

**PRODUCCIÓN DE BIOMASA MICROALGAL A PARTIR DE AGUAS
RESIDUALES DE LA INDUSTRIA FLORICULTORA A NIVEL LABORATORIO**

MÓNICA JINETH GAITÁN TÉLLEZ

**FUNDACION UNIVERSIDAD DE AMERICA
FACULTAD DE INGENIERIAS
PROGRAMA DE INGENIERIA QUIMICA
BOGOTA D.C
2018**

**PRODUCCIÓN DE BIOMASA MICROALGAL A PARTIR DE AGUAS
RESIDUALES DE LA INDUSTRIA FLORICULTORA A NIVEL LABORATORIO**

MÓNICA JINETH GAITÁN TÉLLEZ

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

**Director
DIEGO RUBIO FERNANDEZ
Biólogo**

**FUNDACION UNIVERSIDAD DE AMERICA
FACULTAD DE INGENIERIAS
PROGRAMA DE INGENIERIA QUIMICA
BOGOTA D.C
2018**

Nota de aceptación

Presidente del jurado

Jurado

Jurado

Bogotá, D.C. Agosto de 2018

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente d la Universidad y Rector del Claustro

Dr. Jaime Posada Diaz

Vicerrectora Académica y de Posgrados

Dra. Ana Josefa Herrera Vargas

Vicerrector de Desarrollo y Recursos Humanos

Dr. Luis Jaime Posada García-Peña

Decano de la Facultad de Ingenierías

Ing. Julio Cesar Fuentes Arismendi

Director General de Investigación y Proyección Social

Dr. Manuel Cancelado Jiménez

Director Programa de Ingeniería Química

Ing. Leonardo de Jesús Herrera Gutiérrez

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

AGRADECIMIENTOS

En mi primer lugar quiero agradecer a mis padres León Ramiro Gaitán Marín e Irene Téllez Rojas, que desde siempre han dado lo mejor de sí, y juntos se han esforzado de una manera asombrosa para poder brindarme un buen estudio no solo a mi sino también a mis hermanos, me han enseñado que con esfuerzo y perseverancia se puede alcanzar cualquier objetivo que me proponga en mi camino, sin los valores que me han enseñado a lo largo de mi vida no sería la persona que soy hoy, me quedo sin palabras para agradecerles por todo lo que han hecho por mí, y lo orgullosa que estoy de ustedes son mi ejemplo a seguir día a día. Los amo.

Jonathan y Santi, las personas que más quiero en mi vida, como no agradecerles, por cada momento que estuvieron conmigo a lo largo de esta carrera, los días en que trasnochamos juntos, todos los momentos buenos y malos que hemos pasado gracias a ustedes he aprendido a ser una persona paciente, estaré con un ustedes siempre cada día de vida apoyándolos y ayudándolos en todo lo que necesiten.

Tampoco sería justo olvidar a mi novio, has sido parte fundamental para el desarrollo de este proyecto, eres esa persona que estuvo desde el inicio, acompañándome siempre en este arduo camino, más que mi compañero, colega, confidente, eres ese apoyo fundamental que día a día está siempre allí incondicionalmente que me brinda, lo mejor, que sin importar la situación por la que estemos pasando nos tenemos uno al otro para seguir adelante, y superar cada obstáculo que se ponga en el camino, eres una bendición en mi vida, le agradezco a Dios por ponerte en mi camino y permitirme ser parte de tu vida. Te amo Felipe Eduardo Vargas Londoño, eres mi vida.

Agradezco también a mi director de grado Diego Rubio, quien, con su apoyo y consejos, la experiencia que ha adquirido a lo largo de su vida permitieron llevar a cabo con éxito el desarrollo de este proyecto, al profesor Juan Andrés Sandoval, por el tiempo y dedicación que me brindo y finalmente al Ingeniero Iván Cortes, María Paula Landines, Jolman Suarez por darme la oportunidad de poder realizar mi trabajo de grado con la empresa Flores las Acacias y brindarme parte de su conocimiento.

CONTENIDO

	pág
RESUMEN	16
INTRODUCCION	17
OBJETIVOS	19
1. MARCO TEORICO	20
1.1 MICROALGAS	20
1.2 <i>CHLORELLA VULGARIS</i>	21
1.3 FACTORES QUE INHIBEN EL CRECIMIENTO DE LAS MICROALGAS	22
1.4 CONDICIONES DEL MEDIO DE CULTIVO	22
1.5 METODOS DE ESTERILIZACION	24
1.5.1 Esterilización Química	24
1.5.2 Esterilización con formol	24
1.5.3 Solución de Alcohol Etílico al 70%	24
1.5.4 Esterilización Física	24
1.5.4.1 Esterilización por Calor Húmedo	24
1.5.4.2 Autoclave	25
1.5.4.3 Esterilización por Radiación Ultravioleta	25
1.6 TRATAMIENTO DE LA BIOMASA MICROALGAL	25
1.6.1 Sedimentación	26
1.6.2 Sedimentación discreta:	26
1.6.3 Sedimentación floculante	26
1.6.4 Sedimentación por comprensión	26
1.6.5 Floculación	26
1.6.6 Centrifugación	26
1.6.7 Filtración	26
1.7 CURVA DE CRECIMIENTO MICROALGAL	26
1.8 TRATAMIENTO DE RESIDUOS A PARTIR DE MICROALGAS	27
1.9 INDUSTRIA FLORICULTORA	29
1.9.1 Tipos de riego	29
1.9.1.1 Riegos pre-siembra	29
1.9.1.2 Riegos refrescantes	29
1.9.1.3 Riego de producción	29
1.9.1.4 Cantidad de agua en cada riego.	29
1.10 HIDROPONIA	30
1.10.1 Tipos de cultivos hidropónicos	31
1.10.2 Características físicas, químicas y biológicas de las aguas residuales	33
1.10.3 Olor	34
1.10.4 Apariencia	34
1.10.5 Densidad	34
1.10.6 Caudal	34
1.11 EMPRESA FLORES LAS ACACIAS S.A.S.	35
1.11.1 Descripción del proceso	35

1.11.1.1 Propagación	36
1.11.1.2 Siembra	36
1.11.1.3 Trasplante	36
1.11.1.4 Fertilización	37
1.11.1.5 Cosecha y recolección	37
1.11.1.6 Empaque y transporte	37
1.12 MARCO LEGAL DE VERTIMIENTO DE AGUAS RESIDUALES	37
2. METODOLOGIA	39
2.1 FASE TEORICA	41
2.2 FASE PRE-EXPERIMENTAL	41
2.2.1 Pre-tratamiento con radiación U.V.	42
2.2.2 Cultivo sin radiación U.V.	42
2.2.3 Preparación del inóculo.	42
2.2.4 Condiciones del cultivo.	43
2.2.5 Seguimiento y conteo celular.	44
2.2.6 Pre-experimento.	45
2.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	45
2.4 EXPERIMENTO	47
2.4.1 Recolección del agua residual	47
2.4.2 Peso seco y productividad volumétrica	48
2.4.3 Costos implicados para la elaboración del proyecto	49
3. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS	50
3.1 ANALISIS CUALITATIVO DEL AGUA RESIDUAL	50
3.2 ANALISIS CUANTITATIVO	50
3.3 RESULTADOS PRE-EXPERIMENTO	52
3.3.1 Muestra sin radiación ultravioleta.	52
3.3.1.1 Curvas de crecimiento.	52
3.3.2 Muestra con radiación ultravioleta.	57
3.3.2.1 Curvas de crecimiento.	57
3.3.3 Influencia de la radiación ultravioleta	61
3.4 RESULTADOS DEL EXPERIMENTO	62
3.5 PESO SECO Y PRODUCTIVIDAD VOLUMÉTRICA	66
4. COSTOS IMPLICADOS EN LA ELABORACION DE ESTE PROYECTO	68
5. CONCLUSIONES	70
6. RECOMENDACIONES	71
BIBLIOGRAFIA	72
ANEXOS	76

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Microalgas más abundantes	21
Tabla 2. Demanda hídrica agrícola	30
Tabla 3. Nutrientes en una solución Hidropónica	32
Tabla 4. Proporción agua residual/ Cultivo	45
Tabla 5. Composición de los lixiviados	51
Tabla 6. Composición en mg/L	51
Tabla 7. Tasa de crecimiento sin U.V.	55
Tabla 8. Datos del análisis estadístico sin U.V.	56
Tabla 9. Análisis de varianza sin U.V.	56
Tabla 10. Promedio de la velocidad de crecimiento (m) con U.V.	59
Tabla 11. Datos del análisis estadístico con U.V.	59
Tabla 12. Análisis de varianza con U.V.	60
Tabla 13. Datos análisis estadístico U.V vs sin U.V.	62
Tabla 14. Análisis de varianza U.V vs sin U.V.	62
Tabla 15. Tasa de crecimiento experimento	64
Tabla 16. Tasa de crecimiento experimento (repetición)	65
Tabla 17. Peso Seco	66
Tabla 18. Productividad	67
Tabla 19. Costos	68
Tabla 20. Costos de operación	69
Tabla 21. Costos agua	69

LISTA DE GRAFICAS

	pág.
Gráfica 1. Fases de Crecimiento	27
Gráfica 2. Curvas de crecimiento sin U.V. repetición 1	53
Gráfica 3. Curvas de crecimiento sin U.V. repetición 2	53
Gráfica 4. Curvas de crecimiento sin U.V. repetición 3	54
Gráfica 5. Velocidad especifica de crecimiento sin luz U.V.	55
Gráfica 6. Curvas de crecimiento con U.V. repetición 1	57
Gráfica 7. Curvas de crecimiento con U.V. repetición 2	57
Gráfica 8. Curvas de crecimiento con U.V. repetición 3	58
Gráfica 9. Velocidad especifica de crecimiento con luz U.V.	59
Gráfica 10. Curva de crecimiento experimento	63
Gráfica 11. Curva de crecimiento experimento (repetición)	63
Gráfica 12. Ln de la concentración celular	64
Gráfica 13. Ln de la concentración celular (repetición)	65
Gráfica 14. Velocidad especifica de crecimiento experimento	66

LISTA DE ECUACIONES

	pág.
Ecuación 1. Ln	27
Ecuación 2. Densidad	34
Ecuación 3. Concentración (Cél /ml)	45
Ecuación 4. SCE	46
Ecuación 5. SCD	46
Ecuación 6. SCT	46
Ecuación 7. PST	49
Ecuación 8. Productividad	49

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Características físicas, químicas y biológicas de las aguas residuales	33
Cuadro 2. Elementos del montaje	44

LISTA DE ILUSTRACIONES

	Pág.
Ilustración 1. Chlorella vulgaris	21
Ilustración 2. Montaje utilizado para los medios de cultivo	43
Ilustración 3. Cámara de Neubauer	44
Ilustración 4. Pozo de Lixiviados	48
Ilustración 5. Conteo día 1	61
Ilustración 6. Conteo día 7	61

LISTA DE ANEXOS

	pág
Anexo A. Resultados análisis de los lixiviados del agua residual.	76
Anexo B. Protocolo recolección de aguas residuales.	77
Anexo C. Composición del fertilizante agrícola foliagro.	94
Anexo D. Concentraciones celulares Pre- experimento.	95
Anexo E. Concentraciones celulares experimento.	97
Anexo F. Protocolo para determinación de peso seco.	98
Anexo G. Distribucion de planta finca las acacias.	100

GLOSARIO

AGUAS RESIDUALES: se denominan aguas residuales, aquellas que resultan después de haber sido utilizadas en diferentes procesos bien sea industriales, ganaderos, agrícolas, farmacéuticos, entre otros; los cuales vienen contaminados por residuos, y necesitan un proceso de depuración para poder ser devueltas al medio ambiente; el agua residual que esta defina para el proceso de crecimiento microalgal son las aguas residuales del proceso de lixiviación en un cultivo hidropónico en la industria floricultura ¹.

BIOMASA: la biomasa es aquella materia orgánica obtenida de un proceso biológico, a causa de la transformación de la energía solar mediante la fotosíntesis, la cual es susceptible a cambios para obtener diferentes productos altamente viables económicamente.

CEPA: son microorganismos del tipo fenotípico que representan una proporción derivada de un organismo mayor, como muestra de estudio. Las cepas contienen información biológica que es de interés científico².

CULTIVO: conjunto de microorganismos de una o varias cepas, los cuales crecer un lugar determinado como una caja Petri, con el fin de producir biomasa.

HIDROPONIA: se entiende por hidroponía, una nueva forma de cultivo sin suelo en donde se trabaja en agua, usando soluciones minerales³.

LIXIVIADOS: es el proceso mediante el cual se produce un desplazamiento de sustancias solubles causado por el movimiento del agua en el suelo, mediante este fenómeno pueden perderse grandes cantidades de fertilizantes debido a que descienden a la parte inferior del suelo y no llegan a las raíces de los cultivos.⁴

MICROALGA: estos microorganismos son de gran importancia ya que son capaces de transformar la luz solar en energía química mediante la fotosíntesis, adicional a ello estos microorganismos fotoautótrofos son capaces de biofijar grandes tasas de CO₂, son capaces de crecer en lagos, lagunas y proporcionan gran parte del oxígeno que necesitamos día a día⁵.

¹ LÓPEZ, M. ESPIGARES GARCÍA y J. A. PÉREZ. "AGUAS RESIDUALES COMPOSICION". {En línea}. {5 octubre de 2017} disponible en:

http://cidta.usal.es/cursos/EDAR/modulos/Edar/unidades/LIBROS/logo/pdf/Aguas_Residuales_composicion.pdf

² "Concepto definición cepa". {En línea}. {22 septiembre de 2017} disponible en: <http://conceptodefinition.de/cepa/>

³ BELTRANO. Jose. GIMENEZ. Daniel. Cultivo en hidroponía: edulp,2015. 181p.

⁴MUR Elsa, Lixiviación. En línea. {16 octubre de 2017} disponible en: <http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Lixiviacion.htm>.

⁵PLANCTON. Marino. "Todo lo que necesita saber de microalgas". {En línea}. {1 octubre de 2017} disponible en: <http://planctonmarino.com/microalgas/>

RESUMEN

Las aguas residuales provenientes de la industria floricultora, específicamente de los cultivos hidropónicos, son una fuente que puede ser aprovechada para el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*, por su contenido de NH_4 , Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ , Na^+ , SO_4 , Cl , NO_3 , CO_3 , HCO_3 , P , Fe , Mn , Cu , Zn , B , entre otros compuestos que pueden contener estas aguas residuales, lo que conlleva a esta investigación a evaluar el crecimiento de la microalga, con esta fuente de nutrientes para la producción de biomasa microalgal.

Se tomó una muestra de esta agua residual proveniente de la finca flores Las Acacias, perteneciente al grupo Chía, la cual permitió tomar la muestra del cultivo de la rosa Freedom, para este trabajo de investigación se propuso evaluar la influencia de la irradiación con luz ultravioleta como pretratamiento para esta agua residual. Para la fase pre- experimental se seleccionó tres proporciones de agua residual / medio de cultivo de la siguiente manera: 100 mL agua residual / 100 mL de medio de cultivo, 100 mL de agua residual / 200 mL de medio de cultivo, y por último 200 mL de agua residual / 100 mL de medio de cultivo. Se seleccionó la mayor velocidad específica de crecimiento (μ), donde se obtuvo que para una proporción 2:1 (200 mL agua residual / 100 mL de medio de cultivo) la velocidad específica de crecimiento es de $\mu = 0,2745 \text{ día}^{-1}$ sin radiación ultravioleta, y una velocidad específica de crecimiento de $\mu = 0,2921 \text{ día}^{-1}$ con radiación ultravioleta.

En la fase experimental se obtuvo un rendimiento de biomasa 39,12, una tasa de crecimiento promedio de $\mu = 0,3698 \text{ (día}^{-1}\text{)}$ y una productividad volumétrica de 0,0159 g/L*día de biomasa seca para el experimento y una tasa de crecimiento promedio de $\mu = 0,4095 \text{ día}^{-1}$, una productividad volumétrica de 0,0241 g/L * día de biomasa seca para el control.

PALABRAS CLAVES: biomasa, hidroponía, lixiviados, aguas residuales, industria floricultora, microalgas, *Chlorella vulgaris*.

INTRODUCCION

Continuamente, la investigación en nuevas aplicaciones biotecnológicas se está desarrollando, con el firme propósito de contribuir a la disminución de los factores que causan deterioros ambientales, tales como diversas actividades que no posee una vigilancia o acompañamiento del estado y falta de inversión por parte del estado en el tratamiento de aguas residuales. Uno de los propósitos que se encuentran orientados estas investigaciones, consiste en buscar alternativas para el buen uso de todos aquellos efluentes líquidos que son tóxicos o nocivos para los ecosistemas, este trabajo de grado se encuentra enfocado a la evaluación de un sustrato que permita la producción de biomasa microalgal mediante el agua residual de la industria floricultora.

En Colombia se produce agua residual proveniente de procesos industriales, aguas domésticas, actividades agroindustriales, entre otras fuentes. Estas aguas pueden verterse a las diferentes fuentes hídricas (lagos, ríos, mares...etc.), así como al sistema de alcantarillado, si cumplen con los parámetros de la resolución 0631 del 17 de marzo del 2015⁶.

En la industria floricultura diariamente se usa gran cantidad de agua para el riego del cultivo, para generar mezclas con los plaguicidas y para la fumigación: *“el volumen de agua utilizado en el sector agrícola en 2008 alcanza un orden de magnitud de 19.386 Mm³ anuales de los cuales 183 Mm³ pertenecen al cultivo de flores”*⁷.

De las aguas residuales emitidas al medio ambiente, una fracción no se aprovecha por los cultivos y genera un residuo vertido a diferentes fuentes como ríos, lagos, mares, provocando la contaminación del suelo, aguas subterráneas y superficiales debido a su alto contenido de materia orgánica, fosfatos, nitratos, potasio, hierro, amonio, entre otras sustancias. Dichas sustancias provienen de los mismos fertilizantes, insecticidas, plaguicidas, pesticidas que se le aplican durante el proceso de cosecha e hidratación.⁸

El aprovechamiento de las aguas residuales mediante procesos de tipo biotecnológico tiene diferentes opciones, una de estas se fundamenta en la fitorremediación, proceso en el cual se usan las microalgas, capaces de

⁶ Ministerio del medio ambiente norma de vertimiento de aguas residuales. {En línea}. {6 de febrero 2018} disponible en: http://www.minambiente.gov.co/images/normativa/app/resoluciones/d1-res_631_marz_2015.pdf

⁷ O. Jaramillo. “Estimación de la demanda de agua”. {En línea}. {11 de agosto 2017} disponible en: <http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/021888/CAP5.pdf>

⁸ ASOCOLFLORES. {En línea}. {18 de septiembre 2017} disponible en: http://www.siame.gov.co/siame/documentos/Guias_Ambientales/Gu%C3%ADas%20Resoluci%C3%B3n%201023%20del%2028%20de%20julio%20de%202005/AGRICOLA%20Y%20PECUARIO/Guia%20ambiental%20para%20el%20subsector%20Floricultor.pdf

metabolizar, tolerar, adsorber y degradar algunos componentes contaminantes como metales pesados, compuestos orgánicos, iones entre otros⁹.

Teniendo en cuenta lo anterior, el aprovechamiento de los residuos y su transformación en biomasa a partir de aguas residuales provenientes de la industria floricultora, de tal manera que se puedan utilizar como sustrato para el crecimiento de las microalgas y así generar la producción de Biomasa microalgal con la posibilidad de extraer metabolitos tales como azúcares, lípidos, proteínas, ácidos grasos, los cuales tienen un alto valor comercial.

Se seleccionó el agua residual proveniente de la industria floricultora, por la cantidad de nutrientes que contiene, proveniente de los fertilizantes que se le suministran al cultivo; todos los nutrientes que no fueron aprovechados por la planta quedan disueltos en el agua residual, como resultado del proceso de lixiviación que presentan los cultivos hidropónicos.

Para ello, se llevó a cabo una revisión bibliográfica acerca de la industria floricultora para poder de esa manera generar la descripción detallada del proceso y se determinó de dónde proceden los efluentes en dichas industrias, adicional a esto se solicitó la caracterización del agua que se obtiene para de esa manera tener certeza de la cantidad de nutrientes que contiene.

Se tendrán en cuenta las características cualitativas del agua residual como color, olor y apariencia, para proceder con un pre-tratamiento tales como filtración, diluciones, tratamientos térmicos, luz ultravioleta. Se realizará un diseño de experimentos factorial con el fin de ver en cambio de las variables dependientes ante los diferentes cambios en las variables del proceso.

Posteriormente se establecieron las condiciones óptimas de crecimiento para la microalga *Chlorella vulgaris*.

Al haber determinado el medio de cultivo al que estuvo expuesto la microalga, se realizó un diseño de experimentos en donde se tomaron tres proporciones de agua residual sobre volumen de microalga. Se realizó el seguimiento del cultivo para cada una de las pre-experimentaciones anteriormente hechas.

Finalmente se estableció el rendimiento del proceso con la biomasa microalgal húmeda obtenida, evaluando los diferentes tratamientos realizados en la experimentación.

⁹ Alexis HERNANDEZ, José LABBÉ. "Revista de Biología marina y oceanografía". {En línea}. {18 de septiembre 2017} disponible en <http://www.scielo.cl/pdf/revbiolmar/v49n2/art01.pdf>

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la producción de biomasa microalgal a partir de aguas industriales de la industria floricultora en los cultivos de hidroponía.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar cualitativa y cuantitativamente las características de los efluentes de los cultivos de hidroponía con miras a la producción de biomasa microalgal.
- Evaluar los pretratamientos del agua residual que permitan la producción de Biomasa microalgal.
- Establecer el rendimiento del proceso de producción de biomasa microalgal generada a partir del agua residual industrial en cultivos de hidroponía.

1. MARCO TEORICO

1.1 MICROALGAS

Las microalgas son un tipo de microorganismos caracterizados por contener clorofila, la cual son capaces de realizar el proceso de fotosíntesis, además, son capaces de biofijar hasta 2 kg de CO_2 por kg de masa producida.¹⁰

Por su naturaleza, estos microorganismos pueden crecer en diferentes tipos de aguas, bien sea dulces, saladas, residuales. Están compuestas principalmente por pigmentos, proteínas, lípidos, carotenos, carbohidratos¹¹, que pueden representar beneficios a nivel industrial, bioquímico, farmacéutico, en biocombustibles. Dicho lo anterior, se pueden emplear también como fuente para reducir algunos contaminantes que emiten las industrias, ya que al ser un microorganismo autótrofo toma como fuente de nutrientes algunos compuestos orgánicos como azúcares, ácidos, alcoholes, aminoácidos, vitaminas, minerales. Adicional a ello, el consumo de agua en un cultivo microalgal es mínimo en comparación con el de un cultivo tradicional.¹²

Las microalgas han tenido gran acogida debido a su comportamiento frente a diversas fuentes de sustratos no convencionales provenientes de las emisiones de industrias químicas, alimentarias, agropecuarias, textiles, entre otras, las cuales contienen nitratos, fosfatos y algunos metales, sustancias que pueden ser usadas por las microalgas para su crecimiento, incrementando la biomasa de éstas.

Existen más de 30.000 especies de microalgas de acuerdo con su producción estas se dividen en:

- **Fotoautótrofa:** se dicen que son fotoautótrofas cuando obtiene la energía del sol y el carbono de compuestos orgánicos siendo el CO_2 la principal fuente de carbono.
- **Fotoheterótrofa:** cuando obtienen la energía del sol y emplean compuestos orgánicos como fuente de carbono.
- **Mixotrófica:** es la combinación entre un crecimiento tanto autótrofos como heterótrofo, de manera que la fuente de energía es tanto la luz como la materia orgánica.

¹⁰ Herrera, J. S., & Fernández, D. R. (2017). Uso potencial de microalgas para mitigar los efectos de las emisiones de dióxido de carbono. *Revista de Investigación*, 10(2), 153-164.

¹¹ Energy, alga. "¿Qué son las microalgas?". {En línea}. {1 septiembre de 2017} disponible en: <http://www.algaenergy.es/conocenos/que-son-las-microalgas/>

¹² SANTOS, Ana María. Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas. 2014. {En línea}. {12 septiembre de 2017} disponible en: <https://www.iit.comillas.edu/docs/IIT-14-027A.pdf>.

- **Heterótrofa:** la energía y la fuente de carbono la toman de los compuestos orgánicos, y pueden desarrollarse bajo la ausencia de luz.

A continuación, en la tabla 1, se muestran algunas microalgas consideradas como las más abundantes:

Tabla 1. Microalgas más abundantes.

Microalga	Especies conocidas (aprox.)	Material almacenado	Hábitat
Diatomeas (<i>Bacillariophyceae</i>)	100 000	Quirsolaminarin (polímero de carbohidratos) y TAGs	Océanos, agua dulce y salobre
Algas verdes (<i>Chlorophyceae</i>)	8 000	Almidón y TAGs	Agua dulce
Algas verde-azules (<i>Cyanophyceae</i>)	2 000	Almidón y TAGs	Diferentes hábitats
Algas doradas (<i>Chrysophyceae</i>)	1 000	TAGs y carbohidratos	Agua dulce

TAGs = Triacilgliceroles. Fuente: (Khan *et al.*, 2009).

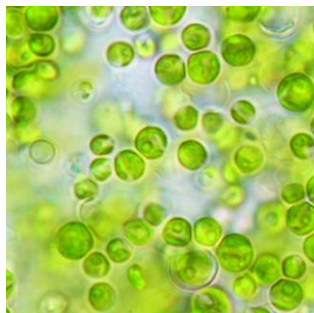
FUENTE: FERNANDEZ. Luis Carlos. Producción de biocombustibles a partir de microalgas. Revista de Sociedad, cultura y desarrollo sustentable. 2012-01-01. p. 101-115. {En línea}. {1 septiembre de 2017} disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/biblioamericasp/reader.action?docID=10679740>

Como se puede observar en la tabla 1, las microalgas más abundantes las podemos encontrar en el océano, en agua dulce y salada.

1.2 CHLORELLA VULGARIS

Chlorella vulgaris es una especie que pertenece al reino protista. Es un alga unicelular que tiene forma esférica con un diámetro de 2 a 10 micras. En general, la producción de *Chlorella* se realiza alrededor del sureste asiático y Asia. La obtención de biomasa se puede realizar tanto autotróficamente como heterotróficamente. A nivel industrial, se ha utilizado en formas de píldoras o polvo en el mercado alimenticio, también se sabe que de la biomasa se extrae un producto denominado Factor de Crecimiento de *Chlorella* que mejora el crecimiento en las bacterias lácticas¹³.

Ilustración 1. *Chlorella vulgaris*.



FUENTE: YARROW. Willard. "Chlorella (Chlorella vulgaris)" {En línea}. {12 septiembre de 2017} disponible en: <https://harmonicarts.ca/2013/04/chlorella-chlorella-vulgaris/>.

¹³ ABALDE/A.CID/P.FIDALGO/E.TORRES/C.HERRERO. MICROLGAS: Cultivo y Aplicaciones: Tórculo. 210 p.

1.3 FACTORES QUE INHIBEN EL CRECIMIENTO DE LAS MICROALGAS

Los cultivos de microalgas son enriquecidos con nutrientes esenciales para el crecimiento adecuado de la microalga. Estos medios artificiales se utilizan con fin experimental. En estos medios artificiales, se pueden encontrar macronutrientes como carbono, silicio, Magnesio, Nitrógeno, Potasio, calcio; y entre los micronutrientes están Hierro, Sodio, Cloro, Cobalto, Sodio, Cobre.

Los medios de cultivos también se pueden enriquecer con sustancias orgánicas como vitaminas y minerales; estos son más usados en aquellas microalgas que son autótrofas.

Dentro de los factores que inhiben el crecimiento de las microalgas en cultivos abiertos, principalmente, aunque también en algunos tipos de fotobioreactores, se encuentran los siguientes:

- **Bacterias:** Las bacterias inhiben el crecimiento de las microalgas, debido a que su crecimiento es bastante elevado, provocan la contaminación del medio, afectando la calidad y seguridad de las microalgas.
- **Mohos, levaduras y hongos:** Este tipo de contaminación se ve usualmente en las lagunas, pero no se ha demostrado que afecten el crecimiento de las microalgas. Dentro de los más perjudiciales se encuentra, la clorofíceas y *Aphelidium*¹⁴.
- **Algas indeseables:** son uno de los mayores problemas a la hora de cultivar microalgas a nivel industrial, ya que no existen condiciones de crecimiento específico para cada microalga lo que hace que cualquier tipo de microalga pueda crecer, provocando el desplazamiento del cultivo original.
- **Zooplankton:** son animales acuáticos de un tamaño microscópico o macroscópico que viven suspendidos en la columna de agua; este tipo de contaminación suele aparecer en cultivos de algas verdes.

1.4 CONDICIONES DEL MEDIO DE CULTIVO

Es de gran importancia conocer las condiciones óptimas a las que trabaja un cultivo y los factores que promueven o limitan su crecimiento entre los principales factores que deben ser considerados en un medio de cultivo tenemos los siguientes:

- **Luz:** es un factor fundamental para el crecimiento de las microalgas. La radiación utilizable se encuentra dentro del rango visible entre 400-700 nm,

¹⁴ ABALDE/A.CID/P.FIDALGO/E.TORRES/C.HERRERO. MICROLGAS: Cultivo y Aplicaciones: Tórculo. 210 p.

tanto la intensidad lumínica, la longitud de onda y el fotoperiodo afectan el crecimiento y el metabolismo microalgal¹⁵.

- **Intensidad:** es necesario mantener la intensidad de luz, ya que a bajas intensidades de luz la fotosíntesis está limitada por las reacciones lumínicas. A intensidades de luz de saturación, es función de las reacciones oscuras de la fotosíntesis. Así una célula que se encuentre en condiciones limitadas de luz crecerá lentamente, por otra parte, la intensidad lumínica influye sobre la tasa de fijación de CO₂.¹⁶
- **Fotoinhibición:** las intensidades de luz muy elevadas con frecuencia son inhibitorias para el crecimiento de la microalga. La Fotoinhibición se entiende como la disminución de la capacidad fotosintética a elevadas intensidades de luz, por encima de los valores de saturación. Este factor depende tanto de la de la calidad de la luz como del tiempo de exposición. Los efectos prolongados de luz comprenden el estrés y la deficiencia de asimilación de nutrientes¹⁷.
- **Fotoperiodo:** las microalgas deben estar expuestas a periodos de luz/oscuridad que son dependientes de cada especie. Los fotoperiodos se interrelacionan con los siguientes parámetros¹⁸:
 - División celular.
 - Capacidad fotosintética.
 - Absorción de nutrientes.
 - Bioluminiscencia.
- **Fuentes de luz:** la luz que se utiliza en los cultivos puede ser natural o artificial. La *luz natural*: tiene una ventaja y es que no supone un gasto energético; pero depende de la posición geográfica en la que se encuentre el cultivo y del periodo del año. Por el contrario, la *luz artificial*, puede ser controlada, simulando espectros de emisión parecidos a la luz del sol, pero la calidad de este puede afectar directamente el metabolismo, reproducción y crecimiento de la microalga, además de que tiene un costo¹⁹.
- **Temperatura:** la biomasa microalgal responde directamente a la temperatura, afectando así el metabolismo de la microalga, la composición

¹⁵ ABALDE/A.CID/P.FIDALGO/E.TORRES/C.HERRERO. MICROLGAS: Cultivo y Aplicaciones: Tórculo. 210 p.

¹⁶ Ibid., 210 p.

¹⁷ Ibid., 210 p.

¹⁸ Ibid., 210 p.

¹⁹ ABALDE/A.CID/P.FIDALGO/E.TORRES/C.HERRERO. MICROLGAS: Cultivo y Aplicaciones: Tórculo. 210 p.

de la microalga, y los requerimientos nutricionales. La tasa de crecimiento aumenta cuando se aumenta la temperatura, dentro de un rango óptimo²⁰.

- **pH:** este parámetro puede ser controlado por una inyección automatizada de CO₂; el pH óptimo para cultivar esta entre 7 y 9, dependiendo de la especie²¹.
- **Agitación:** permite la distribución homogénea de las células, los nutrientes y la oxigenación; así mismo mejora la distribución de la luz a las células asegurando que permanezcan fotosintéticamente activas²².

1.5 METODOS DE ESTERILIZACION

Existen varios métodos que permiten esterilizar un medio de cultivo, con el fin de garantizar la asepsia del cultivo. Entre los más usados están²³:

1.5.1 Esterilización Química. Uno de los métodos más comunes es el uso de hipoclorito de sodio, resulta efectivo para desinfectar material de cristalería y los recipientes en donde se va a realizar el cultivo.

1.5.2 Esterilización con formol. Este tipo de desinfección se recomienda utilizar en casos, en donde exista alta contaminación, en el laboratorio por hongos, levaduras, bacterias y otros microorganismos, para realizar una efectiva esterilización por este método, se debe utilizar a una concentración 0,1% al 10%²⁴.

1.5.3 Solución de Alcohol Etilico al 70%. Este tipo de desinfección se recomienda cuando se vaya a utilizar material de cristalería, como pipetas, tubos de ensayo, cajas de Petri, también se puede utilizar otro tipo de alcoholes como propanol o fenol.

1.5.4 Esterilización Física. Dentro de los métodos de esterilización física, se encuentran los siguientes:

1.5.4.1 Esterilización por Calor Húmedo. También llamado *Tindalización*; este proceso se realiza por medio de vapor húmedo a una temperatura de 100-110°C; es recomendable para tuberías y estanques y debe realizarse por 3 días consecutivos.²⁵

²⁰ Ibid., 210 p.

²¹ Ibid., 210 p.

²² Ibid., 210 p.

²³MUR Elsa, Lixiviación. En línea}. {16 octubre de 2017} disponible en: <http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Lixiviacion.htm>.

²⁴ ABALDE/A.CID/P.FIDALGO/E.TORRES/C.HERRERO. MICROLGAS: Cultivo y Aplicaciones: Tórculo. 210 p.

²⁵ Esterilización con agentes físicos. {En línea}. {26 de abril 2018} disponible en: <http://www.ugr.es/~pomif/pom-bac/pb-ii/pb-ii-2-fisicos.htm>

1.5.4.2 Autoclave. Se recomienda para esterilizar medios de cultivo, vitaminas, material del cristal, entre otros. Una de sus ventajas es el corto tiempo y el volumen que se puede cristalizar.

1.5.4.3 Esterilización por Radiación Ultravioleta. Se ha demostrado que la radiación ultravioleta es un método eficiente para eliminar bacterias y hongos en longitudes de onda entre 100 y 400 nm, cuanto menor es la longitud de onda, mayor es la energía producida²⁶. La radiación ultravioleta ocasiona un daño mayor, cuando su longitud de onda es menor a 280 nm, a una distancia de 25 cm por un tiempo de 8 - 16 min²⁷.

➤ **Factores que afectan la desinfección con luz UV**

- Calidad del agua.
- Transmisión de luz UV.
- Sólidos suspendidos.
- Nivel de orgánicos disueltos.
- Dureza total.
- Condición de la lámpara.
- Limpieza del tubo de cuarzo.
- Tiempo de uso de la lámpara.
- Tratamiento del agua antes de aplicar luz UV.

1.6 TRATAMIENTO DE LA BIOMASA MICROALGAL.

La biomasa microalgal puede caracterizarse por ser aquella materia orgánica susceptible a cambios para obtener diferentes productos altamente viables económicamente. Entre los diferentes tipos de fuentes para producir biomasa, se encuentra las de origen vegetal (en donde se encuentran las microalgas) o animal. Usualmente la biomasa de origen vegetal proviene de residuos agrícolas y forestales, como las pajas de los cereales, ramas, cortezas, virutas; también algunos residuos industriales provenientes de la producción de aceite, vinos, frutos secos, caña de azúcar, remolacha, entre otros²⁸, (ENDESA, 2017).

La biomasa microalgal producida se utiliza para diferentes fines como la producción de energía térmica, eléctrica, biocombustibles, biogás, extracción de metabolitos, entre otros. Para poder obtener la biomasa microalgal es necesario realizar diferentes técnicas que contribuyen a obtener una mayor cantidad de esta y a su vez mejorando su calidad, dentro de estas se pueden mencionar las siguientes:

²⁶ ABALDE/A.CID/P.FIDALGO/E.TORRES/C.HERRERO. MICROLGAS: Cultivo y Aplicaciones: Tórculo. 210 p.

²⁷ BAND SCHMIDT, Christine J. Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa. 75 p.

²⁸ENDESA. "Centrales de biomasa". {En línea}. {5 octubre de 2017} disponible en: http://www.endesaeduca.com/Endesa_educa/recursos-interactivos/produccion-de-electricidad/xiv.-las-centrales-de-biomasa.

1.6.1 Sedimentación: proceso mediante el cual se separan las partículas suspendidas en un medio por acción de la gravedad, este proceso es utilizado para retirar algunos sólidos sedimentables y materia flotante. Existen diferentes tipos de sedimentación.

1.6.2 Sedimentación discreta: esta sedimentación se presenta cuando la concentración de las partículas es muy baja, y por ello se asientan de manera individual.

1.6.3 Sedimentación floculante: esta sedimentación se presenta cuando la concentración de las partículas es alta, las cuales interactúan con otras formando masas llamadas flóculos.

1.6.4 Sedimentación por comprensión: la concentración de las partículas es tan alta que se comprimen para poder realizar el proceso de sedimentación de una manera eficiente.

1.6.5 Floculación: la floculación es el proceso mediante el cual se aglomeran las partículas en microflóculos; para ello se adicionan reactivos que aceleran dicho proceso, entre los más usados se encuentra, cloruro férrico, sulfato de aluminio, sulfato férrico²⁹.

1.6.6 Centrifugación: es el proceso en donde se logra separar algunos compuestos sólidos por medio de la fuerza centrífuga. El fin de este método es poder acelerar el proceso de sedimentación.

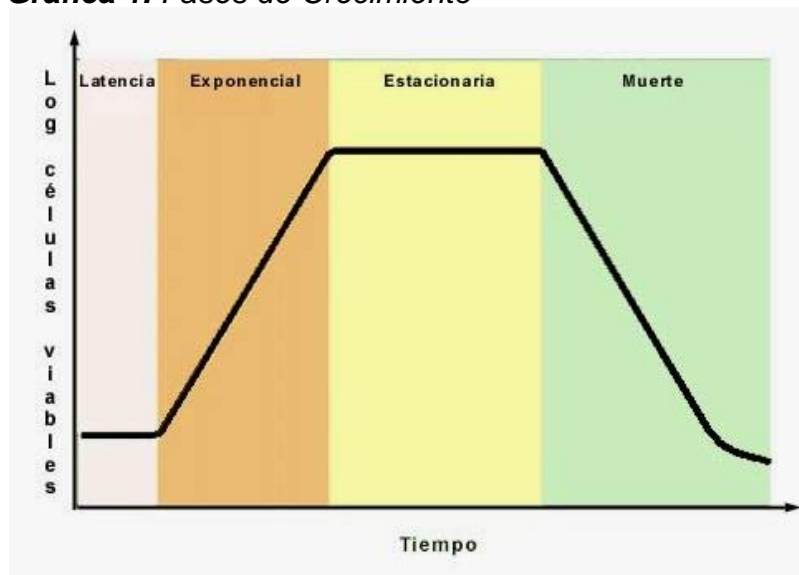
1.6.7 Filtración: el proceso de separación de las partículas sólidas de una mezcla utilizando un papel poroso al que denominamos filtro. Este papel permite el paso del líquido y deja las partículas retenidas en él.

1.7 CURVA DE CRECIMIENTO MICROALGAL

El crecimiento de un microorganismo se divide en cuatro fases las cuales se observan en la gráfica 1, una primera fase llamada fase de latencia, en donde el microorganismo se adapta a las condiciones del cultivo. En esta fase no se evidencia crecimiento celular. Una segunda fase llamada exponencial, en donde los microorganismos se han adaptado al medio y empieza a crecer exponencialmente. La tercera fase es conocida como estacionaria, en esta fase se evidencia un agotamiento de nutrientes y limitaciones en cuanto al espacio debido a la cantidad de microorganismos presentes. Por último, la fase de muerte, donde se observa una disminución significativa en el número de microorganismos.

²⁹VARGAS, Lidia. "floculación". {En línea}. {12 septiembre de 2017} disponible en: <http://www.ingenieroambiental.com/4014/seis.pdf>.

Gráfica 1. Fases de Crecimiento



FUENTE: QUISTIÁN GARCIA, Hylary. "Curva de crecimiento". {En línea}. {12 de marzo 2018} disponible en: <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com.co/2014/10/curva-del-crecimiento.html>

Mediante las curvas de crecimiento, se aprecia la cantidad de microorganismos, cuantificando el número de células visibles por mililitro que han crecido en un medio a través del tiempo; así mismo se puede evaluar la velocidad de crecimiento (μ), que es la relación de crecimiento con base en los nutrientes disponibles; este valor se calcula utilizando la ecuación 1³⁰.

$$\ln N = \ln N_0 + \mu t \quad \text{Ecuación 1.}$$

Donde:

N: número de células al cabo del tiempo.

N_0 : número inicial de células.

μ : tasa de crecimiento.

t : Tiempo.

1.8 TRATAMIENTO DE RESIDUOS A PARTIR DE MICROALGAS

Se ha venido desarrollando en la industria, la implementación de microalgas para realizar diferentes tratamientos de efluentes y residuos, los cuales son causantes de la contaminación ambiental. Los residuos han sido implementados como sustrato para la producción de biomasa microalgal.

³⁰ CAMPUSA, ARABAKO. Cinética de crecimiento. Universidad del país Vasco. {En línea}. {12 de marzo 2018} disponible en: <http://www.testak.org/microbiologia/crecimiento/cinetica.pdf>

La producción de biomasa microalgal puede ser enfocada a distintas áreas, entre ellas, la digestión anaerobia, tratamiento de aguas residuales, procesos de algas-bacterias, valorización de residuos y biología molecular³¹.

Realizar la producción de biomasa microalgal a partir de un residuo proveniente de aguas residuales industriales, plantas de tratamiento o residuos industriales, presenta una ventaja comercial; adicional a esto el aprovechamiento de las microalgas, permite mejorar la calidad del efluente que está siendo emitido al medio ambiente, es un proceso que no genera gran cantidad de gastos y se aprovechan los nutrientes contenidos en el agua residual, que se estaban vertiendo sin control.

A continuación, se presentan algunos trabajos en los cuales se han implementado diferentes residuos para la producción de biomasa microalgal:

- Se han realizado cultivos utilizando como sustrato las aguas residuales de pescadería, de la microalga *Scenedesmus sp*, en donde se obtuvo una remoción de 100% para el nitrógeno contenido en estas aguas residuales, 78% fosfatos y 36 % para materia orgánica³².
- Se ha evaluado el empleo de la microalga *Chlorella vulgaris*, en el tratamiento de vinazas, de este estudio se obtuvo un porcentaje de remoción de fósforo del 15,7%, de nitrógeno el 84,93% y de DQO del 30,92%, comprobando la viabilidad emplear la microalga para el tratamiento de estos residuos industriales³³.

Tras finalizar un proceso utilizando residuos industriales para la producción de biomasa microalgal, esta puede aprovecharse en diferentes áreas; una de ellas es la producción de biodiesel y biogás. La biomasa microalgal contiene altos niveles de lípidos, carotenoides y proteínas, también tiene una gran ventaja debido a que utiliza una menor área de cultivo; otra de sus características es que posee una alta velocidad de crecimiento y, adicional a ello, es viable utilizar las aguas residuales para la producción de esta³⁴, así mismo la biomasa microalgal también puede ser utilizada como biofertilizante para los cultivos.

³¹ MARTIN, Judith. Microalgas: Del tratamiento a la valorización de los residuos. {En línea}. {15 de mayo 2018} disponible en: https://uvadoc.uva.es/bitstream/10324/26274/1/Lorca_2017.pdf

³² ANDRADE, Charity. Biomass production of microalga *Scenedesmus sp*. With wastewater from fishery. {15 de mayo 2018} disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S025407702009000200005&script=sci_arttext

³³ OLARTE, Edward. Evaluación de uso de la microalga *Chlorella vulgaris* en el tratamiento de aguas industriales vinazas. 2016. Universidad Nacional abierta y a distancia.

³⁴ BULTRON, German. "Microalgas y biocombustibles". {En línea}. {15 de mayo 2018} disponible en: <http://www.eluniversalqueretaro.mx/content/microalgas-y-biocombustibles>

1.9 INDUSTRIA FLORICULTORA

La floricultura es una disciplina que hace parte de la horticultura orientada al cultivo de las flores y plantas ornamentales en forma industrializada. Las flores constituyen un producto agrícola. Se estima que 37 m³/ha-día de agua, se utilizan en los cultivos de flores. La fuente que se utiliza es agua lluvia, así como también fuentes subterráneas y superficiales. La huella hídrica por producción de flores es de aproximadamente 900 m³/t³⁵.

1.9.1 Tipos de riego. El riego consiste en aportar un medio hídrico en este caso el agua a cultivos por medio del suelo para satisfacer las necesidades no fueron aportadas mediante la preparación normal del suelo. Entre los diferentes tipos de riego se encuentran los siguientes:

1.9.1.1 Riegos pre-siembra. dependiendo de la capacidad que tenga el suelo para adsorber el agua, de la misma manera será el riego; existen riegos pesados en los que el contenido de humedad del suelo debe estar hasta unos 30 cm de profundidad; este riego debe realizarse de 2 a 3 días antes de la siembra en suelos arcillosos y 1 o 2 días antes de la siembra en suelos livianos.³⁶

1.9.1.2 Riegos refrescantes. tiene como objetivo mantener la humedad relativa alrededor de la planta con el fin de que no se deshidraten. Estos riegos deben ser constantes y más cuando se tienen períodos de calor.³⁷

1.9.1.3 Riego de producción. corresponde al riego diario que se realiza con el fin de asegurar una cantidad adecuada de agua que se necesita para su crecimiento. El crecimiento de las flores se basa principalmente en el estiramiento de las células, su hinchamiento y su hidratación.³⁸

1.9.1.4 Cantidad de agua en cada riego. La cantidad de agua que se le debe suministrar al cultivo depende del suelo, el consumo por parte de la flor, las condiciones climáticas, en donde los días nublados se requiere menor cantidad de agua. La producción de flores usa como criterio 1 m³ por cama (30 m x 1.3 m) por semana.³⁹

³⁵URIBE AREVALO, Diego. "Huella hídrica Colombia". {En línea}. {17 septiembre de 2017} disponible en: <http://infoagro.net/programas/Ambiente/pages/agricultura/casos/2.pdf>.

³⁶ AMEZQUITA, Edgar. "Requerimiento de agua y nutrición de cultivo de flores". {En línea}. {12 septiembre de 2017} disponible en: http://www.mag.go.cr/congreso_agronomico_xi/a50-6907-III_215.pdf

³⁷ AMEZQUITA, Edgar. "Requerimiento de agua y nutrición de cultivo de flores". {En línea}. {12 septiembre de 2017} disponible en: http://www.mag.go.cr/congreso_agronomico_xi/a50-6907-III_215.pdf

³⁸ AMEZQUITA, Edgar. "Requerimiento de agua y nutrición de cultivo de flores". {En línea}. {12 septiembre de 2017} disponible en: http://www.mag.go.cr/congreso_agronomico_xi/a50-6907-III_215.pdf

³⁹ AMEZQUITA, Edgar. "Requerimiento de agua y nutrición de cultivo de flores". {En línea}. {12 septiembre de 2017} disponible en: http://www.mag.go.cr/congreso_agronomico_xi/a50-6907-III_215.pdf

Tabla 2. Demanda hídrica agrícola.

Cobertura ENA agrícola	Demanda hídrica agregada anual	Consumo efectivo en cultivo	Agua extraída no consumida	Participación consumo efectivo en cultivo con respecto a la demanda hídrica anual	Participación agua extraída no consumida con respecto a la demanda hídrica anual
Pastos manejados	7.938	5.159	2.778	26,61%	14,33%
Bosques plantados	617	401	216	2,07%	1,11%
Cultivos permanentes	3.826	2.487	1.339	12,83%	6,91%
Cultivos transitorios	6.784	2.652	4.132	13,68%	21,32%
Cultivo de flores permanentes	183	183	0	0,94%	0,00%
Poscosecha de café	6	6	0	0,03%	0,00%
Poscosecha de banano	13	13	0	0,07%	0,00%
Cultivos ilícitos	18	18	0	0,09%	0,00%
Total agrícola con beneficio	19.386	10.920	8.466	56,33%	43,67%

FUENTE: GONZALES, María Clemencia. SALDARRIAGA, Gabriel de Jesús. JARAMILLO, Oscar. "Demanda hídrica agrícola", {En línea}. {12 septiembre de 2017} disponible en: <http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/021888/CAP5.pdf>

En la tabla 2 se aprecia el volumen de agua por Megámetro cúbico utilizado en el sector agrícola que alcanza una magnitud de 19.386 Mm³, de los cuales 10.920 Mm³ son el consumo efectivo, con una participación de 56,33% con respecto al total, en tanto que el volumen de agua extraída no consumida por los cultivos es de 8.466 Mm³, con una participación de 43,67%.

1.10 HIDROPONIA

Se entiende por hidroponía una forma de cultivo en donde se trabaja en agua, usando soluciones minerales. Los cultivos hidropónicos manejan distintos tipos de sustratos como la cáscara de coco, espumas sintéticas, cascarilla de arroz, piedra pómez, arcillas expandidas entre otros. A estos medios de cultivo se le añaden los nutrientes necesarios para el buen crecimiento y desarrollo de la planta. La palabra Hidroponía fue inventada por W.F. Gericke, profesor de la Universidad de California.⁴⁰

Los cultivos hidropónicos promueven el uso adecuado de agroquímicos y del agua; generan un mayor aprovechamiento de los nutrientes; no dependen del estado meteorológico, ya que este proceso se realiza en un invernadero en donde se controlan las condiciones del cultivo; no requieren maquinaria pesada para el mantenimiento del cultivo y no erosionan la tierra, como lo hacen los cultivos en suelo. Este método tiene un periodo de duración mayor, ya que las plantas absorben estos nutrientes disueltos directamente del agua. Finalmente, como resultado se

⁴⁰ SÁENZ CALDERÓN, Felipe. "Cultivos Hidropónicos". {En línea}. {13 septiembre de 2017} disponible en: http://www.drcalderonlabs.com/Publicaciones/Presentacion_De_La_Hidroponia.htm.

obtiene un cultivo de alta calidad que permite una mayor ganancia económica en menor tiempo, siendo así un sistema eficiente y sostenible.

1.10.1 Tipos de cultivos hidropónicos. Los cultivos hidropónicos se pueden clasificar en dos grandes grupos, aquellos sistemas con raíz directamente en el agua y aquellos en los cuales la raíz se encuentra sumergida en un sustrato.

Dentro de los sistemas con raíz directamente en el agua están:

- **Balsa o raíz flotante:** este método, usualmente es utilizado para cultivar hortalizas, en donde se tienen unos recipientes, los cuales se cubren por una capa de poliestireno expandido; sobre esta capa se realizan varias perforaciones donde se colocan las plantas, con el fin de que las raíces pasen por estos orificios, y queden sumergidas en el recipiente, el cual dispone de una mezcla de agua con fertilizante.
- **Cultivo en agua profunda:** a diferencia del anterior, este sistema está adecuado para cultivar plantas de mayor tamaño. Para ello se utilizan estanques de 10 a 50 litros de capacidad; se dispone de una malla que permite el paso de las raíces hasta la solución nutritiva; al tener una capacidad mayor se debe oxigenar la solución con el fin de que la planta logre aprovechar una mayor cantidad de nutrientes, este oxigenamiento se hace mediante bombas de aire que suministran el oxígeno necesario que necesita el cultivo.
- **Película de nutrientes:** también conocido como NFT; en este método las raíces son colocadas dentro de unos canales y la solución hidropónica se pone a circular en el fondo de los canales, formando un flujo delgado, de allí el nombre de “película”. Este método no necesita un sistema de oxigenación debido al poco volumen y la superficie de contacto que tiene la raíz con la solución nutritiva.
- **Aeroponía:** al igual que en los métodos anteriores, la raíz se encuentra colgando dentro de un recipiente, a diferencia que en este método son constantemente rociadas con un aerosol que contiene la solución nutritiva.⁴¹

En cuanto a los sistemas con raíz en sustrato se encuentran los siguientes métodos:

- **Sistemas de goteo:** consiste en agregar la solución nutritiva por medio de gotas a través de una manguera, hacia el sustrato con el fin de que la solución hidropónica quede a disposición de las plantas. En la base del recipiente en

⁴¹ GENERACION VERDE. “Tipos de sistemas hidropónicos”. {En línea}. {1 junio de 2018} disponible en: <https://generacionverde.com/blog/hidroponia/tipos-de-sistemas-hidroponicos/>

donde se encuentra el cultivo, hay un estanque que recolecta el agua con parte de la solución que no ha sido consumida por el cultivo.

- **Inundación y vaciado:** el principio de este método se basa en un sistema automatizado en el cual cada cierto tiempo se activa una bomba que inyecta al cultivo la solución nutritiva hasta tres cuartas partes de la capacidad del recipiente. Después de un tiempo se realiza un proceso de vaciado, donde se extrae el agua. Este proceso se repite en varios ciclos.
- **Riego por válvula automática:** a diferencia de los otros métodos, este permite inyectar la solución nutritiva a medida que el cultivo lo consuma; cabe resaltar que el tipo de sustrato que se escoja para este método de ser absorbente con el fin de que la solución hidropónica se distribuya uniformemente por toda la raíz. Un ejemplo de sustrato podría ser la fibra de coco.⁴²

En la tabla 3, se enumeran los nutrientes más comunes presentes en una solución hidropónica.

Tabla 3. Nutrientes en una solución Hidropónica

Elemento	Formas Iónicas Absorbidas por la planta	Rango Común (ppm = mg/l)
Nitrógeno	Nitrato (NO_3^-), Amonio (NH_4^+)	100-250
Fósforo	H_2PO_4^- , PO_4^{3-} , HPO_4^{2-}	30-50
Potasio	Potasio (K^+)	100-300
Calcio	Calcium (Ca^{2+})	80-140
Magnesio	Magnesio (Mg^{2+})	30-70
Azufre	Sulfato (SO_4^{2-})	50-120
Hierro	Fe^{2+} , Fe^{3+}	1.0-3.0
Cobre	Cobre (Cu^{2+})	0.08-0.2
Manganeso	Manganeso (Mn^{2+})	0.5-1.0
Zinc	Zinc (Zn^{2+})	0.3-0.6
Molibdeno	Molybdato (MoO_4^{2-})	0.04-0.08
Boro	BO_3^{2-} , $\text{B}_4\text{O}_7^{2-}$	0.2-0.5
Cloruro	Cloro (Cl^-)	<75
Sodio		<50

FUENTE: SMART, Fertilizer Management. "Nutrientes en un cultivo Hidropónico". {En línea}. {22 octubre de 2017} disponible en: <http://www.smart-fertilizer.com/es/articles/hydroponic-nutrient-solutions>

⁴² BRAJOVIC, Guillermo. Los Principales métodos hidropónicos. Tomado de: <http://www.hidroponic.cl/principales-metodos-hidroponicos/>

1.10.2 Características físicas, químicas y biológicas de las aguas residuales. Las aguas residuales de cultivos hidropónicos, contienen material en suspensión que dificulta la oxigenación para especies animales o vegetales; sólidos disueltos, que en grandes cantidades pueden tapar los sistemas de riego; así mismo, alta concentración de nutrientes que aumenta la salinidad, desestabilizando los cultivos, es importante llevar un control de estos parámetros, ya que así se puede mantener el cultivo hidropónico en condiciones que permitan un buen crecimiento en el cultivo de las flores.

El cuadro 1 describe las características físicas, químicas y biológicas de las aguas residuales.

Cuadro 1. Características físicas, químicas y biológicas de las aguas residuales.

CARACTERÍSTICAS		FUENTES
PROPIEDADES FÍSICAS	COLOR	Aguas residuales domesticas e industriales, descomposicion natural de materia organico.
	OLOR	Aguas residuales descompuestas, residuos industriales.
	SOLIDOS	Sistemas domesticos de abastecimineto de agua, residuos domesticos e industriales, erosion del suelo infiltracion y
	TEMPERATURA	Aguas residuales domesticas e industriales.
CONSTITUYENTES QUIMICOS ORGANICOS	Carbohidratos	Aguas residuales domesticas, comerciales e industriales.
	Aceites y grasas	Aguas residuales domesticas, comerciales e industriales.
	Pesticidas	Residuos agricolas
	Fenles	Vertidos industriales
	Proteinas	Aguas residuales domesticas, comerciales e industriales.
	Contaminates importantes	Aguas residuales domesticas, comerciales e industriales.
	Surfactantes	Aguas residuales domesticas, comerciales e industriales.
	Compuestos organicos volatiles otros	Aguas residuales domesticas, comerciales e industriales. Descomposicion natural de materiales organicos.
CONSTITUYENTES QUIMICOS INORGANICOS	Alcalinidad	Aguas residuales domestica, sistemas domesticos de abastecimiento de agua, infiltracion de agua subterranea.
	Cloruros	Aguas residuales domesticas, sistemas domesticos de abastecimiento de agua, infiltracion de agua subterranea.
	Metales pesados	Vertidos industriales
	Nitrogeno	Aguas residuales, domesticas, agricolas.
	pH	Aguas residuales domesticas, comerciales e industriales.
	Fosforo	Aguas residuales domesticas, comerciales e industriales; escurrimiento superficial.
	Azufre	Sistemas domesticos de abastecimineto de agua, aguas residuales, domesticas, comerciales e industriales.
GASES	Sulfuro de hidrogeno	Descomposición de aguas residuales domesticas.
	Metano	Descomposicion de aguas residuales domesticas.
	Oxigeno	Sistemas domesticos de abastecimiento de agua, infiltracion de aguas de superficie.
CONSTITUYENTES BIOLOGICOS	Animales	Cursos de agua y plantas de tratamiento de agua.
	Plantas	Cursos de agua y plantas de tratamiento de agua.
	Eubacterias	Aguas residuales, domesticas, infiltracion de aguas de superficie, plantas de tratamiento.
	Achaebacteria	Aguas residuales, domesticas, infiltracion de aguas de superficie, plantas de tratamiento.
	Virus	Aguas residuales domesticas.

FUENTE: Proyecto de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente- PNUMA. Estudio de caracterización de las aguas residuales afluentes al sistema de tratamiento de Puchukollo. Bolivia, 2011. {En línea}. {14 enero de 2018} disponible en: http://www.bivica.org/upload/ag_aguas-residuales.pdf.

1.10.3 Olor. El olor es una característica cualitativa el cual se puede describir la procedencia del agua, el olor del agua se puede clasificar en:

- **Olor a mohó:** olor característico del agua residual fresca.
- **Olor a huevo podrido:** ese olor se presenta por la formación de sulfuro de hidrógeno, proveniente de la descomposición del lodo de las aguas residuales, usualmente este olor es insoportable.
- **Olor variable:** es causado por la presencia de residuos de alimentos, presentando algunos compuestos en mayor proporción como, sulfuros, fosfatos, nitrógenos entre otros, estos olores pueden variar dependiendo de la concentración de residuos industriales que estén presentes.⁴³

1.10.4 Apariencia. La apariencia de un agua residual es desagradable debido a la carga microbiana y patógena que esta contiene. Su tonalidad puede ser grisácea y va cambiando gradualmente, a medida que se va descomponiendo, así hasta llegar a un color negro, dependiendo de su composición, las aguas residuales pueden presentar cualquier otro color⁴⁴.

1.10.5 Densidad. La densidad del agua residual, proveniente de la industria floricultora, se calculó mediante la siguiente ecuación.

$$\rho_d = \frac{m_{(p+d)} - m_p}{m_{(p+w)} - m_p} \times \rho_w \text{ Ecuación 2. Densidad.}$$

Donde:

ρ_d : Densidad del líquido desconocido.

$m_{(p+d)}$: Masa del picnómetro + líquido

$m_{(p+w)}$: Masa del picnómetro + Masa del agua

m_p : Masa del picnómetro vacío.

ρ_w : Densidad del agua

1.10.6 Caudal. Se define como la cantidad de fluido que fluye a través de una tubería, en un determinado tiempo. Para el cálculo del caudal se tuvo en cuenta la cantidad de agua que se le suministra al cultivo.

⁴³Proyecto de las naciones unidas para el medio ambiente- PNUMA. Estudio de caracterización de las aguas residuales afluentes al sistema de tratamiento de Puchukollo. Bolivia, 2011. {En línea}. {14 enero de 2018} disponible en: http://www.bivica.org/upload/ag_aguas-residuales.pdf

⁴⁴ ESPIGARES GARCIA.M. PEREZ LOPEZ.J.A. Aguas residuales composición {En línea}. {15 enero de 2018} disponible en: http://cidta.usal.es/cursos/EDAR/modulos/Edar/unidades/LIBROS/logo/pdf/Aguas_Residuales_composicion.pdf

1.11 EMPRESA FLORES LAS ACACIAS S.A.S.

La empresa Flores las Acacias S.A.S, está constituida como una sociedad por acciones simplificadas, la cual tiene como objeto social la producción, cultivo, transformación, comercialización y venta de flores en el mercado internacional y en el mercado nacional. Las ventas aportadas en el balance anual son menores a 1000 millones de pesos.

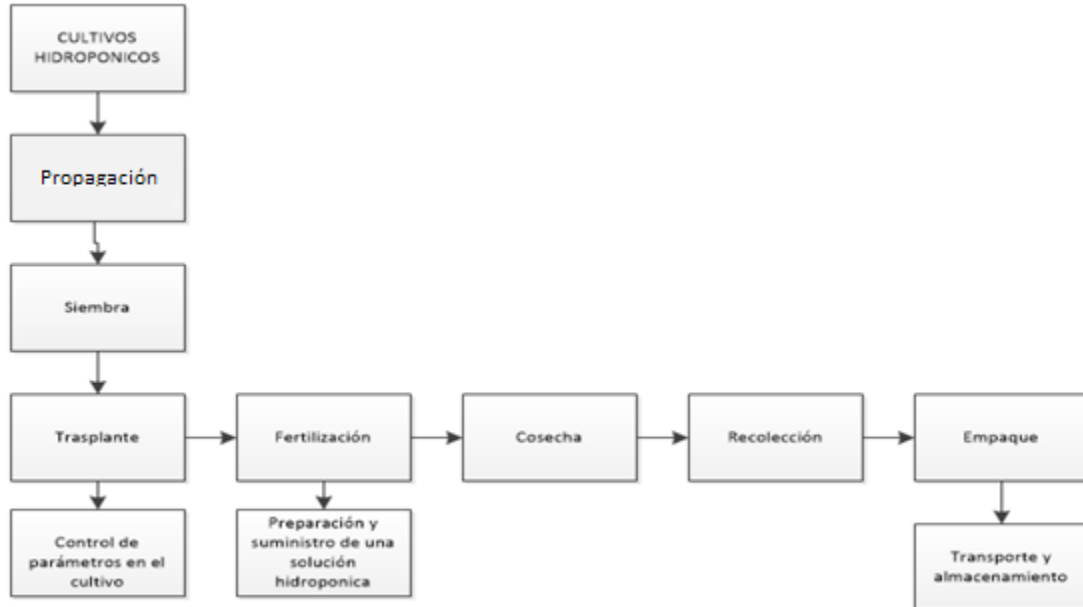
La empresa Flores Las Acacias S.A.S, pertenece al grupo Chía una de las empresas más poderosas de la floricultura colombiana; siendo su casa matriz en los Estados Unidos The Queen´s Flowers. Esta empresa está distribuida en cuatro sectores de producción, como se puede apreciar de manera detallada en el anexo G. Las ventas de sus casi cuarenta cultivos, asentados en varios cientos de hectáreas, alcanzaron en 2010 algo más de 309 mil millones de pesos.⁴⁵

Sus mercados principales, en cada uno de los cuales tiene agentes establecidos, son Estados Unidos, Canadá, Reino Unido, Rusia, Alemania, Suiza y Japón. A continuación, se realizará una descripción del proceso general de la empresa flores las Acacias S.A.S.

1.11.1 Descripción del proceso. La producción de flores en los cultivos hidropónicos de la empresa Flores las Acacias, se desglosa en una serie de actividades consecutivas, como se puede apreciar en el siguiente diagrama de bloques.

⁴⁵ FLORES LAS ACACIAS SAS. {En línea}. {2 junio de 2018} disponible https://www.informacion-empresas.co/Empresa_FLORES-ACACIAS-SAS.html

Diagrama 1. Diagrama de bloques del proceso de producción de flores.



Fuente: Elaboración propia

1.11.1.1 Propagación. La propagación de la flor se hace por medio de un método llamado injerto de yema, con el fin de obtener una mayor variedad de rosas en gran cantidad.

1.11.1.2 Siembra. En este proceso se efectúan todos los requerimientos y control de las condiciones del invernadero, como temperatura, que debe estar en un rango de 17 °C - 28 °C: humedad relativa del suelo del 70-85 %: pH entre 6-7 y, por último, control en la aireación e iluminación dentro de los invernaderos. Todos estos parámetros se controlan por un sistema de automatización que está en constante monitoreo. Por otra parte, los invernaderos de la finca las Acacias se caracterizan por tener forma de capilla, cubiertos por una tela que atrapa los insectos, esto ayuda a disminuir la contaminación del cultivo por plagas.

1.11.1.3 Trasplante. Se realiza en unas camas previamente desinfectadas y organizadas en surcos. Las camas están compuestas de turba, tierra y cascarilla de arroz y se encuentran situadas a una distancia de 50 cm una de la otra, cada surco tiene una distancia de 30 m. Este proceso se debe realizar lo más rápido posible, para evitar deshidratación en las raíces de la flor.

La recolección de los lixiviados se hace por medio de un sistema de tuberías, por ello, las camas deben tener 5° de inclinación, con el fin de asegurar un buen drenaje y evitar la acumulación de agua.

1.11.1.4 Fertilización. Los cultivos hidropónicos se caracterizan por tener sectorizado por lotes los distintos tipos de flores, para de esta manera tener satisfechas las necesidades y requerimientos que exige cada una de ellas. A cada lote se le dosifica cierta cantidad de nutrientes mediante un sistema automatizado de control (Ilustración 2), en donde el ingeniero encargado, determina la cantidad de cationes (NH_4 , Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ , Na^+), aniones (SO_4 , Cl , NO_3^- , $\text{CO}_3^{=}$, HCO_3), y algunos otros elementos como fósforo, hierro, manganeso, cobre, zinc, y boro, con el fin de mantener la flor en un estado óptimo. Cuando la flor presenta carencias de nutrientes, esto se ve reflejado en diferentes aspectos como el color, la textura, agrietamiento, manchas, presencia de hongos tanto en la hoja de la rosa como en su tallo⁴⁶. Para solucionar dichos problemas, el ingeniero determina la falencia que presenta el cultivo y se procede a subsanarla, suministrando a la planta los nutrientes respectivos, con el fin de cumplir con los estándares de calidad que permitan la exportación de dichas flores. En esta etapa del proceso, es donde se genera la mayor cantidad de agua residual, cargada de contaminantes, por ende, es la etapa en la cual se realizará la recolección de la muestra residual.

1.11.1.5 Cosecha y recolección. En este proceso el ingeniero determina si es tiempo para realizar la recolección de las flores. El personal a cargo se encuentra altamente capacitado para determinar cuáles flores se encuentran listas para ser cortadas. Usualmente se realiza cuando están más abiertas; este paso es muy importante ya que, si se cortan en un estado de inmadurez, la flor puede llegar a marchitarse rápidamente, el largo del corte es determinado por el técnico, finalmente las flores cortadas son puestas en un tabaco (tabaco se refiere a un recipiente de plástico de forma rectangular), que permite su preservación.

1.11.1.6 Empaque y transporte. En este proceso se realiza una selección manual de las flores por el largo de su tallo; seguidamente, se le retiran algunas hojas y espinas, y se agrupan en ramos de 20, 25 y 30 tallos; este proceso se realiza en un cuarto frío. Finalmente, las flores se sumergen en agua por una hora y se llevan a un cuarto, a temperaturas entre 0 -1 °C, para preservarlas antes de ser transportadas para la exportación.

1.12 MARCO LEGAL DE VERTIMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

La norma bajo la cual se rigen los valores máximos permisibles para vertimientos es la resolución 0631 de 2015; sin embargo, para la industria floricultora en específico, no se encuentra contemplado en la norma. Por esto, se debe remitir al artículo 15 en el cual se especifican los vertimientos a cuerpos de aguas superficiales y el artículo 16 en donde habla sobre los vertimientos a alcantarillado público.

⁴⁶ INFOAGRO. El cultivo de la rosa {9 de abril 2018} disponible en: http://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_rosa.asp

Las siguientes normas rigen para vertimientos y usos del agua:⁴⁷

- Decreto 1594 del 26 de junio de 1984 Minsalud, este decreto fija las normas para vertimientos en cuerpos agua y en el alcantarillado público.
- Decreto 901 del 1 de abril de 1997 Minambiente: este decreto fija el cobro de las tasas retributivas por descarga directa e indirecta del agua, también establece las tarifas dependiendo del parámetro que se esté evaluando.
- Decreto 1541 del 26 de julio de 1978 Minagricultura: Establece normas específicas para los diferentes usos del recurso hídrico.
- Decreto 1594 del 26 de junio 1984 Minsalud: Por el cual se establece los criterios de calidad del agua para consumo humano, uso agrícola e industrial, entre otros.

Ley 373 del 6 de julio de 1997 Congreso: Por el cual se fija las obligaciones a aquellos que administran y/o usan el recurso hídrico.

⁴⁷ ASCOLFLORES. Guía ambiental para la floricultura. {En línea}. {1 de abril 2018} disponible en:
[http://www.siame.gov.co/siame/documentos/Guias_Ambientales/Gu%C3%ADas%20Resoluci%C3%B3n%201023%20del%](http://www.siame.gov.co/siame/documentos/Guias_Ambientales/Gu%C3%ADas%20Resoluci%C3%B3n%201023%20del%20)

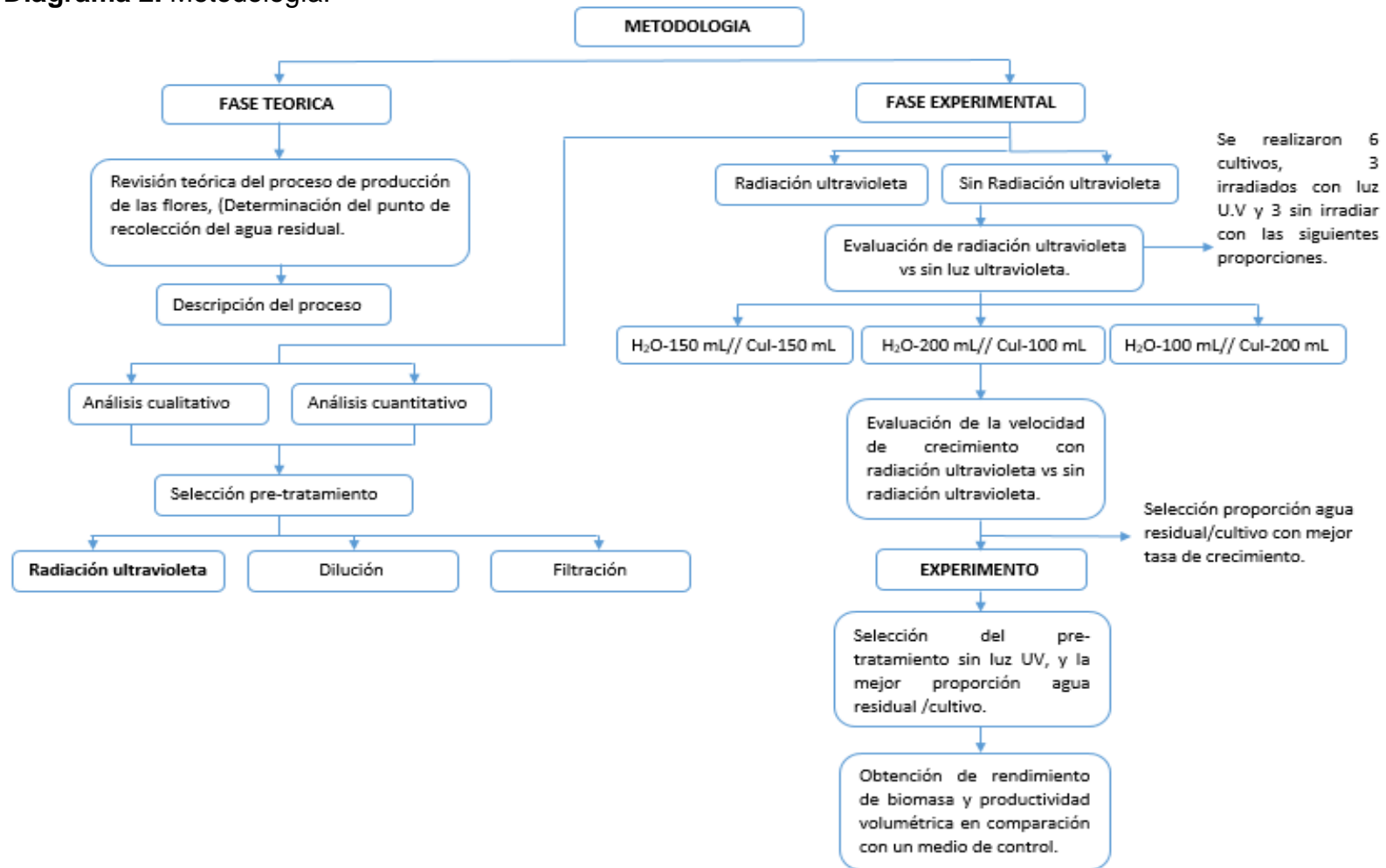
2. METODOLOGIA

El trabajo se desarrolló en dos partes, una parte teórica en donde se estudió el proceso de producción y se determinó el punto de recolección del agua residual, con base en las visitas realizadas a la empresa flores las Acacias.

Posteriormente, se realizó la fase experimental, en la que se estudiaron las características cualitativas y cuantitativas del agua residual, con el fin de seleccionar un tratamiento para el desarrollo de la fase pre-experimental y finalmente se seleccionó el pre-tratamiento adecuado para obtener el rendimiento y la productividad volumétrica de biomasa microalgal.

En el siguiente diagrama se aprecia la metodología del proyecto.

Diagrama 2. Metodología.



Fuente: Elaboración propia.

A continuación, se explica de manera detallada cada fase de la metodología

2.1 FASE TEORICA

En esta fase del proyecto se realizó una revisión teórica con respecto a las aguas residuales provenientes de la industria floricultora, más específicamente la cantidad de agua que se utiliza en el proceso de producción.

Ya teniendo claro lo anterior, se procedió a revisar en la bibliografía⁴⁸, el proceso en detalle de la producción de flores, así mismo la calidad, parámetros físicos, químicos y biológicos con la que esta agua es emitida al medio ambiente. Teniendo en cuenta estos parámetros se procede a estudiar los cultivos hidropónicos, realizados en esta finca.

2.2 FASE PRE-EXPERIMENTAL

La fase pre-experimental inició con la evaluación cualitativa y cuantitativa de las aguas residuales. Para ello, se revisó un reporte otorgado por el laboratorio de análisis de aguas del Grupo Chía, el cual registra las concentraciones de los compuestos presentes de los lixiviados de las aguas residuales, provenientes de la finca Las Acacias.

Se estudiaron aspectos cualitativos como el olor y la apariencia, con base en la teoría que se presenta en el libro de Ingeniería de aguas residuales, tratamiento, vertido y reutilización vol.I, del autor Metcalf & Eddy, ING. Según éste, el análisis cuantitativo se enfoca en estudiar parámetros como la densidad, composición, pH, caudal, (la composición y el pH son parámetros que se encuentran en el análisis entregado por la empresa). Basándose, en las características cualitativas y cuantitativas se seleccionó el pretratamiento.

El pre- experimento se realizó mediante un ANOVA de un factor por triplicado; para asegurar que el resultado obtenido no sea una coincidencia, cada repetición debe hacerse en las mismas condiciones para reducir la variabilidad en los resultados obtenidos. Posteriormente, se procede a evaluar la tasa intrínseca de crecimiento⁴⁹ en los cultivos para determinar los cambios en el crecimiento celular y no la cantidad de células generadas al final de la etapa de crecimiento.

El pretratamiento se realizó con el fin de mejorar la calidad del agua residual, para ello se evaluaron tres opciones de pretratamiento: filtración, dilución y radiación ultravioleta.

⁴⁸Cámara de comercio de Bogotá. Flores & Follajes. {En línea}. {2 de marzo 2018} disponible en: <https://www.ccb.org.co/content/download/13733/175129/.../1/.../Flore++Follajes.pdf>

⁴⁹ MURCIA, Leidy. PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS A PARTIR DE LA MICROALGA *Chlorella vulgaris* ENRIQUECIENDO EL MEDIO DE CULTIVO CON FUENTES DE NITRÓGENO. 2018. Trabajo de grado como Ingeniero químico. Fundación Universidad de América.

Para el proyecto se seleccionó la radiación con luz ultravioleta como pre- tratamiento y se descartó la filtración debido a que estas aguas residuales no presentan una gran cantidad de sólidos disueltos perceptibles al ojo humano; la dilución también se descartó debido a que se desea preservar una alta concentración de los compuestos en la muestra de agua residual tomada. El procedimiento realizado se explica a continuación.

2.2.1 Pre-tratamiento con radiación U.V. Para llevar a cabo el pre-tratamiento, se procedió a indagar en la literatura qué distancia y qué tiempo son los más adecuados para lograr una inactivación efectiva de los microorganismos, presentes en la muestra de agua residual. Se encontró que en un tiempo entre 5-15 minutos y a una distancia entre 5-30 centímetros se lograba una disminución en la cantidad de microorganismos⁵⁰. Para este caso se fijó un tiempo de 5 min (tiempo de irradiación que fue seleccionado por razones económicas) y a una distancia de 30 cm.

Se utilizó una lámpara UV-C de marca LUMEK. Estas lámparas germicidas emiten rayos ultravioletas de onda corta, en un rango de longitud de onda entre 100- 280 nm; la energía emitida por fotón está en un rango de 4,43-12,40 eV. Sus dimensiones son 45 cm de largo y 26 mm de diámetro, por último, cabe destacar que el tubo germicida maneja una potencia mínima de 15 W⁵¹.

Para el pre- experimento se irradiaron 450 mL de agua residual en un recipiente de plástico.

2.2.2 Cultivo sin radiación U.V. Para esta fase, únicamente se tomaron 450 mL del cultivo stock que se distribuyeron en tres proporciones, para evaluar el crecimiento de la microalga y con ello comparar el efecto que tenía la radiación ultravioleta, en las muestras que fueron irradiadas.

2.2.3 Preparación del inóculo. Para cada uno de los ensayos experimentales, el inóculo se preparó a partir de un cultivo stock con la cepa de microalga *Chlorella vulgaris*, el cual contiene una proporción de 0,2% V/V de Foliagro en un litro de agua destilada. La cantidad tomada para la preparación del inóculo fue de 450 mL de microalga.

⁵⁰ BORDA Ricardo Alberto, DURANGO DUMAS OVIEDO Mónica María, ROJAS Jesús María. "EFECTO DE LA EXPOSICIÓN A LA LUZ ULTRAVIOLETA UV-C EN LA VIABILIDAD DE ESPECIES DE ESCHERICHIA COLI Y SALMONELLA TYPHIMURIUM". {En línea}. {28 de enero 2018} disponible en: <http://repository.lasallista.edu.co:8080/ojs/index.php/jet/article/view/545>

⁵¹LUMEK. Tubo germicida. {En línea}. {01 de febrero 2018} disponible en: <http://www.ilumec.com/resources/tubo%20germicida.pdf>

2.2.4 Condiciones del cultivo. Los nutrientes necesarios para el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*, son aportados por el fertilizante agrícola (Foliagro) cuya composición se encuentra en el anexo C. Además, se agregó el agua residual proveniente de la industria floricultora, en diferentes volúmenes (100 mL, 150 mL y 200 mL), para cada uno de los ensayos, como fuente de sustrato para el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*.

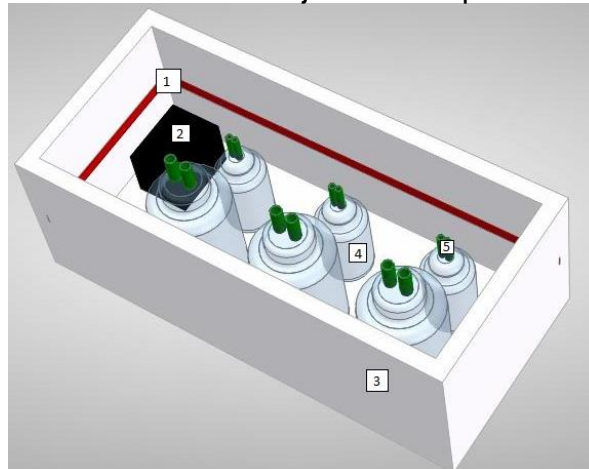
Todos los cultivos se ubicaron en una incubadora de 830 mm x 380 mm x 270 mm, la cual se puede apreciar en la ilustración 2. Para asegurar una adecuada agitación del cultivo se implementaron bombas de aire de la marca Shark (RS-610), estas bombas suministran un caudal de salida de 4 L/min, por medio de una manguera de referencia 3/16”.

La manguera se dispuso con el fin de proporcionar una entrada de aire al medio de cultivo. También se implementó un filtro de aire hecho con algodón, para permitir la desgasificación y controlar la contaminación causada por el ambiente en el que se encuentran los cultivos.

La iluminación fue proporcionada mediante una cinta LED 5050 roja, de la marca New Light de 12V y 14.4W de potencia. La luz roja se encuentra en un rango de longitud de onda entre 600-700 nm, este rango de luz artificial otorga un mayor aprovechamiento en el proceso de la fotosíntesis⁵².

Para los cultivos del caso estudio se manejó un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas de oscuridad, que se controló con un temporizador análogo de la marca Completel (TS-WU3).

Ilustración 2. Montaje utilizado para los medios de cultivo.



Fuente: Elaboración propia.

⁵²Luz y pigmentos fotosintéticos, {En línea}. {1 de febrero 2018} disponible en: <https://es.khanacademy.org/science/biology/photosynthesis-in-plants/the-light-dependent-reactions-of-photosynthesis/a/light-and-photosynthetic-pigments>

En el cuadro 2 se especifican cada uno de los elementos que se encuentran en la ilustración anterior.

Cuadro 2. Elementos del montaje.

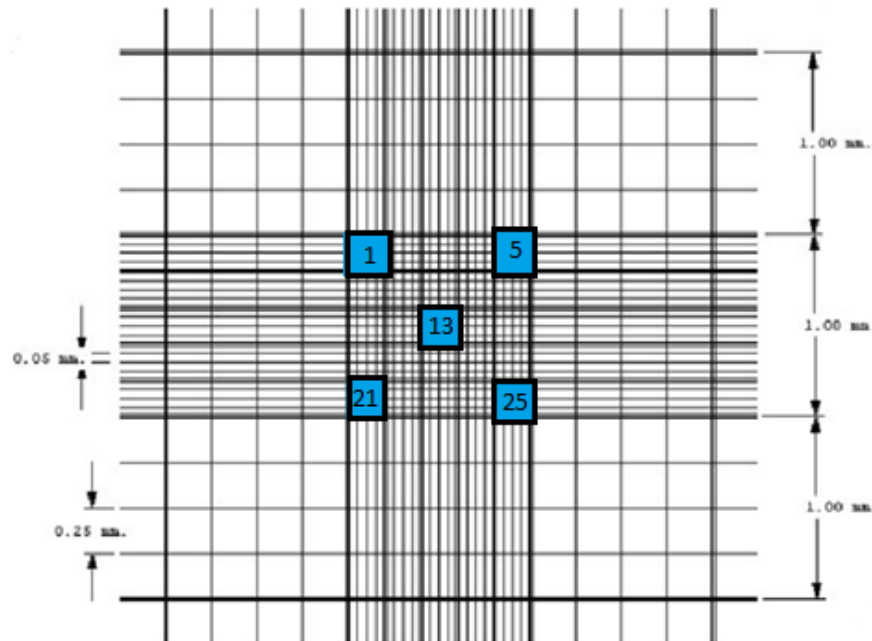
Elementos del montaje	
1	Cinta LED roja
2	Bomba Shark
3	Nevera de icopor
4	Recipientes de vidrio
5	Manguera de plástico de tres dieciseisavos

Fuente: Elaboración propia.

2.2.5 Seguimiento y conteo celular. El seguimiento al crecimiento celular en el cultivo, se hizo mediante el método de recuento, en la cámara de Neubauer. Para llevar a cabo este procedimiento se utilizó una micropipeta, que permite depositar una pequeña muestra entre la cámara de Neubauer y el cubreobjetos. Luego se lleva a un microscopio de marca OPTIKA ITALY B-150.

La cámara de Neubauer permite identificar el número de células en una unidad de volumen (cel/mL). En conteo se realiza con el lente 10X, contando únicamente en los cuadrantes 1, 5, 13, 21 y 25, solo aquellas células que se encuentren dentro del cuadro, y no las que estén sobre la línea.

Ilustración 3. Cámara de Neubauer



AUTOR: CELEROMICS, Conteo Celular con Hematocitómetro {En línea}. {15 de febrero 2018} disponible en: <http://www.celeromics.com/es/resources/Technical%20Notes/Como-contar-celulas-con-camara-de-Neubauer-Paso1.php>

La concentración celular se halló mediante la siguiente ecuación:

Ecuación 3. Concentración (Cél /ml).

$$\text{Concentración}^{53} \left(\frac{\text{Cél}}{\text{ml}} \right) = \# \text{Células totales en cinco cuadrantes} * \text{Factor Dilución} * 50.000$$

El conteo celular se realizó durante 7 días. Se graficó la concentración (Cél /ml) versus los días de conteo de igual manera también se halló la tasa de crecimiento con la ecuación 1.

2.2.6 Pre-experimento. Se evaluó la influencia de la radiación ultravioleta, utilizando como sustrato el agua residual proveniente de la industria floricultura, para tres proporciones (agua residual/cultivo) con el fin de saber cuál proporción daba un mayor crecimiento celular, mediante la velocidad específica de crecimiento (μ).

Se mantuvo un volumen de 300 mL para toda la pre-experimentación, la cual se desarrolló en recipientes de vidrio, en la tabla 4 se pueden apreciar las relaciones que se utilizaron para el desarrollo del pre-experimento; se tomó un total de 450 ml del cultivo stock, es decir del inóculo, el cual se encuentra en el laboratorio.

Tabla 4. Proporción agua residual/ Cultivo.

Agua residual (mL)	Cultivo (mL)	Proporción
100	200	1:2
150	150	1:1
200	100	2:1

Fuente: Elaboración propia.

2.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El diseño de experimentos se realizó mediante un ANOVA de un factor, que analiza si una variable difiere entre los niveles⁵⁴. Mediante este análisis de varianza se determinará si la concentración de agua residual tiene influencia en la variable respuesta, que en este caso será la tasa de crecimiento. Teniendo en cuenta esto, se plantearon las siguientes hipótesis:

⁵³ CELEROMICS, Conteo Celular con Hematocitómetro {En línea}. {15 de febrero 2018} disponible en: <http://www.celeromics.com/es/resources/Technical%20Notes/Como-contar-celulas-con-camara-de-Neubauer-Paso1.php>

⁵⁴ CARDENAS, Julian. "ANOVA de un factor". {En línea}. {1 de marzo 2018} disponible en: <http://networkianos.com/anova-de-un-factor-que-es-como-analizar/>.

H_0 : no hay efecto en la concentración de agua residual, sobre la variable respuesta.

H_1 : existe influencia en la concentración de agua residual, sobre la variable respuesta.

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$$
$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5$$

Mediante las siguientes ecuaciones, se calculan todos los parámetros que permiten realizar el análisis ANOVA de un factor:

- **Suma de cuadrados entre tratamientos (SCE):**

Ecuación 4: SCE

$$SCE = \sum_{j=1}^p y_i (\bar{X}_i - \bar{\bar{X}}_{Total})^2$$

En donde:

y_i = Número de tratamientos por nivel.

\bar{X}_i = Promedio de los tratamientos por cada nivel.

$\bar{\bar{X}}_{Total}$ = Promedio entre todos los tratamientos realizados.

- **Suma de cuadrados dentro de tratamientos (SCD):**

Ecuación 5: SCD.

$$SCD = \sum_{j=1}^p (X_i - \bar{X}_i)^2$$

En donde:

X_i = Valor de cada tratamiento en el nivel i .

\bar{X}_i = Promedio de los tratamientos del nivel i .

- **Suma de cuadrados totales (SCT):**

Ecuación 6: SCT.

$$SCT = \sum_{j=1}^p (X_i - \bar{\bar{X}}_{Total})^2$$

En donde:

X_i = Valor de cada tratamiento.

$\bar{\bar{X}}_{Total}$ = Promedio entre todos los tratamientos realizados.

- **Grados de libertad**

$$k - 1$$

$$n - k$$

$$n - 1$$

En donde:

k: número de niveles de la muestra

n: número total de tratamientos

2.4 EXPERIMENTO

El experimento se pudo llevar a cabo mediante 3 fases, que son la recolección del agua residual en la empresa Flores Las Acacias, después el tratamiento seleccionado y finalmente el crecimiento de las microalgas.

2.4.1 Recolección del agua residual. Para iniciar el proyecto se toma una muestra de los lixiviados provenientes de los cultivos hidropónicos de la rosa *freedom*, de la empresa Flores Las Acacias S.A.S ubicada en Madrid, Cundinamarca.

Para iniciar el proyecto se toma una muestra de los lixiviados provenientes de los cultivos hidropónicos de la rosa *freedom*, de la empresa Flores Las Acacias S.A.S ubicada en Madrid, Cundinamarca.

Estas aguas se captan mediante una serie de tubos interconectados que provienen de cada uno de los recipientes, en donde se encuentra el cultivo de rosas, este montaje cuenta con una leve inclinación de 5 grados, la cual, permite recolectar el agua en un pozo. Este pozo de lixiviados contiene los nutrientes que no han sido aprovechados por la flor.

En el proceso en general, se hace una recolección de los lixiviados en cada lote, que son llevados a un reservorio para su disposición final (Ilustración 3). La recolección del agua residual se realiza bajo el protocolo de tomas de aguas residuales de Ideam, el cual se encuentra en el anexo B

Ilustración 4. Pozo de Lixiviados



Fuente: Elaboración propia.

En el anexo G, se presenta el plano de la finca Las Acacias donde se puede observar la distribución en lotes de los cultivos y así mismo los reservorios con los que cuenta esta empresa para depositar los lixiviados.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el pre-experimento, se procede a escalar la relación de agua residual/cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris*, que ofrece mejores resultados en la tasa de crecimiento de la microalga; y que posteriormente se compara con un ensayo control.

Finalmente se evalúa el peso seco, rendimiento de biomasa y productividad volumétrica.

2.4.2 Peso seco y productividad volumétrica. Para estos cálculos se empleó el protocolo que se encuentra en el libro, métodos y herramientas analíticas en la evaluación de Biomasa microalgal.⁵⁵

⁵⁵ DOMENICO V. & ARREDONDO, V. Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Capítulo 3: Determinación de peso seco y contenido orgánico e inorgánico. CIBNOR. México.

Para obtener el peso seco, se deben dejar sin agitación los cultivos por tres días, con el fin de que se sedimente la biomasa; pasados estos días, se debe retirar el sobrenadante del cultivo; finalmente, se debe depositar el sedimento en unos recipientes de aluminio para realizar el secado. El secado se realizó en una estufa de marca NABERTHERM-TR120 por 24 horas a una temperatura de 60° C. Se siguen las siguientes ecuaciones para determinar el peso seco y la productividad volumétrica.

$$PST \left(\frac{mg}{mL} \right) = \frac{(PSFM-PSF)}{VF} \text{ Ecuación 7}$$

En donde:

PST: peso total seco.
PSFM: peso filtro con muestra.
PSF: peso filtro sin muestra
VF: volumen de muestra filtrado

$$Productividad = \frac{PST}{V_c * t(\text{días})} \text{ Ecuación 8}$$

En donde:

PST: peso seco de la biomasa.
Vc: volumen total de cultivo.
t: tiempo del cultivo en días.

2.4.3 Costos implicados para la elaboración del proyecto

En el análisis de costos se tuvieron en cuenta aquellos costos operativos que estuvieron implicados en la producción de biomasa microalgal a partir de las aguas residuales provenientes de la industria floricultora, para ello se contabilizaron los costos unitarios de cada operación. Cabe resaltar que para este análisis no se incluyeron los gastos que corresponden al transporte.

3. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

3.1 ANALISIS CUALITATIVO DEL AGUA RESIDUAL

La composición y la concentración final de las aguas residuales provenientes de la industria floricultora dependen de la cantidad de compuestos que no han sido aprovechados en su totalidad por el cultivo; de tal forma, el residuo se puede clasificar como fuerte, medio, o diluido y dicha concentración puede variar semanalmente.

Así mismo la composición y concentración inicial están asociadas a la solución hidropónica preparada por el ingeniero a cargo.

La muestra de agua se recolectó en el proceso de fertilización, esta agua residual tiene un color amarillo claro; adicional a esto, la muestra no presenta gran cantidad de sólidos perceptibles al ojo humano.

3.2 ANALISIS CUANTITATIVO

Para realizar el análisis cuantitativo, la toma de muestra del agua residual se hace bajo el protocolo regulado por el Instituto de Hidrología, meteorología y estudios ambientales del Ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial, el cual se encuentra de manera detallada en el anexo B. Para la toma de la muestra de agua residual, se utilizó un recipiente de un galón, y por medio de un embudo se procedió a recolectar el agua residual, proveniente de los lixiviados del cultivo hidropónico, la muestra de agua residual tomada corresponde al cultivo de la rosa *freedom*, de la empresa Flores las Acacias S.A.S.

- **Densidad:** la muestra de agua recolectada tiene una densidad de: 1.002 g/ml , se halló mediante un picnómetro de 25 mL, reemplazando en la ecuación 2 se obtiene el siguiente resultado:

$$\rho_d = \frac{45.54 - 20.14}{45.47 - 20.14} \times 1 = 1.002 \text{ g/ml}$$

- **Caudal:** al día la empresa, flores Las acacias, utiliza 795 litros de agua por sector, dato suministrado por el ingeniero a cargo del cultivo.

$$795 \text{ L al día} \times 4 \text{ sectores} * \frac{1 \text{ día}}{24 \text{ horas}} * \frac{1 \text{ hora}}{60 \text{ min}} = 2,208 \text{ L/min}$$

Lo que significa que al día alrededor de 3180 litros de agua son utilizadas para regar las flores y los cultivos hidropónicos. Estos terminan en el pozo de lixiviados, es la oportunidad de utilizar esta gran masa de agua, como sustrato para la producción de biomasa microalgal.

- **Composición:** en la tabla 5 se puede apreciar la concentración en mg/L de los lixiviados, del cultivo hidropónico, otorgado por el laboratorio del análisis del grupo Chía. El análisis completo se encuentra en el anexo A.

Tabla 5. Composición de los lixiviados.

Resultados análisis de los lixiviados del agua residual					
CATIONES	CONCENTRACIÓN mg/L	ANIONES	CONCENTRACIÓN mg/L	ELEMENTOS MENORES ppm	CONCENTRACIÓN mg/L
NH ₄	3,22	SO ₄ ⁼	206,88	P	293,88
Ca ⁺⁺	110	Cl ⁻	80	Fe	35,154
Mg ⁺⁺	56,98	NO ₃ ⁻	200,6	Mn	103,74
K ⁺	68,64	CO ₃ ⁼	0	Cu	26,3525
Na ⁺	97,06	HCO ₃ ⁻	9,2	Zn	63,44

Fuente: Elaboración propia.

Los valores permisibles, que rigen para este tipo de aguas residuales, se encuentran en la resolución 0631 de 2015⁵⁶.

Tabla 6. Composición en mg/L

CATIONES	Concentración mg/L	NORMA mg/L
NH ₄	3,22	Análisis y Reporte
Ca ⁺⁺	110	Análisis y Reporte
Mg ⁺⁺	56,98	Análisis y Reporte
K ⁺	68,64	Análisis y Reporte
Na ⁺	97,06	Análisis y Reporte
ANIONES		
SO ₄ ⁼	206,88	250
Cl ⁻	80	250
NO ₃ ⁻	200,6	Análisis y Reporte
CO ₃ ⁼	0	Análisis y Reporte
HCO ₃ ⁻	9,2	Análisis y Reporte

⁵⁶ DE AMBIENTE Y DESARROLLO. RESOLUCION 0631 DE 2015. Pág. 26. {En línea}. {1 de abril 2018} disponible en: http://www.cortolima.gov.co/sites/default/files/images/stories/Resolucion_Vertimientos_631_2015.pdf.

Tabla 6. Continuación

ELEMENTOS MENORES		
ppm		
P	293,88	Análisis y Reporte
Fe	35,154	1
Mn	103,74	Análisis y Reporte
Cu	26,3525	1
Zn	63,44	3
B	1,22	Análisis y Reporte

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 6, se evidencian los valores de los compuestos presentes en el agua residual proveniente de la industria floricultora, en mg /L. Estas son las unidades en la cual se basa la norma para establecer los valores máximos permisibles de estos compuestos en un agua residual. Para el caso de la industria floricultora, aplica el artículo 15 de la resolución 0631 del 2015 mediante el cual se establecen algunos rangos de valores en cuanto la composición en mg /L de los compuestos presentes en el agua residual.

- **pH:** el pH óptimo para el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* se encuentra en un rango de 7-9, pero, estudios han demostrado que, a pH extremos de acidificación y alcalinización en el medio de cultivo, incrementan la producción de calor y tasas de crecimiento⁵⁷. Los análisis reportan un pH de 6,49, el cual se encuentra en el rango óptimo para el crecimiento de la microalga.

3.3 RESULTADOS PRE-EXPERIMENTO

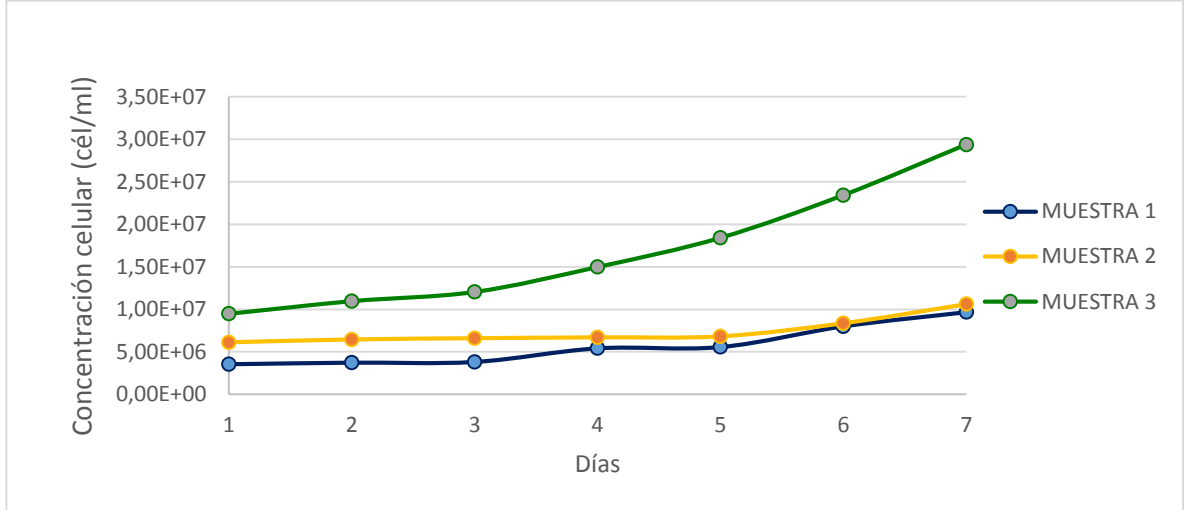
A continuación, se encuentra los resultados del pre-experimento tanto a muestras con radiación ultravioleta como muestras sin radiación ultravioleta, también se encuentra las curvas de crecimiento microalgal para cada una de las muestras y sus debidas velocidades específicas de crecimiento.

3.3.1 Muestra sin radiación ultravioleta. La muestra de agua residual que no fue irradiada con luz ultravioleta presenta las siguientes curvas de crecimiento.

3.3.1.1 Curvas de crecimiento. A continuación, se presentan las curvas de crecimiento obtenidas por la microalga *Chlorella vulgaris*, utilizando como sustrato el agua residual proveniente de la industria floricultora, sin irradiación ultravioleta.

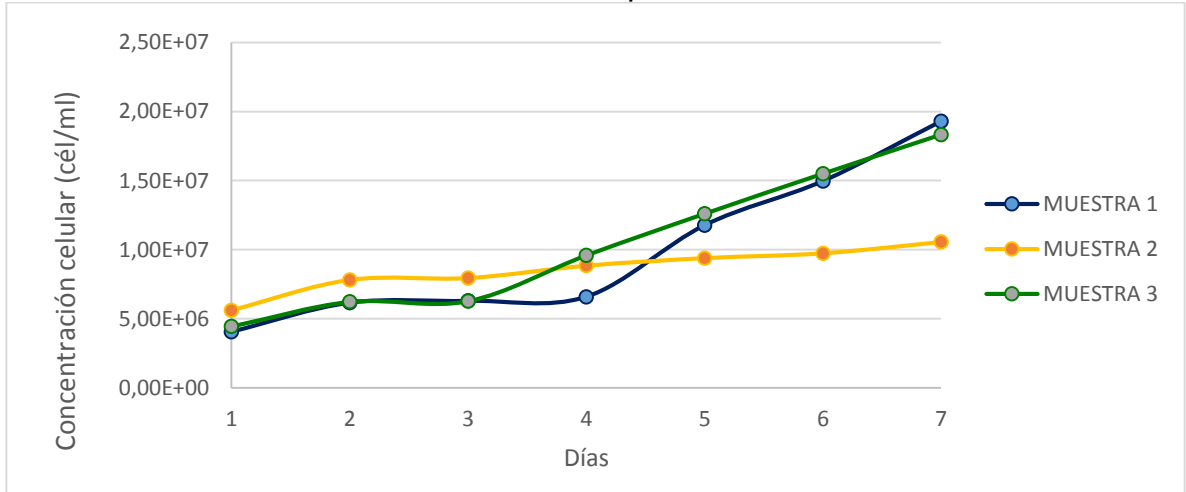
⁵⁷BENAVETE J.R. MONTAÑEZ J.C. AGUILAR C.N. ZAVALA A. Tecnología de cultivo de microalgas en fotobiorreactores. {En línea}. {28 de enero 2018} disponible en: <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%207/4.html>

Gráfica 2: Curvas de crecimiento sin U.V repetición 1.



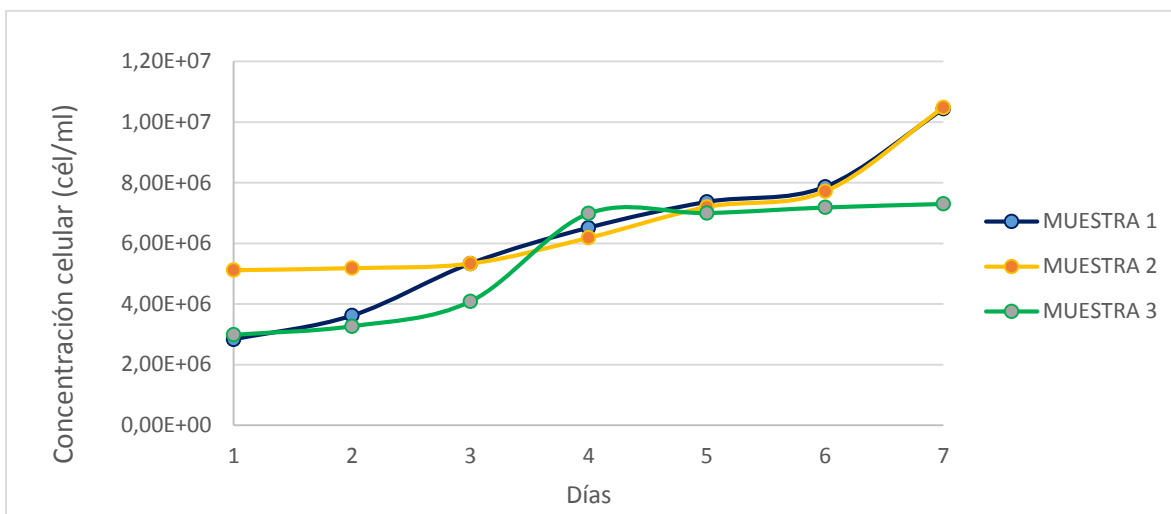
Fuente: Elaboración propia.

Gráfica 3: Curvas de crecimiento sin U.V repetición 2.



Fuente: Elaboración propia.

Gráfica 4. Curvas de crecimiento sin U.V repetición 3.



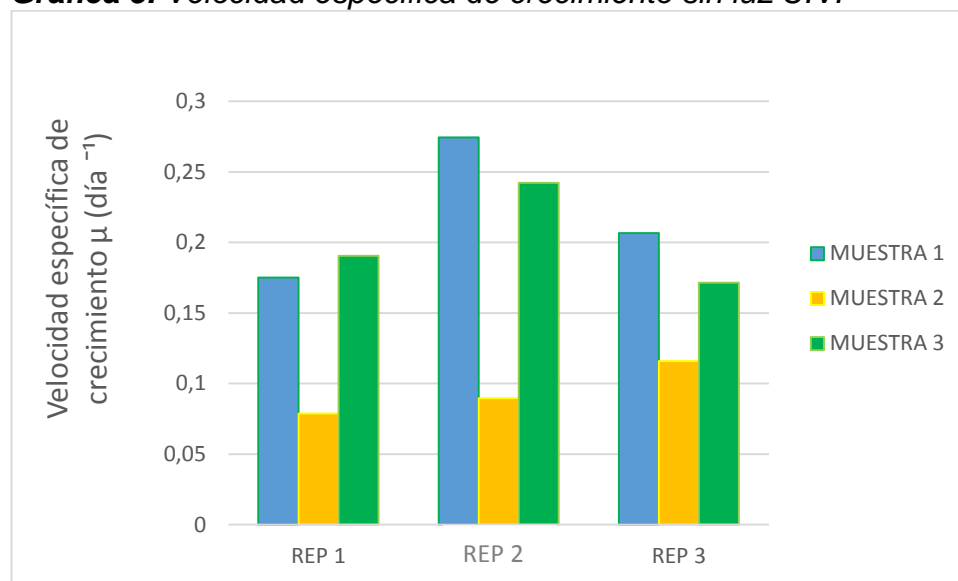
Fuente: Elaboración propia.

Como se puede evidenciar en las gráficas anteriores, la muestra número 1 (H_2O -200 mL// Cul-100 mL), presenta una curva de crecimiento, donde se evidencia una fase de adaptación de la microalga, obteniendo una mayor concentración celular en la réplica 2 y 3, esto da a entender que, el agua residual tiene un alto contenido de nutrientes que son aprovechados por la microalga.

Las curvas de crecimiento se generaron a partir del conteo celular que se realizó durante 7 días; todos los cultivos presentaron cambio en la coloración, de verde claro a verde oscuro, esto indica que las microalgas se han adaptado y asimilado los nutrientes presentes en el agua residual proveniente de los cultivos hidropónicos, incrementando así su concentración celular.

Finalmente, se calculó la tasa de crecimiento para determinar cuál de las proporciones agua residual/ cultivo, favorece el crecimiento de la microalga. En la gráfica 5 se puede apreciar la tasa de crecimiento para cada una de las muestras con su respectiva repetición.

Gráfica 5. Velocidad específica de crecimiento sin luz U.V.



Fuente: Elaboración propia.

Se evidencia una mayor tasa de crecimiento para la muestra 1 (H₂O-200 mL //Cul-100 mL), en la repetición dos y tres, mientras que la tasa de crecimiento para la muestra 2 fue menor en todas las repeticiones, en cuanto a la muestra tres, se obtuvo una mayor tasa de crecimiento en la repetición uno.

El crecimiento de la muestra 2 (H₂O-150 mL//Cul-150 mL) y la muestra 3 (H₂O-100 mL//Cul-200 mL), se puede ver influenciado por la cantidad de nutrientes, ya que en estas dos muestras la proporción de agua residual es menor, reduciendo así la cantidad de nutrientes presentes.

Tabla 7. Tasa de crecimiento sin U.V.

	REP 1		REP 2		REP 3	
	μ (día ⁻¹)	R ²	μ (día ⁻¹)	R ²	μ(día ⁻¹)	R ²
MUESTRA 1	0,1752	0,9299	0,2745	0,9409	0,2067	0,9559
MUESTRA 2	0,0788	0,7649	0,0897	0,8607	0,1254	0,9006
MUESTRA 3	0,1906	0,9835	0,2423	0,9775	0,1865	0,8412

Fuente: Elaboración propia.

A continuación, se muestra el análisis estadístico realizado para esta fase:

Tabla 8. Datos del análisis estadístico sin U.V.

	H2O-200mL// Cul-100mL	H2O-150mL// Cul-150mL	H2O-100mL// Cul-200mL
Repetición 1	0,1752 (día ⁻¹)	0,0788(día ⁻¹)	0,1906(día ⁻¹)
Repetición 2	0,2632(día ⁻¹)	0,0897(día ⁻¹)	0,2423(día ⁻¹)
Repetición 3	0,2067(día ⁻¹)	0,116(día ⁻¹)	0,1714(día ⁻¹)
\bar{X}	0,21503	0,09483	0,20143
S^2	0,00199	0,00037	0,00134
S	0,04459	0,01912	0,03667

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 8 se aprecian los datos que se tuvieron en cuenta para realizar el análisis estadístico; este análisis se realizó tomando la tasa intrínseca de crecimiento, el promedio total y la varianza. Para los tres tratamientos evaluados, se aplicó un ANOVA de un factor para determinar si la variación en la proporción de agua residual/ cultivo (inóculo), afecta la variable respuesta, es decir, la tasa de crecimiento.

Tabla 9. Análisis de varianza sin U.V

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Entre grupos (SCE)	0,0260	2,0000	0,0130	10,5433	3,4633
Dentro de los grupos (SCD)	0,0074	6,0000	0,0012		
Total (SCT)	0,0334	8,0000			

Fuente: Elaboración propia.

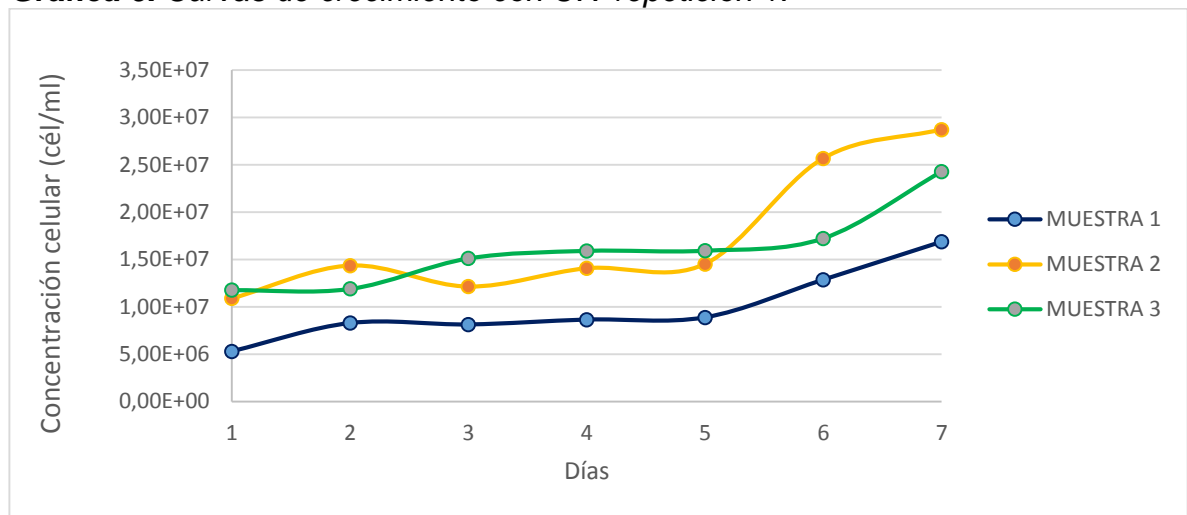
Para el análisis de varianza se tuvieron en cuenta los datos de la tabla 9. Este análisis se realizó bajo un nivel de significancia de α 0,1, se utilizó la tabla A.6 del libro de Diseño estadístico de experimentos⁵⁸, para encontrar el valor de F, arrojando un valor de 3,46, mientras que el valor calculado de F arrojó un valor de 10,54, dando como resultado el rechazo de la hipótesis nula (Ho), y demostrando que el cambio en la proporción de agua residual / microalga, influye en la variable respuesta que este caso corresponde a la velocidad específica de crecimiento.

⁵⁸ DIAZ, Abel. "Diseño estadístico de experimentos". 2ed.U. de Antioquia. 2009. 286 p.

3.3.2 Muestra con radiación ultravioleta. La muestra de agua residual que fue irradiada con luz ultravioleta presenta las siguientes curvas de crecimiento.

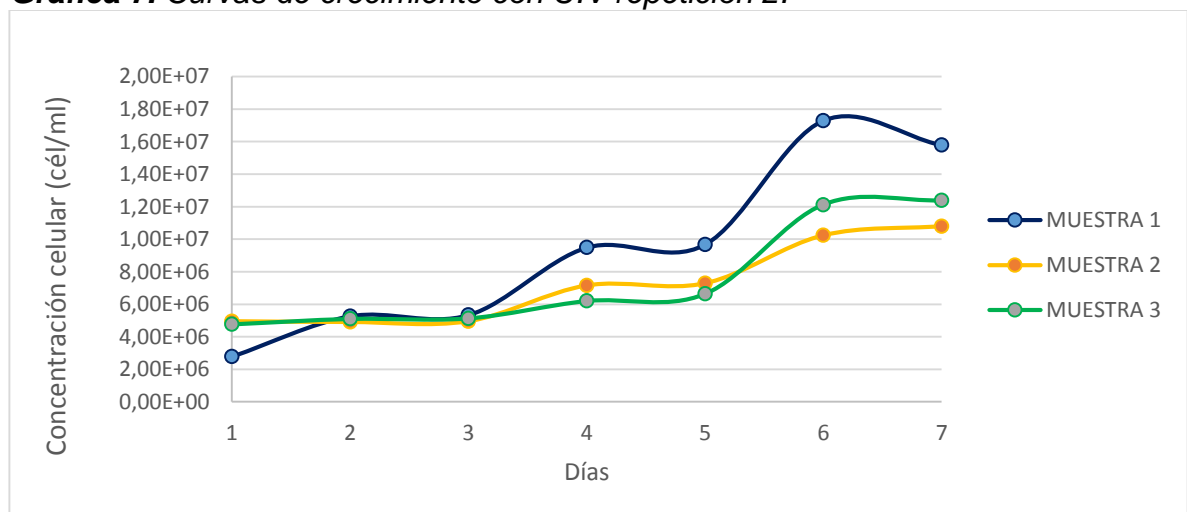
3.3.2.1 Curvas de crecimiento. A continuación, se presentan las curvas de crecimiento obtenidas por la microalga *Chlorella vulgaris*, utilizando como sustrato el agua residual proveniente de la industria floricultora, irradiada con luz ultravioleta, las muestras de agua residual se irradiaron por un tiempo de 5 min a una distancia de 30 cm.

Gráfica 6. Curvas de crecimiento con U.V repetición 1.



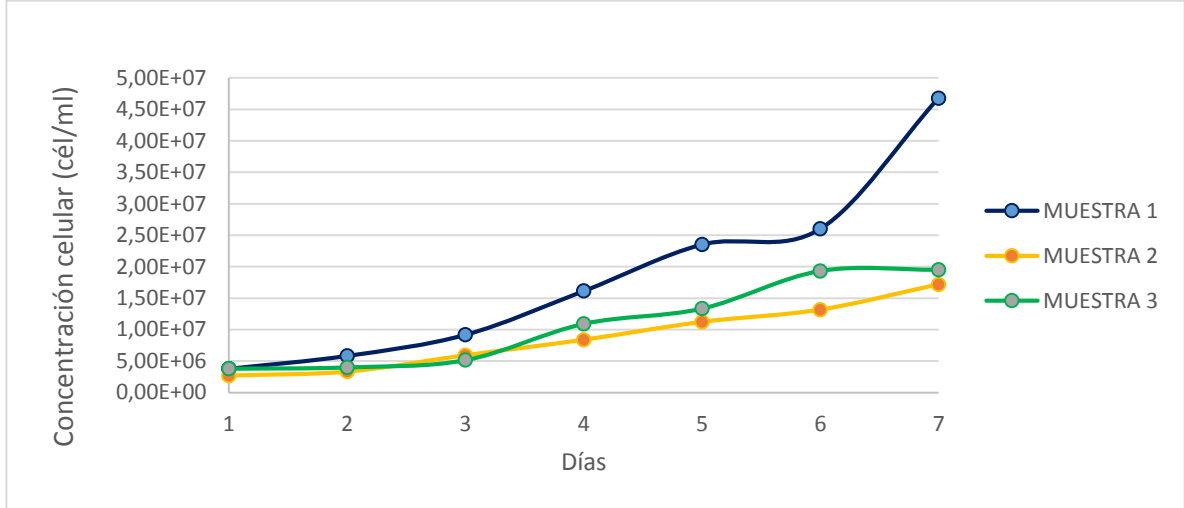
Fuente: Elaboración propia.

Gráfica 7. Curvas de crecimiento con U.V repetición 2.



Fuente: Elaboración propia.

Gráfica 8. Curvas de crecimiento con U.V repetición 3.

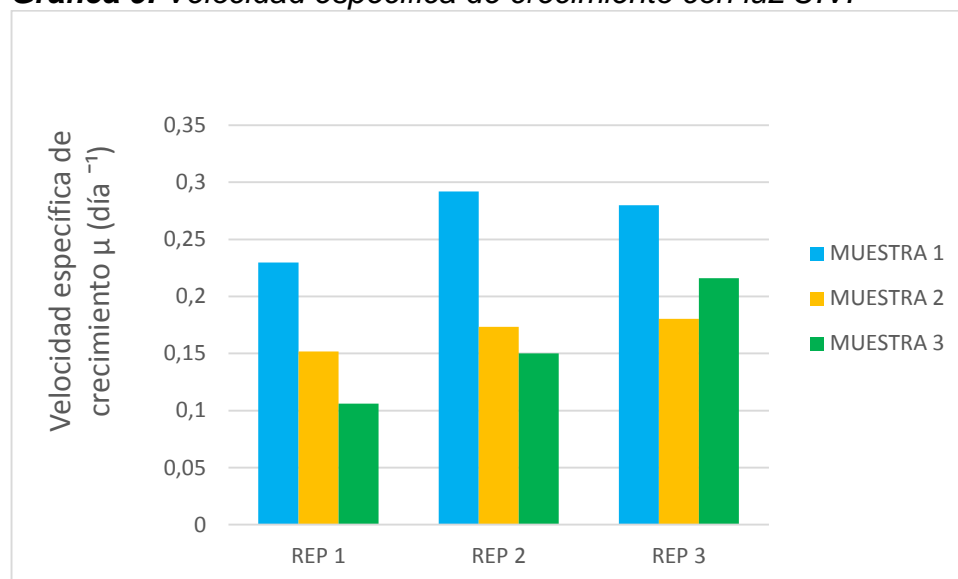


Fuente: Elaboración propia.

Como se puede evidenciar en las gráficas anteriores, se presentan las curvas de crecimiento, en la cual se puede observar una fase de adaptación de las microalgas, obteniendo una mayor concentración celular de la muestra número 1 (H₂O-200 mL// Cul-100 mL), en la réplica 2 y 3, esto da a entender que, el agua residual tiene un alto contenido de nutrientes los cuales son aprovechados por la microalga, mientras que la muestra número 3 (H₂O-100 mL// Cul-200mL), al contener una mayor cantidad de cultivo, la cantidad de nutrientes presentes en el agua residual no sule con las necesidades de crecimiento para esta muestra, esto se puede apreciar en las gráficas 6, 7 y 8 donde se evidencia que para la muestra tres la concentración celular fue menor.

De la misma manera que en el caso en donde no se irradiaron las muestras con luz ultravioleta, se procede a analizar el parámetro de la tasa de crecimiento (μ) y determinar cuál de las muestras en relación a la proporción agua residual/ cultivo favorece el crecimiento de la microalga.

Gráfica 9. Velocidad específica de crecimiento con luz U.V.



Fuente: Elaboración propia.

Tabla 10. Promedio de la velocidad de crecimiento (μ) con U.V.

	REP 1		REP 2		REP 3	
	μ (día ⁻¹)	R ²	μ (día ⁻¹)	R ²	μ (día ⁻¹)	R ²
MUESTRA 1	0,2297	0,8945	0,292	0,9282	0,2798	0,9832
MUESTRA 2	0,1517	0,8748	0,1613	0,8511	0,1805	0,9401
MUESTRA 3	0,106	0,8722	0,15	0,9083	0,2111	0,9728

Fuente: Elaboración propia.

La tasa de crecimiento, para las muestras que fueron irradiadas con luz ultravioleta, se evidencia un mayor crecimiento para la muestra 1 (H₂O-200 mL// Cul-100 mL), el crecimiento de la muestra 2 y la muestra 3 se puede ver influenciado por la cantidad de nutrientes, ya que en estas dos muestras la proporción de agua residual es menor, reduciendo así la cantidad de nutrientes presentes. A continuación, se muestra el análisis estadístico realizado para esta fase:

Tabla 11. Datos del análisis estadístico con U.V

	H ₂ O-200 mL// Cul-100mL	H ₂ O-150 mL// Cul-150 mL	H ₂ O-100 mL// Cul-200mL
Repetición 1	0,2297(día ⁻¹)	0,1517(día ⁻¹)	0,106(día ⁻¹)
Repetición 2	0,2928(día ⁻¹)	0,1733(día ⁻¹)	0,1534(día ⁻¹)
Repetición 3	0,2798(día ⁻¹)	0,1805(día ⁻¹)	0,216(día ⁻¹)
\bar{X}	0,26743	0,16850(día ⁻¹)	0,15847
S ²	0,00111	0,00022	0,00304
S	0,03332	0,01499	0,05517

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 11 se aprecian los datos que se tuvieron en cuenta para llevar a cabo el análisis estadístico, este análisis se realizó tomando la tasa intrínseca de crecimiento, el promedio total y la varianza, para los tres tratamientos evaluados, se elaboró el análisis mediante un ANOVA de un factor para determinar si la variación en la proporción de agua residual/ cultivo (inóculo), afecta la variable respuesta, es decir, la tasa de crecimiento.

Tabla 12. Análisis de varianza con U.V

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Entre grupos (SCE)	0,02177	2	0,01088	7,454	3,4633
Dentro de los grupos (SCD)	0,00893	6	0,00145		
Total (SCT)	0,03050	8			

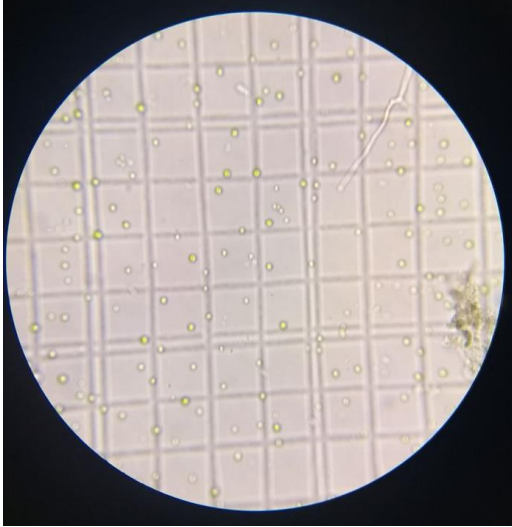
Fuente: Elaboración propia.

Para el análisis de varianza de la muestra con irradiación ultravioleta, se tuvieron en cuenta los datos de la tabla 12, este análisis se realizó bajo un nivel de significancia de α 0,1, se utilizó la tabla A.6 del libro de Diseño estadístico de experimentos⁵⁹, para encontrar el valor de F, arrojando un valor de 3,46, mientras que el valor calculado de F arrojó un valor de 7,45, dando como resultado el rechazo de la hipótesis nula (H₀), y demostrando que el cambio en la proporción de agua residual / microalga, influye en la variable respuesta que este caso corresponde a la velocidad específica de crecimiento.

A pesar de que la muestra fue irradiada con luz ultravioleta su crecimiento no se vio influenciado por este factor.

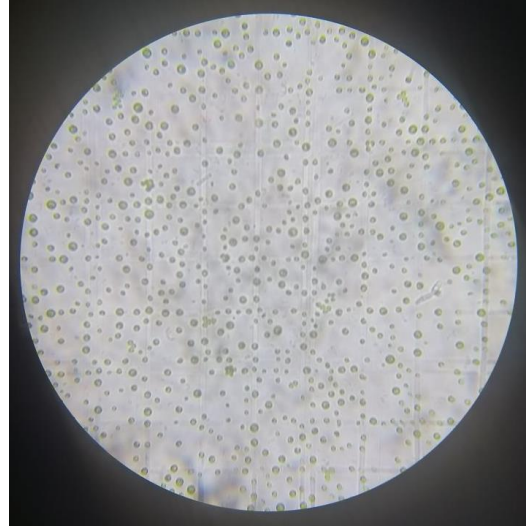
⁵⁹ DIAZ, Abel. "Diseño estadístico de experimentos". 2ed.U. de Antioquia. 2009. 286 p.

Ilustración 5. Conteo día 1



Fuente: Elaboración propia.

Ilustración 6. Conteo día 7



Fuente: Elaboración propia.

La ilustración 5 y 6 corresponden al día 1 y día 7 de conteo para la muestra que contiene 200 mL de agua residual y 100 mL de medio de cultivo (sin irradiar) de la repetición número dos.

3.3.3 Influencia de la radiación ultravioleta

Se llevó a cabo un análisis para determinar si al irradiar el agua residual con luz ultravioleta, este factor influía en el crecimiento de las microalgas, para ello se plantearon las siguientes hipótesis:

H_0 : no hay efecto al irradiar las muestras con luz U.V, sobre la variable respuesta.

H_1 : existe influencia al irradiar las muestras con luz U.V, sobre la variable respuesta.

Se realizó el análisis estadístico mediante un ANOVA de un factor para determinar si la radiación ultravioleta, afecta la variable respuesta, es decir, la tasa de crecimiento. En la tabla 13 se aprecian los datos que se tuvieron en cuenta para realizar el análisis estadístico, este análisis se elaboró tomando la tasa intrínseca de crecimiento, el promedio total y la varianza, para los tres tratamientos evaluados.

Tabla 13. Datos análisis estadístico U.V vs sin U.V.

	H2O-200 mL// Cul-100mL	H2O-150mL// Cul-150mL	H2O-100mL// Cul-200mL
Sin U.V	0,6359 (día ⁻¹)	0,2791(día ⁻¹)	0,6153(día ⁻¹)
Con U.V	0,8895 (día ⁻¹)	0,6172(día ⁻¹)	0,5887(día ⁻¹)
\bar{x}	0,7627	0,4481(día ⁻¹)	0,6020(día ⁻¹)
s^2	0,0321	0,0571	0,0004
s	0,1793	0,2390	0,0188

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 14. Análisis de varianza U.V vs sin U.V.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F
Entre grupos (SCE)	0,09897	2,00000	0,04948	1,65612	5,4623
Dentro de los grupos (SCD)	0,08964	3,00000	0,02988		
Total (SCT)	0,18861	5,00000			

Fuente: Elaboración propia.

De la misma manera que en los casos anteriores, con un nivel de significancia de α 0,1, se utilizó la tabla A.6 del libro de Diseño estadístico de experimentos⁶⁰, para encontrar el valor de F, arrojando un valor de 5,46, mientras que el valor calculado de F arrojó un valor de 1,65, dando como resultado la aceptación de la hipótesis nula (H_0), y demostrando que al irradiar la muestra de agua residual con luz ultravioleta, no se ve afectada la variable respuesta que este caso corresponde a la velocidad específica de crecimiento, estos resultados se evidencian en la tabla 13 y 14.

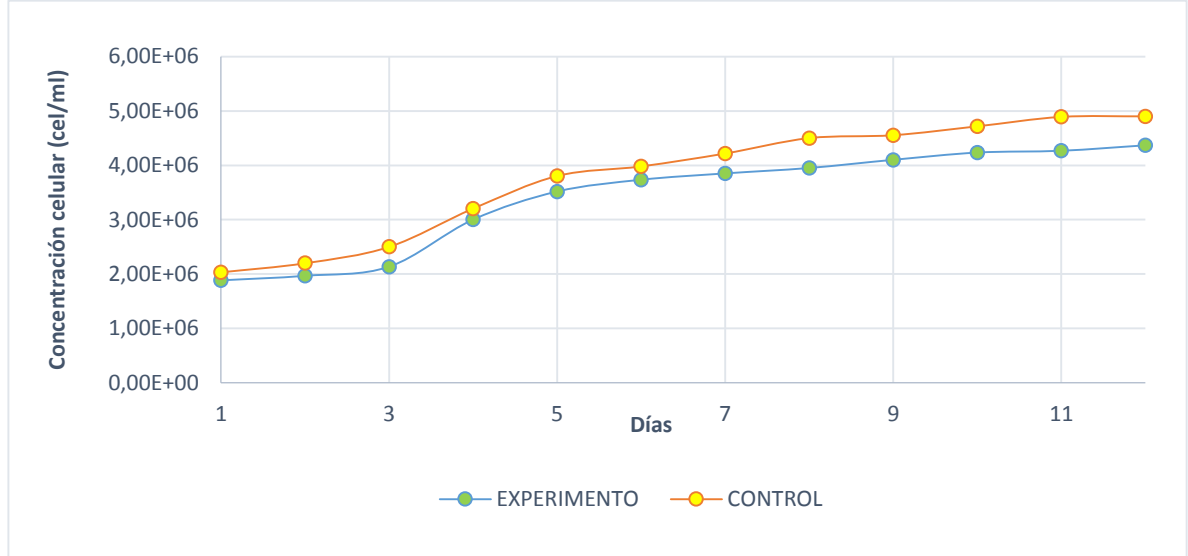
En el anexo D se presentan las concentraciones celulares que se tuvieron en cuenta para realizar las curvas de crecimiento.

3.4 RESULTADOS DEL EXPERIMENTO

Para llevar a cabo el experimento se realizó el escalamiento del cultivo a una proporción 2:1 (2000 mL de agua residual/ 1000 mL de medio de cultivo), para un total de 3L, a continuación, se muestran las curvas de crecimiento para la microalga *Chlorella vulgaris* y de la misma manera se compara con un medio control.

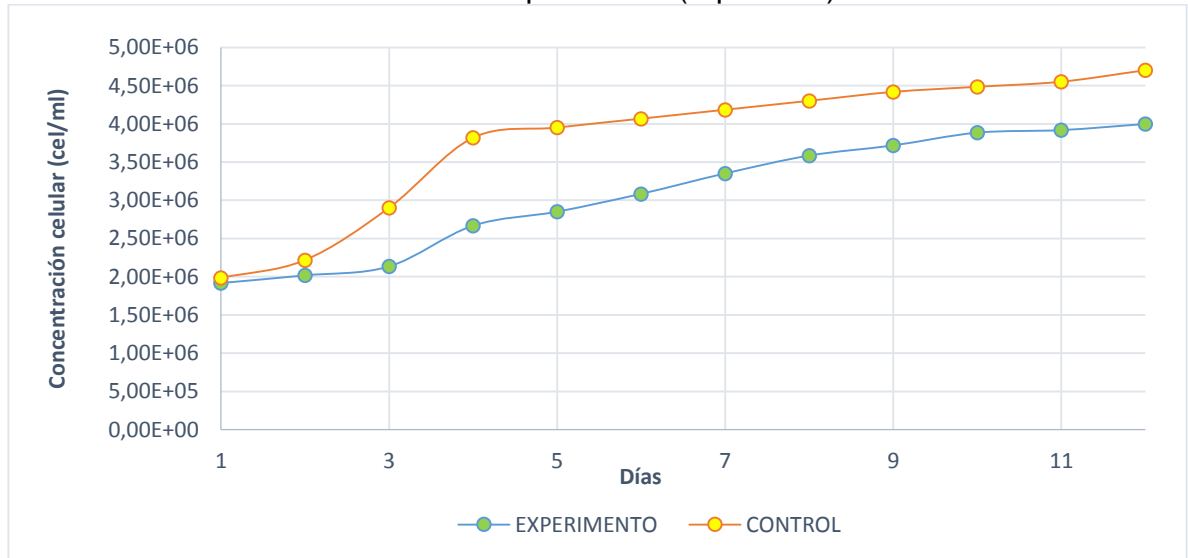
⁶⁰ DIAZ, Abel. "Diseño estadístico de experimentos". 2ed.U. de Antioquia. 2009. 286 p.

Gráfica 2. Curva de crecimiento experimento.



Fuente: Elaboración propia.

Gráfica 11. Curva de crecimiento experimento (repetición).

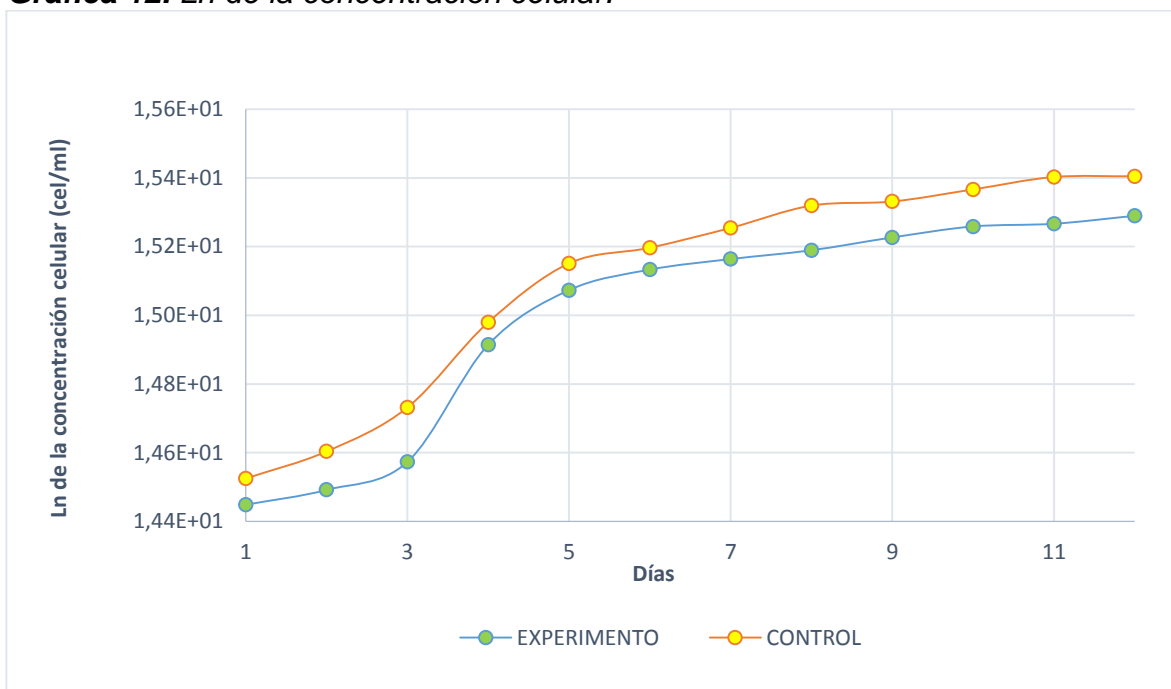


Fuente: Elaboración propia.

Para el experimento se realizó el conteo por doce (12) días para así poder observar las fases de crecimiento de la microalga, desde el octavo día, en la curva de crecimiento se puede apreciar una fase estacionaria.

Se puede observar en la gráfica 10 y 11, que el medio control obtuvo curva de crecimiento más alta que la curva de crecimiento del experimento, por lo que se procede a hallar las velocidades de crecimiento.

Gráfica 12. Ln de la concentración celular.



Fuente: Elaboración propia.

En la gráfica 12 se observa la linealización de las curvas de crecimiento de la microalga, la cual se adaptó al sustrato creciendo favorablemente, el seguimiento se llevó a cabo por un periodo de 12 días.

A continuación, se muestra en la tabla 15 las tasas de crecimiento del experimento y el medio control.

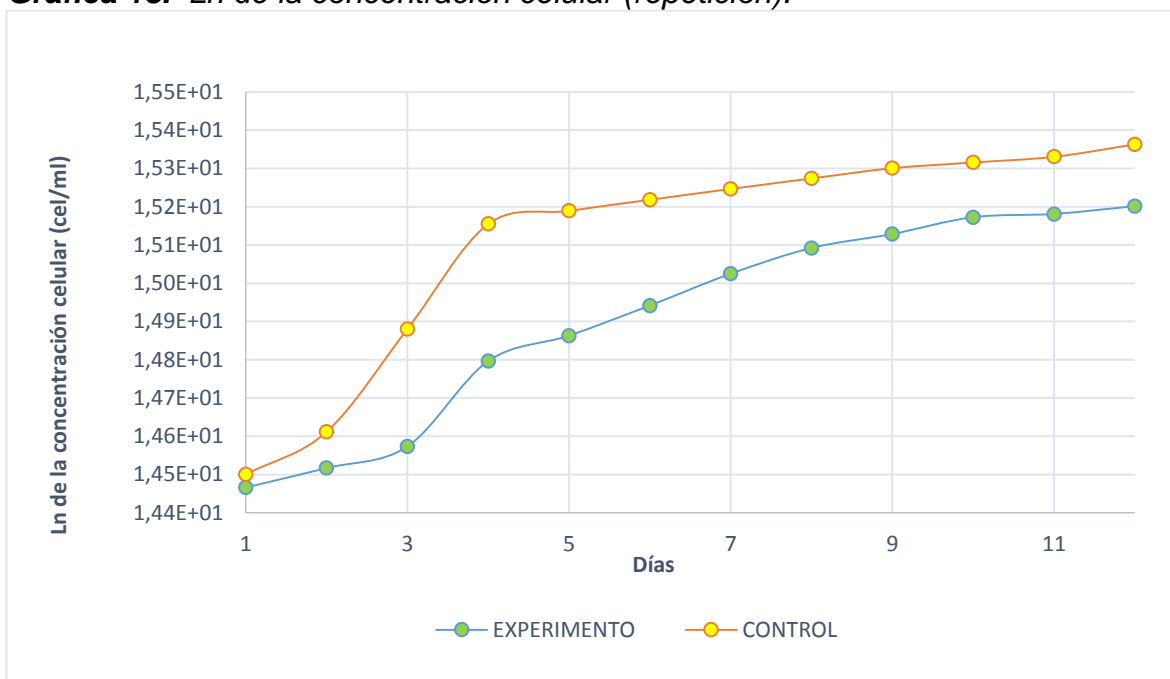
Tabla 15. Tasa de crecimiento experimento.

	Tasa de crecimiento (μ día ⁻¹)	Coefficiente de determinación (R)
EXPERIMENTO	0,4030	0,9195
CONTROL	0,4421	0,9535

Fuente: Elaboración propia.

Como se puede observar en la tabla 15 la tasa de crecimiento para el experimento fue de 0,4030, mientras que para el medio de control fue de 0,4421, se obtuvo un alto coeficiente de determinación cercano a uno lo que indica que los valores se ajustan a la ecuación 1, siguiendo un comportamiento lineal.

Gráfica 13. Ln de la concentración celular (repetición).



Fuente: Elaboración propia.

En la gráfica 13 se observa la linealización de las curvas de crecimiento de la microalga al realizar su repetición, el seguimiento se llevó a cabo por un periodo de 12 días, en la gráfica se puede observar la fase de adaptación y crecimiento, a continuación, se muestra en la tabla 15 las tasas de crecimiento del experimento y el medio control.

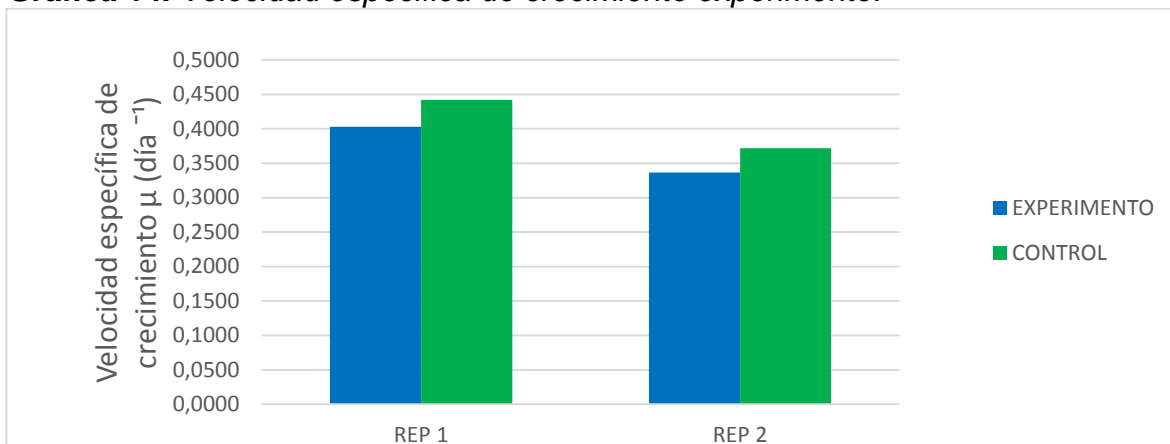
Tabla 16. Tasa de crecimiento experimento (repetición).

	Tasa de crecimiento (μ día ⁻¹)	Coefficiente de determinación R
EXPERIMENTO	0,3366	0,9418
CONTROL	0,3716	0,9331

Fuente: Elaboración propia.

En cuanto a la repetición se obtuvo un valor de la tasa de crecimiento de 0,3366 para el experimento y para el cultivo control se obtuvo una tasa de crecimiento de 0,3716, ambos resultados con un alto coeficiente de determinación cercano a uno lo que indica que los valores se ajustan a la ecuación 1. A continuación, en la gráfica 14 se evidencia la velocidad específica de crecimiento de la fase experimental, con su respectiva repetición.

Gráfica 14. Velocidad específica de crecimiento experimento.



Fuente: Elaboración propia.

En la gráfica 14 se puede observar la velocidad específica de crecimiento para cada uno de los ensayos realizados, con su respectiva repetición, y se observa que el medio control tuvo una mayor velocidad de crecimiento; aunque este crecimiento sea un poco mayor, al compararlo con el experimento, la diferencia no es muy alta. Se observa que el agua residual proveniente de la industria floricultora, contiene compuestos que contribuyen al crecimiento de la microalga.

En el anexo E se presenta las concentraciones celulares que se tuvieron en cuenta para realizar las curvas de crecimiento.

3.5 PESO SECO Y PRODUCTIVIDAD VOLUMÉTRICA

Para evaluar el rendimiento del proceso de producción de biomasa microalgal generada a partir del agua residual industrial en cultivos de hidroponía, se realizó en análisis del peso seco y la productividad volumétrica. Para obtener los valores de peso seco y la productividad volumétrica se dejó sedimentar la muestra por cuatro días; cabe resaltar que se sumó volumen sedimentado del experimento y su repetición y así mismo se hizo con el control. En la tabla 17 se pueden apreciar los valores que se tuvieron en cuenta para hallar el peso seco total.

Tabla 17. Peso Seco

	PSFM(mg)	PSF(mg)	VF(mL)	PST mg/mL
EXPERIMENTO	196,7573	1,1461	500,0000	0,3912
CONTROL	267,4259	1,7363	500,0000	0,5314

Fuente: Elaboración propia.

Para hallar la productividad se sigue la ecuación 8, los datos obtenidos se observan en la siguiente tabla.

Tabla 18. Productividad.

	PST(mg)	Volumen del cultivo(L)	Tiempo de cultivo(días)	Productividad (g/L*día)
EXPERIMENTO	1146,1	6	12	0,0159
CONTROL	1736,3	6	12	0,0241

Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo con la tabla anterior se puede apreciar, que para el experimento se obtuvo una productividad de 0,0159 g/L*día, y para el cultivo control fue de 0,0241 g/L*día; la diferencia en la productividad entre el control y el experimento es de $8,1 \cdot 10^{-3}$ g/L*día.

Como era de esperarse teniendo en cuenta las tasas de crecimiento obtenidas en el experimento, se obtuvo una mayor productividad para el medio control, de este proceso se obtuvo un 39,12% de rendimiento para el cultivo experimental el cual tenía 2000 mL de agua residual y 1000 mL de medio de cultivo, mientras que para el cultivo control se obtuvo un 53,14% de rendimiento. Cabe resaltar que este rendimiento puede variar, ya que en el proceso de extracción del agua superficial aun quedan trazas de biomasa que se pierden en el proceso.

4. COSTOS IMPLICADOS EN LA ELABORACION DE ESTE PROYECTO

En esta parte del proyecto se mencionan los costos de operación que influyen en la producción de biomasa microalgal a partir de aguas residuales de la industria floricultora

Como primera instancia, en la tabla 19 están los costos comunes que hay que tener en cuenta para el desarrollo del medio de cultivo.

Tabla 19. Costos.

ITEM	Cantidad	Costo (pesos por unidad)	Subtotal
Beaker de plastico	4	\$ 5.000	\$ 20.000
Bomba de aire	2	\$ 12.000	\$ 24.000
Cepa de microalga (<i>Chlorella vulgaris</i>)	1	\$ 363.000	\$ 363.000
Cinta led	1	\$ 24.000	\$ 24.000
Manguera de plastico 3/16 (m)	5	\$ 300	\$ 1.500
Pipeta (10 ml)	2	\$ 25.000	\$ 50.000
Pipeta (25 ml)	2	\$ 32.000	\$ 64.000
Pipeteador	1	\$ 18.000	\$ 18.000
Recipientes de vidrio (1 gal)	6	\$ 4.500	\$ 27.000
Temporizador	1	\$ 18.500	\$ 18.500
	Total		\$ 610.000

Fuente: Elaboración propia.

Se toma en consideración que la cepa de microalga *Chlorella vulgaris* hace parte de los medios de cultivo y es la materia prima más importante del desarrollo del proyecto, ya que la microalga se reproduce a condiciones adecuadas y se utiliza para el proceso de producción con nutrientes aprovechados del agua residual de la industria floricultora.

Los costos de operación para la producción de esta biomasa microalgal están reflejados en las siguientes tablas.

Tabla 20. Costos de operación.

ITEM	Consumo (KW/h)	Horas	Consumo total	Costo (Pesos)
Consumo de energía				
Balanza analitica	0,008	2	\$ 0,016	\$ 6
Bomba	0,0029	360	\$ 1	\$ 388
Cinta led	0,0144	180	\$ 3	\$ 963
Horno de secado Nabertherm	3	24	\$ 72	\$ 26.740
Microscopio	0,002	10	\$ 0	\$ 7
			Total	\$ 28.104

Fuente: Elaboración propia.

Valor a considerar es la tarifa de kWh el cual los valores varia por estrato, industria, oficial con contribución y sin contribución. El cual tuvo un valor de 371,3882 pesos. Según datos que reporta Codensa a la Comisión de regulación de energía y gas (CREG)⁶¹.

En la siguiente tabla se encuentra el consumo de agua requerido por las pruebas que se realizaron, teniendo en cuenta el costo por metro cúbico y el cargo fijo que contemplan 2 meses de servicio. Datos que se encuentran en la página oficial de acueducto⁶².

Tabla 21. Costos agua.

ITEM	Costo por m3	m3	Costo (Pesos)
Consumo de agua			
Agua	\$ 3.487	0,01	\$ 35
Cargo fijo mensual	\$ 19.459		\$ 19.459
		Total	\$ 19.568

Fuente: Elaboración propia.

Por lo que llevar a cabo la experimentación lleva alrededor de 657.672 pesos, valor aproximado ya que no se tiene en cuenta valores como personal, transporte entre otras.

⁶¹ CODENSA. Tarifas de energía codensa. {En línea}. {26 de abril 2018} disponible en: <https://www.codensa.com.co/hogar/tarifas>

⁶² AGUAS DE BOGOTA. Estados financieros. {En línea}. {26 de abril 2018} disponible en: <http://www.aguasdebogota.co/estados-financieros/>

5. CONCLUSIONES

- Se realizaron las curvas de crecimiento para tres proporciones de agua residual/medio de cultivo, en donde se evaluó la luz ultravioleta como pre-tratamiento seleccionado para la pre-experimentación, seleccionando la mayor velocidad específica de crecimiento (μ), se obtuvo que para una proporción 2:1 (200 mL agua residual / 100 mL de medio de cultivo) la velocidad específica de crecimiento es de $\mu = 0,2745 \text{ día}^{-1}$ sin radiación ultravioleta, y una velocidad específica de crecimiento de $\mu = 0,2921 \text{ día}^{-1}$ con radiación ultravioleta.
- Se puede evidenciar que al irradiar el agua residual con luz ultravioleta favorece el crecimiento de las microalgas, pero este tratamiento se descartó debido que implicaría un aumento en los costos, lo cual no se justifica. Por lo tanto, el agua residual proveniente de la industria floricultora de la empresa las Acacias, no se le realizaría ningún pretratamiento.
- El agua residual proveniente de la industria floricultora, más específicamente de los cultivos hidropónicos, presentan nutrientes que favorecen el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*, de la cual se pueden obtener un rendimiento de biomasa 39,12%.
- En el desarrollo experimental se seleccionó la proporción 2:1 (200 mL agua residual / 100 mL de medio de cultivo), comparándola con cultivo control, se obtuvo una tasa de crecimiento promedio de $\mu = 0,3698 \text{ (día}^{-1}\text{)}$ y una productividad volumétrica de 0,0159 g/L*día de biomasa seca para el experimento y una tasa de crecimiento promedio de $\mu = 0,4095 \text{ día}^{-1}$, una productividad volumétrica de 0,0241 g/L* día de biomasa seca para el control., para ambos casos se considera que la productividad volumétrica es baja en comparación con otros sustratos evaluados en el grupo de investigación.

6. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar la fase experimental y sus repeticiones en una misma semana, con el fin de garantizar que los nutrientes presentes en estas aguas residuales no se degraden con el tiempo y así poder obtener un mayor porcentaje en el rendimiento de la biomasa.
- Este trabajo de grado demuestra que el agua residual proveniente de la industria floricultora es apta para el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*, por lo tanto, se puede realizar en futuros proyectos, el diseño de una planta piloto para aprovechar estas aguas residuales y con ello realizar un análisis más profundo de la viabilidad económica del mismo.
- Se recomienda realizar la esterilización y aseo constante tanto de los materiales implicados en el montaje, como en el área de trabajo, para asegurar las condiciones axénicas del cultivo.

BIBLIOGRAFIA

ABALDE/A.CID/P.FIDALGO/E.TORRES/C.HERRERO. MICROLGAS: Cultivo y Aplicaciones: Tórculo. 210 p.

AGUAS DE BOGOTA. Estados financieros. {En línea}. {26 de abril 2018} disponible en: <http://www.aguasdebogota.co/estados-financieros/>

HERNANDEZ Alexis, José LABBÉ. “Revista de Biología marina y oceanografía”. {En línea}. {18 de septiembre 2017} disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/revbiolmar/v49n2/art01.pdf>

AMEZQUITA, Edgar. “Requerimiento de agua y nutrición de cultivo de flores”. {En línea}. {12 septiembre de 2017} disponible en: http://www.mag.go.cr/congreso_agronomico_xi/a50-6907-III_215.pdf

ANDRADE, Charity. Biomass production of microalga *Scenedesmus sp.* With wastewater from fishery. {15 de mayo 2018} disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S025407702009000200005&script=sci_art_text

ASOCOLFLORES. {En línea}. {18 de septiembre 2017} disponible en: http://www.siame.gov.co/siame/documentos/Guias_Ambientales/Gu%C3%ADas%20Resoluci%C3%B3n%201023%20del%2028%20de%20julio%20de%202005/AGRICOLA%20Y%20PECUARIO/Guia%20ambiental%20para%20el%20subsector%20Floricultor.pdf.

BAND SCHMIDT, Christine J. Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa. 75 p.

BELTRANO. Jose. GIMENEZ. Daniel. Cultivo en hidroponía: edulp,2015. 181p.
BENALETE J.R. MONTAÑEZ J.C. AGUILAR C.N. ZAVALA A. Tecnología de cultivo de microalgas en fotobioreactores. {En línea}. {28 de enero 2018} disponible en: <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%207/4.html>

BORDA Ricardo Alberto, DURANGO DUMAS OVIEDO Mónica María, ROJAS Jesús María. “EFECTO DE LA EXPOSICIÓN A LA LUZ ULTRAVIOLETA UV-C EN LA VIABILIDAD DE ESPECIES DE ESCHERICHIA COLI Y SALMONELLA TYPHIMURIUM”. {En línea}. {28 de enero 2018} disponible en: <http://repository.lasallista.edu.co:8080/ojs/index.php/jet/article/view/545>

BULTRON, German. “Microalgas y biocombustibles”. {En línea}. {15 de mayo 2018} disponible en: <http://www.eluniversalqueretaro.mx/content/microalgas-y-biocombustibles>

CARDENAS. Julian. "ANOVA de un factor". {En línea}. {1 de marzo 2018} disponible en: <http://networkianos.com/anova-de-un-factor-que-es-como-analizar/>

CELEROMICS, Conteo Celular con Hematocitómetro {En línea}. {15 de febrero 2018} disponible en: <http://www.celeromics.com/es/resources/Technical%20Notes/Como-contar-celulas-con-camara-de-Neubauer-Paso1.php>

CODENSA. Tarifas de energía codensa. {En línea}. {26 de abril 2018} disponible en: <https://www.codensa.com.co/hogar/tarifas>

"Concepto definición cepa". {En línea}. {22 septiembre de 2017} disponible en: <http://conceptodefinicion.de/cepa/>

CYCLUS. Tipologías Aguas Residuales. {En línea}. {14 enero de 2018} disponible en: <http://www.cyclusid.com/tecnologias-aguas-residuales/tipologias/>

DIAZ, Abel. "Diseño estadístico de experimentos". 2ed. U. de Antioquia. 2009. 286 p.

ENDESA. "Centrales de biomasa". {En línea}. {5 octubre de 2017} disponible en: http://www.endesaeduca.com/Endesa_educa/recursos-interactivos/produccion-de-electricidad/xiv.-las-centrales-de-biomasa.

Energy, alga. "¿Qué son las microalgas?". {En línea}. {1 septiembre de 2017} disponible en: <http://www.algaenergy.es/conocenos/que-son-las-microalgas/>

ESPIGARES GARCIA.M. PEREZ LOPEZ.J.A. Aguas residuales composición {En línea}. {15 enero de 2018} disponible en: http://cidta.usal.es/cursos/EDAR/modulos/Edar/unidades/LIBROS/logo/pdf/Aguas_Residuales_composicion.pdf

Esterilización con agentes físicos. {En línea}. {26 de abril 2018} disponible en: <http://www.ugr.es/~pomif/pom-bac/pb-ii/pb-ii-2-fisicos.htm>

FERNANDEZ. Luis Carlos. Producción de biocombustibles a partir de microalgas. Revista de Sociedad, cultura y desarrollo sustentable. 2012-01-01. p. 101-115. {En línea}. {1 septiembre de 2017} disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/biblioamericasp/reader.action?docID=10679740>.

GONZALES, María Clemencia. SALDARRIAGA, Gabriel de Jesús. JARAMILLO, Oscar. "Demanda hídrica agrícola", {En línea}. {12 septiembre de 2017} disponible en: <http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/021888/CAP5.pdf>.

Herrera, J. S., & Fernández, D. R. (2017). Uso potencial de microalgas para mitigar los efectos de las emisiones de dióxido de carbono. *Revista de Investigación*, 10(2), 153-164.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS Y CERTIFICACIÓN. Norma Técnica Colombiana NTC 1486. En: Trabajos Escritos: Presentación y referencias bibliográficas. Sexta actualización. Bogotá: ICONTEC, 2008. 36 p.

_____. Norma Técnica Colombiana NTC 4490. En: Trabajos Escritos: presentación y referencias bibliográficas. Bogotá: ICONTEC, 2008. 23 p

_____. Norma Técnica Colombiana NTC 5613. En: Trabajos Escritos: presentación y referencias bibliográficas. Bogotá: ICONTEC, 1998. 33 p.

KHANACADEMY. Luz y pigmentos fotosintéticos, {En línea}. {1 de febrero 2018} disponible en: <https://es.khanacademy.org/science/biology/photosynthesis-in-plants/the-light-dependent-reactions-of-photosynthesis/a/light-and-photosynthetic-pigments>

LÓPEZ, M. ESPIGARES GARCÍA y J. A. PÉREZ. “AGUAS RESIDUALES COMPOSICION”. {En línea}. {5 octubre de 2017} disponible en: http://cidta.usal.es/cursos/EDAR/modulos/Edar/unidades/LIBROS/logo/pdf/Aguas_Residuales_composicion.pdf

LUMEK. Tubo germicida. {En línea}. {01 de febrero 2018} disponible en: <http://www.ilumec.com/resources/tubo%20germicida.pdf>

MARTIN, Judith. Microalgas: Del tratamiento a la valorización de los residuos. {En línea}. {15 de mayo 2018} disponible en: https://uvadoc.uva.es/bitstream/10324/26274/1/Lorca_2017.pdf

METCALF & EDDY, “Ingeniería de aguas residuales, tratamiento, vertido y reutilización”. 3ra edición, McGraw-Hill. 1505p.

MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO. RESOLUCION 0631 DE 2015. Pág. 26. {En línea}. {1 de abril 2018} disponible en: http://www.cortolima.gov.co/sites/default/files/images/stories/Resolucion_Vertimientos_631_2015.pdf.

Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. “Toma de muestras de aguas residuales”. {En línea}. {13 de marzo 2018} disponible en: http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38158/Toma_Muestras_AguasResiduales.pdf/f5baddf0-7d86-4598-bebd-0e123479d428.

Ministerio del medio ambiente norma de vertimiento de aguas residuales. {En línea}. {6 de febrero 2018} disponible en: http://www.minambiente.gov.co/images/normativa/app/resoluciones/d1-res_631_marz_2015.pdf

MUR Elsa, Lixiviación. {En línea}. {16 octubre de 2017} disponible en: <http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Lixiviac.htm>.

MURCIA, Leidy. PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS A PARTIR DE LA MICROALGA *Chlorella vulgaris* ENRIQUECIENDO EL MEDIO DE CULTIVO CON FUENTES DE NITRÓGENO. 2018. Trabajo de grado como Ingeniero químico. Fundación Universidad de América.

OLARTE, Edward. Evaluación de uso de la microalga *Chlorella vulgaris* en el tratamiento de aguas industriales vinazas. 2016. Universidad Nacional abierta y a distancia. O. Jaramillo. “Estimación de la demanda de agua”. {En línea}. {11 de agosto 2017} disponible en: <http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/021888/CAP5.pdf>.

PLANCTON. Marino. “Todo lo que necesita saber de microalgas”. {En línea}. {1 octubre de 2017} disponible en: <http://planctonmarino.com/microalgas/>
Proyecto de las naciones unidas para el medio ambiente- PNUMA. Estudio de caracterización de las aguas residuales afluentes al sistema de tratamiento de puchukollo. Bolivia, 2011. {En línea}. {14 enero de 2018} disponible en: http://www.bivica.org/upload/ag_aguas-residuales.pdf

ROMAN, Francisco. “Composición foliagro” {En línea}. {10 de febrero 2018} disponible en: <http://agroganaderodelcauca.com/Documents/Fichas/agrofercol/Foliagro.pdf>

SÁENZ CALDERÓN, Felipe. “Cultivos Hidropónicos”. {En línea}. {13 septiembre de 2017} disponible en: http://www.drcalderonlabs.com/Publicaciones/Presentacion_De_La_Hidroponia.htm.

SMART, Fertilizer Management. “Nutrientes en un cultivo Hidropónico”. {En línea}. {22 octubre de 2017} disponible en: <http://www.smart-fertilizer.com/es/articles/hydroponic-nutrient-solutions>.

URIBE AREVALO, Diego. “Huella hídrica Colombia”. {En línea}. {17 septiembre de 2017} disponible en: <http://infoagro.net/programas/Ambiente/pages/agricultura/casos/2.pdf>

VARGAS, Lidia. “floculación”. {En línea}. {12 septiembre de 2017} disponible en: <http://www.ingenieroambiental.com/4014/seis.pdf>.