

**DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UN FOTOBIORREACTOR *AIR-LIFT* PARA
LA REMOCIÓN DE NUTRIENTES EN AGUAS RESIDUALES URBANAS CON LA
MICROALGA *Chlorella vulgaris***

ANGIE LEONELA PATIÑO CONDÍA



UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA

INGENIERÍA QUÍMICA

PAMPLONA

2019

**DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UN FOTOBIORREACTOR *AIR-LIFT* PARA
LA REMOCIÓN DE NUTRIENTES EN AGUAS RESIDUALES URBANAS CON LA
MICROALGA *Chlorella vulgaris***

Autor: ANGIE LEONELA PATIÑO CONDIA

Trabajo de grado presentado como requisito

para optar al título de Ingeniera Química

Director del proyecto

Ing Químico. Msc. PhD Jacipt Alexander Ramón Valencia

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

Codirectora del proyecto

Microbióloga Angela Maritza Cajiao Pedraza

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA

INGENIERÍA QUÍMICA

2019

Nota de Aceptación

Jurado

Jurado

Firma Director

Pamplona, _____ de 2019

AGRADECIMIENTOS

A Dios por brindarme la fortaleza, paciencia y sabiduría que necesité durante el desarrollo de este proyecto y en el transcurso de mi carrera. Sin él nada hubiese sido posible.

A mis Padres Leonardo Patiño y Zulma Condía, por su apoyo incondicional, tanto moral como económico, por sus consejos y palabras de ánimo, agradezco la confianza que depositaron en mí y en mis capacidades durante mi academia.

A mis hermanas Ximena y Tatiana Patiño, porque a pesar de la distancia siempre estuvieron presentes, con cada consejo, con palabras de motivación y confianza.

A la profesora Angela Cajiao Pedraza y al profesor Jacipt Ramón Valencia, por dirigirme y guiarme en el desarrollo de esta investigación, por las asesorías acertadas durante el proyecto.

A los docentes del programa de Ingeniería Química y Ciencias Básicas de la Universidad de Pamplona, por todos los conocimientos entregados para mi formación profesional. Por otra parte, a Marlon Joel y Mildred Villareal, estudiantes de Ingeniería Química, por su colaboración en la instalación del proyecto.

A mis amigos, William Aparicio y Miguel Rojas, por brindarme siempre su apoyo y colaboración en el desarrollo de mi proyecto, asimismo, por su amistad durante toda la carrera, cómplices de alegrías, tristezas y traspasadas sin fin.

Finalmente, a los docentes y auxiliares encargados(as) de los laboratorios de control de calidad, cepario y grupo de investigación GIMBIO.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	13
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	15
INTRODUCCIÓN	1
1 OBJETIVOS.....	3
1.1 OBJETIVO GENERAL	3
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
2 MARCO TEÓRICO	4
2.1 ESTADO DEL ARTE.....	4
2.2 AGUAS RESIDUALES.....	8
2.2.1 Agua residual doméstica (ARD).....	8
2.2.2 Agua residual municipal o urbana (ARU).....	9
2.2.3 Agua residual industrial (ARI).....	9
2.2.4 Aguas lluvias.....	9
2.2.5 Aguas residuales agrícolas (ARA).....	10
2.3 TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES	10
2.3.1 Pretratamiento	11
2.3.2 Tratamiento primario.....	12
2.3.3 Tratamiento secundario.....	14
2.3.4 Tratamiento terciario.....	19
2.4 MICROALGAS	23
2.4.1 <i>Chlorella vulgaris</i>	24
2.5 FOTOBIORREACTORES	27
2.5.1 Sistemas abiertos.....	27
2.5.2 Sistemas cerrados.....	27
2.6 MARCO LEGAL	30
3 METODOLOGIA.....	31
3.1 Obtención de las cepas y variables de cultivo.....	33
3.2 Caracterización del agua residual urbana del municipio de Pamplona y adaptación de las cepas al nuevo sustrato.....	35
3.2.1 Sólidos Totales (ST).....	36
3.2.2 Sólidos suspendidos totales (SST)	37

3.2.3	Sólidos suspendidos volátiles (SSV).....	38
3.2.4	Sólidos sedimentables	38
3.2.5	Color.....	38
3.2.6	Turbidez	39
3.2.7	pH.....	39
3.2.8	Alcalinidad	40
3.2.9	Acidez.....	40
3.2.10	Dureza	41
3.2.11	Cloruros.....	41
3.2.12	Demanda química de oxígeno (DQO).....	42
3.2.13	Oxígeno disuelto (OD).....	43
3.2.14	Sulfatos.....	44
3.2.15	Nitratos	44
3.2.16	Fosfatos	45
3.2.17	Inoculación de las cepas para adaptación en agua residual.....	46
3.3	Diseño y construcción del fotobiorreactor <i>air-lift</i>	48
3.3.1	Especificaciones de la geometría	49
3.3.2	Materiales de construcción.....	50
3.3.3	Sistema y control de agitación	51
3.3.4	Parámetros hidrodinámicos del fotobiorreactor <i>air-lift</i>	53
3.4	Puesta en marcha del biorreactor construido.....	56
4	RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	58
4.1	Cinéticas de crecimiento de las cepas <i>Chlorella vulgaris</i> en BBM	58
4.2	Caracterización fisicoquímica del agua residual doméstica.....	62
4.3	Fase de adaptación de las cepas <i>Chlorella vulgaris</i> al nuevo sustrato.....	67
4.3.1	Experimentación 1 de la fase de adaptación	67
4.3.2	Experimentación 2 de la fase de adaptación	70
4.3.3	Evaluación de remoción de nitratos y fosfatos en fase preliminar.....	73
4.4	Especificaciones y caracterización hidrodinámica del fotobiorreactor <i>air-lift</i>	76
4.4.1	Especificaciones del reactor construido	76
4.4.2	Coeficiente de transferencia de masa de oxígeno k_{La}	77
4.4.3	Tiempo de mezcla t_m	79

4.4.4	Retención del gas ϵ	81
4.5	Puesta en marcha del fotobiorreactor construido	83
4.5.1	Inóculos de las cepas 1 y 2 al 20% en el fotobiorreactor construido	83
4.5.2	Inóculos de las cepas 1 y 2 al 30% en el fotobiorreactor construido	88
4.5.3	Evaluación de remoción de nitratos y fosfatos en los tratamientos de 20 y 30% de microalga <i>Chlorella v</i>	91
4.5.4	Características fisicoquímicas del agua residual tratada	93
5	CONCLUSIONES.....	95
6	RECOMENDACIONES	97
7	BIBLIOGRAFÍA.....	99
8	ANEXOS.....	110
8.1	Anexo 1. Principales procesos en tratamientos de aguas residuales.	110
8.2	Anexo 2. Especificaciones del medio Basal Bold.....	111
8.3	Anexo 3. Características típicas de un agua residual doméstica	112
8.4	Anexo 4. Esquema del fotobiorreactor construido.....	113

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tipos de contaminantes presentes en aguas residuales domésticas.....	9
Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos y sus valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales de aguas residuales domésticas.....	30
Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos medidos en la caracterización.....	36
Tabla 4. Relaciones geométricas para biorreactores airlift con circulación interna.	50
Tabla 5. Materiales translucidos y sus características.....	51
Tabla 6. Potencia calculada con un caudal de aire dado.....	52
Tabla 7. Metodología utilizada en la evaluación de remoción de nutrientes en el agua residual.	57
Tabla 8. Parámetros cinéticos de las dos cepas de <i>Chlorella vulgaris</i> en BBM.....	60
Tabla 9. Parámetros fisicoquímicos del agua residual del municipio de Pamplona-Norte de Santander (Muestras 1, 2, 3, 4, 5, 6)..	62
Tabla 10. Parámetros fisicoquímicos del agua residual del municipio de Pamplona-Norte de Santander (Muestras 7, 8, 9, 10, 11, 12).	63
Tabla 11. Valor máximo y mínimo de cada parámetro fisicoquímico del agua residual.	64
Tabla 12. Comparación del anexo 3 con los resultados obtenidos.	66
Tabla 13. Disminución de concentraciones de nitratos y fosfatos con inóculos de 20% de <i>C. vulgaris</i>	74
Tabla 14. Disminución de concentraciones de nitratos y fosfatos con inóculos de 30% de <i>C. vulgaris</i>	75
Tabla 15. Dimensiones del fotobiorreactor.....	76
Tabla 16. Comparación del coeficiente de transferencia de masa volumétrico k_{La}	78
Tabla 17. Comparación de tiempos de mezcla con otros valores reportados en la bibliografía..	80

Tabla 18. Parámetros calculados para determinar la retención del gas.	81
Tabla 19. Comparación de investigaciones realizadas utilizando biorreactores híbridos t.c: tubos concéntricos.	82
Tabla 20. Disminución de concentraciones en los tratamientos con inóculos del 20%.....	91
Tabla 21. Disminución de concentraciones en los tratamientos con inóculos del 30%.....	92
Tabla 22. Comparación ensayos preliminares y ensayos en el reactor.	92
Tabla 23. Parámetros fisicoquímicos del agua residual, antes y después de tratamiento.	93

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del proceso de tratamiento de agua residual.	11
Figura 2. Partes principales en un filtro anaerobio con flujo ascendente.	15
Figura 3. Esquema del proceso con lodos activados.	16
Figura 4. Esquema de un tratamiento de agua residual.	17
Figura 5. Configuraciones de lagunas de estabilización.....	19
Figura 6. Esquema del principio de osmosis inversa.....	22
Figura 7. Planta de osmosis inversa.....	22
Figura 8. Condiciones de cultivo para el crecimiento de <i>Chlorella vulgaris</i>	26
Figura 9. Configuración de reactor air-lift.....	28
Figura 10. Diagrama de proceso del proyecto	32
Figura 11. Cinéticas de crecimiento de las cepas en BBM.....	58
Figura 12. Comportamiento del pH en los cultivos de <i>Chlorella vulgaris</i> en BBM.	60
Figura 13. Aproximación del comportamiento de la luz durante los días de cultivo	62
Figura 14. Comportamiento del oxígeno disuelto en el fotobiorreactor.....	77
Figura 15. Determinación experimental de k_{La}	78
Figura 16. Cinética de crecimiento inóculos 20% en el nuevo sustrato.	67
Figura 17. Comportamiento del pH durante los días de cultivo.	69
Figura 18. Cinéticas de crecimiento en la fase de adaptación concentración de cada cepa 20% 70	
Figura 19. Monitoreo de pH para cada cepa durante el cultivo.	71
Figura 20. Cinéticas de crecimiento para los inóculos del 30% de microalga.	72
Figura 21. Monitoreo del pH en los días de cultivo de los inóculos del 30%.	73
Figura 22. Cinéticas de crecimiento en los inóculos de las cepas 1 y 2 en el fotobiorreactor.....	84

Figura 23. Comportamiento del oxígeno disuelto durante los días de cultivo.	85
Figura 24. Comportamiento del pH durante los días de tratamiento.	86
Figura 25. Comportamiento de la intensidad de luz en Pamplona	87
Figura 26. Cinéticas de crecimientos de las cepas 1 y 2 en el tratamiento del 30% de inóculo..	88
Figura 27. Comportamiento del oxígeno disuelto en los cultivos del 30% de microalga	89
Figura 28. Comportamiento del pH durante los días de tratamiento con los inóculos del 30% ..	90
Figura 29. Comportamiento de la intensidad de luz con los inóculos del 30%	91

INDICE DE ANEXOS

8.1	Anexo 1. Principales procesos operacionales en tratamientos de aguas residuales.....	110
8.2	Anexo 2. Especificaciones del medio Basal Bold.	111
8.3	Anexo 3. Características típicas de un agua residual doméstica.....	112
8.4	Anexo 4. Esquema del fotobiorreactor construido	113

RESUMEN

Las aguas residuales producidas por los diferentes sectores, como: agrícola, industrial, pecuario y doméstico ha generado un gran impacto ambiental debido a que generalmente estas son vertidas en cuerpos de agua naturales. Uno de los impactos ambientales generados debido a este vertimiento es la eutrofización; que es el crecimiento desmedido de algas, debido a la presencia de altas concentraciones de sales.

Por lo anterior, en esta investigación se propuso evaluar dos cepas de la microalga *Chlorella vulgaris* (nativa y UTEX1803) y dos concentraciones de cada una (20 y 30%), para la remoción de nutrientes utilizando aguas residuales del municipio de Pamplona, Norte de Santander; para esto, se realizó evaluación fisicoquímica a un punto de vertimiento de agua residual del municipio de Pamplona y, asimismo, se realizaron los inóculos de las cepas con el fin de adaptarlas al nuevo sustrato.

Por otra parte, se diseñó y se construyó un sistema de cultivo eficiente que permitió la optimización del tratamiento, este sistema consistió en un fotobiorreactor air-lift de tubos concéntricos; se caracterizó hidrodinámicamente al flujo de aire de operación, teniendo como resultados un coeficiente volumétrico de transferencia de masa de O_2 k_{La} de $67,68h^{-1}$, tiempo de mezcla t_m de $5,303 \pm 0,0153$ s y, finalmente, la retención de gas ϵ en el reactor fue de 0,0219.

En la puesta en marcha del biorreactor se determinó su eficiencia, mediante el incremento del crecimiento celular, comparado con los ensayos preliminares, asimismo en la remoción de nutrientes. En los tratamientos con inóculos del 30% se determinó una remoción del 95% de NO_3 y 83,3% de PO_4 para la cepa nativa y para la cepa UTEX 1803 del 92,5 y 91,2% para NO_3 y PO_4 respectivamente. **Palabras clave:** Aguas residuales, tratamiento de aguas residuales, *Chlorella vulgaris*, fotobiorreactor air-lift.

ABSTRACT

The environmental impact generated in natural water ecosystems by the dumping of sewage, from different sectors, such as: agricultural, industrial, livestock and domestic. One of the environmental impacts due to this shedding is eutrophication; It is the excessive algae growth due to the presence of high concentrations of salts. Therefore, in this research it was proposed to evaluate two strains of the microalga *Chlorella vulgaris* (native and UTEX1803) and two concentrations of each (20-30%), for the removal of nutrients using sewage from the municipality of Pamplona, North of Santander; to do this, physico-chemical evaluation was conducted to a point of dumping residual water from the municipality of Pamplona, and likewise, the inoculum strains were made in order to adapt them to the new substrate.

On the other hand, was designed and built a system of efficient cultivation which allowed optimization of treatment, this system consisted of a photobioreactor air-lift of concentric tubes; hydrodynamic characterized the flow of air operation, having as a result a volumetric coefficient of mass of O₂ transfer kLa 67, 68 h⁻¹, mixing time $5,303 \pm 0,0153$ s and, finally, the retention of gas in the reactor ϵ was 0,0219.

Commissioning of the bioreactor was determined its efficiency, through the increase of cell growth, compared with the preliminary tests, also in the removal of nutrients. In the treatments with inocula of 30% was determined a removal of 95% of NO₃ and PO₄ 83.3% for the native strain and strain UTEX 1803 the 92.5 and 91.2% NO₃ and PO₄ respectively.

Key words: Waste water, treatment of waste water, *Chlorella vulgaris*, air-lift photobioreactor.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

La demanda hídrica nacional reportada por el IDEAM para el 2012 alcanzó los 35.987,1 millones de m³, el consumo de agua en los sectores tal como agrícola fue de 16.760,3 millones de m³ (46,6% del total), seguido por el sector industrial con 7.738,6 millones de m³ (21,5% del total), el sector pecuario con 3.049,4 (8,5%) y el sector doméstico con 2.963,4 (8,2%), toda esta agua utilizada resulta siendo agua residual y muy pocas son acondicionadas antes de su vertimiento.

El vertimiento de aguas residuales no tratadas se ha convertido en una gran fuente de contaminación en los ecosistemas hídricos debido a los contenidos de materia orgánica, productos químicos, metales pesados y nutrientes. La acumulación de nutrientes en las fuentes hídricas naturales además de disminuir la calidad del agua es uno de los causantes del deterioro de suelos debido a la eutrofización. La resolución Colombiana 0631 del 2015 establece los parámetros y los valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público.

Por lo anterior, se el uso de microalgas es una buena alternativa para mitigar el impacto ambiental generado por la acumulación de nutrientes en los cuerpos de agua naturales, dado que este tipo de microorganismos tienen la capacidad de bioadsorber nutrientes como nitrógeno y fosforo, por otro lado, los costos de operación son relativamente bajos ya que es accesible mantener las condiciones de cultivo.

INTRODUCCIÓN

Los fotobiorreactores air-lift se han venido empleado en diversas aplicaciones, industrialmente se ha utilizado en procesos que requieren alta transferencia de masa y buen mezclado, como, por ejemplo, para la producción aeróbica de proteínas microbianas, asimismo, se han utilizado en procesos fermentativos, cultivos de células y como sistema de tratamiento de aguas residuales.

El último reporte realizado en Colombia “Estudio Sectorial de los Servicios Públicos domiciliarios de Acueducto y Alcantarillado” presentado a finales del 2017 por la Superintendencia de Servicios Públicos Domiciliarios, establece que, sólo el 48,2% de municipios de los 1122 registrados por el DANE cuentan con algún tipo de planta de tratamiento de aguas residuales.

El vertimiento de aguas residuales a ecosistemas de agua naturales ha generado una problemática ambiental, debido a que afecta la estabilidad de estos ecosistemas, por lo tanto, es importante el acondicionamiento de este tipo de aguas antes de ser vertidas.

Una planta típica de tratamiento de aguas residuales consiste en, primero realizar un pretratamiento; en este se retiran los objetos de gran tamaño que puedan obstruir los tratamientos posteriores, seguido a esto, se hace el tratamiento primario, este consiste en eliminar mediante sedimentación o filtración grasas y los sólidos suspendidos y, finalmente, se hace el tratamiento secundario, en este tratamiento se remueve la materia orgánica y algunos parásitos. Sin embargo, este efluente en la mayoría de los casos, contiene gran cantidad de nutrientes como nitratos y fosfatos, los cuales pueden ser removidos mediante tratamiento biológico utilizando microalgas y

de esta manera, mejorar las condiciones del efluente para que su disposición sea ambientalmente sostenible.

Con el fin de cuidar y preservar un recurso natural tan importante e indispensable como es el agua, se quiere optar por alternativas biotecnológicas como lo es la ficorremediación; que consiste en usar microalgas en la eliminación de nutrientes en aguas residuales. El objetivo de este proyecto es diseñar y construir un fotobiorreactor air-lift de tubos concéntricos como sistema de cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* para brindar un tratamiento biológico al agua residual doméstica del Municipio de Pamplona – Norte de Santander.

1 OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Diseño y construcción de un fotobiorreactor *air-lift* a escala laboratorio como sistema de cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* para la remoción de nitratos y fosfatos utilizando aguas residuales urbanas del municipio de Pamplona-Norte de Santander.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la composición de la carga orgánica y nutrientes por medio de la caracterización fisicoquímica del agua residual urbana utilizando métodos estandarizados.
- Inoculación de las cepas de la microalga *Chlorella vulgaris* al nuevo sustrato (Agua residual urbana) con el fin de adaptarlas al medio.
- Diseñar y construir un prototipo de fotobiorreactor *air-lift* a escala laboratorio a partir de teorías, modelos y criterios de diseño establecidos.
- Evaluar la remoción de nitratos y fosfatos en agua residual mediante el uso de la microalga *Chlorella vulgaris* en el fotobiorreactor construido monitoreando las variables del proceso (Oxígeno disuelto, pH e iluminación).

2 MARCO TEÓRICO

2.1 ESTADO DEL ARTE

El tratamiento de aguas residuales con microalgas se ha estudiado desde hace varios años, en 1989 Pouliot *et al* realizaron experimentos a escala laboratorio para determinar lo factores que influyen en la eficacia en el tratamiento de aguas residuales con cianobacterias, obtuvieron remoción de amoníaco y fosfato de 95 y 62% respectivamente.

En 1995 Craggs *et al*, evaluaron la remoción de nutrientes de dos cepas de microalga marina denominada *Phaeodactylum tricornutum* en un efluente primario de aguas residuales las cuales diluyeron en relación 1:1 con agua de mar estéril, obtuvieron resultados de remoción para la cepa B2 del 70% para amonio y ortofosfato.

Martínez *et al* en el 2000 estudiaron la eliminación de nitrógeno y fosforo con la microalga *Scenedesmus obliquus* cultivada en aguas residuales urbanas las cuales fueron previamente sometidas a tratamiento secundario, asimismo, estudiaron la productividad de la biomasa y su composición bioquímica, las variables que manipularon en los cultivos fue agitación y temperatura. Encontraron un 100% de reducción de amonio, con un tiempo de cultivo de 188,33h, agitado y a 25°C.

En el mismo año Wong *et al*, estudiaron la bioabsorción de níquel por dos especies de *Chlorella*, *C. vulgaris* (comercial) y *C. miniata* (aislamiento local) fueron cultivadas en

soluciones de níquel con concentraciones similares a los efluentes de electrodeposición. Los resultados obtenidos fue que el alga *C. miniata* removió dos veces más Ni^{2+} que *C. vulgaris* (2985.07 y 1282.05 $\mu\text{g/g}$ respectivamente).

En el 2011 Hanumatha-Rao, *et al* aplicaron la técnica de ficorremediación en el tratamiento de aguas residuales provenientes de una fábrica de productos químicos para tratamiento de cuero, ellos aislaron la microalga *Chlorella vulgaris* del mismo efluente e hicieron ensayos a escala laboratorio, piloto y en campo. Los resultados fueron satisfactorios, ya que la microalga demostró tener la capacidad de captar nutrientes en todos los ensayos, sin embargo, tuvo óptimos resultados en campo debido a la luz solar pues tuvo mayor crecimiento.

Reyes *et al* en el 2012, evaluaron la capacidad de remoción de amonio y ortofosfato mediante cultivos de microalgas libres e inmovilizadas, utilizaron un cultivo mixto conseguido del agua residual proveniente del reactor UASB de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa; y dos cultivos de *Chlorella vulgaris* y *Spirulina subsalsa*. Las cepas se cultivaron en agua residual sintética, evaluaron dos concentraciones (alta y baja) de amonio y ortofosfato, para los cultivos inmovilizados utilizaron lufa y polietileno, siendo la lufa la más eficiente para la producción de biomasa microalgal. En bajas concentraciones la microalga *Chlorella vulgaris* obtuvo mejores porcentajes de remoción 50 y 74% para amonio y ortofosfato respectivamente. En altas concentraciones, el cultivo mixto obtuvo el mejor porcentaje de remoción con un 68% para amonio y 76% para ortofosfato. En los cultivos inmovilizados sobre lufa *C. vulgaris* y el cultivo mixto presentaron mayor consumo de nutrientes, del 70 a 99,9%

para amonio y 72 a 89,9% para ortofosfato. Este estudio determina que los sistemas inmovilizados facilitan la cosecha de biomasa microalgal y hace más eficiente el proceso al utilizarlas en la biorremediación de aguas residuales a gran escala.

El proyecto de investigación de Cartagena, C y Malo, O en el 2017 consistió en evaluar la microalga *Chlorella vulgaris* en la remoción de materia orgánica de las aguas residuales provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales “El Salitre” ubicada en Bogotá – Colombia. Realizaron la adaptación de la microalga a dicho sustrato utilizando volúmenes de cultivo del 33 y 50%, posteriormente, evaluaron el crecimiento de la microalga ya adaptada utilizando para cada cultivo 10 y 30% de microalga adaptada. Evaluaron la disminución de materia orgánica (DQO) y otros parámetros fisicoquímicos tales como: sólidos totales, sólidos volátiles, sólidos suspendidos volátiles, pH, turbiedad, alcalinidad y conductividad. Obtuvieron remoción del 81,8 y 89,91% para DQO y sólidos suspendidos totales respectivamente.

Es importante seleccionar un sistema óptimo para el tratamiento del efluente y para el cultivo de los microorganismos, a estos sistemas se les denominan biorreactores y se pueden clasificar en dos grupos principales, sistemas de suspensión y sistemas de inmovilización. Para los cultivos en suspensión se utilizan biorreactores de tanque agitado y columna de aire. Asimismo, los biorreactores de agitación neumática tienen dos tipos principales: biorreactores de elevación por aire (air-lift) y columna de burbujas. Los biorreactores air-lift tienen una serie de ventajas: evita la coalescencia de burbujas, distribuye las tensiones cortantes en todo el reactor y aumenta la tasa de transferencia de masa (Wang, *et al*).

En 1998 Contreras *et al*, cultivaron la microalga *Phaeodactylum tricornutum* en un reactor air-lift de tubos concéntricos, el objetivo de este estudio era determinar la interacción

entre la transferencia de masa de CO₂, la disponibilidad de luz y el estrés hidrodinámico en el crecimiento de la microalga. Determinaron una tasa de crecimiento específica de 0,023 h⁻¹ utilizando una velocidad de gas superficial aproximadamente de 0,055 m/s.

Kahar *et al* en el 2001, evaluaron la producción de ε-Polilisina en un reactor air-lift de 5L usando *Streptomyces albulus*, el objetivo fue minimizar el costo de producción y para esto se comparó la producción en un fermentador de 5L cuya producción de ε-Polilisina es similar a la obtenida por el reactor air-lift, sin embargo, el gasto de energía es de 8kW/m³ y con el reactor se consumió 0,3kW/m³.

En el mismo año, Klein *et al* estudiaron la transferencia de masa en un reactor air-lift en la biotransformación de glucosa en ácido glucónico por *Aspergillus niger*. Utilizaron un reactor de bucle interno cuyo volumen es de 10dm³ y determinaron el efecto del flujo de aire y la concentración de biomasa en el coeficiente volumétrico de transferencia de masa de oxígeno. Obtuvieron una concentración máxima de biomasa de 6,68g/dm³.

El proyecto desarrollado Hernandez, J en el 2007, se trató de caracterizar un fotobiorreactor air-lift para la producción de biomasa de un consorcio microbiano fotosintético, el objetivo principal de esta investigación es implementar la producción de biofertilizantes obtenidos por uso de consorcios microbianos fotosintéticos utilizando como sistema de cultivo un reactor air-lift de cara plana con una capacidad total de 52 L. Obtuvo un coeficiente de transferencia de masa de 17,64 a 18h⁻¹ en rango de flujo de aire de 25 a 30 L/min y pudo concluir que podía producir biomasa capaz de fija nitrógeno en fotobiorreactores de 2L, a partir de un consorcio fotosintético tomando muestras en campos arroceros y posteriormente utilizar este como biofertilizante.

El estudio realizado por Sánchez *et al* en el 2016, caracterizaron un reactor air-lift de circulación interna y posteriormente, llevaron a cabo el tratamiento de agua residual municipal donde disminuyeron la carga orgánica mediante pellets obtenidos por hongos nativos presentes en el grano verde del café.

2.2 AGUAS RESIDUALES

Se determina agua residual al agua que resulta después su uso en los diferentes sectores como agrícola, pecuario, industrial y doméstico; estas llevan residuos físicos, químicos y biológicos, sin embargo, los componentes de cada agua residual varían dependiendo el sector (García, 2012, Lazcano, 2016).

Los nutrientes inorgánicos tales como el nitrógeno y fósforo están contenidos en todas las aguas residuales, el nitrógeno se encuentra en forma de amoníaco, nitritos y nitratos. Por otra parte, el fósforo, se encuentra como ortofosfato. Aguas residuales con altas concentraciones de estos compuestos son vertidas a ríos o fuentes hídricas naturales esto genera problemas ambientales tales como toxicidad a fauna acuática, metamoglobinemia en humanos y eutrofización que es causada por altas concentraciones de nitrógeno y fósforo (Pérez García, 2009).

La cantidad y calidad de las aguas residuales depende uso del agua ya que no todos los seres humanos e industrias generan la misma cantidad de residuos. Por lo tanto, las aguas residuales se clasifican así:

2.2.1 Agua residual doméstica (ARD)

Se caracterizan por ser residuos líquidos de viviendas, zonas residenciales, establecimientos comerciales o instituciones, como se muestra en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Tipos de contaminantes presentes en aguas residuales domésticas (Henze et al, 2001).

Contaminante	Tipo	Efecto
Microorganismos	Patógenos tales como bacterias, virus y huevos de helmito.	Riesgo en actividades acuáticas, baños y consumo de mariscos.
Materia orgánica biodegradable	Disminución de oxígeno disuelto en ríos y lagos.	Mal olor, muerte de peces.
Otro tipo de compuestos orgánicos	Detergentes, plaguicidas, aceites y grasas Solventes, colorantes, cianuro	Efectos tóxicos, inconvenientes estéticos Bio-acumulación en la cadena alimenticia
Nutrientes	Nitrógeno, fósforo, amoníaco	Eutrofización, agotamiento del oxígeno disuelto
Metales	Mercurio, plomo, cadmio, cromo, cobre, níquel	Efectos tóxicos Bio-acumulación en la cadena alimenticia
Otro tipo de compuestos inorgánicos	Ácidos como sulfuro de hidrógeno, hidróxidos	Corrosión, efectos tóxicos

2.2.2 Agua residual municipal o urbana (ARU)

Son los residuos de un conjunto urbano; tiene actividades tales como residenciales, recreativas e industriales y son transportadas por una red de alcantarillado (Fibras y Normas de Colombia S.A.S, 2018).

2.2.3 Agua residual industrial (ARI)

Son procedentes de la actividad industrial, en cuyos procesos de producción, manipulación o transformación utilizan agua, en tareas como transporte, lavado, refrigeración, etc. Los contaminantes más importantes que se encuentran en este tipo de agua son patógenos, microbios, materia orgánica, sustancias químicas y metales pesados (Fibras y Normas de Colombia S.A.S, 2018).

2.2.4 Aguas lluvias

Se generan por la escorrentía superficial de las lluvias que fluyen por techos, calles, jardines, etc. Los primeros flujos de lluvias se pueden establecer como los más contaminados debido al arrastre de basura y demás materiales acumulados en la superficie (Fibras y Normas de Colombia S.A.S, 2018).

2.2.5 Aguas residuales agrícolas (ARA)

Son aguas procedentes de la escorrentía superficial de zonas de rego agrícola, generalmente contienen altas concentraciones de pesticidas, nutrientes y sólidos en suspensión (Fibras y Normas de Colombia S.A.S, 2018).

Por lo anterior, es importante que las aguas residuales antes de ser vertidas a los cuerpos de agua o suelos sean acondicionadas de tal forma que cumplan con los requisitos de calidad establecidos en cada país.

2.3 TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

Existen dos razones principales de acondicionar el agua residual. La primera es el saneamiento del mayor número posible de ciudades y municipios, por lo tanto, surge la necesidad de verter de forma más segura las aguas residuales generadas en los diferentes campos y consigo cumplir con las normas de vertimiento. Generalmente o en la mayoría de las zonas áridas y semiáridas, la mayor cantidad de agua de los ríos, especialmente en la parte baja de la cuenca puede tratarse con aguas residuales (Salgot et al., 2018).

La segunda razón, es la reutilización de aguas residuales, este concepto es relativamente nuevo en algunas partes del mundo, sin embargo, esto se ha practicado de manera empírica por más de 5000 años (Salgot *et al*, 2018).

Los procesos en los que se eliminan los componentes contaminantes del agua residual se hacen mediante tratamientos físicos, químicos y biológicos; estos procesos se realizan utilizando las llamadas plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) en el anexo 1 se

muestra las principales unidades operacionales involucradas en una PTAR. El tratamiento de aguas residuales se hace en diferentes etapas, todo depende del nivel de pureza que se requiera (Fibras y Normas de Colombia S.A.S, 2018). La **Figura 1** muestra una planta típica de tratamiento de aguas residuales.

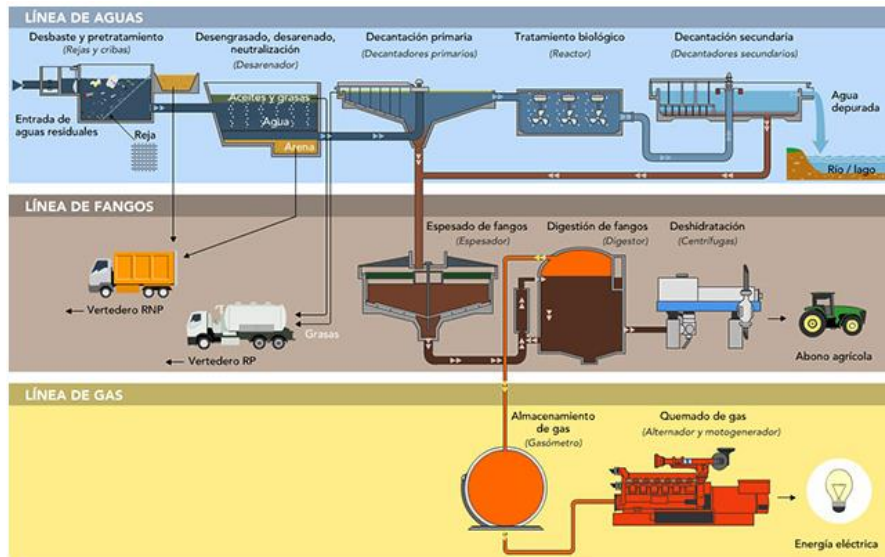


Figura 1. Esquema del proceso de tratamiento de agua residual (INMESOL, 2017).

El tratamiento de aguas residuales se divide en cuatro y se presenta a continuación:

2.3.1 Pretratamiento

Se remueven objetos que puedan obstruir los procesos posteriores en las plantas, este tratamiento y este se hace por medio de cribado (Lazcano Carreño, 2016). Este proceso es mecánico y las aberturas de las rejillas dependerá de la clasificación de la materia sólida, es decir, si son finas o gruesas. Para materia sólida fina, el tamaño de las aberturas es aproximadamente de 5mm o menos y para la materia sólida gruesa tienen aberturas de 4 a 9cm. En esta fase de tratamiento se llegan a eliminar entre un 5 a 25% de sólidos en suspensión (Ramalho, 1996).

2.3.2 Tratamiento primario

Por lo anterior, es necesario conseguir una mayor eficiencia en la eliminación de sólidos; en el tratamiento primario se eliminan los sólidos suspendidos y grasas que estén presentes, los procesos fundamentales que se utilizan en esta etapa son sedimentación, floculación y neutralización.

2.3.2.1 Sedimentación

La sedimentación se fundamenta en la diferencia de peso entre partículas sólidas y el líquido en el que se encuentran. Este proceso se puede dar en varias fases del tratamiento, por ejemplo, en una típica planta de lodos activos, la sedimentación se da en tres fases del tratamiento: 1) Desarenadores encargados de retirar la materia inorgánica (arena) del agua residual; 2) Clarificadores o sedimentadores primarios, estos se encargan de retirar los sólidos orgánicos y encuentran antes del reactor biológico; 3) por último, se encuentran los clarificadores o sedimentadores secundarios, en esta fase los lodos del tratamiento biológico se separan del efluente tratado (Ramalho, 1996).

Existen tres tipos de sedimentación para el tratamiento de agua residual y se escoge el tipo de mecanismo dependiendo los sólidos en suspensión presentes en el afluente.

- **Sedimentación discreta:**

Las partículas en suspensión se precipitan sin cambiar su forma, tamaño y peso específico durante el descenso en el fluido (Pérez, 1981). Por ejemplo, la deposición de la materia inorgánica en los desarenadores (Ramalho, 1996).

- **Sedimentación con floculación:**

Las partículas en suspensión son aglomeradas y con esto su densidad, forma, tamaño y la velocidad de sedimentación cambian. Este proceso se logra en un sedimentador o decantador primario (Pérez, 1981).

- **Sedimentación por zonas:**

Esta se da en la sedimentación de lodos en los sedimentadores secundarios. En este proceso, las partículas se sedimentan como una masa total y se presenta una interfase distinta con la fase líquida (Ramalho, 1996).

2.3.2.2 Neutralización

La neutralización que es otro proceso utilizado en el tratamiento primario, normalmente se utiliza en los siguientes casos:

- 1) Antes de la descarga de aguas residuales en un medio receptor, se justifica en no afectar la vida acuática ya que es muy sensible a variaciones de pH fuera de un rango cercano a 7 (Ramalho, 1996).
- 2) Antes de descargar aguas residuales industriales al alcantarillado municipal. En este caso es mejor hacer una neutralización a este tipo de aguas antes de ser combinadas ya que es menor el volumen (Ramalho, 1996).
- 3) Por último, se debe hacer una neutralización antes de hacer un tratamiento químico o biológico. Para asegurar una actividad biológica eficiente, el pH se debe mantener en un rango de 6.5 a 8.5. Los procesos biológicos durante su desarrollo pueden conseguir una neutralización debido a la producción de CO_2 y con esto la formación de carbonatos y bicarbonatos en el medio, sin embargo, en la mayoría de veces se debe hacer una pre-neutralización antes del proceso

biológico, esto depende de la acidez o alcalinidad del afluente o de la concentración de DBO que se debe eliminar (Ramalho, 1996).

2.3.3 Tratamiento secundario

Esta etapa generalmente se da mediante procesos biológicos; este tratamiento se encarga de remover la materia orgánica y los sólidos suspendidos sobrantes de los tratamientos anteriores. Los procesos biológicos usualmente utilizados son filtros anaerobios, lodos activados y lagunas de oxidación; sin embargo, también existen tratamientos químicos tales como coagulación y desinfección (Lazcano Carreño, 2016).

2.3.3.1 Filtro anaerobio de flujo ascendente (FAFA)

Los filtros anaerobios datan de los años sesenta y actualmente son una alternativa de tratamiento de aguas residuales tanto industriales como municipales. Los FAFA es un sistema de tratamiento de aguas residuales con biopelícula fija para la eliminación de materia orgánica en condiciones anaerobias (Comisión nacional del agua, 2009).

Los procesos anaerobios con biopelícula fija tienen la ventaja de optimizar el consumo de energía sin que la eficiencia del tratamiento secundario se vea afectada, por otra parte, bajo condiciones específicas se puede aprovechar el biogás resultante del proceso. La diferencia principal entre los filtros anaerobios es el tipo de empaque y por el grado de expansión del lecho filtrante, los empaques más comunes son: plástico corrugado transversal al flujo, módulos tubulares y anillos plásticos. Para el tratamiento de aguas residuales domésticas, generalmente se utilizan empaques tubulares operados a 37°C y el afluente a tratar debe contener cargas orgánicas volumétricas de 0,2 a 0,7 Kg/m³ d, la eficiencia del proceso tendría una remoción del 90 a 96% de DQO. Los procesos anaerobios por lo general requieren de un postratamiento para cumplir con los

requerimientos de calidad. A continuación, en la **Figura 2** se muestra las partes principales de un FAFA.

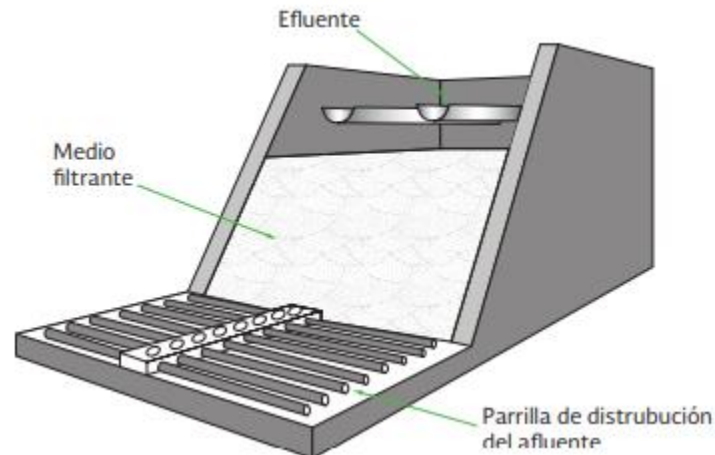


Figura 2. Partes principales en un filtro anaerobio con flujo ascendente (Comisión nacional del agua, 2009).

2.3.3.2 Lodos activados

Este tratamiento se ha utilizado en gran medida por aproximadamente medio siglo, hasta el principio de la década de los 60 se empezó a desarrollar de manera más racional el diseño de sistemas de lodos activados, antes de esta década se hacía de manera empírica. El proceso se originó por la observación durante la aireación de aguas residuales independientemente el origen (industriales o domésticas), estas se airean durante lapso de tiempo, de esta manera se observa la reducción de materia orgánica y, por otro lado, se observó la formación de un lodo flocculante. El lodo formado está conformado por una población heterogénea de microorganismos tales como bacterias unicelulares, hongos, algas, protozoos y rotíferos. De estos microorganismos mencionados anteriormente, las bacterias son las más importantes, ya que estas están involucradas en todos los tipos de procesos de tratamiento biológico (Ramalho, 1983).

Este proceso se da en dos fases separadas; aireación y separación de lodos; la aireación se puede dar mediante agitación de la superficie o mediante difusores que usan aire comprimido y esta tiene dos funciones, la primera, es para suministrar oxígeno a los microorganismos aeróbicos que están en el reactor y la segunda es para mantener los flóculos microbianos en suspensión continua para asegurar el contacto de los microorganismos con el agua residual. Después de esta etapa, la mezcla de aguas residuales con lodos se lleva a un tanque de sedimentación, donde la biomasa se asienta y queda el efluente clarificado. En el proceso de lodos activados convencional, se produce entre 0,5 y 0,8 Kg en peso seco de lodo/Kg de DBO₅ eliminado, en este tratamiento la mayor parte de lodos es recirculado al tanque de aireación (Scholz, 2006).

Dicho proceso es el más utilizado a nivel mundial y generalmente es usado cuando se requiere una alta calidad de efluente y el espacio disponible en la planta es limitado. Sin embargo, este tipo de tratamiento comparado con lagunas de oxidación requieren mayor cantidad de equipamiento asociado al tratamiento, la operación es más rigurosa y tiene mayor consumo de energía (Taersa, 2018). En la **Figura 3** se muestra un esquema del tratamiento con lodos activados.

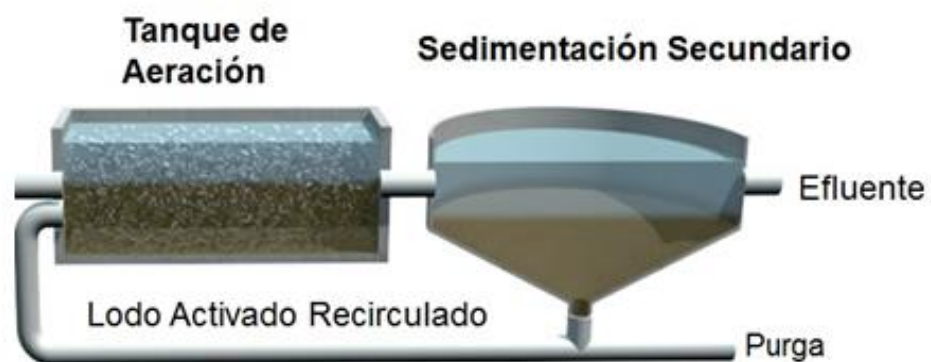


Figura 3. Esquema del proceso con lodos activados (Taersa, 2018).

Por otra parte, el proceso de lodos activados suele ser en algunos tratamientos la etapa que precede los filtros anaerobios, en este caso el proceso de lodos activados es también conocido como pulido ya que dicho proceso anaerobio no alcanza a cumplir los requerimientos. Este tipo de configuraciones tienen la ventaja de consumir menos energía en comparación cuando sólo se utiliza el tratamiento de lodos activados, asimismo, disminuye la generación de lodos y aumenta la calidad del efluente (Comisión nacional del agua, 2009). En la **Figura 4** se muestra una red de tratamiento de aguas residuales.

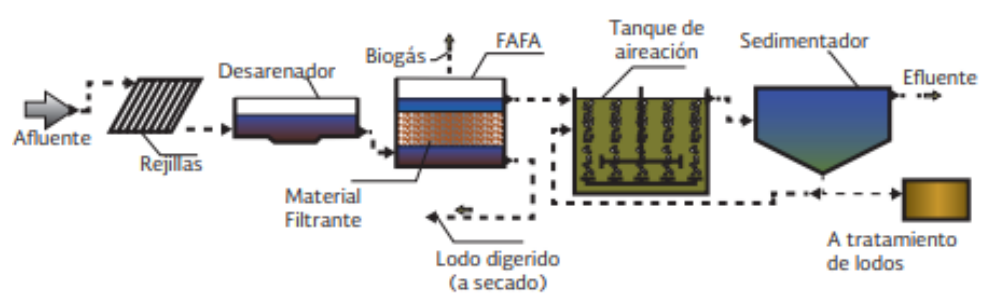


Figura 4. Esquema de un tratamiento de agua residual utilizando filtro anaerobio y posteriormente lodos activados (Comisión nacional del agua, 2009).

2.3.3.3 Lagunas de oxidación

El uso de lagunas de oxidación o lagunas de estabilización se facilita donde el costo de oportunidad, es decir, el costo de tierra sea bajo, por otra parte, hay que tener en cuenta otro parámetro muy importante y es la geología kárstica ya que este tipo de suelos son altamente permeables y el almacenamiento del agua residual será complicado (Pescod, 1988).

Este tipo de lagunas se utilizan para tratar aguas residuales orgánicas, sin embargo, este término es general ya que existen tipos de lagunas que tienen un fin específico, se diferencian por la forma del estanque y también dependiendo las condiciones del afluente a tratar. Existen tres

tipos de lagunas de oxidación; lagunas anaerobias, estanques facultativos, lagunas de maduración (Pescod, 1988).

2.3.3.4 Lagunas anaerobias

Este tipo de estanques trata aguas residuales orgánicas fuertes y carecen de oxígeno debido a la alta carga orgánica aplicada (Pescod, 1988).

2.3.3.5 Lagunas facultativas

Estos manejan efluentes con cargas orgánicas más bajas y el oxígeno disuelto permanece durante todo el día debido principalmente a la presencia de algas (Pescod, 1988).

2.3.3.6 Lagunas de maduración

Son estanques aireados básicamente son unidades de lodos activados sin recirculación de lodos y trabajan con niveles bajos de microorganismos y materia en suspensión no biodegradable (MLSS 200-500 mg/L) los tiempos de retención en esta operación son relativamente largos. Estos estanques son usados como proceso de pulido seguido de los estanques facultativos como tratamiento de afluentes que contienen materia fecal, teniendo como función principal la eliminación de patógenos (Pescod,1988).

Existen configuraciones de las lagunas anteriormente mencionadas que van hasta de tres etapas en serie, la configuración dependerá de la resistencia orgánica de los residuos de entrada y los objetivos de calidad del efluente, sin embargo, al menos dos trenes de estanques en paralelo están involucrados en cualquier diseño. En la **Figura 5** se presentan las típicas configuraciones de sistemas de lagunas (Pescod,1988).

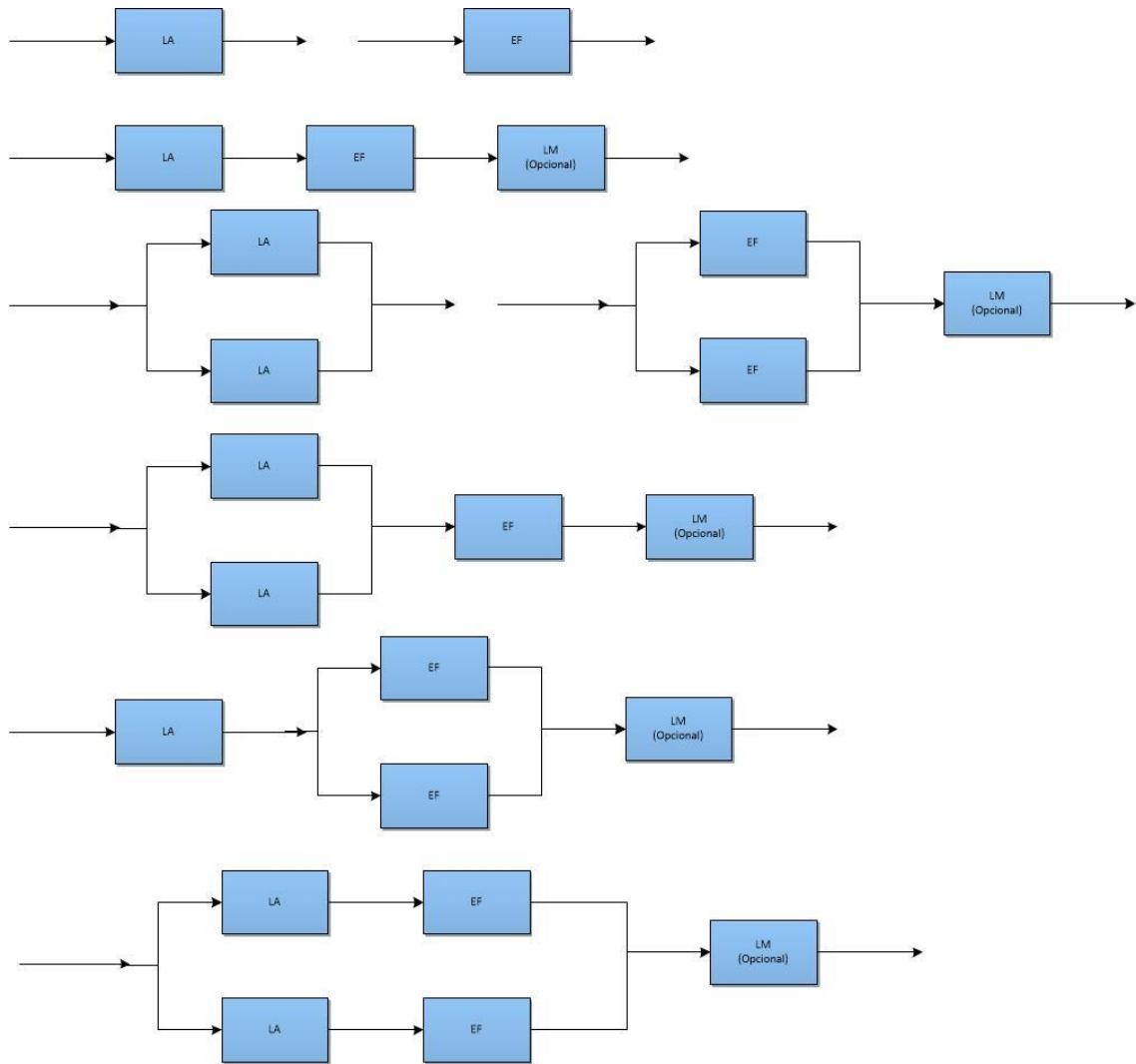


Figura 5. Configuraciones de lagunas de estabilización. LA: Laguna anaerobia, EF: Estanque facultativo, LM: Laguna de maduración (Pescod,1988).

2.3.4 Tratamiento terciario

Son procesos del tratamiento diseñados para lograr una mayor calidad del efluente, su objetivo es eliminar o disminuir la concentración de: nutrientes, DQO, patógenos, parásitos y algunas sustancias químicas, mediante procesos químicos, fisicoquímicos y biológicos (Lazcano Carreño, 2016). A continuación, se describen algunos procesos usados en este tratamiento.

2.3.4.1 Adsorción con carbón activado

Este proceso es utilizado en tratamientos terciarios de aguas residuales con el fin de eliminar sabores y olores que son causados por los contaminantes (Ramalho, 1983) por otra parte, este proceso también se ha utilizado para proporcionar tratamiento terciario a los afluentes tratados biológicamente, sin embargo, la experiencia adquirida en plantas de carbón activado aseguran que este proceso no se debe limitar a ser una etapa de pulido, sino que además puede utilizarse como tratamiento biológico ya que existe la degradación biológica de los materiales adsorbidos y esto mejora de manera significativa el rendimiento del tratamiento. El carbón activado tiene la capacidad de adsorber grandes cantidades de materiales disueltos debido a su estructura altamente porosa y su gran área superficial, sin embargo, para que el tratamiento tenga óptimos resultados, el afluente a tratar debe tener 50mg/L o menos de sólidos en suspensión (Cheremisinoff, 1995).

2.3.4.2 Intercambio iónico

Este proceso junto con la adsorción con carbón activado son procesos fisicoquímicos; cuyo objetivo es desmineralizar el afluente mediante el intercambio iónico, este proceso consiste en eliminar cationes o aniones al intercambiarlos con cationes o aniones, respectivamente (Cheremisinoff, 1995).

Las zeolitas naturales eran las únicas resinas de intercambio iónico hasta la década de 1940, por lo tanto, el uso de este proceso se limitó porque no era viable económicamente debido a que la capacidad de intercambio era baja. Desde entonces, este tipo de zeolitas fueron reemplazadas por resinas sintéticas como el estireno y divinilbenceno (DVB) (Ramalho, 1983). Esta operación se realiza mediante camas de intercambiador de iones, este proceso es muy similar al de carbón activado y una de sus ventajas es que, dado que el intercambio iónico es reversible, el intercambiador de iones se puede renovar utilizando un ácido, una solución de salmuera o un álcali.

Para la disposición de los residuos generados en el tratamiento estos requieren de un tratamiento previo (Cheremisinoff, 1995).

2.3.4.3 Osmosis inversa

Los primeros experimentos precisos fueron realizados por Friedrich Philipp Pfeffer a finales del siglo XIX donde relaciona la presión osmótica con la temperatura y la concentración de solutos. En ese tiempo, las membranas semipermeables utilizadas para este proceso eran membranas de animales, pero luego se desarrollaron membranas sintéticas como lo es la membrana de acetato de celulosa siendo esta la más utilizada para esta operación (Ramalho, 1983).

El dicho proceso depende del fenómeno de la ósmosis, cuyo objetivo es restringir el paso de materiales solubles mediante una membrana semipermeable y permitir el paso del agua limpia, este movimiento se produce debido a la presión osmótica ejercida por los materiales solubles. La presión osmótica es directamente proporcional a la concentración de la solución y a la temperatura absoluta, para obtener un rendimiento significativo en el uso de este proceso con agua salada, se tiene que operar a presiones de 50 a 100 bar para que el agua desalada pase y deje la salmuera concentrada, estas presiones son superiores a la presión osmótica del agua de mar (24 bar) (Tebbutt, 1998). En la **Figura 6** se muestra un esquema de la investigación de Friedrich Philipp Pfeffer y en la **Figura 7** se muestra un esquema de una planta de osmosis inversa.

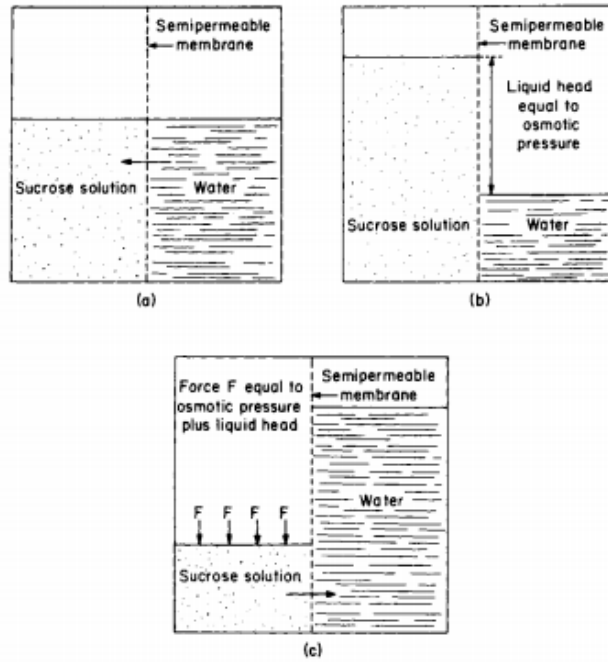


Figura 6. Esquema del principio de osmosis inversa (Ramalho, 1983).

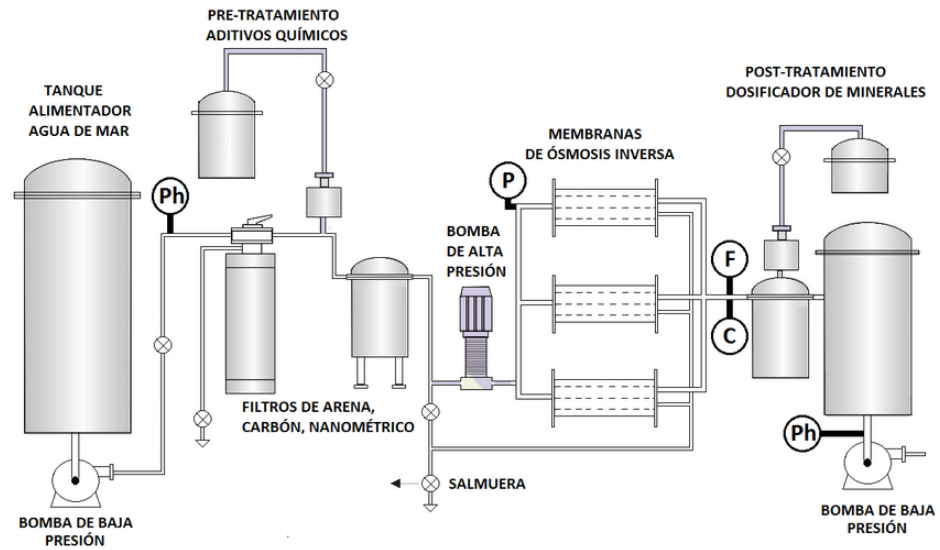


Figura 7. Planta de osmosis inversa (Pérez, G y Sotomayor, J., 2014).

2.3.4.4 Ficorremediación

Esta técnica biotecnológica usa las macroalgas y microalgas para eliminar o biotransformar contaminantes presentes en aguas residuales como tratamiento biológico terciario, tiene ventajas por ser económica y amigable con el ambiente. La ficorremediación ha tenido gran aplicación en remoción de nutrientes en aguas residuales con altos contenidos de materia orgánica, tratamiento de aguas residuales ácidas y con metales, retención de dióxido de carbono (CO₂) y en la transformación y degradación de xenobióticos (Olguín, 2003).

Las especies de microalgas más utilizadas para las biorremediación en aguas residuales son de los géneros *Chlorella*, *Spirulina*, *Scenedesmus*, *Chlamydomonas* y *Botryococcus* ((Hoh, 2016), (Sun, 2017)) debido a su fácil adaptación al medio. Realizar tratamiento biológico terciario con microalgas resulta muy ventajoso ya que además de ser una técnica amigable con el ambiente y no tener costos elevados de operación, la biomasa resultante del proceso puede resultar provechosa para la producción de biocombustibles (Gani, 2017).

2.4 MICROALGAS

Estos organismos son autótrofos unicelulares, varían en su fisiología y morfología y estas habitan en ambientes acuáticos en todos los ecosistemas del planeta. Las microalgas representan un sistema eficiente en la conversión de la energía lumínica, utilización de nutrientes tales como nitrógeno, fósforo y potasio y su producción de biomasa es utilizada en diferentes áreas de la industria (Acurio et al., 2015). Las microalgas que están siendo cultivadas con fines comerciales y por su potencial económico están definidas por dos especies; *Cyanobacterias* y *Chlorophytas* (Pérez, 2009).

En los últimos 60 años, esta alternativa biotecnológica de las microalgas ha tenido diversas aplicaciones pues producir desmedidamente su biomasa sirve para fines tales como: la nutrición humana y animal, acondicionamiento de suelos agrícolas, tratamiento de aguas residuales, elaboración de fármacos y cosméticos y por último producción de biocombustibles de tercera generación (Masojídek, 2014).

2.4.1 *Chlorella vulgaris*

Esta microalga del reino protista pertenece al grupo de las microalgas *Chlorophytas* también conocidas como algas verdes. El género *Chlorella spp* tienen la capacidad de realizar fotosíntesis, producir azúcares a partir de dióxido de carbono y luz solar como fuente de energía; este género está conformado por alrededor de diez especies; son células de que miden aproximadamente 2 a 12 μm , tienen forma ovoidal (Sandoval, 2013).

De las microalgas *Chlorophytas* el género *Chlorella spp* son de las más estudiadas debido a su alto contenido en grasas y proteínas, son de fácil adaptación al entorno en donde se encuentren, esto resulta provechoso para el tratamiento de efluentes; así como remoción de nutrientes y metales pesados. Su reproducción es asexual, en el interior de la célula madre se forman de a cuatro u ocho células (autoesporas) idénticas a ella, las células son liberadas por eclosión de la célula madre, transformándose en nuevas *Chlorellas* (Acurio et al., 2015). En la **Imagen 1** se muestra la morfología de la microalga *Chlorella vulgaris*,

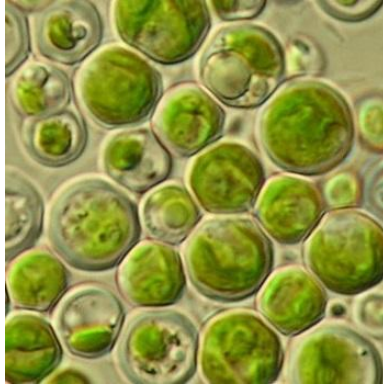


Imagen 1. Microalga *Chlorella vulgaris* disponible en internet.

<https://algaeresearchsupply.com/products/algae-culture-chlorella-vulgaris>

Condiciones de cultivo para el crecimiento de *Chlorella vulgaris*

Es importante establecer las condiciones óptimas de crecimiento de la microalga, debido a que el rendimiento de un mismo género de microalgas puede ser diferente por su lugar de origen y las condiciones ambientales en las que la microalga se desarrolle (Benavente *et al.*, 2012).

En la **Figura 8** se encuentran las condiciones de cultivo y los valores óptimos para un buen crecimiento microalgal.

pH	Este factor en la mayoría de microalgas está entre 7 y 8, sin embargo, los valores de pH óptimos están entre 6 a 7.
	Esta variable se mantiene mediante la aireación, por inyección controlada de CO ₂ o también por la adición de ácidos o bases.
Fotoperiodo	Este es un parametro principal para el crecimiento de microalgas, cuando hay limitación de nutrientes, la fotosíntesis aumenta con la intensidad luminica hasta que la microalga alcanza su máxima tasa de crecimiento.
	El rango óptimo de luz para <i>Chlorella vulgaris</i> está entre 650 - 22.200 lux, por lo tanto, si se excede de este rango, resulta perjudicial para la productividad ya que se genera fotoinhibición.
Agitación	La agitación se da de forma neumática con el fin de facilitar el transporte, evitar que la microalga se adiera a las paredes o se sedimente.
	Un flujo de aire para una buena agitación en el cultivo es de $5,7 \times 10^{-7}$ m ³ /s (López et al., 2010).

Temperatura	El crecimiento microalga tiene un rango de temperatura óptima de 28 - 35°C. Si el valor excede de este rango, se da la fotorrespiración y esta disminuye la productividad, por otra parte, la temperatura también puede alterar el coeficiente de velocidad de reacciones biosintéticas.
Nutrientes	Para el crecimiento microalgal, se deben proporcionar elementos tales como carbono, oxígeno, potasio, nitrógeno, calcio, magnesio, hierro, azufre, fosforo, entre otros. Los nutrientes como nitrógeno, fosforo y potasio son adicionados por el medio de cultivo; el carbono, oxígeno e hidrógeno se adquieren por medio de la aireación.
Escalamiento	Las variables anteriormente mencionadas están ligadas a el escalamiento del cultivo ya que de ellas depende el crecimiento celular; la temperatura, pH, luz y nutrientes son factores que se deben mantener constantes en el escalamiento, sin embargo, la agitación necesitará de más potencia mientras más grande sea el cultivo.

Figura 8. Condiciones de cultivo para el crecimiento de *Chlorella vulgaris*. Fuente (Cartagena, C; Malo, O., 2017 y Arias, 2015).

Es importante controlar y monitorear las condiciones de cultivo anteriormente mencionadas para que el crecimiento de la microalga sea satisfactorio, sin embargo, también es de gran importancia seleccionar el sistema donde se va a realizar el cultivo, estos sistemas son denominados fotobiorreactores y existe gran variedad de estos.

Se debe considerar la selección, diseño y construcción de un fotobiorreactor con un efectivo suministro de luz y CO₂ para que la remoción de oxígeno generada fotosintéticamente sea eficiente ya que este puede inhibir el metabolismo celular o dañar el cultivo, una tecnología razonable para amplificarlo (escalamiento), el control de temperatura, mezclado y pH debe ser efectivo (Ramírez *et al.*, 2013).

2.5 FOTOBIORREACTORES

Es importante tener control de las condiciones de cultivo anteriormente mencionadas para que el proceso de la microalga sea satisfactorio, sin embargo, también es de gran importancia seleccionar el sistema donde se va a realizar el cultivo de la microalga, estos sistemas son denominados fotobiorreactores y los más comunes se pueden clasificar por ser abiertos o cerrados.

2.5.1 Sistemas abiertos

En ese tipo de sistemas se encuentran estanques naturales como lagos y lagunas o estanques y contenedores artificiales. Las ventajas de estos sistemas es que su construcción y operación es relativamente sencilla y no necesita de grandes inversiones, sin embargo, es un sistema muy limitado ya que la productividad y eficiencia son bajas ya que no hay control en las condiciones de cultivo, hay muy poca utilización de luz, la posibilidad de contaminación en el cultivo es muy alta y la transferencia de masa es baja debido al ineficiente sistema de agitación (Ugwu *et al*, 2008).

2.5.2 Sistemas cerrados

Este tipo de biorreactores a diferencia de los sistemas abiertos tiene mejor control en sus condiciones de cultivo, la contaminación se puede prevenir de manera sencilla y esto lleva a tener mayores productividades de biomasa. Los tipos de fotobiorreactores más usados para el cultivo de microalgas son columnas de burbujeo, pared plana, tubulares y fotobiorreactores air-lift (Ugwu *et al.*, 2008).

Para su selección, se debe considerar el diseño de un fotobiorreactor con un efectivo suministro de luz y CO₂ para que la remoción de oxígeno generada fotosintéticamente sea eficiente

ya que este puede inhibir el metabolismo celular o dañar el cultivo, una tecnología razonable para amplificarlo (escalamiento), el control de temperatura, mezclado y pH debe ser efectivo (Ramírez *et al.*, 2013); asimismo, para los materiales de construcción se debe tener en cuenta, durabilidad, resistencia, estabilidad química y alta transparencia (López *et al.*, 2010).

2.5.2.1 Fotobiorreactor *air-lift*

Este tipo de reactores están comprendidos en bifásicos (gas-líquido) y trifásicos (gas-líquido-sólido), el líquido contenido se agita neumáticamente mediante una corriente de aire. Los reactores *air-lift* cuentan con cuatro zonas importantes; una denominada riser, en esta zona asciende el flujo de gas, otra zona es el downcomer o zona descendente ahí no hay burbujeo. Los dos canales están conectados por la parte superior e inferior para formar un ciclo cerrado. Hay tres configuraciones principales en este tipo de reactor y se muestran en la **Figura 9** (Merchuk *et al.*, 2002).

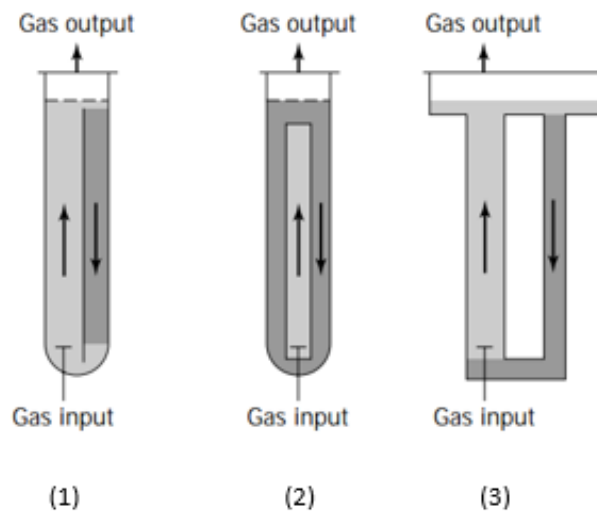


Figura 9. Configuración de reactor air-lift: (1) es un reactor air-lift con división interna, (2) air-lift de tubos concéntricos y la (3) air-lift de bucle externo. Fuente (Merchuk *et al.*, 2002).

Los reactores air-lift se han utilizado ampliamente en industrias biotecnológicas, químicas y en tratamiento de agua debido a su fácil construcción, bajo consumo de energía, alta eficiencia, mejor mezcla y la transferencia de masa es relativamente alta (Luo *et al.*, 2011).

2.6 MARCO LEGAL

La resolución Colombiana 631 del 2015, capítulo V, establece los parámetros fisicoquímicos y sus valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales de aguas residuales domésticas, (ARD) y de las aguas residuales (ARD – ARND) de los prestadores del servicio público de alcantarillado a cuerpos de aguas superficiales. Los parámetros se encuentran en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos y sus valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales de aguas residuales domésticas.

PARÁMETRO	UNIDADES	AGUAS RESIDUALES DOMESTICAS - ARD DE LAS SOLUCIONES INDIVIDUALES DE SANEAMIENTO DE VIVIENDAS UNIFAMILIARES O BIFAMILIARES	AGUAS REDISUALES DOMÉSTIAS - ARD Y DE LAS AGUAS RESIDUALES (ARD - ARnD) DE LOS PRESTADORES DEL SERVICIO PÚBLICO DE ALCANTARILLADO A CUERPOS DE AGUAS SUPERFICIALES, CON UNA CARGA MENOR O IGUAL A 625 Kg/día DBO5
Generales			
pH	Unidades de pH	6 a 9	6 a 9
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg/L O2	200	180
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5)	mg/L O2	100	90
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	mg/L	5	90
Sólidos Sedimentables (SSED)	mg/L	20	5
Grasas y aceites	mg/L		20
Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM)	mg/L		Análisis y Reporte
Hidrocarburos			
Hidrocarburos Totales (HTP)	mg/L		Análisis y Reporte
Compuestos de Fósforo			
Ortofosfatos (P-PO ₄)	mg/L		Análisis y Reporte
Fósforo total (P)	mg/L		Análisis y Reporte
Compuestos de Nitrógeno			
Nitratos (N-NO ₃)	mg/L		Análisis y Reporte
Nitritos (N-NO ₂)	mg/L		Análisis y Reporte
Nitrógeno Amoniacal (N-NH ₃)	mg/L		Análisis y Reporte

(Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2015)

3 METODOLOGIA

El desarrollo de este proyecto se da en cinco etapas principales **Figura 10**:

- La primera se centra en realizar una revisión bibliográfica mediante artículos científicos, libros y proyectos de grado; esto con el fin de investigar: los medios y condiciones de cultivo para el óptimo crecimiento de las cepas, los tipos de fotobiorreactores recomendables para el cultivo de microalgas y para el tratamiento de afluentes y, por último, los parámetros a tener en cuenta en su construcción.
- La segunda etapa consistió en la obtención de las dos cepas de la microalga *Chlorella vulgaris*, las cuales se cultivaron en el medio Basal Bold (BBM) (anexo 2).
- En la tercera etapa se hizo el diseño y la construcción del fotobiorreactor *air-lift* de tubos concéntricos a partir de ecuaciones y heurísticas de diseño establecidos.
- La cuarta etapa consistió en dos fases, la primera fue la caracterización fisicoquímica del agua residual doméstica proveniente del municipio de Pamplona-Norte de Santander y en la segunda se realizó la adaptación de las cepas al nuevo sustrato.
- Por último, en la quinta etapa, se realizó la puesta en marcha del fotobiorreactor construido en el cual se evaluaron dos concentraciones de inóculo de cada cepa para la remoción de nitratos y fosfatos del agua residual del municipio de Pamplona-Norte de Santander.

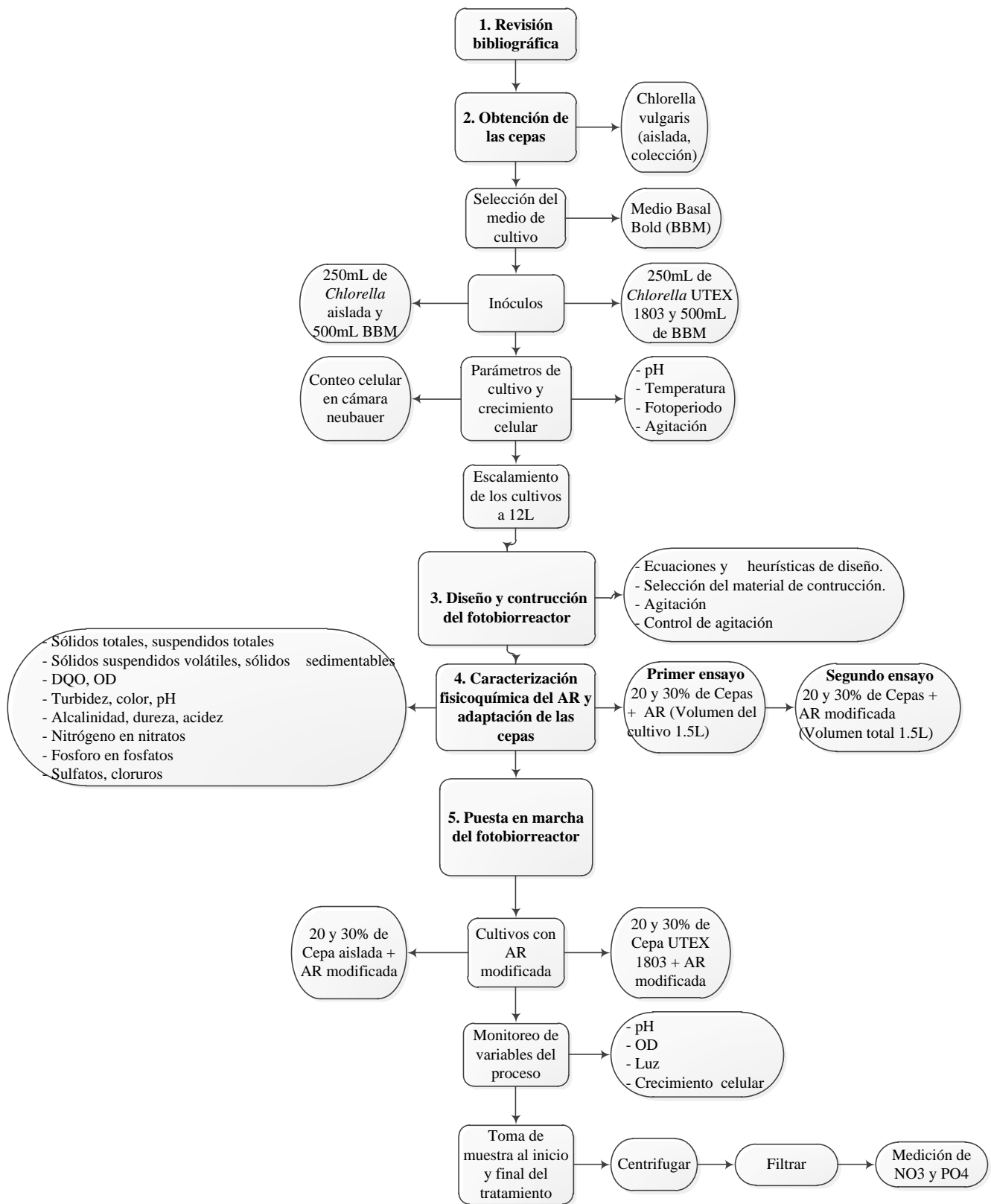


Figura 10. Diagrama de proceso del proyecto (Fuente autor).

3.1 Obtención de las cepas y variables de cultivo

En esta investigación se trabajó con dos cepas de *Chlorella vulgaris*, la primera fue una cepa nativa; obtenida por estudiantes de Biotecnología de la Universidad de Pamplona en la Laguna Comagüeta ubicada en el municipio de Chitagá-Norte de Santander y la segunda cepa, UTEX 1803, es de colección y fue adquirida por el laboratorio GAIA de la Universidad de Santander.

Como medio de cultivo para ambas cepas, se utilizó medio Basal Bold (BBM), los componentes del anterior medio, se encuentran en el anexo 2.

Para cumplir con los objetivos del proyecto era necesario tener suficiente cantidad de cultivo de cada cepa, por lo tanto, los cultivos se escalaron desde un volumen de 500mL hasta obtener 12 L de cada uno y para esto se utilizó una relación inóculo y medio (BBM) de 1:2.

Las condiciones de cultivo como temperatura y fotoperiodos fueron ambiente; la temperatura promedio del municipio de Pamplona es de 16°C (<http://pamplona-nortedesantander.gov.co/MiMunicipio/Paginas/Informacion-del-Municipio.aspx>, 10/03/19), y la intensidad lumínica se monitoreó con un luxómetro durante los 13 días de cultivo y esta estuvo en un promedio de $657,6153 \pm 511,0391$ lux. Por otra parte, la agitación se realizó mediante compresores de pecera con un flujo de aire de 2,5 L/min para los cultivos hasta de 2L, posteriormente, cuando se obtuvieron 12L de cada cepa (dos galones de 6L cada uno) se trabajó con compresores de 5,5 L/min. Además, otra variable muy importante del cultivo es el pH, el cual se monitoreó durante los días de cultivo mediante un multiparámetro HACH HQ 30d (flexi). Las imágenes 2 a la imagen 6 muestran el escalamiento de los cultivos en medio Bold.



Imagen 2. Inicio del proyecto 12 de septiembre 2016 (fuente autor).



Imagen 3. Cepas UTEX 1803 y nativa, respectivamente, cultivadas en BBM 4 de Junio de 2018 (fuente autor).

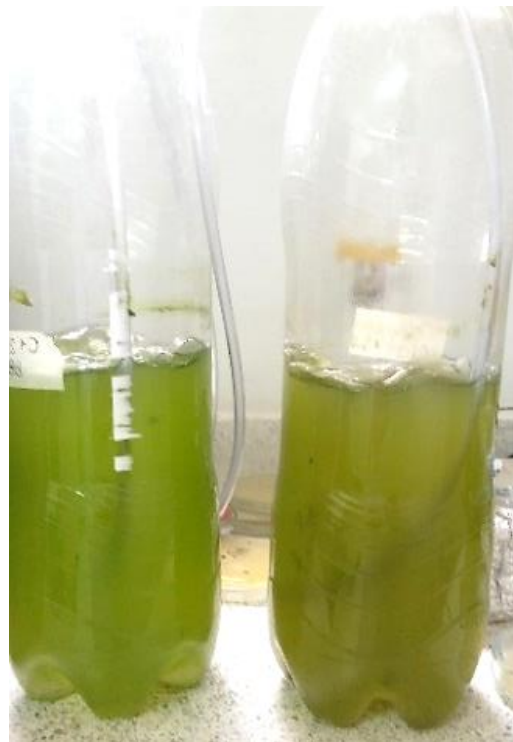


Imagen 4. Cepas nativa y UTEX 1803, respectivamente, 13 días después del inóculo 17 de Junio de 2018 (fuente autor).



Imagen 5. Escalado final de la cepa nativa, 12L aprox (fuente autor).



Imagen 6. Escalado final de la cepa UTEX 1803, 12L aprox (fuente autor).

3.2 Caracterización del agua residual urbana del municipio de Pamplona y adaptación de las cepas al nuevo sustrato

Para la caracterización del afluente se tomaron muestras de agua residual urbana del municipio de Pamplona-Norte de Santander, la ubicación del punto vertimiento y colección del afluente fue en el terminal de transportes del municipio.

Es importante evaluar la calidad del agua residual para evaluar el comportamiento de la carga orgánica y los parámetros fisicoquímicos, para esto, se tomaron 4 litros de muestra en el horario de medio día, tres veces por semana durante el mes de Julio y Agosto, y en el laboratorio de control de calidad de la Universidad de Pamplona se midieron los parámetros descritos a continuación. En la **Tabla 3** se muestran los parámetros fisicoquímicos medidos en la caracterización.

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos medidos en la caracterización (Fuente autor).

Parámetro	Método
Turbidez	Nefelómetro (Las, 2001)
pH	Electrométrico (B, Gaitan, & S, 2007)
Color	Comparación escala de cloroplatinato- cobalto (Giraldo, 1995)
Dureza	EDTA volumétrico (Giraldo, 1995)
Alcalinidad	Volumétricos (Giraldo, 1995)
Acidez	
Cloruros	Morh (Giraldo, 1995)
Nitrógeno en nitratos	Espectrofotometría (Giraldo, 1995)
Sulfatos	Calorimétrico (Giraldo, 1995)
Fosforo en fosfatos	Espectrofotometría (Giraldo, 1995)
Sólidos totales Sólidos suspendidos totales Sólidos suspendidos volátiles	Gravimétricos (Kimberly, Deepa, & Board, 2014)
Sólidos sedimentables	Cono imhoff (Giraldo, 1995)
Oxígeno disuelto	Winkler (Giraldo, 1995)
DQO	Oxidación de dicromato (Giraldo, 1995)

3.2.1 Sólidos Totales (ST)

Los sólidos totales están representados por partículas visibles y coloidales presentes en el agua y principalmente están conformados por materia orgánica. Son diversos los componentes que se pueden encontrar; sustancias orgánicas biodegradables y no biodegradables, componentes

biológicos biodegradables, sustancias inertes que en su mayoría son tóxicas y otros componentes que dependen de la clase de agua residual (Lazcano, 2016).

Determinar este parámetro en aguas contaminadas y aguas residuales tienen poco valor en el análisis debido a que es difícil la interpretación de resultados con algún grado de precisión ya que los sólidos disueltos se presentan en un gran porcentaje y su variación es alta por lo que es casi imposible evaluar los datos (Guía de laboratorio de Bioprosesos y Química Ambiental - Universidad de Pamplona).

Los sólidos totales correspondieron a los residuos que quedaron después de que la muestra fue evaporada y secada a 105°C.

3.2.2 Sólidos suspendidos totales (SST)

Este tipo de sólidos pueden ser partículas coloidales o suspensiones gruesas, partículas flotantes mayores como la arcilla, materia fecal, partículas de alimentos, basura, etc; debido a la presencia de sólidos suspendidos es generada la turbidez del agua (Lazcano, 2016), lo que reduce la penetración de luz solar en los ecosistemas acuáticos y limitan el crecimiento de vegetación en dichos ecosistemas (Cartagena, C; Malo, O., 2017).

Los sólidos suspendidos totales son los que quedaron después de filtrar el agua residual en un filtro de fibra de vidrio con tamaño de poro de 1,2µm, luego ese filtro se secó a 105°C y finalmente se pesó por diferencia de peso del filtro sin uso y luego del secado se determinaron los SST.

3.2.3 Sólidos suspendidos volátiles (SSV)

Los sólidos suspendidos generalmente tienen hasta un 80% de materia volátil, este tipo de sólidos se determinó por la incineración directa (550°C) del filtro de fibra de vidrio (Guía de laboratorio de Bioprocesos y Química Ambiental - Universidad de Pamplona).

3.2.4 Sólidos sedimentables

Los sólidos sedimentables son una aproximación de la cantidad de lodos que se obtendrán en la sedimentación primaria, generalmente este tipo de sólidos son fáciles de eliminar mediante procesos físicos (Lazcano,2016).

Para determinarlos se tomó 1L de muestra, se depositó en un cono imhoff por una hora y finalmente se tomó la cantidad de sólidos sedimentables en mL/L, **Imagen 7** muestra el montaje.



Imagen 7. Sedimentación en conos imhoff (fuente autor).

3.2.5 Color

En definición hay dos clases de color; el aparente que es causado por la materia suspendida y disuelta, se determina en la muestra original sin ningún tratamiento (centrifugado o filtrado). Por otra parte, está el color real, en este caso la turbidez ha sido eliminada mediante filtración o

centrifugación. Este parámetro depende del pH, al aumentar el pH aumenta la coloración, por lo tanto, es de gran importancia reportar ambos valores en el análisis (Giraldo, I., 1995).

Este parámetro se midió por método colorimétrico mediante el espectrofotómetro HACH DR 3800 y se utilizó la escala platino-cobalto.

3.2.6 Turbidez

El método de determinación se fundamenta en la comparación de intensidad de la luz desviada por la muestra, con la intensidad de luz desviada por una suspensión estándar de referencia (Giraldo, I., 1995).

La turbidez se determinó por el procedimiento nefelométrico estándar, se usó un turbidímetro HACH (*Imagen 8*) y las unidades de medición son NTU.



Imagen 8. Turbidímetro HACH (fuente autor).

3.2.7 pH

Este parámetro define la acidez o alcalinidad de la muestra y esto depende la cantidad de iones de hidrógeno presentes (Lazcano, 2016).

Para la medición de este parámetro se utilizó un multiparámetro HACH HQ 30d (flexi).

3.2.8 Alcalinidad

Este parámetro aplica como medición del contenido total de sustancias alcalinas debido a la presencia de carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos presentes en la muestra. Esta asociación es importante en aguas residuales ya que proporciona un amortiguamiento para resistir los cambios de pH, la alcalinidad mínima debe ser de 20mg CaCO₃/L para mantener la fauna acuática.

La alcalinidad se determinó por medio de titulación con ácido sulfúrico 0,1N y como indicador se utilizó naranja de metilo, el punto final de la titulación se muestra en la **Imagen 9**.



Imagen 9. Titulación con ácido sulfúrico con indicador naranja de metilo (fuente autor).

3.2.9 Acidez

La mayor parte de las aguas naturales, aguas residuales domésticas y gran variedad de residuos domésticos están amortiguados principalmente por el sistema dióxido de carbono-bicarbonato. Generalmente aguas con pH inferior a 8.5 se consideran aguas ácidas (Guía de laboratorio de Bioprosos y Química Ambiental – Universidad de Pamplona).

Este parámetro se determinó mediante titulación con hidróxido de sodio 0,1N (**Imagen 10**) y como indicador fenolftaleína y está dada por mg de CaCO₃/L.



Imagen 10. Titulación con hidróxido de sodio, indicador fenolftaleína (fuente autor).

3.2.10 Dureza

Químicamente la dureza del agua es la propiedad causada por la presencia metálicos polivalentes y es manifestada por su reacción con el jabón formando precipitados.

La dureza se determinó por titulación con EDTA 0,1N y negro eriocromo como indicador (*Imagen 11*), y está determinada en mg de CaCO_3/L .



Imagen 11. Titulación con EDTA, indicador negro eriocromo (fuente autor).

3.2.11 Cloruros

Las concentraciones de cloruros son más altas en aguas de desecho que en los cuerpos de agua naturales, debido a que la excreta y orina humana aportan casi 6g de cloruros por persona al día (Giraldo, I., 1995).

La determinación de cloruros se hizo por el método de Mohr (argentométrico), para la titulación se utilizó nitrato de plata 0,1N y como indicador se utilizó cromato de potasio. El punto final de la titulación se observa en la **Imagen 12**



Imagen 12. Titulación con nitrato de plata 0,1N coloración roja punto final (fuente autor).

3.2.12 Demanda química de oxígeno (DQO)

Este parámetro es ampliamente usado para medir la cantidad de materia orgánica presente en los residuos domésticos e industriales (Guía de laboratorio de Bioprocesos y Química Ambiental – Universidad de Pamplona) y se denomina a la cantidad de oxígeno que necesita el agua para descomponer la materia orgánica e inorgánica contenida (Cartagena, C; Malo, O., 2017).

Para determinar la demanda química de oxígeno se utilizó un bloque de calentamiento que opera a 150°C (**Imagen 13**), espectrofotómetro HACH y tubos de digestión en los cuales se agregó 2mL de muestra, 0,5 mL de solución digestora (solución de $K_2Cr_2O_7$, H_2SO_4 y $HgSO_4$) y por último, se agregó 2,5mL de solución catalizadora (solución de Ag_2SO_4 en H_2SO_4 concentrado). Los tubos son llevados al digestor por 2 horas y por ultimo las concentraciones son leídas a una longitud de onda de 620nm en el espectrofotómetro.



Imagen 13. Reactor de DQO (fuente autor).

3.2.13 Oxígeno disuelto (OD)

El oxígeno disuelto permite la respiración de las bacterias aeróbicas y facultativas, asimismo todos los organismos presentes en los ecosistemas acuáticos. Existen organismos indicadores de OD como las pulgas de agua que producen gran cantidad de hemoglobina cuando las condiciones de OD disminuyen drásticamente y son pálidas cuando las concentraciones de OD son altas (Lazcano, 2016).

Todas las operaciones que involucran tratamientos aeróbicos dependen de la presencia de OD y el análisis de este es una alternativa indispensable para controlar que el flujo de aire de alimentación asegure la suficiente cantidad de aire para mantener las condiciones aerobias y así se evita el uso excesivo de aire y energía.

Para medir este parámetro se utilizó un multiparámetro HACH HQ 30d (flexi) con el electrodo para OD, el cual mide la concentración en mg/L de O₂.

3.2.14 Sulfatos

Es importante la considerar la concentración de sulfatos debido a que a frecuentemente se presentan problemas con el tratamiento de aguas residuales, como olor y corrosión de las alcantarillas, esto como resultado de la reducción de los sulfatos a sulfitos de hidrógeno, bajo condiciones anaerobias (Giraldo, I., 1995).

El método que se utilizó para medir sulfatos fue colorimétrico, se tomó 10mL de muestra, se agregó 2,5mL de solución tampón A y una microcucharada de cloruro de bario, y por último se midió la concentración en el espectrofotómetro.

3.2.15 Nitratos

La desnitrificación se ha propuesto como alternativa para remover nitrógeno de los residuos donde es necesario evitar el crecimiento de algas debido a las altas concentraciones de nutrientes, la desnitrificación se da en condiciones anaerobias donde los nitratos y nitritos son reducidos como nitrógeno gaseoso que escapa a la atmosfera (Guía de laboratorio de Bioprocesos y Química Ambiental – Universidad de Pamplona).

La concentración de nitratos se determinó mediante espectrofotometría (*Imagen 14*), las muestras se filtraron en membranas de 0,45µm de diámetro de poro esto con el fin de evitar interferencia en la medición, luego se preparó la solución madre de nitratos y soluciones patrón para la curva de calibración. Se midió la absorbancia a longitudes de onda de 220 y 275 nm ya que el ion nitrato y la materia orgánica absorben energía a 220 nm y a 275 nm sólo absorbe energía la materia orgánica.

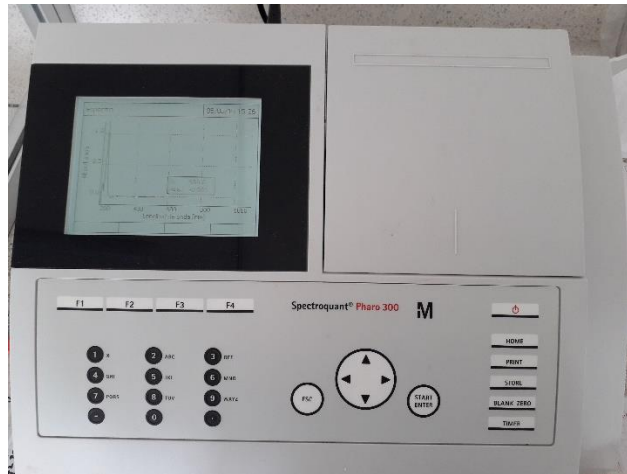


Imagen 14. Espectrofotómetro UV-VIS Spectroquant Pharo 300 (fuente autor).

3.2.16 Fosfatos

El exceso de fósforo en el agua genera el crecimiento desmedido de algas, este proceso se denomina eutrofización y este fenómeno impide el desarrollo de otros organismos y desmejora notablemente los ecosistemas (Lazcano, 2016).

El agua residual doméstica tiene concentraciones relativamente altas de compuestos de fósforo, debido al uso de detergentes (Guía de laboratorio de Bioprocesos y Química Ambiental Universidad de Pamplona).

Para determinar la concentración de fosfatos en las muestras, se tomó 10mL de muestra y se le agregó 2,5mL de vanadato de molibdato el cual da coloración amarilla por la presencia de fosfatos, luego fue leída la concentración en el espectrofotómetro (**Imagen 15**).



Imagen 15. Espectrofotómetro HACH DR 3800 (fuente autor).

3.2.17 Inoculación de las cepas para adaptación en agua residual.

En esta etapa se hicieron dos experimentaciones, la primera consistió en evaluar la adaptación de cada microalga al nuevo sustrato usando una concentración del 20% de cada cepa para un volumen de cultivo de 1.5L, es decir, se tomó 300mL de cultivo de la cepa nativa (C1) y se adicionó en 1200mL de agua residual, asimismo se hizo con la cepa UTEX 1803 (C2). En esta etapa se evidenció que no hubo mayor crecimiento de las microalgas por lo que se decidió hacer una segunda experimentación.

En la segunda experimentación se modificó el sustrato agregando la cantidad de fosfatos y nitratos especificada por litro en el medio de cultivo bold, además de esto, se evaluó dos concentraciones para la adaptación; 20 y 30% de cada cepa, por otra parte, también se modificó la manera de agregar el inóculo de cada microalga. Para los cultivos de 20% de inóculo (1.5L volumen total), los 300mL de inóculo se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos utilizando una centrífuga de cuatro compartimientos de 50mL cada uno (**Imagen 16– Imagen 18**), seguido

de esto se procedió a desechar el sobrenadante (**Imagen 17**) y luego se lavó la microalga con agua destilada, dicho procedimiento se realizó tres veces y se hizo con el fin de asegurar que las bacterias y los nutrientes sólo se encontraran en el agua residual. El proceso que se explicó anteriormente es la forma más sencilla de purificar cepas de microalgas (Arredondolo, B; Voltolina, D., 2007), posteriormente se realizaron los montajes de los cuatro cultivos de la fase de adaptación.



Imagen 16. Centrífuga cuatro compartimientos de 50mL (fuente autor).

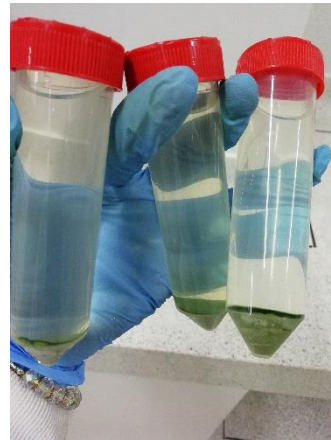


Imagen 17. Microalga después de la centrifugación (fuente autor).



Imagen 18. Centrífuga ROTOFIX 32 (fuente autor).

El agua residual que se utilizó para las dos experimentaciones se le removieron los sólidos sedimentables y luego se filtró utilizando un colador.

En las dos experimentaciones se monitoreó el pH y la cantidad de luz a la que estaba expuesto cada cultivo y el crecimiento celular que se hizo mediante recuento en cámara Neubauer utilizando un microscopio con un aumento de 40X.

La fase de adaptación se evaluó por 13 días, en los cultivos de la experimentación 2 se tomó 200mL de muestra al inicio y al final, para evaluar la disminución de nitratos, fosfatos y DQO en los 13 días de adaptación, sin embargo, a los 15 días se alimentó cada cultivo con el sustrato modificado.

3.3 Diseño y construcción del fotobiorreactor *air-lift*

Para la selección del tipo de biorreactor que se iba a diseñar y construir se realizó una extensa revisión bibliográfica, donde se encontró que los biorreactores *air-lift* tienen diversas ventajas frente a otros biorreactores, ventajas tales como (Cortés *et al.*, 2013):

- Mayor capacidad de transferencia de masa debido a su sistema de agitación
- Fluidización de los sólidos altamente efectiva
- Patrones de flujo bien definidos
- Esfuerzos cortantes bajos lo que lleva al crecimiento celular ya que no hay estrés ni daño celular
- Fácil construcción y sus costos son relativamente bajos

Los biorreactores como columnas de burbujeo y *air-lift* son ampliamente utilizados para el cultivo de microorganismos debido a su agitación neumática, sin embargo, las principales ventajas de un biorreactor *air-lift* sobre las columnas de burbujeo son la mezcla mejorada, en muchos de

los casos los coeficientes de transferencia de masa son más altos, esto es posible debido a que en los biorreactores *air-lift* se pueden dar velocidades del gas mucho más altas. Por ejemplo, en columnas de burbujeo utilizadas en la industria la velocidad superficial es del orden de 0,06 m/s y en los biorreactores *air-lift* está por los 0,22 m/s resultando un coeficiente de transferencia de oxígeno de $0,143 \text{ s}^{-1}$ (Chisti, 1989).

Además de esto, ese tipo de biorreactor es ampliamente utilizado como sistema de cultivo para el tratamiento de aguas residuales (Velasco, 2009; Arias, 2013; Sánchez *et al.*, 2016).

3.3.1 Especificaciones de la geometría

Existen varias configuraciones para reactores *air-lift*, en este proyecto se planteó el diseño y construcción de un fotobiorreactor *air-lift* de tubos concéntricos. En el diseño se tuvo en cuenta relaciones de geometría y generalidades descritas por Chisti, M, 1989.

Establecer un diámetro apropiado para el riser, influye de manera significativa en la altura y diámetro del downcomer; ya que una variación de estas, afecta la distribución de luz en el fotobiorreactor, los fenómenos de transferencia de masa y la productividad celular. El aumento del diámetro, genera zonas oscuras, ineficiencia en la distribución de aire en la zona de transferencia, esto se debe a que el aire se va a acumular en la parte superior y esto contribuye a la formación de espuma. Por otra parte, la disminución conlleva a la aparición de fotoinhibición por el aumento de intensidad lumínica, se presenta una acelerada distribución de gases a lo largo del downcomer lo que puede generar altos esfuerzos cortantes y esto afecta a las células microalgales (Fernandez *et al.*, 2014).

Diversos trabajos reportados por Lizardi (**Tabla 4**) coinciden en que la relación entre la altura del tubo concéntrico o riser y la altura de operación del líquido (L_r/L_o) debe estar en un rango

de 0,6 a 0,9 y la relación entre el diámetro del riser y el diámetro del downcomer (D_r/D_d) debe estar entre 0,61 a 0,74.

Tabla 4. Relaciones geométricas para biorreactores airlift con circulación interna (Lizardi, 2011).

Trabajo	L_r/L_o	D_r/D_d	Fase líquida
Quintero, 1990	0.6-0.9	0.7-0.74	Biótica
Chisti y Jáuregui-Haza, 2002	0.83	0.66	Celulosa/agua
Sánchez-Mirón y col., 2004	0.81	0.74	Agua
Cheng-Shing y Shyh-Jye, 2004	0.78	0.66	Tolueno/agua
Mehrnia y col., 2005	0.9	0.67	Derivados del petróleo/agua
Shariati y col., 2007	0.74	0.71	Derivados del petróleo/agua
Cerri y col., 2010	0.8	0.61	Glicerol/agua
Luo y Al-Dahhan, 2011	0.7	0.69	Agua

3.3.2 Materiales de construcción

Debido a que los microorganismos que se usarán en el tratamiento son fotosintéticos, una de las características más importantes para la construcción de fotobiorreactor es que tenga alta transparencia.

Además de esto, el material debe cumplir con alta fuerza mecánica, resistencia al desgaste, estabilidad química, debe ser fácil de limpiar y su costo debe ser bajo. El vidrio podría ser un material favorable, ya que tiene características como, alta transparencia, estabilidad química y resistencia al desgaste, sin embargos, es un material muy frágil y tiene altos costos de instalación.

Por otra parte, el polietileno y tubos de polipropileno tiene bajo costo, pero ambos materiales pierden transparencia muy rápido (Lopez, A *et al.*, 2010).

En la **Tabla 5** (Fernández, 2013), se presentan una serie de materiales translucidos que pueden ser ventajosos para la construcción de fotobiorreactores.

Tabla 5. Materiales translucidos y sus características.

Nombre	Características	Aplicaciones
Etileno-tetrafluoretileno (ETFE)	Resistencia química, mecánica, a los rayos UV y al calor. 95% de transmisión de luz	Páneles para construcciones arquitectónicas
Polimetilmetacrilato (PMMA)	Transparencia del 93%, alta resistencia al impacto y su dureza es similar a la del aluminio	Cristales para gafas, lupas, vajillas, peceras
Poliestireno cristal (PS)	Polímero ligero y frágil	Piezas de electrodomésticos, mamparas de baño y ducha, lámparas
Policarbonato (PC)	Es un termoplástico, resistente, liviano, alto nivel de transmisión de luz	Material de construcción, muros, techidumbres y cubiertas
Vidrio	Material muy estable pero frágil y pesado	Ventanas, envases, instrumentos de laboratorio

(Fernández, 2013)

3.3.3 Sistema y control de agitación

El sistema de agitación del biorreactor consiste en un compresor cuya potencia es de 35W y su flujo de aire es de 40L/min. Para escoger el compresor fue necesario determinar la potencia volumétrica que es la energía necesaria que ejerce el caudal suministrado para la agitación del cultivo en el reactor, dicha potencia fue calculada por el procedimiento descrito en el trabajo de

Rubio, 2014 para reactores *air-lift*. La ecuación tiene en cuenta la velocidad del gas y la geometría del biorreactor.

$$\frac{P_G}{V_L} = \frac{\rho * g * V_g}{1 + \frac{A_D}{A_R}}$$

Ecuación 1

Donde, P/V es la potencia requerida por m^3 (W/m^3), ρ es la densidad del agua (Kg/m^3), g es la gravedad en m/s^2 , V_g es la velocidad del gas (m/s) y A_D y A_R son las áreas del downcomer y riser respectivamente (m^2).

La velocidad del gas V_g , se puede calcular teniendo en cuenta A_D , A_R y el caudal de aire Q (m^3/s).

$$V_g = \frac{Q}{A_D + A_R}$$

Ecuación 2

En la **Tabla 6** presenta los valores calculados para la operación del biorreactor

Tabla 6. Potencia calculada con un caudal de aire dado.

Parámetro	Resultado	Unidades
Caudal de operación	1,068x10-4	m^3/s
V_g	0,0119	m/s
P/V	33,7052	W/m^3

(Fuente autor)

El flujo de aire del compresor es muy alto para operar el reactor, por lo tanto, fue necesario instalar un control, la variable a manipular fue el flujo de aire y esto se hizo mediante un circuito variador de frecuencia, de tal modo que al variar la resistencia este responde acortando la frecuencia de la corriente eléctrica y en consecuencia se produce una caída de tensión que es aprovechada por una bomba resistiva para regular la velocidad y asimismo su flujo, todos estos datos son compilados e interpretados por un microcontrolador que al interpretar las señales digitales, las traduce a un idioma humano mediante una pantalla LCD 1602 en la cual se visualiza la variable en unidades de L/min. Este control fue construido con la ayuda de dos estudiantes del programa de Ingeniería Química de la Universidad de Pamplona.

3.3.4 Parámetros hidrodinámicos del fotobiorreactor *air-lift*

Para tener certeza de la eficiencia del reactor, además de evaluarse por el crecimiento celular, también se evaluó mediante el cálculo de variables hidrodinámicas como los son: el coeficiente de transferencia de masa volumétrico k_{La} , tiempo de mezcla t_m , retención del gas ε ; para este último parámetro es necesario tener en cuenta la retención del gas en el riser ε_{gR} y retención del gas en el downcomer ε_{gD} y por lo tanto la geometría del reactor.

3.3.4.1 Coeficiente de transferencia de masa de oxígeno

k_{La} El coeficiente de masa de oxígeno se determinó por método directo, el cual consiste en medir el oxígeno disuelto en el reactor utilizando la sonda de oxígeno y el multiparámetro HACH. Inicialmente fue necesario eliminar el oxígeno disuelto del medio y esto se hizo mediante

inyección de nitrógeno, la mínima concentración que se logró fue de 0,05mg/L, luego, se empezó a bombear aire por la parte inferior del reactor y se midió el oxígeno disuelto cada 5 segundos.

Dado que la velocidad de transferencia de masa en el reactor se presenta como (Chisti, M 1989).

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L a (C^* - C_L) \quad \text{Ecuación 3}$$

Integrando con límites $t=0$ y $C_L=0$, se obtiene

$$\ln\left(\frac{1 - C_L}{C^*}\right) = -k_L a \cdot t \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde la pendiente de la recta de $\ln(1-C_L/C^*)$ Vs t será el coeficiente de transferencia de masa volumétrico $k_L a$.

3.3.4.2 Tiempo de mezcla t_m

La mezcla de fluidos está relacionada con propiedades de circulación de fluidos y transferencia de masa, propiedades como los son: el tiempo de mezcla y la retención del gas en el reactor. Se ha demostrado que para biorreactores air-lift los parámetros geométricos tales como, áreas de sección transversal del downcomer y riser (A_D y A_R), la relación entre ellas (A_D/A_R), el espacio libre en la zona superior e inferior, diámetro y altura del downcomer (D_D y H_D) y la velocidad del gas (V_g), intervienen en la hidrodinámica del reactor (Mendoza, 2013).

Para determinar el tiempo de mezcla se utilizó el método visual que consistió en agregar 2mL de azul de metileno al medio y medir el tiempo en el que tardó para difundirse completamente (Guevara, E., 2004).

3.3.4.3 Retención del gas ε

La retención de gas es la fracción de volumen de la fase gaseosa en la dispersión gas-líquido o en la suspensión (Chisti, 1989).

La retención del gas, la velocidad de circulación del líquido y el coeficiente de transferencia de masa son los parámetros hidrodinámicos más importantes para los reactores air-lift (Luo *et al.*, 2011), ya que tener conocimiento de ellos permitirá mejorar su eficiencia optimizando el sistema.

La retención de gas ε para los reactores air-lift, depende de la geometría del biorreactor y de las velocidades del gas y líquido en el riser (V_{GR} , V_{LR}) o zona ascendente (Chisti, 1989).

Para el cálculo de la velocidad del líquido en el riser V_{LR} en (m/s), se utilizó el algoritmo iterativo de Chisti, 1989 y se utilizó las siguientes ecuaciones.

$$\varepsilon_R = \frac{V_{GR}}{0.24 + 1.35(V_{GR} + V_{LR})^{0.93}}$$

Ecuación 5

$$\varepsilon_D = 0.89\varepsilon_R$$

Ecuación 6

$$\varepsilon = \frac{A_D\varepsilon_D + A_R * \varepsilon_R}{A_R + A_D}$$

Ecuación 7

$$h_D = \frac{h_L}{1 - \varepsilon}$$

Ecuación 8

$$K_B = 11.40 \left(\frac{A_D}{A_R} \right)^{0.79}$$

Ecuación 9

$$V_{LR} = \left(\frac{2gh_D(\varepsilon_R - \varepsilon_D)}{K_B \left(\frac{A_R}{A_D} \right)^2 \frac{1}{(1 - \varepsilon_D)^2}} \right)^{0.5}$$

Ecuación 10

Donde ε_R y ε_D son retenciones del gas en el riser y downcomer, respectivamente, h_D es la altura de dispersión gas-líquido (m), h_L es la altura del líquido (m) y K_B es el coeficiente de pérdida por fricción.

3.4 Puesta en marcha del biorreactor construido

En el biorreactor se hicieron cuatro tratamientos de 11 días cada uno, por lo que fue necesario al final de cada montaje lavar y esterilizar el biorreactor para iniciar cada tratamiento. Al igual que la fase de adaptación, el sustrato tuvo el mismo tratamiento y se evaluaron dos concentraciones 20 y 30% (**Tabla 7**) de microalga adaptada, estos inóculos fueron centrifugados y lavados antes del tratamiento.

Tabla 7. Metodología utilizada en la evaluación de remoción de nutrientes en el agua residual (fuente autor).

	<i>Cepa Nativa (C1)</i>	<i>Cepa UTEX 1803 (C2)</i>
<i>Concentraciones de inóculo a evaluar</i>	20%	20%
<i>en el reactor (3,4 L de operación)</i>	30%	30%

Durante los 11 días de tratamiento se monitoreó parámetros de cultivo tales como, pH, luz, oxígeno disuelto (OD) y crecimiento celular el cual se hizo mediante recuento en cámara Neubauer utilizando un microscopio con aumento 40X. Por otra parte, para evaluar la remoción de nutrientes en el medio, se tomó 200mL de muestra inicial (día 0) del tratamiento y se tomó 200mL de muestra final del tratamiento (día 11). Con el fin de retirar la mayor cantidad de biomasa primero se centrifugaron las muestras a 3000 rpm durante 10 minutos, y luego se filtraron mediante filtros de membrana Whatman con diámetro de poro de 0,45µm, esto con el fin de remover cualquier residuo que pueda interferir en la medición en el espectrofotómetro.

4 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Cinéticas de crecimiento de las cepas *Chlorella vulgaris* en medio de cultivo Basal Bold

La cinética de crecimiento de la cepa 1 y cepa 2, se evaluó por 13 días, monitoreando diariamente: pH, y la cantidad de luz a las que estuvieron expuestas, a continuación, en la **Figura 11**, se muestra el crecimiento celular durante los 13 días de cultivo, determinado mediante recuento en cámara neubauer por un microscopio utilizando aumento de 40X.

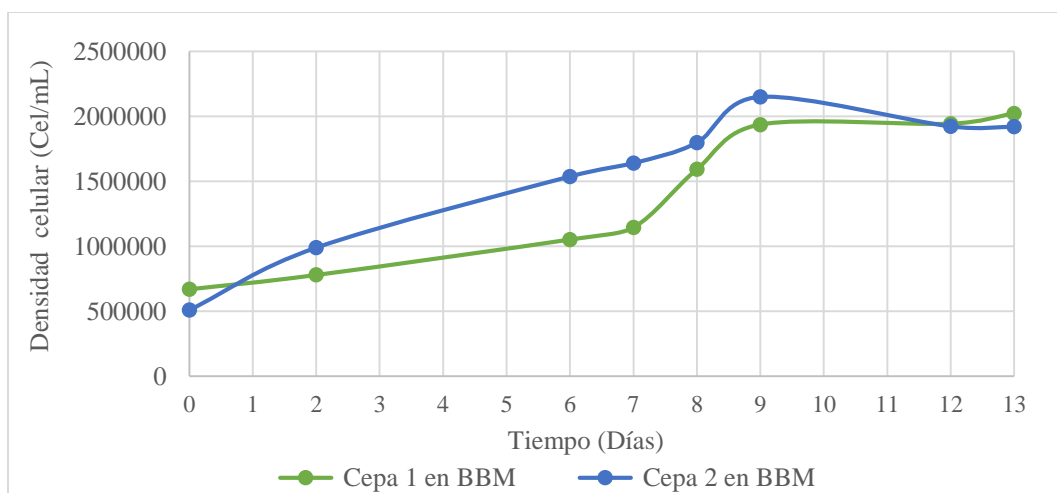


Figura 11. Crecimiento celular de las cepas en BBM (fuente autor).

La curva de crecimiento microalgal la comprenden cinco fases que están definidas por el número de células en determinado tiempo a las condiciones de cultivo establecidas, las cinco fases son: 1) Fase de adaptación, en esta etapa la microalga se apropia en las nuevas condiciones de cultivo; 2) Fase de crecimiento exponencial, en esta fase las células se propagan debido a la asimilación de nutrientes y a su activo proceso de reproducción; 3) Fase de retardo, aquí la tasa de crecimiento se reduce y el tiempo de duplicación aumenta; 4) Fase estacionaria, el crecimiento celular permanece constante y por último, 5) Fase de declinación, aquí la tasa de muerte celular

supera la tasa de crecimiento (Cáceres,O., 2009). En la **Figura 11**, se observa que la fase de adaptación para la cepa 1 tardó más que para la cepa 2 esto debido a que la cepa de colección ya estaba adaptada a este medio sintético por lo que su crecimiento se vio afectado a los cambios de cultivo externos, como temperatura, luz y agitación.

Se determinó la tasa de crecimiento en días⁻¹, número de generaciones y tiempo de generación para cada cepa, teniendo en cuenta las siguientes ecuaciones de crecimiento microbiano dadas por Monod. Los resultados se muestran en la **Tabla 8**.

$$\frac{dX}{dt} = \mu * X$$

Ecuación 11

Donde,

dX/dt , es la tasa de crecimiento de la biomasa en cel/días

μ , es la tasa específica de crecimiento en días⁻¹

X , es la concentración de biomasa o de microorganismos en cel/días

Despejando μ e integrando se tiene

$$\mu = \frac{\ln(X_f/X_0)}{t_f - t_0}$$

Ecuación 12

Donde,

X_0 y X_f , es la concentración inicial y final de biomasa respectivamente, en cel/día

t_0 y t_f , son los tiempos inicial y final respectivamente, en días

Tabla 8. Parámetros cinéticos de las dos cepas de *Chlorella vulgaris* en BBM (fuente autor).

Cepas	Densidad celular inicial en la fase exponencial (cel/mL)	Densidad celular final en la fase exponencial (cel/mL)	Tasa de crecimiento específica (días ⁻¹)	Número de generaciones (generaciones.día ⁻¹)	Tiempo de generación (días)
<i>Chlorella v. Nativa</i>	7,8E+05	1,9E+06	0,118	0,17	5,877
<i>Chlorella v. UTEX 1803</i>	9,9E+05	2,2E+06	0,159	0,231	4,335

Teniendo en cuenta la **Tabla 8**, la tasa de crecimiento específica μ para la cepa nativa es un 4,1% menor que la cepa UTEX 1803, la diferencia no es significativa porque la desviación estándar fue de 0,029.

La **Figura 12** nos muestra el comportamiento del pH en los diferentes cultivos durante nuestra investigación.

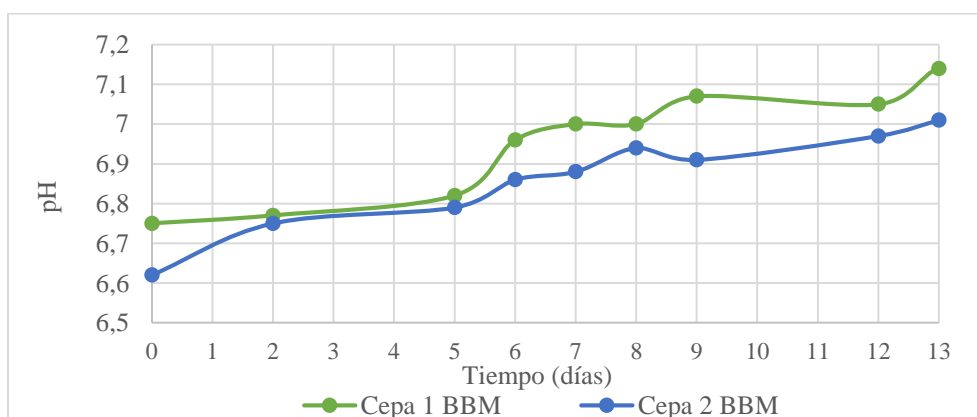


Figura 12. Comportamiento del pH en los cultivos de *Chlorella vulgaris* en BBM (fuente autor).

El pH del cultivo de la cepa 1 superó sus unidades en comparación con la cepa 2, la fase exponencial para ambos cultivos se alcanzó en los días del 2 al 9, siendo el día 9, el día de mayor producción celular para ambas cepas, con pH para la cepa 1 y cepa 2 de 7,01 y 6,91 respectivamente; la cepa 2 con un pH ácido posiblemente fue lo que pudo beneficiar el crecimiento, ya que para el género *Chlorella* los valores de pH óptimos varían entre 6 a 7 (Milner, H., 1953); mientras que el comportamiento del pH de la cepa 1 fue aumentando hasta llegar a un valor alcalino de 7,14, este aumento de pH posiblemente se debe a la disminución de nitratos en el medio de cultivo (Krauss, R., 1951), es decir, probablemente *Chlorella v. nativa* consumió en menor tiempo la cantidad de nitratos suministrada en BBM, asimismo, se puede confirmar que el género *Chlorella* consume en mayor proporción los nitratos en comparación que los fosfatos.

En el trabajo de Davis, A *et al* reportan un experimento en el cual usaron 7 a 15 L de cultivo e inocularon 0,1g/L de *Chlorella* y este creció a 3g/L, retiraron parte del cultivo y este fue reemplazado por medio fresco, como *Chlorella* usaba nitrógeno del nitrato de potasio, en consecuencia, el cambio de pH fue drástico, pasó de 4 a 8 y obtuvieron un crecimiento celular de 50g, sin embargo, para mantener el pH óptimo en el cultivo lo ajustaban adicionando ácido fosfórico al medio.

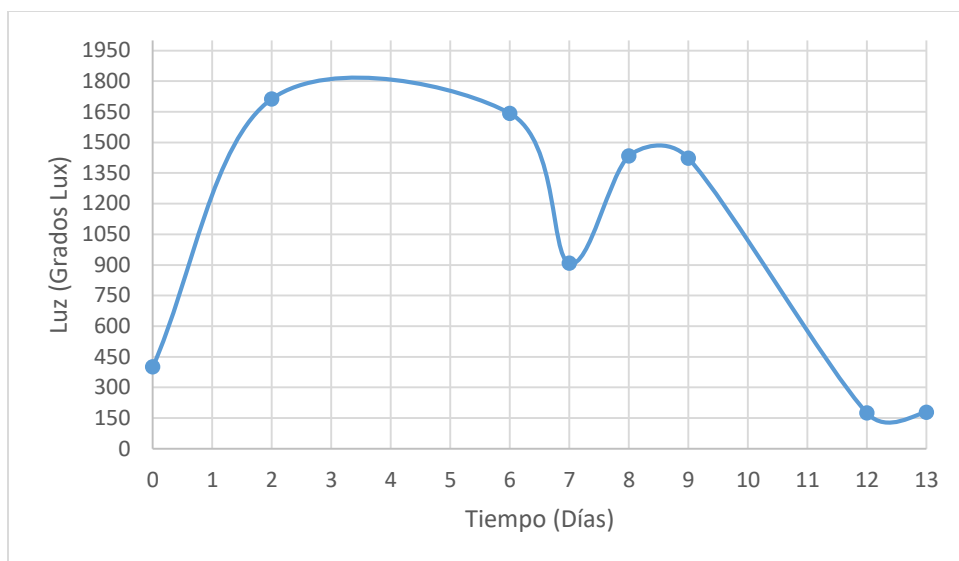


Figura 13. Aproximación del comportamiento de la luz durante los días de cultivo

(fuente autor).

4.2 Caracterización fisicoquímica del agua residual doméstica del Municipio de Pamplona – Norte de Santander.

En la *Tabla 9* y *Tabla 10* en la se muestran los resultados de caracterización fisicoquímica del agua residual.

Tabla 9. Parámetros fisicoquímicos del agua residual del municipio de Pamplona-Norte de Santander (Muestras 1, 2, 3, 4, 5, 6) (fuente autor).

Parámetro	Número de muestras					
	1	2	3	4	5	6
pH	6,29	7,72	7,3	6,94	7,64	7,54
Turbidez (NTU)	164	295	216	248	288	252
Color (PtCo)	434	1064	901	1109	1328	985
OD (mg/L)	3,27	1,09	1,03	0,86	0,33	0,53
DQO (mg/L)	433	1478	732	542	863	1300

DBO5 (mg/L)	272,79	931,14	461,16	341,46	543,69	819
Sólidos totales (mg ST/L)	636,667	590	573,333	466,667	1463,334	996,667
Sólidos suspendidos totales (mg SST/L)	45	145	115	95	260	210
Sólidos suspendidos volátiles (mg SSV/L)	225	315	335	105	325	160
Sólidos sedimentables (mL/L)	21	8,3	4,8	16	4	2,5
Dureza (mg CaCO₃/L)	120	475	150	270	210	80
Alcalinidad (mg CaCO₃/L)	75	255	200	115	240	220
Acidez (mg CaCO₃/L)	310	85	60	280	70	65
Cloruros (mg Cl/L)	130	105	85	135	115	135
Sulfatos (mg/L)	92	40	61	44	36	79
Fosfatos (mg/L)	7,3	14,4	15,1	11,6	13	8,8
Nitratos (mg/L)	23,3	14,2	8,5	20,7	6,2	5,9

Tabla 10. Parámetros fisicoquímicos del agua residual del municipio de Pamplona-Norte de Santander (Muestras 7, 8, 9, 10, 11, 12) (fuente autor).

Parámetro	Número de muestras					
	7	8	9	10	11	12
pH	7,31	7	8,03	7,52	7,91	7,75
Turbidez (NTU)	317	267	278	267	196	229
Color (PtCo)	1069	903	1231	1386	842	1123
OD (mg/L)	1,15	0,38	0,52	0,97	1,02	0,99
DQO (mg/L)	833	857	1436	902	1103	894
DBO 5 (mg/L)	524,79	539,91	904,68	568,26	694,89	563,22

Sólidos totales (mg ST/L)	853,334	776,667	1265,444	913,334	1118,556	982,222
Sólidos suspendidos totales (mg SST/L)	120	155	235	160	195	105
Sólidos suspendidos volátiles (mg SSV/L)	155	120	310	220	305	260
Sólidos sedimentables (mL/L)	12	9	6	27	18	16,5
Dureza (mg CaCO₃/L)	40	130	300	150	250	260
Alcalinidad (mg CaCO₃/L)	210	125	265	245	255	235
Acidez (mg CaCO₃/L)	90	180	65	75	70	80
Cloruros (mg Cl/L)	115	150	125	120	90	110
Sulfatos (mg/L)	73	52	25	48	44	78
Fosfatos (mg/L)	20	23	15,7	15,4	17,7	16,4
Nitratos (mg/L)	5,5	17,3	7,3	6,3	5,6	5,2

Tabla 11. Valor máximo y mínimo de cada parámetro fisicoquímico del agua residual (fuente autor).

Parámetro	Promedio	Valor máximo	Valor mínimo
pH	7,41	8,03	6,29
Turbidez (NTU)	251,42	317	164
Color (PtCo)	1031,25	1386	434
OD (mg/L)	1,01	3,27	0,33
DQO (mg/L)	947,75	1478	433
DBO5 (mg/L)	597,08	931,14	272,79

Sólidos totales (mg ST/L)	886,35	1463,334	466,667
Sólidos suspendidos totales (mg SST/L)	153,33	260	45
Sólidos suspendidos volátiles (mg SSV/L)	236,25	335	105
Sólidos sedimentables (mL/L)	12,09	27	2,5
Dureza (mg CaCO₃/L)	202,92	475	40
Alcalinidad (mg CaCO₃/L)	203,33	265	75
Acidez (mg CaCO₃/L)	119,17	310	60
Cloruros (mg Cl/L)	150	85	117,92
Sulfatos (mg/L)	56,00	92	25
Fosfatos (mg/L)	14,87	23	7,3
Nitratos (mg/L)	10,50	23,3	5,2

Al comparar los resultados obtenidos con la reglamentación de parámetros fisicoquímicos y los valores máximos permisibles para el vertimiento de aguas residuales domésticas a cuerpos de agua superficiales (Resolución 0631, Capítulo 5- Artículo 8) (*Tabla 2*), el pH se encuentra en el rango establecido, la demanda química de oxígeno DQO el valor máximo y mínimo están por encima del valor máximo permitido, en los sólidos suspendidos totales SST, el valor mínimo se encuentra en el rango, sin embargo el valor máximo y el valor promedio se exceden, asimismo pasó con los sólidos sedimentables. Por otra parte, los demás parámetros no se pudo establecer una comparación ya que no se presenta un límite en la reglamentación.

En el Anexo 3 se muestra las características típicas de un agua residual doméstica (Lazcano, C., 2016) y en la **Tabla 12** se establece la comparación entre los resultados de la **Tabla 11** y el anexo mencionado.

Tabla 12. Comparación del anexo 3 con los resultados obtenidos F: Fuerte, M: Medio, L: Ligero (fuente autor).

Parámetro	Valor máx	Valor min	Valor promedio
DQO	> F	M > Vmin > L	F > Vprom > M
ST	> F	M > Vmin > L	F > Vprom > M
SST	F > Vmax > M	< L	M > Vprom > L
Sólidos sedimentables	> F	< L	F > Vprom > M
SSV	M	> L	M
Alcalinidad	> F	M > Vmin > L	> F
Sulfatos	> F	F > Vmin > M	> F
Nitrógeno	M > Vmax > L	< L	< L
Fósforo	> F	M > Vmin > L	F > Vprom > M

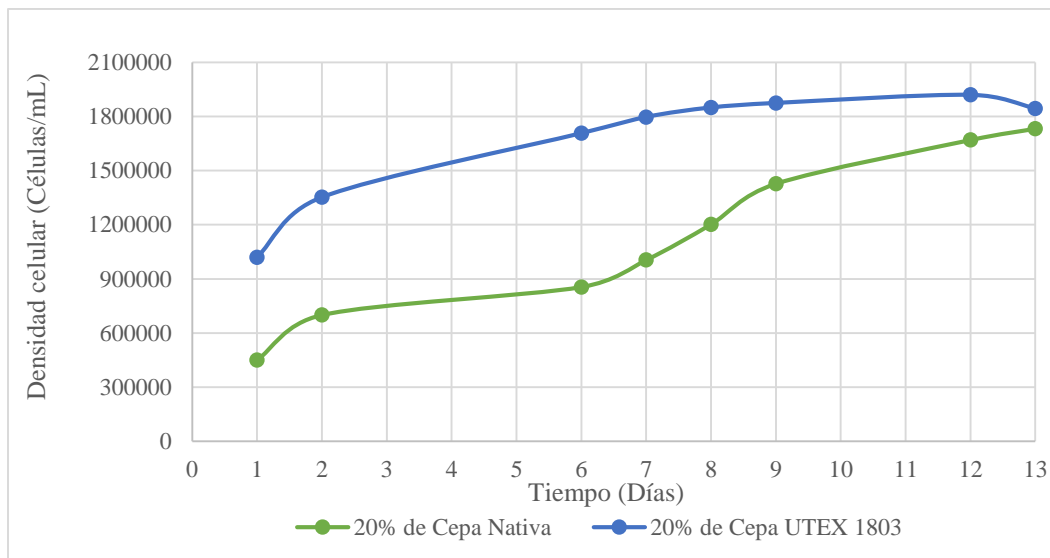
Después de la caracterización, se pudo determinar que el comportamiento del agua residual en el tiempo de evaluación tiene alta alcalinidad, lo anterior posiblemente puede ser, debido a que usamos agua residual doméstica, y estas se caracterizan por tener altos contenidos en fosfatos; el alto contenido de sulfatos puede generar dureza en el agua y, por último, el contenido de materia orgánica y sólidos suspendidos están en un valor medio.

4.3 Fase de adaptación de las cepas *Chlorella vulgaris* al nuevo sustrato

Como se mencionó anteriormente, esta etapa del proyecto se dio en dos experimentaciones, por lo tanto, a continuación, se muestran las cinéticas de crecimiento celular en la primera experimentación en la cual se evaluó 20% de inóculo de cada cepa. La densidad celular se monitoreó mediante recuento en cámara Neubauer con aumento 40X

4.3.1 Experimentación 1 de la fase de adaptación

Figura 14. Cinética de crecimiento inóculos 20% en el nuevo sustrato (fuente autor).



En la **Figura 14** se presenta la cinética de crecimiento para las cepas *Chlorella v.* en la fase de adaptación, como era de esperarse, la cepa nativa tuvo mejor desempeño en el nuevo sustrato ya que al ser una microalga nativa tiene la capacidad de desarrollarse en sistemas contaminados y competir en crecimiento con otro tipo de microorganismos (Serrano, L., 2012). Por otra parte, la cepa UTEX 1803 no tuvo un crecimiento satisfactorio, ya que a los 11 días de cultivo el crecimiento fue de 9×10^5 células/mL, mientras que el de *Chlorella v.* nativa fue de $1,28 \times 10^6$ células/mL. El crecimiento celular de las cepas se puede ver afectado por varias causas, una de

estas puede ser al bajo contenido de nutrientes en el agua residual y otra puede ser por la presencia de otro tipo de organismos en los cultivos ya que al evaluar el crecimiento en cada día del cultivo se pudo observar dos tipos de microorganismos que se pueden apreciar en la **Imagen 19**, **Imagen 20** e **Imagen 21**.



Imagen 19. Fotografía de uno de los (nematodo) encontradas en los cultivos con agua residual, con aumento de 10X (fuente autor).



Imagen 20. Fotografía de una clase de parásito (rotífera) encontrado en los cultivos con agua residual, con aumento de 40X (fuente autor).



Imagen 21. Bacteria de la imagen 18 en su forma recogida (fuente autor).

Los rotíferos son organismos pequeños, su tamaño oscila entre los 100 – 1000µm de largo y la mayoría de estos son herbívoros o depredadores de vida libre (Wallace, L; Snell, T., 2001), este tipo de microorganismos habita en ambientes acuáticos como fondos de lagos, ríos, humedales, etc. y se alimenta principalmente de materia orgánica en descomposición, algas, bacterias, entre otros (Lazcano, C., 2016). Por otra parte, los nematodos miden aproximadamente 2,5mm de longitud, habitan en suelos y en todo tipo de aguas y se alimentan de bacterias, algas levaduras y materia orgánica (Lazcano, C., 2016). Por lo anterior se puede deducir que el crecimiento de las cepas en el sustrato se puede ver afectado debido a la competencia con otro tipo de microorganismos.

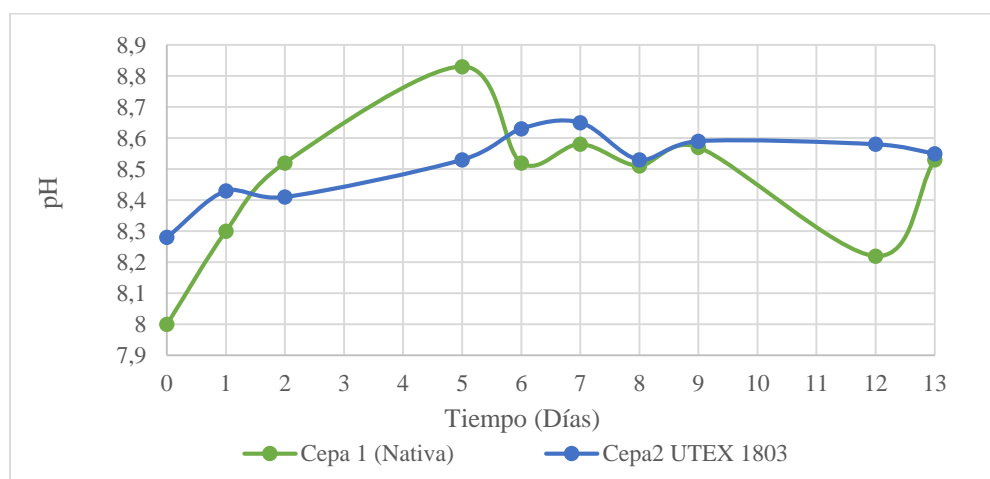


Figura 15. Comportamiento del pH durante los días de cultivo (fuente autor).

En la **Figura 15.** Comportamiento del pH durante los días de cultivo (fuente autor)., se observan los perfiles del comportamiento del pH en el cultivo de la experimentación 1, se determinan varias fluctuaciones en el pH y aumentos de este, lo que posiblemente no permitió el crecimiento en el sustrato ya que en trabajos realizados por autores establecen: Rodríguez, L; Gómez, M y Peraza, Y., 2014 evalúan el crecimiento de *Chlorella v.* a diferentes concentraciones de vinazas y el pH monitoreado en todos los cultivos fue de 7, por otra parte, en la investigación

de Cáceres, S., 2009 para aislar la microalga *Chlorella sp.* de un sistema hidropónico del tipo raíz flotante ajustaron el pH del medio de cultivo a 5,7 para asegurar su crecimiento.

Debido al mínimo crecimiento de la cepa UTEX 1803 se optó por hacer una segunda experimentación en la cual se modificó el medio y se evaluó otra concentración para la fase de adaptación.

4.3.2 Experimentación 2 de la fase de adaptación

En la experiencia 2 se modificó el sustrato agregando las cantidades KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , NaNO_3 especificadas por litro en BBM (Anexo 2) y, por otra parte, se evaluaron dos concentraciones de inóculo para cada cepa 20 y 30%. A continuación, se muestran las cinéticas de crecimiento del inóculo del 20% en el agua residual y el comportamiento del pH durante los 11 días de cultivo.

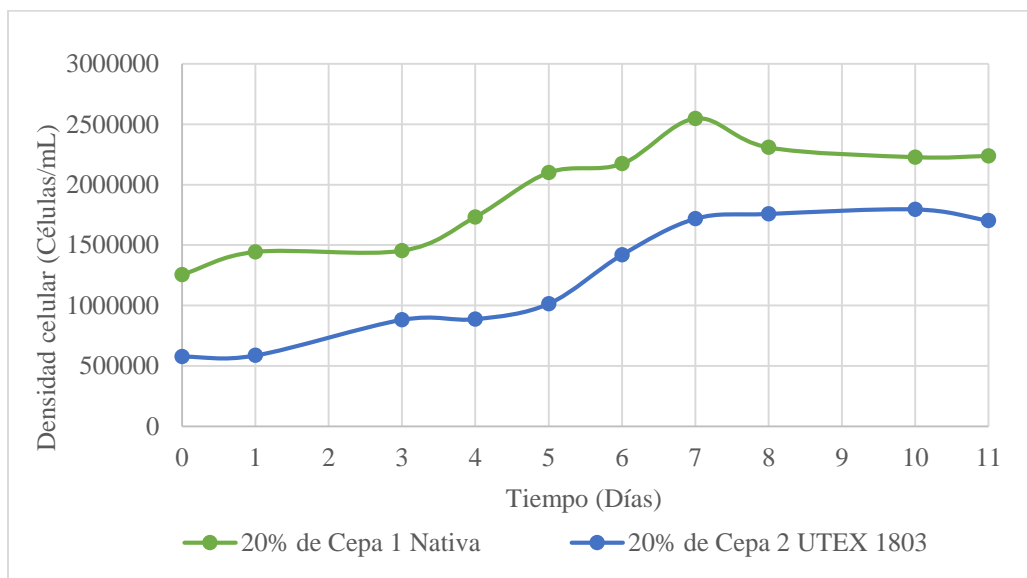


Figura 16. Crecimiento celular en la fase de adaptación concentración de cada cepa 20% (fuente autor).

El crecimiento celular mejoró notablemente como se puede observar en la **Figura 16**, la fase exponencial para la cepa nativa se dio hasta el día 7, en el día 8 ya se observa un decrecimiento celular y el comportamiento se mantuvo estacionario hasta el día 11, el crecimiento celular del día 0 al día 7 fue de $1,292 \times 10^6$ células/mL, por otra parte, el comportamiento del pH (**Figura 17**) durante el cultivo fue disminuyendo del día 0 al día 3 y tuvo un comportamiento constante del día 4 al día 11 con un pH ácido el cual favorece el cultivo, por otra parte, la disminución de pH pudo ser debida a la producción de oxígeno en el medio.

La cepa UTEX 1803 tuvo un excelente desempeño en esta fase, alcanzó un crecimiento celular de $1,217 \times 10^6$ células/mL el cual fue 26,08% mayor que en la experimentación 1, el pH (**Figura 17**) se mantuvo en un valor alcalino durante todo el cultivo lo que sigue siendo un valor que pueda estar afectado el crecimiento.

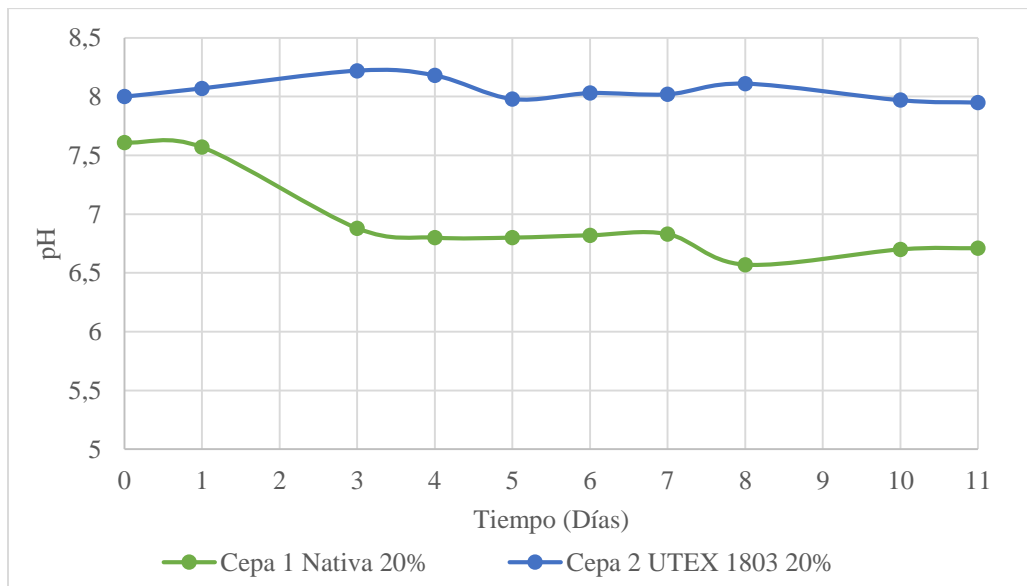


Figura 17. Monitoreo de pH para cada cepa durante el cultivo (fuente autor).

A continuación, en la **Figura 18** se muestra las cinéticas de crecimiento de los inóculos de 30% de microalga en agua residual, asimismo se muestra el comportamiento del pH durante los días de cultivo.

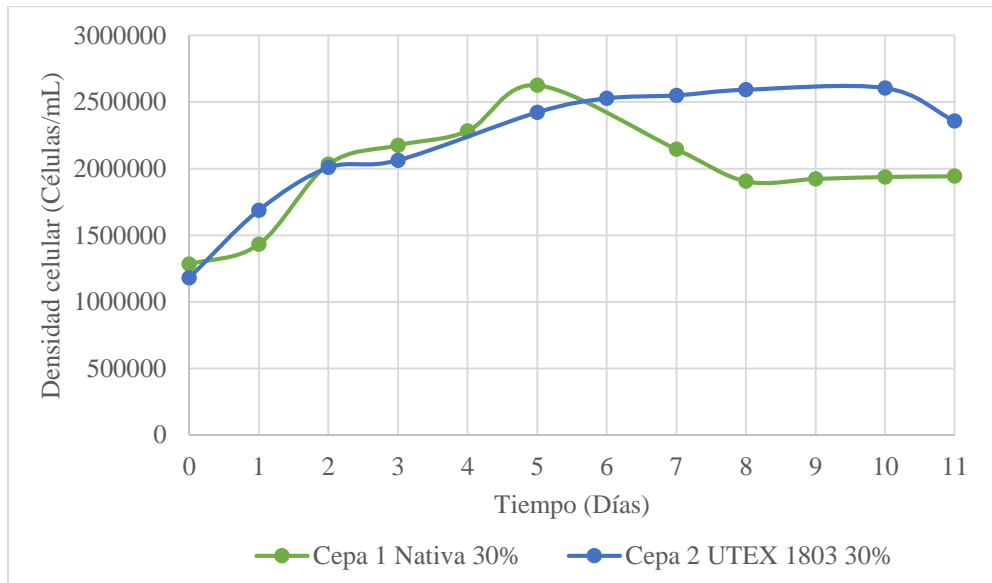


Figura 18. Cinéticas de crecimiento para los inóculos del 30% de microalga (fuente autor).

En la evaluación del crecimiento celular del cultivo de la cepa nativa, que se muestra en la **Figura 18** se observó gran contaminación en el cultivo ya que al realizar los conteos celulares se notó el crecimiento masivo de los microorganismos anteriormente nombrados (Hernández, A y Labbe, J., 2014), al ver en el día 7 la gran disminución celular se optó en hacer una revisión bibliográfica y se encontró que para descontaminar cultivos de microalgas, el género *Chlorella sp.* toleraba la eritromicina 700mg/L (Arredondolo, B; Voltolina, D., 2007), por lo tanto, el día 8 se maceró una pastilla cuya concentración era de 500mg/L y luego se agregó al cultivo por lo que puede ser un motivo en la fluctuación del pH (**Figura 19**) en esos días. El crecimiento exponencial de la cepa nativa se dio hasta el día 5 con un crecimiento celular de $1,342 \times 10^6$ células/mL.

El crecimiento celular de la cepa UTEX 1803 (*Figura 18*) tuvo un buen desempeño, la fase exponencial se dio hasta el día 6, del día 7 al día 10 aumentó la densidad celular de manera no muy significativa hasta que en el día 11 llegó a la fase de declinación. El incremento celular del día 0 al día 10 fue de $1,425 \times 10^6$ células/mL. El pH aumentó progresivamente (*Figura 19*) durante los días del tratamiento, posiblemente debido a la actividad fotosintética y a la desnitrificación del medio (Ruíz, A., 2011).

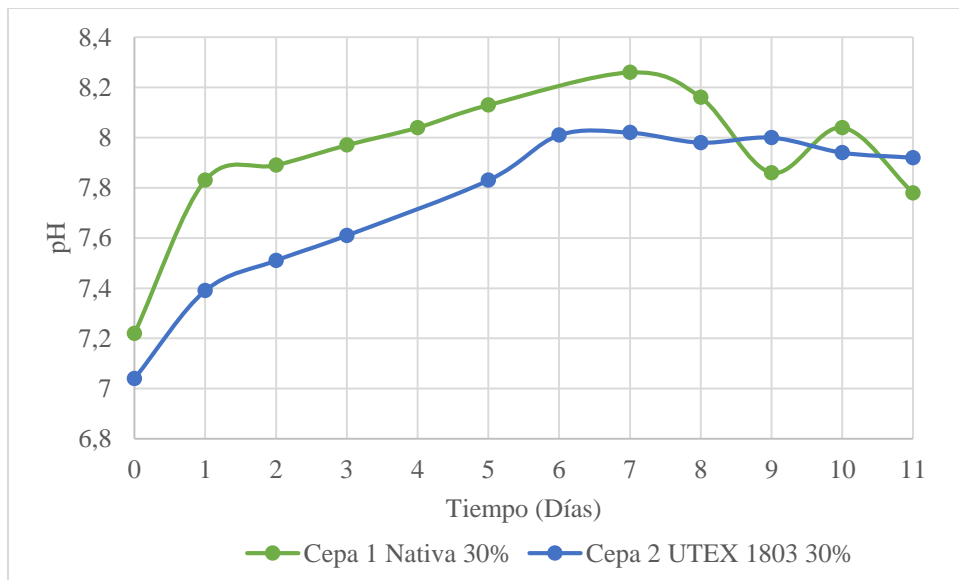


Figura 19. Monitoreo del pH en los días de cultivo de los inóculos del 30% (fuente autor).

4.3.3 Evaluación de remoción de nitratos y fosfatos en fase preliminar

Para determinar la disminución de la concentración de nutrientes se tomaron muestras inicial y final de cada medio de cultivo. Los resultados de remoción de nutrientes de los cultivos de 20% se muestran en la *Tabla 13*.

Tabla 13. Disminución de concentraciones de nitratos y fosfatos con inóculos de 20% de *C. vulgaris* (fuente autor).

Cepa	[] de NO ₃ (mg/L)		[] de PO ₄ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final
1	525,3	174,7	615,2	259,1
2	528,9	220,4	613,4	291,2

Para determinar el porcentaje de remoción se utilizó

$$\% \text{ Remoción} = \frac{[]_{inicial} - []_{final}}{[]_{inicial}} \times 100 \quad \text{Ecuación 13}$$

Se puede apreciar que la microalga *Chlorella v.* removió nitratos en mayor proporción con un porcentaje de 66,74 y 58,32% para la cepa 1 y cepa 2 respectivamente, resultados similares fueron reportado en investigaciones realizadas con el género *Chlorella* (Valderrama, T et al., 2002; Andrade, C; Chacón, C; Cárdenas, C y Morales, E., 2006; Arias, C., 2015; Hernández, A y Labbé, J., 2014; Olarte, E y Valencia, M., 2016). Por otra parte, el porcentaje de disminución de fosfatos para la cepa 1 y 2 fue de 57,88 y 52,52% respectivamente. Los resultados preliminares de remoción son satisfactorios, la microalga nativa tiene mayores porcentajes de remoción y esto tiene una gran ventaja, ya que se impulsa a el aislamiento de estas microalgas nativas y profundizar en investigaciones de dichos microorganismos; además de uso de recurso biológico propio del ambiente.

En la **Tabla 14** se muestran las concentraciones iniciales y finales para los cultivos de 30% de la microalga.

Tabla 14. Disminución de concentraciones de nitratos y fosfatos con inóculos de 30% de *C. vulgaris* (fuente autor).

Cepa	[] de NO ₃ (mg/L)		[] de PO ₄ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final
1	378,4	98,2	337,7	127,1
2	338,6	45,5	292	87,6

Los porcentajes de remoción correspondientes a nitratos para la cepa 1 y cepa 2 fue de 74,04 y 86,56% y los porcentajes correspondientes a remoción de fosfatos fue de 62,36 y 70% para la cepa 1 y cepa 2 respectivamente.

Comparando los resultados con los inóculos del 20%, la cepa 1 aumentó la remoción en 9,3 y 4,48% de nitratos y fosfatos respectivamente; por otra parte, la cepa 2 aumentó la eliminación de nitratos y fosfatos con un 28,24 y 17,48%. Una posible causa de los resultados de remoción de la cepa 1, puede ser la masiva contaminación que tuvo este cultivo, ya que hubo decrecimiento celular en muy poco tiempo. Además de esto, otra probable causa fue, que al tomar el volumen correspondiente al 30% la cepa 1 después de homogenizar el cultivo, se centrifugó, se lavó el cultivo y con agua destilada se llevó al volumen de inóculo correspondiente, asimismo se hizo con el inóculo de la cepa 2, sin embargo las concentraciones celulares en los inóculos del 20 y 30% para la cepa 1 tenían la misma densidad celular, esto se puede apreciar en las figuras 18 y 10; contrariamente a lo que pasó con los cultivo del 20 y 30 % de la cepa 2 ya que la concentración celular del inóculo del 30% cultivo de la cepa 2 tuvo 602500 células más que el inóculo del 20%. Por lo anterior, se puede explicar el aceptable tratamiento de la cepa nativa.

4.4 Especificaciones y caracterización hidrodinámica del fotobiorreactor air-lift

4.4.1 Especificaciones del reactor construido

En la *Tabla 15* se muestran las dimensiones, relaciones y volumen total del fotobiorreactor construido y en el Anexo 4 se muestra un esquema del biorreactor.

Tabla 15. Dimensiones del fotobiorreactor (Fuente autor).

Dimensiones del biorreactor air-lift construido (m)	
Altura del downcomer (h_D)	0,66
Altura del riser (h_R)	0,4
Altura de operación (L_o)	0,54
Distancia entre el difusor y riser (L_1)	0,05
Diámetro downcomer (D_D)	0,09
Diámetro riser (D_R)	0,058
Áreas de la sección transversal riser y downcomer	
A_R (m^2)	0,0026
A_D (m^2)	0,0064
Relaciones del bioreactor	
h_R/L_o	0,74
D_R/D_D	0,64
A_D/A_R	2,46
Volumen total del reactor (m^3)	0,0042
Volumen de operación (m^3)	0,0034

El material que se escogió para la construcción del fotobiorreactor fue polimetilmetacrilato (PMMA); este acrílico es el más empleado en la ingeniería y muy frecuentemente se encuentra en

forma de pellets o en láminas. Este acrílico se destaca entre todos los plásticos transparentes en cuanto a su resistencia a la intemperie, al impacto, tiene alta transparencia, resistencia al rayado y absorbe muy poca luz, debido a esto, la transmisión de la luz incidente a través de la hoja del acrílico es aproximadamente del 92% (García, 2012).

El fotobiorreactor *air-lift* de tubos concéntricos está totalmente construido en acrílico de 5mm de espesor, la entrada de gas es en la parte inferior, por lo tanto, el biorreactor cuenta con un plato difusor que tiene 90 agujeros de 0,002m de diámetro, para la toma de muestra o salida del efluente con biomasa, se instaló una llave de 1" en la parte inferior.

Para determinar todos los parámetros hidrodinámicos como medio se utilizó agua y el caudal de aire fue 6,41 L/min.

4.4.2 Coeficiente de transferencia de masa de oxígeno k_{La}

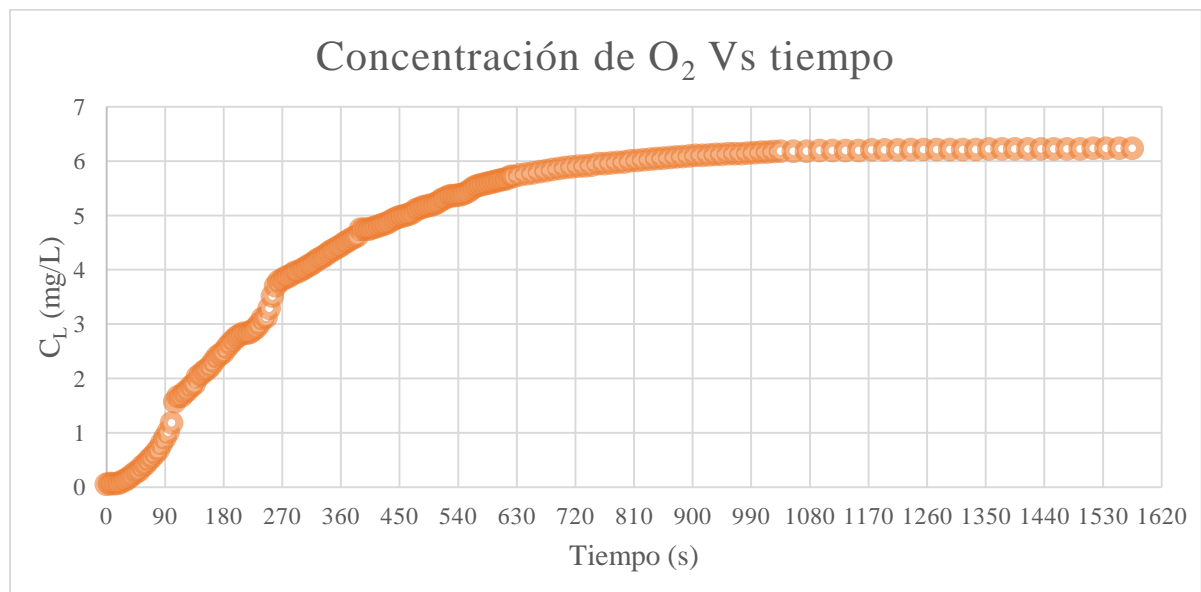


Figura 20. Comportamiento del oxígeno disuelto en el fotobiorreactor a 18°C, 6,41L/min, μ : 1cP (fuente autor).

La **Figura 20** muestra el comportamiento del oxígeno disuelto en el medio acuoso, este perfil es típico del aumento del oxígeno disuelto en biorreactores (Chisti, M., 1989; Erazo, R y Cárdenas, J., 2001).

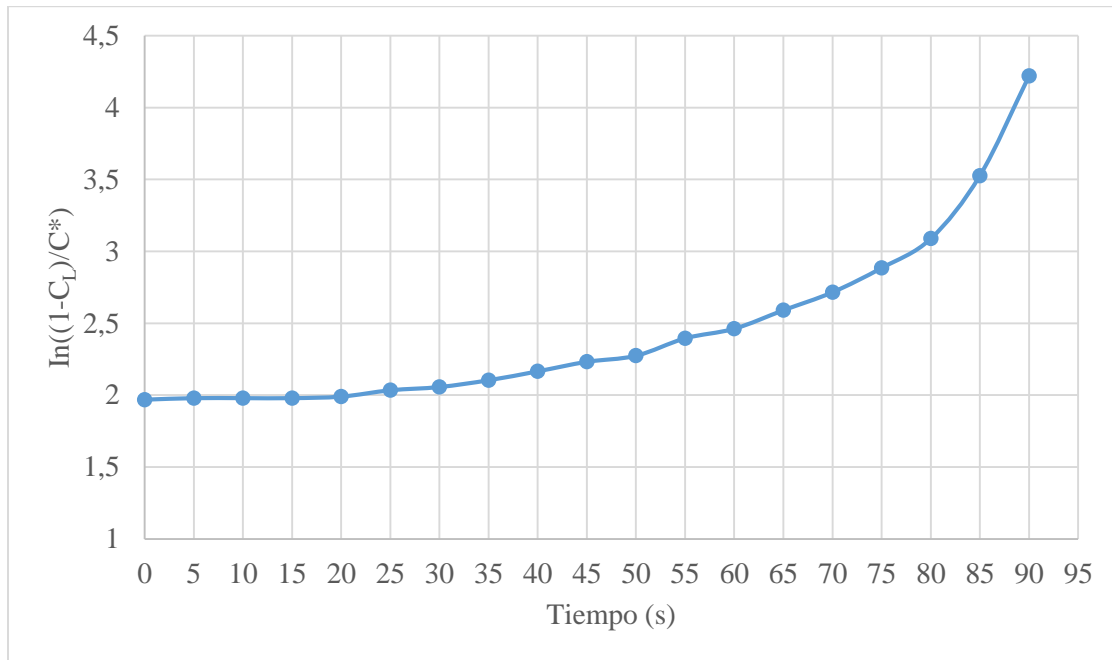


Figura 21. Determinación experimental de k_{La} (fuente autor).

La **Figura 21**, muestra el comportamiento de la determinación experimental del coeficiente de transferencia de masa volumétrico de oxígeno en el biorreactor con el flujo de aire de trabajo.

Tabla 16. Comparación del coeficiente de transferencia de masa volumétrico k_{La} (fuente autor).

AR/AD	Volumen (L)	Vg (m/s)	vvm	k_{La} (h-1)	Referencia
0,9	2	0,007 - 0,021	0,5 - 1,5	50,4 – 110	Sánchez, Y et al., 2016
0,376	2	12,0 - 80,0	-	10,0 - 32,0	Vega, J et al., 2005

1,95	2,44	0,02 - 0,004	-	52,072 - 8,544	López, O; Morales, J; Gutiérrez, M; Castañón, H., N.R
0,41	3,4	0,0119	1,88	67,68	Este trabajo

De la **Tabla 16** es posible establecer que a menores relaciones de A_R/A_D la transferencia de masa es mayor. El coeficiente de transferencia de masa determinado en este trabajo es alto teniendo en cuenta los trabajos reportados.

4.4.3 Tiempo de mezcla t_m



Imagen 22. Determinación experimental de tiempo de mezcla en el biorreactor por difusión de azul de metileno (fuente autor).

La **Imagen 22** muestra el cambio de color del medio al agregar los 2mL de azul de metileno, este ensayo se hizo por triplicada, el tiempo promedio que tardó en difundirse el azul de metileno fue de $5,303 \pm 0,0153$ s.

Tabla 17. Comparación de tiempos de mezcla con otros valores reportados en la bibliografía
(fuente autor).

Autores	Vg (m/s)	tm (s)
Sanchez, Y et al., 2016	0,0133	5,98
López, O; Morales, J; Gutiérrez, M; Castañón, H., N.R	0,0122	5,97
Guevara, E., 2004	0,023	10,6

Una sugerencia dada en la investigación de Sánchez, A et al., 2004 es que el tiempo de mezcla en los reactores airlift mejora si la velocidad de circulación del líquido aumenta, es decir, si el tiempo de circulación disminuye. Por lo tanto, se puede decir que el tiempo de mezcla depende principalmente de la geometría del reactor y no de la velocidad del flujo del gas, ya que, si la recirculación que genera el circuito cerrado del reactor se hace en menos tiempo, el fluido pasará con mayor frecuencia por la zona superior del tubo concéntrico y de esta forma la mezcla en el reactor mejorará.

Por lo anterior se puede determinar que el tiempo de mezcla que se da en el reactor es satisfactorio ya que es corto y esto se debe a la relación entre la altura del riser y la altura de operación (h_R/h_o) y asimismo por la relación entre las A_R/A_D (*Tabla 15*). En la **Tabla 17** se estable una comparación de los tiempos de mezcla obtenidos por otros autores y el obtenido en esta investigación,

4.4.4 Retención del gas ϵ

En la práctica, para determinar la retención del gas en biorreactores generalmente se utiliza el método de expansión volumétrica, pero, en reactores híbridos (air-lift) no suele ser muy precisa esta metodología; ya que al tener dos secciones dentro del reactor es necesario determinar la retención de gas en cada una de las zonas (riser - downcomer). Por lo tanto, para determinar la retención de gas en todo el reactor fue necesario calcular la velocidad del líquido en la zona ascendente y asimismo la retención de gas en dicha zona y en la zona descendente. Los parámetros calculados para determinar la retención del gas se encuentran en la **Tabla 18**.

Tabla 18. Parámetros calculados para determinar la retención del gas (fuente autor).

Parámetros hidrodinámicos calculados	
V_{LR} (m/s)	0,1591
h_D (m)	0,5521
K_b	6,4774
ϵ_R	0,0237
ϵ_D	0,0211
ϵ	0,0219

Tabla 19. Comparación de investigaciones realizadas utilizando biorreactores híbridos t.c: tubos concéntricos (fuente autor).

N°	Geometría	A_R/A_D	Volumen (L)	V_g (m/s)	vvm	ϵ	Referencia
1	T.C	0,06	65,37	0,012	0,04	0,35	Luo, L; Liu, F; Xu, Y; Yuan, J.
2	T.C	3,45	-	0,021 - 0,092	-	0,044 - 0,26	Ade, R; Robinson, C; Moo-Young, M.
3	T.C	0,89	-	0,05 - 0,3	-	0,192 - 0,33	Ade, R; Robinson, C; Moo-Young, M.
4	T.C	1,27	1100	0,036 - 0,251	0,381 - 2,686	0,013 - 0,058	Chisti, Y; Jauregui, U.
5	T.C	0,34	22,62	0,0161 - 0,071	-	0,065 - 0,1	Oliveri, G; Marzocchella, A; van Ommen, R; Salatino, P.
6	T.C	1,95	2,44	0,02	-	0,0265	López, O; Morales, J; Gutiérrez, M; Castañón, H.
7	T.C	0,41	3,4	0,0119	1,88	0,0219	Este trabajo

En la **Tabla 19** se muestran los resultados de los trabajos realizados con biorreactores de circulación interna y se puede notar que la retención de gas en el reactor es buena si se tiene en cuenta la dimensión del reactor y la velocidad del flujo de aire utilizada, por otra parte, debido a las relaciones entre el área del flujo ascendente y el flujo descendente se puede evidenciar que algunos trabajos reportados (2, 4, 6) tienen la misma geometría, sin embargo, el flujo de aire no es en el tubo interno sino en el tubo externo, por lo tanto, se necesitan dos inyecciones de aire en el reactor lo que puede generar un aumento en la retención del gas. El diseño geométrico de un biorreactor híbrido tiene gran influencia en la retención del gas debido a que la relación entre las áreas de sección transversal del downcomer y riser cambian el tiempo de residencia del líquido y del gas en cada sección del reactor y de esta forma a las retenciones de gas en cada sección del

equipo, con la disminución de A_D/A_R la retención de gas aumenta (Merchuk, J; Gluz, M., 2002). El trabajo de Merchuk, J; Contreras, A; García, F y Molina, E., 1998 estudian la mezcla de un biorreactor de tubos concéntricos cuyo volumen es de $12 \times 10^{-3} \text{ m}^3$ y las áreas de riser y downcomer son $2,83 \times 10^{-3} \text{ m}^2$ y $2,80 \times 10^{-3} \text{ m}^2$ respectivamente ($A_D/A_R = 0,99$), uno de los difusores de aire utilizados en este trabajo era cilíndrico perforado de forma triangular cuyos orificios son de $30 \times 10^{-3} \text{ m}$, con una velocidad de gas de $0,043 \text{ m/s}$ obtuvieron una retención de gas fue de $0,05$ aproximadamente, sin embargo, este valor podría ser relativamente pequeño comparando la geometría de este reactor con el reactor construido en esta investigación.

Se encontró gran cantidad de literatura sobre biorreactores híbridos con A_D/A_R menor a $1,0$, por lo que se puede decir que los reactores con A_D/A_R mayor a $1,0$ son limitados.

4.5 Puesta en marcha del fotobiorreactor construido

En el reactor se evaluaron las mismas concentraciones de inóculo de cada microalga, los parámetros de cultivo medidos durante los tratamientos se muestran a continuación.

4.5.1 Inóculos de las cepas 1 y 2 al 20% en el fotobiorreactor construido

A continuación, se muestra el crecimiento celular y los parámetros medidos en los cultivos en el fotobiorreactor.

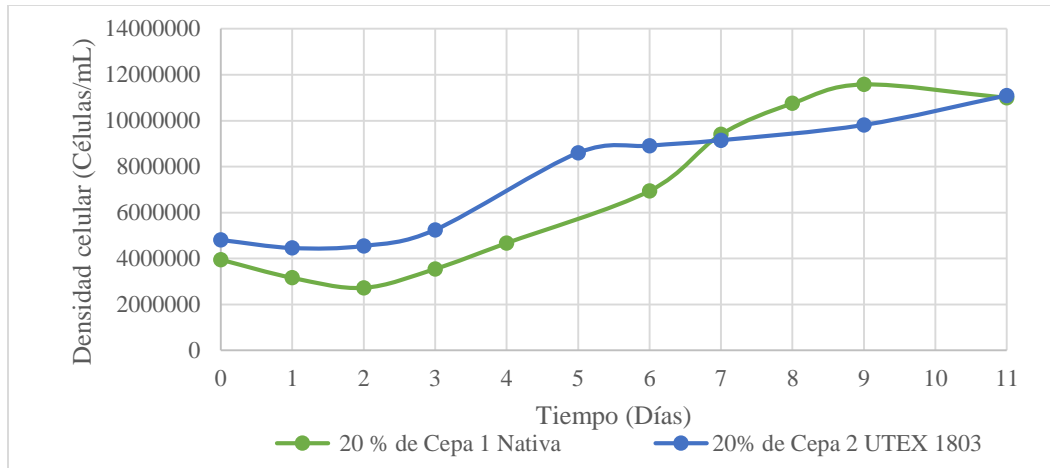


Figura 22. Crecimiento celular en los inóculos de las cepas 1 y 2 en el fotobiorreactor (fuente autor).

En la **Figura 22** se puede apreciar el crecimiento celular para los inóculos del 20% de cada cepa en el reactor, en el crecimiento de la cepa nativa, se puede notar un decrecimiento celular entre los días 0 y 2, posiblemente el decrecimiento se dio mientras las células se adaptaban a las condiciones del cultivo ya que se encontraba en un nuevo sistema; en el día 2 se dio lugar a el crecimiento en fase exponencial el cual duró hasta el día 9 del tratamiento y, finalmente, la microalga empezó su fase estacionaria, decreciente al día 11.

En el crecimiento celular de la cepa UTEX 1803, se puede notar que en la fase de adaptación entre los días 0 y 2, la densidad celular disminuyó, pero no de la misma manera que la cepa nativa, la cual, en el día 2 inició su fase de crecimiento exponencial hasta el día 11, al parecer esta cepa no llegó a su fase estacionaria al finalizar el de tratamiento.

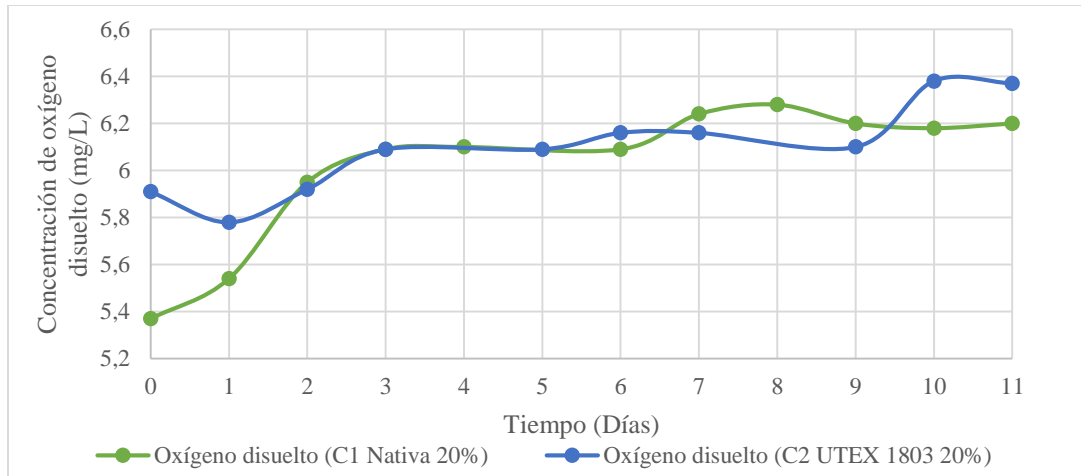


Figura 23. Comportamiento del oxígeno disuelto durante los días de cultivo (fuente autor).

El comportamiento de la concentración de oxígeno disuelto durante el tratamiento se muestra en la **Figura 23**; la agitación neumática en los cultivos tiene una gran importancia, ya que no permite la sedimentación ni aglomeración de la biomasa y, por lo tanto, facilita la transferencia de oxígeno en ellas (Díaz, V y Ordoñez, C., 2006). En el cultivo de la cepa nativa se ve un aumento de la concentración de oxígeno desde el día 0 hasta el día 8, siendo el día 8 con mayor concentración de O_2 , el día 9 disminuyó la concentración y permaneció constante hasta el día 11.

En el cultivo de la cepa 2 UTEX 1803, se nota una pequeña disminución de la concentración de oxígeno, lo anterior probablemente causado por su consumo por parte de los microorganismos en la fase de adaptación; el aumento de O_2 fue progresivo desde el día 1 al día 3, y del día 3 al día 9 tuvo un comportamiento aproximadamente estacionario; finalmente, del día 9 al día 11 tuvo un aumento en la concentración estableciendo un valor final de 6,4 mg/L.

Los valores de OD en ambos tratamientos se mantuvieron en un rango de 5.4 a 6,4 mg/L.

En la investigación realizada por (Velasco, Y et al., 2011) reportaron un promedio de concentración de oxígeno disuelto de 4,6mg/L en los medios de cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris*.

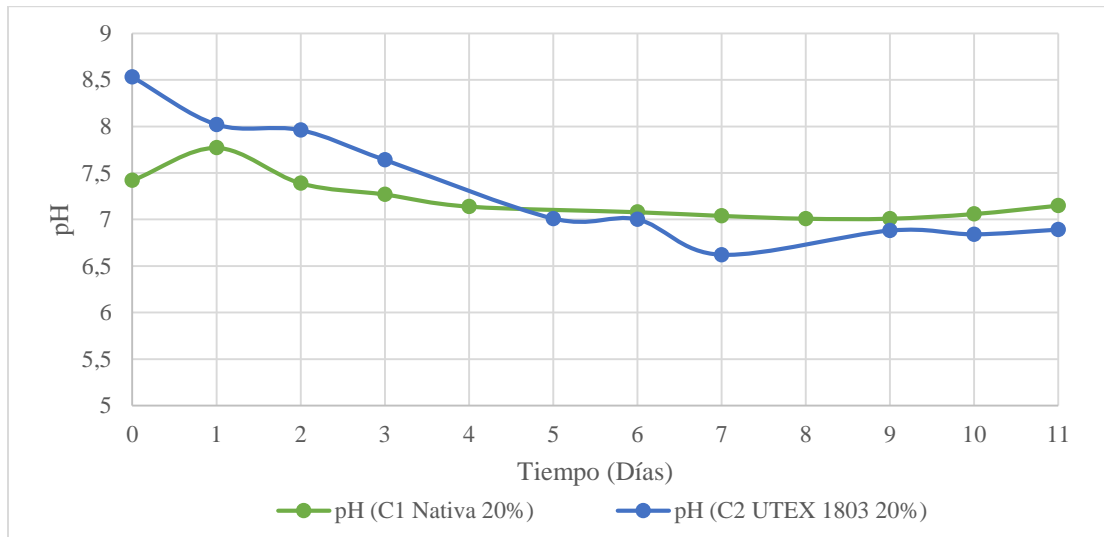


Figura 24. Comportamiento del pH durante los días de tratamiento (fuente autor).

El comportamiento de pH y luz se muestran en la **Figura 24** y **Figura 23**. Los valores de pH en los tratamientos se mantuvieron en un rango constante aproximadamente; la cepa nativa tuvo un aumento de pH en el día 1 de 7,42 a 7,77 y luego fue descendiendo a un valor de 7 durante todo el tratamiento. Para la cepa 2, el pH fue disminuyendo progresivamente desde un valor alcalino de 8,53 hasta un valor ácido de 6,89.

Mora, A., 1997 reportó que en su investigación la tasa de crecimiento máxima de *Chlorella vulgaris* se dio en un rango de pH de 6,31 a 6,84.

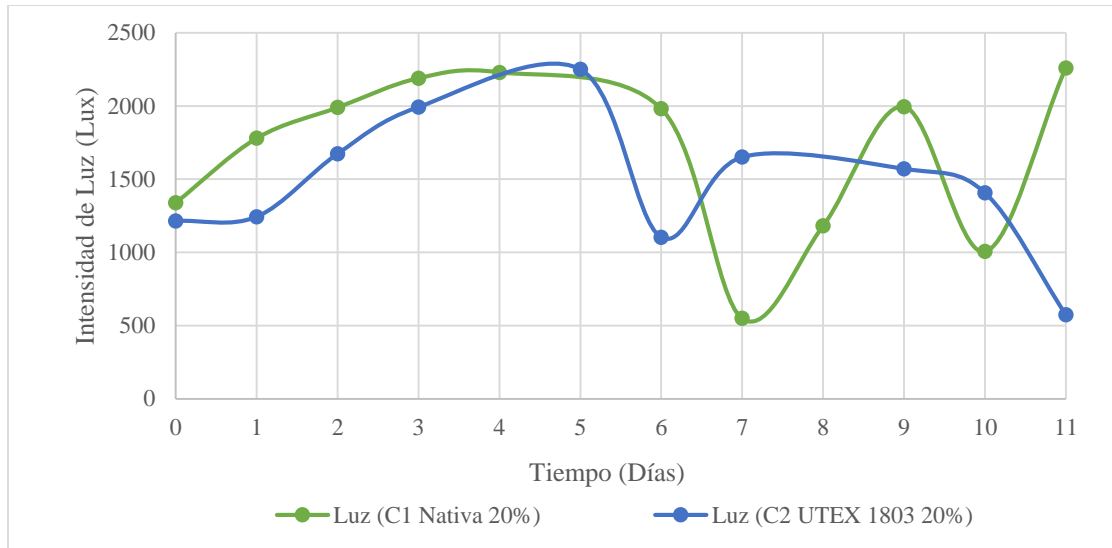


Figura 25. Comportamiento de la intensidad de luz en Pamplona durante los días de tratamiento (fuente autor).

La intensidad de luz fue medida durante los días de tratamiento utilizando un luxómetro, la cual se encontró en los rangos de los valores óptimos (*Figura 8*) para un buen desempeño del cultivo.

4.5.2 Inóculos de las cepas 1 y 2 al 30% en el fotobiorreactor construido

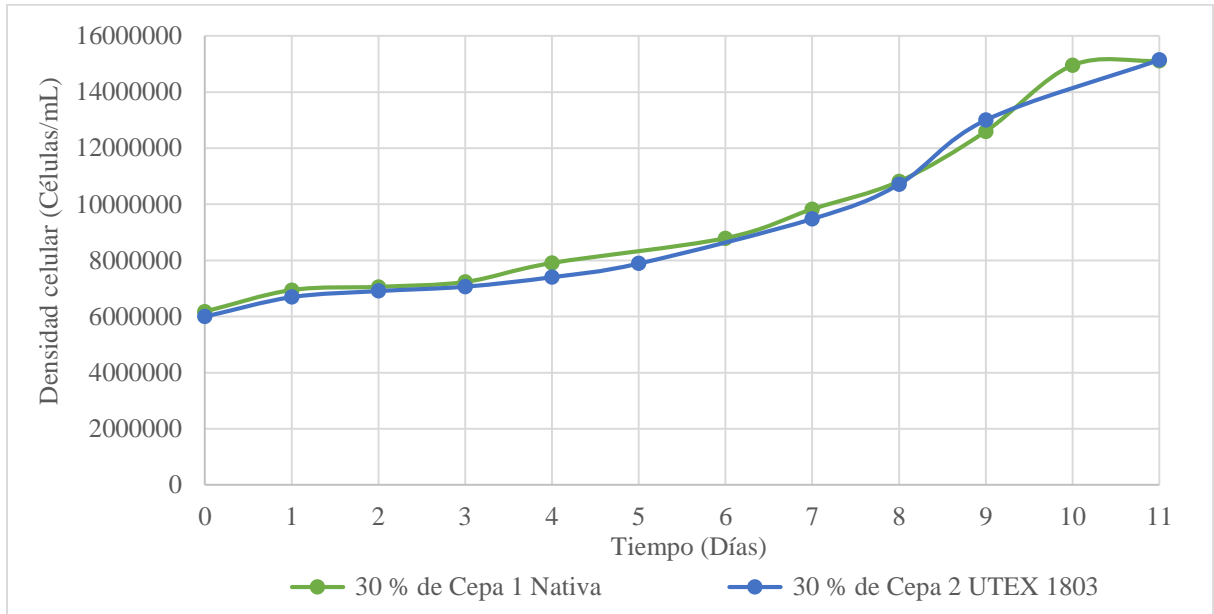


Figura 26. Cinéticas de crecimientos de las cepas 1 y 2 en el tratamiento del 30% de inóculo (fuente autor).

En las cinéticas de crecimiento mostradas anteriormente en la **Figura 26**, se puede observar un comportamiento muy similar entre el crecimiento de la cepa nativa y la cepa UTEX 1803, sin embargo, la diferencia se establece en que la cepa nativa para el día 10 y hacia el día 11 muestra su fase estacionaria y, por el contrario, la cepa UTEX 1803 mostró prologado crecimiento hasta el día 11 del tratamiento.

A continuación, en la **Figura 27** se muestra el comportamiento de los parámetros medidos en los cultivos de cada cepa durante los días de tratamiento.

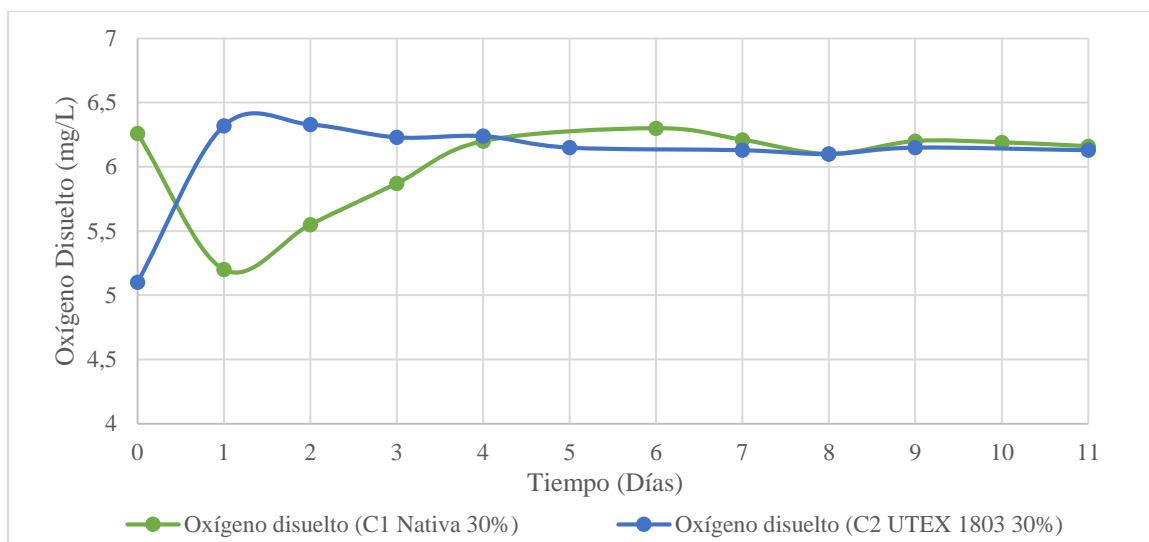


Figura 27. Comportamiento del oxígeno disuelto en los cultivos del 30% de microalga durante los días de tratamiento (fuente autor).

El comportamiento del oxígeno disuelto en el cultivo de la cepa nativa, la concentración en el día 0 fue de 6,26 mg/L, el día 1 disminuyó a un valor a 5,2; posteriormente aumentó a un valor de 6,24 mg/L para el día 4 y ahí se mantuvo estable hasta el día 11 del tratamiento. Por otra parte, la cepa UTEX 1803, inició con una concentración de 5,1 mg/L, el día 1 aumentó a un valor de 6,31 y al día 4 logró su estabilidad con un valor de 6,24 mg/L y se mantuvo en ese rango hasta el día 11 del tratamiento.

Finalmente, se presenta a continuación, en la **Figura 28** y **Figura 29**, el comportamiento del pH y la intensidad de luz medidas durante los días de tratamiento en el reactor.

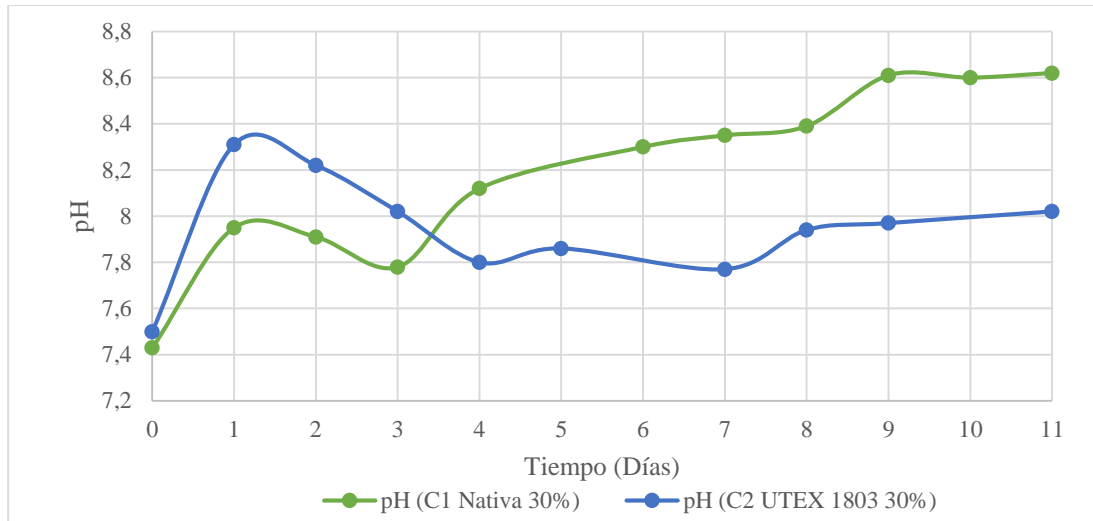


Figura 28. Comportamiento del pH durante los días de tratamiento con los inóculos del 30% (fuente autor).

El cultivo de la cepa nativa, en general, tuvo un aumento de pH progresivo; de 7,4 en el día 0, hasta un valor de 8,6. Por otra parte, el pH de la cepa UTEX 1803 tuvo un aumento de 7,5 a 8,31 en el primer día, siendo este el valor de pH más alto durante los días de cultivo, luego, a partir del día 2 el pH disminuyó de manera progresiva hasta el día 4 con un valor de 7,8 y finalmente, aumentó continuamente hasta el final del tratamiento con un pH de 8,02; sin embargo, a pesar de las fluctuaciones, el aumento de pH se dio desde el inicio al final del tratamiento. Las posibles causas de este aumento podrían ser debido a la desnitrificación por parte de la microalga y, por otra parte, también pudo ser causado por la actividad fotosintética (Ruíz, A., 2011).

La intensidad lumínica tuvo menos fluctuaciones en el cultivo de la cepa 2 como se puede observar en la **Figura 29**, sin embargo, la exposición de ambos cultivos se mantuvo en el rango óptimo de cultivo.

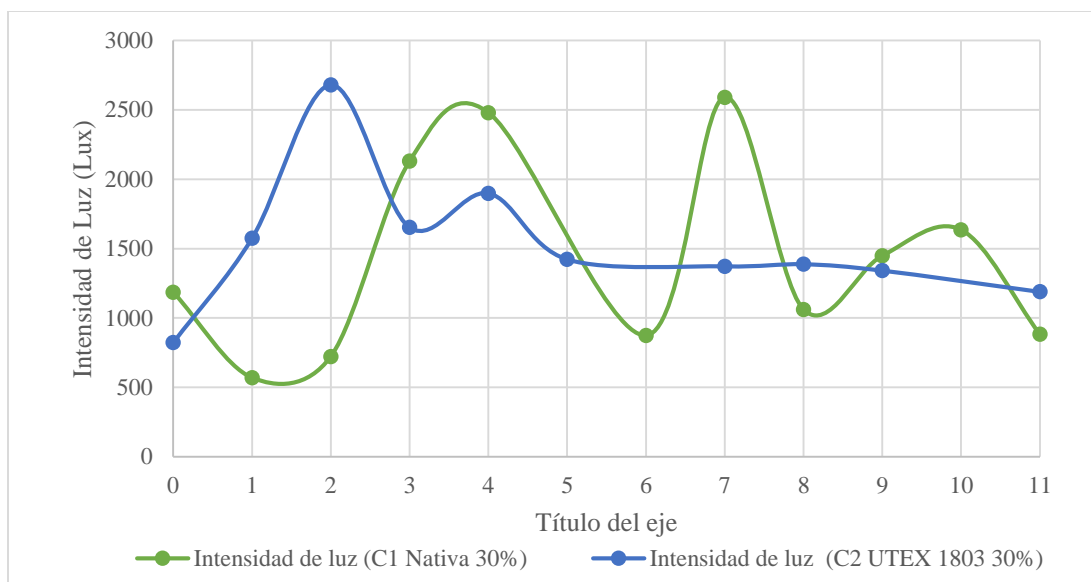


Figura 29. Comportamiento de la intensidad de luz durante los días de tratamiento con los inóculos del 30% (fuente autor).

4.5.3 Evaluación de remoción de nitratos y fosfatos en los tratamientos de 20 y 30% de microalga *Chlorella v*

Los porcentajes obtenidos por la **Tabla 20**, la cepa nativa removió nitratos con un 85,5% y la remoción de fosfatos fue de 63,9%, por otra parte, la cepa UTEX 1803 tuvo remoción de nitratos y fosfatos de 83,7 y 78,35% respectivamente. A continuación, en las tablas se encuentran la remoción de nitratos y fosfatos en los cultivos de 20 y 30% para cada cepa de *Chlorella vulgaris*:

Tabla 20. Disminución de concentraciones en los tratamientos con inóculos del 20% (Fuente autor).

Cepa	[] de NO ₃ (mg/L)		[] de PO ₄ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final
1	1073,4	154,7	536,5	193,6
2	1055,9	172,01	505	109,3

Tabla 21. Disminución de concentraciones en los tratamientos con inóculos del 30% (Fuente autor).

	[] de NO ₃ (mg/L)		[] de PO ₄ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final
1	1169,02	58,8	662,1	107,3
2	1266,6	94,3	708,3	62,5

Los porcentajes de remoción obtenidos con los resultados de la **Tabla 21** son del 95% de nitratos y 83,8% de fosfatos para la cepa nativa, y para cepa UTEX 1803, obtuvieron porcentajes de remoción del 92,5% y 91,2% para nitratos y fosfatos respectivamente.

A continuación, en la **Tabla 22**, se establece una comparación entre los montajes preliminares de remoción y la puesta en marcha del reactor. La tasa de crecimiento, número de generación y tiempo de generación se determinaron por la ecuación 11.

Tabla 22. Comparación ensayos preliminares y ensayos en el reactor (fuente autor).

	Cepas	Tasa de crecimiento específica (días ⁻¹)	Número de generaciones	Tiempo de generación (días)	Número de células producidas durante el ensayo	% Remoción NO ₃	% Remoción PO ₄
Ensayos preliminares	C1 Nativa 20%	0,09	0,14	7,40	1,26E+06	66,74	57,88
	C2 UTEX 1803 20%	0,18	0,26	3,88	5,78E+05	58,32	52,52
Ensayos biorreactor	C1 Nativa 20%	0,21	0,30	3,35	7,63E+06	85,5	63,9
	C2 UTEX 1803 20%	0,10	0,14	7,00	6,29E+06	83,7	78,35
Ensayos preliminares	C1 Nativa 30%	0,18	0,26	3,87	1,28E+06	74,04	62,36
	C2 UTEX 1803 30%	0,15	0,22	4,55	1,18E+06	86,56	70
Ensayos biorreactor	C1 Nativa 30%	0,13	0,18	5,49	8,94E+06	95	83,8
	C2 UTEX 1803 30%	0,12	0,17	5,99	9,15E+06	92,5	91,2

La comparación que se puede establecer entre los sistemas preliminares y la puesta en marcha del reactor air-lift, es que el crecimiento microalgal en la puesta en marcha del biorreactor fue satisfactorio ya que, en comparación con los sistemas preliminares, la cepa 1 nativa en los inóculos del 20 y 30% tuvo un porcentaje crecimiento mayor 83,5% y 85,6% respectivamente. Por otra parte, para la cepa 2 UTEX 1803, los porcentajes de crecimiento aumentaron en un 90,8% en el inóculo del 20% y con un 87,1% en el inóculo del 30%.

4.5.4 Características fisicoquímicas del agua residual antes y después del tratamiento

En la *Tabla 23* se muestra la estimación de parámetros fisicoquímicos después del tratamiento del cultivo. Por cuestiones económicas, sólo se realizó caracterización del efluente a un cultivo, por lo que se seleccionó el tratamiento de la microalga nativa con inóculo del 30%, ya esta cepa fue la que tuvo mejor desempeño en los tratamientos.

Tabla 23. Parámetros fisicoquímicos del agua residual, antes y después de tratamiento (fuente autor).

Parámetro	Inicial	Final	% Disminución
pH	7,41	8,02	-
Turbidez (NTU)	251,42	3,74	98,51
Color (PtCo)	1031,25	168	83,71
OD (mg/L)	1,01	6,13	No aplica
DQO (mg/L)	947,75	445	53,05
DBO5 (mg/L)	597,08	369,35	38,14
Dureza (mg CaCO ₃ /L)	202,92	80	60,57
Alcalinidad (mg CaCO ₃ /L)	203,33	30	85,25
Cloruros (mg Cl/L)	117,92	75	36,40
Acidez (mg CaCO ₃ /L)	119,17	40	66,43

El aumento de pH a un valor alcalino, es consecuencia, de la actividad fotosintética en la cual los iones carbonato del agua suministran a los microorganismos carbono en forma de CO₂, esto favorece la precipitación de ortofosfatos y la eliminación de nitrógeno amoniacal (Salazar, M., 2005; Ruiz, A.,2011),

Por otra parte, la disminución de los demás parámetros fisicoquímicos es evidente, la DQO disminuyó con un porcentaje de 53,05%, se observó una gran disminución en parámetros físicos como turbidez y color con porcentajes de 98,51 y 83,71% respectivamente.

Vacca, V; Angulo, E; Puente, D; Torrez, J y Plaza, M., 2016 en su investigación reportaron disminución de DQO y DBO5 con un 94,6% y 95,4% respectivamente. Por otra parte, Cartagena, C y Malo, O., 2017, reportan una disminución de DQO de 81,8%,

Finalmente, se puede determinar una excelente adaptación de las cepas de *Chlorella vulgaris* al agua residual, y con ello, se dio un tratamiento satisfactorio y una vez más se confirma que esta microalga tiene grandes ventajas debido a su capacidad de adaptarse fácilmente a medios contaminados (Kumar, M., 2010; Li, Y et al., 2011; Ruiz, A., 2011; Velasco, Y et al., 2011; Rodríguez, L; Gómez, L y Peraza, Y., 2014; Arias, 2015; Cartagena, C y Malo, O., 2017).

5 CONCLUSIONES

- El fotobiorreactor *air-lift* diseñado funcionó, optimizando las variables del sistema, en este sentido se mejoró: la homogenización del cultivo, el crecimiento celular, el comportamiento del pH, y oxígeno disuelto; por otra parte, la geometría del reactor permitió una buena actividad fotosintética mediante el traspaso de luz solar y no se dio sedimentación y aglomeración de la microalga en ninguno de los tratamientos comparando con los sistemas preliminares.
- Como resultado de las relaciones L_R/L_O y D_R/D_D en la geometría del fotobiorreactor, se obtuvo un coeficiente de transferencia de masa alto y un tiempo de mezcla satisfactorio, sin embargo, se debe plantear una optimización en la retención del gas ϵ , esta se determinó por un algoritmo matemático y se encontró un valor bajo a la velocidad de flujo de aire establecida para el sistema.
- Según la Resolución 0631, Capítulo 5- Artículo 8, el afluente a tratar se caracterizó por tener alta concentración de la DQO, asimismo, los valores de sólidos suspendidos volátiles y sólidos sedimentables excedieron el rango de la norma. El tratamiento con la cepa nativa obtuvo una disminución de la DQO, alcalinidad y acidez de 53,05, 85,25 y 66,43% respectivamente. Lo que indica que el tratamiento con la microalga *Chlorella vulgaris* es ventajoso debido a que se logró disminuir otro tipo de contaminantes.
- El monitoreo de las condiciones de los cultivos como fotoperiodo con luz solar, pH, oxígeno disuelto y crecimiento celular estableció que las cepas de *Chlorella vulgaris* lograron un buen desarrollo en el nuevo sustrato, sin embargo, la cepa nativa demostró adaptarse más fácilmente. En el tratamiento con 30% de inóculo

evaluado en el fotobiorreactor se obtuvo un crecimiento celular de $8,94E+06$ células.

- La remoción más alta de nitratos y ortofosfatos se logró en los cultivos con inóculos del 30% de cada una de las cepas. La cepa nativa removió nitratos en un 95% y fosfatos en un 83,8%, por otra parte, la cepa UTEX 1803 removió nitratos y fosfatos en un 92,5% y 91,2% respectivamente.

6 RECOMENDACIONES

En función de la caracterización hidrodinámica del fotobiorreactor se establece:

- Debido a que la retención del gas no sólo depende de la velocidad superficial del gas V_g sino también del tipo de difusor utilizado en el biorreactor y asimismo del tamaño de burbuja, se recomienda hacer estudios experimentales teniendo en cuenta estos parámetros y establecer una comparación con la retención de gas determinada en este trabajo.
- El fotobiorreactor air-lift diseñado cuenta con dos tubos concéntricos; para la comodidad de limpieza, el tubo interior se puede retirar del sistema fácilmente. Se recomienda caracterizar hidrodinámicamente el biorreactor como columna de burbujeo (sin el tubo interior) y evaluar el crecimiento de las cepas en este sistema.

Por otra parte, en función del tratamiento se recomienda:

- Evaluar el tratamiento con las cepas de *Chlorella vulgaris*, con aguas residuales tratadas y en el mejor de los casos que estas provengan de tareas o procesos en los que generen afluentes con alta concentración de nutrientes. Esto con el fin de evaluar la microalga como tratamiento biológico terciario.
- Realizar una escala piloto del proceso y determinar la viabilidad del proyecto con un análisis técnico-económico.

7 BIBLIOGRAFÍA

Acurio, S; Arciniegas, K. (2015). Evaluación de la remoción de nitritos y nitratos en muestras de agua del río de San Pedro Cantón Rumiñahui por microalgas clorofitas (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador.

Ade, R; Robinson, C; Moo-Young, M. (1984). Gas Holdup and Overall Volumetric Oxygen Transfer Coefficient in Airlift Contactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 27, 369 – 381.

Andrade, C; Chacón, C; Cárdenas, C y Morales, E. (2006). Remoción de nitrógeno y fósforo de aguas residuales urbanas por la microalga *Chlorella sp.* en condiciones de laboratorio. *CIENCIA*, 14, 58 – 63.

Arias, C. (2015). Evaluación preliminar de la remoción de nitrógeno total u ortofosfato de aguas residuales por *Chlorella sp.*, en un fotobiorreactor air-lift (Tesis de pregrado). Universidad de Pamplona, Pamplona, Colombia.

Arrendondo, B; Voltolina, D. (2007). Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de biomasa microalgal. Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, La Paz, México.

Benavente, J; Montañez, J; Aguilar, C; Méndez, A. y Valdivia, B. (2012) Tecnología de cultivo de microalgas en fotobiorreactores. *Acta Química Mexicana*, 4, 7.

Cáceres, O. (2009). Aislamiento y caracterización de las principales microalgas presentes en el sistema hidropónico del tipo raíz flotante. Tesis de pregrado. Universidad de Chile, Santiago de Chile, Chile.

Cartagena, C; Malo, O. (2017). Evaluación del uso de la microalga *Chlorella vulgaris* en la remoción de materia orgánica de las aguas residuales de la PTAR EL SALITRE a nivel laboratorio. Tesis de pregrado, Fundación Universidad de América, Bogotá D.C, Colombia.

Cheremisinoff, N; Cheremisinoff, P. (1995). Wastewater treatment systems. *Hazardous Materials and Waste Management*, 53-70. Fairleigh Dickinson University, Estados Unidos.

Chisti, M. (1989). *Airlift Biorreactors*. Elsevier, London. N.R

Chisti, Y; Jauregui, U. (2002). Oxygen transfer and mixing in mechanically agitated airlift bioreactors. *Biochemical Engineering Journal*, 10, 143-153.

Comisión Nacional del Agua. (2009). Manual de Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento: Diseño de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Municipales: Filtros Anaerobios de Flujo Ascendente. Tlapan, México, D.F.

Contreras, A; García, F; Molina, E; Merchuk, J. (1998). Interaction between CO₂-mass transfer, light availability, and hydrodynamic stress in the growth of *Phaeodactylum tricornutum* in a concentric tube photobiorreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 60, 317-325.

Cortés, F; Rubio, D; Gómez, E. (2013). Análisis comparativo de modelos hidrodinámicos y cinéticos para fotobiorreactores airlift. *ITECKNE*, 10, 57-66.

Craggs, R; Smith, V; McAuley, P. (1995). Wastewater nutrient removal by marine microalgae cultured under ambient conditions in mini-ponds. *Water science and technology*, 31, 151-160.

Davis, E; Dedrick, C; S-French, H; Milner, W; Myers, J; Smith, C y Spoehr, A. (1942). Chapter 9. LABORATORY EXPERIMENTS ON *CHLORELLA* CULTURE. En *ALGAL*

CULTURE “FROM LABORATORY TO PILOT PLANT” Editado por Burlew, S. Carnegie Institution of Washington, Stanford, California.

Diaz, Vanessa y Ordoñez, Camilo. (2006). EVALUACIÓN DEL pH Y LA AGITACIÓN DEL MEDIO MAS ADECUADA PARA EL CRECIMIENTO DE *Dunaliella salina* EN CONDICIONES DE LABORATORIO. Tesis de Pregrado. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Erazp, Raymundo y Cárdenas, Jorge. (2001). DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DEL COEFICIENTE DE TRANSFERENCIA DE OXÍGENO (kLa) EN UN BIORREACTOR BATCH. Revista Peruana de Química e Ingeniería Química, 4, N° 2, 22-27.

Fernandez, D; Sierra, J; Ruiz, S Y Sandoval, A. (2014). Diseño de un fotobiorreactor Airlift a escala banco. Elementos, 4.

Fernandez, M. (2013). Diseño, montaje y caracterización de fotobiorreactores *airlift* para el cultivo de la microalga *Chlorella sorokiniana*. Tesis de pregrado, Universidad EAFIT, Medellín, Colombia.

Fibras y Normas de Colombia S.A.S. (2004-2018). AGUAS RESIDUALES: CLASIFICACIÓN Y CARACTERISTICAS. Colombia.
<https://www.fibrasynormasdecolombia.com/terminos-definiciones/Categoria/agua-residuales/>.

Gani, P; Sunar , N; Peralta, H; Mohamed, R; Latiff, A; Parjo, U. (2017). Extraction of hydrocarbons from freshwater Green microalgae (*Botryococcus sp.*) biomass after phycoremediation of domestic wastewater. International Journal of Phytoremediation, 19, 679-685.

García, M. (2012). Comparación y evaluación de tres plantas acuáticas para determinar la eficiencia de remoción de nutrientes en el tratamiento de aguas residuales domésticas. Tesis profesional (Ingeniería Sanitaria). Universidad Nacional de Ingeniería.

García, M. (2012). Estudio de la influencia de la concentración de nanotubos de carbono de pared simple sobre la resistencia al rayado en polímeros de polimetilmetacrilato. Tesis de pregrado. Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena, Colombia.

Giraldo, I. (1995). Manual de análisis de aguas. Universidad Nacional de Colombia, Manizales, Colombia.

Guevara, Eliane. (2004). DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y CARACTERIZACIÓN HIDRODINÁMICA DE UN BIORREACTOR MULTIFUNCIONAL. Tesis de Pregrado. Universidad Tecnológica de la Mixteca, Huajuapán de León, México.

Hanumatha-Rao, P., Ranjith Kumar, R., Raghavan, B.G., Subramanian, V.V., Sivasubramanian, V. (2011). Application of phycoremediation technology in the treatment of wastewater from a leatherprocessing chemical manufacturing facility. *Water SA*, 37, 07–14.

Hernández, Alexis y Labbé, José. Microalgas, cultivo y beneficios. *Biología Marina y Oceanografía*, 49, 157-173.

Hernandez, B; Rodriguez, M; Lozano, C; Castilla, P. (2012). Remoción de nutrientes por tres cultivos de microalgas libres e inmovilizados. *Latinoam Biotecnol Amb Algal*, 3, 80-94.

Hernandez, J. (2007). Caracterización de fotobiorreactores tipo air-lift para la producción de biomasa en un consorcio microbiano fotosintético. Tesis de pregrado. Instituto Politécnico Nacional, Mexico.

Hoh, D; Watson, S y Kan, Eunsung. (2016). Algal biofilm reactors for integrated wastewater treatment and biofuel production. *Chemical Engineering Journal*, 287, 466-473.

Kahar, P; Kobayashi, K; Iwata, T; Hiraki, J; Kojima, M; Okabe, M. (2002). Production of ϵ -polylysine in an airlift biorreactor (ABR). *Bioscience and Bioengineering*, 93, 274-280.

Klein, J; Rosenberg, M; Markos, J; Dolgos, O; Krosiak, M; Kristofiková, L. (2002). Biotransformation of glucose to gluconic acid by *Aspergillus niger* – study of mass transfer in an airlift bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 10, 197-205.

Krauss, R. (1951). Chapter 8. INORGANIC NUTRITION OF ALGAE. En *ALGAL CULTURE FROM LABORATORY TO PILOT PLANT*, editado por Burlew, J. University of Maryland, College Park, Maryland.

Kumar, Martin; Miao, Zhihong; Wyatt, Sandy. (2010). Influence of nutrient loads, feeding frequency and inoculum source on growth of *Chlorella vulgaris* in digested piggery effluent culture medium. *Bioresource Technology*, 101, 6012-6018.

Lazcano Carreño, C. (2016). *Biotecnología ambiental de aguas y aguas residuales*, Bogotá Colombia, Ecoe Ediciones.

Li, Yecong; Chen, Yi-Feng; Chen, Paul; Min, Min; Zhou, Wenguang; Martínez, Blanca; Zhu, Jun y Ruan, Roger. (2011). Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. *Bioresource Technology*, 102, 5138-5144.

Lizardi, M. (2011). Contribución al estudio de la hidrodinámica y transferencia simultánea de masa en biorreactores airlift de tres fases: producción de un consorcio microbiano degradador de petróleo (Tesis doctoral). Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México.

Lopez, A; Rojas, C. (2010). Diseño y montaje de un fotobiorreactor a escala laboratorio para la producción de microalgas (Tesis de pregrado). Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

López, O; Morales, J; Ventura, C; Gutiérrez, A; Castañón, H. Caracterización hidrodinámica de un biorreactor multifuncional. División de Estudios de Posgrado e Investigación del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, Chapias, México.

Luo, L; Liu, F; Xu, Y; Yuan, J. (2011). Hydrodynamics and mass transfer characteristics in an internal loop airlift reactor with different spargers. *Chemical Engineering Journal*, 175, 494-504

Martínez, E; Sánchez, S; Jimenez, J; Yousfi, F; Muñoz, L. (2000). Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. *Bioresource technology*, 73, 263-272.

Masojídek, J; Torzillo, G. (2014). Mass Cultivation of Freshwater Microalgae. *Environmental Sciences*.

Mendoza, J. (2007). Caracterización de fotobiorreactores tipo air-lift para la producción de biomasa de un consorcio microbiano fotosintético. Tesis de pregrado. Instituto Politécnico Nacional Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, México, D.F.

Mendoza, M; Escamilla, M. (2013). Chapter 15 Hydrodynamics and Rheology Application to Secondary Metabolites Production. Airlift Bioreactors.

Merchuk, J; Gluz, M. (2002). Bioreactor, Air-lift Reactors. Encyclopedia Of Bioprocess Technology. P. 320.

Merchuk, J; Contreras, A; García, F y Molina, E. (1998). Studies of mixing in a concentric tube airlift bioreactor with different spargers. Chemical Engineering Science, 53, 709-719.

Milner, H. (1953). Chapter 19. The Chemical Composition of Algae. En ALGAL CULTURE FROM LABORATORY TO PLOT PLANT, editado por Burlew, J. Carnegie Institution of Washington, Stanford, California.

Mora, A. (1997). Effects of temperature and pH on the kinetic growth of unialga *Chlorella vulgaris* cultures containing bacteria. Water Environment Research, 69, 64-72.

Olarte, E y Valencia, M. (2016). EVALUACIÓN DEL USO DE LA MICROALGA *Chlorella vulgaris* EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES (VINAZAS). Tesis de pregrado. Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Colombia.

Oliveri, G; Marzocchella, A; van Ommen, J; Salatino, P. (2007). Local and global hydrodynamics in a two phase internal loop airlift. Chemical Engineering Science, 62, 7068-7077.

Olguín, E. (2003). Phycoremediation: key issues for cost-effective nutrient removal processes. Elsevier, 22, 81-91.

Perez García, O. (2009). Eliminación de nutrientes para el tratamiento biológico de agua residual usando un sistema inmovilizado microalga-bacteria en crecimiento autotrófico,

heterotrófico y mixotrófico (Tesis de maestría). Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S.C, La Paz, México.

Pérez Parra, A. (1981). Manual de Tratamiento de Aguas (Trabajo para ingresar como docente asociado). Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.

Pérez, Gustavo y Sotomayor, Javier. (2014). Análisis de Redundancia para Diagnóstico de Fallas de una Planta Desalinadora de Agua de Mar. ResearchGate.

Pescod, M; Mara, D. (1988). Design, operation and maintenance of wastewater stabilization ponds. En Pescod, et al. *Treatment and Use of Sewage Effluent for Irrigation*, 93-115. Reino Unido.

Pouliot, Y; Buelna, G, Racine, C; De la Noüe, J. (1989). Culture of cyanobacteria for tertiary wastewater treatment and biomass production. *Biological Wastes*, 29, 81-91.

Ramalho, R. (1983). Secondary Treatment: The Activated Sludge Process. *Introduction to Wastewater Treatment Processes* (Second Edition), 211-339. Faculty of Science and Engineering, Laval University, Quebec, Canada.

Ramalho, R. (1983). Tertiary Treatment of Wastewaters. *Introduction to Wastewater Treatment Processes*, 485-571. Faculty of Science and Engineering, Laval University, Quebec, Canada.

Ramalho, R. (1996). *Introduction to Wasterwater Treatment Process*, Quebec, Canada, Rerveté.

Ramirez, G; Jacop, E; Queiroz, L. (2013). Fotobiorreactor: Herramienta para el cultivo de cianobacterias. *Dialnet*, 6, 9-19.

Rodríguez, Leyanis; Gómez, Liliana y Peraza, Yamilet. (2014). EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE CHLORELLA VULGARIS EN DIFERENTES CONCENTRACIONES DE VINAZA. *Centro Azúcar*, 41, 75-85.

Rubio, D; Sandoval. J. (2014). Diseño de un fotobiorreactor Airlift a escala banco. ResearchGate.

Ruíz, Ana. (2011). Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente. Tesis de Mestría. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.

Salazar, Margarita. (2005). Aplicación e importancia de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales. Laboratorio de Microbiología y Tratamiento de Aguas Residuales, Universidad Autónoma de México.

Salgot, M; Montserrat, F. (2018). Wastewater treatment and water reuse. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 2, 64-74.

Sánchez, Y; Reyna, R; Aguilar, R; Torres, G; Rodriguez, R. (2016). Tratamiento fúngico de un agua residual municipal en un reactor air-lift de circulación interna. ResearchGate.

Sandoval Riofrio, A. (2013). Diseño, construcción y puesta en marcha de un fotobiorreactor piloto para el crecimiento de la microalga *Chlorella sp* en el laboratorio de biotecnología y energías renovables de la empresa eléctrica Quito (Tesis de pregrado). Escuela Politécnica del Ejército, Sangolquí, Ecuador.

Scholz, Miklas. (2006). Chapter 18 -Activated sludge processes. *Wetland Systems to Control Urban Runoff*. 115-129.

Serrano, Luis. (2012). Estudio de cuatro cepas nativas de microalgas para evaluar su potencial uso en la producción de biodiesel. Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Sun, J; Simsek, H. (2017). Bioavailability of wastewater derived dissolved organic nitrogen to green microalgae *Selenastrum capricornutum*, *Chlamydomonas reinhardtii*, and *Chlorella vulgaris* with/without presence of bacteria. *Journal of Environmental Sciences*, 57, 346-355.

Tebbutt, T. (1998). Chapter 19 - Tertiary treatment, water reclamation and re-use. *Principles of Water Quality control*. 238-258.

Tratamiento de Aguas, Efluentes y Reuso S.A, TAERSA. (2016-2018). Lodos activados, Argentina. <https://www.taersa.com/tecnologias-procesos/tratamiento-de-efluentes/tratamiento-secundario-o-biologico/lodos-activados/>.

Ugwu, C; Aoyagi, H; Uchiyama, H. (2008). Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource Technology*, 99, 4021-4028.

Valderrama, T; Del Campo, M; Rodriguez, M; Bashan, E; Bashan, Y. (2002). Treatment of recalcitrant wastewater from ethanol and citric acid production using the microalga *Chlorella vulgaris* and the macrophyte *Lemna minuscula*. *Water Research*, 36, 4185-4192.

Vega, J; Montes, M; Domínguez, A; Cañizares, R. (2005). *Haematococcus pluviialis* cultivation in Split-cylinder internal-loop airlift photobioreactor under aeration conditions avoiding cell damage. *Microbiol Biotechnol*, 68, 31-35.

Velasco, H. (2009). An airlift continuous bioreactor for high-rate treatment of domestic sewage. *New Biotechnology*, 25, 197-198.

Velasco, Yohana; Muñoz, Marcela; Ramírez, Juan; Otero, Angélica; Medina, Victor; Cruz, Pablo. (2011). Efecto del medio de cultivo sobre el crecimiento y el contenido proteico de *Chlorella vulgaris*. *Rccp Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25, 438-449.

Wallace, Lee; Snell, Terry. (2001). PHYLUM ROTIFERA. Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates (Second Edition), 195-254.

Wang, J; Zhong, J. (2001). Bioprocessing For Value-Added Products From Renewable Resources. Elsevier Science, 131-161.

Wong, J; Wong, Y; Tam, N. (2000). Nickel biosorption by two *Chlorella* species, *C. vulgaris* (a commercial species) and *C. miniata* (a local isolate). *Bioresource technology*, 73, 133-137.

8 ANEXOS

8.1 Anexo 1. Principales procesos operacionales en tratamientos de aguas residuales (Lazcano,2016).

Pretratamiento	Tratamiento primario		Tratamiento secundario		Tratamiento terciario	Desinfección
	Química	Físico	Biológico	Remoción de sólidos		
Cribado y remoción de arena	Neutralización	Flotación	Lodos activados	Sedimentación	Coagulación y sedimentación	Cloración
Dilaceración	Coagulación	Sedimentación o decantación	Laguna anaerobia		Filtración	Radiación UV
Desgrasado		Filtración	Filtro percolador		Adsorción con carbón activado	Iones de plata
Hogenización		Floculación	Laguna aireada		Intercambio ionico	
			Lagunas convencionales		Membranas	
			Biodiscos		Lagunas de maduración	
			Filtros anaerobios		Lagunas de alta producción de biomasa	

8.2 Anexo 2. Especificaciones del medio Basal Bold (fuente autor).

Componentes	Cantidad por litro (mg)
KH ₂ PO ₄	175
CaCl ₂ *2H ₂ O	25
MgSO ₄ *7H ₂ O	75
NaNO ₃	250
K ₂ HPO ₄	75
NaCl	25
H ₃ BO ₃	11,42
Solución stock microelementos	1 mL
Solución 1	1 mL
Solución 2	1 mL
Solución stock microelementos	Cantidad por litro (g)
ZnSO ₄ *7H ₂ O	8,82
MnCl ₂ *4H ₂ O	1,44
MoO ₃	0,71
CuSO ₄ *5H ₂ O	1,51
Co(NO ₃) ₂ *6H ₂ O	0,49
Solución 1	Cantidad por litro (g)
Na₂EDTA	50
KOH	3,1

Solución 2	Cantidad por litro (g)
FeSO ₄	4,98
H ₂ SO ₄ concentrado	1mL

8.3 Anexo 3. Características típicas de un agua residual doméstica (Lazcano, C., 2016).

Parámetro	Fuerte	Medio	Ligero
DBO₅	400	220	110
DQO	1100	500	250
COT	290	160	80
N. Orgánico	35	15	8
NH₃-N	50	25	12
N Total	85	40	20
P Total	15	8	4
Sólidos totales	1200	720	350
Sólidos suspendidos	350	220	100
Sólidos sedimentables	20	10	5
Cloruros	100	50	30
Alcalinidad (CaCO₃)	200	100	50

Grasas	150	100	50
Sulfatos	34	22	12
Compuestos orgánicos volátiles	> 400	100- 400	<100

8.4 Anexo 4. Esquema del fotobiorreactor construido (fuente autor).

