor de aire fresco esperado de 400 ppm de CO2.

El algoritmo ABC puede ser adaptado para aplicaciones particulares. Por ejemplo, el sensor puede ser forzado a muestrear data para ABC solo durante las primeras horas después de encenderlo cuando el contenedor está abierto y la concentración es de alrededor de 400 ppm.

Otra posibilidad viene si el usuario final va a forzar aire fresco a través del sensor en algún momento. Entonces se puede forzar la calibración haciendo un corto en la entrada digital correspondiente.

Manipulación y transportación brusca pueden, sin embargo, resultar en una reducción de la precisión de la lectura del sensor. Con el tiempo, la función ABC corregirá las lecturas a números correctos. La "velocidad de ajuste" por defecto es, sin embargo limitada a alrededor de 30 ppm/semana. Para la conveniencia post-calibración, en el evento que uno no pueda esperar que el algoritmo ABC corrija cualquier desplazamiento de calibración, dos interruptores de entrada Din1 y Din2 están definidos para que el operador seleccione uno de dos códigos de calibración preparados. Si Din1 es llevado a tierra, por un mínimo de 8 segundos, el código interno de calibración bCAL (background calibration; calibración de fondo) es ejecutado, en cual caso es asumido que el sensor está operando en un ambiente de aire fresco (400 ppm CO2). Si Din2 es en vez llevado a tierra, por un mínimo de 8 segundos, el código alternativo de operación CAL (calibración cero) es ejecutado, en cual caso el sensor tiene que ser purgado por alguna mezcla de gas libre de CO2 (por ejemplo nitrógeno o aire purgado de CO2 por cal sodada). Si no tiene éxito, favor esperar 10 segundos antes de repetir el procedimiento. ¡Asegúrese de que el entorno del sensor sea constante y tranquilo!

Terminal de Interruptor de Entrada (normalmente abierto)	Función por defecto (cuando cerrado por un mínimo de 8 segundos)
Din1	bCAL (calibración a fondo) asumiendo exposición del sensor a 400 ppm CO2
Din2	CAL (calibración a cero) asumiendo exposición del sensor 0 ppm CO2

Tabla 2. Configuraciones por defecto del interruptor de entrada para el K-33 ICB

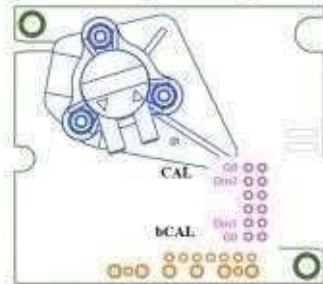


Figura 10. Puentes de Calibración

Rendimiento General

Rango de Temperatura de Almacenamiento.....	-40° a 70° C
Expectativa de Vida del Sensor.....	> 15 años
Intervalo de Mantenimiento.....	Libre de mantenimiento si el algoritmo ABC (corrección automática de referencia) es aplicable
Autodiagnóstico.....	verificación de función completa del módulo del sensor
Tiempo de Calentamiento.....	≤ 1 min
Conformidad con estándares.....	Emisión: EN61000-6-3:2007 Inmunidad: EN61000-6-1:2007 Directiva RoHS 2002/95/EG
Rango de Temperatura de Operación.....	-10° a 50° C
Rango de Humedad de Operación.....	0 a 95% RH (no condensante)
Entorno de Operación.....	Espacio residencial, comercial e industrial y ductos potencialmente polvorientos utilizados en sistemas de climatización (HVAC).

Medición de CO₂

Rango de Medición.....	0 – 30%
Método de Detección.....	Tecnología de guía de ondas infrarrojo no dispersivo (NDIR) con algoritmo ABC (calibración automática de fondo)
Método de Muestreo.....	Difusión o flujo
Repetibilidad.....	± 0.1 %vol. CO ₂ ± 2 % del valor medido (a determinarse, puede mejorar en pruebas)
Sensibilidad.....	± 20 ppm ± 1% del valor medido
Precisión.....	± 0.2 %vol. CO ₂ ± 3 % del valor medido
Dependencia de Presión.....	+1.6% de la lectura por kPa de desviación de presión normal, 100 kPa
Apoyo de calibración integrado.....	Interruptor Dn1 para activar Calibración de Fondo a 400 ppm CO ₂ Interruptor Dn2 para activar Calibración de Cero a 0 ppm CO ₂

Eléctrico/Mecánico

Entrada Energía.....	5-14 VCC, estabilizado dentro de 10% (circuitos de protección integrados)
Consumo de Corriente.....	Promedio de 40 mA < 150 mA a corriente pico (promediada en lámpara IR ENCENDIDA, 120 ms) < 300 mA energía pico (durante encendido de lámpara IR, los primeros 50 ms)
Dimensiones.....	5.1 x 5.7 x 1.4 cm (largo x ancho x altura aproximada)

Salidas de Señal Lineares

OUT2 Resolución D/A.....	5 mV
Rango de Conversión Linear.....	0 – 5 VCC para 0 – 30% ppmvol.
Características Eléctricas.....	R _{OUT} < 100 Ω, R _{LOAD} > 5kΩ, entrada de energía > 5.5 V

Salidas PWM

Características Eléctricas.....	Colector abierto con resistor 120R en serie, resistor pull-up 10kΩ a tensión protegida
Concentración de salida mínima.....	0% vol.
Periodo de ciclo de salida.....	1004 ms
Duración mín de nivel de salida Alto.....	2.0ms (a 0%vol)
Duración máx de nivel de salida Alto.....	1002ms (a 20%vol.)
Resolución.....	0.5ms (a 0.01%vol = 100 ppm)

Garantía

90 días

Diagrama de periodo de salida PWM del Sensor

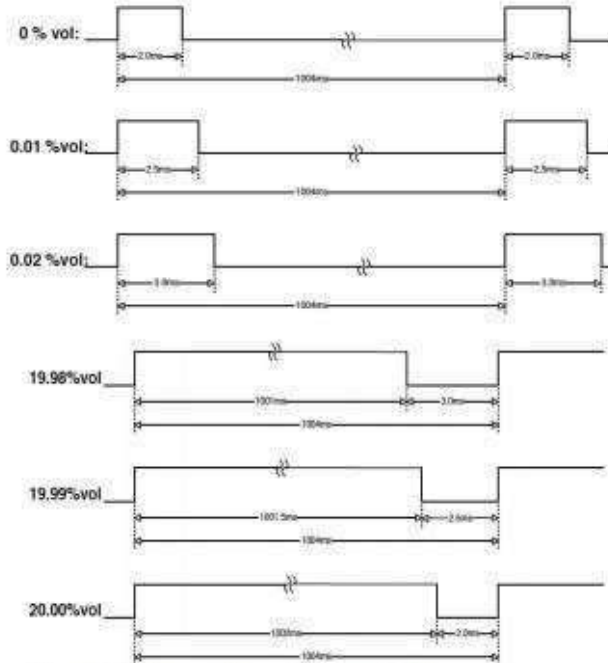


Figura 15. Diagrama de periodo para OUT1

Gases que pueden afectar la operación del sensor

Dado a que la parte óptica no tiene una capa reflexiva, la estabilidad del sensor está gobernada por la resistencia a corrosión del ensamblado electrónico.

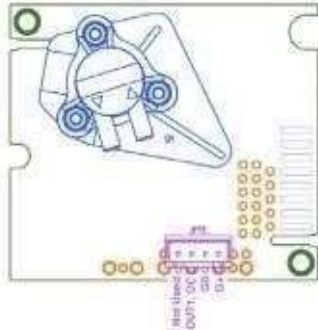
Entornos corrosivos conteniendo, pero no limitados a, sulfuro de hidrogeno, amoniaco, ozona, ácido sulfúrico y dióxido de sulfuro deberían ser evitados.

Uso de ideas (conexiones)

Alternativa E

El K-33 ICB es un módulo autónomo conectado al sistema del cliente por una interfaz de 3 alambres (JP13 puede ser escogido para ser el conector de 3 postes) con fuente de alimentación y salida a colector abierto para indicación de conexión de alarma. El colector abierto puede operar el LED o zumbador en caso de condiciones de alarma.

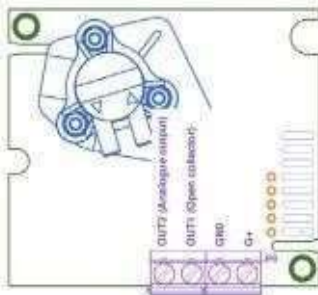
Colector abierto puede proveer señal PWM con ciclo de trabajo representando concentración de CO2



Alternativa F

El sensor es un módulo autónomo conectado al sistema del cliente por una interfaz de 3 alambres (JP8 puede ser escogido para ser el conector de 3 postes) con fuente de alimentación y salida a colector abierto para indicación de conexión de alarma. El colector abierto puede operar el LED o zumbador en caso de condiciones de alarma.

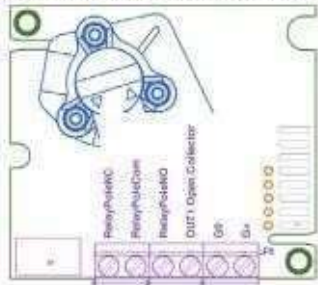
Colector abierto puede proveer señal PWM con ciclo de trabajo representando concentración de CO2



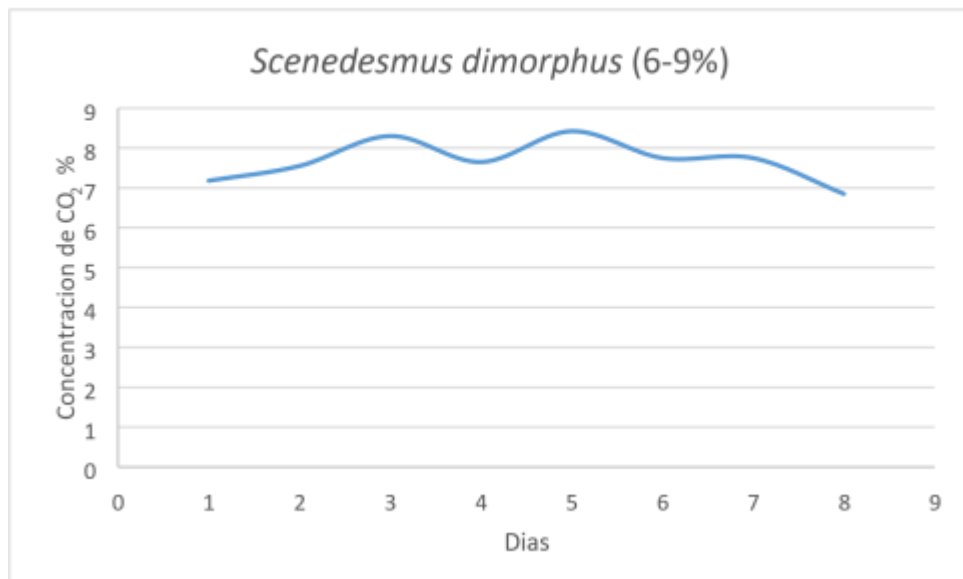
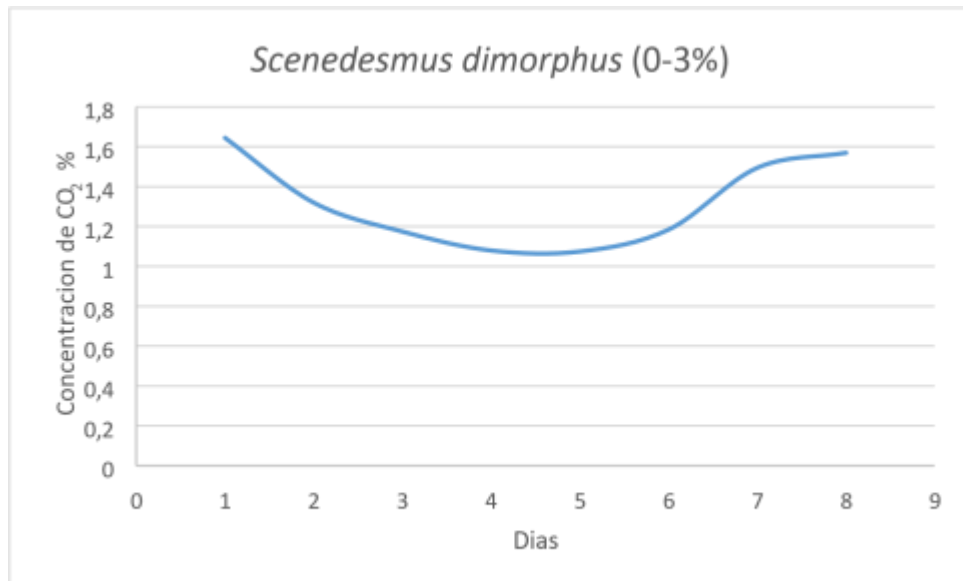
Alternativa G

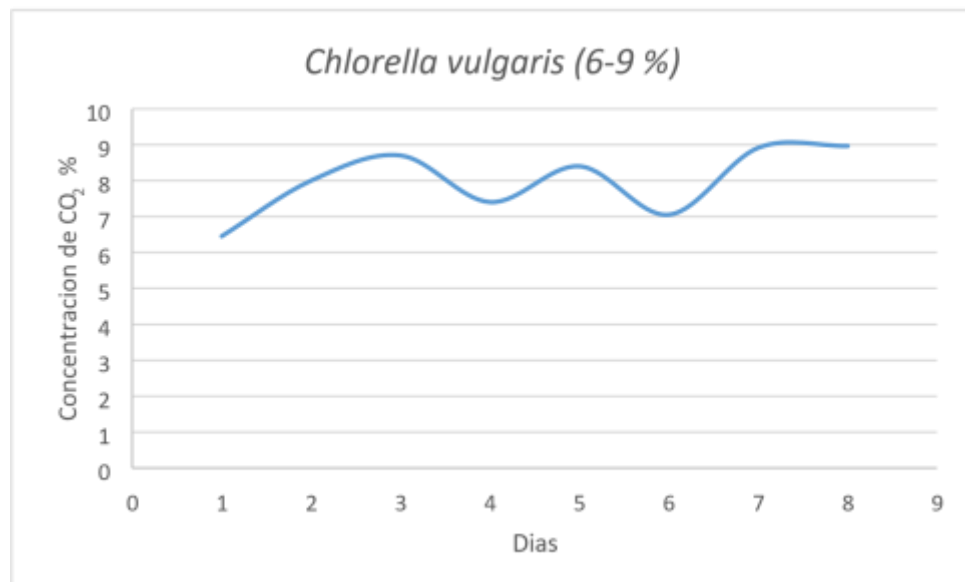
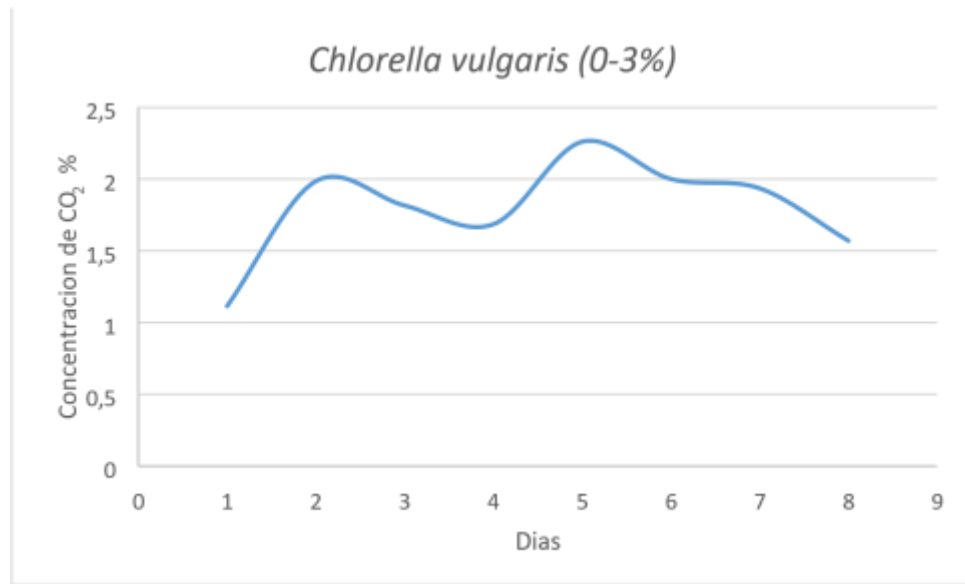
El sensor es un módulo autónomo con salida colector abierto y relé NC/NO

Colector abierto puede proveer señal PWM con ciclo de trabajo representando concentración de CO2



ANEXO B.
GRÁFICAS DE CONCENTRACIONES DE DIÓXIDO DE CARBONO





**ANEXO C.
CONTEO DE CÉLULAS PARA CADA ENSAYO**

Tabla 18. Número de células contadas primer ensayo

Día	# células		
	Conteo 1	Conteo 2	Conteo 3
0	23	21	33
1	26	41	25
2	34	40	42
3	27	49	54
4	53	33	46
5	55	54	51
6	62	70	46
7	83	80	38
8	92	31	50

Tabla 19. Número de células contadas segundo ensayo

Día	# células		
	Conteo 1	Conteo 2	Conteo 3
0	20	22	19
1	24	23	24
2	28	27	30
3	36	34	39
4	44	44	46
5	49	52	48
6	71	72	74
7	74	72	73
8	77	80	81

Tabla 20. Número de células contadas tercer ensayo

Día	# células		
	Conteo 1	Conteo 2	Conteo 3
0	129	101	121
1	180	144	167
2	173	153	175
3	173	153	193
4	196	215	204
5	270	274	272
6	359	398	398
7	475	501	412
8	510	530	525

Tabla 21. Número de células contadas cuarto ensayo


Día	# células		
	Conteo 1	Conteo 2	Conteo 3
0	129	136	110
1	133	128	128
2	187	104	120
3	133	123	164
4	153	148	145
5	205	232	217
6	261	237	246
7	261	279	275
8	270	274	272

Tabla 22. Número de células contadas control 1

Día	# célula ;		
	Conteo 1	Conteo 2	Conteo 3
0	17	12	17
1	17	14	13
2	11	15	15
3	13	13	17
4	25	12	33
5	25	27	31
6	25	26	32
7	44	27	27
8	42	32	35

Tabla 23. Número de células contadas control 2

Día	# células		
	Conteo 1	Conteo 2	Conteo 3
0	113	109	103
1	128	128	116
2	127	110	126
3	128	127	130
4	140	133	134
5	191	195	190
6	210	206	212
7	221	220	226
8	221	221	218

 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




Nosotras María Camila Pedraza Cuesta y María Camila Prada Garavito en calidad de titulares de la obra **Evaluación de la biofijación del CO₂ y producción de biomasa a partir de las microalgas bajo condiciones de fotobiorreactor a escala laboratorio**, elaborada en el año 2017, autorizamos al Sistema de Bibliotecas de la Fundación Universidad América para que incluya una copia, indexe y divulgue en el Repositorio Digital Institucional – Lumieres, la obra mencionada con el fin de facilitar los procesos de visibilidad e impacto de la misma, conforme a los derechos patrimoniales que menos corresponden 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 Autores manifestamos conocer que:

- La autorización es de carácter no exclusiva y limitada, esto implica que la licencia tiene una vigencia, que no es perpetua y que los autores pueden 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 de los autores y podrá darse por terminada una vez los autores manifiesten 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, los autores asumen la responsabilidad del cumplimiento de los acuerdos establecidos sobre los derechos patrimoniales de la obra.
- Frente a cualquier reclamación por terceros, 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.

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

 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

	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 sus autores.

De igual forma como autores autorizamos 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 indicará (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 19 días del mes de Febrero del año 2018.

LOS AUTORES:

Autor 1	
Nombres	Apellidos
María Camila	Pedraza Cuesta
Documento de identificación No	Firma
1.022.415.231	María Camila Pedraza
Autor 2	
Nombres	Apellidos
María Camila	Prada Garavito
Documento de identificación No	Firma
1.020.811.070	Camila Prada Garavito

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