



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

EVALUACIÓN DE LA CAPTURA DE CO₂ MEDIANTE BIOFILTROS CON LA
UTILIZACIÓN DE MICROALGAS

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos
establecidos para optar por el título de Ingeniero Ambiental en Prevención y
Remediación.

Profesor Guía

M.Sc. Ing. Daniel Hernán Hidalgo Villalba

Autor

Jorge Santiago Velasco Cordero

Año

2016

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUIA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos para un adecuado desarrollo del tema escogido, y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los trabajos de Titulación.”

Daniel Hernán Hidalgo Villalba

Máster en Ciencias de la Ingeniería Ambiental

C.I: 180191444-9

DECLARACIÓN DE AUTORIA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.”

Jorge Santiago Velasco Cordero

C.I.:0603474123

DEDICATORIA

A Dios por darme la fuerza, la inteligencia y la motivación necesaria para cumplir mis metas.

A mi padre Jorge Velasco y a mi madre Catalina Cordero por su apoyo incondicional, sus consejos y valores, que me han permitido ser quien soy ahora.

A mi hermana María Catalina, a mis sobrinos Tomás y Mateo que siempre están junto a mí, así como a mí cuñado Guido por el apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

A Dios por haberme guiado a través de este camino, que a pesar de ser tortuoso, me ha llenado de sabiduría, con experiencias y vivencias que me han hecho ser una mejor persona.

A mis padres Jorge y Catalina por su amor, paciencia, apoyo incondicional, esfuerzo diario para brindarme educación y la motivación brindada para culminar lo que me propongo.

A mi profesor guía Ing. Daniel Hidalgo quien me ha orientado en el desarrollo de mi investigación a través de su experiencia y conocimiento.

Al Laboratorio De Biotecnología Energética BIOTEC, en especial a María Cristina por haberme guiado, brindándome su confianza y apoyo.

RESUMEN

La aplicación de la biotecnología de las microalgas está siendo investigada como una fuente energética con potencial de producir biocombustibles, así como una gran alternativa para reducir las concentraciones de CO₂ en la atmósfera produciendo biomasa para la sustitución de las energías tradicionales.

En el presente trabajo, se realizó un sistema de captación de CO₂ con la utilización de microalgas, para lo cual se partió de la evaluación del crecimiento celular de seis diferentes cepas de microalgas pertenecientes a la “Colección de Microalgas para Investigación del Ecuador”, CMIE, del Laboratorio de Biotecnología Energética, de las cuales se seleccionaron las dos con más alto desarrollo (CMIE-H2-001 y CMIE-H4-002), con las que se formó un consorcio para la experimentación. El cultivo del consorcio fue escalado en fotobiorreactores diseñados a escala de laboratorio, en los que se evaluaron tres diferentes concentraciones en volumen de CO₂ que puedan estar presente en gases de combustión (5%, 10% y 15%) bajo condiciones ambientales, a fin de determinar la concentración óptima para generar mayor biomasa microalgal por determinación de pigmentos clorofílicos mediante espectrofotometría.

Como medio de cultivo del consorcio de microalgas se utilizó agua del Reservorio de Cumbayá, la cual fue caracterizada al inicio y al final de cada ensayo para evaluar también el efecto de las microalgas sobre la calidad del agua; el tiempo de retención en cada prueba fue de 10 días.

Los resultados obtenidos muestran que la concentración de CO₂ del 10% es la óptima para el crecimiento de la biomasa y para la remoción de contaminantes en el agua, generándose una cantidad de biomasa 30,5% y 33,4% superior a la generada con las concentraciones del 5% y del 15% de CO₂ respectivamente y lográndose una remoción del 59,5% de la DBO₅, 56,7% de la DQO, 52,37% de Nitratos, 67,2% de Sulfatos y 52% de Ortofosfatos.

ABSTRACT

The microalgae biotechnology application has been investigated as an energy source for the potential to produce biofuels for replacing traditional energy. As well as, a great alternative to reduce CO₂ emissions in the atmosphere, producing biomass for multiple biotechnological applications.

In this research, a system was performed in order to capture CO₂ using microalgae. First at all, six different microalgae strains belonging to the “Colección de Microalgas par Investigación del Ecuador”, CMIE, Laboratorio de Biotecnología Energetica, were selected according the kinetic curve. The strains CMIE-H2-001 and CMIE-H4-002 were selected and cultivated in a consortium using photobioreactors designed laboratory scale. It were evaluated three different concentrations of CO₂ in flue gas (5%, 10% and 15%) under environmental conditions to determinate the optimal concentration to generate more microalgae biomass through determination of chlorophyll pigments by spectrophotometry.

The water of the “Reservorio de Cumbayá” was used as culture medium for the microalgae consortium. The water was characterized at the beginning and the end of each test, also it was evaluated the effect on the water quality. The retention time in each test was ten days.

The results indicated that the concentration of CO₂ of 10% is optimal for growth of biomass and removal of contaminants in water, generating a quantity of biomass 30.5% and 33.4% higher than that generated with concentrations of 5% and 15% respectively of CO₂ and achieving a 59.5% removal of DBO5 56.7% of COD 52.37% of nitrates, 67.2% of sulfates and 52% of ortophosphates.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
1. Marco Teórico	5
1.1 Generalidades de las Microalgas	5
1.2 Características morfológicas.....	6
1.3 Factores Físico-Químicos que influyen en su crecimiento.....	6
1.3.1 Luz.....	6
1.3.2 Temperatura	7
1.3.3 pH.....	7
1.3.4 Dióxido de carbono (CO ₂).....	8
1.3.5 Nutrientes	8
1.4 Sistemas de cultivo.....	9
1.5 Importancia Ecológica.....	10
1.6 Importancia Industrial.....	11
1.6.1 Biocombustibles	12
1.6.2 Alimentación y Salud Humana	13
1.6.3 Alimentación Animal	13
2. Materiales y métodos.....	14
2.1 Selección de cepas de microalgas	14
2.2 Determinación de la Curva cinética de crecimiento de microalgas	14
2.3 Diseño y Elaboración del Fotobiorreactor	17
2.3.1 Bomba	19
2.3.2 Biofiltro	20
2.3.3 Sistema de Automatización de CO ₂	21
2.4 Escalamiento de cultivos a fotobiorreactores.....	22
2.5 Absorbancia	22
2.6 Medición de Temperatura y pH	29

2.7 Análisis Físico-Químico de Agua	30
3. Resultados y análisis.....	33
3.1 Evaluación del crecimiento cinético de varias especies de microalgas.	33
3.2 Crecimiento de las microalgas en un sistema de biofiltro, construido a escala de laboratorio.	36
3.3 Efecto del sistema sobre el agua que se utilizará como medio de cultivo.....	51
4. Conclusiones	57
5. Recomendaciones	59
REFERENCIAS	60
ANEXOS	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución solar mundial	7
Figura 2. Cuadrante exterior para conteo.....	16
Figura 3. Cuadrantes internos	16
Figura 4. Plano frontal, Biorreactor con biofiltro	18
Figura 5. Detalle del biorreactor: 1, Tubo de cobre; 2, Biofiltro; 3, Biomasa; 4, Tornillo tipo mariposa; 5, Orificio para entrada y salida de mangueras; 6, Difusor interno de	18
Figura 6. Detalle biorreactor, bomba sumergible.....	19
Figura 7. Detalle biorreactor, temporizador.	20
Figura 8. Detalle biorreactor, Biofiltro.	20
Figura 9. Sistema de automatización de CO ₂	21
Figura 10. Barrido en el espectrofotómetro	23
Figura 11. Curva de calibrado	24
Figura 12. Multi-Parameter PCTestr35.....	30
Figura 13. Reservorio de Cumbayá.....	30
Figura 14. Botellas OxiTop, para la determinación de DBO ₅	31
Figura 15. Muestra el crecimiento de diferentes cepas microalgales, en un mes de evaluación con tres mediciones de concentración celular por semana.....	33
Figura 16. <i>Chlorococcum sp</i> , cepa con código CMIE-H2-001.....	34
Figura 17. <i>Scenedesmus sp</i> , cepa con código CMIE-H4-002.....	35
Figura 18. Estado inicial del biorreactor con una concentración del 5% de CO ₂	37
Figura 19. Crecimiento de biomasa en biorreactores, 5% de CO ₂	38
Figura 20. Estado final del biorreactor con una concentración del 5% de CO ₂	39
Figura 21. Biofiltro con biomasa seca.	40
Figura 22. Estado inicial del biorreactor con una concentración de 10% de CO ₂	41

Figura 23. Crecimiento de biomasa en biorreactores, 10% de CO ₂	42
Figura 24. Estado final del biorreactor con una concentración del 10% de CO ₂	43
Figura 25. Biofiltro con biomasa seca.	44
Figura 26. Estado inicial del biorreactor con una concentración de 15% de CO ₂	45
Figura 27. Crecimiento de biomasa en biorreactores, 15% de CO ₂	46
Figura 28. Estado final del biorreactor con una concentración del 15% de CO ₂	47
Figura 29. Biofiltro con biomasa seca.	48
Figura 30. Crecimiento de biomasa en biorreactores, 5%, 10% y 15% de CO ₂	48
Figura 31. Biomasa generada en Biofiltros.....	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sistema de cultivo Abierto, Ventajas y Desventajas.....	9
Tabla 2. Sistema de cultivo cerrado, Ventajas y Desventajas	10
Tabla 3. Producción de biodiesel a partir de varias fuentes	12
Tabla 4. Parámetros en calidad de agua, concentración de CO ₂ 5%.....	52
Tabla 5. Parámetros en calidad de agua, concentración de CO ₂ 10%.....	53
Tabla 6. Parámetros en calidad de agua, concentración de CO ₂ 15%.....	54

INTRODUCCIÓN

Entre los principales impactos que conllevarían el calentamiento global, la IPPC (2014, p.15) destaca los siguientes: variaciones de temperatura, plagas, incendios, sequías y cambios en la duración de las estaciones de cultivo. Estos efectos tendrán una repercusión importante sobre la estructura y función de los entornos artificiales y sobretodo naturales.

Los gases de efecto invernadero son los principales responsables del calentamiento global, este proceso natural se debe a que parte de la radiación solar reflejada por la superficie terrestre es retenida en la atmosfera debido a la acumulación de gases efecto invernadero que son causados por la intensificación de las actividades humanas en especial la quema de combustibles fósiles como el petróleo, carbón y gas natural. (Barrantes, 2014, p. 10)

Uno de los ejes principales tratados en la última conferencia sobre el clima, la COP21, por parte de la Organización de las Naciones Unidas (ONU), fue la importancia de incentivar las actividades de reducción en las emisiones, entre otras cosas mediante políticas nacionales y la fijación de un precio del carbono (UNFCCC, s.f). El sector energético representa el 71.8% del total de las emisiones en el año 2008 (Pires, Alvim-Ferraz, Martins, & Simões, 2012, p. 3044), razón por la cual se hace necesario el desarrollo de nuevas estrategias y tecnologías en la búsqueda de fuentes de energías limpias y renovables, así como para la captación de los gases de efecto invernadero.

La utilización de las microalgas como alternativa para la reducción de concentraciones de CO₂ ha tomado gran interés en los últimos años, debido a que estos microorganismos fotosintéticos tienen la capacidad de fijar este gas y aprovechar los nutrientes del medio para producir biomasa usando energía

proveniente de luz solar, con una eficiencia 10 veces mayor que la de las plantas terrestres (Pires et al., 2012, p.3044)

La utilización de microalgas para el proceso de captura presenta, entre otras, las siguientes principales ventajas:

- Mínimo impacto medioambiental
- Método sostenible de energía
- La producción de alto valor añadido en materiales basados en la biomasa
- Generación de biocombustibles
- No compete con la agricultura en el uso de suelos ni de aguas

JUSTIFICACIÓN

Actualmente, ha tomado una gran importancia la sustitución de combustibles fósiles que derivan del petróleo o denominados tradicionales, por otros de origen vegetal debido a varios aspectos, entre los cuales se pueden mencionar: el hecho de provenir de una fuente renovable, ser de bajo impacto ambiental, además de constituirse en un factor de desarrollo de la agricultura e industrias derivadas (Cajamar & Palmerillas, 2015, p.4).

Siendo así, la aplicación biotecnológica de las microalgas está siendo investigada seriamente, no solo como una fuente energética con potencial de producir biocombustibles, sino también como un producto con fines alimenticios, agrícola, acuícola y nutricional (Chisti Y., 2007) al igual que como una gran alternativa para reducir las concentraciones de CO₂ en la atmósfera.

De igual manera, como una potencial fuente de biomasa para la sustitución de las energías tradicionales, las microalgas presentan ventajas en varios aspectos, entre los que se pueden mencionar:

- Facilidad de crecimiento: No requiere de suelos fértiles o aguas limpias para su cultivo y en comparación con cultivos tradicionales como de soja o maíz, el tiempo de producción es mucho menor.
- Valor añadido a la biomasa: La utilización de biomasa a partir de microalgas puede ser utilizada para la elaboración de productos con fines biotecnológicos, tales como alimenticios, salud humana, en la acuicultura, cosméticos, medicamentos y biofertilizantes. (Pires et al., 2012, p.3044)
- Capacidad de producción: Producción de aceite a partir de microalgas en comparación con cultivos de soja, maíz y palma en una misma cantidad de espacio. (Barrantes, 2014, p. 2)
- Absorción de CO₂: Las microalgas tienen una capacidad de absorción de CO₂ de dos a uno, es decir por cada tonelada de alga cultivada aproximadamente absorbe dos toneladas de CO₂.

El gran interés que ha generado este tema a nivel mundial ha provocado que diferentes países entre ellos: España, Italia, Francia, Brasil, Chile entre otros; al igual que diferentes compañías como: Repsol, Petrobras, Continental Airlines y Air New Zealand, intensifiquen investigaciones y estudios sobre microalgas para la generación de biocombustibles que suplan las necesidades energéticas actuales.

Sin embargo, en el Ecuador pocos estudios han sido realizados sobre el aprovechamiento de las microalgas como fuente de biomasa y como potencial recurso para la captación de CO₂. A pesar de ser considerado nuestro país como megadiverso, es por esto que este estudio será pionero para la captación de CO₂ y cultivo de microalgas para futura producción de biodiesel en plantas industriales.

OBJETIVO GENERAL

- Realizar un sistema de captación de CO₂ a escala de laboratorio mediante un sistema de biofiltro con la utilización de microalgas; y, evaluar su efecto en la producción de biomasa

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el crecimiento cinético de varias especies de microalgas, para su posterior aplicación en el proceso de captura de CO₂.
- Analizar el crecimiento de las microalgas en un sistema de biofiltro, construido a escala de laboratorio.
- Determinar la eficiencia del sistema de captación de CO₂ a través de la producción de biomasa microalgal.
- Determinar el efecto del sistema de biofiltro con la utilización de microalgas sobre el agua que se utilizará como medio de cultivo.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Generalidades de las Microalgas

Las microalgas son microorganismos microscópicos fotosintéticos capaces de aprovechar el dióxido de carbono (CO_2) de la atmósfera y nutrientes inorgánicos para convertirla en biomasa (Brennan y Owende, 2010, p.3). Son responsables del 40% de la fotosíntesis total del planeta (Cruz y López, 2012, p.1) y presentan varias ventajas sobre las plantas terrestres, debido que no necesitan para su producción de recursos que competirían con la agricultura y ganadería como lo son terrenos fértiles y agua limpia, debido a que son capaces a desarrollarse en diferentes medios acuáticos, incluyendo agua salobre, salada (Sialve, Bernet, & Bernard, 2009, p.7)

Estos microorganismos presentan tiempos reducidos de duplicación (generación celular), donde su reproducción, puede ser sexual por medio de gametos móviles (isogamia, anisogamia u oogamia) (Graham y Wilcox, 2000, p.12), o de manera asexual, siendo esta la más común a través de fragmentación o a su vez la generación de zoosporas (móviles) y aplanosporas (no móviles) (Clinton, J. 1991, p.73).

La biomasa microalgal producida puede ser aprovechada posteriormente para diversos fines biotecnológicos, por ejemplo: producción de biocombustibles, obtención de sustancias activas con uso en salud, alimentación humana y animal, cosméticos, entre otros (Brennan, y Owende, 2010 p.15)

Según Khan, Hussain, Prasad y Banerjee (2009, p.106) las microalgas se clasifican en cuatro grandes grupos debido a su abundancia: Diatomeas (Bacillariophyceae), Alga verde (Chlorophyceae), Alga azul-verdosa (Cyanophyceae) y Alga dorada (Chrysophyceae)

En general la mayor parte de microalgas son organismos fotoautótrofos, es decir, adquieren la energía proveniente del sol y el carbono de compuestos inorgánicos como el CO_2 . También existen microalgas fotoheterótrofas que a

diferencia de las anteriores, utilizan compuestos orgánicos como fuente de carbono. Sin embargo, existen microalgas que pueden desarrollarse bajo condiciones autótrofas y heterótrofas, las cuales se las conoce como mixótroficas (Cajamar & Palmerillas, 2015, p.2).

1.2 Características morfológicas

A pesar de la gran variedad estructural con relación a forma y tamaño que presentan las microalgas, fisiológicamente estos organismos que se agrupan para formar cadenas o colonias según su forma de reproducción, presentan metabolismos fotosintéticos similares a cualquier otro tipo de planta (UAL, s.f).

Los dos tipos de microalgas que existen según Li et al., (2008, p.815) son procariotas y eucariotas. Las microalgas eucariotas se caracterizan por poseer doble membrana en el núcleo, mientras que las microalgas procariotas o también conocidas como cyanobacteria carecen de membranas internas que aislen a los organelos del citoplasma (Clinton, J. 1991, p.73).

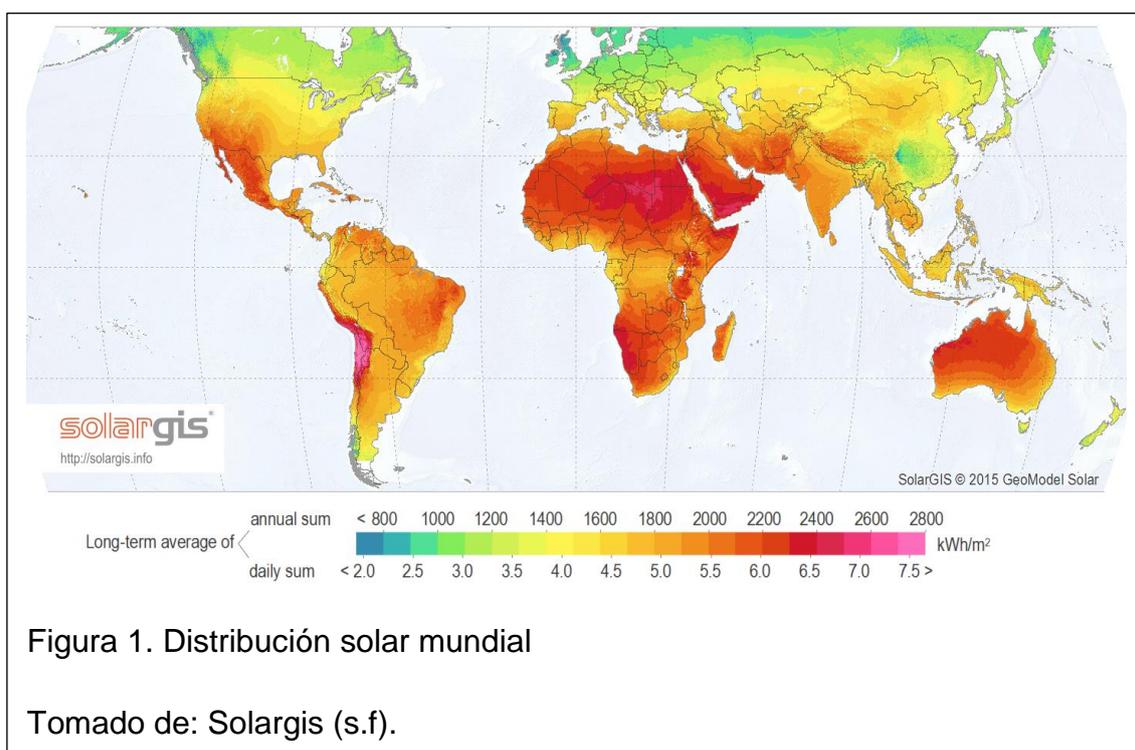
1.3 Factores Físico-Químicos que influyen en su crecimiento

1.3.1 Luz

La luz es un prerrequisito para la vida sobre la Tierra debido a que proporciona la energía necesaria para la fotosíntesis, la cual resulta en la fijación del CO₂. Esta se encuentra disponible según el lugar geográfico (Figura 1).

A mayor intensidad lumínica incrementa la fotosíntesis en las microalgas, hasta alcanzar el punto de saturación por luz que se da en horas de mayor irradiación solar, donde existirá fotoinhibición, resultando para el cultivo perjudicial (Park, Craggs, & Shilton, 2011, p.38)

El autosombreado reduce la fotoinhibición ya que consiste en que células alejadas a la superficie están bajo la sombra de células cercanas a la superficie, debido a esto es necesario un sistema óptimo de agitación para que todas las células tengan un acceso periódico a la luz (Flores et al., 2003, p.452).



1.3.2 Temperatura

La temperatura es uno de los factores dominantes para el desarrollo de un cultivo de microalgas, debido a que la relación que existe entre la velocidad de crecimiento y la temperatura crece exponencialmente hasta llegar según la especie a la temperatura óptima, que según Park et al., (2011, p.38) varía entre 28° y 35°C.

1.3.3 pH

Cada especie de microalga depende de un valor específico de pH para tener un óptimo desarrollo. Para microalgas dulceacuícolas el rango óptimo de pH según MALGAS. (s.f) va desde 8,2 – 8,7.

El pH de un cultivo puede ser fácilmente controlado a través de la adición de ácidos o bases según requiera, o a su vez con el suministro de CO₂, según Hernández & Labbé (2014, p.159), es necesario mantener el pH dentro del rango óptimo para cultivos de alta productividad.

1.3.4 Dióxido de carbono (CO₂)

Se ha demostrado que el aporte de manera externa de CO₂ al cultivo, genera una mayor productividad en el mismo, según Brennan & Owende (2010, p.3) para generar una tonelada de biomasa microalgal se necesita de 1.83 toneladas de dióxido de carbono.

Económicamente, el suministro de CO₂ puro resulta no viable por sus altos costos, debido a esto se han realizado varios estudios analizando la capacidad de estos organismos para fijar CO₂ proveniente de diversas fuentes gaseosas, como cogeneradores donde existen concentraciones de 4-15% de dióxido de carbono, resultando bastante eficientes (Hernández & Labbé, 2014, p.159)

1.3.5 Nutrientes

A parte del Carbono existen otros nutrientes fundamentales para el desarrollo de estos microorganismo, el contenido de Nitrógeno en la biomasa microalgal varía entre 1-10%, y puede ser añadido en forma de nitrato (NO₃⁻) o a su vez en forma de amonio (NH₄⁺) (Abdel-Raouf, Al-Homaidan, & Ibraheem, 2012, p.263).

El fósforo es otro de los nutrientes importantes en las microalgas, forma parte de aproximadamente el 1% de su contenido y la deficiencia o ausencia de este en un cultivo es una de las principales razones para limitar el crecimiento del mismo (Grobbelaar, J. U. 2004, p.105).

A parte de nutrientes anteriormente mencionados, las microalgas también requieren de otros macronutrientes, que son los encargados de proporcionar un

gran porcentaje de la energía metabólica del organismo como (Fe, Mg, S, K, Na, Ca, K). Así también, como de otros micronutrientes que son sustancias en pequeñas dosis que requieren los organismos como (Se, Zn, B, Cu, Mn, V y Mo) (Richmond, 2004).

1.4 Sistemas de cultivo

Existen dos tipos de sistemas de cultivo que se utilizan principalmente para microalgas: sistemas abiertos y sistemas cerrados

Los sistemas abiertos tienen como característica que el cultivo microalgal no se encuentra protegida frente a condiciones medioambientales, por tal razón, el cultivo se encuentra expuesto a factores externos como la contaminación. (Flores et al., 2003, p.450). Por ejemplo, el tipo carrusel o más conocido como Raceway, que son estanques o circuitos cerrados de baja profundidad (15-30 cm), en donde el cultivo es generalmente impulsado a través de espátulas giratorias, este sistema se caracteriza por su bajo costo de producción y su capacidad de alcanzar niveles de hasta 0,7 gr/L en densidad celular (Flores et al., 2003, p.450).

Este tipo de sistema presenta varias ventajas y desventajas;

Tabla 1. Sistema de cultivo Abierto, Ventajas y Desventajas

Ventajas	Desventajas
Bajo costo de implementación	Grandes extensiones de terreno
Bajo costo de manipulación	Baja productividad
Alta durabilidad	Contaminación
	Difícil control de temperatura
	Limitación de luz en capas inferiores

Los fotobiorreactores o más comúnmente como sistemas cerrados, se encuentran protegidos a factores medioambientales con el objetivo de optimizar

el crecimiento microalgal (MALGAS, s.f), controlando factores tales como la contaminación y la temperatura, aportando mejores condiciones para el desarrollo del cultivo. Por ejemplo los reactores tubulares que se caracterizan por ser elaborados de materiales transparentes como: vidrio, plástico, polietileno o policarbonato. Materiales que permiten elevar el área iluminada del reactor frente al volumen.

Estos cultivos generan una productividad hasta tres veces mayor a la de los cultivos abiertos, sin embargo, la producción de O₂ durante la fotosíntesis causa fotoinhibición si el grado de agitación es limitado (Ugwu, Aoyagi y Uchiyama, 2008, p. 4021).

Tabla 2. Sistema de cultivo cerrado, Ventajas y Desventajas

Ventajas	Desventajas
Alta productividad	Alto costo de implementación
Control condiciones ambientales	Menor vida útil
Menor probabilidad de contaminación	Costo de mantenimiento
Corta extensión de terreno	

1.5 Importancia Ecológica

Las microalgas tienen en el ambiente un rol muy importante ya que representan una gran proporción de la biomasa del mundo, y son responsables de aproximadamente un 45% de la producción primaria neta del planeta (Simon, Cras, Foulon, & Lemée, 2009, p.160).

Según Olivia et al., (2010 p.63) estos microorganismos son reconocidos por responder rápidamente a las perturbaciones ambientales, exhibiendo cambios a nivel de la estructura y la dinámica de la comunidad. Sus tasas de crecimiento también son afectadas por cambios en el ambiente, por lo que pueden ser una útil herramienta para el monitoreo ambiental.

En la actualidad existe un gran interés en la microalgas debido a la capacidad que poseen para fijar CO₂ proveniente de gases de combustión sin necesidad

de un previo tratamiento, ya que a través de varios estudios realizados se ha demostrado que no solamente se desarrollan efectivamente a altas concentraciones de dióxido de carbono, sino también cuando los gases suministrados contienen dióxido de Azufre (SO₂), óxido de Nitrógeno (NO_x) y metales pesados como Ni y V (Negoro, Shioji, Miyamoto, Miura, 1991 p.883)

La alta eficiencia de estos microorganismos acuáticos para fijar CO₂ y producir biomasa 10- 50 veces superior sobre plantas terrestres (MALGAS, s.f), han hecho que en la actualidad se convierta en una de las principales tecnologías de interés para luchar contra cambio climático, incluso ha generado un gran interés económico debido a que la biomasa microalgal generada tiene varios fines biotecnológicos.

La utilización de microalgas para el proceso de captura presenta, entre otras, las siguientes principales ventajas:

- Mínimo impacto medioambiental
- Método sostenible de energía
- La producción de alto valor añadido en materiales basados en la biomasa
- Generación de biocombustibles
- No compite con la agricultura en el uso de suelos ni de aguas

Otro de los potenciales que presentan las microalgas es la capacidad de depuración de aguas residuales, denominado ficorremediación, que se refiere al uso de microalgas para eliminar o biotransformar contaminantes (Park et al., 2011, p.36). Debido principalmente a la capacidad de asimilación, estos microorganismos tienen el potencial de reducir niveles de demanda biológica de oxígeno (DBO) y demanda química de oxígeno (DQO), así como la capacidad de eliminar nutrientes del medio como nitrógeno y fosforo, también varias especies fueron estudiadas por su capacidad para retirar metales pesados disueltos. (Wilde, E., Benemann, J., 1993, p.807).

1.6 Importancia Industrial

Un gran número de diferentes productos comerciales se han derivado a partir de microalgas, estos microorganismos presentan un alto potencial, considerando la gran cantidad de especies que existen a nivel mundial y sus grandes capacidades metabólicas (Brennan & Owende 2010 p.15)

1.6.1 Biocombustibles

Frente a la posible escases de combustibles tradicionales en un futuro cercano y los efectos ambientales que han generado los mismos, se han venido desarrollado varias opciones para hacer frente a dicho problema. Entre ellos destaca uno, la obtención de biodiesel a partir de biomasa microalgal es una eficaz opción solución al problema debido a su alta eficiencia, ahorro de energía y bajas emisiones de CO₂ para aplicación industrial a gran escala. (Zeng, Danquah, Dong-Chen, y Lu, 2011, p.3253).

Según Brennan, y Owende (2010, p.15) el biodiesel obtenido a partir de la biomasa microalgal genera reducciones de hasta 78% en emisiones de CO₂ en comparación con el diésel común, asimismo, presenta ventajas tecnológicas y económicas frente al biodiesel generado a partir de diferentes especies vegetales que para su producción requieren una área mayor a la de las microalgas.

Tabla 3. Producción de biodiesel a partir de varias fuentes

Cultivo	Rendimiento de aceite (L/ha)	Área necesaria para el cultivo (ha)
Maíz	172	1,540
Soya	446	594
Aceite de Palma	5950	45
Microalgas ^(a)	58,700	4.5
Microalgas ^(b)	136,900	2
a) Con el 30% de aceites en peso de biomasa		
b) Con el 70% de aceites en peso de biomasa		

Tomado de: Chisti, (2007, p.296)

1.6.2 Alimentación y Salud Humana

El consumo de la biomasa microalgal como suplemento alimenticio en los seres humanos está restringido a unas pocas especies como; *Spirulina* sp., *Chlorella* sp., *Dunaliella* sp. (U.S DOE, s.f). Se las encuentra en el mercado en diversas formas para su consumo, siendo la más utilizada *Spirulina* sp., debido a su alto valor nutricional y a su contenido proteico.

Además algunas especies también son producidas industrialmente debido a su valor medicinal, como algunas especies de *Chlorella* sp., que produce la sustancia β -1,3-glucan conocido suplemento para la salud, por sus características de ser antioxidante, previene la insuficiencia renal, reduce niveles de colesterol sanguíneo y también evita el desarrollo de *Lactobacillus* en los intestinos (Spolaore, Joannis-Cassan, Duran y Isambert. 2006, p.93). *Dunaliella* sp., también es comercializada por la generación de β -caroteno (Spolaore et al., 2006, p.93).

1.6.3 Alimentación Animal

Las principales especies de microalgas usadas en alimentación animal según Spolaore et al., (2006, p.94) son *Spirulina* sp., *Chlorella* sp., y *Scenedesmus* sp., a nivel mundial el 30% de biomasa microalgal producida es destinada al consumo animal.

La biomasa microalgal ha venido siendo utilizada con buenos resultados como aditivo alimenticio para vacas, caballos, cerdos, aves de corral e incluso perros y gatos. En las raciones para aves de corral, los niveles de biomasa de hasta de 5-10 % de la dieta total no genera toxicidad, pudiendo ser utilizado con seguridad como sustituto parcial de las proteínas convencionales (Spolaore et al., 2006, p.94).

En la acuicultura, las microalgas son también utilizadas como fuente de alimento de moluscos, crustáceos y pece. (Brennan, y Owende, 2010, p.16).

2. MATERIALES Y METODOS

2.1 Selección de cepas de microalgas

Se seleccionaron seis cepas de microalgas pertenecientes a la Colección de Microalgas para Investigación del Ecuador, CMIE del Laboratorio de Biotecnología Energética (BIOTEC), perteneciente a la Corporación para la Investigación Energética (CIE). El BIOTEC se encuentra ubicado en las instalaciones del centro de Capacitación de la Empresa Eléctrica Quito, S.A en Cumbayá.

Para la selección de las microalgas a utilizar, se observaron las características morfológicas de las cepas, así como que presenten diversidad entre ellas. Las cepas seleccionadas fueron CMIE-i1- 001 proveniente de la laguna: Antejos, del Parque Nacional Llanganates, CMIE-D6-001 proveniente de la laguna: Oyacachi, de la Reserva Cayambe-Coca, CMIE-A1-1.1 proveniente de la laguna Santo Domingo, del Parque Nacional Cotopaxi, CMIE-H2-001 proveniente de la laguna Kuyuk, CMIE-H4-002 proveniente de la laguna Ozogoché ambas del Parque Nacional Sangay y CMIE-CR-002 consorcio de varias especies de Chlorophytas perteneciente a la CMIE, BIOTEC.

Las colectas se realizaron previamente por el personal del Biotec con permiso del Ministerio de Ambiente bajo el No. 002-14 IC-MC-DNB/2015.

2.2 Determinación de la curva cinética de crecimiento de microalgas

Las cepas de microalgas seleccionadas fueron sembradas en cajas Petri con medios de cultivo BG-11 (Rippka et al., 1979) y Bold's Basal Medium (BBM) (Bold 1949, Bischoff and Bold 1963), para luego ser aisladas y purificadas a través de lavados por centrifugación, hasta que el inóculo axénico inicial alcance un volumen de 500 mL.

Los cultivos fueron controlados por condiciones de iluminación artificial mediante el uso de lámparas fluorescentes (40W), temperatura ambiente (24 °C), burbujeo continuo y suministro diario de CO₂.

Una vez alcanzada la cantidad deseada, se calculó el concentración celular inicial del cultivo de 1×10^6 cel/mL, concentración óptima para conteo celular (Bastidas, 2012, p.3), para la elaboración de la curva cinética de crecimiento.

A través de la fórmula:

$$V.inoculo = \frac{(V.final) * (1 \times 10^6)}{(DC inoculo)} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Dónde:

V.inóculo: volumen total requerido

DC inoculo: densidad celular del inoculo

El recuento celular para la curva cinética de las cepas de microalgas seleccionadas se realizó utilizando la cámara de Neubauer, siguiendo el procedimiento de Batidas, (2012, p.5).

El conteo se realizó en los cuadrantes A, B, C y D en forma de ZIG-ZAG de cada especie de microalga tres veces a la semana pasando un día por un lapso de tiempo de 30 días.

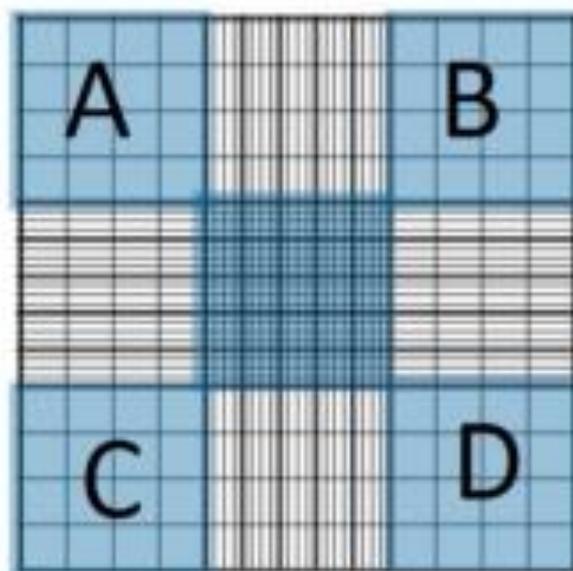


Figura 2. Cuadrante exterior para conteo.

Tomado de (Batidas, 2012, p.5)

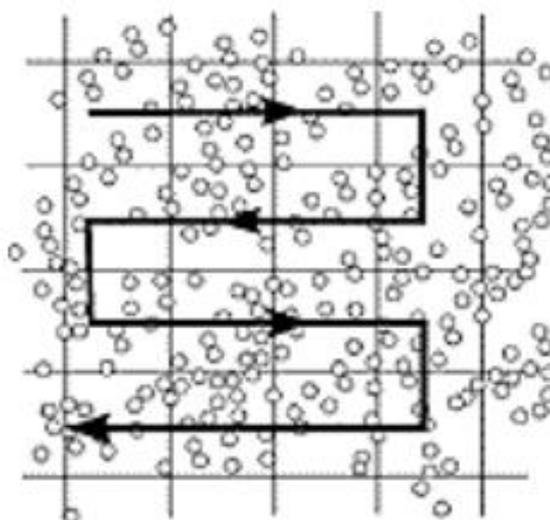


Figura 3. Cuadrantes internos.

Tomado de (Batidas, 2012, p.5)

Las densidades celulares de cada especie fueron calculadas con la siguiente fórmula:

$$DC = N * 1x10^4 * (F.d) \quad \text{(Ecuación 2)}$$

Dónde:

DC: Densidad celular (cel/ml)

N: Promedio de células presentes

F.d: Factor de dilución

2.3 Diseño y Elaboración del Fotobiorreactor

Para este estudio se fabricaron tres fotobiorreactores a escala de laboratorio con las siguientes características:

- Material: Acrílico 5mm, reforzado por aluminio en la parte superior para soporte de la tapa.
- En el costado cuenta con 4 orificios de diámetro menor a 1 cm para el ingreso, salida de mangueras y cables.
- La tapa del fotobiorreactor está sujeta por 8 tornillos tipo mariposa (4 en cada lado).
- Dentro del biorreactor, en la parte superior se colocó tubo de cobre con orificios cada 2 cm por los cuales gotea el medio recirculado cada 15 minutos, y además del cual se sujetó el biofiltro.
- En la parte interna inferior cuenta con un difusor para CO₂ de 60 cm de largo.

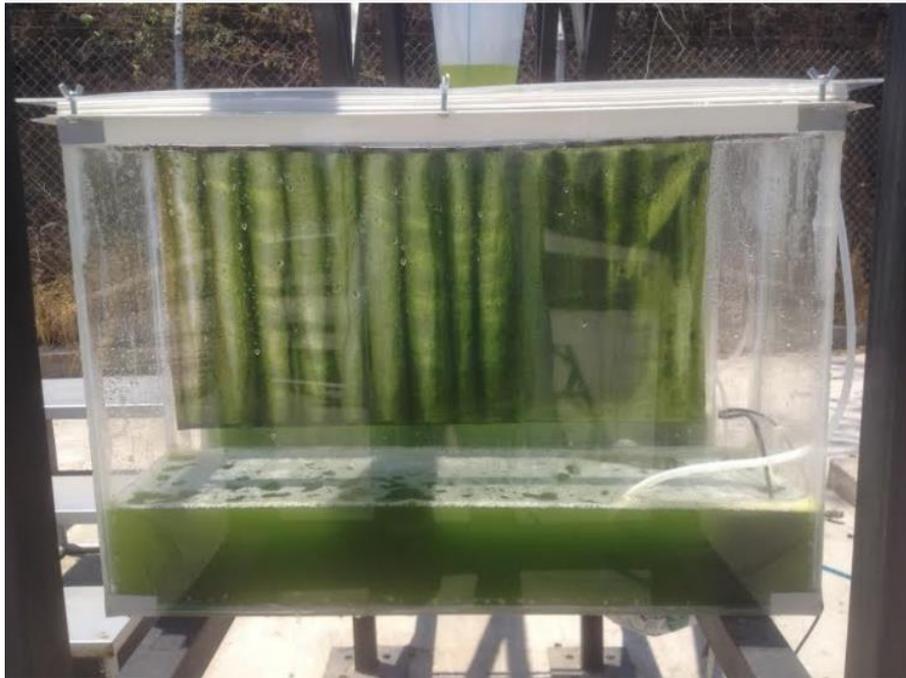


Figura 4. Plano frontal, Biorreactor con biofiltro

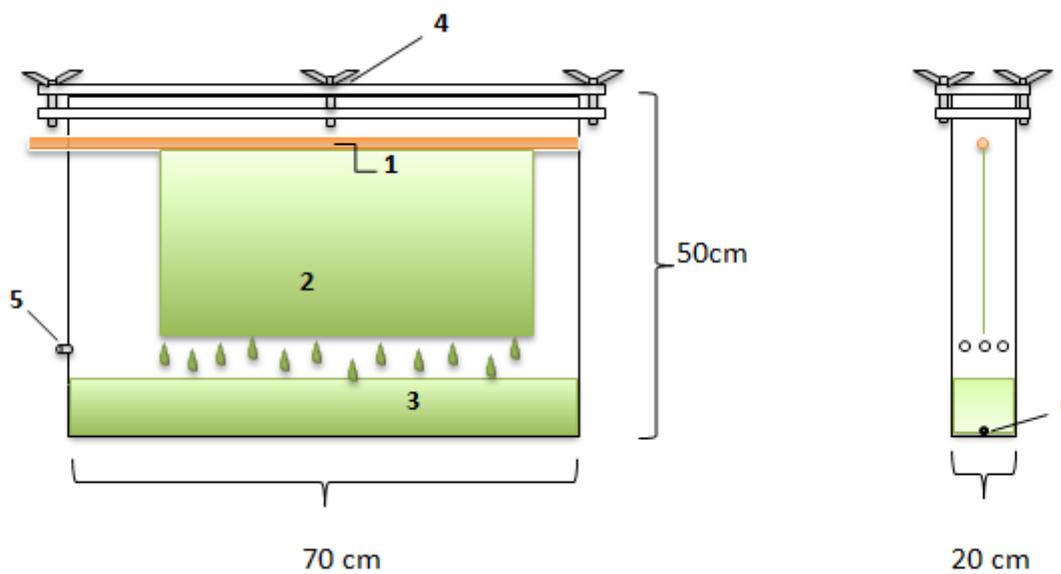


Figura 5. Detalle del biorreactor: 1, Tubo de cobre; 2, Biofiltro; 3, Biomasa; 4, Tornillo tipo mariposa; 5, Orificio para entrada y salida de mangueras; 6, Difusor interno de CO₂

2.3.1 Bomba

La bomba sumergible utilizada presenta las siguientes características:

- Caudal: 700 L/h
- Consumo: 13 W
- Altura máxima: 1m
- Peso: 0.60 Kg
- Frecuencia: 50/60 Hz
- Voltaje: 230/115 V



Figura 6. Detalle biorreactor, bomba sumergible.

La bomba permanecía encendida por periodos de 15 minutos, regulada por un temporizador que controló los periodos de encendido y apagado cada 15 minutos.



Figura 7. Detalle biorreactor, temporizador

2.3.2 Biofiltro

El biofiltro utilizado como medio poroso para que se adhieran las microalgas es utilizado comúnmente en la industria textil y se lo denomina: Fusionable 150. Las dimensiones de los biofiltros utilizados fueron de 56 cm x 30 cm.

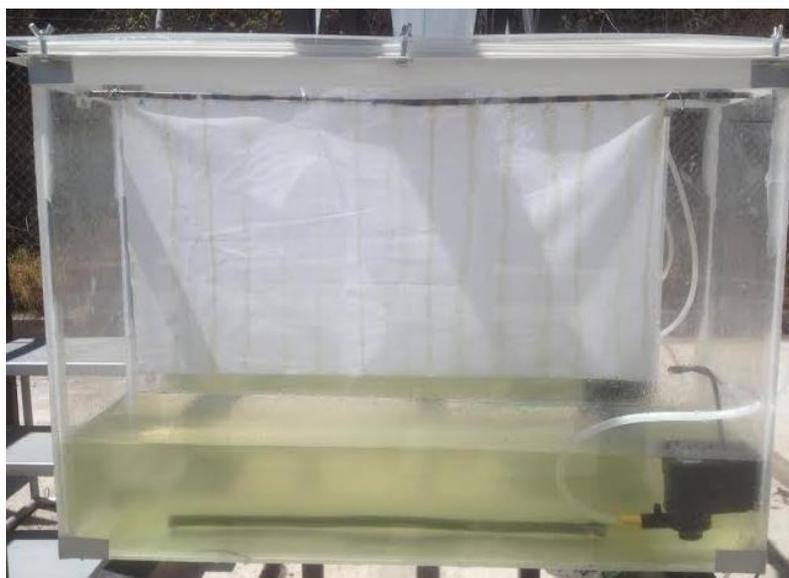


Figura 8. Detalle biorreactor, Biofiltro

2.3.3 Sistema de Automatización de CO₂

Cabe señalar que se los ensayos se llevaron a cabo suministrando CO₂ puro, emulando las cantidades correspondientes a cada concentración de gases de combustión estudiada, para lo cual se realizó el cálculo correspondiente.

Para optimizar la inyección de CO₂, se optó por implementar un sistema automatizado que constó principalmente de una electroválvula programada para activarse según sea programada, en este caso para inyectar CO₂.

La programación que adoptó el sistema fue:

- Activación del sistema durante las horas del día con mayor intensidad solar, según la agencia de protección medioambiental de Estados Unidos (EPA, s.f) es desde las 10:00 am hasta las 16:00 pm, todos los días que dure el experimento.
- Inyección de CO₂ en relación a tiempo activado el sistema, según las concentraciones de CO₂ requeridas.

El sistema fue elaborado a cargo del Ing. Jorge Rosales, docente de la Universidad de Las Américas.

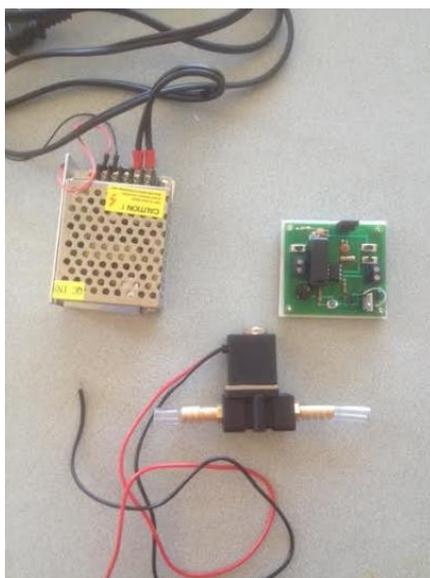


Figura 9. Sistema de automatización de CO₂

2.4 Escalamiento de cultivos a fotobioreactores

Luego de realizar la curva cinética de las especies de microalgas y seleccionar las que mejor se desarrollaron, se prosiguió al escalamiento de las mismas a botellones de 5 litros y posterior mente a la duplicación de las mismas para poseer mayor cantidad de biomasa.

Una vez alcanzada la cantidad de biomasa requerida, se calculó la densidad inicial del cultivo partir de la ecuación uno, para iniciar los ensayos en los biorreactores desde una densidad celular de 1×10^6 cel/mL.

2.5 Absorbancia

Para la determinación de la longitud de onda ideal para la medición diaria de la absorbancia del cultivo, se realizó un barrido en el espectrofotómetro con una muestra del cultivo de microalgas, para verificar a que longitud existe mayor lectura de la absorbancia.

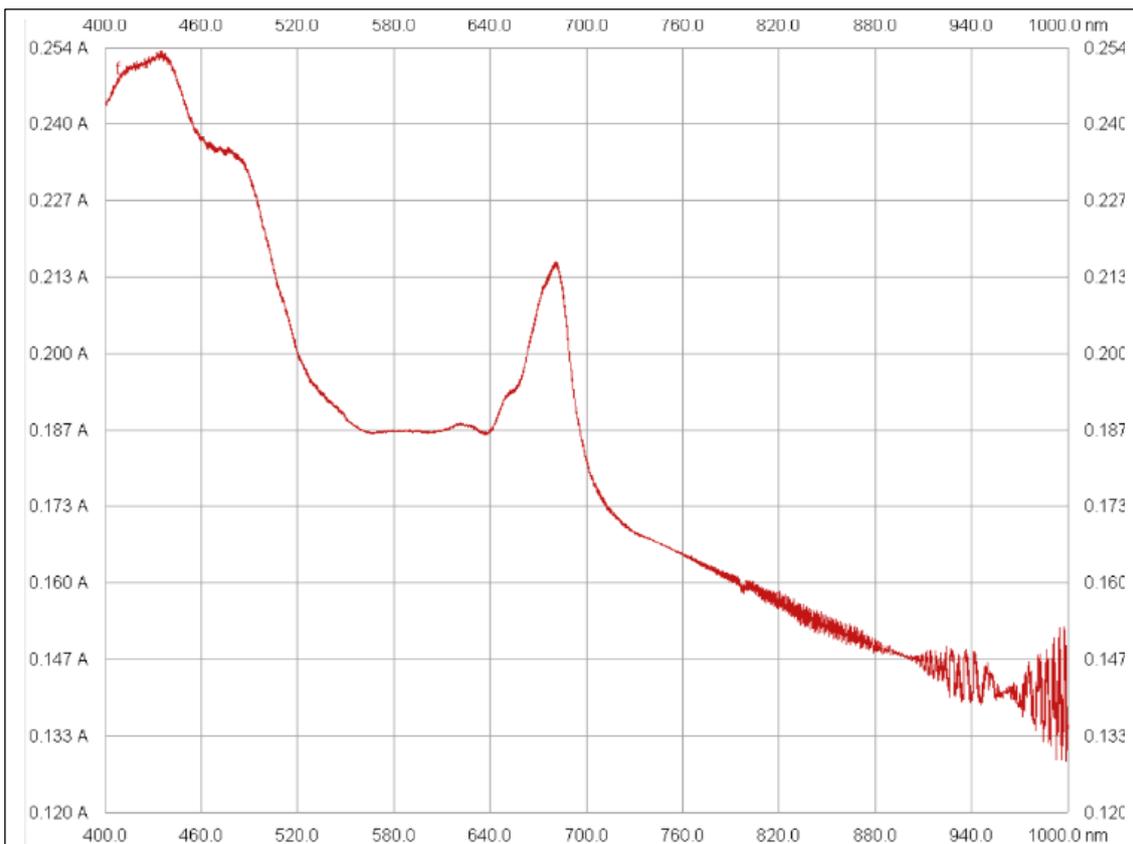
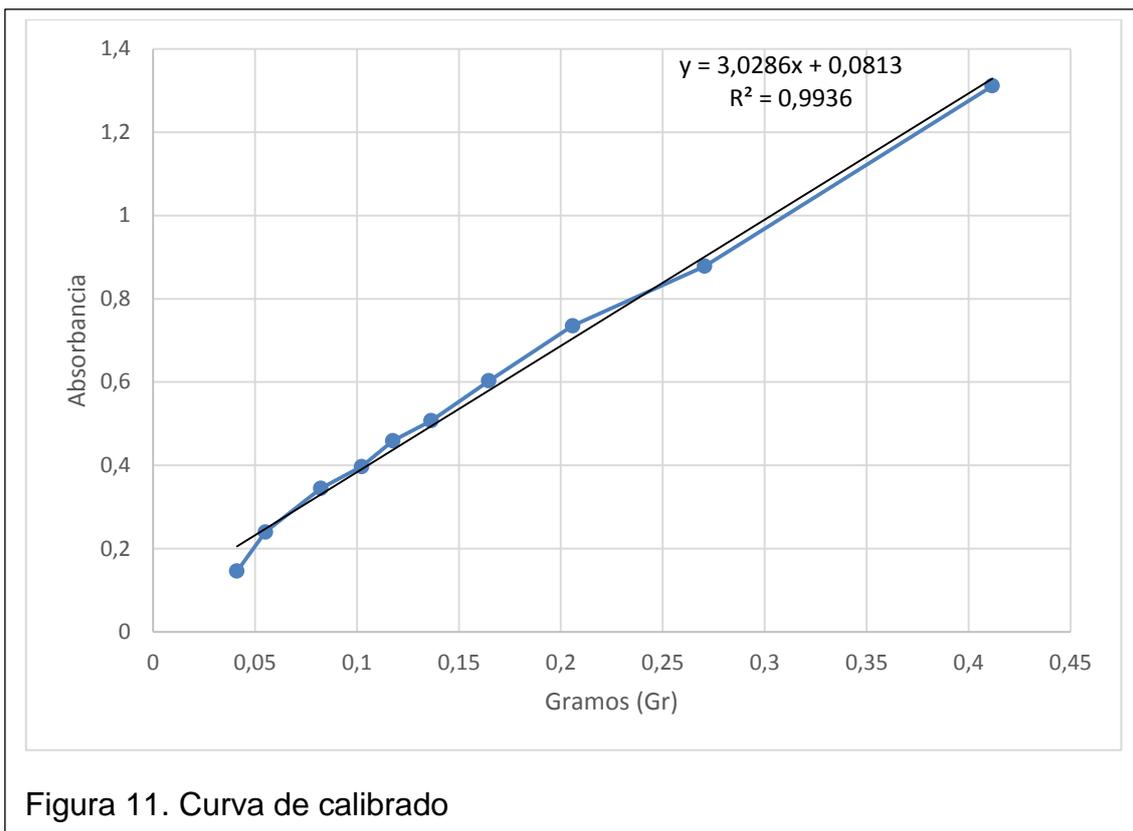


Figura 10. Barrido en el espectrofotómetro

Posteriormente, determinada la longitud de onda (nanómetros), se realizó la curva de calibrado que permitió relacionar absorbancia frente a peso seco y obtener la ecuación de la recta, fórmula a través de la cual se determinó el peso seco de cada biorreactor.



La fórmula obtenida con la curva de calibración, fue utilizada para determinar la biomasa generada en cada biorreactor a partir de la determinación de pigmentos clorofílicos.

En dónde:

$$x = \frac{y - 0,0813}{3,0286} \quad (\text{Ecuación 3})$$

X: cantidad de biomasa seca

Y: Absorbancia

Para determinar la concentración de CO_2 óptima para generar biomasa se plantearon los siguientes ensayos:

*Cada ensayo duró 10 días con mediciones de absorbancia en el espectrofotómetro modelo UV-VIS, marca Marcherey Nagel y mediciones de pH y temperatura a través de una sonda multiparamétrica PCTestr35 de marca EUTECH INSTRUMENTS, los días 1, 2, 3, 4, 5, 8, 9 y 10.

- **Escenario 1**

Concentración en volumen 5% de CO₂ en gases de combustión + temperatura ambiente + luz ambiente + 12 L de medio (agua reservorio)

(3 réplicas)

- **Escenario 2**

Concentración en volumen 10% de CO₂ en gases de combustión + temperatura ambiente + luz ambiente + 12 L de medio (agua reservorio)

(3 réplicas)

- **Escenario 3**

Concentración en volumen 15% de CO₂ en gases de combustión + temperatura ambiente + luz ambiente + 12 L de medio (agua reservorio)

(3 réplicas)

Para determinar las concentraciones de CO₂ a suministrar para la operación del biorreactor, se partió de la ley de Henry en la que explica que la solubilidad de un gas en un líquido, es directamente proporcional a la presión parcial que ejerce el gas sobre el líquido:

$$C_s = K_D * P$$

(Ecuación 4)

Dónde:

Cs= concentración de saturación del gas

KD = coeficiente de distribución = $3,4 \times 10^{-2}$ (mol/L.atm) a 25 °C para el caso del CO₂

P = presión parcial del gas

Los valores de presión parcial calculados para cada concentración de mezcla de gases de combustión estudiada, para los 12 litros del medio de cultivo, fueron calculados a partir de las siguientes leyes:

Ley de Dalton

$$P_{CO_2} = P_T * X_{CO_2} \quad (\text{Ecuación 5})$$

Dónde:

P_{CO₂} = Presión parcial del CO₂

P_T = Presión total, que corresponde a la presión atmosférica en Quito = 0,7 atm

X_{CO₂} = fracción molar de CO₂ en la mezcla de gases de combustión

Ley de Amagat

$$V_{CO_2} = V_T * X_{CO_2} \quad (\text{Ecuación 6})$$

Dónde:

V_{CO_2} = Volumen parcial del CO_2

V_T = Volumen total

X_{CO_2} = fracción molar de CO_2 en la mezcla de gases de combustión

La fracción molar de CO_2 en los gases de combustión, según la Ley de Amagat, corresponde a la fracción en volumen, es decir que, en base a las concentraciones de 5%, 10% y 15%, la fracción molar de CO_2 será de 0,05, 0,1 y 0,15 respectivamente.

Aplicando la Ley de Dalton con estas fracciones molares, se obtuvieron los siguientes valores de presión parcial para cada concentración en volumen del CO_2 en el gas de combustión (5%, 10% y 15%).

$$P_{5\%} = 0,035 \text{ atm}$$

$$P_{10\%} = 0,07 \text{ atm}$$

$$P_{15\%} = 0,105 \text{ atm}$$

Con estas presiones parciales se obtienen las concentraciones de CO_2 , en moles/L, aplicando la Ley de Henry:

$$C_{5\%} = 0,00119 \text{ moles de } CO_2/L$$

$$C_{10\%} = 0,00238 \text{ moles de } CO_2/L$$

$$C_{15\%} = 0,00357 \text{ moles de } CO_2/L$$

Y luego las moles totales de CO_2 a inyectar para los 12 litros de medio de cultivo:

$$n_{5\%} = 0,01428 \text{ moles de } CO_2$$

$$n_{10\%} = 0,0238 \text{ moles de CO}_2$$

$$n_{15\%} = 0,04284 \text{ moles de CO}_2$$

Posteriormente utilizamos la Ley de los Gases Ideales para determinar el volumen que corresponde cada cantidad de moles:

$$V = \frac{nRT}{P} \quad (\text{Ecuación 7})$$

Dónde:

V= Volumen

n= Moles de gas

R= Constante universal de los gases ideales

T= Temperatura absoluta

P= Presión atmosférica

Los volúmenes obtenidos son los siguientes:

$$V_{5\%} = 0,499 \text{ litros de CO}_2$$

$$V_{10\%} = 0,9985 \text{ litros de CO}_2$$

$$V_{15\%} = 1,498 \text{ litros de CO}_2$$

Sabiendo que el caudal de CO₂ que proporciona la válvula es de:

$$Q = 5 \text{ L CO}_2/\text{minuto}$$

Calculamos el tiempo que corresponde inyectar el CO₂ para cada volumen necesario para emular cada concentración de CO₂ en gases de combustión:

$$Q = \frac{V}{T} \quad (\text{Ecuación 8})$$

Escenario 1

Concentración del 5%

$$\text{Tiempo de inyección: } T = \frac{V}{Q} = 0,0998 \text{ min} \approx 6 \text{ segundos}$$

Escenario 2

Concentración del 10%

$$\text{Tiempo de inyección: } T = \frac{V}{Q} = 0,1997 \text{ min} \approx 12 \text{ segundos}$$

Escenario 3

Concentración del 15%

$$\text{Tiempo de inyección: } T = \frac{V}{Q} = 0,2996 \text{ min} \approx 18 \text{ segundos}$$

2.6 Medición de Temperatura y pH

La medición de temperatura y pH se realizó diariamente con ayuda de la sonda multiparamétrica Multi-Parameter PCTestr35 de marca EUTECH INSTRUMENTS. Adicionalmente, se tomó una muestra del cultivo de microalgas para la medición de la absorbancia.



Figura 12. Multi-Parameter PCTestr35

2.7 Análisis Físico-Químico de Agua

El agua que se ocupó como medio de cultivo, fue recolectada del Reservorio de Cumbayá (punto: toma de muestras), la colecta fue realizada en bidones plásticos previamente esterilizados con alcohol.



Figura 13. Reservorio de Cumbayá

Se analizaron los siguientes parámetros:

- DQO
- DBO_5
- Nitratos
- Sulfatos
- Fosfatos

Los parámetros señalados fueron analizados al inicio y al final de cada escenario, con sus respectivas replicas en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad de las Américas, siguiendo la metodología de cada kit.

- Para el análisis de DQO, se usó el kit NANOCOLOR® MACHEREY-NAGEL, Test 0-33
- La determinación del DBO se realizó a través de botellas OxiTop, con un periodo de incubación de 5 días (DBO_5)



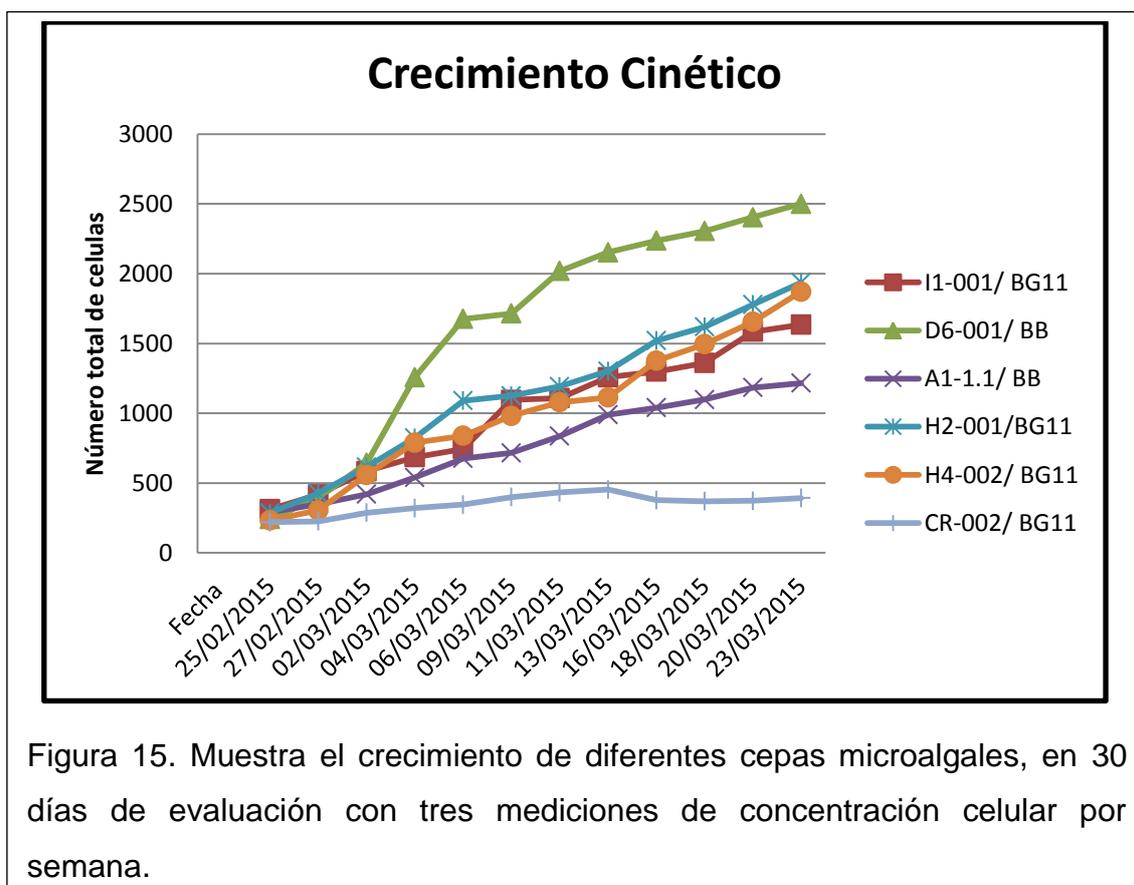
Figura 14. Botellas OxiTop, para la determinación de DBO_5

- Para el análisis de nitrato, se usó el kit NANOCOLOR® MACHEREY-NAGEL, Test 0-64.
- Para el análisis de sulfatos, se usó el kit NANOCOLOR® MACHEREY-NAGEL, Test 0-86.
- Para el análisis de ortofosfatos, se usó el kit NANOCOLOR® MACHEREY-NAGEL, Test 0-76.

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Evaluación del crecimiento cinético de varias especies de microalgas.

Luego de treinta días de evaluación individual de la concentración celular utilizando la cámara de Neubauer de las cepas; CMIE-i1- 001 proveniente de la laguna: Antejos, del Parque Nacional Llanganates; CMIE-D6-001 proveniente de la laguna: Oyacachi, de la Reserva Cayambe-Coca; CMIE-A1-1.1 proveniente de la laguna Santo Domingo, del Parque Nacional Cotopaxi; CMIE-H2-001 proveniente de la laguna Kuyuk; CMIE-H4-002 proveniente de la laguna Ozogoché ambas del Parque Nacional Sangay y CMIE-CR-002 consorcio de varias especies de Chlorophytas perteneciente a la CMIE, BIOTEC, se seleccionaron aquellas cepas que luego de transcurrir dicho tiempo mostraron mayor cinética celular y fase exponencial predominante.

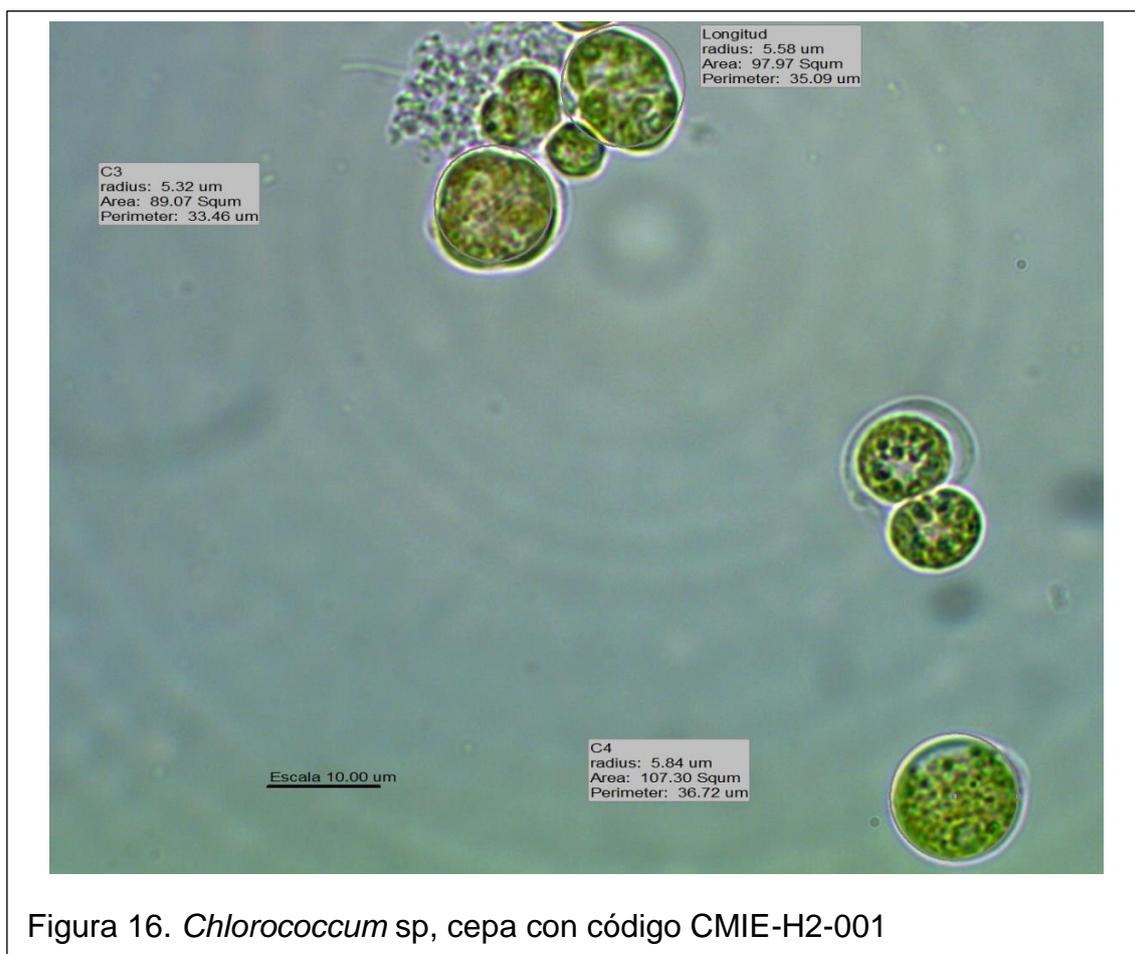


La cepa con código CMIE-D6-001/BB al final de los treinta días fue descartada a pesar de su elevada concentración celular, debido a que presentó una contaminación con *Chlorella* sp., especie de microalga de no interés.

Las cepas con mayor concentración celular luego de los treinta días fueron las cepas con códigos CMIE-H2-001 y CMIE-H4-002 en medio BG-11, ambas provenientes del Parque Nacional Sangay, con un volumen final de 1,936 cel/mL y 1,871 cel/mL respectivamente.

Las cepas de microalgas fueron identificadas por su morfología, siguiendo las claves taxonómicas de (Serediak & Huynh, 2011) y (Oyadomari, 2011), fueron identificadas como:

- *Chlorococcum* sp.



Color: verde

Forma: Ovalada, redonda

Tamaño: 8-12 μm

Estado: En colonias o solas

Esta microalga según (Liu & Lee, 2000, p.301) presenta una tasa elevada de crecimiento, debido principalmente a su alta tolerancia a factores como; variación de rangos en pH (2-10) y resistencia a altas temperaturas. Estos componentes prometedores, convierten a esta microalga fácil de cultivar en biorreactores utilizando luz solar.

La cepa con código CMIE-H4-002 presentó las siguientes características:

- *Scenedesmus* sp

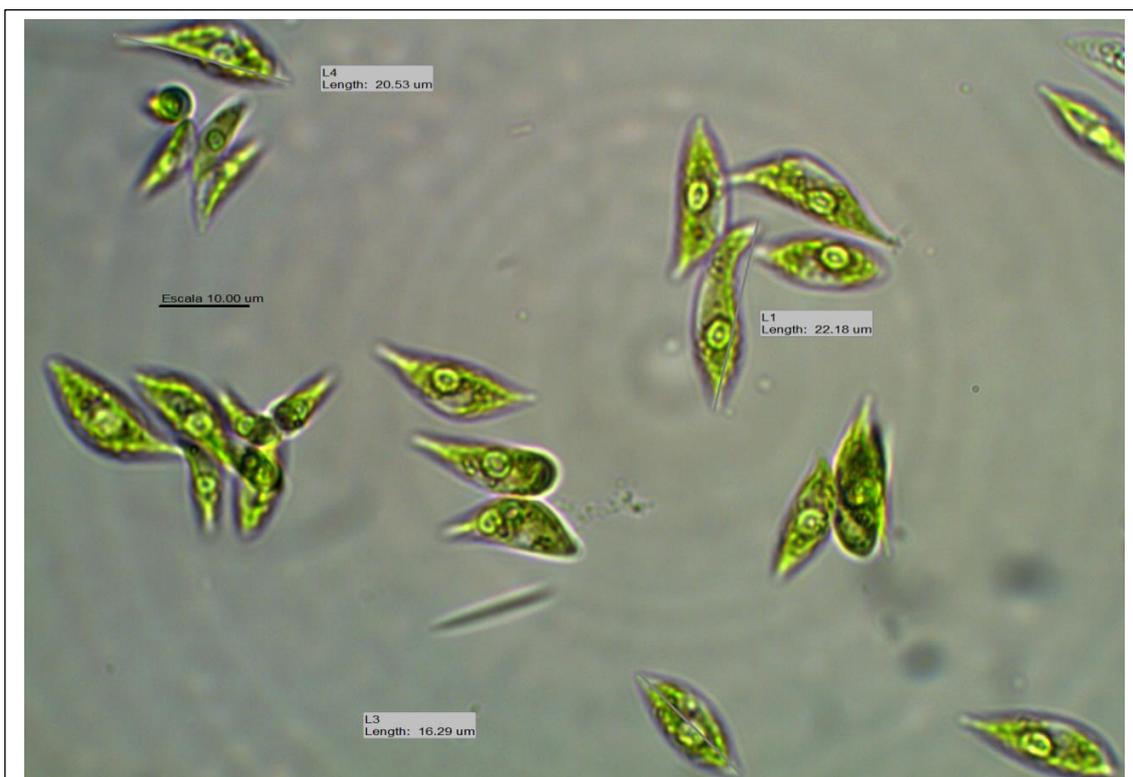


Figura 17. *Scenedesmus* sp, cepa con código CMIE-H4-002

Color: Verde

Forma: Elipsoidales

Tamaño: 8-25 μm

Estado: Cenobios.

Esta microalga según estudios antes realizados por (Ji et al., 2015, p.117) tiene la capacidad de desarrollarse bajo condiciones mixótroficas, es decir que obtiene energía tanto de fuentes inorgánicas como de fuentes orgánicas, desarrollándose favorablemente bajo el efecto de aguas residuales para remover nutrientes del medio y bajo un flujo real de gases de combustión (CO_2) para generar biomasa.

Una vez identificadas las dos cepas de microalgas seleccionadas *Chlorococcum* sp y *Scenedesmus* sp, se realizó el consorcio para su posterior escala al biorreactor.

3.2 Crecimiento de las microalgas en un sistema de biofiltro, construido a escala de laboratorio.

Escenario 1

En este escenario se evaluó la producción de biomasa microalgal con una concentración de CO_2 de 5%, en ambiente exterior, con 12 L de agua residual proveniente del reservorio de Cumbayá utilizada como medio de cultivo.

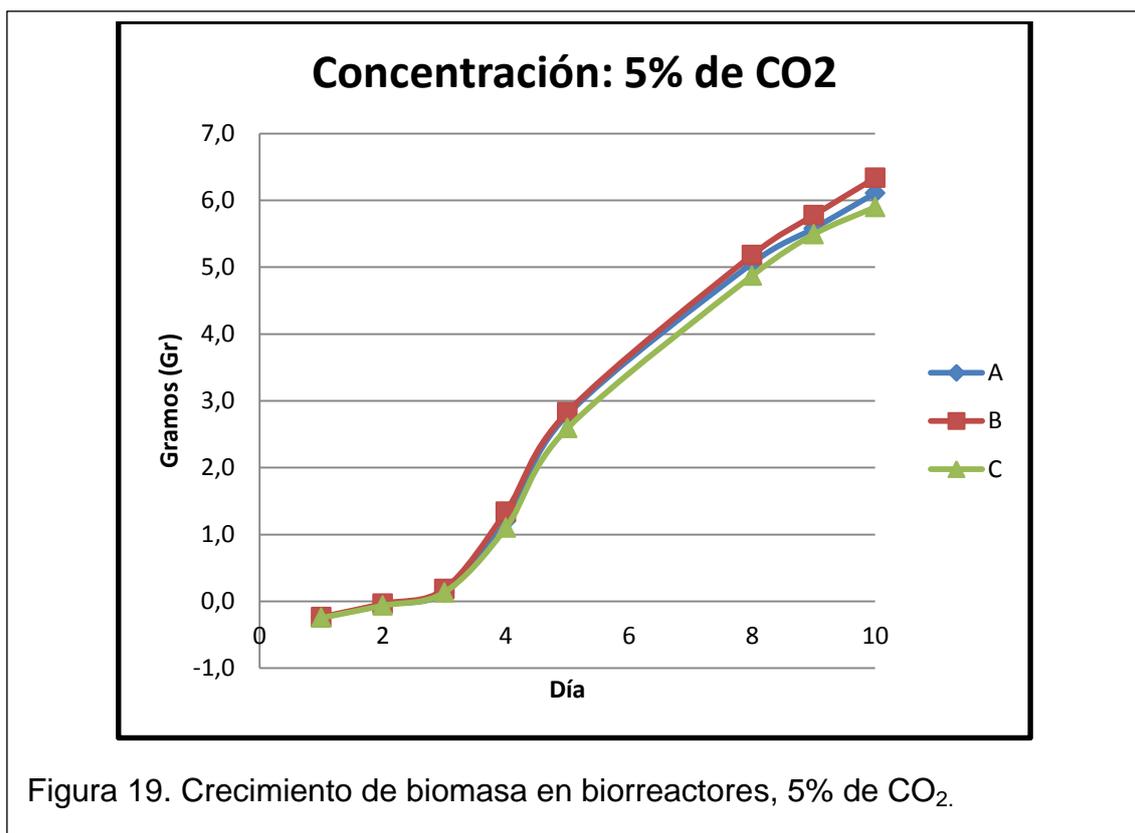
La concentración celular inicial del cultivo fue de 1×10^6 .cel/MI



Figura 18. Estado inicial del biorreactor con una concentración del 5% de CO_2

El tiempo de retención del ensayo uno duró diez días, donde se tomaron muestras del medio de cultivo a las 12:00 del día los días; 1, 2, 3, 4, 5, 8, 9 y 10 para la determinación de pigmentos clorofílicos mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 440 nm.

Transcurrido los diez días que duró el ensayo se obtuvieron los siguientes valores:



Se realizaron tres réplicas del ensayo, donde al final del mismo se obtuvo un valor promedio de 0,520560 mg/mL de biomasa en peso seco, cantidad obtenida a partir de la fórmula resultante de la curva de calibración realizada, multiplicado por la cantidad de medio utilizado (12 L) nos da el valor real de 6,247 g/L biomasa generada, con una desviación estándar de 2,5 del total de la población.

En este primer ensayo se observó que existió en el cultivo un periodo de crecimiento exponencial a partir del tercer día y que duró aproximadamente hasta el noveno día, donde se observa que el cultivo entra en una fase estacionaria y se reduce la velocidad de duplicación celular.

Junto con la muestra de la absorbancia se analizaron otros parámetros como el pH que al inicio del ensayo tuvo un valor de 8,4 disminuyendo hasta 6,2 en el día 4, donde a partir del mismo, hasta concluir el ensayo se observó una estabilización del pH en un valor de 7,1 en el día 10. Ver tabla en anexo.

La temperatura también fue analizada junto a la muestra de pH, donde a partir del segundo día del ensayo se mantuvo dentro del rango óptimo de desarrollo microalgal que según Park et al., (2011, p.38) varía entre 28° y 35°C. Ver tabla anexo 7 y 8.

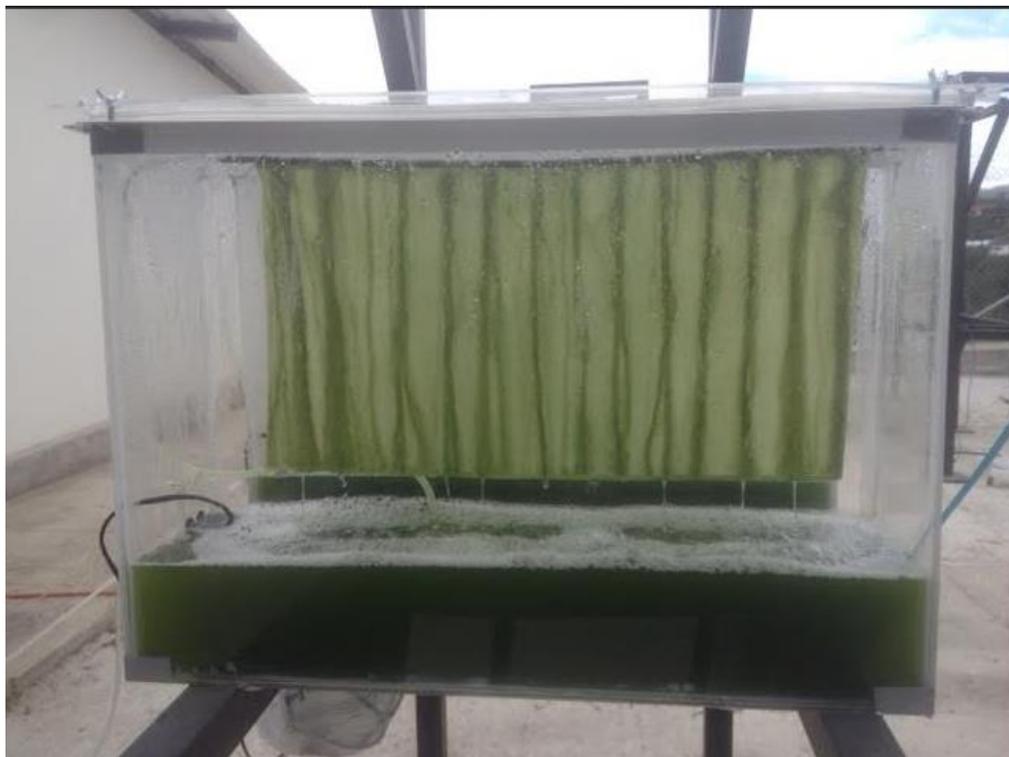


Figura 20. Estado final del biorreactor con una concentración del 5% de CO₂

El biofiltro (geo-textil) utilizado como medio para que se adhieran las microalgas, inicialmente tuvo un peso seco promedio de 17,0235 g, al finalizar el ensayo en el día 10 el biofiltro tuvo un peso seco promedio de 19,2966 g, obteniendo un valor promedio de biomasa seca de 2,2731 g.



Figura 21. Biofiltro con biomasa seca.

Escenario 2

En este escenario se evaluó la producción de biomasa microalgal con una concentración de CO₂ de 10%, en ambiente exterior, con 12 L de agua residual proveniente del reservorio de Cumbayá utilizada como medio de cultivo.

La concentración celular inicial del cultivo fue de 1×10^6 cel/mL.

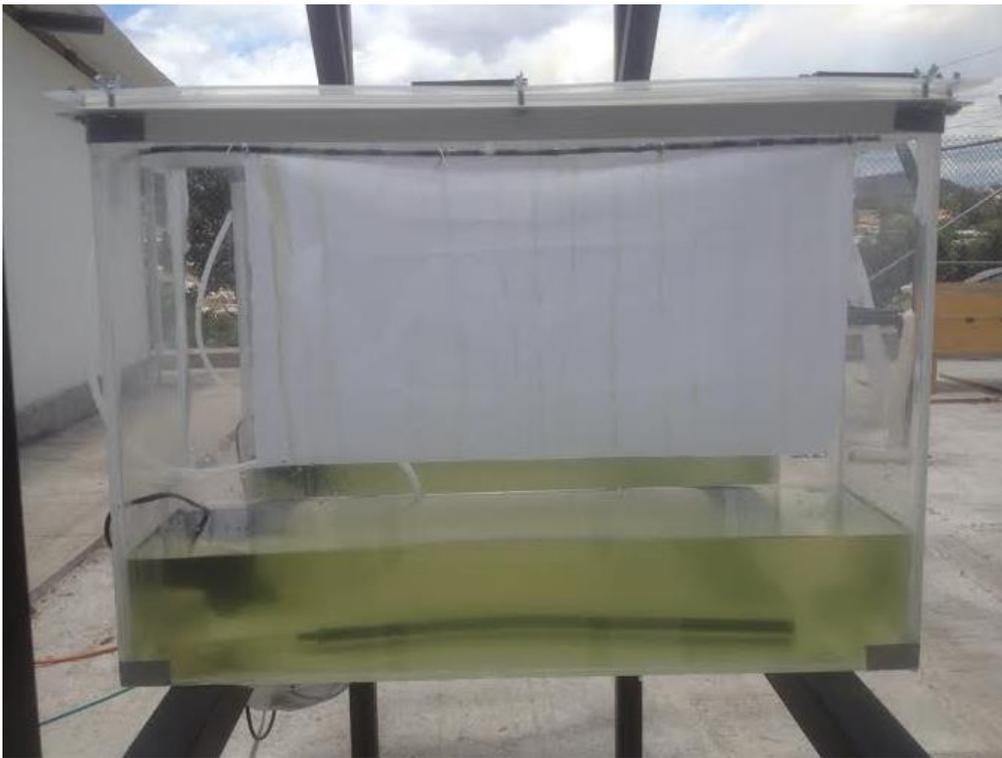
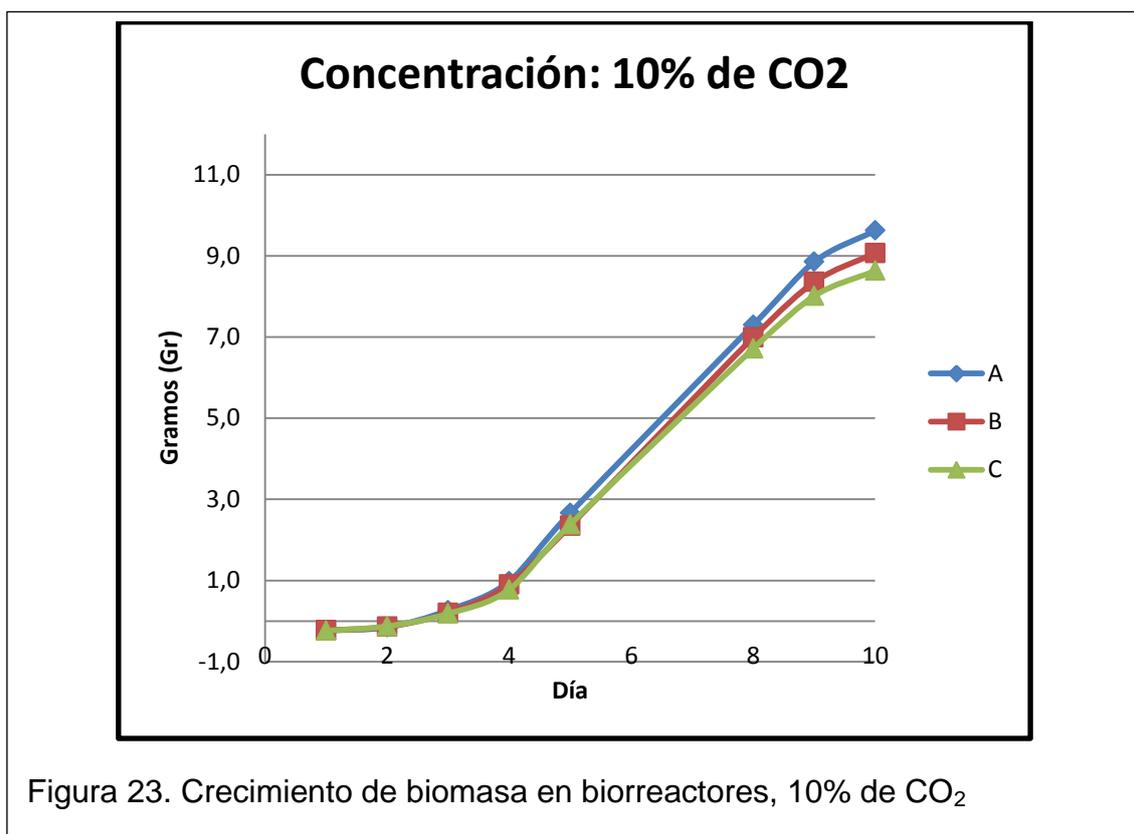


Figura 22. Estado inicial del biorreactor con una concentración del 10% de CO_2

De la misma forma que el ensayo uno, el tiempo de retención del ensayo dos duró diez días, donde se tomó muestras del medio de cultivo a las 12:00 del día los días; 1, 2, 3, 4, 5, 8, 9 y 10 para la determinación de pigmentos clorofílicos mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 440 nm.

Transcurrido los diez días que duró el ensayo se obtuvieron los siguientes valores;



Se realizaron tres réplicas del ensayo, donde al final del mismo se obtuvo un valor promedio de 0,75899 mg/mL de biomasa en peso seco, cantidad obtenida a partir de la fórmula resultante de la curva de calibración realizada, multiplicado por la cantidad de medio utilizado (12 L) nos da el valor real de 9,10788 g/L biomasa generada, con una desviación estándar de 3,7 del total de la población.

En este segundo ensayo se observó que existió una fase de crecimiento exponencial en el cultivo que empezó en el segundo día y que duró aproximadamente siete días hasta el noveno día, donde a partir del mismo día se observa que disminuye la velocidad de duplicación celular y entra en una fase de latencia.

En este ensayo, se observó que inicialmente el parámetro pH tuvo un valor de 8,5, disminuyendo sus valores hasta el día tres a un valor de 6,1, a partir del

día cuatro el pH del cultivo se incrementó hasta estabilizarse entre el día nueve y diez en un valor final de 7,2.

La temperatura también fue analizada junto a la muestra de pH, donde a partir del segundo día del ensayo se mantuvo dentro del rango óptimo de desarrollo microalgal que según Park et al., (2011, p.38) varía entre 28° y 35°C. Ver tabla anexo 9 y 10.



Figura 24. Estado final del biorreactor con una concentración del 10% de CO₂

En este segundo ensayo, el biofiltro (geo-textil) utilizado como medio para que se adhieran las microalgas, inicialmente tuvo un peso seco promedio de 16,9891 g, al finalizar el ensayo en el día 10 el biofiltro tuvo un peso seco promedio de 20,1543 g, obteniendo un valor promedio de biomasa seca de 3,16523 g.



Figura 25. Biofiltro con biomasa seca.

Ensayo 3

En este escenario, se evaluó la producción de biomasa microalgal con una concentración de CO₂ de 15%, en ambiente exterior, con 12 L de agua residual proveniente del reservorio de Cumbayá utilizada como medio de cultivo.

La concentración celular inicial del cultivo fue de 1×10^6 cel/mL.

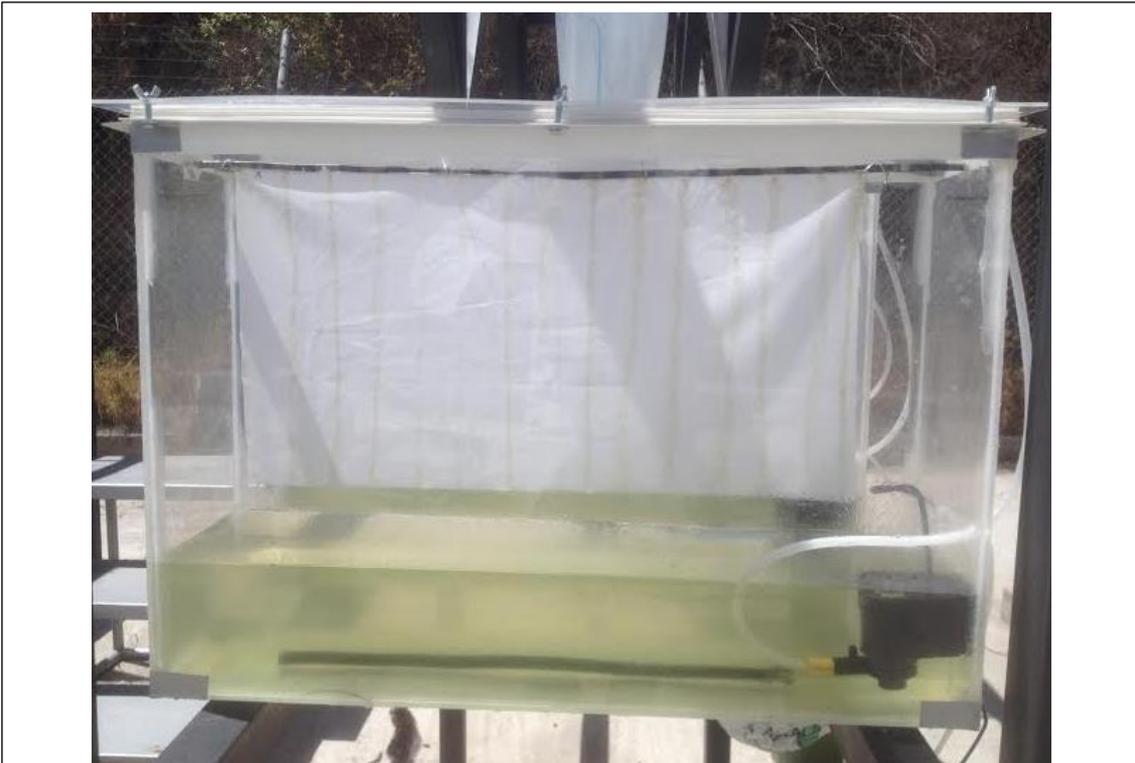
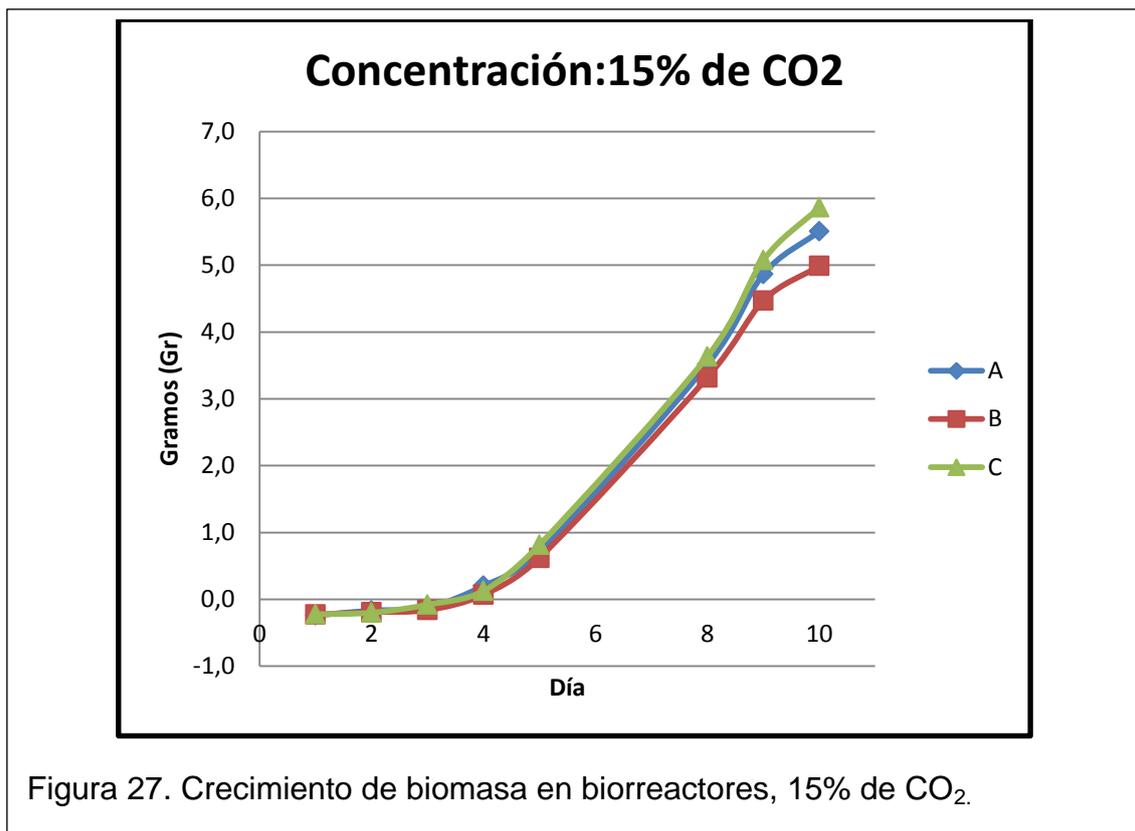


Figura 26. Estado inicial del biorreactor con una concentración del 15% de CO_2 .

De la misma forma que el ensayo uno y dos, el tiempo de retención del ensayo tres duró diez días, donde se tomó muestras del medio de cultivo a las 12:00 del día los días; 1, 2, 3, 4, 5, 8, 9 y 10 para la determinación de pigmentos clorofílicos mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 440 nm.

Transcurrido los diez días que duró el ensayo se obtuvieron los siguientes valores;



Se realizaron tres réplicas del ensayo, donde al final del mismo se obtuvo un valor promedio de 0,46414 mg/mL de biomasa en peso seco, cantidad obtenida a partir de la fórmula resultante de la curva de calibración realizada, multiplicado por la cantidad de medio utilizado (12 L) nos da el valor real de 5,56968 g/L biomasa generada, con una desviación estándar de 2,2 del total de la población.

En este tercer ensayo se observó que por los cuatro primeros días el cultivo microalgal está en una etapa de adaptación al medio de cultivo, para posteriormente entrar en una tardía fase exponencial que duró aproximadamente hasta el día nueve del ensayo, donde a partir del mismo día se observa que el cultivo entra en una fase estacionaria.

En este tercer ensayo, el parámetro pH tuvo inicialmente un valor de 8,4, disminuyendo sus valores hasta el cuarto y quinto día a un valor de 5,9, a partir

del sexto día el pH del cultivo se incrementó hasta estabilizarse entre el diez en un valor final de 7,1.

La temperatura también fue analizada junto a la muestra de pH, donde a partir del segundo día del ensayo se mantuvo dentro del rango óptimo de desarrollo microalgal que según Park et al., (2011, p.38) varía entre 28° y 35°C. Ver tabla anexo 11 y 12.



Figura 28. Estado final del biorreactor con una concentración del 15% de CO₂.

En este tercer ensayo, el biofiltro (geo-textil) utilizado como medio para que se adhieran las microalgas, inicialmente tuvo un peso seco promedio de 16,9769 g, al finalizar el ensayo en el día 10 el biofiltro tuvo un peso seco promedio de 19,5774 g, obteniendo un valor promedio de biomasa seca de 2,6004 g.



Figura 29. Biofiltro con biomasa seca.

Una vez finalizados los tres ensayos, se obtuvo el siguiente gráfico:

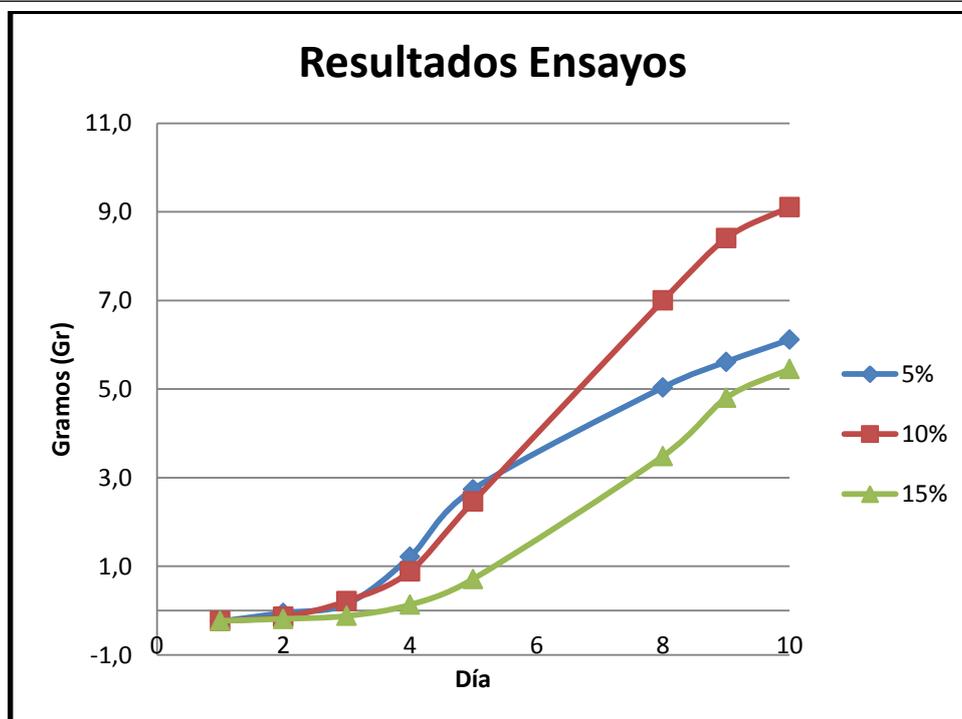


Figura 30. Crecimiento de biomasa en biorreactores, 5%, 10% y 15% de CO_2

Se puede observar que la concentración de CO₂ más óptima para la producción de biomasa microalgal en el medio de cultivo del consorcio hecho a partir de las cepas CMIE-H2-001/BG-11 y CMIE-H4-002/BG-11 identificadas como *Chlorococcum* sp y *Scenedesmus* sp respectivamente es de 10%, debido a que en esta concentración se generó una cantidad de 9,10788 g/L de biomasa, 31,41% superior a la generada en el ensayo uno con una concentración de 5% y 38,84% superior a la biomasa generada en el ensayo tres con una concentración de 15%.

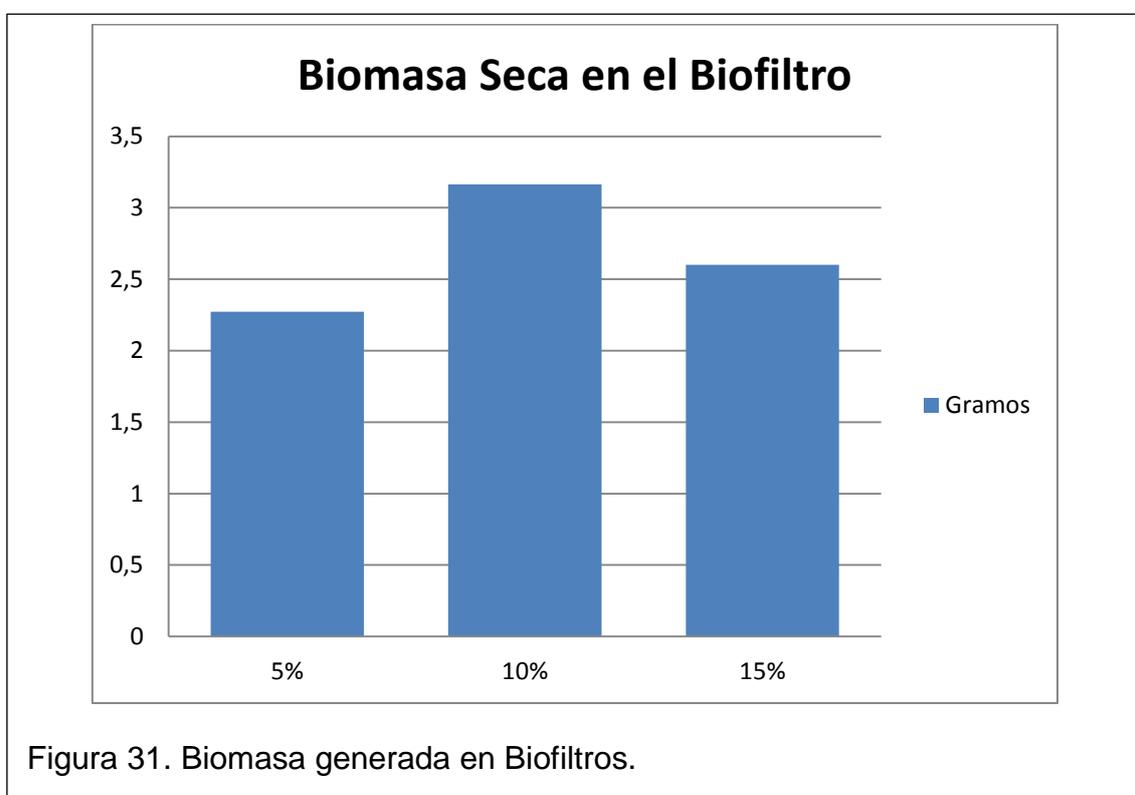


Figura 31. Biomasa generada en Biofiltros.

En el biofiltro (geotextil) se produjo mayor cantidad de biomasa seca en el ensayo número dos, con una cantidad de 3,165 gr, 28,18% superior a la biomasa generada en el biofiltro del ensayo uno (5%) y 17,85% mayor cantidad de biomasa microalgal seca generada que el ensayo número tres (15%).

Lo cual demuestra que las especies *Chlorococcum* sp. y *Scenedesmus* sp., pueden ser cultivadas con normalidad posteriormente a mayor escala en beneficio de la industria en un sistema de captación de CO₂ mediante biofiltros elaborados a partir de un geotextil.

Finalizados los ensayos se determinó cuanto CO₂ fue suministrado en cada ensayo, según Brennan y Owende (2010 p.3), las microalgas utilizan 1,83 Kg de CO₂ para producir 1 Kg de biomasa, tomando esta referencia en el ensayo 1, con una concentración de CO₂ del 5% las microalgas capturaron 51,7% del CO₂ suministrado; en el ensayo 2, con una concentración de CO₂ del 10% se capturó 37,2%; y, en el ensayo 3, con una concentración de CO₂ del 15% se capturó un 16,5%, esto puede ser ocasionado principalmente por fugas en el sistema según (Flores et al., 2003), en un biorreactor cerrado es necesario la presurización para evitar que los gases escapen.

En la atmósfera la concentración de CO₂ según (Arias, Martínez, & Cañizares, 2013, p.55) puede variar entre rangos de 0,03% y 0,06%, y un gran porcentaje de especies microalgales puede soportar concentraciones superiores de CO₂ para generar mayor cantidad de biomasa microalgal (Chiu et al., 2008, p.1).

La concentración típica de CO₂ en efluentes gaseosos provenientes de plantas de combustión, oscila según (Ono & Cuello, 2003, p.4) entre un rango de 10% y 15%, en este estudio se ha demostrado que el consorcio conformado por especies *Chlorococcum* sp. y *Scenedesmus* sp. provenientes del Parque Nacional Sangay cultivadas por el personal del Laboratorio de Biotecnología Energética (BIOTEC), tiene la capacidad de adaptarse y desarrollarse en condiciones más favorables con una concentración de CO₂ del 10%.

Según Hanagata, Takeuchi, Fukuju, Barnes, y Karube, (1992, p.3347)., *Scenedesmus* sp puede crecer incluso bajo concentraciones de hasta el 80% de CO₂, sin embargo, entre los rangos de 10% y 20% de concentración de CO₂ se genera la mayor producción celular, como se observa en los resultados obtenidos en la presente investigación con una concentración de CO₂ del 10%.

Una adecuada adición de CO₂ al cultivo de microalgas puede estimular su desarrollo, como observamos en el ensayo uno y dos; sin embargo, una elevada concentración de CO₂ según (Liu & Lee, 2000) puede inhibir el crecimiento celular en un determinado punto.

La administración de CO₂ en el cultivo, tuvo efecto en los niveles de pH, este parámetro es clave debido a que está relacionado con la disponibilidad de nutrientes en el medio, el suministro de CO₂ en el medio tendió a acidificarlo, resultando bajos niveles de pH que pueden generar efectos metabólicos negativos en moléculas como ATP y ADN (Andersen, 2005, p.193). Sin embargo, se observó en el cultivo que trascurrido los días de retención y el aumento de biomasa microalgal el pH en el medio del cultivo se estabilizó.

Según Artero, Noguerras y Lázaro, (2012, pp.1), la acidificación del medio ocurre cuando el CO₂ entra en contacto con el agua, reaccionando para formar ácido carbónico (H₂CO₃), compuesto químico que es aprovechado por las microalgas. Consiguiente a la formación de ácido carbónico se genera la liberación de iones de hidrógeno, los cuales tienen a reducir el pH, provocando acidez en el medio.

Según Sialve, Bernet, & Bernard, (2009, p.9) las microalgas han sido utilizadas exitosamente en la depuración de biogás a partir de digestión anaerobia, limpiando el gas resultante de CO₂ y H₂S, evidenciando que estos gases en el medio no generó efectos negativos relevantes sobre la degradación de otros contaminantes en el medio.

3.3 Efecto del sistema sobre el agua que se utilizará como medio de cultivo.

El agua que se utilizó como medio de cultivo del consorcio de microalgas en los biorreactores en los ensayos; uno, dos y tres fue recolectada del punto de muestreo del reservorio de Cumbayá.

Los parámetros iniciales del medio fueron analizados el día uno de ensayo sin el consorcio microalgal, los parámetros finales fueron determinados luego de diez días de tiempo de retención que duró cada ensayo, filtrando cada muestra para evitar que las microalgas alteren los valores.

Escenario 1

Se obtuvieron los siguientes valores:

Tabla 4. Parámetros en calidad de agua, concentración de CO₂ 5%.

Parámetro	Unidad	Agua Inicial	Agua Final			Promedio	Límites Máximos Permisibles	% de Remoción
			A	B	C			
DBO₅	mg/l	75	35	40	40	38,3	100	48,9
DQO	mg/l	181	97	88	105	96,7	250	46,6
Nitratos	mg/l	14,1	8,6	6,7	7,6	7,6	10	45,9
Sulfatos	mg/l	245,9	106,5	104	99	103,3	1000	58,0
Ortofosfatos	mg/l	32	18	17,5	19,8	18,4	30,6	42,4

En el ensayo uno, con una concentración del 5% de CO₂, con tiempo de retención de diez días, se observó una remoción de contaminantes del medio de 48,9% del DBO₅; un 46,6% de DQO; 46,9% en Nitratos; 58% en Sulfatos y 42,4% en Ortofosfato.

Escenario 2

Se obtuvieron los siguientes valores:

Tabla 5. Parámetros en calidad de agua, concentración de CO₂ 10%.

Parámetro	Unidad	Agua Inicial	Agua Final			Promedio	Límites Máximos Permisibles	% de Remoción
			A	B	C			
DBO₅	mg/l	70	25	30	30	28,3	100	59,5
DQO	mg/l	190	80,1	81	85,6	82,2	250	56,7
Nitratos	mg/l	15	7	7,3	6.8	7,2	10	52,3
Sulfatos	mg/l	271	85,7	98,1	82,5	88,8	1000	67,2
Ortofosfatos	mg/l	29	13,6	14,2	14	13,9	30,6	52,0

En el ensayo dos, con una concentración del 10% de CO₂, con tiempo de retención de diez días, se observó una remoción de contaminantes del medio de 59,5% del DBO₅; un 56,7% de DQO; 52,37% en Nitratos; 67,2% en Sulfatos y 52% en Ortofosfato.

Escenario 3

Se obtuvieron los siguientes valores:

Tabla 6. Parámetros en calidad de agua, concentración de CO₂ 15%.

Parámetro	Unidad	Agua Inicial	Agua Final			Promedio	Límites Máximos Permisibles	% de Remoción
			A	B	C			
DBO ₅	mg/l	70	50	50	45	48,3	100	31,0
DQO	mg/l	192,1	110	118,7	109,3	112,7	250	41,3
Nitratos	mg/l	14	8,2	8	8,9	8,5	10	39,6
Sulfatos	mg/l	253	130,2	131,6	139,8	133,9	1000	47,1
Ortofosfatos	mg/l	27,9	19	21,4	18,1	19,5	30,6	30,1

En el ensayo tres, con una concentración del 15% de CO₂, con tiempo de retención de diez días, se observó una remoción de contaminantes del medio de 31% del DBO₅; un 41,3% de DQO; 39,6% en Nitratos; 47,1% en Sulfatos y 30,1% en Ortofosfatos.

Al finalizar con los tres ensayos, observamos que las microalgas bajo las tres diferentes concentraciones de CO₂ luego de diez días que duró cada ensayo como tiempo de retención, fueron capaces de remover un alto porcentaje de contaminantes, siendo el escenario dos en el que existió una mayor remoción de los parámetros: DBO₅ removiendo un 59,5%; un 56,7% del DQO; 52,3% en Nitratos; 67,2% en Sulfatos y 52% en Ortofosfato.

La capacidad depuradora que poseen ciertas especies de microalgas se ve reflejada cuando existe en el medio las condiciones adecuadas para su desarrollo (Park et al., 2011), según (Abdel-Raouf et al., 2012), p.262) los géneros *Chlorococcum* sp y *Scenedesmus* sp, se encuentran en la lista de las

microalgas con mayor tolerancia, debido a esto, se ha demostrado en anteriores estudios la capacidad que poseen las microalgas para disminuir valores de DQO y DBO₅, por ejemplo; (Abdel-Raouf et al., 2012) utilizando microalgas en aguas residuales urbanas, removieron un 68,4% en DBO₅ y un 67.2% en DQO. Por otra parte Hammouda, Gaber y Abdelraouf (1995, p.209) utilizando *Scenedesmus* sp, en agua residuales alcanzaron un porcentaje de remoción de DQO de hasta el 89%.

Según (Markou & Georgakakis, 2011). El nitrógeno y el fósforo son dos elementos esenciales en el desarrollo de las microalgas, las mismas que lo obtienen del medio para formar biomasa. En aguas residuales el fósforo se encuentra principalmente en forma de PO₄³⁻ (ortofosfato) y el nitrógeno lo encontramos principalmente como NO₃⁻ (nitrato), NH₄⁺ (amonio) y NO₂⁻ (nitrito), (Abdel-Raouf et al., 2012), p.263).

El fosforo presente en la materia orgánica se oxida para formar oxido fosfórico (2P₂O₅), el mismo que reacciona en proporción a la ecuación citada a continuación, para finalmente ionizarse en fosfatos (PO₄) e hidrogeno, siendo el fosfato más estable, debido a que es una molécula oxidada, lo cual permite utilizarlo para la determinación.



Varios estudios han demostrado la eficacia de las microalgas en la remoción de N y P en aguas residuales, según Hammouda et al., (1995, p.209) en estudios realizados con microalgas del género *Chlorella* sp y *Scenedesmus* sp, en cultivos con tiempo de retención de 42 y 48 días, existió una eliminación de fósforo, y nitratos del 100% en aguas residuales de uso doméstico, mientras

que en otro estudio realizado con agua residual industrial se eliminó 50,2% en nitrógeno y 85,7% en fósforo (Abdel-Raouf et al., 2012), p.264).

Según García, Jawiarczyk, González, Fernández-Sevilla y Acién, (2012, p. 156), la eficacia que poseen ciertas especies microalgales en la remoción de contaminantes provenientes de aguas residuales; como el azufre, se debe a que las microalgas incorporan y utilizan el azufre en estado de sulfatos principalmente, para la síntesis de proteínas y aminoácidos.

4. CONCLUSIONES

Las cepas microalgales con mayor desarrollo celular fueron; CMIE-H2-001, (*Chlorococcum* sp.), proveniente de la laguna Kuyuk con 1,936 cel/mL y CMIE-H4-002, (*Scenedesmus* sp.) proveniente de la laguna Ozogoché con 1,871 cel/mL, ambas del Parque Nacional Sangay. Su desarrollo favorable se debe principalmente a su tolerancia a cambios de factores como el pH y a su capacidad para desarrollarse bajo condiciones mixotróficas.

Chlorococcum sp. y *Scenedesmus* sp. presentan características que las vuelven fácilmente cultivables en fotobiorreactores en ambiente exterior, desarrollándose favorablemente bajo el efecto de aguas residuales para remover nutrientes del medio y bajo un flujo de gases de combustión (CO₂) para generar biomasa.

La concentración de CO₂ óptima para la generación de biomasa microalgal fue la del 10%, lográndose la generación de 12,273 gr/L, 30,5% superior a la biomasa generada bajo una concentración del 5% y 33,4% superior a la biomasa generada con una concentración del 15% de CO₂.

El mayor porcentaje de remoción de contaminantes en el medio de cultivo se presentó en el ensayo dos con una concentración de CO₂ del 10%, donde se removió 59,5% del DBO₅; un 56,7% de DQO; 52,37% en Nitratos; 67,2% en Sulfatos y 52% en Ortofosfato.

El consorcio elaborado a partir de las cepas; CMIE-H2-001, (*Chlorococcum* sp.), y CMIE-H4-002, (*Scenedesmus* sp.); puede ser cultivado con normalidad posteriormente a mayor escala en beneficio de la industria en un sistema de captación de CO₂ mediante biofiltros elaborados a partir de un geotextil.

El escenario 1 con una concentración del 5% de CO₂ fue donde se logró capturar mayor cantidad del CO₂ suministrado, siendo 51,7%. En los otros escenarios con concentraciones de 10% y 15% se capturó menor cantidad de CO₂ principalmente a que el biorreactor no fue sellado a presión permitiendo la fuga del gas.

5. RECOMENDACIONES

Se observó durante los ensayos que, conforme la biomasa microalgal aumentaba, esta tendía a depositarse en el fondo de los biorreactores, pudiendo ocasionar fotoinhibición, por lo que se recomienda implementar un agitador en caso de que el sistema sea implementado a una escala mayor, con el fin de evitar la sedimentación de la biomasa, debiendo estudiarse las condiciones de agitación.

Se recomienda suministrar un flujo de gas de combustión real, para evidenciar la reacción del consorcio microalgal conformado por las especies *Chlorococcum* sp. y *Scenedesmus* sp. frente a otros componentes del gas como son los NOx y SOx.

Se debe continuar con la investigación de las cepas *Chlorococcum* sp. y *Scenedesmus* sp. con fines biotecnológicos y ambientales, debido a su alto potencial de remover contaminantes del medio y capacidad de generar biomasa.

Implementar un controlador digital para mantener la temperatura constante durante día/noche y determinar si existe una diferencia significativa, debido a que en el presente estudio se trabajó con temperatura ambiente.

Evaluar el rendimiento del consorcio microalgal en aguas residuales provenientes de diferentes sectores industriales.

Se recomienda implementar este sistema a mayor escala en beneficio del sector industrial, dando una alternativa a la contaminación ambiental, capturando gases de combustión con la utilización de microalgas.

REFERENCIAS

- Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A. A., & Ibraheem, I. B. M. (2012a). *Microalgae and wastewater treatment*. Recuperado el 28 de octubre del 2015 de: <http://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005>.
- Andersen, R. (2005). *Algal Culturing Techniques*. Recuperado el 10 de febrero del 2016 de: <https://books.google.com.ec/books?id=qWHAwAAQBAJ&lpg=PR7&ots=XoqtBbvIM3&dq=algal%20culturing%20techniques&lr&hl=es&pg=PR3#v=onepage&q=CO2&f=false>.
- Arias, M., Martínez, A., y Cañizares, r., (2013). *Producción de biodiesel a partir de microalgas: parámetros del cultivo que afectan la producción de lípidos*. Recuperado el 7 de enero del 2016 de: https://www.academia.edu/3289493/PRODUCCI%C3%93N_DE_BIODIESEL_A_PARTIR_DE_MICROALGAS_PAR%C3%81METROS_DEL_CULTIVO_QUE_AFECTAN_LA_PRODUCCI%C3%93N_DE_L%C3%8DPIDOS.
- Artero, C., Nogueras Cervera, M., & Manuel Lázaro, A. (2012). *PH sensor. Instrumentation viewpoint*. Recuperado el 10 de enero del 2016 de <http://upcommons.upc.edu/handle/2099/12988>.
- Barrantes, M. G. (2014). *Desarrollan sistema integrado para la producción de microalgas acoplado a un biodigestor y a un emisor de CO2*. Recuperado el 15 de Enero del 2015, de: http://revistas.tec.ac.cr/index.php/investiga_tec/article/view/1714.
- Bastidas, O. (2012). *Conteo Celular con Hematocitómetro*. Recuperado el 30 de noviembre de 2015 de: <http://www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/Conteo-Camara-Neubauer.pdf>.
- Bischoff, H., & Bold, H. (1963). *Phycological Studies IV. Some Soil Algae From Enchanted Rock and Related Algal Species*. Recuperado el 18 de noviembre de 2015 de: <http://cccryo.fraunhofer.de/sources/files/medien/BBM.pdf>.
- Brennan, L., & Owende, P. (2010). *Biofuels from microalgae—a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and*

- co-products*. Recuperado el 23 de noviembre de 2015 de: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.452.2566&rep=rep1&type=pdf>.
- Cajamar, E., & Palmerillas, L. (2015). *¿qué son las microalgas? interés y uso*. Recuperado el 15 de octubre del 2015 de: <http://www.fundacioncajamar.es>
- Camps, M., Marcos, F. (2008). *Los biocombustibles*. Madrid, España: Mundi Prensa.
- Chisti, Y. (2007). *Biodiesel from microalgae*. Recuperado el 05 de noviembre de 2015 de: <http://www.massey.ac.nz/~ychisti/Biodiesel.pdf>.
- Chiu, S.-Y., Kao, C.-Y., Chen, C.-H., Kuan, T.-C., Ong, S.-C., & Lin, C.-S. (2008). *Reduction of CO₂ by a high-density culture of Chlorella sp. in a semicontinuous photobioreactor*. Recuperado el el 7 de enero del 2016 de: https://www.researchgate.net/publication/5941276_Reduction_of_CO2_by_a_high-density_culture_of_Chlorella_sp_in_a_semicontinuous_photobioreactor_Bioresour_Technol.
- Clinton, J. (1991) *Botánica Marina*. México, D.F., Mexico: Limusa
- Cruz, L., & López, S. (2012). *Microalgas dulceacuícolas*. Recuperado el 28 de octubre de 2015 de: www.cicy.mx/Documentos/CICY/Sitios/.../pdfs/.../02%20Microalgas.pdf.
- EPA. (s.f). *UV Index Scale-United States Environmental Protection Agency*. Recuperado el 25 de Octubre del 2015, de: <https://www.epa.gov/sunsafety/uv-index-scale-1>.
- Flores, C., Castro, P., Mario, J., Cotera, F., Bernardo, L., Olivia, R., Cañizares-villanueva, R. (2003). *Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas*. Recuperado el 24 Octubre del 2015 de <http://www.redalyc.org/pdf/339/33908304.pdf>.
- García, F., Jawiarczyk, N., González, C., Fernández, J., & Acién, G. (2012). *Valorización de biomasa de microalgas: Aprovechamiento de proteínas*,

- carbohidratos y lípidos*. Recuperado el 12 de enero del 2016 de: <http://www.ambientalex.info/revistas/vol3n24.pdf>.
- Graham, L.E., Wilcox, L.W. (2000). *Introduction to the Algae*. Nueva Jersey, Estados Unidos: Prentice Hall.
- Grobbelaar, J. U. (2004). *Algal Nutrition – Mineral Nutrition, in Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Recuperado el 28 de octubre del 2015 de: [https://books.google.com.ec/books?id=KdHgq2CbTPwC&pg=PA114&lp g=PA114&dq=Algal+nutrition:+mineral+nutrition.+In:+Richmond+A+\(ed\) .+Handbook+of+microalgal+culture&source=bl&ots=4zNjHwUzfJ&sig=7 UyELqkDRJigLYvVo1zclGAhioY&hl=es&sa=X&ved=0CEgQ6AEwBGo VChMI4lScx6LmyAIVyPAmCh0ewA1F#v=onepage&q=Algal%20nutritio n%3A%20mineral%20nutrition.%20In%3A%20Richmond%20A%20\(ed\) .%20Handbook%20of%20microalgal%20culture&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=KdHgq2CbTPwC&pg=PA114&lp g=PA114&dq=Algal+nutrition:+mineral+nutrition.+In:+Richmond+A+(ed) .+Handbook+of+microalgal+culture&source=bl&ots=4zNjHwUzfJ&sig=7 UyELqkDRJigLYvVo1zclGAhioY&hl=es&sa=X&ved=0CEgQ6AEwBGo VChMI4lScx6LmyAIVyPAmCh0ewA1F#v=onepage&q=Algal%20nutritio n%3A%20mineral%20nutrition.%20In%3A%20Richmond%20A%20(ed) .%20Handbook%20of%20microalgal%20culture&f=false).
- Hammouda, Gaber, O., Abdelraouf, N., (1995). *Microalgae and Wastewater Treatment*. Recuperado el 12 de enero del 2016 de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651385710640>.
- Hanagata, N., Takeuchi, T., Fukuju, Y., Barnes, D. J., & Karube, I. (1992). *Tolerance of microalgae to high CO₂ and high temperature*. Recuperado el 12 de enero del 2016 de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003194229283682O>.
- Hernández, A., & Labbé, J. I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina Y Oceanografía*. Recuperado el 25 Octubre del 2015 de: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-19572014000200001&script=sci_arttext.
- IPCC. (s.f). *Documento técnico III - IPCC*. Recuperado el 15 de Enero del 2015, de: http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/wg1/WG1AR5_SPM_brochure_es.pdf.
- Ji, M.-K., Yun, H.-S., Park, Y.-T., Kabra, A. N., Oh, I.-H., & Choi, J. (2015). *Mixotrophic cultivation of a microalga Scenedesmus obliquus in municipal wastewater supplemented with food wastewater and flue gas CO₂ for biomass production*. Recuperado el 7 de enero del 2016 de:

<http://www.sciencedirect.com.bibliotecavirtual.udla.edu.ec/science/article/pii/S0301479715300888>.

- Khan, S., Hussain, M., Prasad, S. & Banerjee, U. (2009). *Prospects of biodiesel production from microalgae in India*. Recuperado el 29 de diciembre del 2015 de: <http://www.ebrary.com.bibliotecavirtual.udla.edu.ec>.
- Li, Y., Horsman, M., Wu, N., Lan, C. Q. & Dubois-Calero, N. (2008). *Biofuels from Microalgae*. Recuperado el 25 de abril del 2016 de: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1021/bp070371k/full>.
- Liu, B.-H., & Lee, Y.-K. (2000). *Secondary carotenoids formation by the green alga Chlorococcum sp.* Recuperado el 7 de enero del 2016 de: <http://link.springer.com.bibliotecavirtual.udla.edu.ec/article/10.1023/A%3A1008185212724>.
- Malgas. (s.f). *Aplicaciones de las microalgas: Estado de la técnica*. Recuperado el 28 de octubre del 2015 de <http://www.ast-ingenieria.com/guia-malgas-1>.
- Markou, G., y Georgakakis, D. (2011). *Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters*. Recuperado el 12 de enero del 2016 de: https://www.researchgate.net/publication/222094302_Cultivation_of_filamentous_cyanobacteria_blue-green_algae_in_agro-industrial_wastes_and_wastewaters_a_review_Appl_Energ.
- Negoro, M., Shioji, N., Miyamoto, M., Miura, M. (1991). *Growth of microalgae in high CO₂ gas and effects of SO_x and NO_x*. *Applied Biochemistry and Biotechnology* Recuperado el 29 de octubre de 2015 de <http://link.springer.com.bibliotecavirtual.udla.edu.ec/article/10.1007/BF02922657#>.
- Oliva, M., Garduño, G., Vilaclara, G., Ortega, M., García, M., Pliego, A., (2010). *Diatomeas; Bacillariophyceae*. México, D.F., México: Iztacala.
- Ono, E., y Cuello, J. L. (2003). *Selection of optimal microalgae species for CO₂ sequestration*. Recuperado el 12 de enero del 2016 de: http://www.oilgae.com/ref/downloads/Analysis_of_CO2_Capture_Using_Algae.pdf.

- Oyadomari, J. (2011). *A collection of freshwater algae (and protozoans) from the Keweenaw Peninsula, MI*. Recuperado el 10 de enero de 2016 de <http://www.keweenawalgae.mtu.edu/>.
- Park, J., Craggs, R., & Shilton, A. (2011). *Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production*. Recuperado el 28 de octubre del 2015 de: https://www.researchgate.net/publication/45439239_Wastewater_treatment_high_rate_algal_ponds_for_biofuel_production_Bioresour_Technol.
- Pires, J. C. M., Alvim-Ferraz, M. C. M., Martins, F. G., & Simões, M. (2012). *Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: Engineering aspects and biorefinery concept*. Recuperado el 15 de Enero del 2015, de: https://www.researchgate.net/publication/257548194_Carbon_Dioxide_Capture_from_Flue_Gases_Using_Microalgae_Engineering_Aspects_and_Biorefinery_Concept.
- Richmond, A. (2004). *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Recuperado el 18 de noviembre de 2015 de: http://samples.sainsburysebooks.co.uk/9781405172493_sample_380750.pdf.
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J. B., Herdman, M., and Stanier, R. Y. (1979). *Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria*. Recuperado el 18 de noviembre de 2015 de: <http://mic.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/00221287-111-1-1>.
- Serediak, N., & Huynh, M. (2011). *Algae identification field guide an illustrative field guide on identifying common algae found in the Canadian Prairies*. Ottawa: Agriculture and Agri-Food Canada. Recuperado a partir de <http://publications.gc.ca/site/eng/389616/publication.html>.
- Sialve, B., Bernet, N., y Bernard, O. (2009). *Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable*. Recuperado el 18 de noviembre de 2015 de:

- https://hal.inria.fr/hal00854465/file/2009_Sialve_Anaerobic_Digestion_Microalgae_SIALVE_Biotech_Adv.pdf.
- Simon, N., Cras, A., Foulon, E., & Lemée, R. (2009). *Diversity and evolution of marine phytoplankton*. Recuperado el 25 de abril de 2016 <http://aquaparadox.obs-vlfr.fr/html/PFD/2009/SimonEtAlCras09.pdf>.
- Solargis. (s.f). Global Horizontal Irradiation. Recuperado el 25 de abril de 2016 de <http://solargis.info>.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan C., Duran, E., y Isambert. A. (2006). *Commercial Applications of Microalgae*. Recuperado el 05 de noviembre de 2015 de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1389172306705497>.
- UAL. (s.f). *Nutrientes en las microalgas*. Recuperado el 25 de Abril de 2016 de <http://www.ual.es/~jlguil/Investigacion/Composicion.htm>.
- Ugwu CU., Aoyagi H., y Uchiyama, H. (2008). *Photobioreactors for mass cultivation of algae*. Recuperado el 18 de noviembre de 2015 de: <http://wenku.baidu.com/view/ad68a406f12d2af90242e69a.html>.
- UNFCCC. (s.f). *Convención Marco sobre el Cambio Climático*. Recuperado el 25 de abril de 2016 de <http://unfccc.int/resource/docs/2015/cop21/spa/l09s.pdf>.
- U.S DOE. (s.f). *National Algal Biofuels Technology Roadmap*. Recuperado el 05 de noviembre de 2015 de <http://biomass.energy.gov>.
- Wilde, E., y Benemann, J., (1993). *Bioremoval of heavy metals by the use of microalgae*. *Biotechnology Advances*. Recuperado el 29 de octubre de 2015 de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14538057>.
- Zeng, X., Danquah, M., X Dong-Chen, X., y Lu, Y. (2011). *Microalgae bioengineering: From CO2 fixation to biofuel production*. Recuperado el 05 de noviembre de 2015 de http://www.researchgate.net/publication/227421585_Microalgae_bioengineering_From_CO2_fixation_to_biofuel_production.

ANEXOS

6. ANEXOS

Escenario 1 (5% DE CO₂)

Tabla 7. Mediciones diarias de pH en biorreactores con 5% DE CO₂.

DÍA	pH			Promedio
	A	B	C	
1	8,5	8,4	8,4	8,4
2	6,2	6,2	6,1	6,2
3	6,2	6,2	6,1	6,2
4	6,2	6,3	6,1	6,2
5	6,6	6,5	6,2	6,4
8	6,8	6,7	6,5	6,7
9	7,1	6,9	6,9	7,0
10	7,3	7,1	7,0	7,1

Tabla 8. Mediciones diarias de temperatura en biorreactores con 5% de CO₂.

DÍA	Temperatura °C			Promedio
	A	B	C	
1	25,1	23,6	24,2	24,3
2	30,6	31,5	30,9	31,0
3	32,5	32,1	32,7	32,4
4	30,2	31,5	30,8	30,8
5	29,9	30,1	29,6	29,9
8	32,4	31,9	32,5	32,3
9	31,9	31,3	31,1	31,4
10	29,5	30,2	29,7	29,8

Escenario 2 (10% DE CO₂)

Tabla 9. Mediciones diarias de pH en biorreactores con 10% DE CO₂.

DÍA	pH			Promedio
	A	B	C	
1	8,5	8,5	8,4	8,5
2	6	6	5,9	6,0
3	6,2	6,1	6,1	6,1
4	6,5	6,3	6,3	6,4
5	6,4	6,7	6,3	6,5
8	6,5	6,4	6,6	6,5
9	6,9	7	6,9	6,9
10	7,1	7,2	7,2	7,2

Tabla 10. Mediciones diarias de temperatura en biorreactores con 10% de CO₂.

DÍA	Temperatura °C			Promedio
	A	B	C	
1	24,6	23,9	25,3	24,6
2	29,1	30,4	29,7	29,7
3	32,9	31,2	32,3	32,1
4	31,6	30,4	31,9	31,3
5	29,5	30,2	30,5	30,1
8	31,8	32,6	32,8	32,4
9	30,5	31,2	31,7	31,1
10	29,6	30,1	31,6	30,4

Escenario 3 (15% DE CO₂)

Tabla 11. Mediciones diarias de pH en biorreactores con 15% de CO₂.

Día	pH			Promedio
	A	B	C	
1	8,4	8,4	8,4	8,4
2	6,3	6,1	6,1	6,2
3	6	5,9	5,9	5,9
4	6	5,9	5,9	5,9
5	6	6	5,9	6,0
8	6,4	6,5	6,6	6,5
9	7,1	7	6,8	6,9
10	7,2	7,1	7	7,1

Tabla 12. Mediciones diarias de temperatura en biorreactores con 15% de CO₂.

Día	Temperatura °C			Promedio
	A	B	C	
1	25,1	24,3	24,1	24,5
2	30,2	29,5	30,7	30,1
3	29,3	28,7	29,5	29,2
4	31,5	32,1	31,6	31,7
5	29,8	30,2	29,4	29,8
8	31,7	32,1	30,2	31,3
9	29,9	30,4	29,8	30,0
10	30,6	29,6	31,8	30,7