

**EVALUACIÓN DE LA REDUCCIÓN DE LA HUELLA HÍDRICA DEL PROCESO DE  
CULTIVO DE MICROALGAS MEDIANTE EL USO DE SISTEMAS DE  
ELECTROFLOTACIÓN**

**ALEJANDRA NATALIE CONTRERAS RODRIGUEZ  
ALBEIRO ORTIZ ESPINEL**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-QUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BUCARAMANGA**

**2018**

**EVALUACIÓN DE LA REDUCCIÓN DE LA HUELLA HÍDRICA DEL PROCESO DE  
CULTIVO DE MICROALGAS MEDIANTE EL USO DE SISTEMAS DE  
ELECTROFLOTACIÓN**

**ALEJANDRA NATALIE CONTRERAS RODRIGUEZ  
ALBEIRO ORTIZ ESPINEL**

**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  
Biólogo – Ph.D en Ingeniería Química**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-QUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BUCARAMANGA**

**2018**

## **Dedicatoria**

*Este importante logro quiero dedicarlo a mis padres quienes con su dedicación e incondicional apoyo hicieron posible este proceso.*

*A mi hermana quien me motiva a ser cada día mejor y un ejemplo a seguir.*

*A mis familiares y amigos que siempre han estado presentes en esta etapa que culmina.*

***Alejandra N. Contreras Rodríguez***

*A Dios primero que todo por sus bendiciones me permitió culminar esta etapa muy importante en mi vida.*

*A mis padres por su amor y apoyo incondicional el cual gracias a ellos esto fue posible muchas bendiciones, siempre fueron el motor de motivación para este gran logro.*

*A mis hermanas y demás familiares que de una u otra manera estuvieron presentes y con sus ánimos fueron parte de este proceso.*

*A todos aquellos amigos que con amabilidad siempre estuvieron ahí brindando ayuda y compañía durante estos años.*

***Albeiro Ortiz Espinel***

## **Agradecimiento**

A Dios por permitirnos cumplir esta etapa satisfactoriamente en nuestras vidas. A la universidad industrial de Santander y en especial a la escuela de ingeniería química y sus profesores por brindar los conocimientos, capacidades profesionales para afrontar los nuevos retos por venir.

A los profesores Andrés Barajas, Crisóstomo Barajas por ser nuestros guías y brindar acompañamiento con sus enseñanzas y orientaciones en nuestro último proyecto como estudiantes de pregrado.

A nuestros compañeros quienes hicieron más fácil y ameno cada uno de los momentos vividos como estudiantes.

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Pág</b>
INTRODUCCIÓN .....	14
1. OBJETIVOS.....	19
1.1 OBJETIVO GENERAL.....	19
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
2. METODOLOGÍA.....	20
2.1 MICROORGANISMO.....	20
2.2 FASE I, CULTIVO EN MEDIO RECIRCULADO .....	20
2.3 FASE II, MEJORAMIENTO DE LAS CONDICIONES DE CULTIVO EN MEDIO RECIRCULADO .....	23
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	25
3.1 FASE I, CULTIVO EN MEDIO RECIRCULADO .....	25
3.2 FASE II, MEJORAMIENTO DE LAS CONDICIONES DE CULTIVO EN MEDIO RECIRCULADO .....	29
3.2.1 Concentración de Biomasa .....	31
3.2.2 Eficiencia de Concentración de Biomasa Producida .....	35
4. CONCLUSIONES .....	40
BIBLIOGRAFIA.....	41
ANEXOS .....	44

## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág</b>
Tabla 1. Técnicas para la Separación de Biomasa de su Medio de Cultivo .....	17
Tabla 2. Nutrientes Agregados a Cada Experimento .....	21
Tabla 3. Huella hídrica aguas azules.....	28
Tabla 4. Datos de operación electrofloculador.....	28
Tabla 5. Sesgo de variación de variables de cultivo. ....	30
Tabla 6. Resultados del diseño de experimentos.....	30

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Diagrama de Eficiencia de Producción para los 4 Cultivos.....	25
Figura 2. Diagrama de la Concentración de Biomasa en los 4 Cultivos .....	26
Figura 3. Porcentaje de Volumen de Agua Evaporada [%].....	27
Figura 4. Análisis de Pareto de las Variables Producción de Concentración de Biomasa Medio Recirculado .....	31
Figura 5. Superficie de Relación de la Concentración N/P vs Días de cultivo Respecto a la Concentración de Biomasa .....	32
Figura 6. Superficie de Relación de días de Cultivo vs Micronutrientes Respecto a Concentración de Biomasa.....	33
Figura 7. Superficie de Relación de Concentración N/P vs Concentración de Micronutrientes Respecto Concentración de Biomasa .....	34
Figura 8. Análisis de Pareto de las Variables de Eficiencia de Concentración de Biomasa Medio Recirculado. ....	35
Figura 9. Superficie de Relación de días de Cultivo Vs Concentración de Micro Nutrientes Respecto a Eficiencia de Concentración de Biomasa .....	36
Figura 10. Superficie de Relación de Concentración N/P Vs Días de Cultivo con Respecto a la Eficiencia de Concentración de Biomasa.....	37
Figura 11. Superficie de Relación de Concentración N/F Vs Concentración de Micronutrientes con Respecto a la Eficiencia de Concentración de Biomasa.....	38

## LISTA DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
Anexo A. Electroflotación.....	43
Anexo B. Datos Recopilados 15 Experimentos del Software Estadístico STATISTICA 7.0 (Statsoft).....	44
Anexo C. Seguimiento de los Cultivos Iniciales .....	45

## RESUMEN

**TÍTULO:** EVALUACIÓN DE LA REDUCCIÓN DE LA HUELLA HÍDRICA DEL PROCESO DE CULTIVO DE MICROALGAS MEDIANTE EL USO DE SISTEMAS DE ELECTROFLOTACIÓN\*

**AUTORES:** Alejandra Natalie Contreras Rodriguez

Albeiro Ortiz Espinel\*\*

**PALABRAS CLAVE:** Electroflotación, Huella Hídrica, Microalgas

### DESCRIPCIÓN:

Las industrias de biomasa algal necesitan altos volúmenes anuales de agua para su producción, aumentando la huella hídrica de su proceso, por lo que se hace necesario la implementación de procesos que permitan reutilizar el medio consumido (nutrientes y agua). Actualmente el método de centrifugación es el más utilizado para concentrar la biomasa producida, sin embargo, su alto costo de inversión inicial y altos tiempos de operación hacen costosa su introducción para las diferentes aplicaciones algales industriales. Recientemente la electroflotación ha emergido como una tecnología alternativa para la concentración de biomasa, la cual consume menos recursos y es de menor costo.

En el presente trabajo se evaluó la reutilización de agua para la reducción de la huella hídrica dentro del proceso de cultivo de *Chlorella vulgaris*, concentrada por electroflotación. Los resultados obtenidos demuestran que el uso del recirculado del medio es una gran opción para la producción de biomasa de microalgas, disminuyendo la demanda de agua y obteniendo los rangos óptimos de alimentación de nutrientes al medio de cultivo, con los días de cultivo algal

---

\* Proyecto de grado

\*\* Facultad de Físicoquímicas Escuela de Ingeniería Química Director: M. Sc Crisóstomo Barajas Ferreira Co-director: Ph. D Andrés Fernando Barajas Solano

## ABSTRACT

**TITLE:** EVALUATION OF THE REDUCTION OF THE WATER FOOTPRINT OF THE MICROALGUE CULTIVATION PROCESS THROUGH THE USE OF ELECTROFLOTATION SYSTEMS \*

**AUTORS:** ALEJANDRA NATALIE CONTRERAS RODRIGUEZ  
ALBEIRO ORTIZ ESPINEL \*\*

**KEY WORDS:** Electroflotation, Water Footprint, Microalgae

The algal biomass industries need high annual volumes of water for their production, increasing the water footprint of their process, which is why it is necessary to implement processes that allow reusing the consumed medium (nutrients and water). Currently the centrifugation method is the most used to concentrate the biomass produced, however, its high initial investment cost and high operating times make its introduction expensive for the different industrial algae applications. Recently, electroflotation has emerged as an alternative technology for the concentration of biomass, which consumes less resources and is less expensive.

In the present work, the reuse of water for the reduction of the water footprint within the culture process of *Chlorella vulgaris*, concentrated by electroflotation, was evaluated. The results obtained show that the use of the recirculated medium is a great option for the production of microalgae biomass, decreasing the demand for water and obtaining the optimum nutrient supply ranges to the culture medium, with the days of algal culture.

---

\* Project of grade

\*\* Faculty of Physical Chemistry School of Chemical Engineering Director: M. Sc Crisóstomo Barajas Ferreira Co-director: Ph. D Andrés Fernando Barajas Solano

## INTRODUCCIÓN

En todo el mundo las actividades humanas como la urbanización, el crecimiento demográfico y la contaminación están afectando los recursos naturales en especial los recursos hídricos. A pesar de esto, en los últimos años se ha tomado conciencia de la necesidad de la preservación y cuidado del medio ambiente por lo cual se han desarrollado procesos como la generación de energías renovables que permiten reducir los impactos negativos al obtener bienes y servicios sostenibles y medioambientalmente amigables, esto debido a que aproximadamente el 80% de la energía consumida proviene de fuentes no renovables<sup>1</sup> las cuales están disminuyendo a causa de que los recursos fósiles se están agotando.

En la actualidad la producción de biomasa a partir del cultivo de microalgas tiene gran acogida al ser una fuente de biomoléculas y metabolitos de gran importancia económica. Sus principales aplicaciones actuales son la acuicultura<sup>2 3</sup>, producción de cosméticos, biofertilizantes y biocombustibles<sup>4 5</sup>. Es solo hasta la segunda mitad del siglo XX que se iniciaron investigaciones en busca de formas de uso industrial para aprovecharlas de manera masiva en las industrias de alimentos y farmacéuticas<sup>6</sup>. Así mismo el cultivo de microalgas también puede emplearse para el tratamiento de aguas residuales al utilizar aguas no aptas para el consumo

---

<sup>1</sup> BECERRA, P.L. La industria del etanol en México, Economía UNAM. (2006). (16), 82-98.

<sup>2</sup> MULLER-FEUGA, A. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. *Journal of Applied Phycology*. 2000. 12, 527–534

<sup>3</sup> SPOLAORE, P., JOANNIS-CASSAN, C., DURAN, E., ISAMBERT, A. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2006. 101, 87– 96

<sup>4</sup> LIANG, S., LIU, X., CHEN, F., & CHEN, Z. Current microalgal health food R & D activities in China. *Hydrobiologia*. 2004. 512, 45-48.

<sup>5</sup> YUAN-KUN, L. Commercial production of microalgae in the Asia Pacific rim. *Journal of Applied Phycology*, 9, 403-411. 1997.

<sup>6</sup> CHAMORRO, G., SALAZAR, M., & FAVILA-CASTILLO, L. Farmacología y toxicología del alga *Spirulina*. 1996. *Rev. Invest. Clin*, 48, 389-399.

humano con el fin de mejorar la calidad de aguas degradadas y en la fijación industrial de CO<sub>2</sub><sup>7 8 9 10</sup>.

El cultivo de microalgas se realiza en sistemas cerrados (52%), estanques abiertos (26%) y escenarios naturales (22%) (Rawat, 2013) presentando grandes ventajas como lo es su rápido crecimiento al ser microorganismos fotosintéticos de estructura unicelular y al no competir en suelo con cultivos de alimento por crecer a gran escala en ambientes acuáticos (cuerpos de agua marinos o de agua dulce), en terrenos húmedos y superficies maderables, en medios artificiales de pequeña y mediana escala. Sin embargo, todo tipo de microalgas dependen para su crecimiento de un suministro de carbono<sup>11</sup>, de luz solar y abundante agua, sumado a la utilización de elementos nutritivos como el nitrógeno, el potasio y el fósforo<sup>12 13</sup>. Al obtener buenos resultados en el cultivo a nivel laboratorio se continúa evaluando en sistemas a gran escala donde se presentan problemas de demanda volumétrica de agua y suministros de nutrientes necesarios para el cultivo por lo que se requiere la implementación de un método eficiente que no afecte la calidad de la biomasa final y del agua, permitiendo reutilizarla y así mismo generar una reducción en los costos del proceso de producción y de separación de la biomasa de su medio de crecimiento es decir del proceso de recolección. Es por esto que la producción de biodiesel a partir de microalgas a gran escala ha sido criticada por la gran cantidad de agua dulce que utiliza<sup>14</sup>; ya que en promedio para generar 1 kg de biodiesel se requiere 3726 kg de agua; 0,33 kg de nitrógeno y 0,71 kg de fosfato utilizando agua

---

<sup>7</sup> AYALA, F., & VARGAS, T. Experiments on Spirulina culture on waste-effluent media at the pilot plant. *Hydrobiologia*, 1987. 8 (151/152), 91-93.

<sup>8</sup> KOSARIC, N., & NGUYEN, H. Growth of Spirulina maxima algae effluents from secondary waste water treatment plants. *Biotechnology and Bioengineering*, 14, 881-896. 1978.

<sup>9</sup> BENEMANN. *Biocombustibles Microalgos*. 2009.

<sup>10</sup> STEPHENS, R. Future prospects of microalgal biofuel production systems. *Fea rev* 2010. vol15 pag 554-464

<sup>11</sup> PATE, R et al. Resource demand implications for US algae biofuels production scale-up. *App ene*. 88, 3377-3388. 2011.

<sup>12</sup> DONOHUE Timothy J. Y COGDELL Richard J. *Nat Rev Microbiol*. 2006. 4 (11): 800.

<sup>13</sup> MENG X, YANG J, XU X, ZHANG L, NIE Q, XIAM M. Biodiesel production from oleaginous microorganisms. *Renew Energ*, 2009;34(1):1-5.

<sup>14</sup> DEPARTMENT OF ENERGY (DOE), National algal biofuels technology roadmap, 2009.

dulce sin reciclaje<sup>15</sup>. Y su separación supone el 20 y 30% del coste total de producción<sup>16</sup>. Por lo tanto, implementar un medio de cultivo de reciclaje podría ahorrar mucha agua, reducir los aportes de nutrientes y los impactos ecológicos, pero es importante analizar los efectos que podría tener sobre el crecimiento de la biomasa debido a la acumulación de metabolitos liberados durante el crecimiento, así como minerales y sales llevando a un cambio gradual en la composición y en las propiedades físico-químicas del medio de cultivo.

En estudios previos realizados sobre la reutilización del medio de cultivo se logró reducir alrededor del 77% del consumo de agua, así como el 50% de la reutilización de los nutrientes<sup>17</sup> pero la presencia de inhibidores llevó a la agregación celular, y afectó negativamente el crecimiento de microalgas y acumulación de lípidos<sup>18</sup>. El cual se podría compensar al eliminar algunos nutrientes de las aguas residuales<sup>19</sup> o al utilizar el medio recirculado como complemento de un medio fresco<sup>20</sup>.

Para reutilizar el medio de cultivo inicialmente se debe lograr una eficiente separación de la biomasa para lo que existen diferentes técnicas como la centrifugación, y la floculación, seguida de un proceso de filtración, secado y deshidratación.

---

<sup>15</sup> YANG Jia et al. Life-cycle analysis on biodiesel production from microalgae: Water footprint and nutrients balance. *Bio tec.* 103, 159-165. 2011.

<sup>16</sup> GRIMA, M. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. 2003.

<sup>17</sup> HADJ, F et al. The culture of *Chlorella vulgaris* in a recycled supernatant: Effects on biomass production and medium quality. *Bio tec.* 132, 285-292. 2013.

<sup>18</sup> ZHANG, R et al. Recycling *Nannochloropsis oceanica* culture media and growth inhibitors characterization. *Alg res.* 20, 282-290. 2016.

<sup>19</sup> STURM, B et al. An energy evaluation of coupling nutrient removal from wastewater with algal biomass production. *App ene*, c88, 3499-3506. 2011.

<sup>20</sup> KIM DONG-GEOL et al. Harvest of *Scenedesmus* sp. with bioflocculant and reuse of culture medium for subsequent high-density cultures. *Bio tec.* 102, 3163-3168. 2011.

Tabla 1. Técnicas para la Separación de Biomasa de su Medio de Cultivo

Técnica	Descripción
Centrifugación	Se separan sólidos de líquidos de diferente densidad mediante una fuerza rotativa.
Floculación	Proceso químico, mediante la adición de sustancias floculantes se aglutinan las sustancias coloidales presentes en el agua, y se decantan para ser filtradas.

Fuente: (Torres, 2011)

A pesar de la existencia de estas técnicas, se requiere de un mejor método, eficiente y de bajo costo para concentración y separación de la biomasa producida<sup>21</sup>. En este proyecto se plantea la implementación del proceso de electroflotación el cual induce la formación de pequeñas burbujas mediante la electrólisis del agua la cual junto a una continua agitación condujo tanto a la flotación como a la sedimentación de la biomasa<sup>22</sup> para posteriormente ser retirada. Este proceso tiene una gran ventaja sobre los demás al no aumentar el número de sales en el agua a tratar, permitiendo reutilizarla como medio de cultivo y al no generar impacto en la concentración de biomasa<sup>23</sup>.

La disponibilidad del agua es un requerimiento necesario para el crecimiento de la biomasa, por lo cual es necesario evaluar la cantidad a utilizar en la producción de cultivos de microalgas y esto se logra bajo el concepto de huella hídrica introducida por (Hoekstra et.al, 2004) y se define como el volumen total de agua dulce que se utiliza en la producción expresada en volumen de agua por unidad de producto y que incluye el agua azul (aguas superficiales y subterráneas), agua verde (aguas

<sup>21</sup> HENDERSON, R., PARSONS, S. A., & JEFFERSON, B. The impact of algal properties and pre-oxidation on solid-liquid separation of algae. *Water Research*. (2008). 42(8-9), 1827-1845.

<sup>22</sup> RWEHUMBIZA, V et al. Alum-induced flocculation of preconcentrated *Nannochloropsis salina*: Residual aluminium in the biomass, FAMES and its effects on microalgae growth upon media recycling. *Che eng jou*. 200-202, 168-175. 2012

<sup>23</sup> ERKELENS, M et al. The influences of the recycle process on the bacterial community in a pilot scale microalgae raceway pond. *Bio tec*. 157,364-367. 2014.

de evapotranspiración del cultivo) y agua gris (dilución del agua)<sup>24</sup>. Se consideran una “huella” la suma de volúmenes de agua utilizados dentro de un proceso al generar estos un impacto ambiental (ISO/CD 14046, 2011).

En este estudio se usa *Chlorella vulgaris* como especie representante de las microalgas para la evaluación del estudio de la reducción de huella hídrica de producción de biomasa haciendo uso de diferentes formas de cultivo.

---

<sup>24</sup> HOEKSTRA, Chapagain, A. K., Hoekstra, A. Y. Water Footprints of Nations (Value of Water Research Report Series, vol. 16). 2011. Delft, the Netherlands: UNESCOIHE.

## **1. OBJETIVOS**

### **1.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la reducción de la huella hídrica del proceso de cultivo de microalgas mediante el uso de sistemas de electroflotación.

### **1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar el efecto de la adición de nutrientes (macronutrientes y micronutrientes) en la producción de biomasa y su composición.
- Determinar el consumo total de agua y energía en el sistema evaluado.

## **2. METODOLOGÍA**

La metodología implementada para el cumplimiento de los objetivos de esta investigación consta de dos fases en la cuales se busca identificar entre una serie de experimentos el mejor diseño de cultivo que permita reutilizar de forma indicada el medio de cultivo minimizando el consumo de agua sin afectar los niveles de producción de biomasa y comparándolo con respecto a la electroflotación sin recirculación de medio.

### **2.1 MICROORGANISMO**

Para esta investigación se empleó *Chlorella vulgaris* UTEX 1803 la cual fue adquirida de la colección de cepas de la universidad de Texas (Austin, Texas, USA). El alga se mantuvo en el medio de cultivo bold basal modificado (Andersen, Berges, P.J y M.M, 2005) bajo condiciones de luz: oscuridad (12:12 horas) y agitación por aireación a 0.6vvm.

### **2.2 FASE I, CULTIVO EN MEDIO RECIRCULADO**

El principal obstáculo para la recirculación del medio de cultivo radica en la concentración restante de los diferentes nutrientes empleados en el cultivo que no son consumidos en cada ciclo (macronutrientes y micronutrientes). Como una alternativa para determinar el posible efecto en la concentración de los nutrientes presentes en el medio a recircular se propuso un experimento compuesto por 4 reactores rectangulares abiertos de una capacidad total de 750 mL. Cada uno de los reactores se inoculó con 200 mL de medios Bold basal modificados<sup>25</sup> y 20 mL de alga previamente inoculada. Cada uno de estos medios Bold basales tienen

---

<sup>25</sup> ANDERSEN R.A., BERGES J.A., HARRISON P.J. WATANABE M.M. Appendix A—Recipes for Freshwater and Seawater Media In Andersen, R.A.(Ed). *Algal Culturing Techniques* (pp 429-538). 2005. Burlington, MA: Elsevier Academic Press.

agregados diferentes nutrientes de acuerdo con la tabla 2. La mezcla se dejó crecer bajo condiciones de Luz: oscuridad (12:12 horas) y agitación por aireación a 0,6vvm durante 15 días estas son condiciones óptimas de cultivo en medio basal para iniciar los ciclos de cultivo en cada reactor. Una vez finalizado el tiempo la biomasa se removió empleando un sistema de electroflotación compuesto por 2 electrodos de aluminio y un agitador magnético. Ver Anexo A.

Una vez removida la biomasa se agregaron nuevamente cada uno de los nutrientes del medio Bold basal de acuerdo con la tabla 2 del medio a recircular y el cultivo se inoculó nuevamente con 20 mL de alga previamente inoculada. El proceso se repitió 4 veces durante 28 días cada 7 días. El volumen de medio evaporado fue registrado y se adicionó agua destilada para mantener el volumen final de cada experimento.

Tabla 2. Nutrientes Agregados a Cada Experimento

Compuesto		Experimento			
		1 (Control)	2	3	4
<b>Macronutrientes</b>	NaNO <sub>3</sub>	SI	SI	SI	SI
	CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	SI	SI	NO	NO
	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	SI	SI	NO	NO
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	SI	SI	SI	SI
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	SI	SI	SI	SI
	NaCl	SI	SI	NO	NO
<b>Micronutrientes</b>	EDTA	SI	NO	NO	SI
	KOH	SI	NO	NO	SI
	FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	SI	NO	NO	SI
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	SI	NO	NO	SI
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	SI	NO	NO	SI
	ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	SI	NO	NO	SI
	MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	SI	NO	NO	SI

	MoO <sub>3</sub>	SI	NO	NO	SI
	CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	SI	NO	NO	SI
	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	SI	NO	NO	SI

Fuente: Autores

Se realizó el seguimiento de la concentración de biomasa para establecer cual medio de cultivo es adecuado para la producción de biomasa en medio recirculado para la medición de esta se tomó una muestra de 10 ml de cada cultivo cada dos días para medir su densidad óptica como variable de salida a 550 nm, usando un espectrofotómetro (DR1900, HACH). La densidad óptica (Do) se relaciona con la cantidad de biomasa (g/l) por medio de la siguiente ecuación.

$$CB = (DO_{550} - 0,1734)/1,336$$

Se hizo seguimiento de la temperatura para observar que la Chlorella vulgaris UTEX 1803 estuviera creciendo en el rango de óptimo, así como la intensidad lumínica medida en lux (lumen/m<sup>2</sup>) para garantizar las condiciones de exposición del reactor como principal fuente de energía para la fotosíntesis. Ver Anexo C.

Se registrara la concentración final de biomasa producida de los 4 experimentos, la eficiencia de remoción de biomasa por electroflotación a partir del balance de masa de la concentración por densidad óptica medida en el medio de cultivo antes y después de electroflotar y se registró el control de volumen de agua evaporada al medio ambiente.

Posterior a estos procedimientos, llevamos a cabo el cálculo de la huella hídrica del mejor medio de cultivo haciendo uso de medio recirculado y sin el uso de medio recirculado para medir la reducción de la huella hídrica del proceso haciendo uso de estas ecuaciones:

$$W_{F,aguaazul} = BWE + BWI + LRF$$

$W_{F,aguaazul}$ —huella hídrica en aguas azules

$BWE$  –Blue water evaporation (evaporación)

$BWI$ – Blue water incorporation (Agua incorporada)

$LRF$ – Lost return flow (Flujo de retorno perdido)

$$E_B = \frac{I * V * t * \#e}{c * v * \%E}$$

$E_B$ - demanda de energía requerida para la producción de biomasa

$I$ - corriente eléctrica de la celda de electrolítica

$V$ - voltaje aplicado a la celda electrolítica

$t$ - tiempo de electrofloculación

$e$ - ciclos de electrofloculación

$c$ -concentración final de biomasa

$v$ -volumen de cultivo

$E$ - eficiencia de concentración de biomasa

Formula huella ecuación huella hídrica total donde  $W_F$  es la huella hídrica

$$W_F = \frac{W_{F,aguaazul}}{E_B}$$

## **2.3 FASE II, MEJORAMIENTO DE LAS CONDICIONES DE CULTIVO EN MEDIO RECIRCULADO**

Una vez obtenido los valores de biomasa producida se evalúan los efectos del exceso de macro y micronutrientes en el medio recirculado para la producción de biomasa y eficiencia de concentración de biomasa. Se realiza un mejoramiento de las condiciones de cultivo. Para realizar lo anterior se empleará la metodología de superficie de respuestas empleando el software STATISTICA 7.0 (Statsoft)

En la metodología de superficie, se diseñaron 15 casos de cultivo en los cuales se variaron las concentraciones de micronutrientes, macronutrientes y tiempo de cultivo; para generar las superficies de estudio de las que se realizó un análisis a las gráficas de concentración macronutrientes (Nitrógeno y Fosforo) vs días de cultivo, días de cultivo vs micronutrientes y concentración macronutrientes (Nitrógeno y Fosforo) Vs concentración de micronutrientes con respuesta en la concentración de biomasa o eficiencia de recuperación de biomasa.

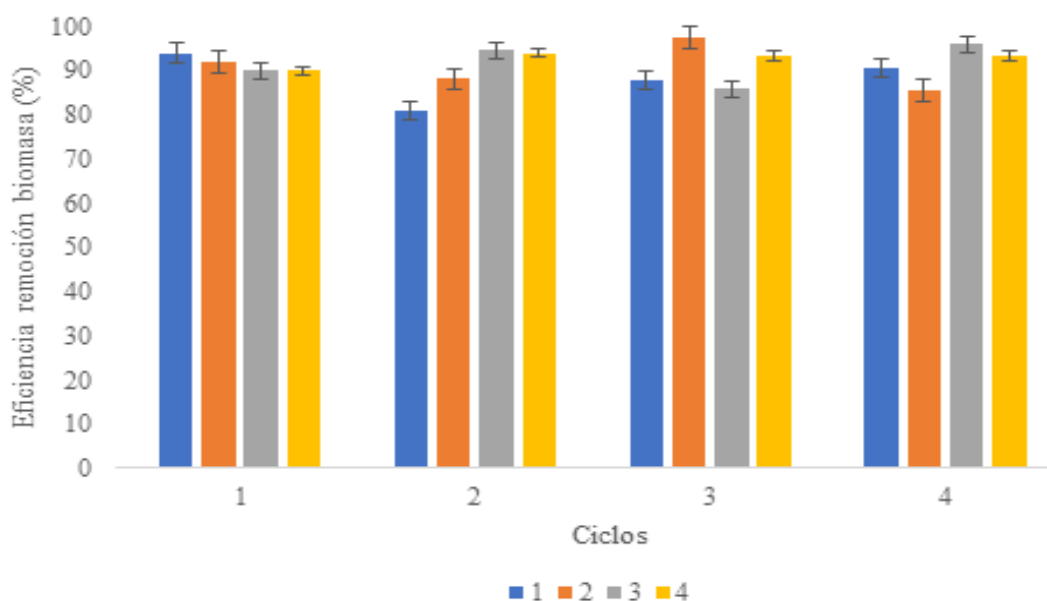
Para identificar las variables de mayor incidencia en la producción de biomasa, se hace un análisis de Pareto para identificarlas. Se usan las variables más relevantes con el fin de observarlas en los rangos de máxima concentración de crecimiento de biomasa y eficiencia de recuperación de biomasa en medio recirculado, para realizar una optimización del proceso de cultivo y electroflotación de la *Chlorella vulgaris* UTEX 1803.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 FASE I, CULTIVO EN MEDIO RECIRCULADO

Los datos de eficiencia de concentración de biomasa se presentan en la figura 1. De acuerdo con los resultados obtenidos la eficiencia de producción de biomasa de cada experimento estuvo por encima del 80%, la eficiencia es calculada con respecto a la concentración de biomasa en el medio Bold antes y después de la electroflotación. En los experimentos en los cuales se obtuvo las menores eficiencias fueron el 1 y 2, lo anterior puede deberse al exceso de sales al agregar los macro y micronutrientes; este resultado se puede soportar en los datos del experimento 4, ya que en este experimento solo se adicionaron cada inicio de ciclo para cultivar solo las concentraciones de Nitrógeno ( $\text{NaNO}_3$ ) y Fosforo ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$  y  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) del medio Bold.

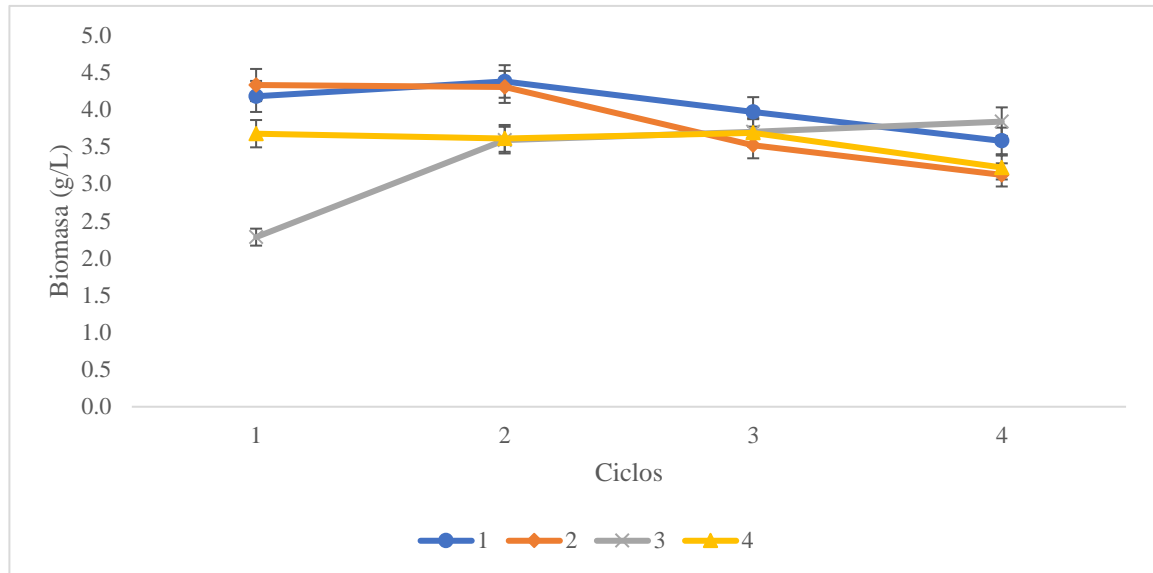
Figura 1. Diagrama de Eficiencia de Producción para los 4 Cultivos.



Fuente: Autores

Los resultados de producción de biomasa muestran una leve disminución al emplear medio recirculado al adicionar las diferentes concentraciones de micronutrientes y macronutrientes planteadas como observamos en la Figura 2.

Figura 2. Diagrama de la Concentración de Biomasa en los 4 Cultivos



Fuente: Autores

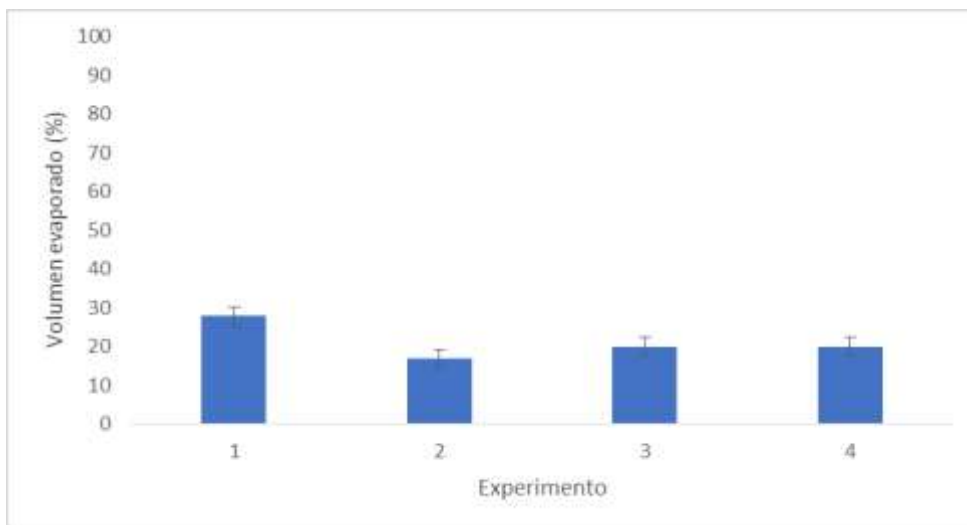
Para el primer experimento se registró una disminución en la concentración de biomasa, al pasar de 4,2 g/L en el primer ciclo a 3,6 g/L en el cuarto ciclo. Resultados similares se presentaron en el segundo experimento, al pasar de 4,3 g/L a 3,1 g/L, esto se presenta debido a que en estos reactores se les adiciono mayor cantidad de macronutrientes y cierta parte de ellos inhiben la producción de biomasa.

A diferencia de los resultados anteriores, en el experimento 3 se presentó un incremento, desde 2,3 g/L hasta 3,8 g/L; sin embargo, en el experimento 4 se presentó la menor reducción en la concentración de biomasa durante los tres primeros ciclos, ya que la concentración se mantuvo en 3,6 g/L. Sin embargo, al 4to ciclo la biomasa se redujo hasta llegar a 3,1 g/L. Lo anterior demuestra que el

exceso de micronutrientes y ciertos macronutrientes puede inhibir el crecimiento celular.

Por la parte de la reducción del volumen, se encontró que en todos los experimentos se pierde en promedio por evaporación y separación de biomasa que hasta el 30% del volumen total (ver figura 3), esto significa que al terminar cada ciclo fue necesario reponer hasta 60 mL en cada uno de los reactores.

Figura 3. Porcentaje de Volumen de Agua Evaporada [%]



Fuente: Autores

Teniendo en cuenta que el experimento 4 es el que mejor presenta las mejores condiciones de cultivo se evaluó la huella hídrica de este con y sin recirculación del medio.

Tabla 3. Huella hídrica aguas azules.

	Proceso con recirculación de medio	Proceso sin recirculación de medio
Ciclos	$W_{F,aguaazul}$ (ml)	$W_{F,aguaazul}$ (ml)
1	60	200
2	60	200
3	60	200
4	200	200
Total	380	800

Fuente: Autores

Para realizar los cálculos en las ecuaciones anteriormente establecidas en la metodología se tenía en cuenta que los valores de electrofloculación.

Tabla 4. Datos de operación electrofloculador.

Variable	Valor	Unidad
Corriente	1	(Amperio)
Voltaje	48	(Voltios)
Tiempo	30	(Minutos)
Volumen	200	(Mililitros)
Eficiencia	90	(%)

Fuente: Autores.

Por lo tanto se tienen los siguientes valores

Ecuaciones sin reciclo:

$$E_B = \frac{1 * 48 * 30 * 1 * 60 * 1000}{3,6 * 0,2 * 0,9}$$

$$E_{B1} = 133,33 \frac{MJ}{Kg}$$

$$W_{F1} = \frac{800}{133,33 * 1 * 10^6}$$

$$W_F = 6 * 10^{-6} \frac{m^3 Kg}{KJ}$$

Ecuación con reciclo:

$$E_B = \frac{1 * 48 * 30 * 1 * 60 * 4 * 1000}{(3,6 + 3,5 + 3,5 + 3,1) * 0,2 * 0,9}$$

$$E_B = 140,146 \frac{MJ}{Kg}$$

$$W_F = \frac{380}{140,146 * 1 * 10^6}$$

$$W_F = 2,711 * 10^{-6} \frac{m^3 Kg}{KJ}$$

A partir de los dos valores de reducción de la huella hídrica se procede a calcular el porcentaje reducido.

$$\% = \frac{W_{Fsin\ reciclado} - W_{Fcon\ reciclado}}{W_{Fsin\ reciclado}}$$

$$\% = \frac{6 * 10^6 - 2,71 * 10^6}{6 * 10^6} * 100$$

$$\% = 54,83$$

### **3.2 FASE II, MEJORAMIENTO DE LAS CONDICIONES DE CULTIVO EN MEDIO RECIRCULADO**

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos se planteó un diseño de experimentos para determinar el posible efecto de la concentración de los micronutrientes, la fuente de nitrógeno y fósforo y el tiempo de cambio de medio (tabla 3), para lograr lo anterior se empleó un diseño no factorial  $3^3$  empleando la metodología de superficies de respuesta en el software STATISTICA 7.0 (Statsoft) por el cual se obtuvieron 15 experimentos (tabla 4) y teniendo como variable de respuesta la concentración de biomasa final obtenida en g/L.

Tabla 5. Sesgo de variación de variables de cultivo.

Niveles	Variables		
	Concentración Micronutrientes (%)	Tiempo de cultivo (días)	Concentración Nitrógeno y Fosforo (%)
-1	40	8	40
0	60	11	60
1	80	14	80

Fuente: Autores

Tabla 6. Resultados del diseño de experimentos.

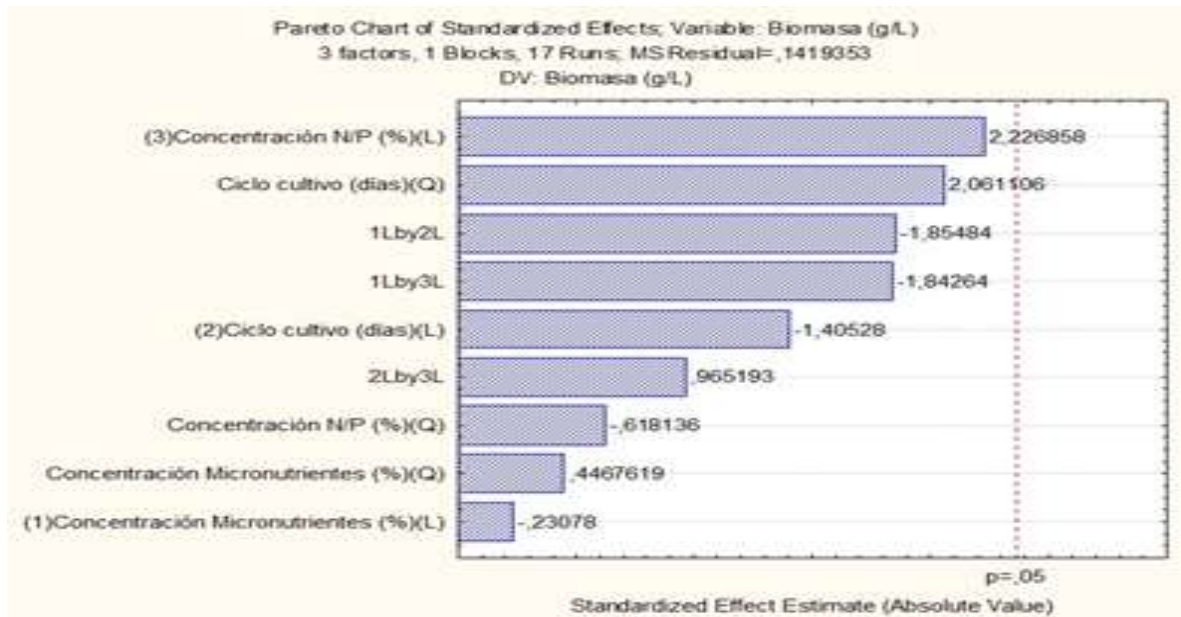
Experimento	Variables		
	Concentración Micronutrientes (%)	Tiempo de cultivo (días)	Concentración Nitrógeno y Fosforo (%)
1	40	8	40
2	40	14	40
3	80	8	80
4	80	14	40
5	60	11	60
6	40	8	80
7	40	14	40
8	80	8	40
9	80	14	80
10	26,5	11	60
11	93,4	11	60
12	60	5,9	60
13	60	16	60

14	60	11	26,5
15	60	11	93,4

Fuentes: Autores (Ver Anexo B)

**3.2.1 Concentración de Biomasa:** De acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis gráfico de Pareto (figura 4), la producción de biomasa en el medio reciclado no se ve afectada por las variables establecidas para el presente estudio. Este resultado permite confirmar que si bien las condiciones seleccionadas o bien los niveles estudiados no son representativos para mejorar sustancialmente la producción de biomasa. Sin embargo, es posible resaltar que el medio empleado para la recirculación si se puede emplear para producir biomasa y que no afecta de forma negativa el crecimiento celular.

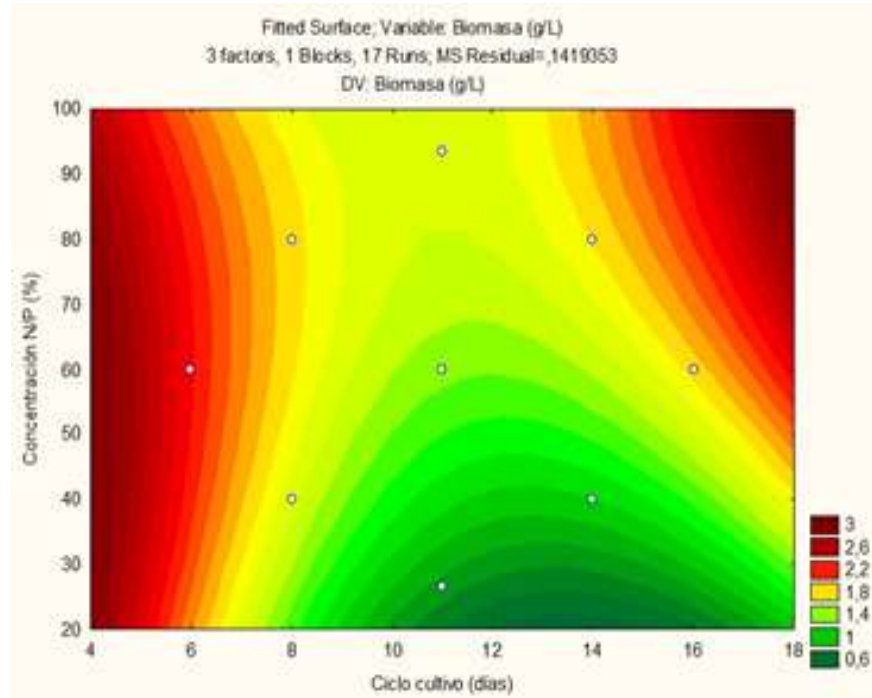
Figura 4. Análisis de Pareto de las Variables Producción de Concentración de Biomasa Medio Reciclado



Fuente: Autores.

Si bien el análisis de Pareto demuestra que no existe una interacción entre las 3 variables estudiadas, la revisión de las superficies de respuesta entre las 3 variables permite resolver dudas de forma parcial sobre el comportamiento del cultivo.

Figura 5. Superficie de Relación de la Concentración N/P vs Días de cultivo Respecto a la Concentración de Biomasa



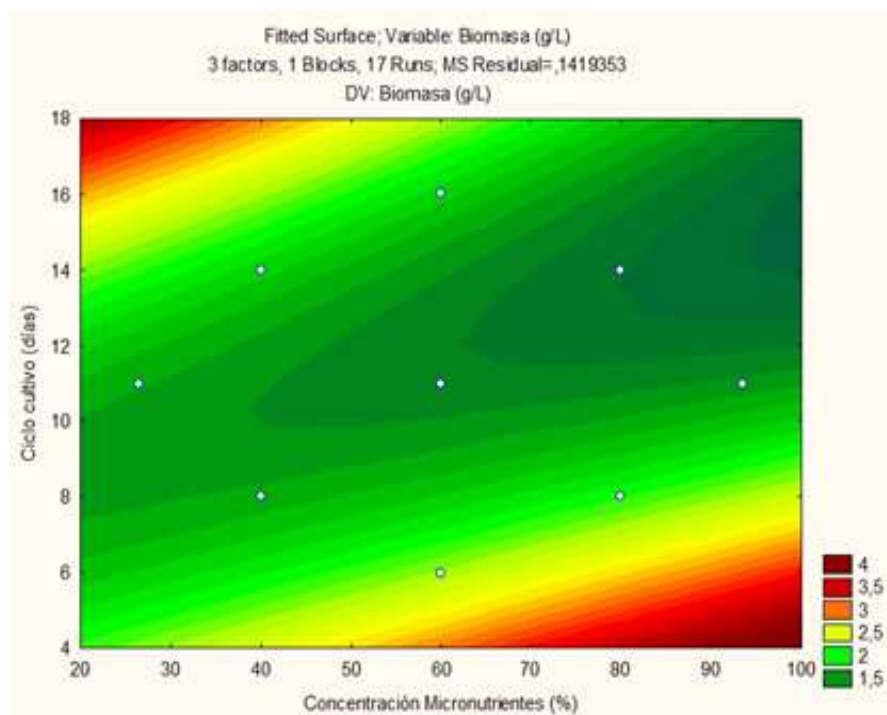
Fuente: Autores

De acuerdo con los resultados de la superficie de respuesta (figura 5), la producción de biomasa aumentará al incrementar la concentración de nitrógeno ( $\text{NaNO}_3$ ) y del buffer de fosfato ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) en el medio. Además, el tiempo aparenta ser un factor decisivo en la producción de biomasa; ya que a mayores tiempos de cultivo y altas concentraciones de macronutrientes (de un 70% hasta un 100%) es posible obtener mayores concentraciones de biomasa (hasta 3 g/L de acuerdo con la superficie de respuesta) y a menores tiempos de cultivo y bajas concentraciones de macronutrientes (de un 20% hasta un 80%) también es posible obtener mayores

concentraciones de biomasa (hasta 3 g/L de acuerdo con la superficie de respuesta).

De igual forma, la interacción entre el tiempo de cultivo y la concentración de micronutrientes (ver figura 6) muestra que, a mayores concentraciones de micronutrientes la producción de biomasa es mayor y el tiempo de cultivo es menor (hasta 4 g/mL y de 4 a 5 días de cultivo).

Figura 6. Superficie de Relación de días de Cultivo vs Micronutrientes Respecto a Concentración de Biomasa

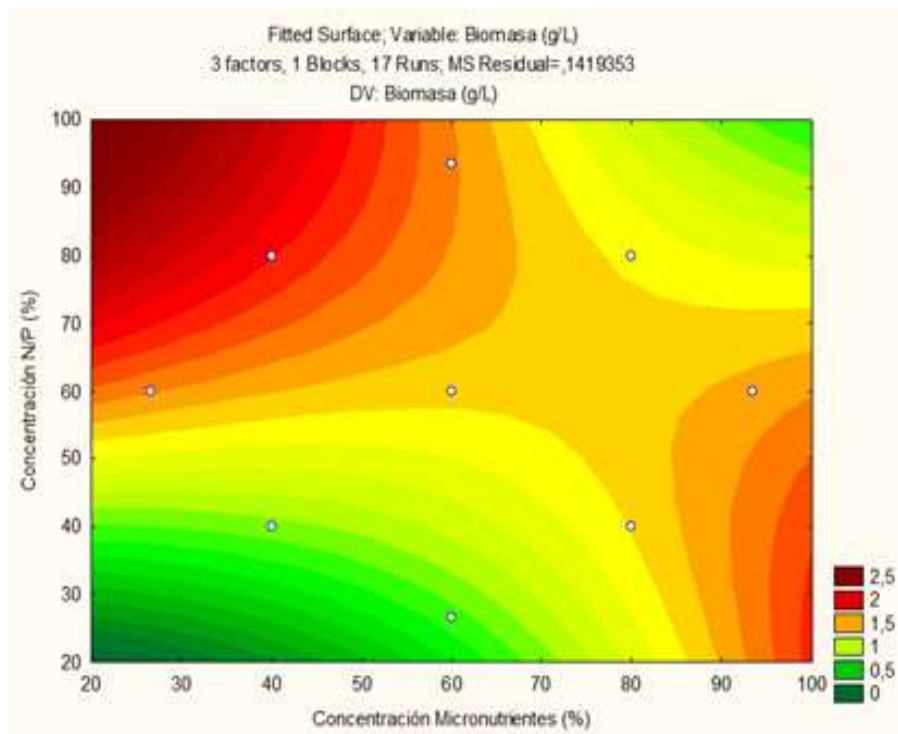


Fuente: Autores

En la figura 7 se evidencia que al realizar la relación entre el % de concentración del nitrógeno ( $\text{NaNO}_3$ ) y del buffer de fosfato ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) en el medio con respecto al porcentaje de concentración de micronutrientes utilizados en el cultivo es inversamente proporcional, es decir que con una cantidad de entre 20 y 30 % de concentración de micronutrientes y un 85-100% de macronutrientes se obtienen las

mayores concentraciones de biomasa (hasta una concentración de 2,5 g/L de acuerdo a la superficie de respuesta). Un alto suministro de nutrientes en igual proporción no necesariamente mejora la producción de biomasa y si acarrea costos en la producción de microalgas. Si comparamos la figura 6 y la figura 7 encontramos que la concentración de biomasa de acuerdo a la concentración de nutrientes ocurre en un periodo de cultivo de larga duración de 16 a 18 días.

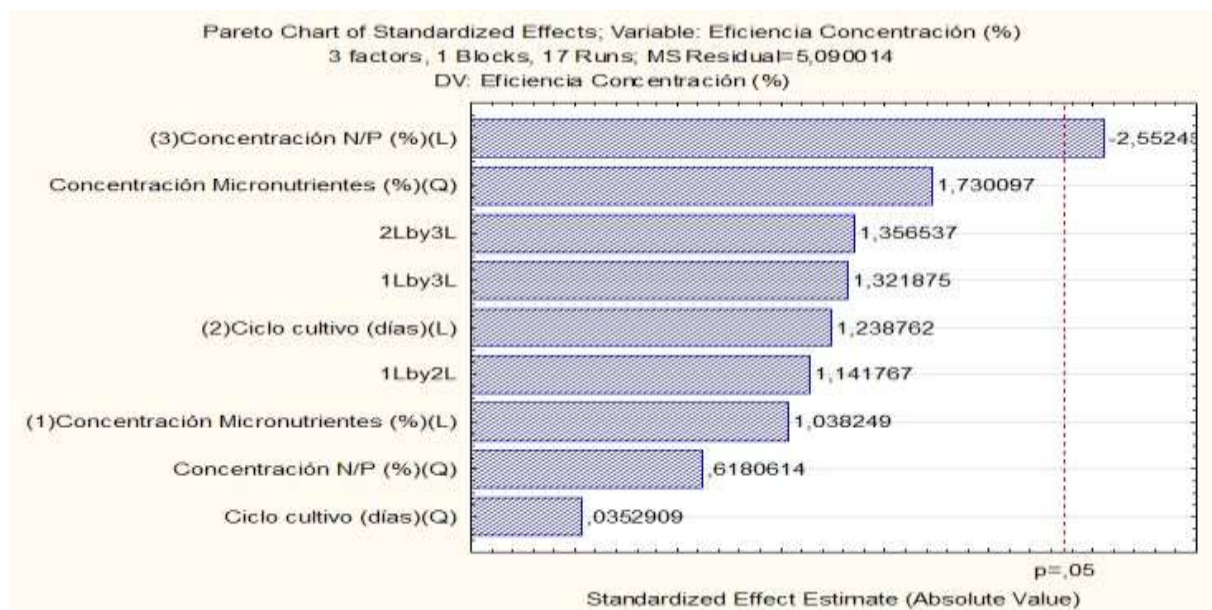
Figura 7. Superficie de Relación de Concentración N/P vs Concentración de Micronutrientes Respecto Concentración de Biomasa



Fuente: Autores

**3.2.2 Eficiencia de Concentración de Biomasa Producida:** Se estudió el efecto de las variables de cultivo sobre la eficiencia de concentración de biomasa por electroflotación. Los resultados del análisis de Pareto (Figura 8) muestran que la única variable que influye en la concentración de biomasa es la concentración del Nitrógeno y Fosforo adicionado en el medio recirculado.

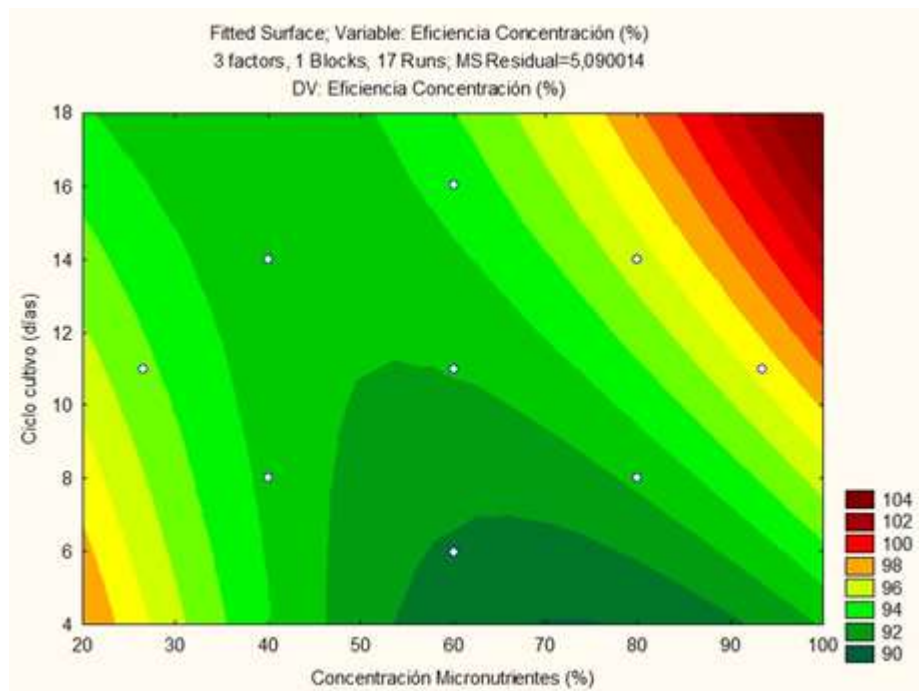
Figura 8. Análisis de Pareto de las Variables de Eficiencia de Concentración de Biomasa Medio Recirculado.



Fuente: Autores

De acuerdo con los resultados de la superficie de respuesta (figura 9), la eficiencia de concentración de biomasa aumentará al incrementar la concentración de micronutrientes en el medio. Además, el tiempo aparenta ser un factor decisivo en la eficiencia de concentración de biomasa; ya que a mayores tiempos de cultivo es posible obtener % mayores de eficiencia de concentración de biomasa (llegando al 100%), pero si miramos el tiempo de cultivo y la concentración de micronutrientes en los que obtenemos el mayor eficiencia de concentración de biomasa y cruzamos con los datos de superficie de la figura 6 encontramos que la concentración de biomasa en esa zona es bastante baja (aproximadamente de 1,5-2 g/mL).

Figura 9. Superficie de Relación de días de Cultivo Vs Concentración de Micro Nutrientes Respecto a Eficiencia de Concentración de Biomasa

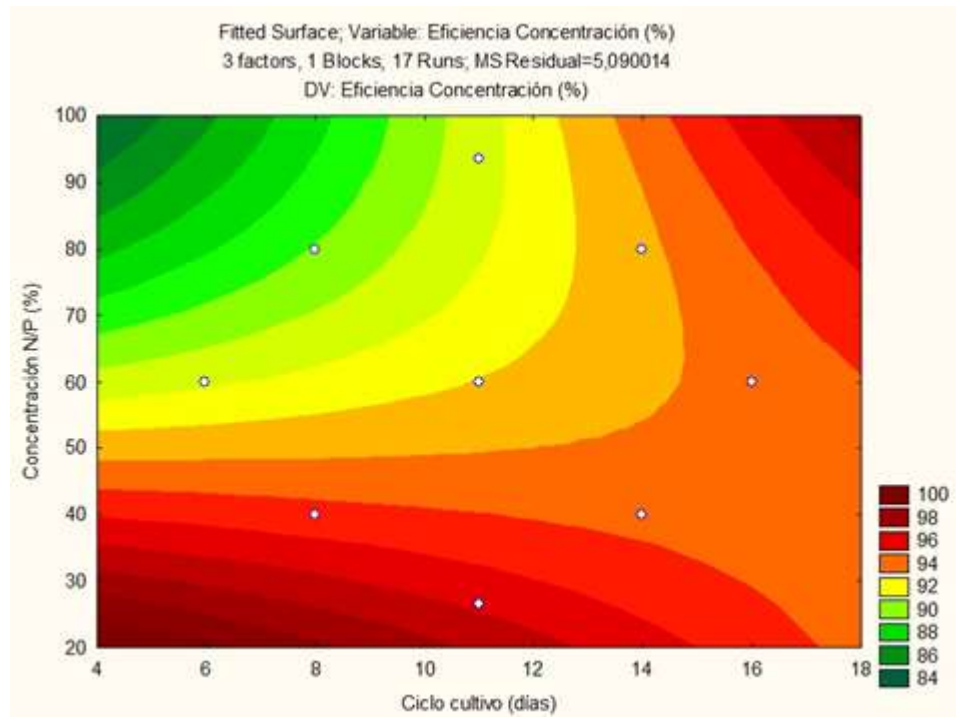


Fuente: Autores

De la interacción entre el tiempo de cultivo y la concentración de nitrógeno ( $\text{NaNO}_3$ ) y del buffer de fosfato ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) en el medio (ver figura 10) muestra que hay una relación directa con el tiempo de cultivo en el que las mayores eficiencias de concentración de biomasa se presentan en ciclos de cultivo cortos y con concentraciones bajas o ciclos de cultivo largos y concentraciones cercanas al 100% (% de eficiencia de concentraciones del 100%). Además si tomamos los

rangos donde encontramos las mayores eficiencia de concentración de biomasa de la concentración de macronutriente y tiempo de cultivo, cruzamos estos datos en la figura 5 encontramos que concuerda también con las dos zonas donde se obtiene mayor concentración de biomasa. Esto confirma que estas variables son de una importancia vital dependiendo del tiempo de cultivo que se desee emplear para la producción de biomasa de esta manera ajustar la correcta concentración de macronutrientes en el cultivo de algas para las mayores producciones concentración de biomasa y eficiencia para la concentración de esta biomasa.

Figura 10. Superficie de Relación de Concentración N/P Vs Días de Cultivo con Respecto a la Eficiencia de Concentración de Biomasa.

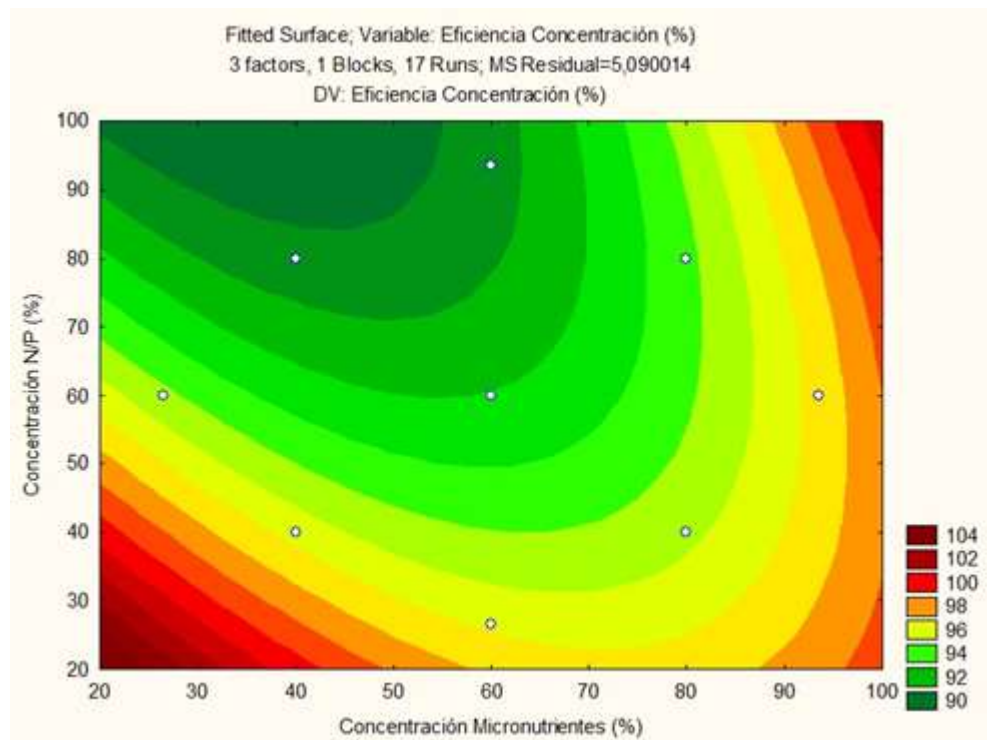


Fuente: Autores

Al revisar la gráfica de superficie de respuesta (figura 11) sobre la interacción entre la concentración de N/P y micronutrientes, es posible obtener una eficiencia de concentración de biomasa por electroflotación del 100%. Lo anterior permite encontrar que, las mayores eficiencias de concentración de biomasa se encuentran

a concentraciones altas de N/P y micronutrientes o a concentraciones bajas de macro y micro nutrientes. Pero si cruzamos estos rangos de concentración con la superficie de la figura 7 encontramos que estas zonas también son las concentraciones biomasa más baja (de 0,5 a 1 g/mL).

Figura 11. Superficie de Relación de Concentración N/F Vs Concentración de Micronutrientes con Respecto a la Eficiencia de Concentración de Biomasa.



Fuente: Autores

Por lo que si miramos los resultados de concentración de biomasa y eficiencia de concentración de biomasa de acuerdo a las concentraciones de micronutrientes, macronutrientes y el tiempo de cultivo. Se generan dos posibilidades un cultivo de corta duración de 4 a 6 días, con concentraciones de un 20 a 40 % de macronutrientes, concentraciones de un 70 a un 100 % de micronutrientes y concentraciones de biomasa de 1,5 hasta 2 g/mL; con eficiencias de concentración de biomasa de un 96% hasta un 98%. La otra opción es un cultivo de larga duración

de 16 a 18 días, con concentraciones de un 70% a un 100% de macronutrientes, concentraciones de un 20% a un 30% de micronutrientes y concentraciones de biomasa de 2 hasta 2,5 g/mL; con eficiencias de concentración de biomasa de un 90% hasta un 94%.

#### **4. CONCLUSIONES**

A mayor adición de micronutrientes y menor adición de macronutrientes hay un menor tiempo de cultivo para alcanzar la máxima eficiencia en la producción de biomasa.

A menor adición de micronutrientes y mayor concentración de macronutrientes hay mayores tiempos de cultivo, pero mayores concentraciones de producción de biomasa. El medio recirculado es una gran opción para la producción de biomasa de microalgas, disminuyendo la demanda de agua para este fin con eficiencias de concentración de biomasa de un 90% a un 95% y pudiendo reutilizarse entre un 75% a un 80% del agua de cultivo. Mediante los cálculos realizados en la fase I es posible obtener un porcentaje de reducción de huella hídrica de un 54,83% para obtener las mismas cantidades de concentración de biomasa realizado en cuatro ciclos de cultivo en comparación a si solo cultivo sin reutilizar el medio.

## BIBLIOGRAFIA

- ANDERSEN R.A., BERGES J.A., HARRISON P.J. WATANABE M.M. Appendix A— Recipes for Freshwater and Seawater Media In Andersen, R.A.(Ed). Algal Culturing Techniques (pp 429-538). 2005. Burlington, MA: Elsevier Academic Press.
- AYALA, F., & VARGAS, T. Experiments on Spirulina culture on waste-effluent media at the pilot plant. *Hydrobiologia*, 1987. 8 (151/152), 91-93.
- BECERRA, P.L. La industria del etanol en México, *Economía UNAM*. (2006). (16), 82-98.
- BENEMANN. *Biocombustibles Microalgos*. 2009.
- CHAMORRO, G., SALAZAR, M., & FAVILA-CASTILLO, L. Farmacología y toxicología del alga Spirulina. 1996. *Rev. Invest. Clin*, 48, 389-399.
- DEPARTMENT OF ENERGY (DOE), National algal biofuels technology roadmap, 2009.
- DONOHUE Timothy J. Y COGDELL Richard J. *Nat Rev Microbiol*. 2006. 4 (11): 800.
- ERKELENS, M et al. The influences of the recycle process on the bacterial community in a pilot scale microalgae raceway pond. *Bio tec*. 157,364-367. 2014.
- GRIMA, M. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. 2003.
- HADJ, F et al. The culture of *Chlorella vulgaris* in a recycled supernatant: Effects on biomass production and medium quality. *Bio tec*. 132, 285-292. 2013.
- HENDERSON, R., PARSONS, S. A., & JEFFERSON, B. The impact of algal properties and pre-oxidation on solid–liquid separation of algae. *Water Research*. (2008). 42(8–9), 1827-1845.

HOEKSTRA, Chapagain, A. K., Hoekstra, A. Y. Water Footprints of Nations (Value of Water Research Report Series, vol. 16). 2011. Delft, the Netherlands: UNESCOIHE.

HOEKSTRA, A.Y. The global dimension of water governance: Why the river basin approach is no longer sufficient and why cooperative action at global level is needed, *Water*. 2011. 3(1): 21-46.

ISO/CD. International Standard under development. Life Cycle assessment-Water footprint. Requirements and guidelines. 2011. [http://www.iso.org/iso/iso\\_catalogue/catalogue\\_tc/catalogue\\_tc\\_browse.htm?com mid=54808&development=on](http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_tc/catalogue_tc_browse.htm?com mid=54808&development=on)., Accessed October 2012. Obtenido de [http://www.iso.org/iso/iso\\_catalogue/catalogue\\_tc/catalogue\\_tc\\_browse.htm?com mid=54808&development=on](http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_tc/catalogue_tc_browse.htm?com mid=54808&development=on)

KIM DONG-GEOL et al. Harvest of *Scenedesmus* sp. with bioflocculant and reuse of culture médium for subsequent high-density cultures. *Bio tec.* 102, 3163-3168. 2011.

KOSARIC, N., & NGUYEN, H. Growth of *Spirulina maxima* algae effluents from secondary waste water treatment plants. *Biotechnology and Bioengineering*, 14, 881-896. 1978.

LIANG, S., LIU, X., CHEN, F., & CHEN, Z. Current microalgal health food R & D activities in China. *Hydrobiologia*. 2004. 512, 45-48.

MENG X, YANG J, XU X, ZHANG L, NIE Q, XIAM M. Biodiesel production from oleaginous microorganisms. *Renew Energ*, 2009:34(1):1-5.

MULLER-FEUGA, A. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. *Journal of Applied Phycology*. 2000. 12, 527–534

PATE, R et al. Resource demand implications for US algae biofuels production scale-up. *App ene.* 88, 3377-3388. 2011.

RAWAT, R et al. Biodiesel from microalgae: A critical evaluation from laboratory to large scale production. *App ener.* 103, 44-467. 2013.

RWEHUMBIZA, V et al. Alum-induced flocculation of preconcentrated *Nannochloropsis salina*: Residual aluminium in the biomass, FAMES and its effects on microalgae growth upon media recycling. *Chem Eng Jou.* 200-202, 168-175. 2012

SPOLAORE, P., JOANNIS-CASSAN, C., DURAN, E., ISAMBERT, A. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering.* 2006. 101, 87– 96

STATSOFT, INC. STATISTICA (data analysis software system), Available at: [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com). 2004.

STEPHENS, R. Future prospects of microalgal biofuel production systems. *Fea rev* 2010. vol15 pag 554-464

STURM, B et al. An energy evaluation of coupling nutrient removal from wastewater with algal biomass production. *App ene*, c88, 3499-3506. 2011.

YANG Jia et al. Life-cycle analysis on biodiesel production from microalgae: Water footprint and nutrients balance. *Bio tec.* 103, 159-165. 2011.

YUAN-KUN, L. Commercial production of microalgae in the Asia Pacific rim. *Journal of Applied Phycology*, 9, 403-411. 1997.

ZHANG, R et al. Recycling *Nannochloropsis oceanica* culture media and growth inhibitors characterization. *Alg res.* 20, 282-290. 2016.

## ANEXOS

### Anexo A. Electroflotación



El proceso de electroflotación consiste en una unidad formada por dos electrodos metálicos de placas de aluminio las cuales tienen una superficie de trabajo o de contacto con el medio (superficie sumergida), se encuentran instaladas verticalmente y paralelas con una distancia entre ellas de 2cm. La corriente eléctrica utilizada está conformada por un circuito en serie de cuatro fuentes de doce voltios y un amperio en corriente continua cada una, esto para obtener un voltaje total de 48 volts y un amperio de corriente. Al sistema se une un agitador magnético con una agitación constante de 175 rpm para mezclar en un vaso de precipitados de 200 ml permitiendo así la flotación de la microalga y evitando la saturación de los electrodos.

**Anexo B. Datos Recopilados 15 Experimentos del Software Estadístico  
STATISTICA 7.0 (Statsoft)**

Reactor	Tiempo (días)	Micronutrientes		N/P	
		% Concentración	ml/Lmedio	% Concentración	ml/Lmedio
16	11	60,00	0,60	93,47	9,35
15	11	60,00	0,60	26,53	2,65
8	8	80,00	0,80	40,00	4,00
4	14	80,00	0,80	40,00	4,00
11	11	26,53	0,27	60,00	6,00
1	8	40,00	0,40	40,00	4,00
5	11	60,00	0,60	60,00	6,00
12	11	93,47	0,93	60,00	6,00
14	16	60,00	0,60	60,00	6,00
7	14	40,00	0,40	40,00	4,00
13	6	60,00	0,60	60,00	6,00
9	14	80,00	0,80	80,00	8,00
3	8	80,00	0,80	80,00	8,00
6	8	40,00	0,40	80,00	8,00
2	14	40,00	0,40	80,00	8,00

**Anexo C. Seguimiento de los Cultivos Iniciales**

CICLO 1					
Reactor	Parámetros	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7
1	DO	0,525	1,628	2,282	2,728
	Lux	750	398	421	730
	Temperatura	27,1	26,1	27,6	27,1
	Volumen	200	182	160	155
2	DO	0,501	1,498	1,918	2,492

	Lux	750	398	421	730
	Temperatura	27,1	26,1	27,6	27,1
	Volumen	200	198	195	195
3	DO	0,513	1,326	2,103	2,789
	Lux	750	398	421	730
	Temperatura	27,1	26,1	27,6	27,1
	Volumen	200	195	180	170
4	DO	0,468	1,246	2,009	2,584
	Lux	750	398	421	730
	Temperatura	27,1	26,1	27,6	27,1
	Volumen	200	190	180	175

CICLO 2					
Reactor	Parámetros	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7
1	DO	0,918	2,275	3,007	3,145
	Lux	715	937	420	433
	Temperatura	26,2	27,8	25	24,3
	Volumen	200	175	150	145
2	DO	0,924	2,303	2,746	2,942
	Lux	715	937	420	433
	Temperatura	26,2	27,8	25	24,3
	Volumen	200	195	180	180
3	DO	0,926	1,958	2,386	2,584
	Lux	715	937	420	433
	Temperatura	26,2	27,8	25	24,3
	Volumen	200	175	155	150
4	DO	0,901	2,058	2,340	2,548
	Lux	715	937	420	433
	Temperatura	26,2	27,8	25	24,3

	Volumen	200	185	170	170
--	---------	-----	-----	-----	-----

<b>CICLO 3</b>					
<b>Reactor</b>	<b>Parámetros</b>	<b>Día 1</b>	<b>Día 3</b>	<b>Día 5</b>	<b>Día 7</b>
1	DO	1,608	2,497	3,161	3,115
	Lux	550	432	317	280
	Temperatura	27	24,1	28,3	26,4
	Volumen	200	200	165	157
2	DO	1,399	2,642	3,298	3,312
	Lux	550	432	317	280
	Temperatura	27	24,1	28,3	26,4
	Volumen	200	180	155	150
3	DO	1,255	2,315	2,864	2,948
	Lux	550	432	317	280
	Temperatura	27	24,1	28,3	26,4
	Volumen	200	185	270	165
4	DO	1,290	2,745	3,041	3,077
	Lux	550	432	317	280
	Temperatura	27	24,1	28,3	26,4
	Volumen	200	265	253	150

<b>CICLO 4</b>					
<b>Reactor</b>	<b>Parámetros</b>	<b>Día 1</b>	<b>Día 3</b>	<b>Día 5</b>	<b>Día 7</b>
1	DO	1,256	2,536	2,944	3,342
	Lux	420	730	370	780
	Temperatura	27,4	28,3	29,9	27,5
	Volumen	200	152	135	120
2	DO	1,169	2,637	3,061	3,236
	Lux	420	730	370	780

	Temperatura	27,4	28,3	29,9	27,5
	Volumen	200	159	145	140
3	DO	1,218	2,528	2,855	3,056
	Lux	420	730	370	780
	Temperatura	27,4	28,3	29,9	27,5
	Volumen	200	174	155	155
4	DO	1,155	2,534	2,909	3,1511
	Lux	420	730	370	780
	Temperatura	27,4	28,3	29,9	27,5
	Volumen	200	174	145	145