

EVALUACIÓN DE LA CAPTURA DE CO₂ PARA LA MEJORA DEL BIOGÁS,
MEDIANTE UN CULTIVO DE LA MICROALGA *CHLORELLA VULGARIS* EN UN
SISTEMA DE BIORREACTORES A NIVEL LABORATORIO.

BIRGGIT BANESA TORRES GOMEZ
FRANCY NATALIA CERÓN LOPEZ

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.
2020

EVALUACIÓN DE LA CAPTURA DE CO₂ PARA LA MEJORA DEL BIOGÁS,
MEDIANTE UN CULTIVO DE LA MICROALGA *CHLORELLA VULGARIS* EN UN
SISTEMA DE BIORREACTORES A NIVEL LABORATORIO.

BIRGGIT BANESA TORRES GOMEZ
FRANCY NATALIA CERÓN LOPEZ

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

Director de tesis
JUAN DANIEL VALDERRAMA RINCÓN
Ingeniero Químico

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.
2020

Nota de aceptación

Ing. Edgar Fernando Moreno Torres

Ing. David Triviño Rodríguez

Ing. Adriana Inés Paez Morales

Bogotá D.C.

Agosto de 2020

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

Dr. MARIO POSADA GARCÍA-PEÑA

Consejero Institucional

Dr. LUIS JAIME POSADA GARCÍA-PEÑA

Vicerrectora Académica y de Investigaciones

Dra. MARÍA CLAUDIA APONTE GONZÁLEZ

Vicerrector Administrativo y Financiero

Dr. RICARDO ALFONSO PEÑARANDA CASTRO

Secretaria General

Dra. ALEXANDRA MEJÍA GUZMÁN

Decano General Facultad de Ingenierías

Ing. JULIO CÉSAR FUENTES ARISMENDI

Director Programa Ingeniería química

ING. IVÁN RAMIREZ MARÍN

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

DEDICATORIAS

Para mi padre Ángel Torres, que hoy físicamente no me acompaña, pero gracias a la confianza, determinación y constancia que depositó en mí desde el inicio de este camino, hoy lo culmino con gran satisfacción dedicándole este logro en mi vida, sé que ver este título junto al nombre de tu hija te habría llenado de orgullo y felicidad. **Esto es por ti y para ti.**

A mi hermano Heyler Torres, nuestro tiempo juntos fue muy corto, pero para mí fue extremadamente valioso, te llevo en cada paso, gracias por enseñarme tanto de la vida en tan poco tiempo. Tu felicidad era parte de mis alegrías y hoy doy gracias por poder dedicarte las mías, por haber sido mi hermano y al mismo tiempo mi mejor amigo.

Banesa.

A mi mamá Adriana López por todo su amor, dedicación y apoyo incondicional, por alentarme siempre a alcanzar mis metas, por ser quien ha estado conmigo en los buenos y malos momentos y por ser la más sabia consejera. Eres mi más grande inspiración y ejemplo a seguir, nada de esto hubiera sido posible sin ti.

Natalia.

AGRADECIMIENTOS

*Esto no habría sido un sueño posible sin el apoyo incondicional de mi madre Cecilia Gómez, a ti más que a nadie le debo todo lo que soy y tengo justo en este instante de mi vida. Infinitas gracias por ser la mamá tan increíble que eres conmigo, has sido mi guía en cada paso y triunfo que he logrado en mi vida. **Gracias por ser, estar y permanecer, te amo.***

A mi hermana Paola Torres, gracias por luchar sin cansancio por nosotras, por hacerme tía de Martina y por haber estado presente en todo este proceso tan increíble de mi vida.

A Nata, por haber sido mi compañera incondicional y confidente en todo este proceso, por luchar de la mano conmigo y hoy compartir la alegría de graduarnos.

A mis amigos: Santiago Arango, Rocío Cuao, Juliana Rincón, Camila Roa, Liz Guerrero, Sebastián Sierra, ustedes fueron partícipes de la mejor etapa de mi vida, compartieron conmigo momentos increíbles y demasiadas alegrías. Por eso y mucho más, gracias.

Al grupo GRESIA, por acogernos en su grupo de trabajo, principalmente a el profesor Juan Valderrama, por su paciencia y entrega, por guiarnos en este proceso, fue un honor aprender y trabajar con él. A la empresa TGI por patrocinar los reactivos necesarios para el desarrollo de este proyecto.

Banesa.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mis padres Adriana López y Wilson Cerón por todo su esfuerzo, por creer siempre en mí, por enseñarme a ser resiliente frente a las dificultades y adversidades que puedan presentarse en la vida y por formarme con principios y valores para crecer tanto personal como profesionalmente. ¡Los amo y admiro mucho!

A mi familia, quienes hicieron parte de este proceso y estuvieron siempre presentes con una palabra de ánimo y un mensaje oportuno en cada circunstancia.

A Esteban, por su amor, dulzura y comprensión, por escucharme cuando lo necesité y animarme siempre a dar lo mejor de mí.

A Fersso, por enseñarme que la vida es bella y armoniosa y por ser mi guía espiritual.

A Bane, por su ayuda, por ser la mejor compañera de trabajo, porque juntas recorrimos un camino que no fue fácil, sin embargo, ¡Lo logramos!

Al profesor Juan Daniel Valderrama, director de esta investigación, quien junto con el grupo GRESIA de la Universidad Antonio Nariño me brindó sus conocimientos y orientó con rigurosidad y paciencia. Por último, agradezco a la empresa TGI por patrocinar todos los reactivos que se usaron dentro de este proyecto.

Natalia.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	24
OBJETIVOS	24
1. GENERALIDADES	25
1.1 MARCO CONCEPTUAL	25
1.2 ENERGIA ALTERNATIVA	26
1.2.1 El biogás como fuente de energía	27
1.2.2 Proceso de biodigestión	28
1.2.3 Procesos de conversión de biomasa en energía	30
1.3 BIORREACTORES	32
1.3.1 Modo de operación de un sistema de cultivo	32
1.3.2 Tipos de biorreactores	33
1.3.3 Tipos de fotobiorreactores	35
1.4 MICROALGAS	38
1.4.1 Parametros de cultivo	40
1.4.2 Proceso de biofijación de carbono	42
1.4.3 Sistema de cultivo	44
1.4.4 Inyección de CO ₂	45
2. METODOLOGÍA	47
2.1 DESARROLLO DEL MONTAJE PARA EL SISTEMA DE BIORREACTORES	48
2.2 CONSTRUCCIÓN DE BIORREACTOR UASB	48
2.1.1 Sistema de bombeo	54
2.1.2 Sistema de calefacción	55
2.1.3 Materiales y métodos	56
2.1.4 Sistema de medición de biogás	58
2.1.5 Materiales sistema de medición de biogás	59

2.2	CONSTRUCCIÓN DE FOTOBIORREACTOR AIR-LIFT	60
2.2.1	Sistema de alimentación	62
2.2.2	Sistema de iluminación y calefacción	62
2.2.3	Sistema de agitación	63
2.2.4	Materiales y métodos	65
2.3	CONSTRUCCIÓN DEL SISTEMA DE ACOUPLE DE LOS BIORREACTORES ..	68
2.4	Operación del reactor UASB	70
2.4.1	Ensayos preliminares	70
2.4.2	Puesta en marcha inicial	72
2.5	Operación del Fotobiorreactor	73
2.5.1	Ensayos preliminares	73
2.5.2	Puesta en marcha	75
3.	CULTIVO DE LA MICROALGA	77
3.1.1	Cepa de la microalga	78
3.1.2	Elección del medio de cultivo	79
3.1.3	Siembra de la microalga	80
3.1.4	Inoculación de la microalga	82
3.1.5	Morfología de la microalga	83
3.1.6	Equipos utilizados en el crecimiento del cultivo	84
3.2	ESTABILIZACIÓN DE PARÁMETROS OPERACIONALES	86
3.2.1	Comportamiento de temperatura en los biorreactores	87
3.2.2	Absorbancia en las microalgas	88
3.2.4	Comportamiento de pH	90
3.3	Resultados de la estabilización de los parámetros	94
4.	MÉTODOS PARA CALCULAR LA BIOFIJACIÓN EN LAS MICROALGAS	95
4.1	Metodo de carbono contenido en la biomasa	95
4.2	Método por balance de materia	103
4.3.	Elección del método	109
5.	CONCLUSIONES	110

6.	RECOMENDACIONES	112
	BIBLIOGRAFIA	113
	ANEXOS	127

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Composición del biogás	24
Tabla 2. Detalle de corrientes y variables del proceso	44
Tabla 3. Materiales de construcción reactor UASB	50
Tabla 4. Lista de materiales para construcción de sistema de medición de biogás	54
Tabla 5. Detalle de corrientes y variables del proceso	55
Tabla 6. Diseño sistema de agitación FBR	60
Tabla 7. Materiales fotobiorreactor air-lift	60
Tabla 8. Detalle de corrientes y variables del proceso	64
Tabla 9. Parámetros estándar de concentración a 2000 DQO (mg/L)	66
Tabla 10. Parámetros de control en el reactor UASB	68
Tabla 11. Parámetros de control para el FBR	70
Tabla 12. Equipos utilizados en el crecimiento del cultivo	79
Tabla 13. Condiciones de trabajo en los reactores	90
Tabla 14. Parámetros obtenidos a diferentes intensidades de luz y concentraciones de entrada de CO ₂ . Flujo de entrada de gas 0,4 vvm	93
Tabla 15. Concentraciones de biogás simulado	95
Tabla 16. Eficiencias de eliminación de COD, TN y P, concentración de TSS, productividad de biomasa y pH en estado estable durante el período operativo evaluado	98
Tabla 17. Plano reactor UASB con medidas	115
Tabla 18. Plano fotobiorreactor con medidas	116

LISTA DE GRÁFICAS

	pág.
Gráfica 1. Comportamiento de temperatura de los biorreactores	87
Gráfica 2. Absorbancia medida en las microalgas	89
Gráfica 3. Curva de calibración Peso seco	90
Gráfica 4. pH de efluente de reactor UASB	91
Gráfica 5. Biogás producido en el reactor UASB	93

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Composición biogás	23
Figura 2. Diseño de un UASB	30
Figura 3. Tipo de fotobiorreactores	32
Figura 4. Ciclo de Calvin-Benson	40
Figura 5. Solubilidad de gases vs temperatura	43
Figura 6. Diagrama de proceso de reactor UASB	44
Figura 7. Montaje reactor UASB por Universidad Nacional y Antonio Nariño	45
Figura 8. Detalle instalación de malla PLA en tubo de alimentación	46
Figura 9. Elaboración de tubo resina poliéster	47
Figura 10 . Moldes y Cauchos siliconados	48
Figura 11. Diseño final reactor UASB	48
Figura 12. Sistema de alimentación	49
Figura 13. Bomba peristáltica y controlador	49
Figura 14. Sistema de calefacción reactor UASB	50
Figura 15. Base de madera reactor UASB	52
Figura 16. Diagrama de flujo del proceso de construcción del reactor UASB	52
Figura 17. Sistema de medición de biogás	54
Figura 18. Diagrama de proceso reactor FBR	55
Figura 19. Cinta LED enrollada en el FBR	57
Figura 20. Sistema de control de temperatura	58

Figura 21. Diseño final fotobiorreactor air-lift	62
Figura 22. Diagrama de flujo de proceso de construcción de fotobiorreactor air-lift	62
Figura 23. Diagrama de proceso reactores acoplados	64
Figura 24. Compresor / Sistema de acople de reactores	65
Figura 25. Diagrama flujo de proceso desarrollo de la microalga	72
Figura 26. Rayado másivo	76
Figura 27. Rayado másivo elaborado en la UAN	76
Figura 28 . Incubación de microalgas en Erlenmeyer en incubadora	77
Figura 29. Morfología <i>Chlorella Vulgaris</i> en el microscopio	79
Figura 30. a) curvas de cremiento; b) tasa de fijación de CO ₂ con una tasa de carga de CO ₂ de 80 kg m ⁻³ d ⁻¹ and 94.4 μmol m ⁻² s ⁻¹ . □ 0,04 vvm ■ 0,08 vvm	94
Figura 31. Efecto del CH ₄ en el crecimiento de la microalga <i>N. gaditana</i>	101
Figura 32. Balance de masa de carbono y oxígeno para el fotobiorreactor en una sola etapa	102
Figura 33. Balance de masa de carbono y oxígeno para el fotobiorreactor en dos etapas	103
Figura 34. Balance de masa de carbono y oxígeno para fotobiorreactor conectado a una columna burbujeante	104

LISTA DE ECUACIONES

	pág.
Ecuación 1. Reacción general de la fotosíntesis	36
Ecuación 2. Reacción del CO ₂ en la fase líquida del cultivo	41
Ecuación 3. Carga hidráulica volumétrica UASB	67
Ecuación 4. Tiempo de retención hidráulica UASB	67
Ecuación 5. Velocidad de carga hidráulica UASB	67
Ecuación 6. Carga hidráulica volumétrica FBR	69
Ecuación 7. Tiempo de retención hidráulica FBR	70
Ecuación 8. Alcalinidad total de carbonatos	85
Ecuación 9. Tasa de fijación de CO ₂	92
Ecuación 10. Productividad de la biomasa	92
Ecuación 11. Eficiencia de eliminación de nutrientes CO ₂ y H ₂ S	96
Ecuación 12. Productividad de la biomasa	96
Ecuación 13. Porcentaje de biofijación de CO ₂	102

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Plano reactor UASB con medidas	121
Anexo B. Medición y control de temperatura en el fotobiorreactor	122
Anexo C. Plano del fotobiorreactor con UASB	123
Anexo D. Cálculos de los reactores	125
Anexo E. Determinación de PH (método potenciométrico)	127

ABREVIATURAS

ATP: adenosina trifosfato.

CO₂: dióxido de carbono.

Cm: centímetro.

CH₄: metano.

d: días.

FBR: fotobiorreactor.

GEI: gases de efecto invernadero.

g: gramos

L: litros.

MCC: mecanismo de concentración del carbono.

mL: mililitro.

N: nitrógeno.

NADPH: nicotiamida adenina dinucleótido fosfato.

O₂: oxígeno.

PVC: policloruro de vinilo.

PET: tereftalato de polietileno.

T: temperatura.

UASB: reactor anaerobio de flujo ascendente.

GLOSARIO

ABSORBANCIA: medida que cuantifica la cantidad de luz que logra atravesar un cuerpo, cuando un haz de luz incide sobre este¹.

ALICUOTA: porción que se toma de un volumen inicial para realizar una prueba de laboratorio, pues su composición y propiedades físico-químicas representan a la de la sustancia original².

BIOGÁS: combustible generado por la degradación de sustancias orgánicas y la descomposición anaerobia que realizan los microorganismos, compuesto principalmente por metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂)³.

BIOFIJACIÓN: proceso biológico realizado por los organismos, mediante el cual el CO₂ es absorbido y transformado en material orgánico o biomasa a través del Ciclo de Calvin-Benson o asimilación del carbono⁴.

BIOMASA: cantidad de materia obtenida mediante la fotosíntesis, susceptible de ser transformada y aprovechada por el hombre, se expresa en unidades de superficie y volumen⁵.

CLORANFENICOL: antibiótico de amplio espectro, altamente efectivo para la prevención y tratamiento de bacterias grampositivas, gramnegativas y microorganismos anaerobios⁶.

¹ DÍAZ, Nieves *et al.* Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimetría de biomoléculas. [en línea] s.f. Departamento de bioquímica y Biología molecular. Disponible en: https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf

² REAL ACADEMIA DE INGENIERÍA. Alicuota: acepciones [en línea]. s.f. Disponible en: <http://cundinamarca.circulemos.com.co/>

³ FAO *et al.* Manual de biogás. [en línea]. 2011. Santiago de Chile. Disponible en: <http://www.fao.org/3/as400s/as400s.pdf>

⁴ KHAN ACADEMY. Ciclo de Calvin. [en línea]. s.f. Disponible en: <https://es.khanacademy.org/science/biology/photosynthesis-in-plants/the-calvin-cycle-reactions/a/calvin-cycle>

⁵ PLANTAS DE BIOMASA. Que es la biomasa. [en línea] 2013. Disponible en: <http://www.plantasdebiomasa.net/que-es-la-biomasa.html>

⁶ S.S.A. Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables para farmacias y público en general [en línea]. 2007. Disponible en: http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gj_2k8/prods/PRODS/Cloranfenicol%20Ung.htm#:~:text=INDICACIONES%20TERAP%C3%89UTICAS%3A&text=CLORANFENICOL%20es%20un%20antibi%C3%B3tico%20de,%2C%20Mycoplasma%2C%20Rickettsias%20y%20espiroquetas.

ESPECTOFOTOMETRÍA: método científico usado para medir la cantidad de luz que absorbe un medio o sustancia, a través de la medición de la intensidad con la que un haz de luz logra atravesar el medio⁷.

FICOBILINAS: compuestos tetrapirrólicos lineales (bilinas) presentes en cianobacterias y en ciertas algas que le permiten capturar la energía lumínica que será luego pasada a la clorofila durante la fotosíntesis⁸.

FITORREMEDIACIÓN: técnica que aprovecha la capacidad de algunas plantas para absorber, acumular y metabolizar los contaminantes presentes en suelo, aire, agua o sedimento⁹.

FOTOBIOREACTORES: dispositivos cerrados utilizados para la producción masiva de microorganismos fotosintéticos. Durante su funcionamiento se deben controlar las condiciones de temperatura, concentración de CO₂, intensidad lumínica, entre otros¹⁰.

FOTORRESISTENCIA: o fotorresistor, componente electrónico que responde al cambio de la intensidad de la luz. El valor de su resistencia es inversamente proporcional a la cantidad de luz incidente¹¹.

FOTOSÍNTESIS: proceso metabólico realizado por organismos autótrofos, consiste en la transformación de un sustrato inorgánico en materia orgánica aprovechable,

⁷ DÍAZ, Nieves *et al.* Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimetría de biomoléculas. [en línea] s.f. Departamento de bioquímica y Biología molecular. Disponible en: https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf

⁸ BERMEJO Román *et al.* Recovery of pure B-phycoerythrin from the microalga *Porphyridum cruentum*. [en línea]. *Journal of Biotechnology*. 2002 93: 73-85. Disponible en: <https://ceramica.fandom.com/wiki/Ficobilina>

⁹ AGRICULTURERS. La fitorremediación: plantas para tratar la contaminación ambiental. [en línea]. 2015. Disponible en: <https://agriculturers.com/la-fitorremediacion-plantas-para-tratar-la-contaminacion-ambiental/>

¹⁰ GÓNZALEZ, Carlos *et al.* Estimación de Iluminación en un fotobiorreactor productor de Biomasa a partir de Microalgas. [en línea]. 2014. Departamento de Metal-Mecánica y Química-Bioquímica. Disponible en: <file:///D:/Usuario/Downloads/Dialnet-EstimacionDeIluminacionEnUnFotobiorreactorProducto-4749367.pdf>

¹¹ BOLAÑOS D, Electrónica, [En línea] s.f. Disponible en: <http://www.bolanosdj.com.ar/TEORIA/SENSORESOPICOS.PDF>

gracias a la energía lumínica que se traduce en energía química, necesaria para este proceso¹².

FUGAS: orificios que pueden presentarse en forma de grietas, fisuras, hendiduras, etc., mediante los cuales algún fluido retenido puede recluirse o escaparse.

HERMETICIDAD: característica que permite que un elemento sea impenetrable, impermeable y completamente cerrado¹³.

INOCULAR: en microbiología, hace referencia a la acción de implantar un organismo o bacteria en un medio específico con la finalidad de desarrollarse y reproducirse¹⁴.

INTRACITOPLASMÁTICO: que se halla en el interior del citoplasma.

MICROALGAS: microorganismos unicelulares, fotoautótrofos que generan biomasa orgánica y O₂ a partir de CO₂ y luz; poseen una gran capacidad fitorremediadora la cual consiste en la eliminación de contaminantes de un medio mediante la captación debida a su biomasa algal¹⁵.

MITIGACIÓN: cualquier tipo de actividades o estrategias, cuyo fin sea la reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero para evitar los efectos adversos del calentamiento global¹⁶.

¹² OCAMPO F, Natalia. Fotosíntesis.[En línea]. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo. 2014 [Consultado el 22 de enero de 2020]. Disponible en: https://www.uaeh.edu.mx/docencia/VI_Lectura/bachillerato/documentos/2014/LECT110.pdf

¹³ CONSTRUMATICA. Hermeticidad [en línea] s.f [Consultado el 23 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.construmatica.com/construpedia/Hermeticidad>

¹⁴ JIMENEZ GUZMAN, Alberto. Inoculantes microbianos.[en línea] s.f [Consultado el 23 de enero de 2020]. Disponible en: http://www.ugr.es/~cjl/inoculantes%20microbianos_2.pdf

¹⁵ FERNANDEZ SEVILLA, Jose Maria. Microalgal Biotechnology.[en línea]. Universidad de Almería. 2014 [Consultado el 23 de enero de 2020]. Disponible en: <https://w3.ual.es/~jfernand/ProcMicro70801207/tema-1---generalidades/1-1-microalgas.html>

¹⁶ ARGENTINA.GOB. Mitigación o reducción de gases de efecto invernadero [en línea] s.f [Consultado el 23 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/ambiente/cambio-climatico/mitigacion-La-mitigacion-20implica-modificaciones-en,los-efectosdelcambio-climA1tico>.

RESUMEN

La producción de gases como el biogás a partir de residuos sólidos y aguas residuales sin ser tratados o recuperados con un fin bio-ambiental, son grandes contribuyentes al calentamiento global y deterioro de la capa de ozono. Bajo este contexto, se han desarrollado tecnologías que reconocen al CH_4 como una fuente de energía alternativa, en este caso, en busca de procesos limpios para la depuración del CO_2 de la corriente de biogás, se elige un método biológico utilizando microalgas; puesto que estos microorganismos crecen usando luz como energía y CO_2 como fuente de carbono, resaltando su eficiencia para la fijación de CO_2 en su proceso de fotosíntesis.

Para esto se construyeron 2 biorreactores, en el primer reactor, un fotobiorreactor de tubos concéntricos air-lift, se evaluó el crecimiento y comportamiento del cultivo microalgal *Chlorella vulgaris* operando el FBR con intensidad lumínica constante y una temperatura ideal de 26°C . Del segundo biorreactor, un reactor UASB, proviene el biogás que se inyectará al FBR para su depuración. El biogás se produce a partir de la degradación materia orgánica por parte de un lodo granular operando a una temperatura de 35°C y una velocidad de carga orgánica de $2 \text{ kgDQO/m}^3\text{.d}$. La inyección del biogás en el FBR se hace con el fin de depurar el CO_2 contenido en esta corriente de biogás para lograr su mejora y así alcanzar un porcentaje más alto de metano para la combustión (concentración de CH_4 superior $90\% \text{ v/v}$).

Respecto a la cuantificación de la fijación de CO_2 en el FBR, se propuso un método teórico de cuantificación de carbono contenido en la biomasa, como método eficaz en la evaluación de la tasa de biofijación en las microalgas. Tras la recopilación de información, este método sugiere que la biomasa, productividad y tasa de fijación de CO_2 aumenta cuando se incrementa el flujo de biogás con CO_2 . Una concentración de 45% de CO_2 fue elegida como la más efectiva para el crecimiento del cultivo y la producción de biomasa. Con base en lo anterior se calculó que el porcentaje de CH_4 [v/v] en el biogás mejorado fue de aproximadamente $86,49 - 92,47\%$ para la microalga *Chlorella vulgaris*.

PALABRAS CLAVE: dióxido de carbono, biogás, microalgas, fotobiorreactor.

INTRODUCCIÓN

Las tasas de producción de CH₄ y CO₂ en el planeta han cambiado en los últimos años presentando un incremento asociado al aumento de la población y contaminación en aguas residuales, al que corresponde un 4% de las emisiones totales nacionales¹⁷. Esta cifra es desalentadora puesto que dichos gases en la atmósfera se comportan como emisiones potenciales para el calentamiento global.

La responsabilidad que se asume para mitigar el impacto ambiental de estos gases de efecto invernadero (GEI), puede incluir el desarrollo de tecnologías que reconocen estos gases como una fuente de energía alternativa, permitiendo reducir la dependencia a los combustibles fósiles, y su producción se da como resultado la valorización energética de los residuos orgánicos biodegradables que se tienen actualmente. Este método es considerado una forma de reciclaje y mejora para el medio ambiente. Con base en lo anterior se sugiere una alternativa de diseño de un FBR para la purificación del metano contenido en una corriente de biogás, puesto que dicho proceso se encuentra en etapa de desarrollo y evaluación.

El presente proyecto en busca de procesos limpios, desarrollará una alternativa a nivel laboratorio para evaluar la capacidad de fijación de CO₂ de las microalgas en una corriente de biogás, aprovechando que se ha demostrado su fácil implementación en fotobiorreactores¹⁸. Según estudios realizados por diversos grupos, como es el caso del grupo GRESIA¹⁹, resaltan características de estos microorganismos como lo son su capacidad de aprovechar la luz, metabolizar el CO₂, adaptarse fácilmente al medio de cultivo y crecer rápidamente, generando así energía verde, la cual será el sustento científico/experimental para su desarrollo.

¹⁷ PULIDO, A *et al.* Inventario nacional y departamental de gases de efecto invernadero colombia. [en línea] IDEAM. 2016. [Consultado : 20 de enero de 2020] Disponible en: https://www.undp.org/content/dam/colombia/docs/cop22/IDEAM_TCNCC_INGEI_WEB.pdf

¹⁸ FERNANDEZ SEVILLA, Jose Maria. Fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. [en línea]. Universidad de Almería. 2014. [Consultado: 19 de febrero del 2020] Disponible en: <https://w3.ual.es/~jfernand/ProcMicro70801207/tema-1---generalidades/1-7-fotobiorreactores.html>

¹⁹ El Grupo de investigación en Recursos, Ecología, Desarrollo Sostenible e Ingeniería Ambiental (GRESIA) de la Universidad Antonio Nariño, está enfocado en la formulación y desarrollo de proyectos de bio-remediación de aguas, aire y suelos, aprovechamiento de residuos para prevenir o mitigar problemas ambientales o como fuentes alternativas de energía.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad de captura de CO₂ para la mejora del biogás, mediante un cultivo de la microalga *Chlorella Vulgaris* en un sistema de biorreactores a nivel laboratorio.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Construir los biorreactores UASB y FBR para el desarrollo del sistema.
2. Estabilizar el cultivo de microalgas a los parámetros adecuados para su adaptación y crecimiento en el FBR.
3. Proponer un método teórico para la biofijación lograda en las microalgas.

1. GENERALIDADES

1.1 MARCO CONCEPTUAL

1.1.1 Ciclo de Calvin-Benson. Ruta metabólica cíclica, conocida como la “fase oscura de la fotosíntesis”. Consiste en una serie de reacciones químicas que se producen en el estroma de los cloroplastos para poder realizar la fijación del carbono presente en el CO₂, con la finalidad de formar la glucosa que permite regenerar las moléculas necesarias para continuar con el ciclo²⁰.

1.1.2 Energía renovable. Las energías renovables son aquellas que se obtienen a partir de fuentes naturales que producen energía de forma inagotable e indefinida²¹.

1.1.3 Gases de efecto invernadero (GEI). Son aquellos gases que se acumulan en la atmósfera terrestre y que son capaces de absorber la radiación infrarroja del sol, aumentando y reteniendo el calor que se emite a la atmósfera²².

1.1.4 IDEAM. institución pública de apoyo técnico y científico al Sistema Nacional Ambiental, brinda información confiable, consistente y oportuna, sobre el estado y las dinámicas de los recursos naturales y del medio ambiente²³.

1.1.5 Iniciativa Global de Metano (IGM). asociación voluntaria y multilateral que tiene como objetivo reducir las emisiones de metano a nivel mundial y promover la disminución, recuperación y uso del metano como una fuente valiosa de energía limpia²⁴.

1.1.6 calorífico. En un combustible, es la cantidad de energía desprendida en la reacción de combustión, referida a la unidad de masa de combustible. Es la cantidad

²⁰ BRICEÑO, Gabriela. Ciclo de Calvin. Euston [en línea]. s.f. [Consultado: 22 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.euston96.com/ciclo-de-calvin/>

²¹ CUIDEMOS EL PLANETA. “Energías renovables”. [En línea]. 2018. [Consultado: 22 de enero de 2020] Disponible en: <https://www.cuidemoselplaneta.org/2018/01/energias-renovables.html>

²² BESTER. GASES DE EFECTO INVERNADERO [en línea]. BESTER. 2018. [Consultado: 24 de enero 2020] Disponible en: <https://bester.energy/blog/gases-de-efecto-invernadero-gei/>

²³ IDEAM. Acerca de la entidad. [en línea]. IDEAM. 2014. [Consultado: 24 de enero 2020]. Disponible en: <http://www.ideam.gov.co/web/entidad/acerca-entidad>

²⁴ IGM. el metano de las aguas residuales municipales: reducir emisiones, avanzar en la recuperación y aprovechar oportunidades documents/ww_fs_spa.pdf. [en línea] Global Methane Initiative. 2013. [Consultado: 24 de enero del 2020]. Disponible en: <https://www.globalmethane.org/>

de calor que entrega un kilogramo, o un metro cúbico, de combustible al oxidarse en forma completa²⁵.

1.1.7 Quimioestado: Es un tanque de producción que mantiene el crecimiento bacteriano en la fase de crecimiento exponencial²⁶.

1.3 ENERGIA ALTERNATIVA

La producción de residuos sólidos hace parte de un constante y directo crecimiento con la población, el desarrollo industrial y el aumento de lagunas residuales. La materia orgánica presente en estos rellenos o sumideros en ausencia de oxígeno generan un impacto ambiental que contribuye al incremento de los gases de efecto invernadero (GEI) en la atmósfera, como lo son la mezcla de dióxido de carbono (CO₂) y metano (CH₄), es decir, biogás. Actualmente se ha intensificado el interés en las fuentes y sumideros de gases, así como su disipación, por ejemplo, en países como Europa y Asia es empleada ampliamente la digestión anaerobia de estos residuos para la producción de biogás, sin embargo “en Latinoamérica, la producción de biogás tanto doméstica como industrial es escasa”²⁷ por consiguiente, se le apuesta a el uso de avances biotecnológicos que pretendan aprovechar al máximo el potencial de todos los recursos y desechos que habitan en la tierra, también conocidas como energías alternativas, generando bajos costos y recursos de fácil adquisición.

En este caso, el reciclaje de la materia orgánica es un fuerte impulso en la búsqueda de alternativas para la producción de energía, así como también es una vía de descontaminación y eliminación de residuos. El correcto manejo de los residuos orgánicos se logra a través de diferentes tratamientos que implican un reciclaje de

²⁵ ECURED. [en línea] Significados. s.f. [Consultado en: 24 de enero del 2020]. Disponible en: ecured.cu/Quimioestado

²⁶ BOTTA, Néstor Adolfo. PODER CALÓRIFICO. Red Proteger. [Consultado: Disponible en: https://www.redproteger.com.ar/poder_calorifico.html

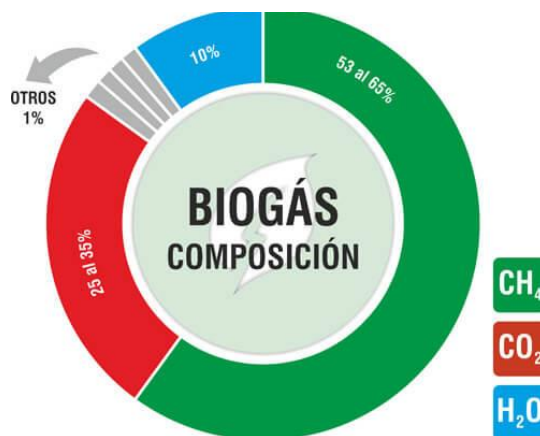
²⁷ JURADO ERAZO, Mario Alberto. Emisiones de gases de efecto invernadero: ¿las eco tecnologías una solución a un problema ambiental?. [en línea]. Universidad del atlántico. 2010. [Consultado: 24 de enero del 2020]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/280298630_Emisiones_de_Gases_de_Efecto_Invernadero_Las_Ecotecnologias_Soluciones_a_un_Problema_Ambiental

estas materias orgánicas, transformándolas en productos con valor agregado, como en este caso es el biogás.

1.3.1 El biogás como fuente de energía. A comienzos del siglo XVI el romano Plinio, realizó estudios e investigaciones en fenómenos naturales y geográficos, quién observó que emergían burbujas de las superficies de los pantanos, hoy conocidos como gases de combustión, siglos después, la Segunda Guerra Mundial trajo escases de combustibles fósiles y generó un aumento en la producción e implementación del metano (CH_4) como gas inflamable, sin embargo, la caída del precio a finales de esta guerra y su fácil acceso hizo que el CH_4 perdiera importancia. En la década de los setenta en India, se promovió la producción de biogás a partir de estiércol bovino. Así mismo, años más tarde en China, la construcción de biodigestores para la producción de biogás. Desde entonces este biocombustible aportó importancia en la optimización de residuos orgánicos y su aprovechamiento energético.

El biogás es una mezcla gaseosa compuesta en mayor cantidad por dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4) y trazas de otros gases como ácido sulfhídrico (H_2S), nitrógeno (N_2), hidrógeno (H_2) y vapor de agua (H_2O), los cuales pueden considerarse impurezas.

Figura 1. Composición Biogás.



Fuente: PROBIOMASA. Futuro renovable: biogás como fuente de energía. [en línea]. s.f. Disponible en: http://www.probiomasa.gob.ar/_pdf/Biogas.pdf

Su composición es variable pero en general sería:

Tabla 1. Composición del biogás.

Compuesto	Porcentaje (%)
Metano (CH ₄)	45 a 55
Dioxido de Carbono (CO ₂)	40 a 50
Nitrogeno (N ₂)	2 a 3
Ácido sulfhídrico (H ₂ S)	1,5 a 2

Fuente: elaboración propia, con base en el FAO. [en línea]. Manual del Biogás. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. [Consultado: 30 de enero del 2020]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/as400s/as400s.pdf>

La composición del biogás dependerá del sustrato del cual se obtenga y así mismo de los parámetros del proceso de digestión al cual habrá sido expuesto. Esta mezcla se comporta como un gas combustible, es decir, es inflamable cuando contiene un porcentaje superior al 45 % de metano, aportando un poder calorífico a este biocombustible entre 5500 Kcal/m³ a 6000 Kcal/m³, característica que lo hace un recurso renovable que satisface los requerimientos energéticos de la cotidianidad humana, combatiendo dos de los mayores problemas de la actualidad, la contaminación y la dependencia de combustibles fósiles.

1.3.2 Proceso de biodigestión. La digestión anaerobia es un proceso donde la materia orgánica se descompone en ausencia de oxígeno. Los microorganismos (bacterias) obtienen su oxígeno del mismo alimento atravesando las siguientes fases: licuefacción, gasificación y mineralización, obteniendo finalmente gas compuesto principalmente por metano y dióxido de carbono²⁸, que es utilizado para producir energía y, un lodo rico en nutrientes que suele ser utilizado como abono.

Dichas bacterias demandan un ambiente propicio para su cultivo, crecimiento, supervivencia y multiplicación, hasta alcanzar una población capaz de accionar el proceso mencionado. Las condiciones son:

- a. Verificar la ausencia de oxígeno, cumpliendo así el requisito de condición anaeróbica permitiendo la supervivencia de los microorganismos.
- b. En las condiciones de cultivo es importante destacar la temperatura, que experimentalmente se ha determinado que debe oscilar entre 30 y 35°C para alcanzar una buena producción.

²⁸ HERNANDEZ MUÑOZ, Aurelio. Depuración de aguas Residuales. España. 6ta Ed. Garceta. 2015. Capítulo 7. Tomo 1. ISBN: 8416228264

- c. Controlar continuamente el grado de acidez (pH). Si el ambiente es muy ácido o básico puede causar la muerte de los microorganismos. Debe de estar lo mas cercano a la neutralidad posible²⁹.

El proceso completo en la formación de biogás se puede dividir en tres pasos: hidrólisis, acidificación y metanización, en donde se involucran tres tipos de bacterias: bacterias fermentativas, bacterias acetogénicas y bacterias metanógenas.

1. Hidrólisis

Los compuestos orgánicos complejos, como las proteínas, lípidos e hidratos de carbono son transformados por acción de enzimas hidrolíticas en moléculas fácilmente degradables y solubles, como azúcares, alcoholes, aminoácidos, ácidos grasos de cadena larga entre otros. Es un proceso enzimático extracelular, en donde las bacterias responsables de su generación son hidrolítico-acidogénicas las cuales pueden ser estrictas o facultativas³⁰.

Estas bacterias eliminan cualquier traza de oxígeno presente en el proceso y asimismo generan el alimento que requieren los microorganismos de la siguiente etapa.

2. Acidificación

Los compuestos solubles de la etapa anterior se transforman en ácidos grasos volátiles mediante las bacterias productoras de hidrógeno, consecuentemente produciendo ácido acético (CH_3COOH), hidrógeno (H_2) y dióxido de carbono (CO_2) principalmente a partir de ácido propiónico, butírico y valérico³¹.

Estas bacterias son anaérobias facultativas y pueden crecer en condiciones ácidas. En esta etapa para producir ácido acético necesitan oxígeno y carbono. Para esto utilizan el oxígeno disuelto en la solución u oxígeno enlazado, por consiguiente las bacterias productoras de ácido crean una condición anaeróbica esencial para la

²⁹ LOPEZ VILLANUEVA, Berenice. Proyecto para la construcción de una planta de biogás a partir de desechos orgánicos en el distrito Federal. México. 2001.

³⁰ HERNANDEZ MUÑOZ, Aurelio. Depuración de aguas Residuales. España. 6ta Ed. Garceta. 2015. Capítulo 7. Tomo 1. ISBN: 8416228264

³¹ Ibid.

producción de metano. Adicionalmente reducen los compuesto de bajo peso molecular a alcoholes, ácidos orgánicos, dióxido de carbono y trazas de metano³².

3. Metanización

Es la etapa final del proceso, los compuestos de bajo peso molecular como los son el ácido acético, hidrogeno y dióxido de carbono, son transformados en metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂). El metano producido se encuentra en proporción del 70%. Éste proviene de la descarboxilación de ácido acético³³. En este proceso se reconocen dos tipos de microorganismo que intervienen en la degradación del ácido acético (bacterias metanogénicas) y los que consumen hidrógeno (metanogénicas hidrogenófilas). En condiciones naturales estas bacterias producirán metano en la misma proporción que se cumplan las condiciones anaerobias en el sistema.

1.3.4 Procesos de conversión de biomasa en energía. Existen diferentes métodos de transformación de la biomasa en energía. A continuación se expondrán los métodos más comunes en este momento: los termoquímicos y los biológicos.

a) Métodos biológicos

I. Fermetación alcohólica

Es un proceso biológico de fermentación en ausencia de oxígeno. Se origina por la presencia de microorganismos que procesan los hidratos de carbono (azúcares), transformado el azúcar en etanol (biocombustible).

II. Fermentación metánica

Por otro lado se encuentra la fermentación metánica, que permite la conversión de la materia orgánica en gas metano. Es una secuencia reactiva que produce metano durante la descomposición anaeróbica de desechos orgánicos. En la primera fase, las bacterias acidófilas producen ácido acético; en la segunda, las bacterias metanogénicas utilizan este ácido y el dióxido de carbono para generar

³² LOPEZ VILLANUEVA, Berenice. Proyecto para la construcción de una planta de biogás a partir de desechos orgánicos en el distrito Federal. México. 2001.

³³ HERNANDEZ MUÑOZ, Aurelio. Depuración de aguas Residuales. España. 6ta Ed. Garceta. 2015. Capítulo 7. Tomo 1. ISBN: 8416228264.

metano. En los digestores o fermentadores, la celulosa es la sustancia que se degrada en un gas, el cual contiene 60% de metano y 40% de dióxido de carbono. Para este proceso se requiere una temperatura de 30-35°C³⁴.

a) Métodos termoquímicos

Estos métodos transforman la biomasa utilizando como fuente principal el calor (energía térmica). Tienen gran trayectoria en biomasa seca, resaltando la madera y paja.

Los procesos implementados son:

I. Combustión

Es la oxidación de la biomasa en presencia del oxígeno del aire, en esta reacción química se libera gas carbónico y agua, generando usos como calor industrial y calefacción doméstica.

II. Pirólisis

Consiste en una combustión incompleta a temperaturas elevadas (500°C) de la biomasa en condiciones anaerobias. Su uso frecuente se basa en la producción de carbón vegetal. Este método libera un gas más conocido como gas pobre, compuesto por una mezcla de monóxido de carbono (CO), dióxido de carbono (CO₂), hidrógeno (H₂) e hidrocarburos ligeros. La composición de este gas hace que su poder calorífico sea bajo, por lo que algunas de sus aplicaciones pueden ser: impulsar un motor diésel y producir electricidad³⁵.

En la pirólisis también existe la llamada pirólisis flash. En este proceso se incrementa aún más la temperatura, alrededor de 1000 °C, obteniendo como ventaja la gasificación casi completa de la biomasa, optimizando de esta forma el “gas pobre”. Las unidades en donde se produce la pirólisis y gasificación se llaman gasógenos³⁶.

³⁴ MANILLA PÉREZ, Efraín. Diseño de un biorreactor para la producción de biogás a partir de desechos agrícolas. México, 2000.

³⁵ Ibid, Pág 57.

³⁶ CORONA, Ivan. Biodigestores. [en línea]. México. 2007. [Consultado: 1 de febrero del 2020] Disponible en:

1.4 BIORREACTORES

En el diseño de los reactores biológicos, al contrario de los químicos, la cinética no está determinada exclusivamente por la velocidad de reacción y las variables que la determinan. Aunque se puede describir de manera similar a la química, la cinética biológica también depende de características intrínsecas del organismo o cultivo tales como crecimiento y tasa de división celular. Por ende, uno de los primeros parámetros que se definen en el diseño de un biorreactor es el propósito de utilización; es decir, qué tipo de cultivo se va a utilizar, el modo de operar y el proceso de cultivo. El conjunto biorreactor- sistema de cultivo debe cumplir con los siguientes objetivos³⁷.

- Mantener el cultivo puro.
- Mantener un ambiente aséptico.
- Maximizar el rendimiento y la producción.
- Minimizar el gasto y los costos de producción.
- Reducir al máximo el tiempo.
- Mantener constante y homogénea la temperatura.
- Minimizar los gradientes de concentración de nutrientes.
- Prevenir la sedimentación y la floculación.
- Permitir la difusión de gases nutrientes a la velocidad requerida por el cultivo.
- Mantener las células uniformemente distribuidas en todo el volumen de cultivo.

1.4.1 Modo de operación de un sistema de cultivo. En el modo de operación de un biorreactor no solo influye el diseño propio del reactor, también se tienen en cuenta aspectos como el modelo cinético de crecimiento del cultivo y el proceso de producción. Se cuenta con tres modelos básicos de operación³⁸:

- Discontinuo (batch): funciona por lotes, sin alimentación (F); se coloca dentro del biorreactor la carga total de cada proceso (lote) de cultivo o fermentación y se

<http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/362/Biodigestores.pdf?sequence=1>

³⁷ UNIVERSIDAD VERACRUZANA. Biorreactores y su aplicación. [en línea] Bioingeniería. México. 2014 [Consultado: 1 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://sites.google.com/site/bioingenieriauv15/unidad-2-biorreactores-y-su-aplicacion>

³⁸ UNIVERSIDAD VERACRUZANA. Biorreactores y su aplicación. [en línea] Bioingeniería. México. 2014 [Consultado: 1 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://sites.google.com/site/bioingenieriauv15/unidad-2-biorreactores-y-su-aplicacion>

deja llevar a cabo el proceso productivo o la fermentación por el tiempo que sea necesario; el cual se denomina tiempo de retención.

- Semi-continuo (fed-batch): funciona por lotes, con alimentación de entrada (F1); se alimenta una línea para que el sistema de cultivo tenga un producto (biomasa) con un crecimiento exponencial y aumente su productividad.
- Continuo (continuos): se alimenta con una línea de entrada (F1) y se drena una línea de salida (F2) o lavado; de manera que los flujos de ambas líneas sean iguales y su producción sea continua.

Por consiguiente, al operar un biorreactor, ya sea, discontinuo, semi-continuo o continuo, automáticamente se puede determinar el modo de cultivo del sistema, definir los parámetros y las características de diseño que intervienen en el proceso productivo del sistema.

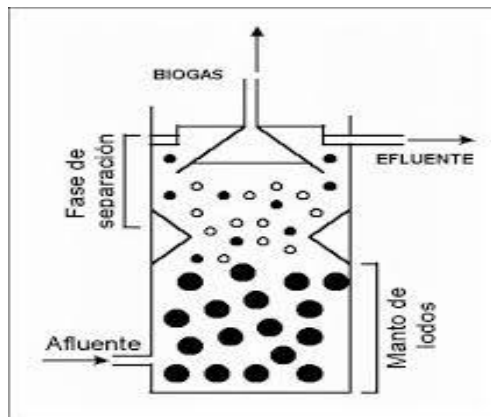
1.4.2. Tipos de biorreactores. Teniendo en cuenta las premisas anteriores, en el tratamiento de aguas residuales se emplean reacciones químicas y biológicas que transcurren bajo condiciones controladas en el interior de unidades o tanques llamados reactores. Las principales clases de reactores actualmente empleados son³⁹:

- a. Reactor batch: Es un reactor donde no existe un flujo de entrada ni de salida, es simplemente un reactor con un agitador que homogeneiza la mezcla, permitiendo que ocurra una reacción.
- b. Reactor de mezcla completa (CSTR): Estos reactores funcionan en estado estacionario, en este tipo de reactor se considera que en cualquier punto del tanque la velocidad de reacción es la misma y suele evaluarse en su corriente de salida.
- c. Reactor de flujo pistón (PFR): Trabajan en estado estacionario, se usa para modelar transformaciones químicas de compuestos que se transportan en sistemas que parecen tuberías. Su conversión se da en función de su posición.
- d. Reactor de lecho empacado: Estos reactores operan con partículas de catalizador ubicadas en uno o más tubos empacados que operan de forma vertical. Las partículas de catalizar pueden ser enzimas, por ejemplo.

³⁹ Ibid.

- e. Reactor de lecho fluidizado (FBR): Se puede usar para llevar a cabo una variedad de reacciones químicas multifásicas. En este tipo de reactor, se pasa un fluido, ya sea gas o líquido, a través de un material granular sólido a altas velocidades para suspender el sólido y hacer que se comporte como si fuera un fluido.
- f. Reactor Anaeróbico de flujo ascendente con manto de lodos (UASB): Es un proceso simple. Las aguas residuales entran en el reactor por el fondo, y fluyen hacia la superficie del tanque. La capa de lodo suspendida en el fondo filtra las aguas residuales, tratándolas. El gas que asciende hacia la superficie es recolectado en un domo y puede ser usado como fuente de energía (biogás). Se debe mantener una velocidad ascendente de 0.6 a 0.9 m/h para mantener la capa de lodos en suspensión⁴⁰.

Figura 2. Diseño de un UASB



Fuente: AKVOPEDIA. Reactor anaeróbico de flujo ascendente con manto de lodos. [en línea] s.f. Disponible en: https://akvopedia.org/wiki/Reactor_Anaerobico_de_Flujo_Ascendente_con_Manto_de_Lodos

⁴⁰ AKVOPEDIA. Reactor anaeróbico de flujo ascendente con manto de lodos. [en línea] s.f. [Consultado: 4 de febrero del 2020] Disponible en: https://akvopedia.org/wiki/Reactor_Anaerobico_de_Flujo_Ascendente_con_Manto_de_Lodos

Ventajas:

- Alta reducción de la materia orgánica.
- Puede soportar un elevado índice de carga orgánica (hasta 10 kg de DBO/m³/d) y de carga hidráulica⁴¹.
- Baja producción de lodos.
- Se puede usar el biogás como fuente de energía (debe ser purificado).

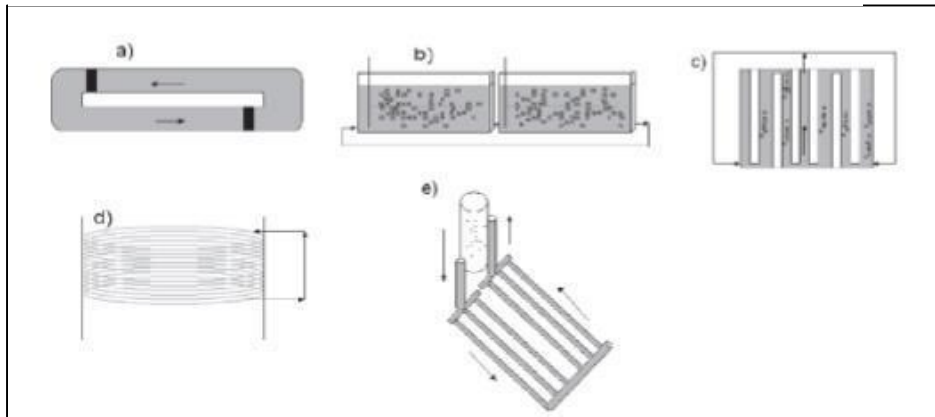
1.3.3. Tipos de fotobiorreactores. Los fotobiorreactores (FBRs) son dispositivos destinados al cultivo masivo de microalgas. Para ello, tienen que mantener condiciones estables (temperatura, pH, concentración de O₂) y proporcionar los nutrientes necesarios para el crecimiento incluyendo la luz. En la industria se encuentran FRBs que funcionan como sistemas abiertos y sistemas cerrados.

En los sistemas abiertos el cultivo de microalgas está en contacto directo con el ambiente. Se caracterizan por ser instalaciones económicas. Sin embargo, su productividad es baja debido a que el control no es adecuado y así mismo se encuentran propensos a la contaminación del medio. Por otra parte, los sistemas cerrados se caracterizan principalmente porque su estructura es totalmente aislada del ambiente, tienen un mayor control de las condiciones de crecimiento para las microalgas; por lo tanto, proporcionan una mayor productividad y eficiencia en el crecimiento de las microalgas. En el diseño se deben tener presentes las siguientes consideraciones:

- La trayectoria de la luz deber ser pequeña.
- Evitan la acumulación de sustancias inhibitorias, solo si se mantiene una alta densidad celular.
- Aseguran un mezclado uniforme para garantizar la luz constante de todas las células.
- Controlan las condiciones de temperatura y pH óptimos de crecimiento.
- La columna debe ser por lo menos 2 veces mayor de su diámetro, solo si el reactor es en columna de burbujeo.

⁴¹ AKVOPEDIA. Reactor anaeróbico de flujo ascendente con manto de lodos. [en línea] s.f. [Consultado: 4 de febrero del 2020] Disponible en: https://akvopedia.org/wiki/Reactor_Anaerobico_de_Flujo_Ascendente_con_Manto_de_Lodos

Figura 3. Tipos de fotobiorreactores



Fuente: FERNANDEZ ANGEL, Miguel. Diseño, montaje y caracterización de fotobiorreactores airlift para el cultivo de la microalga *Chlorella sorokiniana*. [en línea]. Universidad EAFIT, Departamento de Ingeniería de Procesos. 2013. 11 p. [Consultado: 10 de Febrero de 2020] Disponible en: https://repository.eafit.edu.co/xmlui/bitstream/handle/10784/8219/Miguel_FernandezAngel_2013.pdf;jsessionid=69533DE66B72C24767166F0803E77073?sequence=2

- a. FBR de tipo carrusel: Generalmente se construyen con configuraciones circulares o longitudinales, son económicos y de fácil construcción. Están conformados por aspas (bloques negros) que generan la circulación del medio. Una de sus desventajas es que presentan un bajo aprovechamiento de la luz, son propensos a sufrir contaminación y una alta evaporación de agua afectando la producción de la biomasa⁴².
- b. FBR de placas planas: Se caracterizan porque en ellos se busca el uso más eficiente de luz con distribución uniforme. Su agitación se puede suministrar ya sea por burbujeo a través de uno de sus lados o por rotación mecánica. Los materiales comúnmente usados en su diseño son vidrio y policarbonato⁴³.
- c. FBR con iluminación interna: Los bloques blancos corresponden a zonas de luz. Consisten en columnas cilíndricas fabricadas generalmente en polietileno o vidrio permitiendo una buena penetración de la luz, se introduce el gas por la

⁴² MORAN, D. Bioket the global conference dedicated to processes and technologies applied to biomass. [en línea]. s.f. [Consultado: 10 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://biorrefineria.blogspot.com.co/2014/06/2014-12fotobiorreactores.htm>

⁴³ Ibid.

parte interior de la columna, generando en su interior gran turbulencia y favoreciendo el intercambio del gas⁴⁴.

- d. FBR de serpentín: Contienen una entrada de energía baja pero una alta velocidad de mezcla. Presenta un tubo interno controla la intensidad de luz y trayectoria de ésta para mantener la temperatura adecuada. Está conformado por una serie de tubos generalmente de polietileno, los cuales se encuentran enrollados en un armazón circular abierto, y acoplados a una torre de intercambio de gas y un intercambiador de calor⁴⁵.
- e. FBR Airlift: Constituyen una amplia familia de reactores de al menos dos fases, con una fase líquida a través de la cual se burbujea aire. Frecuentemente cuentan con sólidos suspendidos. Se diferencian de las de columnas de burbujeo porque en ellos las corrientes de flujo ascendentes se separan físicamente de las descendentes. Para ello, cuentan con varias estructuras bien definidas⁴⁶:
 - Columna de burbujeo (riser o upflow): guía las burbujas hacia el separador de gases, el flujo es ascendente.
 - Columna de flujo descendente (downcomer o downflow): sin burbujas; como su nombre lo indica, en esta parte se establece un flujo descendente debido a una mayor densidad aparente que en el riser.
 - Separador de gases: ubicado en el extremo superior del reactor, es el lugar donde ocurre la separación de las burbujas que llegan por el riser, éste se une con el downcomer.
 - Base: parte inferior del reactor, allí se unen, una vez más, el riser y el downcomer. En esta parte se introducen las burbujas por el riser.

Las ventajas que presenta la implementación de los fotobiorreactor son:

⁴⁴ MERIDA, L. G; QUEIROZ ZEPKA, Leila y E. J.-L. Photobioreactor: Tool for mass cultivation of Cyanobacteria. Universidad de Biología Aplicada, Departamento de Biología. Universidad de Carabobo, Universidad Federal de Santa María, Pág.14.

⁴⁵ Ibid, Pág.16.

⁴⁶ Ibid, Pág.16.

- El burbujeo de aire a través del medio líquido facilita la transferencia de masa, enriqueciendo el medio con algún gas o por lo contrario despojándolo de gases residuales de reacción.
- El bajo consumo energético, la facilidad de construcción y de escalamiento han hecho que estos reactores sean extensamente usados para tratamientos de agua residuales y fermentaciones aerobias.
- El reemplazo de una agitación mecánica por una neumática. Esta cualidad ha sido aprovechada para cultivar células o tejidos frágiles que se estropearían en reactores agitados con aspas.
- Construcción sencilla, de fácil mantenimiento y gran eficiencia energética por lo que su diseño no involucra ejes o motores eléctricos.

1.4 MICROALGAS

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos capaces de transformar la energía solar en energía química, producen su alimento a partir de sustancias inorgánicas como CO_2 libre y iones de bicarbonato (HCO_3^-) acumulados en la célula de depósito de carbono inorgánico para la realización de la fotosíntesis.

Existen diferentes vías de asimilación de carbono en las microalgas:

- i. A través de la membrana plasmática, capturan y asimilan directamente el CO_2 .
- ii. A partir de iones bicarbonato, la enzima anhidrasa carbónica transforma el CO_2 .
- iii. Por medio de la intervención de las enzimas anhidrasa carbónica y rubisco, existe un transporte directo de bicarbonato a través de la membrana plasmática. Es limitada por la producción de CO_2 .

Estos microorganismos se clasifican según su metabolismo:

1. Autótrofas: Son aquellas que tienen la capacidad de emplear como fuente de carbono el CO_2 proveniente de la atmósfera o de otro tipo de compuestos. Estas son capaces de soportar hasta unas 150000 ppm de CO_2 en el aire, no obstante,

hay microalgas como el género *Chlorella*, que posee una capacidad de soportar hasta 4000000ppm⁴⁷.

2. Fotoautótrofas: Aquellas capaces de obtener la energía a partir de la presencia de luz, su única fuente de carbono es el CO₂, compuesto que usan para multiplicarse.

3. Mixotróficas: Este tipo de microalgas posee la capacidad de crecer bajo condiciones de procesos tanto heterótrofos como autótrofos, de forma que su fuente de energía puede ser luz o materia orgánica y su fuente de carbono puede ser obtenida de CO₂ o de compuestos orgánicos.

4. Heterótrofas: Son aquellas que usan para su nutrición compuestos orgánicos y algunas tiene la facilidad de crecer en ausencia de luz, por ejemplo, la microalga *Chlorella Protothecoides*⁴⁸.

Debido a esto, y a que poseen una gran cantidad de aplicaciones tanto para las líneas de investigación como para los diferentes tipos de industria, en los últimos años se han implementado tecnologías que utilizan microalgas para el beneficio del medio ambiente, reduciendo la carga presente de CO₂ y al mismo tiempo, al ser humano mediante procesos como la producción de energía, generación de biocombustibles como el bioetanol, bi-hidrogeno y biometano.

Ventajas de su implementación:

- Su tamaño reducido (5–50 µm en promedio).
- Ausencia de estructuras de soporte (raíces, tallos, ramas etc.)
- Fácil adaptación y velocidad de crecimiento.
- La capacidad de crecer en medios líquidos; facilitando su adaptación en los sistemas de producción. No necesitan tierra cultivable.
- Contienen un alto valor nutricional, puesto que, permiten extraer compuestos como: Omega 3, 6 y 9, proteínas, aminoácidos, potentes antioxidantes y aceites naturales esenciales y vitaminas⁴⁹.

⁴⁷ ALGAE. Suministro de investigación de algas [en línea]. s.f. [Consultado: 14 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://algaeresearchsupply.com/products/algae-culture-chlorella-vulgaris>

⁴⁸ Ibid.

⁴⁹ ALGAE. Suministro de investigación de algas [en línea]. s.f. [Consultado: 14 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://algaeresearchsupply.com/products/algae-culture-chlorella-vulgaris>

- Al ser microorganismos autótrofos presentan bajos costos durante su cultivo, solo requieren agua, luz (como fuente de energía) y CO₂ (fuente de carbono)⁵⁰.
- Alta eficiencia en la fijación de CO₂. “la cual realizan 10 veces más rápido que una planta normal”⁵¹.

1.4.1 Parametros de cultivo. Gran cantidad de factores deben tenerse en cuenta a la hora de realizar un cultivo de microalgas, estos factores brindan la seguridad de obtener un crecimiento óptimo de estas:

1.4.1.1 Elección de la cepa. La elección de la especie de microalga a utilizar depende de factores como la finalidad del proceso al que se requiere llegar, ya sean, fines fitorremediadores o ganancia en la cantidad de biomasa producida. En este caso las microalgas deben cumplir con las características correspondientes: alta tasa de crecimiento, capaces de ajustar su composición bioquímica a las condiciones de cultivo, y pueden ser explotadas para incrementar el contenido en una determinada sustancia y así aumentar la productividad del sistema.

1.4.1.2 Temperatura. Es un factor importante en la producción algal, su crecimiento es directamente proporcional a la temperatura implementada, a pesar de que varíe para cada especie. Si este parámetro se encuentra por encima del óptimo, la fotorrespiración de las algas aumenta, impactando la productividad del cultivo en su totalidad. La temperatura adecuada oscila entre 16 - 28 °C⁵².

1.4.1.3 pH. Este parámetro puede controlarse con la inyección de CO₂ o con la adición de ácido o base al medio; varía en el sistema por la influencia de diversos factores como lo son: la respiración, la producción algal, la actividad microbiana, la eficiencia en la adición de CO₂, la alcalinidad y la composición iónica del medio de cultivo.

1.4.1.4 Luz e intensidad lumínica. Este parámetro es uno de los más importantes a considerar en un cultivo de microalgas. Cuentan con un sistema

⁵⁰ Ibid.

⁵¹ SÁEZ VEGA, Alex. Microalgas para reducir emisiones de CO₂. [en línea]. Universidad EAFIT. Medellín. 2017. [Consultado: 17 de febrero del 2020]. Disponible en: <http://www.eafit.edu.co/investigacion/revistacientifica/edicion-162/Paginas/microalgas-para-reducir-emisiones-de-co2.aspx>

⁵² GONZALES, A. ¿Qué son las microalgas? Interés y uso. Fichas de transferencia. [en línea]. Fundación CAJAMAR. 2015. Página 6. [Consultado: 17 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://www.cajamar.es/pdf/bd/agroalimentario/innovacion/investigacion/documentos-y-programas/microalgas-1444391623.pdf>

intracitoplasmático altamente desarrollado, ideal para realizar el proceso de fotosíntesis, ruta metabólica preferida por estos microorganismos, así mismo, las microalgas cuentan con altas concentraciones de pigmentos como: clorofila *a*, carotenoides y ficobilinas, siendo las últimas, pigmentos azules y rojos usualmente presentes.

Las microalgas obtienen la absorción de la luz espectral en regiones de 665 a 680 nm, donde la luz es mejor absorbida por la clorofila *a*, pero gracias a las ficobilinas este rango aumenta, ya que pueden absorber eficientemente la luz en regiones de 560 a 620 nm, lo que indica una alta actividad fotosintética⁵³, la cual se intensifica con el aumento de la intensidad lumínica hasta alcanzar la máxima tasa de crecimiento. “Los cultivos con mayor densidad celular (>3 g/L) son capaces de utilizar la luz incidente con mayor eficiencia que los cultivos convencionales diluidos”⁵⁴.

1.4.1.5 Nutrientes. Después del carbono, el nitrógeno es el nutriente más importante para el desarrollo de las microalgas, se incorpora como nitrato (NO₃⁻) o como amonio (NH₄⁺). También sirve como factor crítico para regular el contenido de lípidos de las microalgas, estas pueden presentar un contenido lipídico aproximadamente del 20%.

1.4.1.6 Intensidad de mezclado en el cultivo (agitación). Este factor depende de la especie de microalga que se esté trabajando, pero se considera ideal el uso de un sistema de burbujeo para facilitar la dispersión medio y así constatar la transferencia de masa entre la fase gaseosa y acuosa del sistema⁵⁵.

1.4.1.7 Dioxido de carbono (CO₂). Estudios han demostrado la capacidad que poseen las microalgas para la fijación de CO₂ a partir de fuentes gaseosas y la adición de este gas al cultivo ha demostrado aumentar el crecimiento y la productividad del cultivo.

⁵³ JACOB LOPES, Eduardo y TEIXEIRA Telma. Microalgae based systems for carbon dioxide sequestration and industrial biorefineries.[en línea]. Biomass IntechOpen. 2010. p.136 [Consultado el 17 de febrero del 2020]. Brasil. DOI: 10.5772/9772

⁵⁴ CONTRERAS, F. Citado por: PÉREZ Alexis y LABBÉ José. Microalgas, cultivo y beneficios. [en línea]. Chile. 2014. [Consultado: 16 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v49n2/art01.pdf>

⁵⁵ PÉREZ Alexis y LABBÉ José. Microalgas, cultivo y beneficios. [en línea] Revista de biología Marina y Oceanografía. Vol 49. Páginas 158-160. Chile. 2014. [Consultado: 16 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v49n2/art01.pdf>

1.4.2 Proceso de biofijación de carbono. La ruta metabólica preferida por las microalgas, es la fotosíntesis proceso en el que intervienen el CO₂ y H₂O en presencia de energía lumínica, con el fin de obtener glucosa y oxígeno como fuente de energía. Como se muestra en la siguiente reacción:

Ecuación 1. Reacción general de la fotosíntesis.



Fuente: KHAN ACADEMY. ¿Qué es la fotosíntesis?. [en línea]. 2019. [Consultado: 16 de febrero del 2020] Disponible en: <https://es.khanacademy.org/science/biology/photosynthesis-in-plants/introduction-to-stages-of-photosynthesis/a/intro-to-photosynthesis>

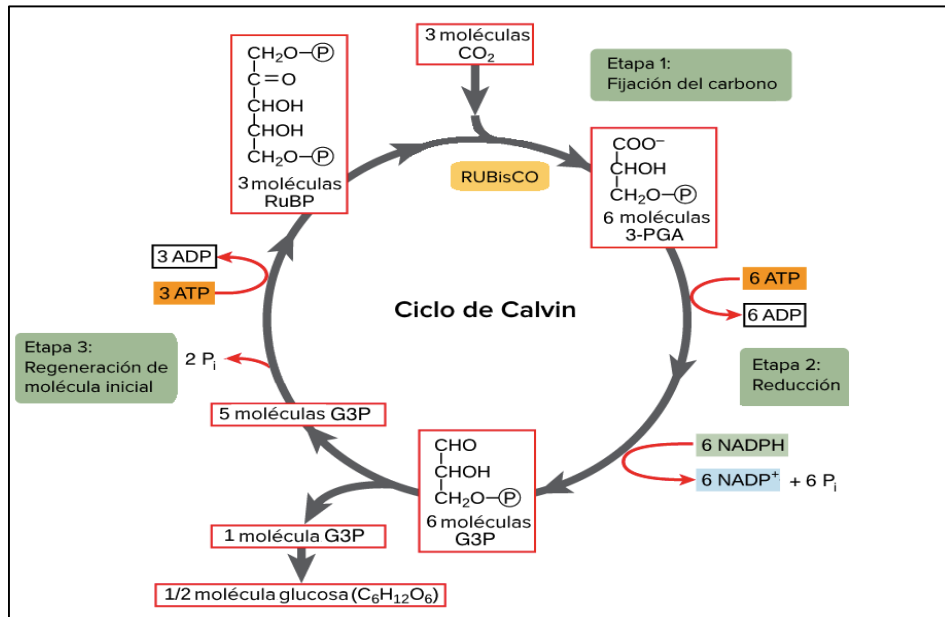
El proceso fotosintético de las microalgas consiste en dos etapas: una reacción fotoquímica y una reacción de fijación de carbono.

- En la etapa fotoquímica, la energía lumínica es absorbida por los pigmentos fotosintéticos descritos previamente, logrando la excitación de las moléculas de clorofila *a* y por consiguiente, desencadenando a los electrones excitados, generando energía suficiente (luz) para realizar la oxidación fotoquímica del H₂O. En base a esta oxidación, el agente oxidante NADP⁺ se reduce a NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) liberando oxígeno (O₂) y parte de la energía liberada en este proceso se incorpora al ATP en el proceso de fosforilación durante el transporte de electrones.
- En la segunda etapa, por el contrario la reacción de fijación del carbono no depende directamente de la luz, por lo que se conoce como la fase oscura de la fotosíntesis. En esta etapa, el dióxido de carbono (CO₂) se incorpora a la ribulosa 1,5 difosfato (rubisco). El producto de la reacción se divide en tres moléculas de carbono, ácido fosfoglicérico (PGA) y la reducción del PGA causada por el electrón transportador NADPH, desencadenando una serie de azúcares fosforilados intermedios y finalmente a glucosa⁵⁶.

⁵⁶ JACOB LOPES, Eduardo y TEIXEIRA Telma. Op. Cit, p.137.

La fijación de dióxido de carbono se da mediante el ciclo de Calvin-Benson como se puede observar en la **figura 4**.

Figura 4. Ciclo de Calvin-Benson



Fuente: KHAN ACADEMY. El ciclo de Calvin. [en línea] 2017. [Consultado el 18 de febrero del 2020] Disponible en: <https://es.khanacademy.org/science/biology/photosynthesis-in-plants/the-calvincycle-reactions/a/calvin-cycle>

La vía reductora de pentosa fosfato sintetiza aminoácidos y componentes celulares esenciales, pero bajo condiciones de iluminación intensiva, se forman azúcares y almidón, indicando que una saturación en la iluminación puede exceder la tasa de asimilación del nitrógeno, por lo que al fijar del dióxido de carbono (CO₂) se puede generar un exceso de carbono y energía que se almacenan en forma de glucógeno, principal producto de reserva, pues puede soportar un metabolismo oscuro y proporcionar la energía suficiente para mantener los procesos celulares esenciales en la oscuridad hace convirtiéndose en glucosa-6-fosfato, que luego se metaboliza a través de las vías respiratorias, por lo que las microalgas dependen directamente del oxígeno (O₂) y su vía principal es el ciclo oxidativo de la pentosa-6-fosfato⁵⁷.

Para optimizar la inoculación y el secuestro de CO₂ el cultivo se lleva a cabo en fotobiorreactores, mediante estos se verifica la densidad celular del cultivo por ende

⁵⁷ Ibid. Pág.138.

la tasa de biofijación. En este sistema se controlan las condiciones de cultivo (luz, temperatura, pH, nutrientes) para mejorar la transferencia de CO₂ y para evitar la contaminación.

1.4.3 Sistema de cultivo. El medio de cultivo es una disolución acuosa que transporta los nutrientes inorgánicos que necesitan las microalgas para su crecimiento⁵⁸. En éste se deben adecuar los parámetros necesarios como la concentración adecuada de nutrientes, la resistencia al estrés, los requerimientos lumínicos, la proporción de la superficie iluminada-volumen del reactor que determina la velocidad de crecimiento, la inclinación; el tipo de sistemas de mezcla y dispersión de gases y la transparencia y durabilidad del material. El medio de cultivo se elige dependiendo de la finalidad del proceso que se vaya a ejecutar.

En la industria se pueden encontrar dos tipos de sistemas de cultivo, están los sistemas abiertos. Estos sistemas tienen flujos de entrada y salida, que representan intercambios de materia, energía o información con sus alrededores, por ende cabe resaltar su baja productividad y fácil contaminación por su constante exposición al ambiente. Por otro lado, los sistemas cerrados, son estructuras totalmente aisladas del ambiente externo, las condiciones del sistema sólo dependen de variables y factores contenidas dentro de él, por ende, permite una fácil adaptación de las microalgas, proporcionando una mayor productividad y eficiencia en el crecimiento.

A partir de esto en el diseño de un sistema cerrado por su optimización en el cultivo de microalgas se tienen presentes las siguientes consideraciones:

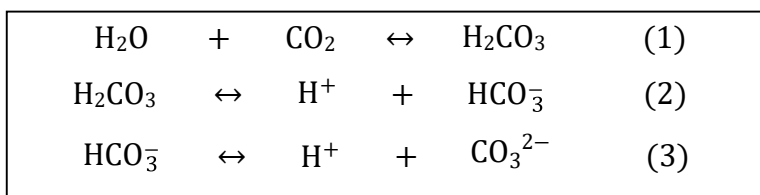
- La trayectoria de la luz debe ser pequeña.
- Se debe mantener una alta densidad celular.
- Asegurar un mezclado uniforme para garantizar la exposición lumínica constante de todas las células.
- Control de temperatura y pH óptimos de crecimiento.

⁵⁸ FERNANDEZ SEVILLA, Jose Maria. Fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. [en línea]. Universidad de Almería. 2014. [Consultado: 19 de febrero del 2020] Disponible en: <https://w3.ual.es/~jfernand/ProcMicro70801207/tema-1---generalidades/1-7-fotobiorreactores.html>

1.4.4 Inyección de CO₂. Existe una ruta biológica denominada mecanismo de concentración de carbono (MCC). Debido a este proceso las microalgas logran adaptar diferentes concentraciones de carbono, su función principal reside en aumentar o concentrar niveles de carbono inorgánico intracelular en los sitios de carboxilación fotosintética, así mismo, se compensan las posibles limitaciones en el suministro de CO₂ reduciendo la tasa fotosintética, convirtiendo este gas en la principal fuente de carbono fotosintético en la alimentación del cultivo algal, esta transferencia puede generarse de manera continua o intermitente desde la fase gaseosa a la fase líquida del medio de cultivo⁵⁹.

La composición de éste gas de combustión al ser inyectado al fotobiorreactor, genera un intercambio continuo de moléculas entre las fases líquida y gaseosa hasta alcanzar la saturación en la fase líquida, en este momento las dos fases entrar en equilibrio evitando que se produzcan cambios en las concentraciones del gas. Dichas concentraciones dependerán directamente del pH y la temperatura del cultivo⁶⁰.

Ecuación 2. Reacción del CO₂ en la fase líquida del cultivo



Fuente: GOMEZ, Ana y JAIMES, Nestor. Estudio de la incidencia del suministro de CO₂ en el crecimiento de las microalgas en u FBR. [en línea]. Bucaramanga. 2010. p.10. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/328413546/133>

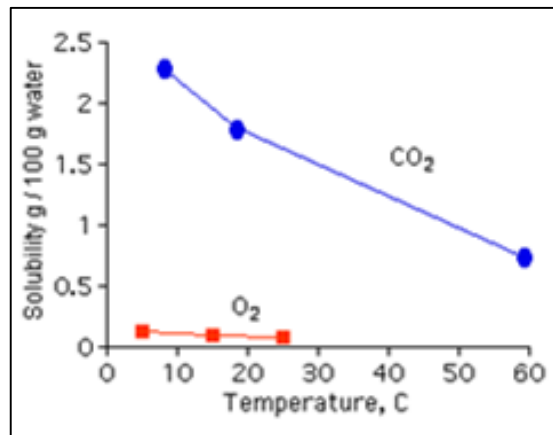
En este orden, la reacción (1) corresponde al equilibrio producido por la disolución del CO₂ en el agua formando ácido carbónico (H₂CO₃), el cual se disocia casi instantáneamente en iones de HCO₃⁻ (bicarbonato) y CO₃²⁻ (carbonato) reacción (2) y (3). La concentración total de carbono inorgánico necesario para la fotosíntesis es el resultado de la suma de los productos obtenidos en cada reacción.

⁵⁹ Ibid. p.139

⁶⁰ CLEMENT-LAROSIERE, Barbara. Etude de la croissance de Chlorella vulgaris en photobioréacteur batch et continu, en présence de concentrations élevées de CO₂. [en línea]. Autre. Ecole Centrale, Paris. 2012. p.9 [Consultado: 21 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00697006/document>

La absorción de CO_2 en el medio de cultivo depende principalmente de tres factores: la fuerza impulsora (agitación), el tiempo de retención del gas y el coeficiente de transferencia de masa volumétrica (K_{La}). Este último depende a su vez, de factores como el flujo del fluido, la geometría del inyector del gas y de propiedades físicas del fluido como la solubilidad, que, pese a ser mucho mayor para el CO_2 que para el O_2 tal como lo indica la **figura 5**, ambos gases presentan una baja solubilidad en medios acuosos por lo que resulta necesaria una inyección continua de estos en el medio⁶¹.

Figura 5. Solubilidad de gases vs temperatura



Fuente: MENDEZ, Solubilidad. [en línea]. s.f.
Disponible en: <https://sites.google.com/site/aleprocesos/producto-de-solubilidad>.

Finalmente, la temperatura y la concentración de las sales disueltas es inversamente proporcional a la concentración de CO_2 disuelto en el cultivo, por lo que para incrementar estos valores es necesario aplicar niveles más altos de saturación del medio acuoso y una temperatura más bien baja, además incursionar un sistema de agitación que mejore la transferencia de masa entre las distintas fases.

⁶¹ JACOB LOPES, Eduardo y TEIXEIRA Telma. Op. Cit, p.139.

1. METODOLOGÍA

Como primer paso para realizar la construcción de los biorreactores, se efectuó la búsqueda de información de diferentes fuentes bibliográficas para realizar una compilación del proceso de construcción y parámetros de operación empleados en cada trabajo de investigación, por consiguiente, se escogieron los siguientes artículos para definir las diferentes especificaciones y condiciones de trabajo para cada reactor.

La primer fuente bibliográfica tenida en cuenta fue el “Manual de construcción y mantenimiento de reactor UASB a escala laboratorio”⁶² realizado por la Universidad Nacional y la Universidad Antonio Nariño. Los autores llevaron a cabo la construcción de un reactor UASB (reactor anaerobio de flujo ascendente) con materiales de policloruro de vinilo (PVC) y botellas PET (tereftalato de polietileno) en donde resaltar características de dichos materiales, como poseer aislamiento térmico y, por lo tanto, garantizan un control y seguimiento de la temperatura en los reactores, del mismo modo, son materiales de fácil implementación en el laboratorio, de fácil adquisición y de rápida limpieza. El reactor UASB contaba con un volumen total de 1,5L, temperatura con un valor de 36°C controlada mediante un sistema de control de temperatura compuesto por un cable de resistencia y una sonda de temperatura ubicada dentro del reactor, el valor del pH oscilaba entre 6.8 y 7.5. Asimismo, el trabajo de investigación de Vidal, M.C. Diez⁶³ garantiza la producción de biogás en este diseño de reactores UASB e indica que se deben establecer las condiciones de operación (caudal, tiempo de retención hidráulico, periodicidad de los muestreos) y por consiguiente, se debe hacer un monitoreo constante a los parámetros establecidos durante la operación del reactor.

Como tercera fuente bibliográfica, el artículo “Microalgas, cultivo y beneficios”⁶⁴ de los autores Alexis Hernández y José I Labbé, sugiere que los diseños tubulares en fotobiorreactores cerrados son apropiados para mantener el cultivo de microalgas totalmente aislado del ambiente exterior. Teniendo en cuenta los diferentes parámetros (nutrientes, la especie de la microalga, luz, pH, agitación, suministro de CO₂ y temperatura) para lograr el crecimiento y desarrollo de la microalga dentro

⁶² UNIVERSIDAD NACIONAL, UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO. Manual de construcción y mantenimiento de reactor UASB a escala laboratorio. 2019. Capítulo 1.1.[Archivo PDF]

⁶³ Vidal, M.C. Diez, Methanogenic toxicity and continuous anaerobic treatment of wood processing effluents, J. Environ. Manage. 2005. 317–325.

⁶⁴ HERNÁNDEZ PÉREZ, Alexis y LABBÉ, José I. Microalgas, cultivo y beneficios: Revista de biología marina y oceanografía. Chile. 2014. vol. 49, nro. 2. pp. 157-173 [Consultado: 18 de marzo del 2020] Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v49n2/art01.pdf>

del fotobiorreactor, del mismo modo, en el trabajo de investigación de Sanches Alison⁶⁵ sugieren construir el FBR con materiales de polivinilcloruro (PVC) y tereftalato de polietileno (PET), los cuales poseen características como lo es la transparencia, puesto que en el proceso a desarrollar se quiere obtener eficiencia fotosintética, y del mismo modo, permitan control y seguimiento de los parámetros mencionados anteriormente y garanticen el desarrollo del cultivo algal junto con la transferencia de masa dentro del fotobiorreactor.

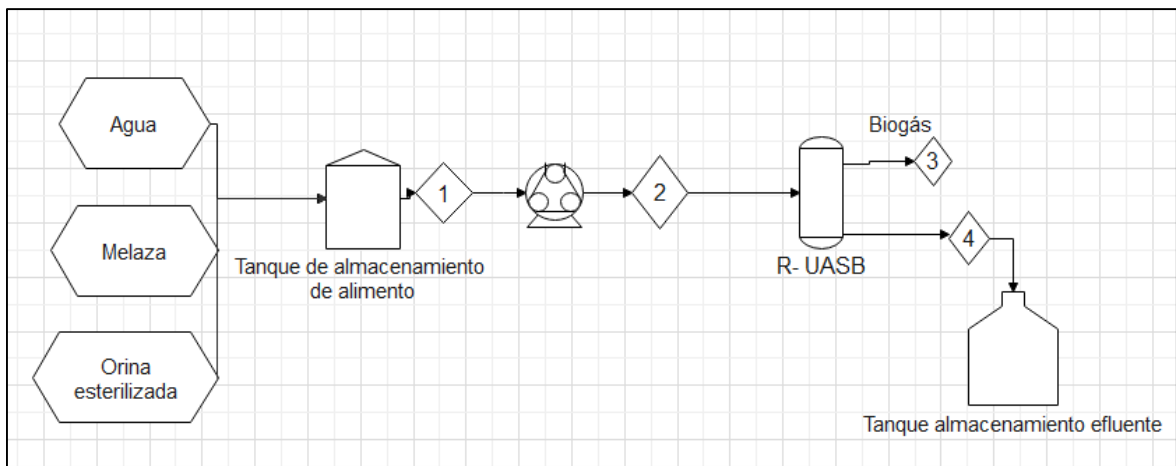
2.1 DESARROLLO DEL MONTAJE PARA EL SISTEMA DE BIORREACTORES

Con base en la revisión bibliográfica mencionada anteriormente, se realizó la construcción de dos biorreactores para el montaje del sistema, un reactor tipo UASB (*up flow anaerobic sludge blanket*) y un fotobiorreactor tipo *air-lift* (reactores de tiro o corriente de aire) de tubos concéntricos, su desarrollo paso a paso se documenta a continuación.

2.2 CONSTRUCCIÓN DE BIORREACTOR UASB

Con el fin de dar claridad al proceso realizado para el reactor UASB, se elaboró un diagrama de proceso que se muestra a continuación, ver **figura 6**.

Figura 6. Diagrama de proceso de reactor UASB.



Fuente: elaboración propia.

⁶⁵ SANCHEZ, Alison. Evaluación de la eficiencia de biomasa microalgal cultivada con agua residual como biofertilizante para el cultivo de lechuga. [en línea]. Título de ingeniería ambiental. Bogotá. Universidad Antonio Nariño. Facultad de ingeniería ambiental. 2016. Pág 16. [Consultado: 18 de marzo del 2020]. Disponible en: Alison Mariana Sanchez Otalora - 2016.pdf

A continuación, se detallan las corrientes y variables de proceso, ver **tabla 2**.

Tabla 2. Detalle de corrientes y variables del proceso

Corriente N°	1	2	3	4
Temperatura (°C)	17	17	35	35
DQO (mgO ₂ /L)	2000	2000	200	200
pH	7	7	7-8	7-8
Caudal (ml/min)	1,25	1,25	-	-
Composición	Agua; Melaza; Orina esterilizada	Agua; Melaza; Orina esterilizada	Biogás	Agua; Melaza; Orina esterilizada

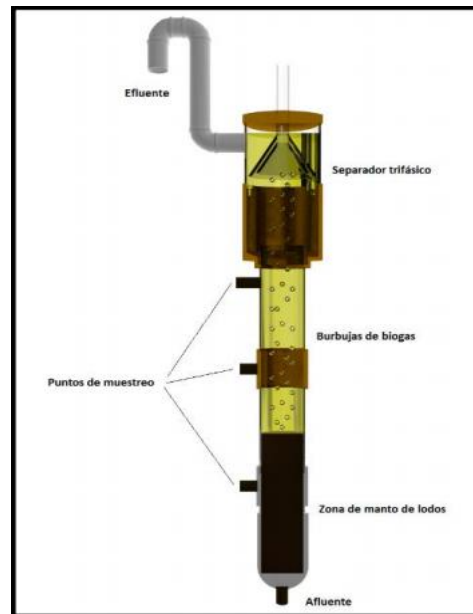
Fuente: elaboración propia, con base en: KLUMB, Eva. Universidad Antonio Nariño. Bogotá D.C. Colombia. Diseño experimental, 2019.

En este orden, el primer montaje consta de un biorreactor tipo U.A.S.B (*up flow anaerobic sludge blanket*) o reactor anaerobio de flujo ascendente con manto de lodo, considerado como una de las tecnologías anaerobias más utilizadas, la cual se caracteriza por mantener altas concentraciones de biomasa en forma de gránulos⁶⁶. Como se mencionó anteriormente, este reactor se construyó con base en el diseño propuesto en el manual de construcción y mantenimiento de un reactor UASB a escala laboratorio elaborado por la Universidad Nacional y Antonio Nariño⁶⁷, su diseño se evidencia a continuación.

⁶⁶ UNIVERSIDAD NACIONAL, UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO. Manual de construcción y mantenimiento de reactor UASB a escala laboratorio. 2019. Capítulo 1.1.[Archivo PDF]

⁶⁷ Ibid, Pág 6.

Figura 7. Montaje reactor UASB por Universidad Nacional y Antonio Nariño



Fuente: UNIVERSIDAD NACIONAL,
UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO.
Manual de construcción y mantenimiento
de reactor UASB a escala laboratorio.
2019. Capítulo 2.1

Siguiendo los lineamientos y parámetros descritos en el manual de construcción y el trabajo de investigación de Vidal, M.C. Diez, el reactor se elaboró con tubos y uniones de polivinilcloruro (PVC) y botellas de tereftalato de polietileno (PET) en múltiples dimensiones de diámetro, aptos para realizar el acople de los mismos, buscando así facilitar construcción y operación; del mismo modo, se utilizó el mismo sellador adhesivo SISTA FT101 evidenciado en el manual de construcción para crear un sello seguro en las ranuras y garantizar la inexistencia de fugas (gas y líquido). Posiblemente hay una zona oxigenada relativamente pequeña en la tubería de entrada del UASB. Sin embargo, debido a la DQO relativamente alta y a que el alimento no es estéril, el oxígeno disuelto es consumido rápidamente antes de ingresar a la torre del UASB y entrar en contacto con el lodo granular. No se considera necesario hacer pruebas de anaerobiosis dentro del reactor debido a que se usó el mismo reactor y los mismos protocolos usados en un estudio de Vidal, M.C. Diez⁶⁸

⁶⁸ Vidal, M.C. Diez, Methanogenic toxicity and continuous anaerobic treatment of wood processing effluents, J. Environ. Manage. 2005. 317–325.

En el diseño descrito en el manual de construcción, se adecuó un embudo en la parte superior del reactor, como se evidencia en la **figura 7** para realizar la captura del biogás, con el fin de evitar pérdidas de gas entre la pared del embudo y la pared del reactor, y aprovechar en su totalidad el biogás producido dentro del reactor, en el diseño desarrollado se realizaron algunas modificaciones para mejorar su diseño; se retiró el embudo, por lo que, el gas se asentaría en su totalidad en la parte superior del reactor, para garantizar que esto suceda, al brazo realizado con tubos PVC ½" se modificó en forma de "U" puesto que a mayor recorrido, mayor presión ejercerá dentro del reactor y el gas se desplazará hacia la parte superior en su totalidad, por consiguiente, para facilitar y asegurar el acceso del alimento al reactor se adecuó por la tapa roscada superior un tubo recto hasta el fondo del reactor, en la parte inferior del tubo PVC ½" se adicionó una malla impresa en material PLA para evitar el paso de gránulos de lodo a la tubería del afluente y así prevenir taponamientos, ver **figura 8**.

Figura 8. Detalle instalación de malla PLA en tubo de alimentación



Fuente: elaboración propia.

Además se realizó una pieza hecha en resina poliéster, la cual se realizó agregando catalizador Mek peróxido 2% a la resina líquida, posteriormente se mezcló hasta homogenizar para así poder conseguir el moldeado, se vertió en un molde cilíndrico de caucho suministrado por la Universidad Antonio Nariño, haciendo varias uniones hasta lograr un tubo de 17 cm de alto x 1 ½" de diametro, como se puede observar en la **figura 9**, esta parte se realizó con el único fin de hacer un seguimiento visual al lodo granular cargado dentro del reactor, puesto que el diseño base no lo tiene.

Figura 9. Elaboración de tubo resina poliéster

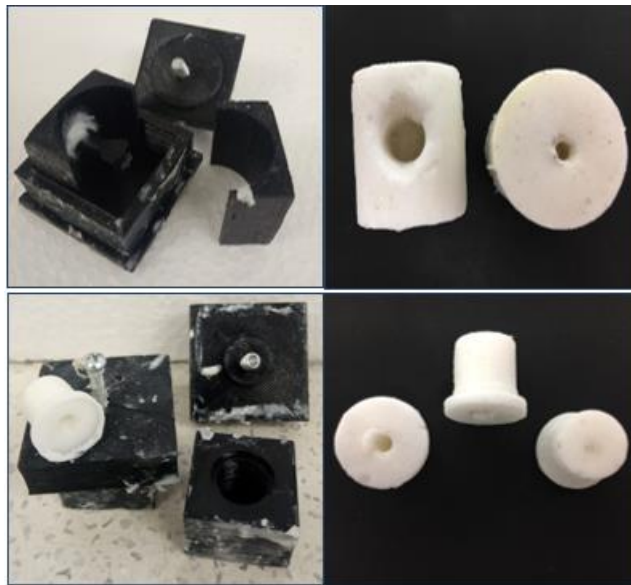


Fuente: elaboración propia.

Así mismo, para tener certeza de que el reactor tuviera un sellado seguro, en sus acoples manguera-tubos PVC y adaptadores hembra-macho PVC, fue necesario elaborar cauchos siliconados, para así lograr la contención de fugas de fluidos y gases que podrían presentarse. Del mismo modo, se incluyeron como “válvulas de acople rápido” en los orificios realizados en las tapas de los reactores para el acople de entrada y salida de mangueras, ver **tabla 3**.

El proceso de elaboración de los cauchos consistió en diseñar moldes en el programa Blender para posteriormente imprimirlos en material PLA, luego se procedió a mezclar catalizador al 5% y caucho de silicona en un frasco de plástico y revolver hasta obtener una mezcla homogénea, se agregó la mezcla obtenida dentro del molde del tamaño requerido y se dejó curar por 2 horas, ver **figuras 10**, todo el proceso descrito anteriormente se realizó en el laboratorio de investigación de la Universidad Antonio Nariño.

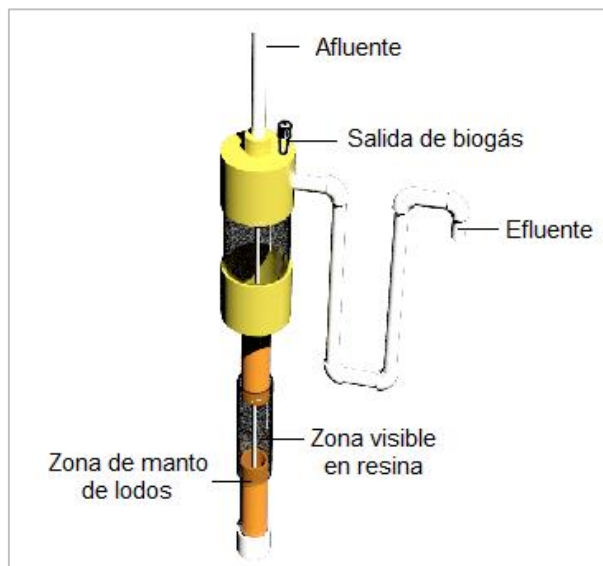
Figura 10 . Moldes y Cauchos siliconados.



Fuente: elaboración propia.

Bajo este contexto, siguiendo las modificaciones mencionadas anteriormente en el diseño del reactor basado en el manual de construcción y mantenimiento de reactor UASB, con el fin de proponer una nueva reingeniería en el diseño, mejorando falencias de su modelo inicial, el diseño final se puede observar a continuación en la **figura 11.**

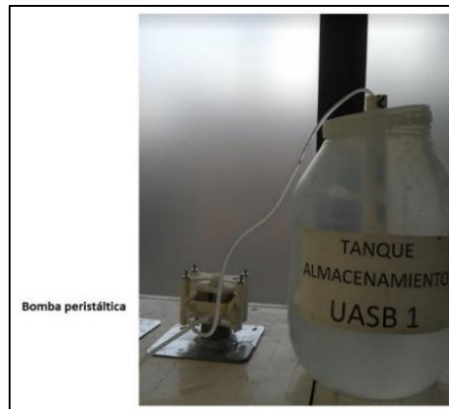
Figura 11. Diseño final reactor UASB



Fuente: elaboración propia, con base en programa 3 AUTODESK DS MAX

2.2.1 Sistema de bombeo. El reactor se alimentó mediante un sistema de bombeo, el cual consta de un tanque de almacenamiento con capacidad de 6 litros, una manguera dentro de éste conectada a una bomba, por la cual se realizó la succión del alimento, como se evidencia en la **figura 12**.

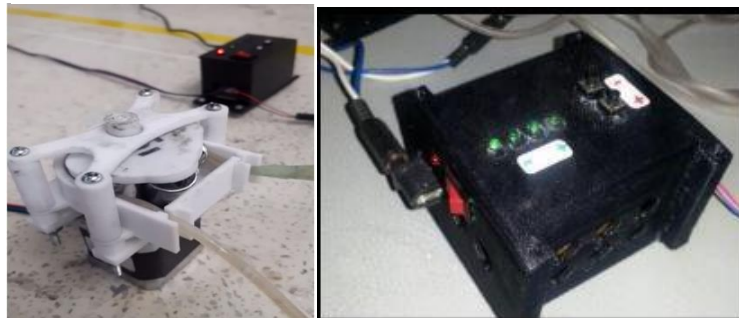
Figura 12. Sistema de alimentación



Fuente: elaboración propia.

Se utilizó una bomba peristáltica, ver **figura 13**, diseñada e impresa por el laboratorio de la Universidad Antonio Nariño⁶⁹. Esta bomba se imprimió en material PLA (ácido poli-láctico) debido a su practicidad para impresión en 3D, su valor económico y resistencia, funciona con una fuente de 12V – 2A y opera con un caudal establecido para cada reactor por medio de un controlador conectado a la bomba.

Figura 13. Bomba peristáltica y controlador

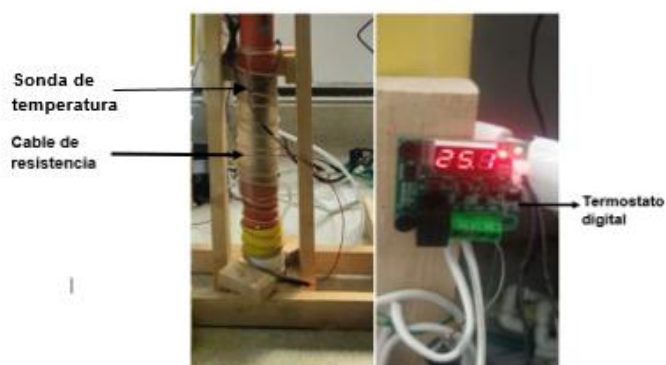


Fuente: elaboración propia.

⁶⁹ UNIVERSIDAD NACIONAL, UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO. Manual de construcción y mantenimiento de reactor UASB a escala laboratorio. 2019. Capítulo 2.5. [Archivo PDF].

2.2.2. Sistema de calefacción. La temperatura del reactor se mantuvo a 35°C mediante un control en el sistema de calefacción, el cual se compone de un cable de resistencia (15 W m⁻¹ – 120 V) y un termostato digital (W1209 control temperatura) brindado por el laboratorio de la universidad de Antonio Nariño. Se escogió este termostato puesto que es un instrumento económico y preciso, al cual se le realizó la configuración por medio de un *set point*, el valor establecido se configuró siguiendo las instrucciones del “manual de usuario “uso de termostato digital””⁷⁰ permitiendo insertar el valor de 35°C para poder controlar y observar en la pantalla el valor de temperatura reportado por medio de la sonda para líquidos (Diymore DS18B20) de temperatura dentro del reactor, la cual esta conectada por medio de un cable de resistencia que tiene el único fin de calentar la zona manto de lodos.

Figura 14. Sistema de calefacción reactor UASB

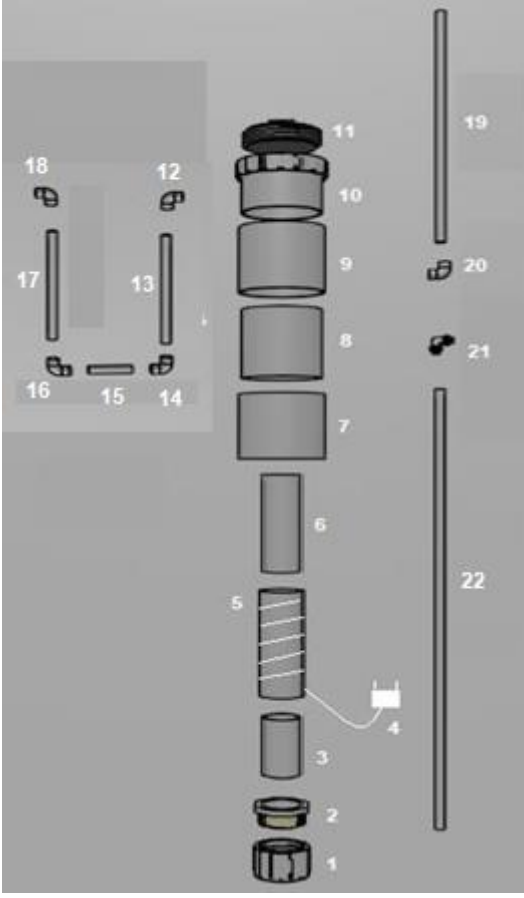


Fuente: elaboración propia

⁷⁰ OJEDA, Luis. MANUAL DE USUARIO “uso de termostato digital”. [en línea]. Ingeniería MCI Ltda. Chile. Disponible en: https://www.mcielectronics.cl/website_MCI/static/documents/Manual_control_temperatura.pdf

2.2.3. Materiales y métodos. A continuación, se listan los materiales necesarios para la construcción del reactor.

Tabla 3. Materiales de construcción reactor UASB.

	1	Tapón hembra/macho roscado PVC 1 ½"
	2	Tapa roscada PVC 1 ½"
	3	Tubo PVC ½"
	4	Cable de resistencia
	5	Resina poliéster
	6	Tubo PVC 1 ½"
	7	Unión lisa – lisa 3"
	8	Botella PET 1000 mL
	9	Unión lisa – lisa 3"
	10	Unión roscada PVC 3"
	11	Tapa roscada PVC 3"
	12	Codo PVC ½ "
	13	Tubo PVC ½ "
	14	Codo PVC ½ "
	15	Tubo PVC ½ "
	16	Codo PVC ½ "
	17	Tubo PVC ½ "
	18	Codo PVC ½"
	19	Tubo PVC ½ "
	20	Unión roscada externa ½"
	21	Unión roscada interna ½"
	22	Tubo PVC ½"

Fuente: elaboración propia, con base en programa Blender V 2.83.4.

En el **ANEXO A**, se presentan los planos del prototipo del reactor UASB, junto con las medidas respectivas de los materiales.

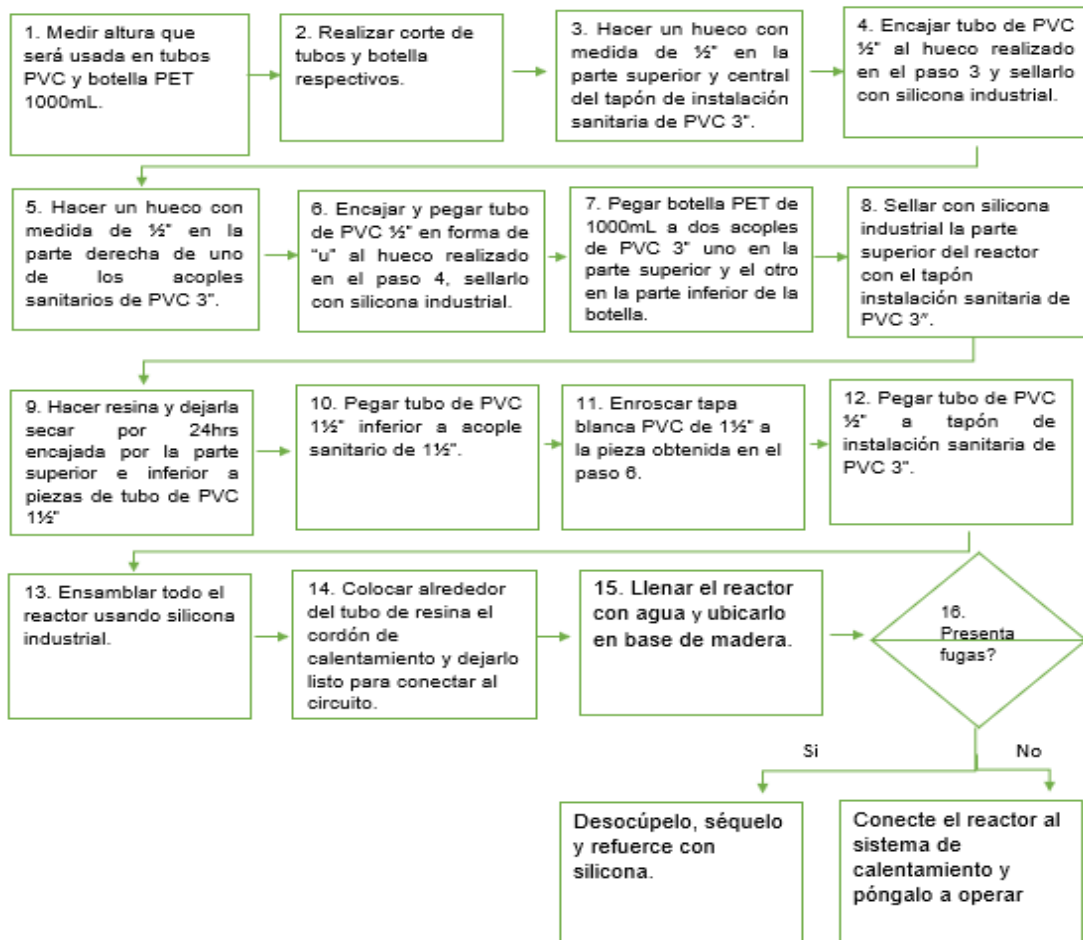
Por último, se construyó un soporte con listones de madera para sostener el reactor UASB, puesto que, por su diseño no cuenta con una base estable, ver **figura 15**.

Figura 15. Base de madera reactor UASB



Fuente: elaboración propia.

Figura 16. Diagrama de flujo del proceso de construcción del reactor UASB



Fuente: elaboración propia, con base en: UNIVERSIDAD NACIONAL, UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO. Manual de construcción y mantenimiento de reactor UASB a escala laboratorio, 2019. [Archivo PDF].

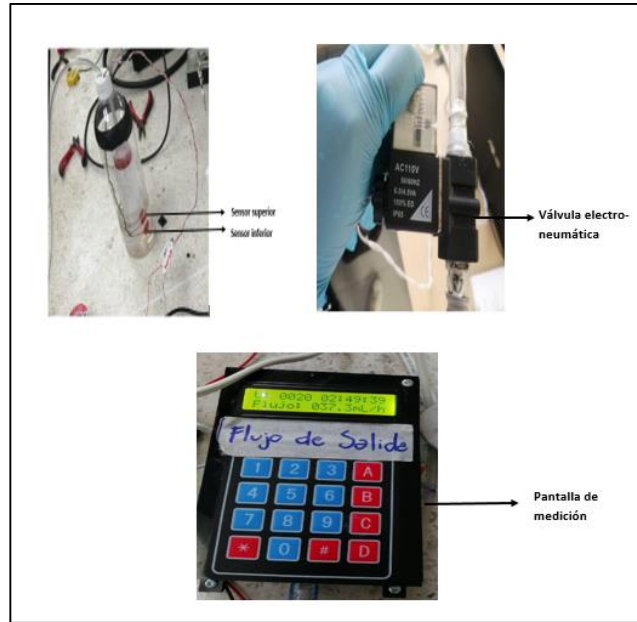
2.2.4. Sistema de medición de biogás. Tras el proceso de degradación de materia orgánica de forma anaerobia el reactor UASB produce biogás. Con el fin de medir el volumen producido, se construyó un instrumento de medición el cual consta de: una botella PET de 1000mL, cuya función es contener el líquido (agua) y permitir visualizar cuando se genere desplazamiento de líquido dentro de la jeringa. Dentro de la botella se ubicó sumergida una jeringa de 50mL, la jeringa fue conectada por su extremo superior mediante una manguera de $\frac{1}{4}$ ", dicha manguera fue conectada a la salida de gas del reactor UASB.

Las mediciones de biogás se efectúan por desplazamiento de líquido dentro de la jeringa, mediante dos conjuntos de electrodos (electrodos altos y electrodos bajos) conectados a un sistema electrónico que detectan los desplazamientos de líquido dentro de la jeringa, producto del llenado con biogás.

El sensor superior es el punto inicial, cuando el líquido es desplazado por el gas producido este sensor cambia su conductividad, el desplazamiento de líquido por el biogás se realiza hasta alcanzar el sensor bajo donde el cambio de conductividad en los electrodos genera una respuesta automática de vaciado de biogás, puesto que, se encuentran conectados a un sistema controlador capaz de activar una electroválvula, cuando la jeringa ha llegado a su máxima capacidad de llenado, dicha electroválvula tiene la función de permitir el vaciado del biogás, todo el sistema retorna al punto inicial de medición y realiza de esta manera las mediciones de los volúmenes de biogás, realizando el ciclo de manera infinita.

La secuencia lógica es capaz de realizar conteos de volumen y de tiempo permitiendo así un cálculo del caudal de biogás y mostrarlo en la pantalla de medición, ver **figura 17**.

Figura 17. Sistema de medición de biogás



Fuente: elaboración propia.

2.2.5 Materiales sistema de medición de biogás. Para llevar a cabo la construcción del sistema de medición de biogás fueron necesarios diferentes materiales que se muestran a continuación en la **tabla 4**:

Tabla 4. Lista de materiales para construcción de sistema de medición de biogás.

	1	Botella PET 1000 ml
	2	Tapón instalación sanitaria PVC 3 "
	3	Tubo falcón
	4	Manguera de silicona
	5	Manguera de rígida ¼"
	6	Acople rápido T npt ¼" salida de rosca
	7	Válvula de apertura
	8	Manguera de acuario
	9	Codo o T PVC ½"

Tabla 4. (Continuación)

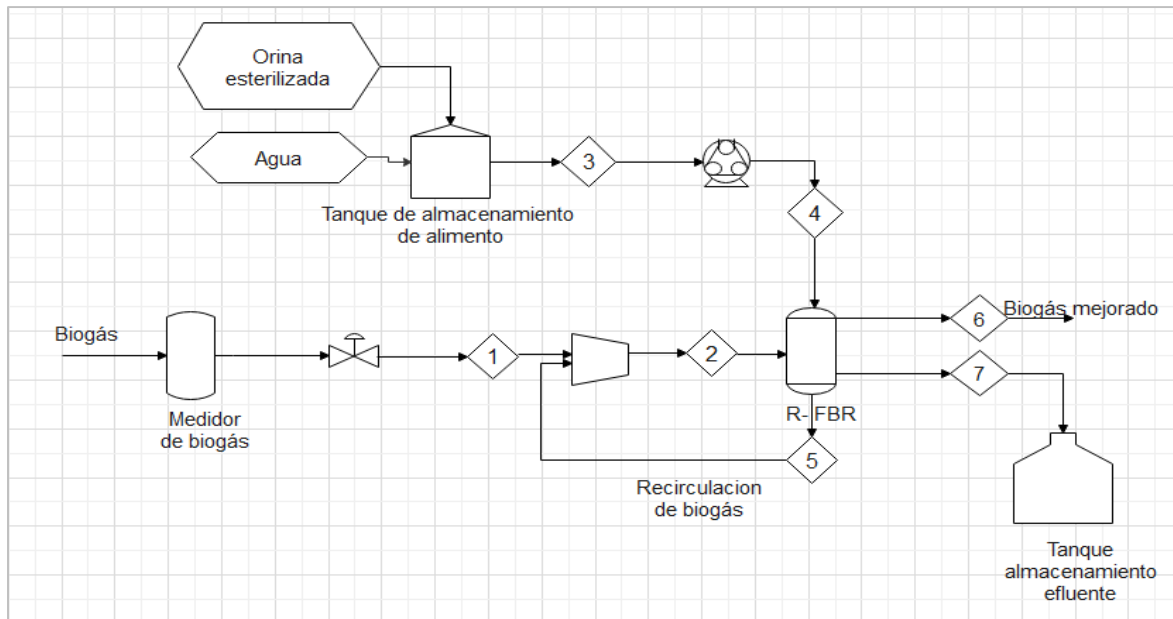
	10	Manguera plástica
--	----	-------------------

Fuente: elaboración propia, con base en: UNIVERSIDAD NACIONAL, UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO. Manual de construcción y mantenimiento de reactor UASB a escala laboratorio. 2019. Capítulo 2.2 [Archivo PDF].

2.3. CONSTRUCCIÓN DE FOTOBIORREACTOR AIR-LIFT

Para dar claridad al proceso realizado en la construcción del sistema del fotobiorreactor, se elaboró un diagrama de proceso que se muestra a continuación, ver **figura 18**.

Figura 18. Diagrama de proceso reactor FBR



Fuente: elaboración propia.

A continuación, se detallan las corrientes y variables de proceso, ver **tabla 5**.

Tabla 5. Detalle de corrientes y variables del proceso.

Corriente N°	1	2	3	4	5	6	7
Temperatura (°C)	35	35	17	17	26	26	26
pH	7-8	7-8	7-8	7-8	7-8	7-8	7-8
Caudal (ml/min)	0,29	0,29	0,069	0,069	-	-	-
Composición	Biogás	Biogás	Agua;Orina	Agua;Orina	Biogás	Biogás	Agua;Orina

Fuente: elaboración propia, con base en: KLUMB, Eva. Universidad Antonio Nariño. Bogotá D.C. Colombia. Diseño experimental, 2019.

Se construyó un fotobiorreactor air-lift de tubos concéntricos diseñado a partir de los modelos geométricos y correlaciones vigentes que se encuentran en la literatura mencionados anteriormente, los materiales y la técnica de construcción son un desarrollo propio del grupo de investigación GRESIA⁷¹ el cual se puede evidenciar en el trabajo de investigación de Vidal, M.C. Diez; en donde el propósito es asegurar el ambiente adecuado para el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* y así mismo, generar la transferencia de dióxido de carbono gaseoso a una fase acuosa, con dichos fines experimentales basados en una tecnología biológica se busca la mejora del metano contenido en el biogás proveniente del reactor UASB.

Para su construcción fueron tenidos en cuenta diferentes factores importantes, entre ellos:

- **Transparencia:** la penetración de luz al fotobiorreactor es una de las variables más importantes si se desea obtener eficiencia fotosintética y a su vez, mejorar el crecimiento y la producción de biomasa, el reactor debe permitir la visualización y seguimiento del cultivo a simple vista.
- **Hermeticidad:** el fotobiorreactor debe presentar un sello hermético, ya que al trabajar con líquidos, debe evitarse la presencia de fugas.

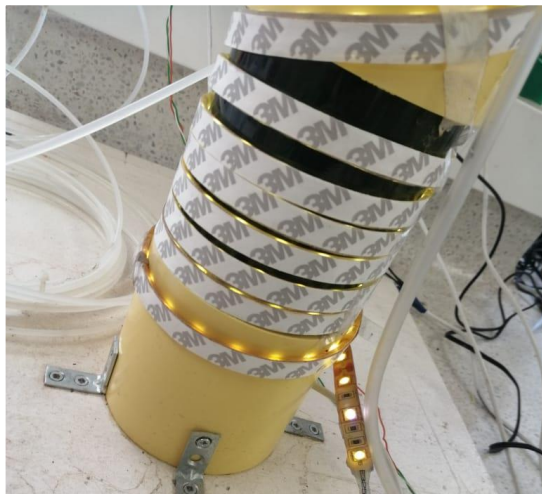
⁷¹ SANCHEZ, Alison. Evaluación de la eficiencia de biomasa microalgal cultivada con agua residual como biofertilizante para el cultivo de lechuga. [en línea]. Título de ingeniería ambiental. Bogotá. Universidad Antonio Nariño. Facultad de ingeniería ambiental. 2016. Pág 16. [Consultado: 18 de marzo del 2020]. Disponible en: Alison Mariana Sanchez Otalora - 2016.pdf

- **Durabilidad:** el material que constituye al fotobiorreactor debe tener alta resistencia al deterioro, ya que contendrá el cultivo y medio de cultivo por un largo periodo de tiempo.
- **Fácil mantenimiento y limpieza:** el reactor debe construirse de tal forma que permita el acceso tanto en su interior como en piezas del exterior, ya que, en caso de contaminación su limpieza debe ser ágil y de manera eficaz.

2.3.1. Sistema de alimentación. El diseño del fotobiorreactor cuenta con el mismo sistema y funcionamiento del proceso descrito en el **numeral 2.1.1. Sistema de bombeo** del reactor UASB.

2.3.2 Sistema de iluminación y calefacción. Alrededor de toda la parte externa del reactor está adherida una cinta LED (light-emitting diode) siliconada con luz fluorescente blanca fría, ver **figura 19**, la intensidad lumínica estuvo en un valor de 2000 lux aproximadamente, medida entre la superficie de la cinta LED y la pared del fotobiorreactor , esta cinta se usó con el fin de proporcionar calor e intensidad lumínica suficiente para el garantizar el proceso de fotosíntesis y crecimiento de la microalga.

Figura 19. Cinta LED enrollada en el FBR

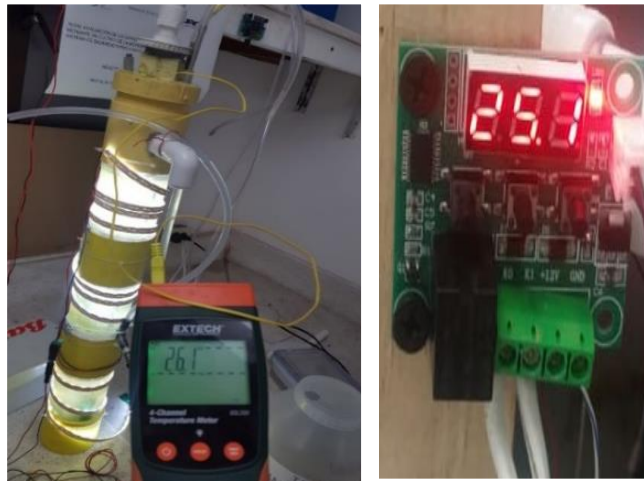


Fuente: elaboración propia.

En cuanto a su calefacción, se hizo el respectivo seguimiento con ayuda de un termostado digital conectado a una sonda que fue introducida por uno de los orificios realizados en la tapa superior, como se describe en la **figura 25**, así mismo para

tener certeza de la temperatura en todo el reactor se tomaban mediciones con un termómetro eléctrico manual SLD200 en diferentes lugares del FBR, ver **figura 20**. Su manual y modo de uso se presenta en el **ANEXO B**.

Figura 20. Sistema de control de temperatura



Fuente: elaboración propia.

2.3.3. Sistema de agitación. Para mejorar el proceso en cuanto a transferencia de masa fue necesario construir un sistema de burbujeo el cual garantiza una buena mezcla del cultivo, suministro suficiente y eficiente de CO₂. Los reactores air-lift se caracterizan porque en ellos las corrientes ascendentes se separan físicamente de las descendentes⁷², estos reactores cuentan con una estructura definida en la que se incluye la columna de burbujeo (*riser*) y la columna de flujo descendiente (*downcomer*), por las cuales subirán las burbujas y descenderá el fluido respectivamente.

El sistema consta de un tubo construido con botellas PET de 200 mL transparentes, ubicadas dentro del FBR, dicho tubo cumple la función dentro del reactor de columna *riser and downcomer*, al ser transparente permite hacer un seguimiento visual del burbujeo efectuado por el difusor de pecera, ubicado en el fondo del tubo *riser and down comer*, conectado mediante un tubo de acero inoxidable y manguera

⁷² FERNANDEZ ANGEL, Miguel. Diseño, montaje y caracterización de fotobiorreactores airlift para el cultivo de la microalga *Chlorella sorokiniana*. [en línea]. Universidad EAFIT, Departamento de Ingeniería de Procesos. 2013. 11 p. [Consultado: 10 de Febrero de 2020] Disponible en: https://repository.eafit.edu.co/xmlui/bitstream/handle/10784/8219/Miguel_FernandezAngel_2013.pdf;jsessionid=69533DE66B72C24767166F0803E77073?sequence=2

a una bomba de aire XiLONG AP – 005; el flujo de aire que se manejó en el FBR es aproximadamente 0.8 L/min. Si el volumen del FBR es 2.7 L, entonces VVM (gas volume flow per unit of liquid volume per minute) es igual a 0.29. Es común usar valores entre 0.1 y 0.3⁷³. Con el fin de generar burbujeo dentro del tubo, creando la corriente ascendente y en el descenso por la paredes exteriores del tubo la corriente descendente, ver **tabla 6**.

Tabla 6. Diseño sistema de agitación FBR.

	1	Bomba de aire
	2	Puentes de salida de aire
	3	Columna <i>riser and down comer</i>
	4	Conexión manguera a tubo de acero
	5	Tubo de acero inoxidable
	6	Aspersor de pecera
	7	Zona interna de columna (<i>riser</i>)
	8	Zona externa de la columna (<i>downcomer</i>)

Fuente: elaboración propia, con base en programa Paint.

⁷³ GOSSAIN, Vikram y MIRRO Rich. Linear Scale-Up of Cell Cultures. [en línea]. BioProcess international. 2010. Disponible en: <https://bioprocessintl.com/upstream-processing/upstream-single-use-technologies/linear-scale-up-of-cell-cultures-307248/>

2.3.4. Materiales y métodos. La construcción y automatización del prototipo del fotobiorreactor se realizó utilizando materiales de fácil acceso a nivel comercial y fueran de bajo costo, estos materiales se adjuntan en la **tabla 7**.

Cabe resaltar que el 100% del reactor, valor que corresponde a los materiales en PVC y PET, se escogieron debido a que no cuentan con aislamiento térmico, de modo que permite la transferencia de calor por parte de la cinta LED (light-emitting diode) al reactor con mayor facilidad.

Tabla 7. Materiales fotobiorreactor air-lift.

	1	Codo PVC ½ "
	2	Tubo PVC ½ "
	3	Codo PVC ½ "
	4	Manguera transparente
	5	Codos para tubería de irrigación
	6	Manguera transparente
	7	Codos para tubería de irrigación
	8	Manguera transparente ½"
	9	Unión Codo PVC ½"
	10	Tubo PVC ½ "
	11	Adaptador rosca hembra/macho PVC ½
	12	Tapa roscada PVC 3"
	13	Unión universal ½ "
	14	Unión roscada PVC 3"
	15	Unión lisa-lisa PVC 3"
	16	Botella PET 1000 mL
	17	Unión lisa-lisa PVC 3"
	18	Botella PET 1000 mL
	19	Unión lisa-lisa PVC 3"

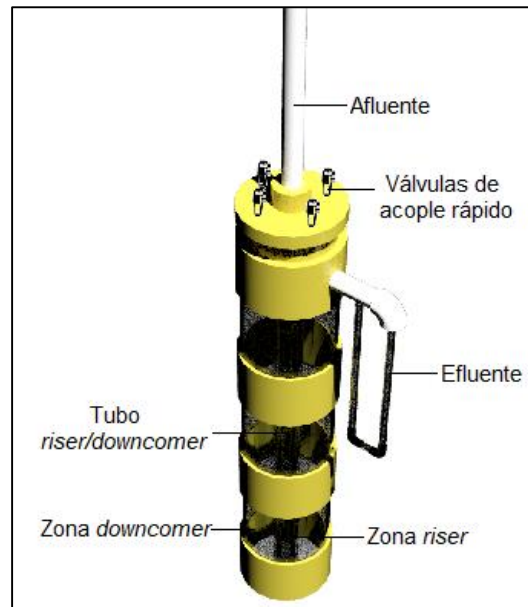
Tabla 7. (Continuación)

	20	Botella PET 1000 mL
	21	Unión lisa-lisa PVC 3"
	22	Válvula acople rápido
	23	Tubo PVC 1/2"
	24	Unión roscada externa 1/2"
	25	Unión roscada interna 1/2"
	26	Tubo PVC 1/2"
	27	Botellas PET 250mL
	28	Manguera plástica
	29	Tubo metálico 3/8"
	30	Aspersor de pecera

Fuente: elaboración propia, con base en programa Blender V 2.834.

Dentro de este contexto, el diseño final del FBR air-lift, ver **figura 21**:

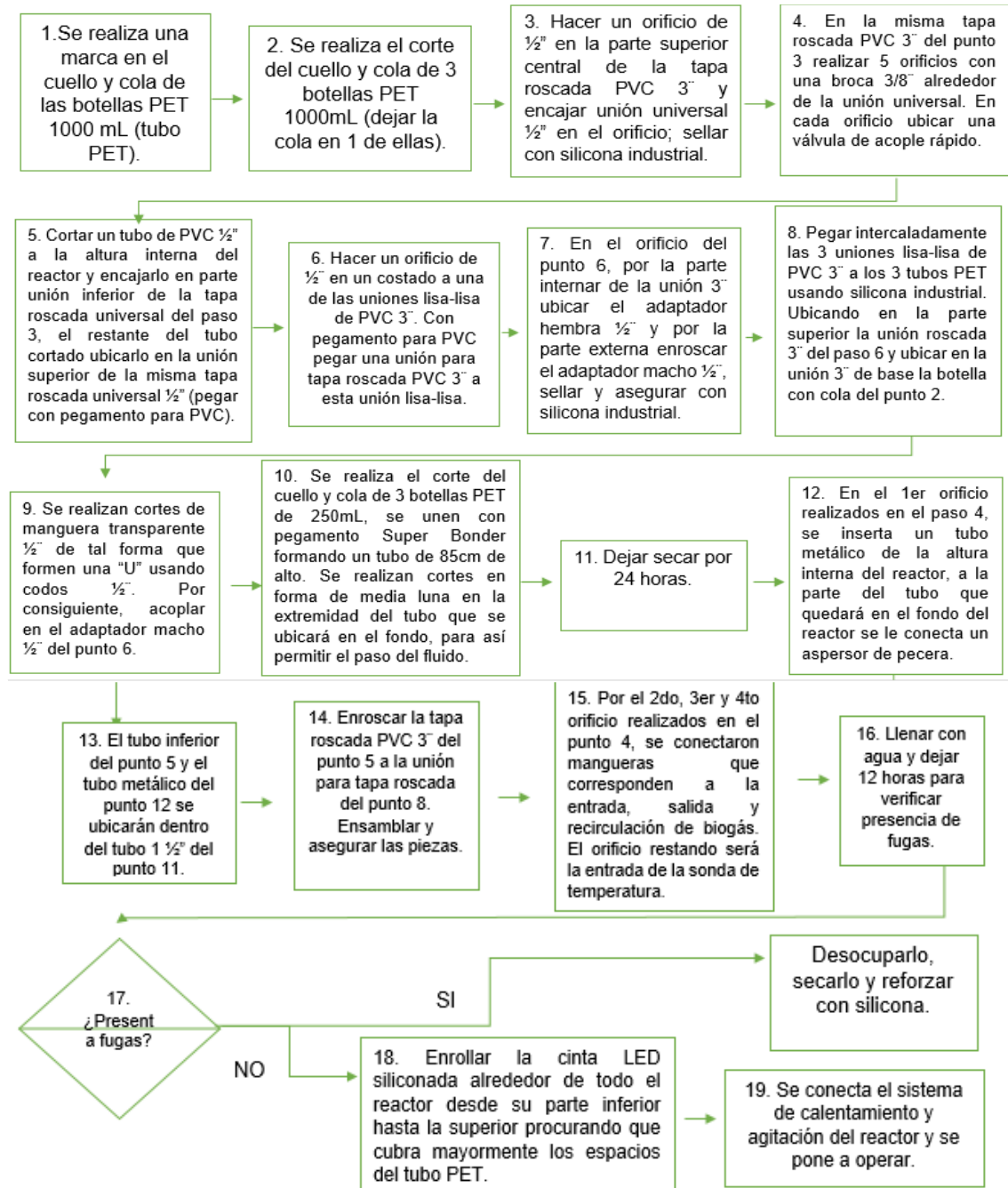
Figura 21. Diseño final fotobiorreactor air-lift



Fuente: elaboración propia, con base en programa 3 AUTODESK DS MAX

En el **ANEXO E**, se presentan los planos y medidas respectivas del FBR, junto con la descripción a detalle del corte de las botellas PET.

Figura 22. Diagrama de flujo de proceso de construcción de fotobiorreactor air-lift

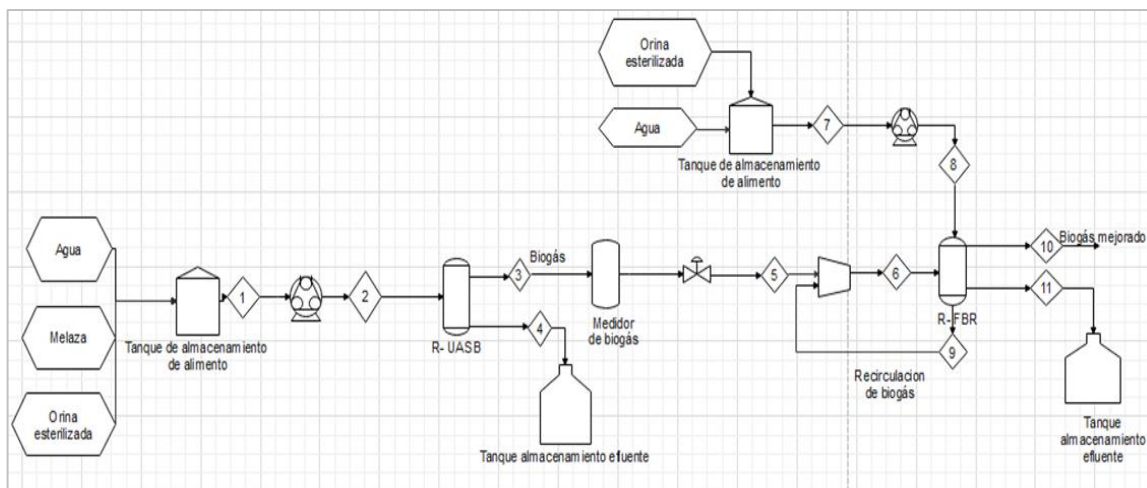


Fuente: elaboración propia, con base en: CARVALHO, Ana P.; MEIRELES, Luís A. y MALCATA, F. Xavier. Microalgal Reactors: A Review of Enclosed System Designs and Performances. Biotechnology progress. 2006.

2.4 CONSTRUCCIÓN DEL SISTEMA DE ACOPLA DE LOS BIORREACTORES

El montaje del sistema de biorreactores como bien se mostró anteriormente, consta de un reactor UASB y FBR air-lift, estos reactores serán conectados para lograr un solo sistema, para visualizar su acople se realizó el diagrama de proceso que se muestra a continuación, ver **figura 23**.

Figura 23. Diagrama de proceso reactores acoplados



Fuente: elaboración propia.

A continuación, se detallan las corrientes y variables de proceso, ver **tabla 8**.

Tabla 8. Detalle de corrientes y variables del proceso.

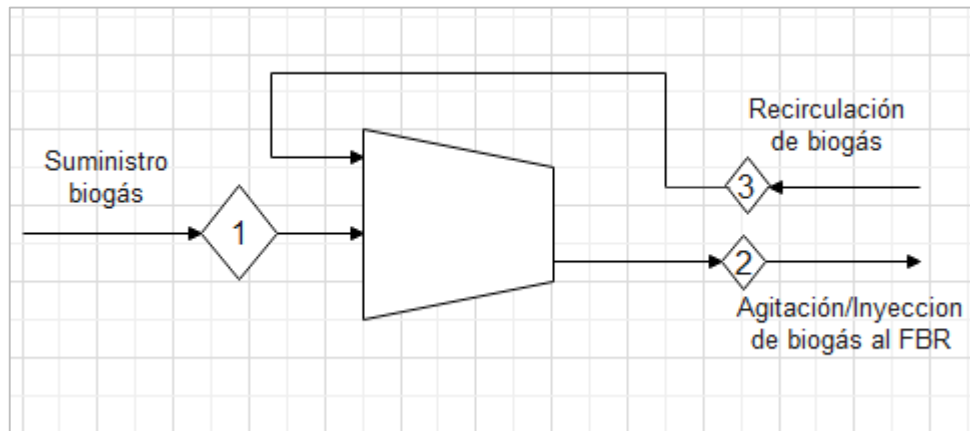
Corriente N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Temperatura (°C)	17	17	35	35	35	35	17	17	26	26	26
DQO (mg/L)	2000	2000	200	200	-	-	-	-	-	-	-
pH	7	7	7-8	7-8	7-8	7-8	7-8	7-8	7-8	7-8	7-8
Caudal (ml/min)	1,25	1,25	-	-	0,29	0,29	0,069	0,069	-	-	-
Composición	Agua; Melaza; Orina esterilizada	Agua; Melaza; Orina esterilizada	Biogás	Agua; Melaza; Orina esterilizada	Biogás	Biogás	Agua; Orina	Agua; Orina	Biogás	Biogás	Agua; Orina

Fuente: elaboración propia, con base en: KLUMB, Eva. Universidad Antonio Nariño. Bogotá D.C. Colombia. Diseño experimental, 2019.

Como se muestra anteriormente en el diagrama de proceso, la conexión se hará mediante un sistema que se ha denominado “compresor”, el cual se encuentra entre la corriente 5 y 6, **ver figura 23**.

Mediante este sistema, se realizará la inyección de biogás al cultivo de microalgas desarrollado en el FBR. Este sistema consta de una bomba de aire XiLONG AP – 005 introducida en un recipiente de sello hermético, a este recipiente se le realizaron 3 orificios, el primero será la entrada del biogás al recipiente proveniente del reactor UASB, el segundo, por medio de una manguera plástica conectada a la bomba de aire por un costado y por el otro a la entrada del sistema de agitación del FBR, inyectará el biogás al fotobiorreactor, ya que, por su funcionamiento la bomba succionará el gas que se encuentre en el recipiente y por último, el tercer orificio será una conexión entre el FBR y el recipiente hermético, que tendrá la única función de servir como recirculación de biogás, para aprovechar al máximo las microalgas en el FBR y lograr la depuración casi total del CO₂, **ver figura 24**.

Figura 24. Compresor / Sistema de acople de reactores.



Fuente: elaboración propia.

Cabe aclarar que el paso de realizar el acople ó conexión de los biorreactores, se realizará solo después de estabilizar todos los parámetros que afecten el sistema y desarrollo del proceso dentro los reactores.

2.4.1 Operación del reactor UASB.

2.4.1.1 Ensayos preliminares. Antes de la puesta en marcha inicial, se deben realizar ensayos preliminares, como la caracterización del lodo y del agua residual a tratar. El lodo granular fue obtenido de una industria de gaseosas, brindado por la Universidad Antonio Nariño, al cual le realizaron un tratamiento de acondicionamiento, consistió en lavar el lodo con melaza y posteriormente adaptarlo a melaza de 2000 ppm, posteriormente se almacenó en melaza a 2000 ppm para aclimatar en un cuarto frío por varios días. En cuanto a el agua residual a tratar se realizó una mezcla de tres compuestos, agua, melaza 2000 DQO(mg/L) como fuente de polisacáridos (carbohidratos), y orina esterilizada aportando nitrógeno para así brindar los nutrientes necesarios en el desarrollo de las etapas de la digestión anaerobia⁷⁴. La mezcla de estos tres compuestos se basó en el trabajo de investigación de Eva Klumb⁷⁵ realizado en la Universidad Antonio Nariño en donde se llevo a cabo el desarrollo del comportamiento de la melaza junto con la orina para preparar y simular un agua residual semisintética, obteniendo resultados satisfactorios concluyendo que estos dos componentes son aptos para preparar un agua residual semisintética que simule la situación real.

Simultáneamente el grupo de investigación GRESIA caracterizó las cantidades de melaza por litro de agua requeridas para este proceso, ver **tabla 9**, y del mismo modo caracterizaron la cantidad de orina, el cual se realizó por medio de un cálculo basado en la concentración de nitrógeno, obteniendo como resultado la siguiente base de calculo: 8mL de orina esterilizada/ 1 L de agua⁷⁶.

Tabla 9. Parámetros estándar de concentración a 2000 DQO (mg/L)

Volumen (L)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Melaza (g)	2,72	5,45	8,17	10,89	13,62	16,34	19,06	21,79	24,51	27,23	29,96	32,68

Fuente: elaboración propia, con base en: UNIVERSIDAD NACIONAL, UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO. Parámetros estándar de concentración a 2000 DQO (mg/L). s.f. [Imagen].

Por otro lado, en volumen del reactor, ajustes de caudal, carga hidráulica, tiempo de retención hidráulico y repetición de muestreos se determinó:

⁷⁴ UNIVERSIDAD NACIONAL, UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO. Manual de construcción y mantenimiento de reactor UASB a escala laboratorio. 2019. Capítulo 2.5. [Archivo PDF].

⁷⁵ KLUMB, Eva. Universidad Antonio Nariño. Bogotá D.C, Colombia. Diseño experimental, 2019

⁷⁶ Ibid.

- **Volumen total del reactor:** 1.8 L
- **Caudal:** 1,25 mL/min
- **Concentración del sustrato en el influente:** 2 KgDOQ/m³
- **Carga hidráulica volumétrica.** La carga hidráulica volumétrica es el volumen de agua residual que recibe diariamente el reactor, por unidad de volumen, se determinó a partir de la siguiente ecuación:

Ecuación 3. Carga hidráulica volumétrica UASB

$$CHL = \frac{Q}{V}$$

CHL = carga hidráulica volumétrica (m³/m³.d)

Q = caudal (m³/d)

V = volumen total del reactor (m³)

$$CHL = 1 \text{ m}^3/\text{m}^3.\text{d}$$

- **Tiempo de retención hidráulico.** Es el recíproco de de la carga hidráulica volumétrica.

Ecuación 4. Tiempo de retención hidráulica UASB

$$t = \frac{1}{CHL}$$

$$t = 1 \text{ día}$$

- **Velocidad de carga orgánica.** Cantidad de materia orgánica ingresada al reactor por unidad de volumen.

Ecuación 5. Velocidad de carga orgánica UASB

$$Lv = \frac{Q \times S_0}{V}$$

Dónde:

Lv = velocidad de carga orgánica (kgDOQ/m³.d)

Q = caudal (m³.d)

S₀ = Concentración del sustrato en el influente (KgDOQ/m³)

V = volumen total de reactor (m³)

$$Lv = 2 \text{ kgDQO/m}^3\cdot\text{d}$$

Los cálculos realizados se demuestran en el **ANEXO E**.

- **Frecuencia de los muestreos:** De lunes a viernes.
 - a. pH : Todos los días.
 - b. Temperatura: Todos los días.

Durante la operación, los parámetros de control están relacionados con la eficiencia de remoción de materia orgánica o del material contaminante en estudio, la estabilidad del proceso y la calidad del lodo⁷⁷, los parámetros se mencionan en la **tabla 10**:

Tabla 10. Parámetros de control en el reactor UASB.

Monitoreo	Parámetros de control	Puntos de monitoreo
Estabilidad	Temperatura	Interior del reactor
Estabilidad	pH	Alfuelle y efluente

Fuente: elaboración propia.

2.4.1.2 Puesta en marcha inicial. Para llevar cabo la la marcha inicial y producción de biogás en el reactor, se le adicionó el lodo granular retirando la tapa roscada de PVC 3". Se cargó el reactor con un volumen de lodo correspondiente a 1/3 (600mL) del volumen total del reactor. Luego de esto, se alimenta el reactor con el agua residual hasta alcanzar un volumen de 1.4L, con la intención de respetar la distancia de la interfase líquido/gas debido a que es necesario acumular el biogás en la parte superior del reactor y este volumen restante permite cumplir este requerimiento; por tal motivo, el reactor no se alimentó a su volumen total de 1,8L. El sistema se dejó 24 horas en este estado permitiendo la adaptación del lodo al agua residual a tratar. Posteriormente, se enciende el sistema de calefacción descrito en el **númeral 2.1.2** permitiendo así el calentamiento del lodo granular y agua residual, generando microorganismos descomponedores para la producción de biogás.

⁷⁷ UNIVERSIDAD NACIONAL, UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO. Manual de construcción y mantenimiento de reactor UASB a escala laboratoriodo. 2019. Capítulo 2.5. [Archivo PDF].

El reactor se opera en sistema continuo desde su puesta en marcha inicial, alimentado por medio de una bomba peristáltica, ver **numeral 2.1.1**, el agua residual se depositó en un bidón con capacidad de 12L, con esta cantidad aproximadamente se alimentará el reactor durante 2 meses, posteriormente se abastecerá.

2.4.2 Operación del Fotobiorreactor.

2.4.2.1 Ensayos preliminares. Inicialmente se deben realizar ensayos preliminares al fotobiorreactor, como la caracterización del medio de cultivo. El medio se preparó con una mezcla de orina humana esterilizada y agua, la orina era recolectada en tarros ubicados en los baños de los hombres del laboratorio de la UAN. La muestra de orina usada es una mezcla de varias fuentes. Se usó para preparar un agua residual semisintética que simula la situación real. Es posible que contenga glucosa de la misma manera que sucedería con cualquier muestra aleatoria de orina. No se le practicó pruebas específicas para buscar glucosa u otras sustancias específicas sino que su caracterización se lleva a cabo bajo protocolos estándar aplicables a aguas residuales: DQO, N, P, pH. La misma muestra se usó en el trabajo de investigación de Cardozo, Angie⁷⁸ donde se ha soportado el crecimiento microalgal adecuadamente. Según estudios realizados la urea presente en la orina aporta el 24% del N, el 20% del P y el 32% del K⁷⁹, nutrientes que estimulan el crecimiento de las microalgas y enriquecen el medio de cultivo; para el suministro de la orina se utilizó base de cálculo: 8mL de orina esterilizada/ 1 L de agua, este cálculo se obtuvo en el laboratorio de investigación de la Universidad Antonio Nariño basado en la concentración de nitrógeno presente en la orina.

En cuanto al volumen del FBR, ajustes de caudal, carga hidráulica, tiempo de retención hidráulico y repetición de muestreos se determinó:

- **Volumen total del reactor:** 2.7 L
- **Caudal:** 100ml/día

⁷⁸ CARDOZO, Angie. Diseño y montaje de un sistema continuó de reactores en serie FBR y UASB para la producción de metano. Facultad de Ingeniería Ambiental. Trabajo de grado para optar a título de ingeniero ambiental. Universidad Antonio Nariño [PDF].

⁷⁹ MIN PRTR. Fósforo total. [en línea]. Ministerio para la Transición Ecológica, Plaza San Juan de la Cruz. España. S.f. [Consultado: 20 de marzo del 2020] Disponible en: <http://www.prtr-es.es/Fosforo-total,15600,11,2007.html>

- **Carga hidráulica volumétrica.** Se determinó a partir de la siguiente ecuación:

Ecuación 6. Carga hidráulica volumétrica FBR

$$CHL = \frac{Q}{V}$$

CHL = carga hidráulica volumétrica (m³/m³.d)

Q = caudal (m³/d)

V = volumen total del reactor (m³)

$$CHL = 0,037037037$$

- **Tiempo de retención hidráulico.** Siendo el recíproco de la carga hidráulica volumétrica se determinó:

Ecuación 7. Tiempo de retención hidráulica FBR

$$t = \frac{1}{CHL}$$

$$t = 27 \text{ días}$$

El tiempo de retención en este reactor es más prolongado, puesto que, las microalgas crecen mucho más despacio que las bacterias y generando un tiempo de retención largo se podrán aprovechar los nutrientes del alimento conforme al crecimiento algal.

Los cálculos realizados se demuestran en el **ANEXO E**.

- **Frecuencia de los muestreos:** De lunes a viernes.

a) Absorbancia: Todos los días.

b) Temperatura: Todos los días.

Los parámetros son mencionados en la **tabla 11**:

Tabla 11. Parámetros de control para el FBR

Monitoreo	Parámetros de control	Puntos de monitoreo
Crecimiento	Absorbancia	Mezcla contenida en el reactor
Estabilidad	Temperatura	Interior del reactor

Fuente: elaboración propia.

2.4.2.2 Puesta en marcha. Como primera instancia, se le adiciono el cultivo algal inoculado en estado líquido retirando la tapa roscada PVC 3". Se cargó el reactor con 2.1 L de agua, 21,6mL de orina y 500mL del cultivo algal en estado líquido, este se describe en el **numeral 3.3**, se enciende el sistema de agitación y calentamiento descrito en el **numeral 2.2.2** y **2.2.3** como corresponde. Para garantizar el crecimiento del cultivo algal dentro del fotobiorreactor se opera inicialmente el sistema en semi-continuo, el reactor se alimentó agregando 21.6mL de orina 3 veces en una semana intercalando los días, con el fin de aprovechar los nutrientes aportados, que actuan como sustrato limitante en el crecimiento del cultivo, la cantidad de orina se calculó a partir de la base de calculo mencionada anteriormente y el volumen total del reactor. Durante este proceso se realizó el seguimiento diario del crecimiento del cultivo, observando el cambio de su coloración, de verde claro a verde oscuro, y al mismo tiempo, midiendo en el espectrofotómetro la absorbancia diaria hasta alcanzar un valor de 0,995 en la densidad celular del cultivo algal, para posteriormente ser alimentado de forma continua con el caudal descrito anteriormente.

El alimento es bombeado por medio de una bomba peristáltica, como se demuestra en el **numeral 2.1.1**, se depositó en un recipiente plástico con capacidad de 6L, con esta cantidad el reactor aproximadamente se alimentará durante 1 mes, posteriormente se abastecerá.

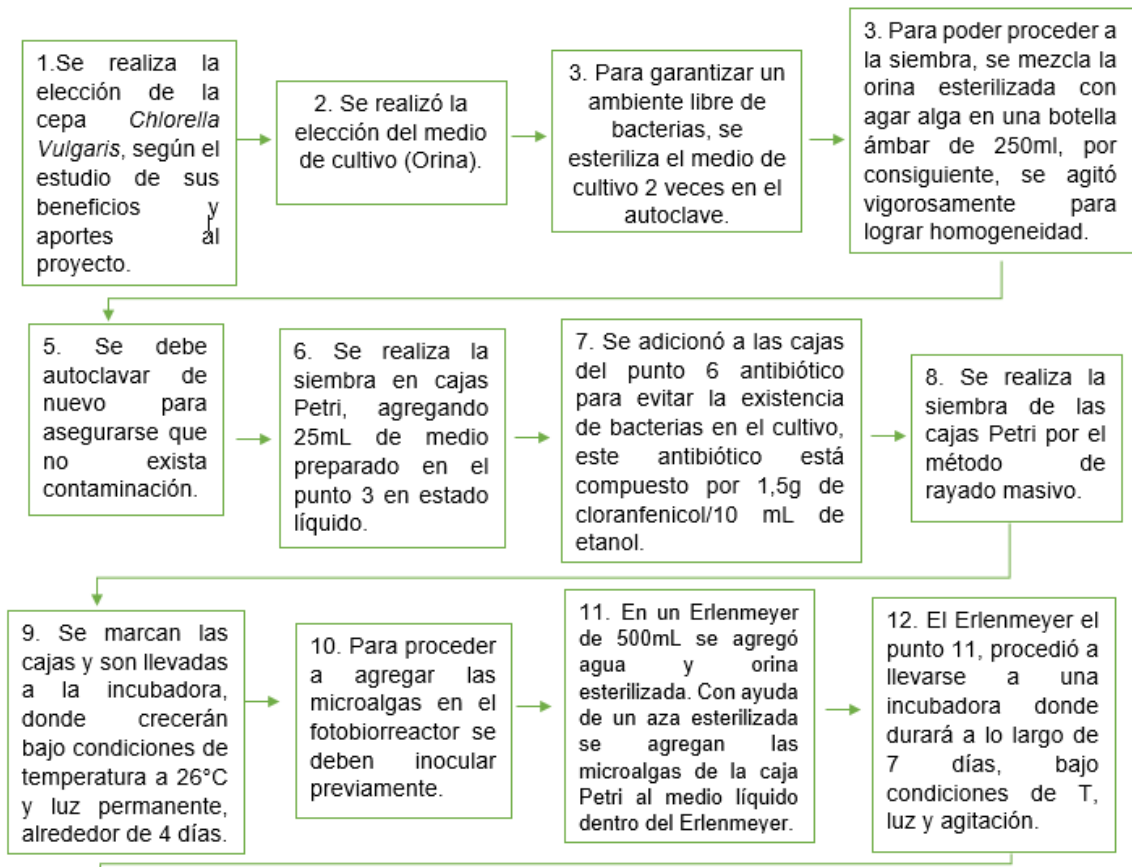
En resumen, el montaje descrito anteriormente se realizó con el fin de construir un biorreactor UASB que proporcionará biogás, como fuente de CO₂ para el alimento y crecimiento de un cultivo de microalgas que se desarrollaran dentro del FBR construido, en este reactor se llevará a cabo la depuración del CO₂ en la corriente el biogás, por medio de la biofijación del cultivo algal, para así, lograr la mejora del CH₄.

Así mismo, la puesta en marcha inicial de los reactores trabaja en conjunto con los parámetros de diseño y estabilización de las condiciones de trabajo asignadas a los biorreactores. Estos dos parámetros son de vital importancia en el desarrollo del proceso, puesto que cada parámetro interfiere en la productividad y de cierto modo regulando y controlando estos factores se espera tener un certidumbre de la conducta del reactor y del mismo modo la producción y desarrollo esperado.

3. CULTIVO DE LA MICROALGA

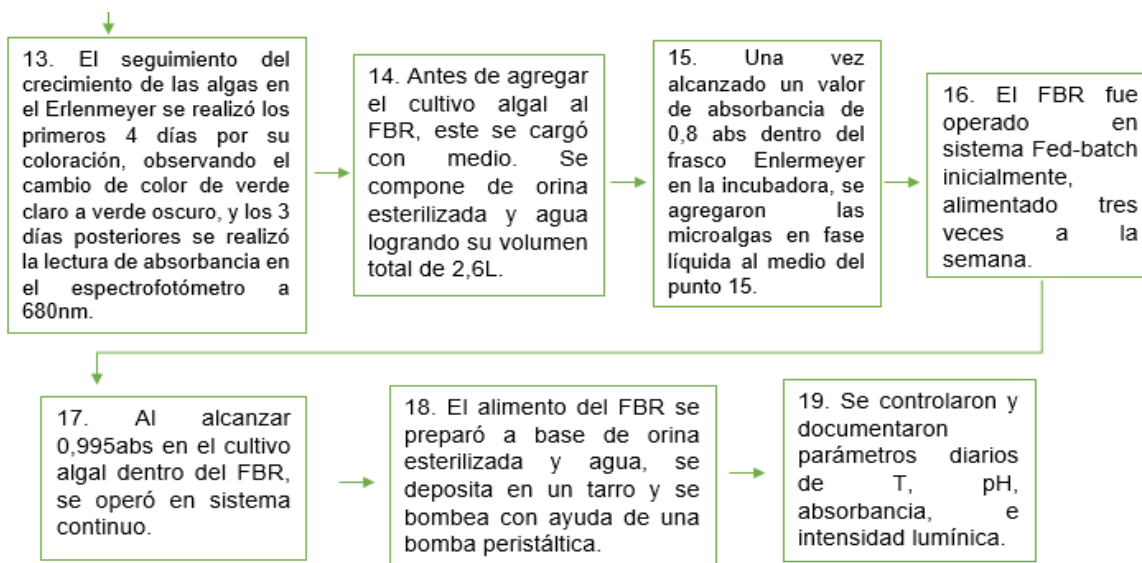
En este capítulo se llevara acabo el desarrollo del cultivo microalgal. Como bien se ha mencionado; las microalgas son microorganismos eficientes en la biofijación del CO₂ y utilización de la energía solar para la producción de biomasa, no necesitan más que luz, agua y nutrientes como fósforo, nitrógeno y CO₂ para su desarrollo, una de sus grandes características es que poseen una eficiencia cuatro veces mayor a la de las plantas en la fijación de CO₂⁸⁰, por lo cual, estas características las hacen perfectas candidatas para representar una gran alternativa en la mitigación de emisiones de gases contaminantes presentes en la atmósfera y como es el caso, compuestos como el biogás. Bajo este contexto, a continuación, se especificaran los detalles relacionados con el proceso a desarrollar.

Figura 25. Diagrama flujo de proceso desarrollo de la microalga.



⁸⁰ HERNÁNDEZ PÉREZ, Alexis y LABBÉ, José I. Microalgas, cultivo y beneficios: Revista de biología marina y oceanografía. Chile. 2014. vol. 49, nro. 2. pp. 157-173 [Consultado: 18 de marzo del 2020] Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v49n2/art01.pdf>

Figura 25. (Continuación)



Fuente: elaboración propia, con base en: BLANCO, Laura y TACON Albert. Cultivo de microalgas. FAO. Italia.

3.1.1 Cepa de la microalga. Elegir la especie a cultivar depende directamente del propósito que se le desea brindar a la biomasa algal, así mismo, al ser organismos vivos existen parámetros que se deben controlar para lograr un manejo eficaz del cultivo, en los que se pueden mencionar: “densidad celular de inoculación, cantidad y calidad de luz, temperatura, nivel de agitación, así como pH, fuente de carbono, concentración y composición de nutrientes y condiciones estériles de la solución nutritiva. Además, para cada cepa específica es imprescindible conocer el manejo adecuado de los factores anteriormente mencionados, y de esta forma optimizar la producción de biomasa”⁸¹.

En condiciones apropiadas, las microalgas poseen una capacidad depuradora conocida como ficorremediación⁸². Algunas de estas especies presentes en aguas

⁸¹ GRUPO COOPERATIVO CAJAMAR. Microalgas: Que son las microalgas, interés y uso?. [en línea] 2014. [Consultado: 16 de marzo del 2020] Disponible en: <https://www.cajamar.es/pdf/bd/agroalimentario/innovacion/investigacion/documentos-y-programas/microalgas-1444391623.pdf>

⁸² PIZARRO, Roberto y RAMOS, Roberto. Ramos, R., & Pizarro, R. [en línea]. Crecimiento y capacidad de biorremediación de *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) cultivada en aguas residuales generadas en el cultivo del pez dorado *Seriola lalandi* (Perciformes: Carangidae).

contaminadas son utilizadas en tratamientos de aguas residuales por su elevada tolerancia⁸³ en donde el cultivo de *Chlorella vulgaris* se posiciona dentro de las microalgas con un uso potencial en la descontaminación de aguas residuales y gases de combustión, es un alga verde unicelular, frecuentemente utilizada como bioindicador debido a su alta sensibilidad a sustancias tóxicas y a su facilidad de cultivo en el laboratorio⁸⁴. La cepa de *C. vulgaris* fue suministrada por el grupo de investigación GRESIA de la Universidad Antonio Nariño.

3.1.2 Elección del medio de cultivo. Como se mencionó anteriormente, para el desarrollo de la microalga son necesarios varios elementos nutricionales, principalmente el carbono y otros como lo son, el fósforo, elemento esencial para la transferencia de energía y formación de ácidos nucleicos, así mismo, el potasio y magnesio, no obstante, el carbono y el nitrógeno que se incorpora como nitrato (NO_3^-) o como amonio (NH_4^+)⁸⁵ son los nutrientes más importantes y esenciales para su crecimiento.

Los fertilizantes son generalmente usados para estimular el crecimiento de organismos como las plantas, esto se debe a que son una de las mayores fuentes que contienen estos valiosos nutrientes, sin embargo, poseen ciertas desventajas como generar efectos negativos al medio ambiente y ser incompatibles con medios líquidos, teniendo en cuenta que si bien, los compuestos nitrogenados son solubles en agua, esta misma característica no se presenta en los compuestos fosfóricos, donde son altamente insolubles⁸⁶. Por esta razón, las investigaciones realizadas por el grupo de investigación GRESIA de la Universidad Antonio Nariño, decidieron sustituir los fertilizantes por la urea (orina) presente en el agua residual doméstica como medio de cultivo, la cual como bien se mencionó anteriormente aporta el 24%

Revista de Biología Marina y Oceanografía, 53(1), 75–86. Disponible en: sci-hub.tw/10.4067/s0718-19572018000100075

⁸³ HERNÁNDEZ PÉREZ, Alexis y LABBÉ, José I. Microalgas, cultivo y beneficios: Revista de biología marina y oceanografía. Chile. 2014. vol. 49, nro. 2. pp. 157-173 [Consultado: 18 de marzo del 2020] Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v49n2/art01.pdf>

⁸⁴ Ibid, Pág 158.

⁸⁵ OTEROPATERNINA, Angélica; M, Sc.; CRUZCASALLAS, Pablo e; VELASCOSANTAMARÍA y Yohana m. [en línea]. Effect of the Hydrocarbon Phenanthrene on *Chlorella vulgaris* (Chlorellaceae) Growth. Universidad de los Llanos. Facultad de ciencias agropecuarias y recursos naturales. 2013. [Consultado: 18 de marzo del 2020]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/26885/2/24558-168492-1-PB.html>

⁸⁶ BARAJAS, A; GODOY, C; MONROY, J y KAFAROV, V. Mejoramiento del secuestro de CO2 por *Chlorella vulgaris* en FBR a escala laboratorio. [en línea]. Bucaramanga: UIS. 2012. [Consultado: 18 de marzo del 2020]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-100X2012000200005

del N , el 20 % del P y el 32% del K en fertilizantes artificiales⁸⁷ convirtiéndose en la mejor opción para proporcionar dichos nutrientes al medio de cultivo de la microalga.

Después de seleccionar el medio de cultivo apto para el aporte de nutrientes a las microalgas, se realizó un procedimiento de esterilización para la urea, el cual consistió en esterilizarla dos veces en el autoclave y almacenarla en un contenedor donde se mantiene disponible para su uso. Para la preparación del medio de cultivo se usaron 8 mL de orina y se agregaron 17g de agar alga, ambas proporciones corresponden a un volumen de 1 litro de agua. La cantidad de agar que se usó fue acuerdo a lo definido por el fabricante del agar, y para la orina se tuvo en cuenta un cálculo obtenido en el laboratorio de investigación de la Universidad Antonio Nariño basado en la concentración de nitrógeno.

Debido a que es más sencillo trabajar con volúmenes pequeños, la preparación del medio se realizó en recipientes ámbar de vidrio de 250mL, en los que se agregó 2mL de orina y 4,25g de agar alga, dicha preparación debe agitarse vigorosamente para asegurar la disolución completa del agar en el medio y se debe autoclavar para asegurarse que no exista contaminación.

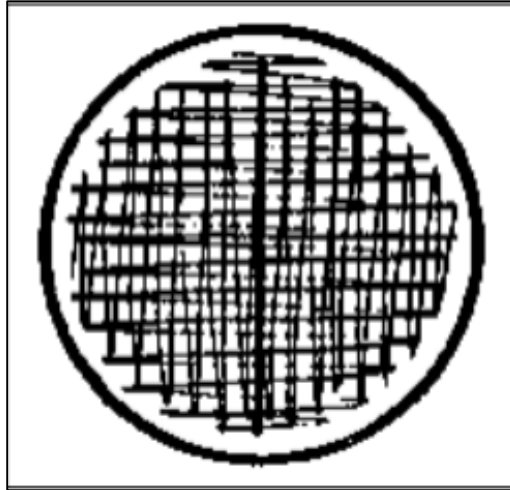
3.1.3 Siembra de la microalga. La siembra de la microalga se efectuó en cajas Petri previamente esterilizadas, a las cuales se adicionaron 25mL de medio de cultivo en fase líquida, para lograr una mejor consistencia del medio y prevenir su derrame fue llevado al microondas por 10 minutos con una potencia de 30 Watts, posteriormente se le adicionó antibiótico en una cantidad de 25 μ L para evitar la existencia de bacterias en el cultivo, este antibiótico está compuesto por 1,5g de cloranfenicol/10 mL de etanol. Por último se esperó a que el medio se solidificara por completo para proceder el proceso de siembra pertinente y así obtener las microalgas requeridas.

El método de estriado empleado para el proyecto fue por agotamiento o en estría, ver **figura 26**, este método se emplea cuando se quiere obtener la mayor cantidad de células posibles de la colonia de interés, además este método permite obtener cultivos puros del microorganismo deseado. Éste método consiste en hacer líneas en forma de zig-zag alrededor de la caja de petri partiendo de la parte superior hasta

⁸⁷ MIN PRTR. Fósforo total. [en línea]. Ministerio para la Transición Ecológica, Plaza San Juan de la Cruz. España. S.f. [Consultado: 20 de marzo del 2020] Disponible en: <http://www.prtr-es.es/Fosforo-total,15600,11,2007.html>

llegar a la parte inferior hasta completar la totalidad de la caja, como se evidencia en la **figura 27**.

Figura 26. Siembra en agar por agotamiento o en estría



Fuente: Técnicas y Métodos de estriado en caja y tubo (medios de cultivo) [blog]. 2014. Disponible en: <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/10/tecnicas-y-metodos-de-estriado-en-caja.html><http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/10/tecnicas-y-metodos-de-estriado-en-caja.html>

Figura 27. Siembra en agar por agotamiento realizada en el laboratorio de la UAN



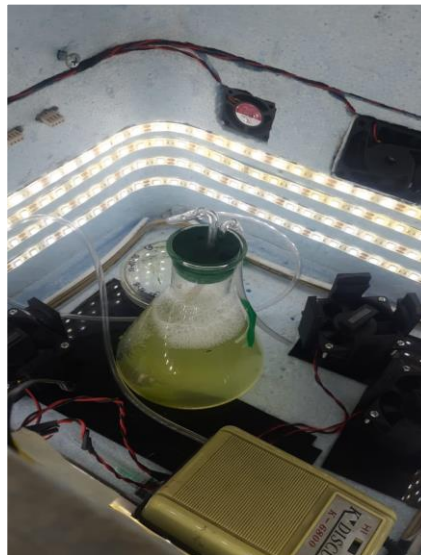
Fuente: elaboración propia.

Por último, las cajas son marcadas y llevadas a la incubadora, donde crecerán bajo condiciones de temperatura a 26°C y luz permanente, este proceso tomó alrededor de 4 días. Luego de transcurrir este tiempo las microalgas pueden ser inoculadas en los fotobiorreactores.

3.1.4 Inoculación de la microalga. Para poder agregar las microalgas al fotobiorreactor, se deben inocular previamente, el proceso que se llevó a cabo se especifica a continuación:

Inicialmente en un matraz de Erlenmeyer de 500mL se agregó 300mL de agua y 24mL de orina teniendo en cuenta una base de cálculo de 8mL de orina/1L de agua, con ayuda de un aza esterilizada se agregan las microalgas de la caja Petri al medio líquido dentro del Erlenmeyer. Luego, el matraz fue llevado a la incubadora en donde permaneció a lo largo de 7 días; se le agregó agitación con ayuda de un aspersor de burbujas para pecera conectado por medio de una manguera a una bomba de aire, la agitación se ubicó en el fondo del matraz, se mantuvo a una temperatura de 26°C. La luz fue suministrada permanentemente por una cinta LED siliconada a intensidad lumínica de 1000-1250 lux aproximadamente, como se evidencia en la **figura 28**.

Figura 28 . Incubación de microalgas en Erlenmeyer en incubadora



Fuente: elaboración propia.

El seguimiento del crecimiento de las algas en el matraz de Erlenmeyer se realizó los primeros 4 días por su coloración, observando el cambio de color de verde claro

a verde oscuro, y los 3 días posteriores se realizó la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro (Spectronic Genesys 20, Thermo Fisher Scientific) a una longitud de onda de 680nm, este procedimiento se detalla en el **ANEXO F**.

Una vez alcanzado un valor de absorbancia de 0,8 dentro del Erlenmeyer, se agregaron las microalgas en fase líquida dentro del FBR, previamente el fotobiorreactor se cargó con alimento en las siguientes proporciones: 20,8mL de orina esterilizada y 2,6L de agua, teniendo como base de cálculo 8mL de orina/1L de agua; el FBR fue operado en sistema Fed-batch inicialmente, alimentado tres veces a la semana con 20,8mL/volumen total del reactor de orina esterilizada intercalando los días, con el fin de conseguir el crecimiento rápido y efectivo de las microalgas dentro del reactor, su crecimiento se verificaba a través de la lectura de la absorbancia en el espectrofotómetro a 680nm, al completar un valor de 0.995 en el cultivo el FBR se opera en sistema continuo como se explica en el **numeral 2.2.5**. Así mismo, fueron controlados los parámetros como de temperatura oscilante entre 25 – 28 °C, velocidad de agitación a 200rpm y luz permanente.

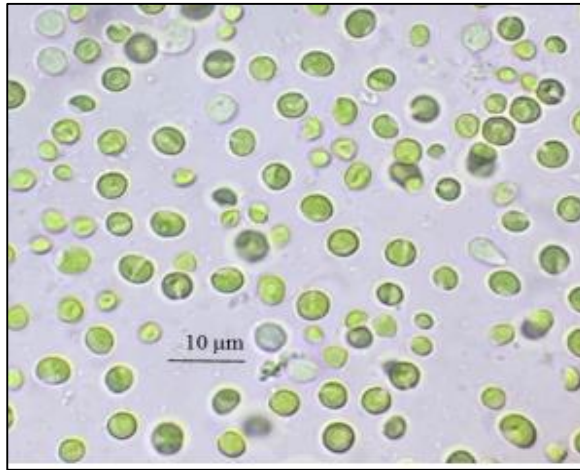
El alimento se depositó en un recipiente de capacidad de 6L, en proporciones: 48mL de orina/ 6L de agua siguiendo la base de cálculo demostrada anteriormente, se alimenta en forma de goteo por medio de una bomba peristáltica, su proceso de funcionamiento se detalla en el **numeral 2.1.1**

3.1.5 Morfología de la microalga. El género *Chlorella* se caracteriza por poseer células de color verde y con forma esférica que producen autoesporas, se encuentran mayormente en cuerpos de agua dulce, también pueden encontrarse en el suelo. La especie *vulgaris*, es una célula esférica que puede medir de 2-10µm de diámetro y que presenta estabilidad y rigidez debido a su pared celular, contiene los pigmentos verdes fotosintetizadores clorofila a y b en su cloroplasto⁸⁸, además, registra altas tasas de crecimiento y tolerancia a la variación estacional.

A continuación en la **figura 29** se presenta una ilustración de la morfología de la microalga *Chlorella vulgaris* observada en el microscopio.

⁸⁸ KHAN ACADEMY. [en línea] Luz y pigmentos fotosintéticos: los pigmentos absorben la luz utilizada en la fotosíntesis. 2017. [Consultado: 1 de junio del 2020] Disponible en: <https://es.khanacademy.org/science/biology/photosynthesis-in-plants/the-light-dependent-reactions-of-photosynthesis/a/light-and-photosynthetic-pigments>

Figura 29. Morfología Chlorella Vulgaris en el microscopio.



Fuente: CULTIVATION OF GREEN MICROALGA: Chlorella vulgaris for biogas purification Nextgen Research Publication. 2014. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/300505269_Cultivation_of_Green_Microalga_Chlorella_vulgaris_for_Biogas_Purification

3.1.6 Equipos utilizados en el crecimiento del cultivo. Para el desarrollo del cultivo de las microalgas se utilizó una serie de equipos con el fin de proporcionar condiciones de inocuidad y permitir el seguimiento y análisis del crecimiento de las microalgas, se muestran a continuación:

Tabla 12. Equipos utilizados en el crecimiento del cultivo.


Equipo	Imagen	Descripción	Función
Autoclave	 <p>Fuente: elaboración propia.</p>	<p>Marca: All American Modelo: 50X-120 Sistema hermético que opera a 121°C y 15lb de presión, formando vapor de agua.</p>	<p>Se utilizó para esterilizar los medios de cultivo y el material para el desarrollo del proceso.</p>

Tabla 10. (Continuación)

Equipo	Imagen	Descripción	Función
<p>Cabina de flujo laminar</p>	 <p>Fuente: elaboración propia.</p>	<p>Marca: Purificación u Análisis de Fluidos LTDA.</p> <p>Permite mantener libre de impurezas el espacio de trabajo, además brinda esterilización debido a su luz ultravioleta.</p>	<p>Se empleó para manipular los microorganismos y medios de cultivo en condiciones de desinfección.</p>
<p>Balanza analítica</p>	 <p>Fuente: elaboración propia.</p>	<p>Marca: BOECO Germany Modelo: BBL52</p> <p>Mediciones con precisión de lectura de 0,1µg a 0,1mg.</p>	<p>Se utilizó para medir el peso de agar alga y melaza.</p>
<p>Espectrofotómetro</p>	 <p>Fuente: elaboración propia.</p>	<p>Marca: Genesys 20. Modelo: Thermo</p> <p>Instrumento usado en el análisis químico que mide la absorbancia de una muestra en los espectros de luz ultravioleta y visible.</p>	<p>Empleado para seguimiento del crecimiento celular microbiano.</p>
<p>pH-metro</p>	 <p>Fuente: elaboración propia.</p>	<p>Marca: HANNA Modelo: HI2210</p> <p>Instrumento que mide la actividad del ion hidrógeno en soluciones acuosas, indicando su grado de acidez o alcalinidad.</p>	<p>Se empleó para el medir el pH del efluente del reactor UASB y FBR.</p>

Tabla 10. (Continuación)

Equipo	Imagen	Descripción	Función
Medidor eléctrico de temperatura	 <p>Fuente: elaboración propia.</p>	<p>Marca: EXTECH Modelo: SDL200</p> <p>Registro de datos de 4 canales con 6 tipos de termopares (J, K, E, T, R, S) y registro de datos de 2 canales con sondas RTD (Pt100Ohm)</p>	<p>Se utilizó para medir la temperatura en diferentes puntos dentro del FBR.</p>
Microscopio	 <p>Fuente: elaboración propia.</p>	<p>Marca: Leica Modelo: MD500</p> <p>Instrumento óptico para la observación e identificación de los microorganismos.</p>	<p>Utilizado para observar la morfología y crecimiento de las microalgas.</p>

Fuente: elaboración propia

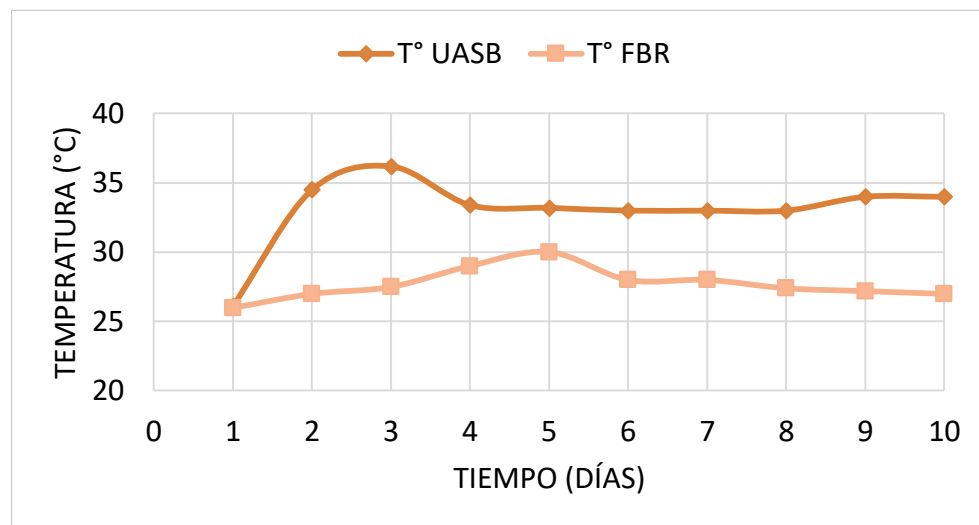
Bajo este contexto, la producción de biogás y el desarrollo de la microalga son de vital importancia para cumplir el propósito del proyecto, y esto solo se logrará cuando los reactores cumplan ciertos parámetros que garanticen su estabilización, como se detalla a continuación.

3.2 ESTABILIZACIÓN DE PARÁMETROS OPERACIONALES

Los parámetros operaciones hacen alusión a las condiciones de trabajo de los reactores. Para lograr estabilizar los reactores a dichas condiciones, se realizó un seguimiento y reporte de datos de parámetros como lo fueron temperatura, absorbancia, pH, alcalinidad y producción de biogás como se documenta y analiza a continuación.

3.2.1 Comportamiento de temperatura en los biorreactores. Las tasas de crecimiento y reacción aumentan proporcionalmente con la temperatura hasta alcanzar la temperatura óptima para cada especie. Según la literatura en los biodigestores es un factor importante en la producción de biogás, puesto que, se deben simular las condiciones óptimas para minimizar los tiempos de producción, y recomiendan temperaturas óptimas de 30° a 35° C aproximadamente⁸⁹. Por el otro lado, en cuanto a las microalgas, la mayoría se encuentran en un rango óptimo de temperatura situado entre 18°C y 25° C para las microalgas mas resistentes como *Chlorella vulgaris* estos valores alcanzan los 36 °C⁹⁰ sobrepasar la temperatura óptima de cada especie aumenta la respiración en los microorganismos, como consecuencia de la fotorespiración una reducción en la productividad global⁹¹. En este orden de ideas, a continuación, se presentan las gráficas de los datos obtenidos correspondientes al comportamiento de temperatura en los biorreactores, el procedimiento se detalla para el reactor UASB en el **numeral 2.2.2**, y para el fotobiorreactor en el **ANEXO B**.

Gráfica 1. Comportamiento de temperatura de los biorreactores.



Fuente: elaboración propia.

⁸⁹ UNIVERSO PORCINO. Instalación porcinos: Biodigestores [en línea] BIOMAX. 2008. [Consultado: 5 Junio 2020]. Disponible en: http://www.aacporcinos.com.ar/articulos/que_es_un_biodigestor.html#:~:text=Factor%20importante%20en%20la%20producci%C3%B3n,a%2035%C2%B0C%20aproximadament

⁹⁰ LAING, I y AYALA, F. Commercial mas culture techniques for producing microalgae. In: Akatsuki Iced. Introduction to Applied Psychology, 1990 pp. 447-477. SPB Academic Publishing, The Hague.

⁹¹ HERNÁNDEZ PÉREZ, Alexis y LABBÉ, José I. Microalgas, cultivo y beneficios: Revista de biología marina y oceanografía. Chile. 2014. vol. 49, nro. 2. pp. 157-173 [Consultado: 5 de junio del 2020] Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v49n2/art01.pdf>

En la **gráfica 1**, se evidencia el comportamiento de temperatura medida en grados Celsius (°C) con respecto al tiempo en días para los dos reactores, es importante resaltar que cada uno de los biorreactores tiene un valor de temperatura ideal distinto; para el reactor UASB se operará en un rango mesofílico (temperaturas alrededor de 35°C) estableciendo un rango de manejo entre 34-36°C, y por otro lado, para el FBR se manejó un rango de 25-28°C con un valor ideal de 26°C.

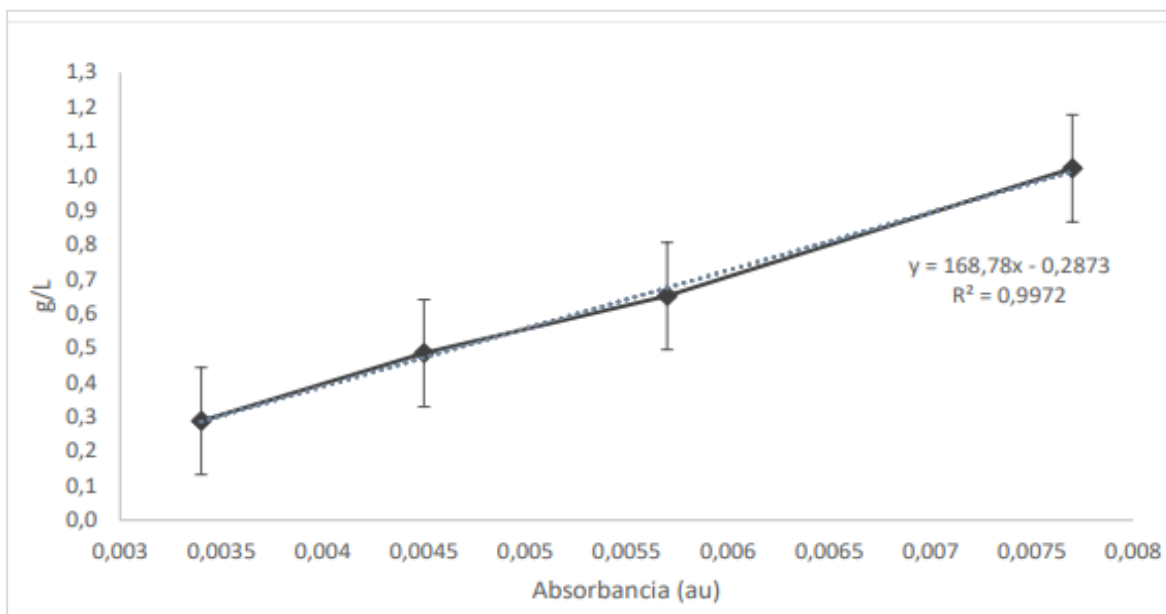
El reactor UASB en su puesta en marcha inicial arranca con una temperatura de 26°C, y presenta un aumento llegando a su punto máximo en el tercer día de operación con un valor de 36°C, luego disminuye y no presenta cambios significativos durante los siguientes 4 días, el noveno día nuevamente presenta un incremento favorable al valor ideal de temperatura, logrando estabilizarse en 35°C. Por otro lado, al observar el comportamiento del FBR en su puesta en marcha inicial, su temperatura es de 26°C, posteriormente presenta un aumento llegando a 30°C, considerándose el valor más alto obtenido en la recopilación de datos de este parámetro, no generó ninguna contrindicación para el cultivo algal puesto que la literatura soporta que el cultivo de *C. Vulgaris* resiste hasta temperaturas de 36°C; en el proyecto se estableció un rango entre 25° - 28°C considerando este incremento de temperatura como elevado, se retiraron del contacto directo con el FBR líneas de cinta LED de iluminación para poder disminuir y controlar la T al rango requerido en el proyecto. Los últimos días se pudo observar un descenso en el valor de la temperatura y estabilización en la temperatura ideal de 26°C.

Luego de revisar la bibliografía y comparar los datos obtenidos, Finalmente podemos afirmar que los dos reactores estuvieron operando dentro de los rangos establecidos y al comparar los valores con la bibliografía para el valor de temperatura lo cual favoreció los procesos correspondientes realizados dentro de ellos y se logró la estabilización de este parámetro.

3.2.2 Absorbancia en las microalgas. La Espectrofotometría es uno de los métodos experimentales más utilizados para la detección específica de moléculas. Se caracteriza por ser un método preciso y que puede ser aplicado a moléculas de distinta naturaleza y estado (gas, líquido, sólido). Posee fundamentos relativamente sencillos los cuales consisten en que las moléculas absorban energía luminosa y la almacenen en forma de energía interna, esto permite que se inicien ciclos vitales de

muchos organismos, entre ellos el de la fotosíntesis en plantas y bacterias⁹². En este orden de ideas, el crecimiento del cultivo algal se determinó por este método a una longitud de onda de 680nm.

Gráfica 2. Curva de calibración Peso seco

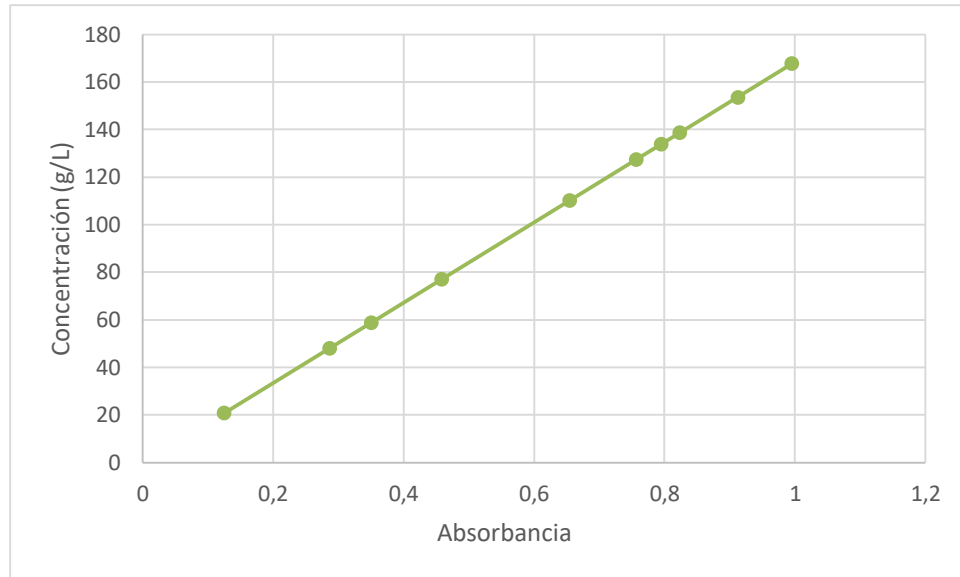


Fuente: DIAZ, Daniela y GUERRERO, Liz. Evaluación de la capacidad de biofijación de CO₂ de un cultivo de microalgas en un proceso de combustión fija. Programa de ingeniería química. Bogotá D.C. Fundación Universidad de América. 2019. [PDF].

Finalmente se graficaron los datos de absorbancia obtenidos con el fin de determinar la cantidad de biomasa en el cultivo algal.

⁹² FUNDAMENTOS DE QUÍMICA. [En línea] s.f. [Consultado el 25 de mayo 2020] Disponible en: <https://www.upo.es/depa/webdex/quimfis/docencia/quimbiotec/FQpractica4.pdf>

Gráfica 3. Concentración de biomasa obtenida



Fuente: elaboración propia.

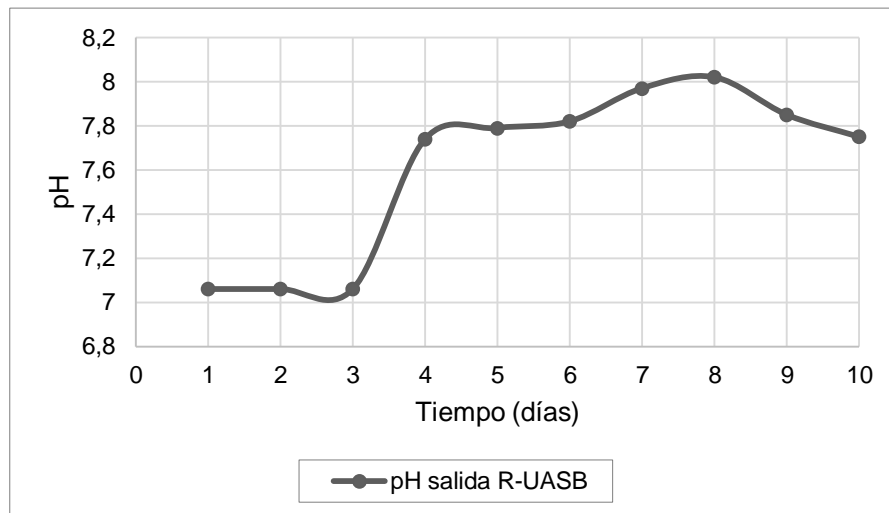
Las microalgas diariamente presentaron un crecimiento exponencial, como se evidencia en la **gráfica 3**. Con el fin de alcanzar una densidad celular de 1 o lo más cercano a este valor en el cultivo microalgal, las microalgas lograron una absorbancia máxima en el décimo día, alcanzando una densidad celular de 0,995 con una concentración de biomasa de 167, 6488 g/L. De acuerdo con los datos obtenidos y evidenciados, se puede afirmar que el cultivo algal tuvo todos los factores externos y requerimientos nutricionales necesarios para su crecimiento y multiplicación dentro del fotobiorreactor .

3.2.4 Comportamiento de pH. Dentro de los factores más importantes a controlar se encuentra el pH, puesto que este parámetro afectará directamente la finalidad de cada proceso. Se conoce que los biogestores se encontrarán en mejores condiciones, tanto de producción de metano como capacidad de buffer, con valores cercanos a la neutralidad; valores menores, requieren un mayor tiempo de asimilación de la materia orgánica por parte de los microorganismos, esto implicaría prolongados tiempos de retención y mayores volúmenes de reactores, así mismo, presentarían menor producción de metano⁹³.

⁹³ OROBIO, Brayan; TORRES, Patricia; MARMOLEJO, Luis; CLEVES, VELAZQUES, Lina; LOPEZ, Wilmar y ORDÓÑEZ José. influence of pH on anaerobic digestion of municipal bio-wastes. [en línea]. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 17(2): 553-562. 2014 [Consultado: 15 Junio 2019] Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v17n2/v17n2a27.pdf>

La medición del pH se realizó por el método potenciométrico este método tiene como finalidad la determinación de la actividad de los iones hidrógeno por medidas potenciométricas usando un electrodo combinado o un electrodo estándar de hidrógeno de vidrio con un electrodo de referencia. La descripción detallada del proceso paso a paso de medición de pH se encuentra en el **ANEXO F**. En el reactor UASB se obtuvieron los siguientes datos, ver **gráfica 4**.

Gráfica 4. pH de efluente de reactor UASB.



Fuente: elaboración propia

En la **gráfica 4**, como los primeros 3 días de operación la salida del reactor no presenta cambios significativos en su valor de pH, mientras que los siguientes 5 días aumenta significativamente hasta alcanzar un valor de 8,0 en el octavo día, posteriormente se evidencia un descenso en los siguientes 2 días acercándose a la neutralidad con un valor de 7,7. La salida del reactor UASB evidencia un comportamiento idóneo puesto que sus valores de pH medidos durante los 10 días de operación estuvieron oscilando dentro del rango establecido entre 7,0 – 8,0, lo cual fue favorable para la producción de biogás, así mismo, garantizando estabilidad en el proceso anaerobio y evitando así la ocurrencia de fenómenos de inhibición.

Del mismo modo, en el cultivo algal este parámetro se considera uno de los más importantes, puesto que las microalgas demuestran dependencia a este factor variando su respuesta según la especie de microalga⁹⁴. Respectivamente en su mayoría presentan un pH óptimo de cultivo entre 7,0 y 8,0 cabe resaltar que un

⁹⁴ RICHMOND A. 2004. Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology, 566 pp. Blackwell Science, Oxford.

descenso en el pH puede ser mortal, por el contrario, las microalgas suelen soportar los incrementos del pH hasta cierto límite⁹⁵. Según Mora et al (2005), concluyeron que los mayores crecimientos experimentales por parte de la microalga *Chlorella vulgaris* se encontrarían en un rango de pH 8,0 Y 9,0.

3.2.5 Producción de biogás. El fundamento de la producción de este gas, es poder ser inyectado al FBR en su estado original (gaseoso) con la intención de cumplir las necesidades de absorción por fotosíntesis de las microalgas y aprovechar su capacidad de fijación en gases como en dióxido de carbono, depurando entonces este gas de la corriente dejando pasar sin alteración alguna el CH₄, el compuesto mayormente presente en la corriente de biogás, mejorando y aumentando su poder calorífico, con el fin de lograr un 90% v/v en la corriente de biogás, puesto que es el porcentaje requerido para la combustión⁹⁶.

Luego de la puesta en marcha inicial, el reactor UASB tardó 5 semanas para producir biogás. Al reactor UASB no ingresó aire. Puede que ingresaran trazas de oxígeno disuelto pero no es probable. Debido a la actividad microbiana los gases que se pueden esperar a la salida son principalmente CO₂ y CH₄. Al burbujear ese gas en solución de NaOH, el gas que no se solubiliza es probablemente CH₄. En este estudio no se alcanzó a realizar la caracterización pero en estudios previos (*Díaz-Báez*)⁹⁷ se ha hecho. También se han hecho pruebas de combustión del gas resultante con resultados positivos. El burbujeo en solución de NaOH es un ensayo aceptado para medición de CH₄ en biogas⁹⁸.

Por consiguiente, con el fin de calcular la cantidad de biogás dentro del reactor UASB, este se conectó al sistema de medición de biogás descrito en el **numeral 2.1.4.** en su quinta semana de operación.

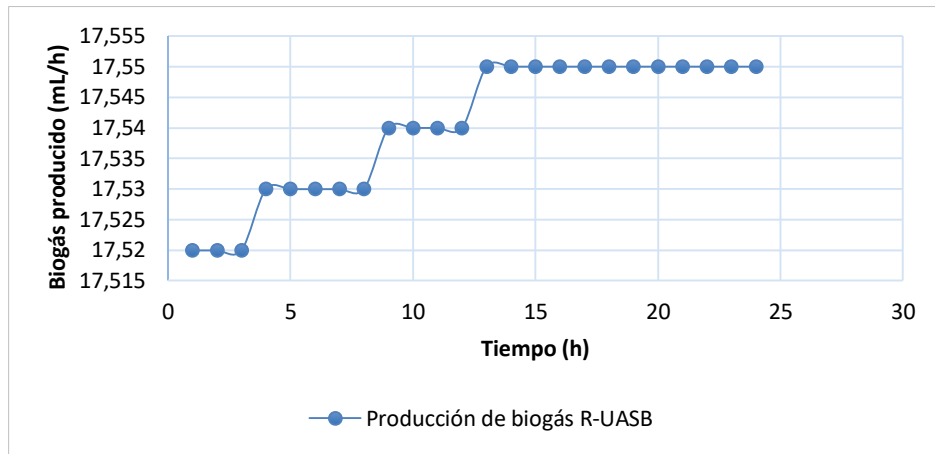
⁹⁵ MORA R, ORTIZ, R Moronta, ORTEGA y MORALES E. Crecimiento y producción de pigmentos de la microalga nativa *Chlorella* sp. aislada de la represa de Tulé, [en línea]. Municipio Mara, Estado de Zulia, Venezuela. Revista Ciencia 12: 1-9. 2005. [Consultado: 16 de junio del 2020] Disponible en: <https://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia/article/view/9214>

⁹⁶ SUNA, S; GE, Z; ZHAO; ZHANG, Hu; y PING, L. Performance of CO₂ concentrations on nutrient removal and biogas upgrading by integrating microalgal strains cultivation with activated sludge. China. Linyi University.. Energy, 97, 229–237. 2016. doi:10.1016/j.energy.2015.12.126

⁹⁷ VALDERRAMA, Juan y DIAZ-BAEZ María. Rapid restoration of methanogenesis in an acidified UASB reactor treating 2,4,6-trichlorophenol (TCP). Journal of Hazardous Materials. Colombia. Antonio Nariño University. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.11.031>

⁹⁸ Vidal, M.C. Diez, Methanogenic toxicity and continuous anaerobic treatment of wood processing effluents, J. Environ. Manage. 2005. 317–325.

Gráfica 5. Biogás producido en el reactor UASB en un día de operación normal



Fuente: elaboración propia.

La **gráfica 5**, corresponde a la producción de biogás a lo largo de un día (24 horas) de operación normal, con sus condiciones de trabajo estabilizadas según los rangos establecidos anteriormente; durante las primeras doce horas se evidencia un crecimiento exponencial de no más de 0,01mL en la producción de biogás por hora transcurrida, posteriormente la cantidad se estabiliza en un valor de 17,55mL/h, hasta culminar el día o ciclo de 24 horas, por lo que puede decir que la cantidad promedio de biogás producido por el reactor en un día normal de operación fue de 17,535mL/h y su cantidad total siendo la suma de los datos obtenidos por hora fue de 420,97mL/d. Cabe resaltar que el lodo granular utilizado previamente tuvo un tratamiento de acondicionamiento de melaza a 2000 ppm, según literatura el lodo granular requiere aproximadamente 6 días para producir metano⁹⁹ por lo que se podría decir que la adaptación del lodo a la melaza tuvo un beneficios en el tiempo de producción del biogás, y del mismo modo, la adaptación de los microorganismo al sustrato fue exitosa.

⁹⁹ MARTINEZ, Maria del pilar. Evaluación de la remoción de azitromicina disuelta en agua residual sintética en un reactor UASB a escala laboratorio. Magister en Ingeniería. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería, civil y agrícola. 2019. [Archivo PDF]

3.3 RESULTADOS DE LA ESTABILIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS

En este orden de ideas, en la **tabla 13** se puede observar las condiciones de trabajo establecidas para los biorreactores.

Tabla 13. Condiciones de trabajo en los reactores.

Parámetro	Reactor uasb	Fotobiorreactor air-lift
Temperatura (°C)	35 ± 1	26 ± 1
pH	7,0 – 8,0	7,0 – 8,0
Alcalinidad total mg/LCaCO ₃	200 - 500	No aplica
Absorbancia	No aplica	0,995
Producción de biogás (mL/d)	420,97	No aplica

Fuente: elaboración propia.

Resumiendo lo planteado, después de determinar los parámetros a controlar en los biorreactores, se establecieron rangos óptimos de operación guiados por la literatura y experimentación, el proceso de cada reactor se estabilizó a dichos rangos generando así optimización y resultados en el desarrollo de cada proceso, por ende, en el sistema en conjunto. Ahora bien, para poder continuar y concluir con la finalidad del proyecto se conlleva a proponer un método teórico que aporte las bases teórico/experimentales en la fijación de CO₂ de un cultivo Microalgal, del mismo modo, la mejora del metano contenido en la corriente de biogás; cabe resaltar que el método a seleccionar debe acomodarse a la experimentación a escala laboratorio desarrollada en la Universidad Antonio Nariño.

4. MÉTODOS PARA CALCULAR LA BIOFIJACIÓN EN LAS MICROALGAS

La fijación de CO₂ depende de diferentes factores como el crecimiento del cultivo, incidencia de luz, diseño del reactor, concentración inicial de CO₂ y tolerancia de la especie utilizada. Actualmente, se han desarrollado varios métodos de mitigación de CO₂, estos métodos pueden agruparse en dos categorías principales. i) Métodos basados en la reacción química y ii) Métodos biológicos¹⁰⁰. La implementación de los diferentes métodos basados en la reacción química como lo son: absorción física, adsorción por oscilación de la presión, separación criogénica, separación por membrana y conversión química, estos métodos utilizan productos químicos que consumen gran cantidad de energía, así mismo generan desechos que requieren tratamientos adicionales; por ello, los métodos biológicos representan una potencial alternativa para evaluar la fijación de CO₂ en las microalgas, puesto que estos microorganismos utilizan el proceso fotosintético para su crecimiento y por lo tanto, pueden convertir el CO₂ en una fuente puntual de biomasa; este proceso de biofijación es considerado el procedimiento más efectivo para la retención de CO₂¹⁰¹.

En este estudio, se llevó a cabo la producción de biomasa Microalgal en un fotobiorreactor de sistema cerrado, lo cual garantiza la ausencia de microorganismos contaminantes y la reducción de pérdidas de CO₂ contribuyendo así a una tasa alta de captura del CO₂. A continuación, se propondrán los dos métodos existentes al alcance experimental a escala laboratorio con el fin de determinar la captura de biofijación lograda por las microalgas en el proceso descrito desarrollado en Universidad Antonio Nariño.

4.1 METODO DE CARBONO CONTENIDO EN LA BIOMASA

El crecimiento del cultivo microalgal es un parámetro condicional en el grado de biofijación, expresado como el incremento de número de células en forma de biomasa, así mismo, el contenido de carbono presente en la biomasa puede evaluarse a través de procedimientos como, peso seco, carbono orgánico total (TOC) o determinación de DQO; dicho esto, a partir de la determinación de carbono

¹⁰⁰ RAZZAK, Shaikh Abdur, *et al.* Biological CO₂ fixation with production of microalgae in wastewater – A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2017, vol. 76. p 3.

¹⁰¹ TANG, Dahai, *et al.* CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels. *Bioresource Technology*. 2011, vol. 102, nro. 3. pp. 3071-3076

contenido en la biomasa en base a los métodos mencionados anteriormente, el artículo de Toledo et. al.¹⁰² evalúa la tasa de biofijación con la siguiente ecuación:

Ecuación 9. Tasa de fijación de CO₂

$$P_{CO_2} = C_c P \left(\frac{M_{CO_2}}{M_c} \right)$$

Fuente: TOLEDO, A; MORALES, M; NOVELO, E y REVAH, S. Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*. *Bioresource Technology*. (2013). 130, 652–658. doi:10.1016/j.biortech.2012.12.081

Dónde, P_{CO₂} es la tasa de fijación del CO₂, P es la productividad de la biomasa, M_{CO₂} es el peso molecular del dióxido de carbono, M_c es el peso molecular del carbono y C_c es el contenido de carbono de la biomasa (gC.gbiomass⁻¹). Este método de cálculo corrobora los estudios realizados previos por Tang et. al.¹⁰³ quien realizó la cuantificación de la tasa de biofijación aplicando la misma ecuación.

Del mismo modo, la productividad de la biomasa se determinó con la siguiente ecuación:

Ecuación 10. Productividad de la biomasa.

$$P = \frac{X_t - X_0}{t - t_0}$$

Fuente: TOLEDO, A; MORALES, M; NOVELO, E y REVAH, S. Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*. *Bioresource Technology*. (2013). 130, 652–658. doi:10.1016/j.biortech.2012.12.081

Dónde, X₀ es la concentración inicial de biomasa (g m⁻³) en el momento a (d) y X_t es la concentración de biomasa en cualquier momento. P (g m⁻³ d⁻¹) se denomina el valor máximo obtenido en cada experimento (P_{max}).

Con el fin de estudiar el efecto de tres factores clave que influyen en el crecimiento celular: el artículo evaluó el CO₂ de entrada, la aireación y la intensidad de la luz, aisló una microalga con alto potencial de aplicación en la fijación de CO₂. “La microalga se cultivó en el BCR mantenido a 30 ° C con un volumen de trabajo de 0.0025 m³ y un inóculo de 20% v/v de una suspensión concentrada de microalgas. Se analizaron diversas condiciones de funcionamiento, incluidas tasas de flujo de

¹⁰² TOLEDO, A; MORALES, M; NOVELO, E y REVAH, S. Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*. *Bioresource Technology*. (2013). 130, 652–658. doi:10.1016/j.biortech.2012.12.081

¹⁰³ TANG, Dahai, *et al.* CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels. *Bioresource Technology*. 2011, vol. 102, nro. 3. pp. 3071-3076

gas no estéril de 0,4 o 0.8 vvm (volumen de aire por volumen de reactor por minuto), entrada. Concentraciones de CO₂ de 5% o 10% v / v e intensidades de luz de 54.7, 94,4 o 134 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, estos se ajustaron activando/apagado algunas de las lámparas¹⁰⁴.

El procedimiento por el cual Toledo et. al.¹⁰⁵ llevaron a cabo la cuantificación de biomasa, se basó en recoger diariamente veinte mililitros de cultivo, reemplazando esta cantidad con agua destilada no estéril. La biomasa se cuantificó al filtrar un volumen conocido de medio de cultivo a través de una membrana de 0,45 micrasm posteriormente se dejó secar a 50 ° C durante 24 h. El contenido de carbono de la biomasa se determinó usando un analizador CHNS (Serie II 2400CHNS / O Perkin Elmer, Boston, EE. UU.). Obteniendo los siguiente resultados en cuanto a productividad de la biomasa y tasa de fijación de CO₂:

Tabla 14. Parámetros obtenidos a diferentes intensidades de luz y concentraciones de entrada de CO₂. Flujo de entrada de gas 0,4 vvm.

Concentración CO ₂ (%v/v)	5	5	5	10	10	10
Carga CO ₂ (kg m ⁻³ d ⁻¹)	40	40	40	80	80	80
Irradiancia ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	54.7	94.4	134	54.7	94.4	134
X _{max} (g m ⁻³)	3,370	3,120 ^a	6,000	3,100 ^a	2,700	5,700
P _{max} (g m ⁻³ d ⁻¹)	250	320	500	260	310	520
μ_{max} (d ⁻¹)	0.18	0.23	0.37	0.18	0.34	0.38
P _{CO₂} (g m ⁻³ d ⁻¹)	470	600	950	490	570	970

Fuente: TOLEDO, A; MORALES, M; NOVELO, E y REVAH, S. Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*. *Bioresource Technology*. (2013). 130, 652–658. doi:10.1016/j.biortech.2012.12.081

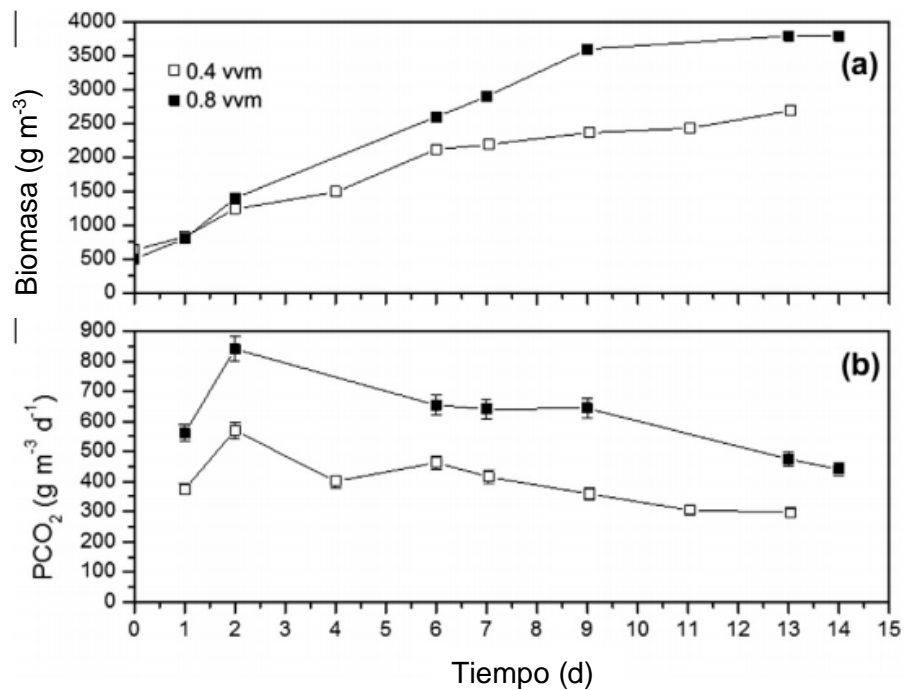
La tabla 14 muestra el efecto de la concentración de CO₂ a 0.4 vvm e irradiación sobre la fijación de CO₂ y la tasa de crecimiento de la microalga. Los valores más altos de biomasa (contenido final de 6,000 g m³ crecimiento tasa de 0,37 d⁻¹ y productividad de 500 g m³ d⁻¹) y la tasa máxima de fijación de CO₂ se obtuvieron con la irradiación más alta probado y no dependía de la concentración de entrada de CO₂. El análisis de datos estadísticos mostró que la productividad de la biomasa no tiene diferencia (P <0.0001) cuando las concentraciones de CO₂ del 5% o 10% fueron suministrado a la misma

¹⁰⁴ TOLEDO, A; MORALES, M; NOVELO, E y REVAH, S. Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*. *Bioresource Technology*. (2013). 130, 652–658. doi:10.1016/j.biortech.2012.12.081

¹⁰⁵ Ibid, Pág 653.

intensidad de luz. Estos resultados sugieren que, en las condiciones estudiadas, la energía luminosa disponible puede ser la factor limitante¹⁰⁶.

Figura 30. a) curvas de cremiento; b) tasa de fijación de CO₂ con una tasa de carga de CO₂ de 80 kg m⁻³ d⁻¹ and 94.4 μmol m⁻² s⁻¹. □ 0,04 vvm ■ 0,08 vvm.



Fuente: TOLEDO, A; MORALES, M; NOVELO, E y REVAH, S. Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*. *Bioresource Technology*. (2013). 130, 652–658. doi:10.1016/j.biortech.2012.12.081

Según los resultados obtenidos en la **figura 30** Toledo et. al.¹⁰⁷ afirma que el análisis de datos estadísticos mostró que la biomasa, productividad y tasa de fijación de CO₂ aumenta cuando se incrementa el flujo de aire de CO₂ (P<0,0001).

Como bien se ha mencionado, evaluar el contenido de carbono presente en la biomasa microalgal puede también llevarse a cabo a través del método de carbono orgánico total (total organic carbón, TOC). Este método consiste en utilizar un equipo analizador de carbono orgánico total TOC analyzer (Shimadzu) el cual

¹⁰⁶ Ibid, Pág 653.

¹⁰⁷ Ibid, Pág 655.

funciona configurando una secuencia de análisis en el software previamente instalado a un computador que va conectado al equipo TOC. (Se recomienda configurar 3 repeticiones para cada muestra con el fin de compensar errores humanos). Posteriormente, se agregan dos muestras del cultivo, una tomada al inicio del experimento y la otra al finalizar y se procede a iniciar la medición, después de realizar las medidas pertinentes, el equipo TOC suministra un reporte de los datos obtenidos mostrando el contenido de carbono orgánico en unidades de PPM para cada muestra. La medida del carbono orgánico total se determina mediante la diferencia entre los datos obtenidos para el TOC inicial y el TOC final procesados en el equipo.

De acuerdo a la revisión bibliográfica consultada anteriormente, este método se considera eficaz debido a que el equipo TOC posee diferentes ventajas como manejar un amplio rango de 4 µg/L a 30,000 mg /L, lo cual proporciona precisión y exactitud al momento de calcular la cantidad de CO₂ consumido por las microalgas. Además, el tiempo de medición que maneja el analizador esta alrededor de los 3 minutos por lectura, lo cual resulta favorable para el experimentador.

Del mismo modo, para efectos de desarrollo e investigación del proyecto se tuvo en cuenta el estudio de procesos que desarrollen cooperativamente un sistema algal-bacteriano que mejore eficazmente el biogás por Suna et. al.¹⁰⁸, quien realizó la investigación del método sobre la eliminación de CO₂ y H₂S del biogás por medio de tres cepas de microalgas (*Chlorella Vulgaris*, *Scenedesmus Obliquus* y *Neochloris oleabundans*) mezcladas con lodo activado y el uso de la lechada de biogás como medio nutritivo. En este caso, a diferencia de la propuesta del Toledo et. al., las cepas de microalgas se expusieron a concentraciones mayores de CO₂ del biogás simulado (25%, 35%, 45% y 55%) con el fin de determinar la influencia y la variante de estas concentraciones en la eliminación de CO₂ y H₂S, así mismo el contenido de O₂ y CH₄ en el biogás mejorado; para lograr esto, en el artículo Suna et. al., utilizaron cuatro mezclas de biogás sintético simulando las composiciones típicas encontradas para el mejoramiento del biogás, como se muestra en la **tabla 15**. Se expusieron estas mezclas de biogás sintético a las 3 cepas de microalgas en un FBR, realizaron un muestreo diario de gas a la entrada y salida por medio de un

¹⁰⁸ SUNA, S; GE, Z; ZHAO; ZHANG, Hu; y PING, L. Performance of CO₂ concentrations on nutrient removal and biogas upgrading by integrating microalgal strains cultivation with activated sludge.China. Linyi University.. Energy, 97, 229–237.2016. doi:10.1016/j.energy.2015.12.126

analizador de gas circulante¹⁰⁹, midiendo las concentraciones (v/v) de CO₂, H₂S, O₂ Y CH₄.

Tabla 15. Concentraciones de biogás simulado.

Mezcla de biogás	%CO ₂	% H ₂ S	%CH ₄
BM1	25	0.5	74.5
BM2	35	0.5	64.5
BM3	45	0.5	54.5
BM4	55	0.5	44.5

Fuente: elaboración propia, basada en SUNA, S; GE, Z; ZHAO; ZHANG, Hu; y PING, L. Performance of CO₂ concentrations on nutrient removal and biogas upgrading by integrating microalgal strains cultivation with activated sludge.China. Linyi University.. Energy, 97, 229–237.2016. doi:10.1016/j.energy.2015.12.126

En este orden de ideas, Suna et al propuso cuantificar la eficiencia de eliminación de nutrientes CO₂ y H₂S en base a la siguiente ecuación:

Ecuación 11. Eficiencia de eliminación de nutrientes CO₂ y H₂S

$$R = \left(1 - \frac{X_e}{X_i} \right) \times 100$$

Fuente: SUNA, S; GE, Z; ZHAO; ZHANG, Hu; y PING, L. Performance of CO₂ concentrations on nutrient removal and biogas upgrading by integrating microalgal strains cultivation with activated sludge.China. Linyi University.. Energy, 97, 229–237.2016. doi:10.1016/j.energy.2015.12.126

Dónde, X_e y X_i son las concentraciones final e inicial de nutrientes respectivamente, su medición se da en unidades de mg.L⁻¹

En este caso, evaluaron el crecimiento del cultivo experimentalmente midiendo el DW (peso seco) en cada tratamiento. En este caso, calcularon la productividad de la biomasa (P) por la siguiente ecuación:

¹⁰⁹ YAN, C y ZHENG, Z. Performance of photoperiod and light intensity on biogas upgrade and biogas effluent nutrient reduction by the microalgae *Chlorella* sp. *Bioresour Technol* 2013; 139: 292-99. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.04.054

Ecuación 12. Productividad de la biomasa

$$P = (DW_i - DW_0) / (t_i - t_0)$$

Fuente: SUNA, S; GE, Z; ZHAO; ZHANG, Hu; y PING, L. Performance of CO₂ concentrations on nutrient removal and biogas upgrading by integrating microalgal strains cultivation with activated sludge.China. Linyi University.. Energy, 97, 229–237.2016. doi:10.1016/j.energy.2015.12.126

Dónde, DW_i y DW₀ son los pesos secos (g.L⁻¹) t_i y t₀ (tiempo inicial) respectivamente. La biomasa cosechada fue secada en un horno de mufla. El procedimiento consiste en separar las células del medio de cultivo por centrifugación o filtración. Se colocan esas células en una cápsula de porcelana y se secan a 105 °C por 24 horas. El peso final de las células secas es el peso seco. El contenido de C de la biomasa se determinó del mismo modo que Toledo et al usando un analizador químico elemental LECO CHNS-932.

Bajo este contexto, los resultados obtenidos en el artículo hacen énfasis en la importancia de la producción de biomasa algal, puesto que se comporta como un parámetro importante para evaluar el potencial de eliminación de CO₂ en procesos algales-bacterianos, dicho esto Suna et. al.¹¹⁰ afirman que según los análisis de datos obtenidos en su investigación mostraron que la biomasa aumentó cuando se incrementaron las concentraciones de CO₂ (P<0,05). Por lo tanto, las concentraciones en el biogás simulado de CO de 45% y 55% son mas apropiadas que 25% y 35% para el crecimiento de las microlagas. Considerando también la concentración de CO₂ en el biogás simulado es un factor limitante. Estudios previos mostraron que el CO₂ por encima del 55% puede ser daniño para las células de las microalgas e inhibir el crecimiento de *Chlorella sp*¹¹¹. En este orden de ideas, la concentración de 45% (BM3) de CO₂ fue elegida como la más efectiva.

¹¹⁰ SUNA, S; GE, Z; ZHAO; ZHANG, Hu; y PING, L. Performance of CO₂ concentrations on nutrient removal and biogas upgrading by integrating microalgal strains cultivation with activated sludge.China. Linyi University.. Energy, 97, 229–237.2016. doi:10.1016/j.energy.2015.12.126

¹¹¹ YAN C, ZHANG L, LUO XZ, ZHENG Z. Influence of influent methane concentration on biogas upgrading and biogas slurry purification under various LED light wavelengths using *Chlorella sp*. Energy. 2014; 69:419–26. DOI: 10.1016/j.energy.2014.03.034

El estudio de Suna et. al.¹¹² asegura que el efecto de la mejora del biogás estuvo de acuerdo con las tendencias de variación del peso seco de biomasa microalgal, ver **tabla 16**, puesto que aproximadamente la mitad del peso seco las microalgas era carbono derivado del CO₂. De mismo modo, el carbono es un elemento fundamental en las células microalgales, que representan aproximadamente el 50% de la biomasa microalgal¹¹³. Serejo et. al.¹¹⁴ mediante un calculo de balance de masa durante el periodo experimental reveló que la asimilación en la biomasa era el principal mecanismo de eliminación de C.

Tabla 16. Eficiencias de eliminación de COD, TN y P, concentración de TSS, productividad de biomasa y pH en estado estable durante el periodo operativo evaluado.

Cepa de tres microalgas Mezcla de biogás	Eliminación COD (%)	Eliminación TN (%)	Eliminación TP (%)	Productividad media diaria (g L ⁻¹ d ⁻¹)	pH
<i>C. Vulgaris + lodo activado</i>					
BM1	52.71 ^b ±4.11	49.93 ^b ±4.79	61.58 ^b ±5.84	0.097 ^b ±0.008	7.13 ^b ±0.11
BM2	54.83 ^b ±4.79	51.15 ^b ±5.18	68.26 ^a ±5.43	0.112 ^b ±0.006	7.24 ^a ±0.19
BM3	56.29 ^b ±3.19	61.49 ^a ±5.48	69.28 ^a ±5.19	0.165 ^a ±0.007	7.37 ^a ±0.21
BM4	62.16 ^a ±4.34	53.22 ^b ±4.23	65.21 ^a ±4.78	0.153 ^a ±0.005	7.04 ^b ±0.15
<i>S. Obliquos + lodo activado</i>					
BM1	56.35 ^b ±2.97	51.74 ^a ±5.75	64.23 ^b ±5.17	0.103 ^b ±0.012	7.21 ^a ±0.16
BM2	59.38 ^b ±4.79	57.29 ^b ±6.37	67.19 ^b ±5.83	0.131 ^b ±0.014	7.33 ^a ±0.29
BM3	64.74 ^a ±6.05	63.13 ^a ±6.21	74.11 ^a ±6.89	0.177 ^a ±0.011	7.24 ^a ±0.16
BM4	69.78 ^a ±3.77	59.34 ^b ±5.27	69.98 ^a ±7.62	0.168 ^a ±0.013	7.11 ^b ±0.14
<i>N. Oleabundans + lodo activado</i>					
BM1	47.09 ^b ±4.91	47.36 ^b ±4.61	57.92 ^b ±5.13	0.087 ^b ±0.006	7.18 ^a ±0.24
BM2	51.02 ^b ±5.87	49.87 ^b ±5.18	61.62 ^b ±4.35	0.095 ^b ±0.008	7.23 ^b ±0.13
BM3	53.82 ^b ±4.32	55.26 ^a ±3.09	66.59 ^a ±5.39	0.149 ^a ±0.005	7.30 ^b ±0.19
BM4	59.48 ^a ±5.23	52.14 ^b ±3.87	64.05 ^a ±4.37	0.138 ^a ±0.008	7.12 ^b ±0.25

Fuente: SUNA, S; GE, Z; ZHAO; ZHANG, Hu; y PING, L. Performance of CO 2 concentrations on nutrient removal and biogas upgrading by integrating microalgal strains cultivation with activated sludge.China. Linyi University.. Energy, 97, 229–237.2016. doi:10.1016/j.energy.2015.12.126

¹¹² SUNA, S; GE, Z; ZHAO; ZHANG, Hu; y PING, L. Performance of CO 2 concentrations on nutrient removal and biogas upgrading by integrating microalgal strains cultivation with activated sludge.China. Linyi University.. Energy, 97, 229–237.2016. doi:10.1016/j.energy.2015.12.126

¹¹³ SINGH M, DAS K. Low Cost Nutrients for Algae Cultivation, Algal Biorefineries. Springer 2014; pp 69-82.doi:10.1007/978-94-007-7494-0_3

¹¹⁴ SEREJO ML; POSADAS E; BONCZ MA; BLANCO S; GARCÍA P; MUÑOZ R. Influence of Biogas Flow Rate on Biomass Composition During the optimization of Biogas Upgrading in Microalgal-Bacterial Processes. Environ Sci Technol 2015; 49: 3228-36.

Las microalgas desarrollaron el mecanismo de concentración de CO₂ para adaptarse a los cambios en la concentración de CO₂¹¹⁵. En el desarrollo del proceso el CO₂ fue consumido durante la fotosíntesis de las microalgas cuando estas se expusieron a las concentraciones de biogás simulado, Suna et. al.¹¹⁶ en el análisis de sus resultados a concentraciones efectivas de 45% y 55% de CO₂ evaluó la cantidad de CH₄ [v/v] en el biogás mejorado fue de aproximadamente 88,13% a 93,14% para *S. Obliquus*, ligeramente superior al cultivo de *C. Vulgaris* (86,49%-92,47) y *N. Oleabundans* (85,42% - 92,47%), en el caso de las concentraciones de CO₂ de 25% y 35% alcanzaron el porcentaje de metano para la combustión (concentración de CH₄ superior 90% v/v). En este orden de ideas, no hubo cambios significativos en la cantidad de CH₄ en el biogás mejorado entre las 3 cepas microalgales en los mismos tratamiento de concentración de CO₂, este fenómeno fue coherente con el resultado de los estudios previos de Guo, Zhang y Zao¹¹⁷, puesto que se puede decir que las tres cepas de microalgas podrían ser seleccionadas para la captura de CO₂ y del mismo modo la mejora del biogás, por ende, el método de carbono contenido en la biomasa fue exitoso en la evaluación de la tasa fijación de CO₂ en diferentes cultivos microalgales.

4.2 MÉTODO POR BALANCE DE MATERIA

El uso de microorganismos fotosintéticos como las microalgas se ha convertido en una gran alternativa para eliminar el CO₂ contenido en el biogás, esta eliminación permite una mejora en el gas proporcionándole características similares a las del gas natural y a su vez, permite la producción de biomasa que puede usarse como materia prima para la obtención de biocombustibles.

Meier et al¹¹⁸ evaluó el efecto del CH₄ en el crecimiento de la microalga *Nannochloropsis gaditana* exponiendo el cultivo a diferentes composiciones de este gas en fotobiorreactores por lotes y un fotobiorreactor continuo. El medio de cultivo

¹¹⁵ SUNA, S; GE, Z; ZHAO; ZHANG, Hu; y PING, L. Performance of CO₂ concentrations on nutrient removal and biogas upgrading by integrating microalgal strains cultivation with activated sludge. China. Linyi University.. Energy, 97, 229–237. 2016. doi:10.1016/j.energy.2015.12.126

¹¹⁶ Ibid, Pág 18.

¹¹⁷ GUO, P; ZHANG, Y y ZHAO, Y. (2018). Biocapture of CO₂ by Different Microalgal-Based Technologies for Biogas Upgrading and Simultaneous Biogas Slurry Purification under Various Light Intensities and Photoperiods. International Journal of Environmental Research and Public Health, 15(3), 528. doi:10.3390/ijerph15030528

¹¹⁸ MEIER L, R PEREZ, AZOCAR L, RIVAS M, D JEISON. Photosynthetic CO₂ uptake by microalgae: An attractive tool for biogas upgrading. Biomass and bioenergy. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.10.032>

se preparó usando agua de mar recogida en las costas chilenas en la región de Araucanía.

En primera medida, se inyectó un gas con composición de 70% de N₂ y 30% de CO₂ simulando biogás a un fotobiorreactor continuo de 2,2 L. Se usó nitrógeno en vez de metano por cuestiones de seguridad. Constantemente se tomaron muestras del fotobiorreactor para medir biomasa y concentración de carbono. Adicionalmente se determinó la composición del gas por medio de puertos de muestreo ubicados a la entrada y salida del reactor. El reactor opero de dos formas: i) proceso continuo en una sola etapa y ii) proceso continuo en dos etapas.

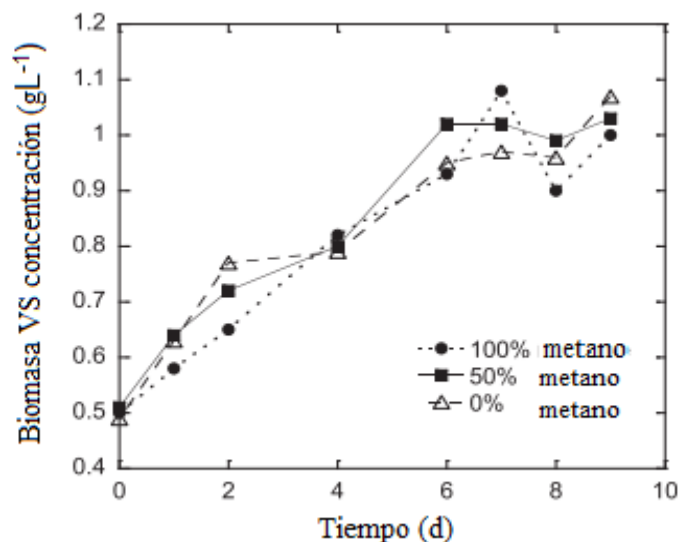
Para el reactor operado en una sola etapa, la concentración de biomasa obtenida estuvo entre 1,4 y 1,5 g.L⁻¹ con una productividad de 0,1 g.L⁻¹.d⁻¹ dando como resultado una eliminación del 96% de CO₂ de la corriente de biogás mientras que para el reactor operado en dos etapas la concentración de biomasa estuvo entre 1,2 y 2,0 g L⁻¹.

El segundo fotobiorreactor fue un reactor abierto que contaba con un volumen de 75L, este estuvo conectado a una columna de burbujas de 0,7L que funcionó en modo contraflujo. El cultivo de microalgas circuló entre la columna y el fotobiorreactor por medio de una bomba peristáltica. A este reactor se inyectó biogás real (72 ±2%CH₄; 28± 2% CO₂)¹¹⁹ producido en un reactor UASB de 4,5L. Al igual que para el anterior reactor, se tomaron muestras para determinar biomasa y concentraciones de carbono y se determinó la composición del gas por medio de puertos de muestreo ubicados a la entrada y salida del reactor. Se obtuvo una concentración de biomasa de 0,45 g L⁻¹ y se logró una captura de CO₂ 1,9 g L⁻¹.

A continuación se presenta una gráfica que corresponde a los datos obtenidos para el comportamiento del crecimiento de las microalgas bajo efecto del CH₄.

¹¹⁹ Ibid.

Figura 31. Efecto del CH₄ en el crecimiento de la microalga *N. gaditana*



Fuente: MEIER L, R PEREZ, AZOCAR L, RIVAS M, D JEISON. Photosynthetic CO₂ uptake by microalgae: An attractive tool for biogas upgrading. Biomass and bioenergy. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.10.032>

La **figura 31**, evidencia que el cultivo tuvo un comportamiento semejante en todas las condiciones. El crecimiento se detuvo cuando la concentración de biomasa llegó a un valor de 1 g L⁻¹ por lo que se puede concluir que el CH₄ no tuvo un efecto significativo en el crecimiento de la microalga.

Para determinar las concentraciones de sólidos suspendidos volátiles (VSS) se siguió lo establecido en los métodos 2540 y 4500 de la norma estándar para el examen de aguas residuales. Las concentraciones de CO₂ y O₂ en fase gaseosa se determinaron por medio de un PBI dansensor checkmate 9900 CO₂/O₂ headspace. Durante la operación del fotobiorreactor conectado a la columna de burbujas, la composición del gas se determinó mediante un cromatógrafo de gases (Perkin Elmer Clarus 500)¹²⁰.

Se llevó a cabo un balance de masa de carbono y oxígeno teniendo en cuenta los resultados obtenidos para la concentración de CO₂ en los puntos de muestreo ubicados a la entrada y salida de cada reactor. La diferencia entre esos dos datos

¹²⁰ Ibid.

obtenidos proporciona el grado de fijación logrado por las microalgas, se puede expresar como porcentaje de fijación a través de la siguiente ecuación:

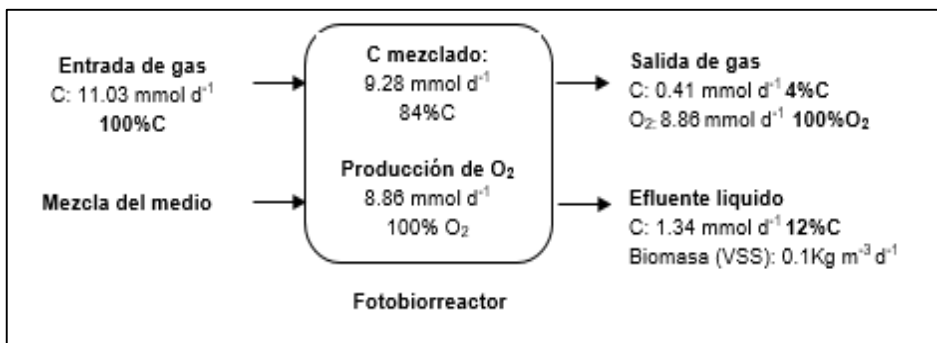
Ecuación 13. Porcentaje de biofijación de CO₂

$$\% \text{ de biofijación de CO}_2 = \frac{\text{CO}_2 \text{ entrada del reactor} - \text{CO}_2 \text{ salida del reactor}}{\text{CO}_2 \text{ entrada del reactor}} \times 100$$

Fuente: elaboración propia

Los balances de materia realizados para cada reactor se evidencian en las figuras mostradas a continuación:

Figura 32. Balance de masa de carbono y oxígeno para el fotobiorreactor en una sola etapa.



Fuente: MEIER L, R PEREZ, AZOCAR L, RIVAS M, D JEISON. Photosynthetic CO₂ uptake by microalgae: An attractive tool for biogas upgrading. Biomass and bioenergy. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.10.032>

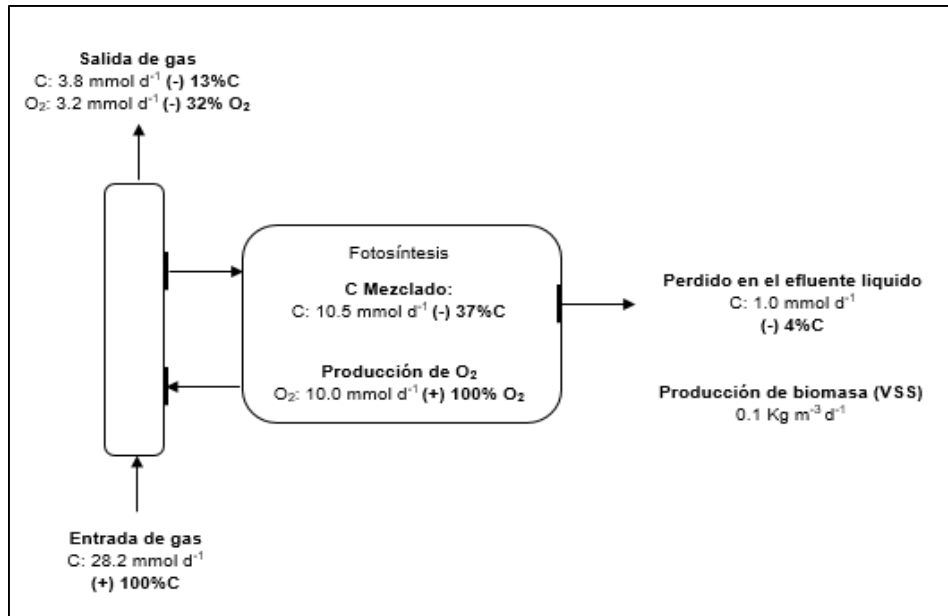
Según un balance de carbono inorgánico, el 84% del CO₂ fue fijado por las microalgas y el 12% se perdió en el líquido y la concentración de oxígeno en el efluente gaseoso fue de alrededor del 22% como resultado del proceso de fotosíntesis. El balance de masa mostrado en la **figura** indica que por cada mol de CO₂ consumido se produjo 0.96 mol de O₂. Debido a la baja solubilidad del oxígeno en agua de mar, solo una fracción insignificante se perdió como oxígeno disuelto en el efluente líquido del fotobiorreactor, y la mayor parte del oxígeno generado se desorbió para la fase gaseosa¹²¹.

Se concluyó que por la alta cantidad de oxígeno presente en efluente del gas, y, que este sistema proporciona contacto directo entre el biogás y el cultivo de microalgas,

¹²¹ Ibid, Pág 5.

no es un sistema adecuado para el mejoramiento del biogás puesto que pueden formarse mezclas explosivas. Por ende, se deduce que el proceso más efectivo para la mejora del biogás debe hacerse en un proceso continuo de dos etapas.

Figura 33. Balance de masa de carbono y oxígeno para el fotobiorreactor en dos etapas

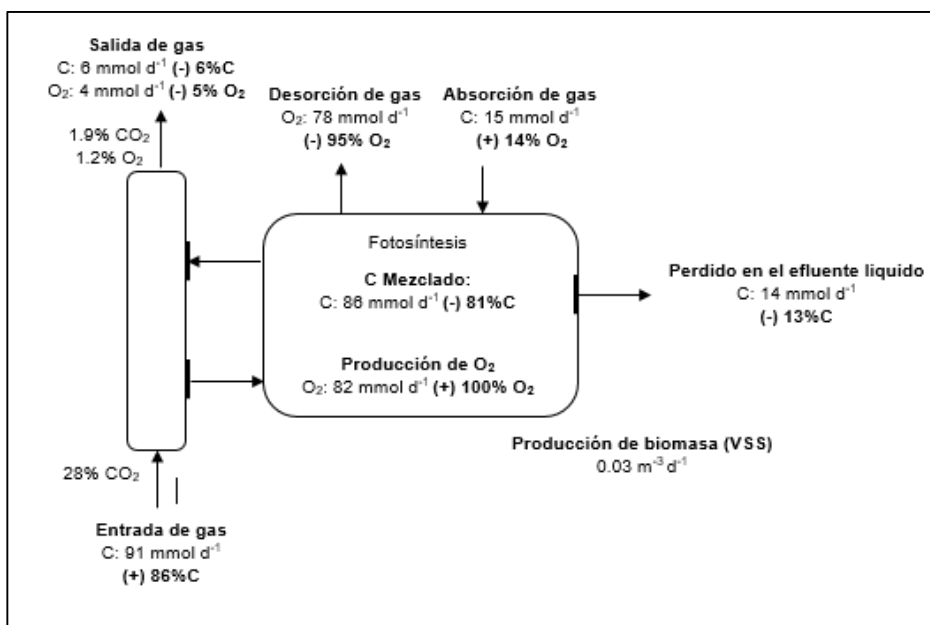


Fuente: MEIER L, R PEREZ, AZOCAR L, RIVAS M, D JEISON. Photosynthetic CO₂ uptake by microalgae: An attractive tool for biogas upgrading. Biomass and bioenergy. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.10.032>

Los balances de masa mostrados en la **figura** indican que a un flujo circulante de 15,6 L d⁻¹ alrededor del 68% del oxígeno generado por fotosíntesis fue desorbido del fotobiorreactor y aproximadamente el 46% del CO₂ fue absorbido por la columna por lo que solo el 32% del oxígeno salió del sistema con el biogás. La desorción de la mitad del CO₂ explica por qué fue posible aplicar una mayor tasa de carga volumétrica de gas que el aplicado para el proceso de una sola etapa. La concentración de biomasa se mantuvo constante durante la operación a 0,45 ± 0,03 g.L⁻¹. Esto significa que la productividad volumétrica de biomasa fue 0.03 g.L⁻¹.d⁻¹.

¹²² Ibid, Pág 6.

Figura 34. Balance de masa de carbono y oxígeno para fotobiorreactor conectado a una columna burbujeante.



Fuente: MEIER L, R PEREZ, AZOCAR L, RIVAS M, D JEISON. Photosynthetic CO₂ uptake by microalgae: An attractive tool for biogas upgrading. Biomass and bioenergy. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.10.032>

La **figura 34**, muestra el balance de masa para la operación con un flujo circulante de 14.4 L d⁻¹. El 81% del CO₂ del sistema fue capturado por las microalgas, el 13% de carbono se perdió en el efluente líquido del fotobiorreactor y el 6% restante no se transfirió y salió del sistema en el biogás mejorado. Los balances de masa indican que no hay desorción de CO₂. Por el contrario, ocurrió un proceso de absorción del CO₂ del aire¹²³. De acuerdo a los resultados obtenidos en el balance de materia, se pudo concluir que este fotobiorreactor que opera con la columna de transferencia de masa aunque mejora la calidad del biogás puede someter a las microalgas a un estado de estrés lo cual no resulta favorable para el proceso.

Basado en los resultados obtenidos en este estudio, Meier et. al.¹²⁴ concluye que este método no resulta 100% eficaz debido a que no se puede garantizar que todo el CO₂ consumido se deba al crecimiento celular de las microalgas, puesto que, pueden presentarse pérdidas en el efluente del reactor.

¹²³ Ibid, Pág 7.

¹²⁴ Ibid, Pág 7.

4.3. ELECCIÓN DEL MÉTODO

En base a lo consultado y evidenciado en la literatura mencionada anteriormente, se propone el método de carbono contenido en la biomasa como método más efectivo para determinar la tasa de biofijación lograda por las microalgas, la implementación de este método puede evaluar el contenido de carbono en el cultivo microalgal de diferentes formas como lo son: el peso seco, carbono orgánico total (TOC), y demanda química de oxígeno (DQO); estos medidores de carbono pueden ser seleccionados según los criterios del experimentador y alcance del laboratorio en donde se llevará a cabo, para efectos de la investigación, teniendo en cuenta los resultados teóricos obtenidos en las tendencias de variación del peso seco de biomasa microalgal, se escogió este medidor de carbono para el desarrollo del método seleccionado en este estudio, puesto que, facilita su experimentación, y permite trabajar con datos precisos a la hora de cuantificar la cantidad de carbono presente en la biomasa microalgal y por ende, calcular la tasa de fijación de CO_2 aplicando la **ecuación 9**.

Además, la implementación de estos métodos requiere de equipos (espectrofotómetro, horno, equipo TOC, centrifuga) para su desarrollo respectivo en la experimentación mencionada anteriormente como se evidenció en la descripción de cada proceso en el **numeral 4.1**. equipos con los que se cuenta en el laboratorio de la Universidad Antonio Nariño y puede llevarse a cabo la experimentación en su totalidad. Por el contrario, en cuanto a los resultados obtenidos en la investigación del método de balance de materia según lo consultado no resultó 100% eficaz, puesto que, no se puede garantizar que todo el CO_2 consumido se deba al crecimiento celular de las microalgas, de igual forma no se descartó por completo, dejando como segunda opción al lector en caso de no poder implementar el método del carbono contenido en la biomasa.

5. CONCLUSIONES

- La construcción de los biorreactores UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) y fotobiorreactor *air-lift* de tubos concéntricos se realizó con materiales característicos por su estabilidad térmica, resistencia al deterioro, de fácil adquisición a nivel comercial y bajo costo, con el fin de desarrollar reactores a escala laboratorio que permitan acondicionar los parámetros adecuados para la producción de biogás y el desarrollo del cultivo microalgal respectivamente.
- La estabilización de los parámetros dentro del fotobiorreactor para el adecuado crecimiento y adaptación de la microalga *Chlorella vulgaris*, obtuvo como resultado las siguientes condiciones de trabajo: temperatura en un rango de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, pH a 7,0 - 8,0, y por último absorbancia de 0,995; manteniendo luz permanente en todo el proceso de cultivo. En segunda instancia, la agitación fue de vital importancia para lograr la transferencia de masa entre las moléculas gas/líquido que se encontraban dentro del fotobiorreactor. Por otro otra parte, el nitrógeno se comportó como el primordial nutriente para el crecimiento de las microalgas, asegurando estudios previos que lo confirmaban, se logró suministrar con éxito por medio de la orina doméstica esterilizada. Al mismo tiempo, el reactor UASB produjo una cantidad de 420,97mL/día de biogás, como suministro de CO_2 y CH_4 para el cultivo Microalgal dentro del fotobiorreactor.
- Con base en la literatura, el método de carbono contenido en la biomasa, se acomoda a los requerimientos y necesidades del proyecto desarrollado, donde se involucra el desarrollo de un cultivo microalgal evaluando su crecimiento y tasa de fijación de CO_2 , y por consiguiente, la producción de biogás y así mismo su mejora (biometano), ofreciendo eficacia y seguridad en los resultados.
- Teóricamente evaluando la capacidad de captura del CO_2 para la mejora del biogás, los parámetros estabilizados y el método de carbono contenido en la biomasa demostró que la biomasa, productividad y tasa de fijación de CO_2 aumenta cuando se incrementa el flujo de aire de CO_2 , la concentración de 45% de CO_2 fue elegida como la más efectiva para el crecimiento del cultivo y la producción de biomasa en un biogás simulado 55% CH_4 y 45% CO_2 , así mismo,

asegura que el efecto de la mejora del biogás estuvo de acuerdo con las tendencias de variación del peso seco de la biomasa microalgal, puesto que aproximadamente la mitad del peso seco las microalgas era carbono derivado del CO₂. Por consiguiente, se evidencia que la cantidad de CH₄ [v/v] en el biogás mejorado fue de aproximadamente 86,49% - 92,47% para la microalga *Chlorella Vulgaris*.

6. RECOMENDACIONES

- En la construcción de los reactores para sellar es preferible utilizar silicona industrial SISTA-101 color gris, la silicona blanca se desgasta con mayor rapidez y por ende, presenta fugas.
- El tubo en resina poliéster debe encarjarse en el tubo PVC recién preparada la resina junto con el catalizador y dejar secar dentro del molde para adherirse, sellar y evitar fugas.
- Dentro del fotobiorreactor air-lift el tubo que cumple la función de riser and downcomer es preferible no usar PVC, puesto que las microalgas tienden a adherirse a este material y la producción de biomasa Microalgal se ve afectada.
- Para ahorrar tiempo en las pruebas trabajar con volúmenes pequeños.
- En la preparación del medio de cultivo, para evitar la aparición de sedimentos es primordial la agitación vigorosa.
- El proceso mencionado anteriormente se desarrolló, por motivos ajenos no se pudo llevar a cabo su implementación. Con el fin de facilitar el muestreo en el seguimiento del crecimiento del cultivo algal, se puede instalar un sensor óptico fuera del FBR, compuesto por una fotorresistencia y una luz led roja de 5mm, la cual debido a su contraste con el medio (verde) y las longitudes de onda que emite, proporciona las lecturas necesarias de la absorbancia de esta luz en el medio. Para lograr llevar la corriente de líquido hasta el sensor, se puede utilizar una bomba sumergible dentro del reactor, esta bomba irá conectada al sensor óptico mediante una manguera, por la salida del sensor óptico se ubica otra manguera que retornará al FBR, logrando así una recirculación del fluido.
- Según literatura, exponer el cultivo a cantidades mayores al 55% de CO₂ pueden generar inhibición en las microalgas.

BIBLIOGRAFIA

ALGAE. Suministro de investigación de algas [en línea]. s.f. [Consultado: 14 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://algaeresearchsupply.com/products/algae-culture-chlorella-vulgaris>

BRICEÑO, Gabriela. Ciclo de Calvin. Euston [en línea]. s.f. [Consultado: 22 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.euston96.com/ciclo-de-calvin/>

BESTER. GASES DE EFECTO INVERNADERO [en línea]. BESTER. 2018. [Consultado: 24 de enero 2020] Disponible en: <https://bester.energy/blog/gases-de-efecto-invernadero-gei/>

BARAJAS, A; GODOY, C; MONROY, J y KAFAROV, V. Mejoramiento del secuestro de CO₂ por Chlorella vulgaris en FBR a escala laboratorio. [en línea]. Bucaramanga: UIS. 2012. [Consultado: 18 de marzo del 2020]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-100X2012000200005

BOTTA, Néstor Adolfo. PODER CALÓRIFICO. Red Proteger. [Consultado: Disponible en: https://www.redproteger.com.ar/poder_calorifico.html

CUIDEMOS EL PLANETA. "Energías renovables". [En línea]. 2018. [Consultado: 22 de enero de 2020] Disponible en: <https://www.cuidemoselplaneta.org/2018/01/energias-renovables.html>

CULTIVATION OF GREEN MICROALGA:Chlorella vulgaris for biogas purification Nextgen Research Publication. 2014. [Consultado: 31 de abril del 2020]Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/300505269_Cultivation_of_Green_Microalga_Chlorella_vulgaris_for_Biogas_Purification

CORONA ZUÑIGA, Ivan. Biodigestores. [en línea]. México. 2007. [Consultado: 1 de febrero del 2020] Disponible en: <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/362/Biodigestores.pdf?sequence=1>

CONTRERAS, F. Citado por: PÉREZ Alexis y LABBÉ José. Microalgas, cultivo y beneficios. [en línea]. Chile. 2014. [Consultado: 16 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v49n2/art01.pdf> 30

CLEMENT-LAROSIERE, Barbara. Etude de la croissance de *Chlorella vulgaris* en photobioréacteur batch et continu, en présence de concentrations élevées de CO₂. [en línea]. Autre. Ecole Centrale, Paris. 2012. p.9 [Consultado: 21 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00697006/document>

ECURED. [en línea] Significados. s.f. [Consultado en: 24 de enero del 2020]. Disponible en: ecured.cu/Quimiostato

FERNANDEZ ANGEL, Miguel. Diseño, montaje y caracterización de fotobiorreactores airlift para el cultivo de la microalga *Chlorella sorokiniana*. [en línea]. Universidad EAFIT, Departamento de Ingeniería de Procesos. 2013. 11 p. [Consultado: 10 de Febrero de 2020] Disponible en: https://repository.eafit.edu.co/xmlui/bitstream/handle/10784/8219/Miguel_FernandezAngel_2013.pdf;jsessionid=69533DE66B72C24767166F0803E77073?sequence=2

FERNANDEZ SEVILLA, Jose Maria. Fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. [en línea]. Universidad de Almería. 2014. [Consultado: 19 de febrero del 2020] Disponible en: <https://w3.ual.es/~jfernand/ProcMicro70801207/tema-1---generalidades/1-7-fotobiorreactores.html>

GONZALES, A. ¿Qué son las microalgas? Interés y uso. Fichas de transferencia. [en línea]. Fundación CAJAMAR. 2015. Página 6. [Consultado: 17 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://www.cajamar.es/pdf/bd/agroalimentario/innovacion/investigacion/documentos-y-programas/microalgas-1444391623.pdf>

GRUPO COOPERATIVO CAJAMAR. Microalgas: Que son las microalgas, interés y uso?. [en línea] 2014. [Consultado: 16 de marzo del 2020] Disponible en: <https://www.cajamar.es/pdf/bd/agroalimentario/innovacion/investigacion/documentos-y-programas/microalgas-1444391623.pdf>

HERNANDEZ MUÑOZ, Aurelio. Depuración de aguas Residuales. España. 6ta Ed. Garceta. 2015. Capítulo 7. Tomo 1. ISBN: 8416228264

IDEAM. Acerca de la entidad. [en línea]. IDEAM. 2014. [Consultado: 24 de enero 2020]. Disponible en: <http://www.ideam.gov.co/web/entidad/acerca-entidad>

IGM. el metano de las aguas residuales municipales: reducir emisiones, avanzar en la recuperación y aprovechar oportunidades [documents/ww_fs_spa.pdf](#). [en línea] Global Methane Initiative. 2013. [Consultado: 24 de enero del 2020]. Disponible en: <https://www.globalmethane.org/>

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Compendio de normas para trabajos escritos. NTC-1486-6166. Bogotá D.C. El instituto, 2018 ISBN 97895885855673 153 p.

JACOB LOPES, Eduardo y TEIXEIRA Telma. Microalgae based systems for carbon dioxide sequestration and industrial biorefineries.[en línea]. Biomass IntechOpen. 2010. p.136 [Consultado el 17 de febrero del 2020]]. Disponible en: <https://www.intechopen.com/books/biomass/microalgaebased-systems-for-carbon-dioxide-sequestration-and-industrial-biorefineries>

JURADO ERAZO, Mario Alberto. Emisiones de gases de efecto invernadero: ¿las eco tecnologías una solución a un problema ambiental?. [en línea]. Universidad del atlántico. 2010. [Consultado: 24 de enero del 2020]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/280298630_Emisiones_de_Gases_de_Efecto_Invernadero_o_Las_Ecotecnologias_Soluciones_a_un_Problema_Ambiental

KHAN ACADEMY. ¿Qué es la fotosíntesis?. [en línea]. 2019. [Consultado: 16 de febrero del 2020] Disponible en: <https://es.khanacademy.org/science/biology/photosynthesis-in-plants/introduction-to-stages-of-photosynthesis/a/intro-to-photosynthesis>

LAING, I y AYALA, F. Commercial mass culture techniques for producing microalgae. In: Akatsuki Iced. Introduction to Applied Psychology, 1990 pp. 447-477. SPB Academic Publishing, The Hague

Turkdogan F, Yetilmezsoy F, Comez S. 2011. Effect of extracellular enzyme activity on digestion performance of mesophilic UASB reactor treating high-strength municipal wastewater. *Bioprocess & Biosystems Engineering*, 34: 389–401.

LOPEZ VILLANUEVA, Berenice. Proyecto para la construcción de una planta de biogás a partir de desechos orgánicos en el distrito Federal. México. 2001.

HERNANDEZ MUÑOZ, Aurelio. Depuración de aguas Residuales. España. 6ta Ed. Garceta. 2015. Capítulo 7. Tomo 1. ISBN: 8416228264

MANILLA PÉREZ, Efraín. Diseño de un biorreactor para la producción de biogás a partir de desechos agrícolas. México, 2000.

MORAN, D. Bioket the global conference dedicated to processes and technologies applied to biomass. [en línea]. s.f. [Consultado: 10 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://biorrefineria.blogspot.com.co/2014/06/2014-12fotobiorreactores.htm>

MERIDA, L. G; QUEIROZ ZEPKA, Leila y E. J.-L. Photobioreactor: Tool for mass cultivation of Cyanobacteria. Universidad de Biotecnología Aplicada, Departamento de Biología. Universidad de Carabobo, Universidad Federal de Santa Maria, Pág.14.

MIN PRTR. Fósforo total. [en línea]. Ministerio para la Transición Ecológica, Plaza San Juan de la Cruz. España. S.f. [Consultado: 20 de marzo del 2020] Disponible en: <http://www.prtr-es.es/Fosforo-total,15600,11,2007.html>

Molina F. 2007. Comportamiento dinámico de digestores anaerobios. [en línea] Trabajo de grado, Departamento de ingeniería química. Universidad Santiago de Compostela. Santiago de Compostela, España., 250 p. [Consultado: 10 de junio del 2020] Disponible en: <https://www.usc.es/biogroup/sites/default/files/FranciscoMolina.pdf>

MARTINEZ, Maria del pilar. Evaluación de la remoción de azitromicina disuelta en agua residual sintética en un reactor UASB a escala laboratorio. Magister en Ingeniería. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería, civil y agrícola. 2019. [Archivo PDF]

OTEROPATERNINA, Angélica; M, Sc.; CRUZCASALLAS, Pablo e; VELASCOSANTAMARÍA y Yohana m. [en línea]. Effect of the Hydrocarbon Phenanthrene on *Chlorella vulgaris* (Chlorellaceae) Growth. Universidad de los llanos. Facultad de ciencias agropecuarias y recursos naturales. 2013. [Consultado: 18 de marzo del 2020]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/26885/2/24558-168492-1-PB.html>

OMINE, Takanori, *et al.* Reduction of alkalinity supplementation for acid-based wastewater treatment using a thermophilic multi-feed upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Environmental technology*. 2019. [Archivo PDF].

OROBIO, Brayan; TORRES, Patricia; MARMOLEJO, Luis; CLEVES, VELAZQUES, Lina; LOPEZ, Wilmar y ORDÓÑEZ José. influence of pH on anaerobic digestion of municipal bio-wastes. [en línea]. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 17(2): 553-562. 2014 [Consultado: 15 Junio 2019] Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v17n2/v17n2a27.pdf>

PÉREZ Alexis y LABBÉ José. Microalgas, cultivo y beneficios. [en línea] Revista de biología Marina y Oceanografía. Vol 49. Páginas 158-160. Chile. 2014. [Consultado: 16 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v49n2/art01.pdf>

PIZARRO, Roberto y RAMOS, Roberto. Ramos, R., & Pizarro, R. [en línea]. Crecimiento y capacidad de biorremediación de *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) cultivada en aguas residuales generadas en el cultivo del pez dorado *Seriola lalandi* (Perciformes: Carangidae). Revista de Biología Marina y Oceanografía, 53(1), 75–86. Disponible en: sci-hub.tw/10.4067/s0718-19572018000100075

RICHMOND A. 2004. Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology, 566 pp. Blackwell Science, Oxford.

MORA R, ORTIZ, R Moronta, ORTEGA y MORALES E. Crecimiento y producción de pigmentos de la microalga nativa *Chlorella* sp. aislada de la represa de Tulé, [en línea]. Municipio Mara, Estado de Zulia, Venezuela. Revista Ciencia 12: 1-9. 2005. [Consultado: 16 de junio del 2020] Disponible en: <https://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia/article/view/9214>

SÁEZ VEGA, Alex. Microalgas para reducir emisiones de CO₂. [en línea]. Universidad EAFIT. Medellín. 2017. [Consultado: 17 de febrero del 2020]. Disponible en: <http://www.eafit.edu.co/investigacion/revistacientifica/edicion-162/Paginas/microalgas-para-reducir-emisiones-de-co2.aspx>

SUNA, S; GE, Z; ZHAO; ZHANG, Hu; y PING, L. Performance of CO₂ concentrations on nutrient removal and biogas upgrading by integrating microalgal strains cultivation with activated sludge. China. Linyi University.. Energy, 97, 229–237. 2016. doi:10.1016/j.energy.2015.12.126

SINGH M, DAS K. Low Cost Nutrients for Algae Cultivation, Algal Biorefineries. Springer 2014; pp 69-82. DOI: 10.1007/978-94-007-7494-0_3

GUO, P; ZHANG, Y y ZHAO, Y. (2018). Biocapture of CO₂ by Different Microalgal-Based Technologies for Biogas Upgrading and Simultaneous Biogas Slurry

Purification under Various Light Intensities and Photoperiods. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(3), 528. doi:10.3390/ijerph15030528

UNIVERSIDAD NACIONAL, UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO. Manual de construcción y mantenimiento de reactor UASB a escala laboratorio. 2019. Capítulo 2.5. [Archivo PDF].

UNIVERSIDAD VERACRUZANA. Biorreactores y su aplicación. [en línea] Bioingeniería. México. 2014 [Consultado: 1 de febrero del 2020]. Disponible en: <https://sites.google.com/site/bioingenieriauv15/unidad-2-biorreactores-y-su-aplicacion>

TOLEDO, A; MORALES, M; NOVELO, E y REVAH, S. Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*. *Bioresource Technology*. (2013). 130, 652–658. doi:10.1016/j.biortech.2012.12.081

UNIVERSO PORCINO. Instalación porcinas: Biodigestores [en línea] BIOMAX. 2008. [Consultado: 5 Junio 2020]. Disponible en: http://www.aacporcinos.com.ar/articulos/que_es_un_biodigestor.html#:~:text=Factor%20importante%20en%20la%20producci%C3%B3n,a%2035%C2%B0C%20aproximadamente

YAN, C y ZHENG, Z. Performance of photoperiod and light intensity on biogas upgrade and biogas effluent nutrient reduction by the microalgae *Chlorella* sp. *Bioresour Technol* 2013; 139: 292-99. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.04.054

YAN C, ZHANG L, LUO XZ, ZHENG Z. Influence of influent methane concentration on biogas upgrading and biogas slurry purification under various LED light wavelengths using *Chlorella* sp. *Energy*. 2014; 69:419–26. DOI: 10.1016/j.energy.2014.03.034

ANEXOS

ANEXO A

PLANO REACTOR UASB CON MEDIDAS

Tabla 17. Plano reactor UASB con medidas

	1	Tapón hembra/macho roscado PVC 1 ½"
	2	Tubo PVC 1 ½ "
	3	Cable de resistencia
	4	Resina poliéster
	5	Tubo PVC 1 ½ "
	6	Tapa de reducción de 3" a ½"
	7	Unión lisa – lisa 3"
	8	Botella PET 1000 mL
	9	Unión lisa – lisa 3"
	10	Unión roscada PVC 3"
	11	Tapa roscada PVC 3"
	12	Codo PVC ½ "
	13	Tubo PVC ½ "
	14	Codo PVC ½ "
	15	Tubo PVC ½ "
	16	Codo PVC ½ "
	17	Tubo PVC ½ "
	18	Codo PVC ½ "
	19	Tubo PVC ½ "
	20	Unión roscada externa ½"
	21	Unión roscada interna ½"
	22	Tubo PVC ½ "

Fuente: elaboración propia, con base en programa Blender V 2.83.4

ANEXO B

MEDICIÓN Y CONTROL DE TEMPERATURA EN EL FOTOBIORREACTOR

En la **figura 35**, se puede evidenciar un medidor eléctrico portátil de temperatura, el cual fue usado para hacer mediciones diarias a la temperatura presentada dentro del fotobiorreactor.

Se realizó con ayuda de un termómetro eléctrico portátil marca EXTECH, modelo SDL200, tiene registro de datos de 4 canales con 6 tipos de termopares (J, K, E, T, R, S) y registro de datos de 2 canales con sondas RTD (Pt100Ohm). Este procedimiento consiste en encender el medidor, conectar la sonda RTD para líquidos en uno de los canales y agregarla dentro del reactor, dejarla de 1 a 2 minutos mientras se estabiliza el valor obtenido que posteriormente se mostrará en la pantalla del medidor eléctrico, luego de este tiempo se puede tomar registro del valor obtenido.

Figura 35. Medidor eléctrico de temperatura



Fuente: elaboración propia

ANEXO C

PLANO REACTOR DEL FOTOBIORREACTOR CON MEDIDAS

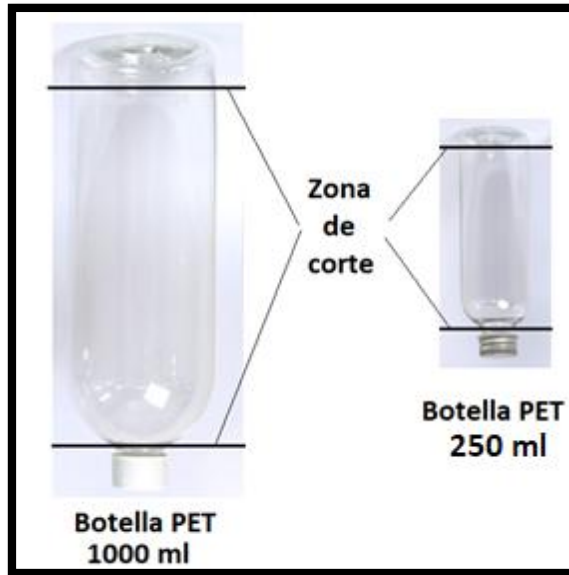
Tabla 18. Plano fotobiorreactor con medidas

1	Codo PVC ½"	9	Unión Codo PVC ½"	17	Botella PET 1000 mL
2	Tubo PVC ½"	10	Tapa roscada PVC 3"	18	Unión lisa-lisa PVC 3"
3	Codo PVC ½"	11	Adaptador rosca hembra/macho PVC ½"	19	Válvula acople rápido
4	Manguera transparente	12	Unión lisa-lisa PVC 3"	20	Tubo PVC 1/2"
5	Codos para tubería de irrigación	13	Botella PET 1000 mL	21	Unión externa PVC ½"
6	Manguera transparente	14	Unión lisa-lisa PVC 3"	22	Unión externa PVC ½"
7	Codos para tubería de irrigación	15	Botella PET 1000 mL	23	Tubo PVC ½"
8	Manguera transparente ½"	16	Unión lisa-lisa PVC 3"		

Fuente: elaboración propia.

Detalle del proceso de corte de botellas PET 1000ml y 250ml.

Figura 36. Detalle de corte de botellas PET



Fuente: UNIVERSIDAD NACIONAL, UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO. Manual de construcción y mantenimiento de reactor UASB a escala laboratoriodo. 2019. Capítulo 3.3. [Archivo PDF].

ANEXO D

CALCULOS REACTORES

CALCULOS UASB

- **Carga hidráulica volumétrica (CHL)**

Caudal (Q) = 1,25ml/min

Volumen total del reactor (V) = 1,8 L

Las unidades de CHL se expresan en $m^3/m^3.d$ por lo que las unidades de caudal (Q) y volumen (V) se convirtieron y expresaron en m^3 y días.

Q = 0,0018 m^3/d

V = 0,0018 m^3

Se sustituyen estos valores en la formula aplicada para obtener el valor de CHL:

$$CHL = \frac{Q}{V} = \frac{0,0018 \text{ m}^3/d}{0,0018 \text{ m}^3} = 1 \frac{\text{m}^3}{\text{m}^3.d}$$

Obteniendo un valor de 1 $m^3/m^3.d$ para la carga hidráulica volúmetrica. Por consiguiente, el tiempo de retención hidráulica es la inversa de carga hidráulica volúmetrica, se calcularía entonces así:

$$t = \frac{1}{1 \frac{\text{m}^3}{\text{m}^3.d}} = 1 \text{ día}$$

Se obtuvo como resultado 1 día, haciendo la conversión a horas, su tiempo de retención hidráulica fueron 24 horas.

CALCULOS FOTOBIOREACTOR

- **Carga hidráulica volumétrica (CHL)**

Caudal (Q) = 100ml/d

Volumen total del reactor (V) = 2,7 L

Las unidades de CHL se expresan en $m^3/m^3.d$ por lo que las unidades de caudal (Q) y volumen (V) se convirtieron y expresaron en m^3 y días.

$$Q = 0,0001 \text{ m}^3/\text{d}$$

$$V = 0,0027\text{m}^3$$

Se sustituyen estos valores en la formula aplicada para obtener el valor de CHL:

$$\text{CHL} = \frac{Q}{V} = 0,037037037 \frac{\text{m}^3/\text{d}}{\text{m}^3} = \frac{\text{m}^3}{\text{m}^3.\text{d}}$$

Obteniendo un valor de $0,037037037 \text{ m}^3/\text{m}^3.\text{d}$ para la carga hidráulica volúmetrica. Por consiguiente, el tiempo de retención hidráulica es la inversa de carga hidráulica volúmetrica, se calcularía entonces así:

$$t = \frac{1}{0,037037037 \frac{\text{m}^3}{\text{m}^3.\text{d}}} = 27 \text{ días}$$

Se obtuvo como resultado 27 días.

ANEXO E

DETERMINACIÓN DE pH (MÉTODO POTENCIOMÉTRICO)

El pH o la actividad del ión hidrógeno indican a una temperatura dada, la intensidad de las características ácidas o básicas del agua. El pH se define como el logaritmo de la inversa de la actividad de los iones hidrógeno, $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$ $[\text{H}^+] =$ actividad de los iones hidrógeno en mol/L.

Este método tiene como finalidad la determinación de la actividad de los iones hidrógeno por medidas potenciométricas usando un electrodo combinado o un electrodo estándar de hidrógeno de vidrio con un electrodo de referencia.

EQUIPOS Y MATERIALES

- Medidor de pH.
- Electrodo de referencia de potencial constante y electrodo de vidrio. O se puede utilizar un electrodo combinado el cual posee ambos electrodos, de medida y de referencia, en un mismo cuerpo.
- Termómetro o sensor de temperatura para compensación automática en el instrumento.

REACTIVOS

- Agua destilada y desionizada.
- Agua destilada y desaireada con conductividad menor a 2 $\mu\text{hos/cm}$. Para desairear calentar a ebullición durante 15 minutos y enfriar.
- Soluciones buffer estándar de pH conocido, necesarias para calibrar el instrumento:
 - a. Solución buffer de pH = 4,004 a 25°C. Pesar 10,12 g de $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ y diluirlo a 1 L en matraz aforado con agua destilada.
 - b. Solución buffer de pH = 6,863 a 25°C. Pesar 3,387 g de KH_2PO_4 secado previamente a 110-130°C durante 2 horas y 3,533 g de Na_2HPO_4 . Disolver y llevar a 1 L en matraz aforado con agua destilada.
 - c. Solución buffer de pH = 10,014 a 25°C. Pesar 2,092 g NaHCO_3 y 2,640 g de Na_2CO_3 , disolver y llevar a 1 L en matraz aforado con agua destilada.

Calibración del instrumento:

- Para ello se debe seguir las instrucciones del medidor de pH. En la calibración se usan como mínimo dos de las soluciones buffer, cuyos valores de pH deben cubrir el rango de pH esperado por la muestra a medir.

- Llevar los buffers y la muestra a la misma temperatura. (Si el equipo lo permite utilizar compensación de temperatura). El valor correspondiente de pH de los buffers debe ser corregido a la temperatura de los mismos.

Medida

- Medir el pH de la muestra indicando la temperatura de la misma.
- Realizar la medida con una agitación moderada para minimizar la entrada de dióxido de carbono y suficiente como para homogeneizar la muestra.
- Una vez finalizada la medida enjuagar y secar suavemente los electrodos y proceder a ubicarlos en la solución de preserva de los mismos.

