

**DESARROLLO DE UN SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE *CHLORELLA*
VULGARIS EN AGUAS RESIDUALES DE EXPLOTACIÓN ACUICOLA.**

**LAURA JULIANA GÜIZA FRANCO
LUIS GABRIEL OROZCO ROJAS**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2017

DESARROLLO DE UN SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE *CHLORELLA VULGARIS* EN AGUAS RESIDUALES DE EXPLOTACIÓN ACUICOLA.

**LAURA JULIANA GÜIZA FRANCO
LUIS GABRIEL OROZCO ROJAS**

**Trabajo de grado como requisito para optar el título de:
Ingeniero Químico**

Director

**Crisóstomo Barajas Ferreira
Ingeniero Químico M.Sc**

Codirector

**Andrés Fernando Barajas Solano
Ph.D en Ingeniería Química**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2017

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi codirector Andrés Barajas Solano y director Crisóstomo Barajas Ferreira por sus enseñanzas, dedicación y orientación en este trabajo de investigación. A mi mamá, este título es muestra de su esfuerzo y dedicación ante tantas adversidades. A mi hijo quien cada día con su sonrisa me da motivos para seguir luchando. También quisiera resaltar mi gratitud hacia aquellas personas que nunca perdieron la fé en mí, a pesar de haber caído tantas veces:

Mi familia, Sandra Güiza, Luis C Fernández, Elkin Castro, Nanda Franco, Sergio Herreño, Juan Ordoñez, Diana Vargas, Gabriel Orozco y Zaida Rodríguez que me mostraron que hasta en las peores circunstancias y momentos de incertidumbre siempre podía encontrar con un apoyo incondicional, a Fabián Tapias quien me acompañó en muchos momentos trascendentales en mi vida y me ayudo a surgir como persona a pesar de las diferencias y por ultimo a Dios quien día a día me dio la fuerza para seguir adelante.

Laura Juliana Güiza Franco

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	13
1. OBJETIVOS	17
1.1. OBJETIVO GENERAL.....	17
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
2. METODOLOGÍA	18
2.1. DESINFECCIÓN UV.....	18
2.2. PRODUCCIÓN DE C. VULGARIS EN MEDIO TRATADO.....	21
2.2.1. Densidad Óptica (Moheimani et al. 2013).....	22
2.2.2. Peso seco (Moheimani et al. 2013).	22
2.2.3. Cenizas (Moheimani et al. 2013).	23
2.2.4. Concentración de proteínas (Moheimani et al. 2013).	23
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
3.1. DESINFECCIÓN UV.....	24
3.2. PRODUCCIÓN DE C. VULGARIS EN MEDIO TRATADO.....	26
3.3. ESQUEMA PROPUESTO PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA EMPLEANDO EL AGUA RESIDUAL DE LA EMPRESA LA GRANJA S.A.S.	31
4. CONCLUSIONES	35
5. RECOMENDACIONES	36
BIBLIOGRAFIA	37
ANEXOS	42

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Diagrama de flujo metodología	18
Figura 2. Pareto para variables estudiadas.	24
Figura 3. Superficie de respuesta para la presencia de coliformes.....	25
Figura 4. Concentración de biomasa para los diferentes experimentos.	28
Figura 5. Pareto para variables estudiadas.	29
Figura 6. Superficie de respuesta para la producción de biomasa.	29
Figura 7. Caracterización de biomasa.	30
Figura 8. Proceso de producción de mojarra	31
Figura 9. Esquema integrado.....	32
Figura 10. Inversión vs PB para los sistemas planteados.....	34

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Variables para el diseño de experimentos	19
Tabla 2. Diseño de experimentos para el tratamiento del agua.	20
Tabla 3. Variables para el diseño de experimentos	21
Tabla 4. Diseño de experimentos para el cultivo de biomasa.	22
Tabla 5. Resultados de uso de agua residual.	33

ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. Dimensiones y distribución de la cámara de radiación	42
ANEXO B. Imágenes tomadas de la calculadora ENALGAE (ECONOMIC MODEL FOR OPEN POND CULTIVATION V3.06).....	43

RESUMEN

TÍTULO: DESARROLLO DE UN SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE *Chlorella vulgaris* EN AGUAS RESIDUALES DE EXPLOTACIÓN ACUICOLA.*

AUTORES: LAURA JULIANA GÜIZA FRANCO, LUIS GABRIEL OROZCO ROJAS.**

PALABRAS CLAVES: sistema UV, aguas residuales, microalgas

DESCRIPCIÓN:

Actualmente Colombia posee un gran desarrollo en la industria acuícola, este conlleva a un aumento significativo en el tamaño final de los residuos a tratar, en el caso de la acuicultura el agua residual es el principal problema debido al alto contenido de nutrientes (residuos de comida y heces fecales) y agentes patógenos (virus, bacterias, etc.) los cuales al ser descargados al ambiente pueden generar problemas ambientales de gran escala. En el presente trabajo se presenta la evaluación de un sistema de aprovechamiento de los residuos disueltos en el agua mediante el cultivo de *Chlorella vulgaris*, para esto primero se construyó un canal UV evaluando 4 variables (Tiempo, distancia de las lámparas hacia el canal, cantidad de lámparas y concentración de la muestra) empleando un diseño factorial 4^3 para el pre-tratamiento del agua (eliminación de coliformes) encontrando que un tiempo (3-5 min) y el número de lámparas (3-4) de 15 Watts es suficiente para eliminar completamente los coliformes. Una vez pre-tratado el medio residual se evaluó el efecto de la relación C/N (Carbonato de sodio y nitrato de potasio) en la producción de biomasa y proteínas empleando un diseño factorial 2^3 . Los resultados obtenidos demuestran que a mayores concentraciones de nitrato ($>0,22$ g/L) y concentraciones de hasta 1 g/L de carbonato es posible obtener cerca de 4g/L en biomasa.

Se determinó el posible costo asociado a la construcción, arranque y mantenimiento del sistema sugerido para la reutilización de agua tratada, teniendo cuenta las siguientes variables: promedio de irradiación solar anual, evaporación anual, temperatura promedio anual (mínimos y máximos), costo de la tierra, fertilizantes, energía (kW/h), producción de biomasa (en peso seco) y valor de la biomasa producida de 5€/kg para un sistema de 320 m^3 y 2180 m^3 .

* Trabajo de grado.

** Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director Crisóstomo Barajas Ferreira. Codirector Andrés Fernando Barajas Solano.

ABSTRACT

TITLE: Development of a Production System about *Chlorella vulgaris* in Residual Waters of Aquiculture Exploitation.*

AUTHORS: LAURA JULIANA GÜIZA FRANCO, LUIS GABRIEL OROZCO ROJAS.**

KEY WORDS: UV system, residual waters, micro-algae.

DESCRIPTION:

Currently Colombia has a great development in the aquaculture industry, this leads to a significant increase in the final size of the waste to be treated, , in the case of aquaculture wastewater is the main problem due to the high content of nutrients (Food and fecal waste) and pathogens (viruses, bacteria, etc.) which can be discharged into the environment and can lead to large-scale environmental problems. In the present work the evaluation of a system of utilization of dissolved residues in the water by the cultivation of *Chlorella vulgaris* is presented, for this first a UV channel was constructed evaluating 4 variables (Time, distance of the lamps towards the channel, quantity Of lamps and concentration of the sample) using a factorial design 4³ for the pre-treatment of water (elimination of coliforms) finding that a time (3-5 min) and the number of lamps (3-4) of 15 Watts is sufficient To completely eliminate the coliforms. After the pre-treatment the residual medium evaluated the effect of the C / N ratio (sodium carbonate and potassium nitrate) on the production of biomass and proteins using a factorial design 2³. The results obtained demonstrate that higher nitrate concentrations (> 0.22 g / L) and concentrations of up to 1 g / L of carbonate, it is possible to obtain about 4 g / L in biomass.

The possible costs associated with the construction, starting and maintenance of the suggested system for the reuse of treated water were determined, taking into account the following variables: average annual solar irradiation, annual evaporation, annual average temperature (minimum and maximum), cost of (KW / h), production of biomass (in dry weight) and biomass value of 5 € / kg for a system of 320 m³ and 2180 m³.

* Trabajo de grado.

** Faculty of Physicochemical Engineering. School of Chemical Engineering. Director Crisóstomo Barajas Ferreira. Codirector Andrés Fernando Barajas Solano.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial la producción de pescado es la actividad productora de alimentos con mayores índices de crecimiento, de acuerdo con la FAO (2014) en América Latina esta industria ha potencializado significativamente la generación de empleo, ya que existen más de 100.000 familias rurales que cuentan con algún tipo de sistema acuícola para la generación de proteínas, bio abonos y otros, por lo cual la acuicultura de recursos limitados (AREL) está cumpliendo un significativo rol en el autoempleo y seguridad alimentaria en las familias rurales de la región, y la acuicultura de micro y pequeñas empresas (AMYPE) se está transformando en un importante generador de ingresos para pequeños productores latinoamericanos.

En Colombia la acuicultura ha crecido exponencialmente (13% anualmente durante los últimos 27 años) desplazando en el 2011 a la pesquera nacional y de captura, debido principalmente al aumento de los costos de producción frente a un prolongado estancamiento de los precios de los productos finales. A esto se le suma el incremento en la tasa de consumo mundial de alimentos a base de pescado la cual se espera que llegue hasta los 21.5 kg/cápita/año para el 2020 (Delgado *et al.*, 2003). De acuerdo con el Plan Nacional de para el Desarrollo Sostenible de la Acuicultura en Colombia (AUNAP-FAO, 2014) la pesca y la acuicultura son dos importantes sectores de la producción de alimentos para consumo nacional y la exportación los cuales contribuyen a la superación de la pobreza en las zonas rurales; de igual forma el país posee una gran riqueza hídrica (tanto continental como marina) lo cual le ha permitido desarrollarse sostenidamente en la producción de diversas especies tropicales y subtropicales.

Por otra parte la acuicultura colombiana se concentra en gran mayoría de los departamentos de la Región Andina, donde es mayor su presencia y en algunos

departamentos de las regiones Amazonía y Orinoquía, en donde casi todos los cultivos se ubican en el pie de monte de la Cordillera Oriental, estos sistemas se caracterizan por estar en núcleos familiares agrícolas en su mayoría dedicados exclusivamente a la cría y otras con sistemas mixtos; Sin embargo este crecimiento acelerado conlleva ciertas restricciones entre estas se resaltan 3, la demanda de alimento para acuicultura, el alto volumen de agua fresca empleada y la alta concentración de aguas residuales (Martins *et al.*, 2010; Mook *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2015).

De los anterior cabe resaltar que la huella hídrica es sin lugar a dudas el principal problema a resolver, ya que toda el agua utilizada debe ser tratada para su posterior disposición para el caso de la acuicultura, ya que 75% del alimento utilizado se mantiene en forma de nitrógeno y fosforo en el agua post-cultivo (Crab *et al.*, 2007) contribuyendo al incremento sostenido en la concentración de residuos orgánicos y compuestos tóxicos en los sistemas acuáticos (Vezzulli *et al.*, 2008; Gondwe *et al.*, 2012; Lananan *et al.*, 2014anan *et al.*,). Este material orgánico ocasiona un desequilibrio en el ecosistema, ya que favorecen a la disminución del oxígeno disponible al darse su descomposición y con esto se da la desaparición de los peces en el cultivo y de algunos organismos indispensables en el proceso de crianza además de promover la aparición de microorganismos dañinos para el medio de actuación (Muthukumaran,S, et al.,2013), en donde al contribuir a la proliferación de nuevas enfermedades debido a la resistencia a los antibióticos y a la proliferación de microorganismos nocivos (Lan 2014) por lo cual el tratamiento y disposición de residuos deben ser optimizados al paso del crecimiento comercial.

A lo largo de los años se han buscado opciones para el tratamiento de las aguas residuales de la acuicultura. actualmente existen cantidad de métodos biológicos y químicos que han sido usados satisfactoriamente en el proceso de remoción de nutrientes con el fin de obtener efluentes de una mejor calidad como los son los

procesos biológicos para la eliminación de nitrógeno como la nitrificación y desnitrificación (Van Rijn, 1996; Boley *et al.*, 2000), y procesos químicos como la precipitación química para la eliminación de fósforo (Ebeling *et al.*, 2003)., dicho proceso a pesar de ser efectivo es una técnica menos amigable con el medio ambiente, ya que esta tiene como efectos negativos la producción de residuos químicos y la formación de lodos como subproductos los cuales son agentes altamente contaminantes con el medio ambiente (Gao *et al.*, 2016). Por lo tanto, se ha tratado de explorar procesos como la radiación por medio de lámparas UV, filtración (Ludzack, F.J *et al.*, 1965), y procesos biológicos fotosintéticos (Ludzack, F.J *et al.*, 1965) para el tratamiento aguas residuales de las industrias acuícolas. En efecto, la bioremediación empleada como alternativa para el tratamiento en aguas residuales de la industria acuícola es una de las prácticas más prometedoras y amigables con el medio ambiente ya que involucra bacterias y microalgas de forma natural (Lananan *et al.*, 2014). Por otra parte el uso de microorganismo como microalgas fotoautótrofas en la bioremediación tienen como función hacer la transformación de nutrientes inorgánicos, CO₂, H₂O y otras sustancias en compuestos orgánicos como proteínas, carbohidratos, lípidos y otros macronutrientes a través de la fotosíntesis (Gao *et al.*, 2016). En adición el cultivo de microalgas en aguas residuales de la práctica acuícola es considerada como una de las tecnologías que más contribuciones reporta a la conservación del medio ambiente Lananan *et al.*, 2014).

La producción de microalgas para la acuicultura puede ser económica y ecológicamente más sustentable si esta es utilizada en un enfoque de acuicultura multitrófica (Bunting y Shpigel, 2009) en donde "Multitrófica" hace referencia a la incorporación de especies de diferentes niveles tróficos o nutricionales en el mismo sistema (Chopin T. 2006). Un sistema de multitrófico funcionando debería resultar en una producción mayor para todo el sistema, basado en los beneficios mutuos de las especies co-cultivadas y una salud mejorada del ecosistema (Gao *et al.*, 2016). No solo la purificación de aguas residuales es uno de los aspectos que

integra la acuicultura multi-trofica sino también la producción de microalgas es otro factor a tener en cuenta en esta práctica (Michels *et al.*, 2014). En adición la producción de microalgas en aguas residuales de acuicultura ofrece un combinado de ventajas como la remoción de nutrientes y simultáneamente la producción de biomasa a partir de microalgas la cual puede ser usada para la producción de valiosos productos como alimentos para la acuicultura, productos para la salud y biocombustibles (Gao *et al.*, 2016).

Además de que la acuicultura multitrófica puede ser una mejor opción para el tratamiento de aguas residuales de las industrias acuícolas, han surgido estudios que han demostrado que el cultivo de microalgas y macroalgas en aguas residuales o en granjas de peces es posible en unas condiciones adecuadas para el crecimiento de las mismas (Bartolli *et al.*, 2005). Dichos estudios han mostrado que una remoción eficiente de nutrientes inorgánicos junto con la producción de microalgas debe hacerse de una manera controlada (Michels *et al.*, 2014). En consecuencia a esto se ha empezado a aplicar el término de producción más limpia, el cual se puede definir como una estrategia preventiva de tipo ambiental que tiene como fin reducir costos, mitigar los daños al medio ambiente, además de aumentar eficiencia y productividad de un proceso (Christensen P., 1993). En la actualidad el cultivo de microalgas no es todavía un método competitivo de eliminación de nutrientes en la industria acuícola intensiva debido principalmente a la lenta tasa de crecimiento de microalgas en aguas residuales (Gao *et al.*, 2016). Teniendo en cuenta todo lo anterior el presente proyecto basa su investigación en la utilización de microalgas para la producción de biomasa y purificación de aguas residuales de la industria acuícola de la región de Pinchote (Santander), además del planteamiento de un proceso para el mejoramiento de la producción y la disminución de costos de la misma.

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un proceso de obtención de *Chlorella vulgaris* a partir del tratamiento de aguas residuales provenientes de una empresa de explotación acuícola.

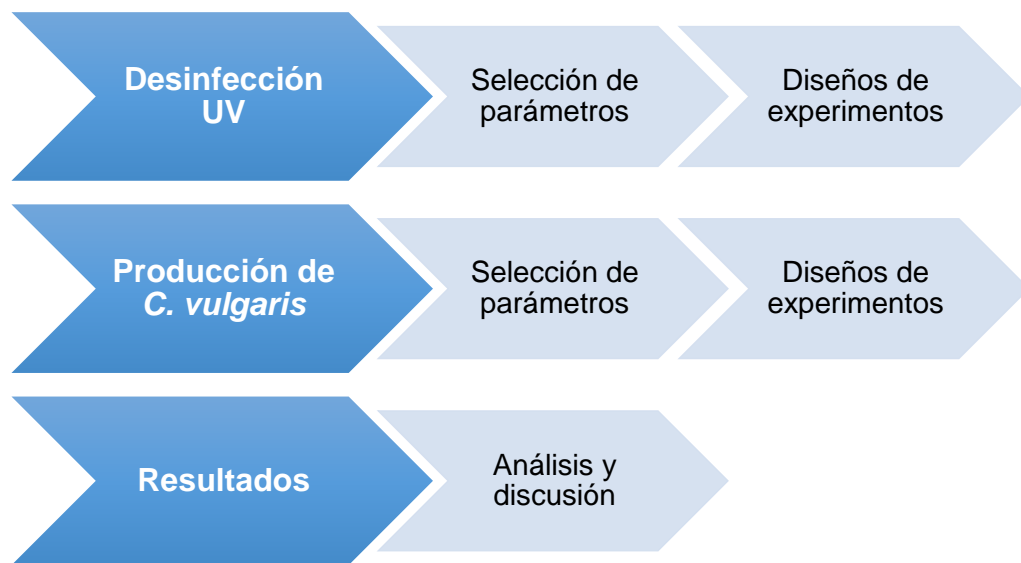
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto de la radiación UV, mediante la variación de la distancia y el tiempo de exposición del agua a tratar.
- Determinar la relación C/N que influya positivamente en la producción de biomasa de *Chlorella vulgaris*.
- Generar alternativas para la implementación de un sistema de reutilización de aguas residuales que permita la disminución de costos en el proceso de producción de peces.

2. METODOLOGÍA

En la figura 1 se presenta el esquema de la metodología que se realizó en este proyecto de investigación.

Figura 1. Diagrama de flujo metodología



2.1. DESINFECCIÓN UV

Para determinar el efecto de eliminación de patógenos (coliformes) de las aguas residuales de acuicultura mediante el uso de lámparas UV se empleó un diseño de experimentos central no factorial 4^3 (4 factores y 3 niveles) empleando el software STATISTICA 7.0 (Statsoft, 2004) usando como variables el número de lámparas, tiempo y distancia de exposición y concentración final del agua; el agua empleada fue entregada por la empresa Piscícola la Granja localizada en el municipio de Pinchote (Santander), por políticas de la empresa no es posible mostrar la caracterización de esta.

Debido a que el software no reconoce valores cualitativos se asignó un rango de respuesta de 0 a 1 siendo asignado como 1 a la respuesta positiva (ausencia de coliformes) y 0 como respuesta negativa (presencia de coliformes) (Tabla 1 y 2).

Tabla 1. Variables para el diseño de experimentos

Tiempo (min)	Distancia (cm)	N° Lámparas	Concentración (% v/v)
1	2	2	50
3	4	3	75
5	6	4	100

Tabla 2. Diseño de experimentos para el tratamiento del agua.

Prueba	Tiempo (min)	Distancia (cm)	N° Lámparas	Concentración (% v/v)
17	1	6	3	75
3	3	4	4	50
21	5	6	1	75
1	3	4	2	50
19	5	2	3	75
18	9	6	3	75
25 (C)	5	6	3	75
5	3	8	2	50
12	7	4	4	100
16	7	8	4	100
23	5	6	3	25
15	7	8	4	50
20	5	10	3	75
14	7	8	2	100
10	7	4	2	100
7	3	8	4	50
4	3	4	4	100
9	7	4	2	50
24	5	6	3	125
22	5	6	5	75
2	3	4	2	100
6	3	8	2	100
11	7	4	4	50
8	3	8	4	100
13	7	8	2	50

Para el desarrollo de los experimentos se emplearon lámparas UV de 15 Watts en una cámara de radiación hexagonal con un canal de vidrio de 50 mL. Una vez finalizado el tratamiento por UV 2 mL de muestra fue inoculada asépticamente en medio Fluorocult LMX (MERCK) 65% (p/v) e incubado durante 24 horas a 37°C.

2.2. PRODUCCIÓN DE *C. VULGARIS* EN MEDIO TRATADO

Chlorella vulgaris UTEX 1803 fue adquirida de la colección de cepas proveniente de la Universidad de Texas (Austin, Texas, USA). El alga se mantuvo en el medio de cultivo Bold Basal modificado (Andersen *et al.*, 2005).

Para determinar la viabilidad de producción de biomasa de microalgas empleando agua residual tratada por UV se empleó un diseño de experimentos central no factorial 2^3 (2 factores y 3 niveles) empleando como variables la concentración de carbono (Carbonato de sodio) y nitrógeno (Nitrato de potasio) (Tabla 3 y 4) sin adicionar micronutrientes.

Las pruebas se realizaron en reactores rectangulares de vidrio (8 cm de ancho y 18 cm de alto con un volumen del cultivo de 0,35 L) previamente esterilizados a vapor (120°C, 60 min), cada uno de los reactores fue acoplado a un sistema de aireación por burbujeo para la inyección de aire con un flujo de 0.6 L/L medio de cultivo.

Tabla 3. Variables para el diseño de experimentos

Carbonato de Sodio (g/L)	Nitrato de Potasio (g/L)
0,5	0,063
1	0,125
1,5	0,188

Tabla 4. Diseño de experimentos para el cultivo de biomasa.

Prueba	Carbonato de Sodio (g/L)	Nitrato de Potasio (g/L)
5 (C)	1,0	0,125
4	1,5	0,188
1	0,5	0,063
2	0,5	0,188
6	0,3	0,125
3	1,5	0,063
7	1,7	0,125
9	1,0	0,213
10 (C)	1,0	0,125
8	1,0	0,037

2.2.1. Densidad Óptica (Moheimani et al. 2013). Para las mediciones de concentración de biomasa se tomó una muestra de 1 mL de cultivo cada tres días. Posteriormente se diluyó a una relación muestra/agua destilada de 1:9. Luego se midió la densidad óptica de cada muestra a 550 nm (los valores típicos de medición están entre 0,1 - 0,9) usando un espectrofotómetro (DR 1900, HACH). La densidad óptica (DO) se relacionó con la cantidad de biomasa (g/L) de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$CB = (DO_{550} - 0,1734)/1,3161 \quad (1)$$

2.2.2. Peso seco (Moheimani et al. 2013). Después de 15 días se tomaron 20 mL de medio de cultivo los cuales se filtraron utilizando filtros Whatman GF/C pre-combustionados durante 1 hora a 100°C. Una vez terminado el proceso los filtros fueron llevados a horno durante 1 hora a 100°C seguido por 12 horas en desecador hasta alcanzar peso constante.

2.2.3. Cenizas (Moheimani et al. 2013). Una vez pesados los filtros con biomasa se llevaron a la mufla durante 5 horas a 450°C. Una vez terminado el proceso los filtros fueron dejados en cámara desecadora durante 8 horas hasta alcanzar peso constante, el cálculo de biomasa libre de cenizas se realizó empleando la ecuación 2:

$$\text{Peso seco libre de cenizas (AFDW)} = \text{Peso seco} - \text{Peso seco después de mufla} \quad (2)$$

2.2.4. Concentración de proteínas (Moheimani et al. 2013). Una vez pesados los filtros con biomasa se depositaron en tubos de ensayo de vidrio y se agregaron 2 g de perlas de vidrio y 5 mL de buffer de fosfato (pH 7.6) durante 10 minutos a velocidad máxima en vortex. Una vez transcurrido el tiempo el sobrenadante es retirado mediante centrifugación (3400 rpm, 20 min). 30 µL del sobrenadante se diluyeron en 70 µL de agua destilada y 2.9 mL de solución de Bradford (Azul brillante de Coomassie), la mezcla se dejó incubar a temperatura ambiente (25°C) durante 5 minutos y se leyó a 660 nm en un espectrofotómetro DR 1900, HACH). La densidad óptica (DO) se relacionó con la cantidad de proteínas (g/L) de acuerdo con la siguiente ecuación:

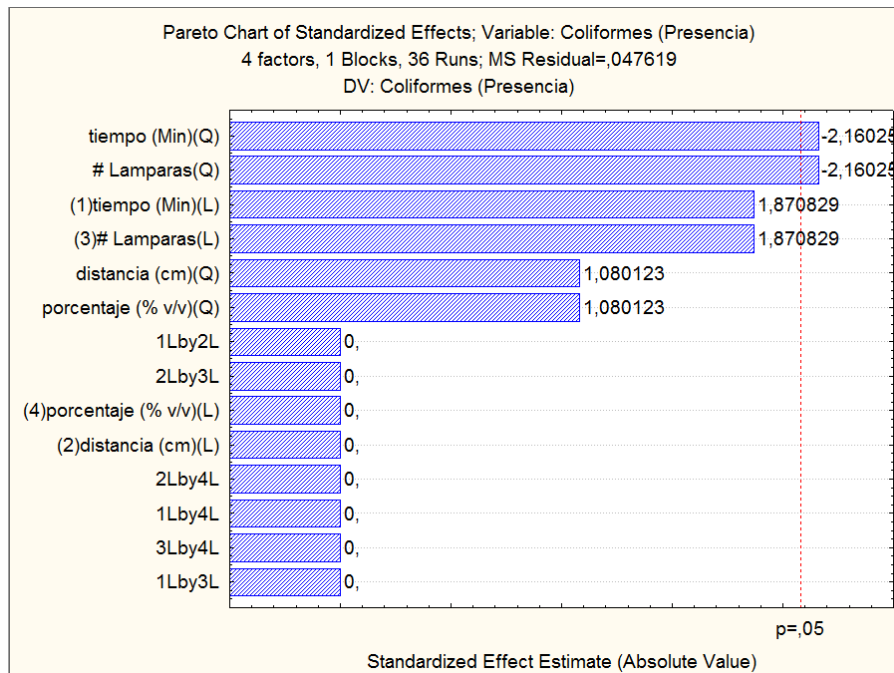
$$CP = 182,01 * (DO_{660}) - 3,1786 \quad (3)$$

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. DESINFECCIÓN UV.

De acuerdo con los resultados obtenidos por la gráfica de Pareto (Figura 2) las variables que más influyen en la desinfección del agua (ausencia total de coliformes) fueron el tiempo y la cantidad de lámparas empleadas; por otra parte la superficie de respuesta empleando las variables anteriores (figura 3) presenta valores óptimos para la ausencia total de coliformes (siendo 1 ausencia total y 0 presencia) con tiempos entre 5 a 7 minutos y 3 a 5 lámparas UV de 15 Watts.

Figura 2. Pareto para variables estudiadas.

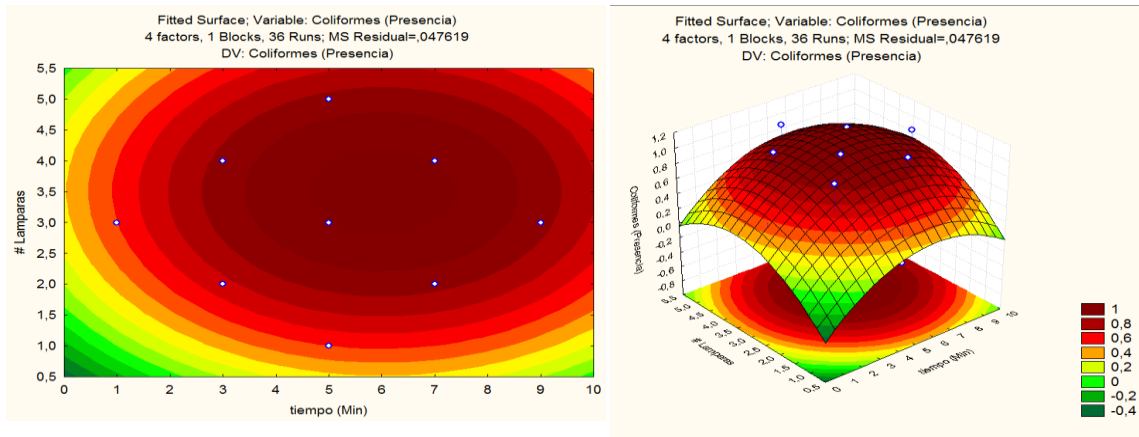


El uso de tratamientos UV en aguas residuales agroindustriales y domesticas es extenso y variado, donde el tipo de industria influye fuertemente en las variables

más relevantes y las condiciones de operación. De acuerdo con los datos reportados por Velásquez *et al*, (2016) para reducir de forma significativa la presencia total de coliformes (<565.000 Nmp/100 mL) en aguas residuales de granjas avícolas es necesario una lámpara UV de 20 Watts con longitud de onda de 360 nm durante un tiempo de 5 min, por otro lado Hassem *et al*, (1999) reportaron que para tratar aguas residuales de una PTAR domestica solo se requiere una lámpara UV de 65 Watts con longitud de onda de 254 nm y una exposición de 0,5 min para reducir la presencia de coliformes hasta 103 Nmp/100 mL.

En otras investigaciones se han empleado catalizadores disueltos en agua durante el proceso de óxido-reducción (fotocatálisis homogénea) por el cual se generan radicales hidroxilo tóxicos para agentes patógenos. Según Giamaraes *et al*, (2010), al emplear lámpara de 100 Watts con TiO₂ y un tiempo de exposición de 120 minutos es posible reducir completamente (0%) la tasa de supervivencia de diferentes microorganismos patógenos) eliminar completamente (100%), por otro lado Watts *et al*, (1995) al aplicar un proceso de fotocatalisis heterogénea (usando TiO₂ y una lámpara de 15 Watts) en un efluente proveniente en un tratamiento secundario de aguas residuales domesticas (Hannover, Alemania) es posible reducir la cantidad de coliformes totales, (5×10^5 Ufc/ 100 mL) y coliformes fecales (1×10^4 Ufc/100 mL).

Figura 3. Superficie de respuesta para la presencia de coliformes.



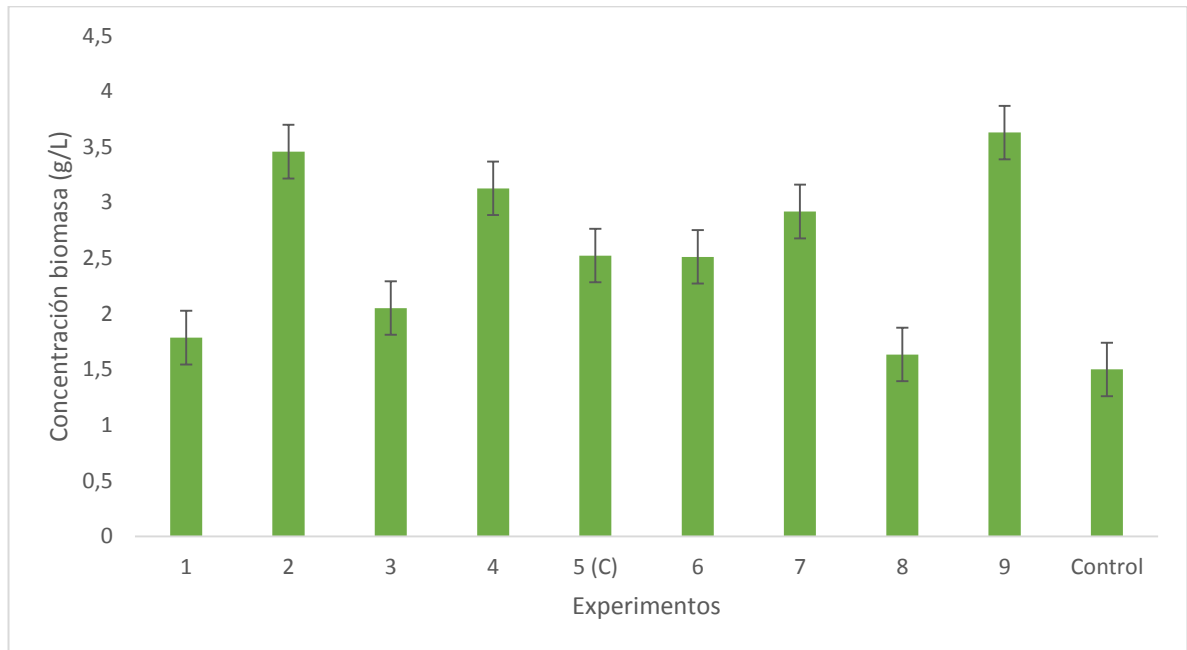
Es importante tener en cuenta que el tipo de aguas residuales tratadas en los diferentes investigaciones anteriormente nombrados presentan diferentes composiciones debido a que no proviene de la misma fuente, es decir que pueden presentar mayores o menores concentraciones de coliformes a las presentadas por el agua tratada en el trabajo en desarrollo, esto puede ocasionar variaciones en las diferentes mediciones que se realicen ya que cabe la posibilidad que se dé una difícil eliminación de patógenos o por el contrario que sea más simple.

Si bien el uso de catalizadores ha demostrado ser eficiente para la eliminación de los microorganismos el objetivo general del estudio se enfoca en la reutilización de los nutrientes existentes en el agua residual para la producción de microalgas que luego pueda ser empleado como fuente de proteína en la producción acuícola, por esto se considera que si bien el uso de fotocatalizadores como el TiO_2 pueden reducir el tiempo de trabajo, también pueden reducir la producción de biomasa posterior al tratamiento UV. Con esto se puede asumir que no es necesario la implementación de insumos químicos, que puedan generar complicación en la composición química y patógena del agua que se quiere llegar a re utilizar en la producción de biomasa para el consumo animal.

3.2. PRODUCCIÓN DE C. VULGARIS EN MEDIO TRATADO

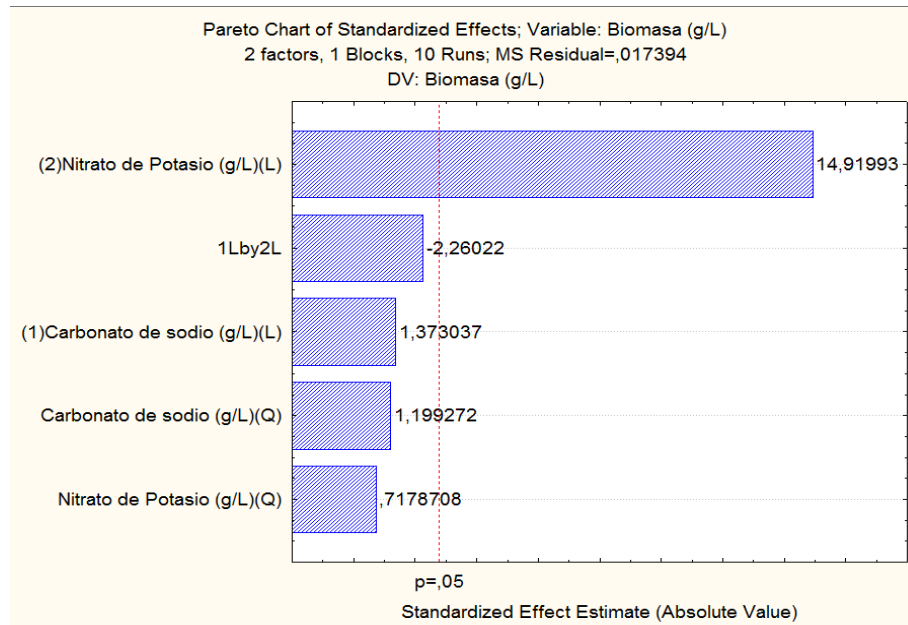
La figura (4), Muestra los datos obtenidos para la producción de biomasa a partir de la modificación en la concentración de carbonato de sodio y nitrato de potasio, se observa que la mayor producción de biomasa se presenta en los experimentos con mayor concentración de nitrógeno (experimento N^o 9 y 2) alcanzando valores de hasta de 3.69 (g/L) para el experimento 9 y 3.48 (g/L) para el experimento 2.

Figura 4. Concentración de biomasa para los diferentes experimentos.



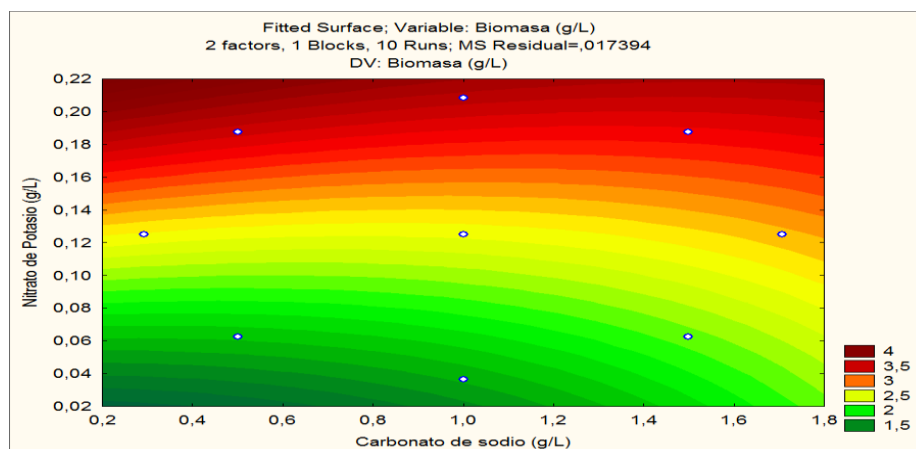
Los resultados anteriormente resaltados son congruentes con lo descrito en la gráfica de Pareto (Figura 5) donde la única variable que posee un impacto significativo en la producción de biomasa es la concentración de nitrógeno. El nitrógeno constituye uno de los nutrientes que más afecta el crecimiento celular (Borowitzka, 1999), ya que cambios significativos de su concentración en el medio puede cambiar drásticamente la productividad de biomasa y su composición final (Sánchez *et al.* 2001) especialmente pigmentos y proteínas.

Figura 5. Pareto para variables estudiadas.



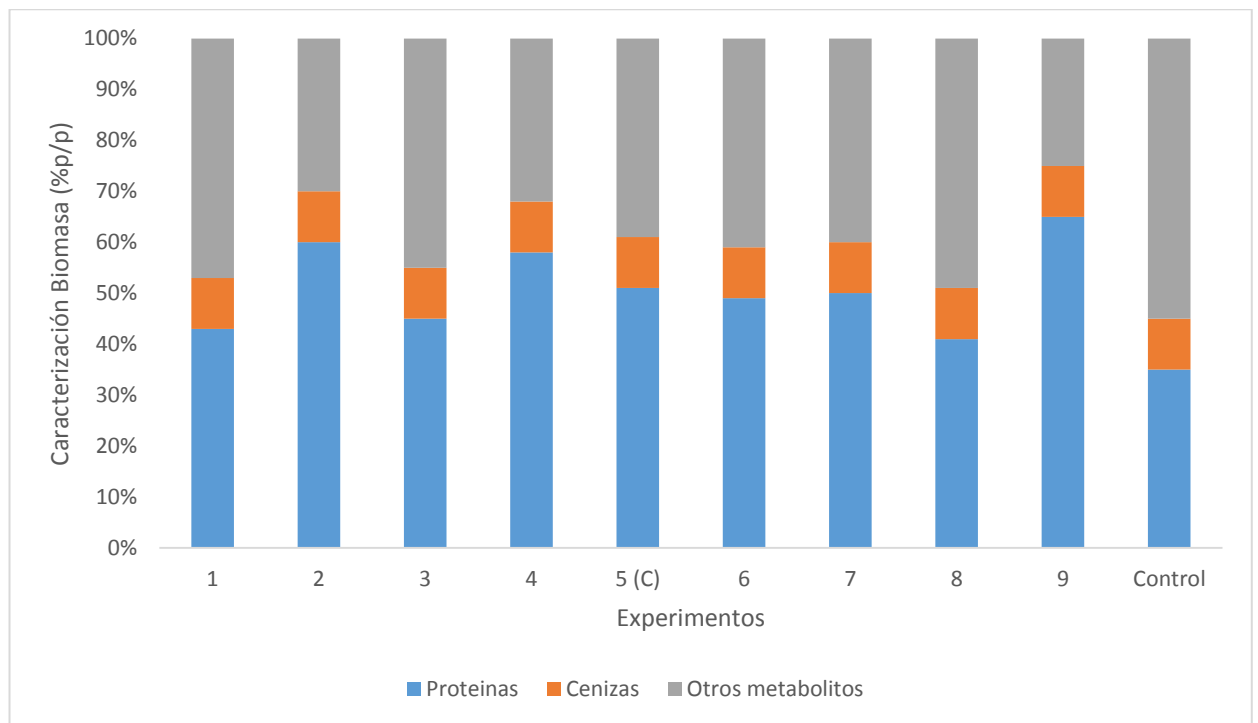
La composición de la biomasa se ve afectada por el diseño del medio de cultivo, donde factores como la concentración y tipo de nutrientes juegan un papel fundamental en la optimización de la producción de biomasa (Bhola *et al*, 2011). De acuerdo con la figura 6 a mayores concentraciones de nitrato (>0,22 g/L) y concentraciones de hasta 1 g/L de carbonato es posible obtener cerca de 4g/L en biomasa.

Figura 6. Superficie de respuesta para la producción de biomasa.



Después de 15 días de cultivo se encontró que la biomasa está compuesta por cerca de 10% (p/p) en cenizas, sin embargo la concentración final de proteínas varía significativamente desde menos de 40% (p/p) en el blanco hasta más de 60% (p/p) en el experimento 9. Los resultados anteriormente presentados concuerdan con lo descrito por Converti *et al*, (2009), Uslu *et al*, (2011) y Ordog *et al*, (2012) donde resaltan que la concentración inicial de proteínas aumenta proporcionalmente con la presencia de nitrógeno en el medio, de igual forma las proteínas se reducen al disminuir la concentración de nitrógeno.

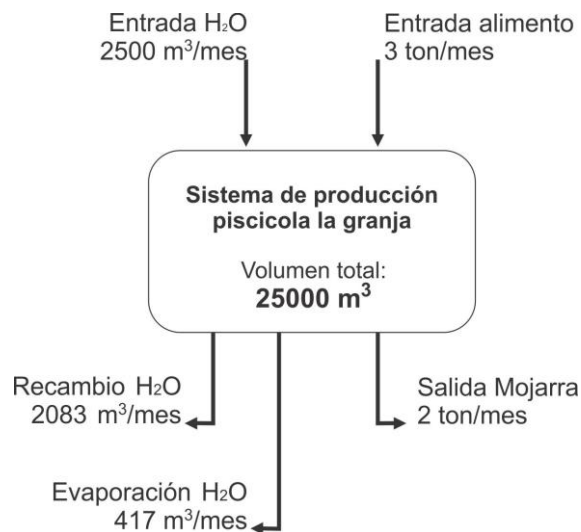
Figura 7. Caracterización de biomasa.



3.3. ESQUEMA PROPUESTO PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA EMPLEANDO EL AGUA RESIDUAL DE LA EMPRESA LA GRANJA S.A.S.

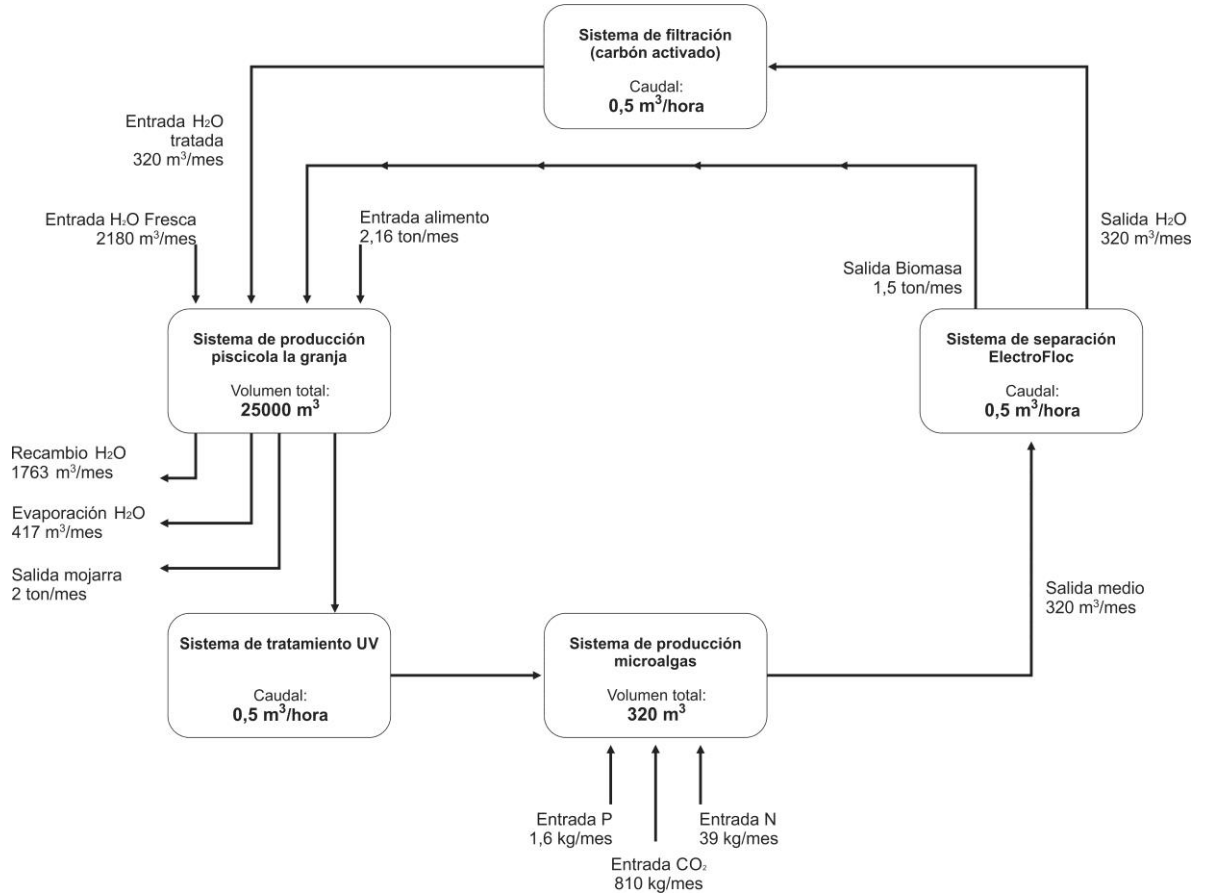
El sistema de producción la granja localizado en el municipio de Pinchote (Santander) cuenta con un sistema de levante y cultivo de mojarra, el cual tiene un volumen total de 25000 m³ donde se producen 2 ton/mes de pescado con un reemplazo de agua cercano al 50% cada semestre y una pérdida por evaporación superior al 17% del volumen total (figura 8).

Figura 8. Proceso de producción de mojarra



Dentro de este sistema, para producir 2 ton/mes de mojarra es necesario agregar 3ton/mes de concentrado el cual está compuesto por 28% de proteína de origen vegetal. De acuerdo con los resultados obtenidos a escala laboratorio la biomasa obtenida posee una concentración de proteínas cercano al 60% (p/p). Con este valor se planteó un esquema (Figura 9) que permita reemplazar 100% la proteína necesaria para mantener la producción de mojarra (2 ton/mes). Los resultados obtenidos permiten determinar que para reemplazar 100% la proteína se requiere un sistema de cultivo de microalgas con un volumen de 320 m³/mes y un sistema de tratamiento UV con un caudal de trabajo de 0,5 m³/hora.

Figura 9. Esquema integrado.



El esquema planteado permite observar que no es necesario emplear toda el agua que descarga el sistema de piscicultura (tabla 5).

Para poder tratar toda el agua que se descarga mensualmente es necesario aumentar en cerca de 10 veces el sistema de cultivo reduciendo así en un 83% la captación de agua fresca (el 17% restante equivale al volumen evaporado) y aumentando la cantidad de biomasa producida; gracias a esto (y dependiendo de la composición fisicoquímica de la microalga a emplear) es posible reemplazar en más del 90% el concentrado necesario para el levante y producción de mojarra.

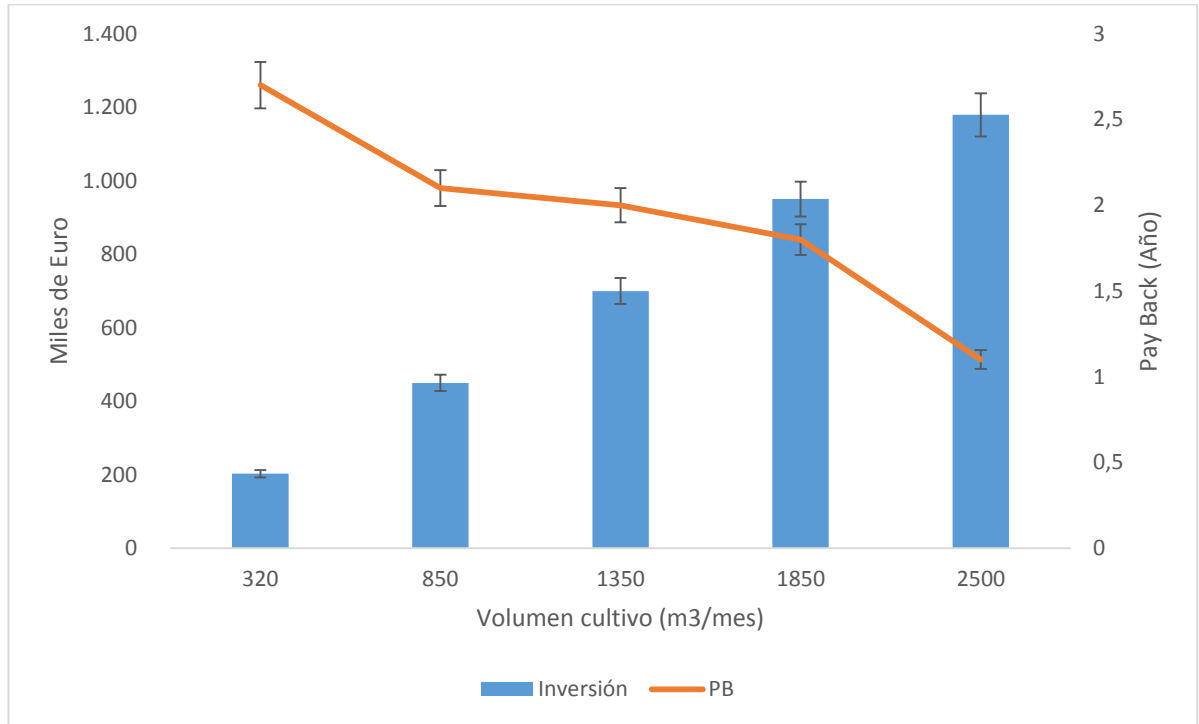
Debido al alto volumen de agua a emplear para la producción de biomasa se determinó el posible costo asociado a su construcción, puesta en marcha y mantenimiento, para esto se empleó la calculadora EnAlgae FlatPanel teniendo en cuenta las siguientes variables: promedio de irradiación solar anual, evaporación anual, temperatura promedio anual (mínimos y máximos), costo de la tierra, fertilizantes, energía (kW/h), producción de biomasa (en peso seco) y valor de la biomasa producida de 5€ para un sistema de 320 m³ y 2180 m³.

Tabla 5. Resultados de uso de agua residual.

Variables	Sin tratamiento	Con tratamiento	Con tratamiento completo
Agua captada m³/mes	2500	2180	417
Reducción en captación de agua (%)	0	12,8	83,32
Volumen de cultivo (m³)		320	2083
Reemplazo de proteína (%)		100	100
Reemplazo de concentrado (%)		28	>90

Los resultados reportados en la figura 10 muestran que para un sistema de 320 m³ se requiere de una inversión de 203.000€ y un PB de 2,7 años, sin embargo al incrementar el volumen de cultivo hasta el valor necesario para tratar completamente el agua descargada el costo de inversión (el cual incluye depreciación, mantenimiento de los equipos, intereses y seguros bancarios) es superior a 1 millón € con un PB de 1,1 años.

Figura 10. Inversión vs PB para los sistemas planteados.



Los resultados obtenidos al aplicar la calculadora EnAlgae permiten demostrar la posible envergadura de una inversión de este tipo; si bien en Colombia no existen referencias para un tipo de operación semejante es importante resaltar que en un sistema de 2500 m³ es posible obtener cerca de 9,8 ton/mes de biomasa la cual puede ser vendida a otras empresas de piscicultura a un precio competitivo; sin embargo aún es necesario determinar otros costos asociados no tenidos en cuenta actualmente (transporte de equipos, capacitación de personal, etc).

4. CONCLUSIONES

Se encontró que bajo los parámetros de diseño estudiados de mayor incidencia (número de lámparas y tiempo de exposición) la eliminación absoluta de coliformes se da con tiempos entre 5 a 7 minutos y 3 a 5 lámparas UV de 15 Watts.

En los resultados obtenidos para la producción de biomasa a partir de la modificación en la concentración de carbonato de sodio y nitrato de potasio, se observó que la mayor producción de biomasa se presenta en los experimentos con mayor concentración de nitrógeno (experimento N^o 9 y 2) alcanzando valores de hasta de 3,69 (g/L) para el experimento 9 y 3,48 (g/L) para el experimento 2.

Se evidencio que para los experimentos con mayor presencia de nitrógeno había una relación directamente proporcional en cuanto la presencia de proteínas.

Se requiere de una inversión de 203.000€ y un PB de 2,7 años, si se incrementa el volumen de cultivo hasta el valor necesario para tratar completamente el agua descargada, el costo de inversión (el cual incluye depreciación, mantenimiento de los equipos, intereses y seguros bancarios) es superior a 1 millón € con un PB de 1,1 años.

5. RECOMENDACIONES

Se recomienda hacer un análisis que determine la presencia de microorganismos patógenos diferentes a los coliformes, pues en el proceso que se llevó a cabo de desinfección mediante UV el análisis de microorganismos solo se llevó a cabo para determinar la ausencia o presencia de coliformes.

Realizar un pretratamiento de purificación para el agua a tratar para facilitar el proceso de eliminación total de coliformes, esto siempre y cuando dicha muestra tenga una mayor turbidez.

Favorecer el aumento en la concentración de nitrato de potasio para favorecer el aumento en la producción de biomasa a partir de *C. vulgaris*

Implementar un sistema de control en el bioreactor que permita asegurar el flujo contante de aireación favoreciendo el crecimiento de la biomasa en el medio tratado.

Aumentar el caudal de agua a tratar con irradiación UV debido a que los requerimientos del proceso demandan un mayor flujo de agua para poder suplir las necesidades de producción y correcto funcionamiento de la granja acuícola de donde se hace el respectivo tratamiento de aguas residuales.

BIBLIOGRAFIA

Andersen, R.A., Berges, J.A., Harrison, P.J. y Watanabe, M.M. (2005). Appendix A—Recipes for Freshwater and Seawater Media In Andersen, R.A.(Ed). Algal Culturing Techniques (pp 429-538). Burlington, MA: Elsevier Academic Press.

Bartoli, M., Nizzoli, D., Naldi, M., Vezzulli, L., Porrello, S., Lenzi, M., Viaroli, P., (2005). Inorganic nitrogen control in wastewater treatment ponds from a fish farm (Orbetello, Italy): denitrification versus *Ulva* uptake. Mar. Pollut. Bull. 50 (11), 1386-1397.

Bhola, V., Desikan, R., Santosh, S.K., Subburamu, K., Sanniyasi, E., Bux, F. (2011). Effects of parameters affecting biomass yield and thermal behaviour of *Chlorella vulgaris*. J Biosci Bioeng. 111(3):377-82.

Boley, A., Müller, W.R., Haider, G. (2000). Biodegradable polymers as solid substrate and biofilm carrier for denitrification in recirculated aquaculture systems. Aquacult. Eng. 22, 75–85.

Bunting, S.W., Shpigel, M., 2009. Evaluating the economic potential of horizontally integrated land-based marine aquaculture. Aquaculture 294 (1-2), 43-51.

Borowitzka, M.A. (1999). Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. Journal of Biotechnology, 70, 313-321.

Christensen P. Spredningen af renere teknologier i den nordjyske fiskeindustri [The diffusion of cleaner production in the fish processing industry in Northern Jutland]. Institute for Development and Planning. Skriftserien, nr.112. AUC; 1993.

Chen, S., Yu, J., Wang, H., Yu, H., Quan, X. (2015). A pilot-scale coupling catalytic ozonation–membrane filtration system for recirculating aquaculture wastewater treatment. *Desalination* 363, 37–43.

Chopin T. 2006. Integrated multi-trophic aquaculture. What it is, and why you should care... and don't confuse it with polyculture. *Northern Aquaculture*, Vol. 12, No. 4, July/August 2006, pg. 4.

Crab, R., Avnimelech, Y., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete, W., (2007). Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture* 270, 1–14.

Converti, A., Casazza, A.A., Ortiz, E.Y., Perego, P & Borghi, M.D. (2009). Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chem Eng. Process: Process Intens*, 48, 1146-1151.

Ebeling, J.M., Sibrell, P.L., Ogden, S.R., Summerfelt, S.T. (2003). Evaluation of chemical coagulation–flocculation aids for the removal of suspended solids and phosphorus from intensive recirculating aquaculture effluent discharge. *Aquacult. Eng.* 29, 23–42.

FAO, *Perspectivas de la agricultura y el desarrollo rural en las Américas: Una mirada hacia América Latina y el Caribe* 2014, 1-62.

Gao, F., Li, C., Yang Z., Zeng, G., Feng, L., Liu, J., Liu, M., Cai, H. (2016). Continuous microalgae cultivation in aquaculture wastewater by a membrane photobioreactor for biomass production and nutrients removal. *Ecological Engineering*, 92: 55–61.

Gondwe, M.J., Guildford, S.J., Hecky, R.E., (2012). Tracing the flux of aquaculture derived organic wastes in the southeast arm of Lake Malawi using carbon and nitrogen stable isotopes. *Aquaculture* 350-353, 8-18.

Guimarães, J.C., Ibáñez, J., Litter, M.I., Pizarro, R. Desinfección del agua - Métodos de tratamiento de agua por agente químico de desinfección.

Hassen, A., Mahrouk, M., Ouzari, H., Cherif, M., Boudabous, A. (2000). UV disinfection of treated wastewater in a large-scale pilot plant and inactivation of selected bacteria in a laboratory UV device. *Bioresource Technology*. 74(2): 141-150.

Lananan, F., Abdul Hamid, S.H., Sakinah Din, W.N., Ali, N., Khatoon, H., Jusoh, A., Endut, A. (2014). Symbiotic bioremediation of aquaculture wastewater in reducing ammonia and phosphorus utilizing Effective Microorganism (EM-1) and microalgae (*Chlorella* sp.). *International Biodeterioration & Biodegradation*, 95: 127-134.

Ludzack, F.J., Noran, P.K., Tolerance of high salinities by conventional wastewater treatment process. *J. Water Pollut. Control Fed.* 37 (10),1404–1416, 1965.

Martins, C.I.M., Eding, E.H., Verdegem, M.C.J., Heinsbroek, L.T.N., Schneider, O., Blancheton, J.P., d'Orbcastel Roque, E., Verreth, J.A.J., (2010). New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: a perspective on environmental sustainability. *Aquac. Eng.* 43, 83–93.

Michels, M.H.A., Vaskoska, M., Vermue, M.H., Wijffels, R.H. (2014). Growth of *Tetraselmis suecica* in a tubular photobioreactor on wastewater from a fish farm. *Water research*, 65:290-296.

Moheimani, N.R., Borowirzka, M.A., Isdepsky, A., Sing, S.F. (2013) Standard methods for measuring growth of algae and their composition. In: Borowitzka, M.A, Moheimani, N.R (eds) Algae for biofuels and energy. Springer, Dordrecht, pp 265–284.

Mook, W.T., Chakrabarti, M.H., Aroua, M.K., Khan, G.M.A., Ali, B.S., Islam, M.S., Hassan, M.A. (2012). Removal of total ammonia nitrogen (TAN), nitrate and total organic carbon (TOC) from aquaculture wastewater using electrochemical technology. Rev. Desali. 285, 1–13.

Muthukumar, S., Baskaran, K., (2013). Organic and nutrient reduction in a fish processing facility e A case study. International Biodeterioration & Biodegradation. 85:563-570.

Ordog, V., Stirk, W.A., Balint, P., van Standen, J., Lovasz, C. (2012). Changes in lipid, protein and pigment concentrations in nitrogen stressed *Chlorella minutissima* cultures. J App Phycol, 4: 907-914.

Sánchez, S., Martínez, M., Espejo M, Pacheco, R., Espinola, f., Hodaifa, G. (2001) Mixotrophic culture of *Chlorella pyrenoidosa* with olive-mill wastewater as the nutrient medium. J Appl Phycology, 13: 443-449.

Statsoft, INC. (2004). STATISTICA (data analysis software system), version Disponible en: www.statsoft.com .

Uslu, L., Lsik, O., Koc, K., Goksan, T. (2011). The effects of nitrogen deficiencies on the lipid and protein contents of *Spirulina platensis*. Af J Biotechnol. 10(3): 386-389.

Van Rijn, J. (1996). The potential for integrated biological treatment systems in recirculating fish culture—a review. *Aquaculture* 139, 181–201.

Velásquez, G., (2016). Remoción de coliformes fecales en aguas residuales generadas en una granja avícola, utilizando fotocátalisis heterogénea como una alternativa. Universidad de San Carlos de Guatemala .Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química. Proyecto de grado.

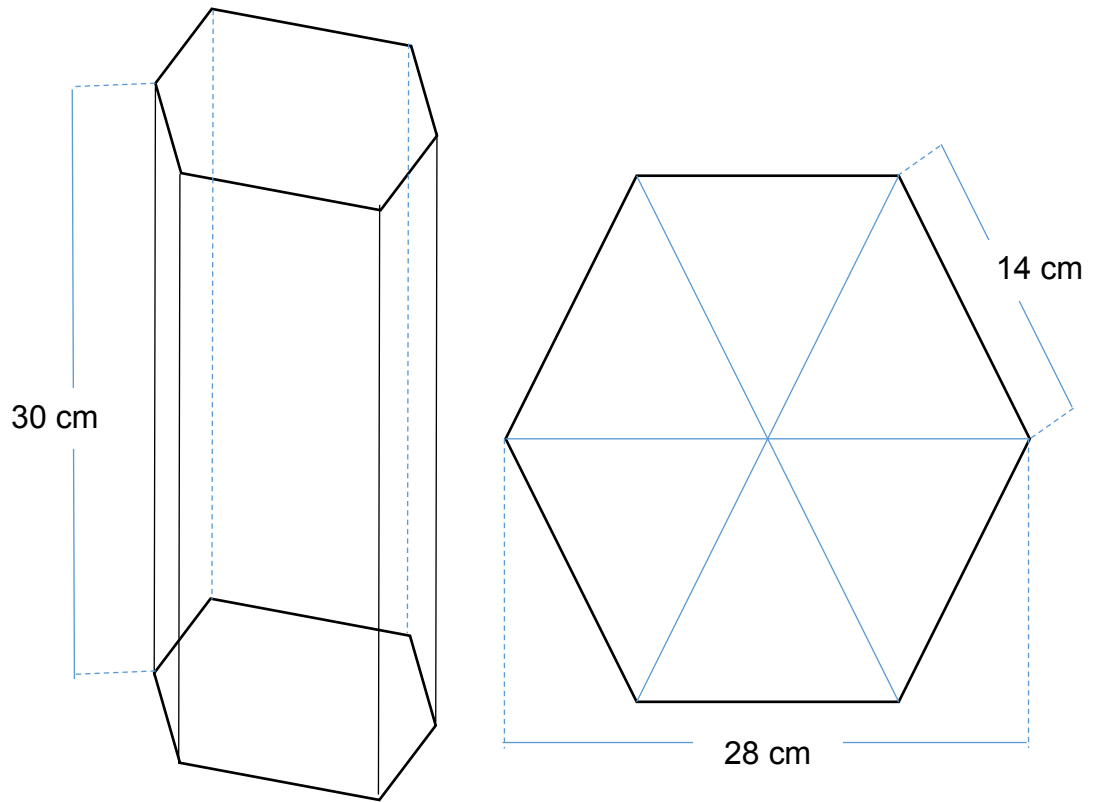
Vezzulli, L., Moreno, M., Marin, V., Pezzati, E., Bartoli, M., Fabiano, M., (2008). Organic waste impact of capture-based Atlantic blue fin tuna aquaculture at an exposed site in the Mediterranean Sea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 78, 369-384.

Watts R., Kong S., Orr M. P., Miller G. C. & Henry B. E. (1995). Photocatalytic inactivation of coliform bacteria and viruses in secondary wastewater effluent. *Wat. Res.*, 29, 95-100

ANEXOS

ANEXO A. Dimensiones y distribución de la cámara de radiación

DIMENSIONES Y DISTRIBUCION DE LA CAMARA DE RADIACIÓN



ANEXO B. Imágenes tomadas de la calculadora ENALGAE (ECONOMIC MODEL FOR OPEN POND CULTIVATION V3.06)

IMÁGENES TOMADAS DE LA CALCULADORA ENALGAE

Sustentacion_Guiza_Orozco - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA DESARROLLADOR COMPLEMENTOS NITRO PRO 9 Iniciar sesión

Calibri 11 Fuente Alineación Número Estilos Celdas

Portapapeles Pegar Fuente Alineación Número Estilos Celdas

X2

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
2		return	amount			selling price				total return							
3		algae biomass	1022185 kg ds			5 \$/kg				15,110,924							
4																	
5		variable costs	amount			price per unit				total variable costs							
6		Water use	41618 m3			0.0478 \$/m3				1,989							
7		Electricity	15379682 kWh			0.032 \$/kWh				492,150							
8		CO2	2023926 kg			0 \$/kg				0							
9		Heat recovery	259 kWh			0 \$/kWh				0							
10		Labour LQ	10809 hr			2 \$/hr				21,618							
11		Labour HQ	490 hr			5 \$/hr				2,449							
12		digestate	0 m3			-20 \$/m3				0							
13		Fertilizer (N)	90848 kg N			1.08 \$/kg N				98,116							
14		Fertilizer (P)	2888 kg P			2.22 \$/kg P				6,425							
15		Wastewater	35825 m3			0.1 \$/m3				3,583							
16		Total								1626,329							
17																	
18		capital goods								total costs capital goods							
19		depreciation								1360,819							
20		interest								142,300							
21		maintenance								16,541							
22		insurance								123,521							
23		Total								1543,281							
24																	
25		land	total land use			price per ha				total costs land use							
26		Land	10.3170 ha			1000 \$/ha				10,317							
27																	
28		total costs								11,179,927							
29																	
30																	
31																	
32		Economics															

parameters algae production temperature-growth heat use climatic data sat vap pressure proces scheme cap ...

LISTO

60%

ESP 11:36 a. m.

Sustentacion_Guiza_Orozco - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA DESARROLLADOR COMPLEMENTOS NITRO PRO 9 Iniciar sesión

Calibri 11 Fuente Alineación Número Estilos Celdas Modificar

B61

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
31																	
32		Economics															
33		total return			15,170,324												
34		total costs			11,179,327												
35		total results			13,930,997												
36		return/100 costs			433												
37		selling price			15.00												
38		cost price			11.15												
39		total investments capital goods			14,704,146												
40		Return On Investment			94%												
41		pay-back time (yr)			11												
42																	
43		selling price and negative cost price cost price % cost price															
44		algae biomass			15												
45		CO2 credits		10.00	0.0%												
46		heat recovery		10.00	0.0%												
47		digestate use		10.00	0.0%												
48		Fertilizer (N)		10.10	8.3%												
49		Fertilizer (P)		10.01	0.5%												
50		water		10.00	0.2%												
51		electricity		10.48	41.7%												
52		labour LQ		10.02	1.8%												
53		labour HQ		10.00	0.2%												
54		wastewater		10.00	0.3%												
55		capital goods		10.53	46.0%												
56		land		10.01	0.9%												
57					11.15												
58																	
59																	
60																	
61																	
62																	

parameters algae production temperature-growth heat use climatic data sat vap pressure proces scheme cap ...

LISTO

ESP 11:36 a. m.