

ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL USO DE AGUA RESIDUAL SOBRE EL
RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE MICROALGAS EN UN
FOTOBIOREACTOR A ESCALA LABORATORIO

ANDREA ROCIO LEÓN MARTÍNEZ
VANESSA LUCÍA SÁNCHEZ MARTÍNEZ

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

2010

ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL USO DE AGUA RESIDUAL SOBRE EL
RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE MICROALGAS EN UN
FOTOBIORREACTOR A ESCALA LABORATORIO

ANDREA ROCIO LEÓN MARTÍNEZ
VANESSA LUCÍA SÁNCHEZ MARTÍNEZ

Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Químico

Director

Doctor VIATCHESLAV V. KAFAROV
UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

Codirector

Biólogo ANDRÉS BARAJAS SOLANO
UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

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

2010

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
1. MARCO TEÓRICO	3
1.1 Cultivo de microalgas	3
1.2 Características y ventajas del cultivo de microalgas para obtener biodiesel	4
1.3 Solución de nutrientes para el crecimiento de <i>C. vulgaris</i>	5
1.4 Aguas residuales	7
1.4.1 Origen y cantidad	7
1.4.2 Tipos de agua residuales	7
2. METODOLOGÍA Y DESARROLLO EXPERIMENTAL	10
2.1 Caracterización del agua	10
2.2 Implementación del sistema de experimentos	11
2.3 Determinación de rangos de variables condicionantes	12
2.4 Análisis de costos	13
2.4.1 Costos de preparación del medio inicial	13
2.4.2 Costos de adicionar componentes al medio residual	15
2.4.3 Selección del destino final del agua residual del proceso	16
3. ANÁLISIS DE RESULTADOS	17
3.1 Crecimiento Celular de <i>C. vulgaris</i> en medio Bold Basal	17
3.2 Crecimiento celular de <i>C. vulgaris</i> en el agua residual	18

3.3 Variación de la concentración de Nitrógeno y Fósforo en el medio	19
3.4 Determinación del costo de medio utilizado inicialmente	20
3.5 Determinación del costo de medio reemplazando la fuente de Nitrógeno	20
4. CONCLUSIONES	22
5. RECOMENDACIONES	23
6. BIBLIOGRAFÍA	24
7. ANEXOS	26

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del Desarrollo Experimental	10
Figura 2. Cultivos de <i>C. vulgaris</i> en medio Bold Basal	11
Figura 3. Fotobiorreactor con cultivo de <i>C. vulgaris</i> en medio Bold Basal	12
Figura 4. Ln (concentración) vs. Tiempo	17
Figura 5. Ln (Concentración) vs. Tiempo	18
Figura 6. Concentración vs. Tiempo	19

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición del medio Bold Basal	5
Tabla 2. Condiciones del cultivo de <i>C. vulgaris</i>	12
Tabla 3. Costos de insumos para preparación del medio Bold Basal	13
Tabla 4. Costos de insumos para preparación del medio Bold Basal con Úrea	15
Tabla 5. Costo total de preparación de 1 litro de medio Bold Basal	20
Tabla 6. Costo total de preparación de 1 litro de medio utilizando Úrea como fuente de Nitrógeno	20
Tabla 7. Composición típica de aguas residuales urbanas	29

RESUMEN

Título: ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL USO DE AGUA RESIDUAL SOBRE EL RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE MICROALGAS EN UN FOTOBIORREACTOR A ESCALA LABORATORIO*

Autor: LÉON MARTÍNEZ Andrea Rocio, SÁNCHEZ MARTÍNEZ Vanessa Lucía. **

Palabras Claves: Agua residual, Rendimiento del cultivo.

El objetivo de este trabajo fue determinar la influencia de usar el agua residual del proceso de crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* (microorganismo estudiado por primera vez por Beijerinck en 1890) sobre el rendimiento del cultivo, principalmente mediante el análisis de las variables características del agua o medio residual que eran determinantes para un óptimo desarrollo metabólico en el que se favoreciera la producción de lípidos, siempre controlando las condiciones en el fotobiorreactor para prevenir inhibición del crecimiento celular.

El desarrollo experimental arrojó como resultado los rangos admisibles de los parámetros condicionantes del crecimiento de la microalga *C. vulgaris*, mediciones y conteos celulares; todo esto permitió determinar el comportamiento del cultivo, concentraciones limitantes de nutrientes y sus respectivas velocidades de consumo.

El posterior análisis de resultados permitió demostrar que no es conveniente, sin un reacondicionamiento del medio, recircular el agua al fotobiorreactor para efectos de un nuevo ciclo de crecimiento de la microalga, debido a que la concentración de nutrientes ha disminuido en proporciones que no permiten obtener un buen rendimiento del cultivo.

De igual manera, se comprobó que el reacondicionamiento del medio residual logra una disminución en los costos de energía y un importante ahorro de agua, constituyendo con esto, un enorme e importante aprovechamiento de recursos.

*Proyecto de Grado

**Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Viatcheslav V. Kafarov. Codirector: Andrés Barajas Solano.

ABSTRACT

Title: STUDY OF THE INFLUENCE OF USING WASTED WATER ON THE PERFORMANCE OF THE MICROALGAE CULTURE IN A PHOTOBIOREACTOR IN A LABORATORY SCALE

Autor: LÉON MARTÍNEZ Andrea Rocio, SÁNCHEZ MARTÍNEZ Vanessa Lucía. **

Key words: Wasted water, Performance of the microalgae culture.

The aim of this study was to determine the influence of residual water using the process of growth of the microalgae *Chlorella vulgaris* (microorganism first studied by Beijerinck in 1890) on performance of the microalgae culture, mainly through analyzing the characteristics of the water variables or residual medium were crucial to an optimal metabolic which would favor the production of lipids, while controlling the conditions in the photobioreactor to prevent inhibition of cell growth.

Experimental development showed as a result the allowable ranges of the parameters that condition the growth of the microalga *C. vulgaris*, measurements and cell counts, all this allowed to determine the behavior of the performance, limiting concentrations of nutrients and their consumption rates.

Further analysis of results allowed to demonstrate that it is not appropriate, not an overhaul of the environment, recycle the water to photobioreactor for purposes of a new cycle of growth of microalgae, because the concentration of nutrients has diminished in proportions can not get a good crop yield.

Similarly, it was found that the residual environmental refurbishment achieved a reduction in energy costs and significant savings in water, forming with it a huge and important resource use.

*Proyecto de Grado

**Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Viatcheslav V. Kafarov. Codirector: Andrés Barajas Solano.

INTRODUCCIÓN

No contribuir al calentamiento y dar una solución global a la necesidad de combustible destinado al transporte, constituyen incentivos más que suficientes para que la comunidad científica, económica y política se orienten definitivamente a la producción de biodiesel a partir del aceite de las microalgas. El desarrollo de estas tecnologías está centrado en obtener el aceite a un costo competitivo con el de otras energías alternativas, y por supuesto, a una relación aceptable en comparación al precio del barril de petróleo y otros combustibles fósiles.

La Empresa Colombiana de Petróleo ECOPEL, El Instituto colombiano de petróleo ICP, el Ministerio de Agricultura, el Instituto de Morrosquillo y La Universidad Industrial de Santander se involucran directamente con la búsqueda de nuevas tecnologías, y se encuentra desarrollando una investigación sin precedentes, dentro del proyecto Bioprospección de microalgas colombianas para la producción de biodiesel.

Debido a la importancia de la conservación de los recursos naturales, se incluye dentro de esta gran investigación, el uso y aprovechamiento de aguas residuales como medio de cultivo para microalgas, todo esto, dentro del proceso de obtención de biodiesel a partir de la microalga *Chlorella vulgaris* (microorganismo estudiado por Beijerinck en 1890).

Partiendo de la preparación del medio de cultivo, agua destilada más nutrientes requeridos, seguida de inoculación del cultivo de la microalga y separación de biomasa y agua residual; la biomasa continúa en el proceso con métodos de extracción de aceite para su posterior transesterificación y finalmente obtener el biocombustible.

Pero, ¿Qué sucede con el agua que anteriormente se mencionó como “residual”? Considerando la importancia de este recurso en el proceso a

escala laboratorio, y aún más, en cultivos de microalgas en grandes estanques, este proyecto busca definir un procedimiento adecuado para llevar esta agua a un máximo de aprovechamiento y una disminución de costos energéticos, ambientales y económicos.

C. vulgaris tiene requerimientos nutricionales que en este proyecto están determinados por una adición del medio Bold Basal, constituido principalmente por Nitrógeno, Fósforo, Sodio, Potasio y trazas metálicas, agua destilada en condiciones de luz natural en ciclo 12/12, temperatura ambiente y un pH ligeramente ácido.

Este estudio comienza con la caracterización del agua una vez se ha separado de la biomasa, realizando una serie de análisis para cuantificar las variables determinantes para el crecimiento celular y establecer si existen posibilidades de reutilización o si lo que se debe hacer es seleccionar su destino final.

Luego de diferentes análisis, se estableció que no es conveniente reutilizar el medio sin enriquecerlo nuevamente con los nutrientes limitantes del crecimiento celular. Esta adición de nutrientes constituye un ahorro significativo, permitiendo recircular el caldo de cultivo, ahora enriquecido, en lugar de desechar el agua y realizar una nueva preparación del medio.

Es importante destacar que la utilización de soluciones hidropónicas residuales como medio de cultivo, genera buenas perspectivas para la producción de lípidos y ácidos grasos en *C. vulgaris* y además, constituye un medio alternativo y de bajo costo, que favorece concentraciones celulares de microalgas similares a las que se obtienen en el medio preparado.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Cultivo de microalgas

La producción de algas y la obtención de sus productos derivados ha sido tal vez uno de los campos menos explorados de la Biotecnología en Colombia. El cultivo de microalgas se presenta como una de las mejores alternativas para la solución de problemas mundiales como el calentamiento global, ya que sus propiedades fotosintéticas las llevan a ser captadores de CO₂ en altas concentraciones.¹ Estas microalgas son caracterizadas por tener la mayor eficiencia en cuanto a la utilización de la luz para producir fotosíntesis (mucho más eficientes que las plantas que viven sobre la tierra). Una de las ventajas que tienen las algas es que al estar suspendidas en el agua (a diferencia de los cultivos tradicionales terrestres), tienen un mejor acceso al O₂, CO₂ y a diversos nutrientes que les ayudan a crecer. Las microalgas están compuestas en parte por proteínas, carbohidratos y lípidos, así como también por una gran variedad de vitaminas y elementos como Yodo, Potasio, Hierro, Magnesio, Calcio, etc. en diferentes proporciones.²

Los lípidos y carbohidratos se encuentran normalmente almacenados en la biomasa de las células de microalgas. En algunos casos, la composición de los lípidos puede ser regulada mediante la adición o restricción de algunos componentes en su dieta. Restringir las fuentes de Nitrógeno o Sílice, así como de otros factores de estrés, puede incrementar la producción total de lípidos. El tipo y cantidad de lípidos y carbohidratos producidos por microalgas se encuentran relacionados frecuentemente a factores del medio ambiente como

¹ GONZÁLEZ MARIÑO GLORIA EUGENIA. "Determinación de los parámetros óptimos del crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* y las condiciones de mayor productividad para el diseño de un fotobiorreactor". Procesos agroindustriales. Universidad de La Sabana. Colombia. 1 p.

² GONZÁLEZ MARIÑO GLORIA EUGENIA. "Determinación de los parámetros óptimos del crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* y las condiciones de mayor productividad para el diseño de un fotobiorreactor". Procesos agroindustriales. Universidad de La Sabana. Colombia. 2 p.

luz, temperatura, concentración de iones y pH. No es raro encontrar niveles de lípidos entre 20 y 40% de la materia seca. En ocasiones los niveles de lípidos en microalgas son extremadamente altos.³

1.2 Características y ventajas del cultivo de microalgas para obtener biodiesel

El cultivo de microalgas y la obtención de aceite a partir de éste, presenta muchas ventajas con respecto a los cultivos terrestres. Por un lado presentan una tasa de crecimiento mucho mayor, además la producción de aceite por área esta estimada entre 4.6 y 18.4 l/m², esto es de de 7 a 30 veces mayor que los mayores cultivos terrestres. No requiere de grandes superficies para su producción. En una superficie de 52.000 km², se pueden obtener 95 millones de barriles de biodiesel al día a un precio sensiblemente inferior al del petróleo actual.⁴

Se trata de una fuente de producción de energía en continuo, inagotable y no contaminante porque no moviliza carbono fósil, por el contrario, utiliza el exceso de carbono atmosférico (CO₂). Contribuye de esta forma a mitigar el efecto invernadero y a restablecer el equilibrio térmico del planeta.⁵

En comparación con otros vegetales utilizados para la producción de biodiesel, las microalgas parecen ser las que mejor rendimiento tienen. Algunos estudios señalan niveles de producción anual de volumen de aceite por km² de 10.000 a 20.000 m³/km², 200 veces mayor que la producción a partir de plantas.⁶

Las algas tienden a producir una alta cantidad de ácidos grasos poliinsaturados, lo que disminuye la estabilidad del biodiesel. Pero los ácidos

³ GLORIA VALLEJO MARTÍN. "Evaluación de la sensibilidad de *Chlorella vulgaris*" Mayo de 2001. Trabajo de microalgas". Energías renovadas. (Biología).

⁴ GUSTAVO ADOLFO ETCHETTO. "Biodiesel de Algas. Proceso de producción de biodiesel utilizando biocombustibles, cultivos energéticos.

⁵ ALBERTO L. D'ANDREA. "Biodiesel a partir de aceite de microalgas". Licenciatura en Biotecnología de la Universidad Argentina de la Empresa (UADE). [En línea].

<http://biodiesel.com.ar/305/biodiesel-a-partir-de-aceite-de-microalgas> [Citado el 10 de Diciembre de 2009]

⁶ CETESB, 1991. Ensayos biológicos con algas. CETESB. Sao Paulo. Brasil. pp. 93- 113

grasos poliinsaturados tienen puntos de fusión bajos por lo que en climas fríos es mucho más ventajoso que otros tipos de biocombustibles.

1.3 Solución de nutrientes para el crecimiento de *Chlorella vulgaris*⁷

Usar el medio Bold Basal (Stein, 1973) como fuente de nutrientes es lo más recomendado para algas de agua dulce, especialmente *Chlorella sp.*, debido a que contiene los nutrientes necesarios para lograr un crecimiento celular óptimo, le ofrece al cultivo las condiciones requeridas de pH de 6,6 y se evitan variaciones significativas de éste durante el proceso.

Se compone de una solución patrón de macronutrientes y cuatro soluciones patrón de micronutrientes, así:

Tabla 1. Composición del medio Bold Basal

Solución patrón de Macronutrientes		
		Para 400 ml de solución
(1)	NaNO ₃	10.0 g
(2)	MgSO ₄ • 7H ₂ O	3.0 g
(3)	NaCl	1.0 G
(4)	K ₂ HPO ₄	2.0 g
(5)	KH ₂ PO ₄	7.0 g
(6)	CaCl ₂ • 2H ₂ O	1.0 g

⁷ Medios de cultivo para microalgas [en línea]
<http://148.206.53.231/UAM6317.PDF> [citado el 15 de Noviembre de 2009]

Solución patrón de Micronutrientes		
Para 1 litro de solución		
(7)	Solución de Oligoelementos	
	ZnSO ₄ • 7H ₂ O	8.82 g
	MnCl ₂ • 4H ₂ O	1.44 g
	MoO ₃	0.71 g
	CuSO ₄ • 5H ₂ O	1.57 g
	Co(NO ₃) ₂ • 6H ₂ O	0.49 g
(8)	H ₃ BO ₃	11.42 g
(9)	EDTA	50.0 g
	KOH	31.0 g
(10)	FeSO ₄ • 7H ₂ O	4.98 g
	H ₂ SO ₄	1.0 ml

Fuente: Culture Collection of Algae and Protozoa, Dunstaffnage Marine Laboratory, Oban, Argyll, PA37 1QA, UK

El método de preparación de 1 litro de medio consiste en mezclar 10 ml de cada solución patrón de macronutrientes (1–6), 1 ml de cada solución patrón de micronutrientes (7–10) y agua destilada.

1.4 Aguas residuales

Las aguas residuales son materiales derivados de residuos domésticos o de procesos industriales. Cuando un producto de desecho se incorpora al agua, el líquido resultante recibe el nombre de agua residual.⁸

1.4.1 Origen y cantidad

Las aguas residuales tienen un origen doméstico, industrial, subterráneo y meteorológico, y estos tipos de aguas residuales suelen llamarse respectivamente, domésticas, industriales, de infiltración y pluviales. Un área metropolitana estándar vierte un volumen de aguas residuales de entre el 60 y el 80% de sus requerimientos diarios totales.⁹

1.4.2 Tipos de agua residuales¹⁰

La clasificación se hace con respecto a su origen, ya que este origen es el que va a determinar su composición.

Las aguas residuales urbanas son los vertidos que se generan en los núcleos de población urbana como consecuencia de las actividades propias de éstos. Los aportes que generan esta agua son: Aguas negras o fecales, aguas de lavado doméstico, aguas de limpieza de calles, aguas de lluvia y lixiviados.

Las aguas residuales urbanas presentan una cierta homogeneidad cuanto a composición y carga contaminante, ya que sus aportes van a ser siempre los mismos.

⁸ JORGE SILVA, PATRICIA TORRES. Reuso de aguas domesticas en agricultura. Vol. 26. Bogotá. 2008. 13p. ISSN 0120-9965

⁹ MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE. Gestión para el manejo, tratamiento y disposición final de las aguas residuales mucipales.2000. 32p. ISBN 958-9487-46-7

¹⁰ MARGARITA MARIA MEJIA BARRENECHE. Estación depuradora de aguas residuales [en línea] <<http://fluidos.eia.edu.co/hidraulica/articulos/interesantes/edar/edar.html>> [citado en noviembre 11 de 2009]

Las aguas residuales industriales son aquellas que proceden de cualquier actividad o negocio en cuyo proceso de producción, transformación o manipulación se utilice el agua. Son enormemente variables en cuanto a caudal y composición, difiriendo las características de los vertidos no sólo de una industria a otro, sino también dentro de un mismo tipo de industria.

Son mucho más contaminadas que las aguas residuales urbanas, además, con una contaminación mucho más difícil de eliminar. Su alta carga unida a la enorme variabilidad que presentan, hace que el tratamiento de las aguas residuales industriales sea complicado, siendo preciso un estudio específico para cada caso.

Las aguas residuales urbanas contienen cantidades más representativas de nutrientes como Nitrógeno y Fósforo que las aguas residuales industriales. Son casi siempre una solución nutriente bien equilibrada que puede utilizarse como fertilizante para las plantas.¹¹

Los compuestos inorgánicos más destacados son los compuestos de Nitrógeno y Fósforo: Nitrógeno orgánico, Nitrógeno amoniacal, Nitratos y Nitritos. El Amoniacal libre es tóxico para la vida acuática. Su proporción depende del pH del medio, participando en el equilibrio Amonio-Amoniacal, siendo favorita su formación con el incremento del pH.

Producen problemas al tener una elevada demanda de Oxígeno, requiriendo más de 4,5 veces su propio peso de Oxígeno para su completa oxidación. La

¹¹ UNIVERSIDAD DE CIENCIAS AGRICOLAS DE SUECIA. Saucos para energía y fitorremediación en Suecia [en línea] <www.fao.org/docrep/008/a0026s/a0026s11.htm> [citado en noviembre 10 de 2009]

suma de Nitrógeno orgánico y el Nitrógeno amoniacal es el denominado Nitrógeno Kjeldahl.¹²

El Fósforo es, junto al Nitrógeno, uno de los elementos imprescindibles en el crecimiento de los microorganismos. La relación N/P es esencial para el buen funcionamiento de los procesos biológicos de depuración. Es de gran importancia el control de la cantidad de Fósforo que se incorpora a las aguas superficiales, pues su exceso es el principal causante de la eutrofización.

El Fósforo está en las aguas en forma de Ortofosfatos, Polifosfatos y compuestos orgánicos de Fósforo.¹³

¹² Depuración biológicas de las aguas residuales urbanas [en línea] <http://www.tdr.cesca.es/TESIS_UPC/AVAILABLE/TDX-0727105-133519//08Mjkm08de18.pdf> [citado en octubre 30 de 2009]

¹³ MIGUELI CERRO CARPIO. Composición cualitativa de las aguas residuales [en línea]. <<http://www.olivacordobesa.es/COMPOSICON%20CUALITATIVA%20AGUAS%20RESIDUALES.pdf>> [citado en noviembre 12 de 2009]

2. METODOLOGÍA Y DESARROLLO EXPERIMENTAL

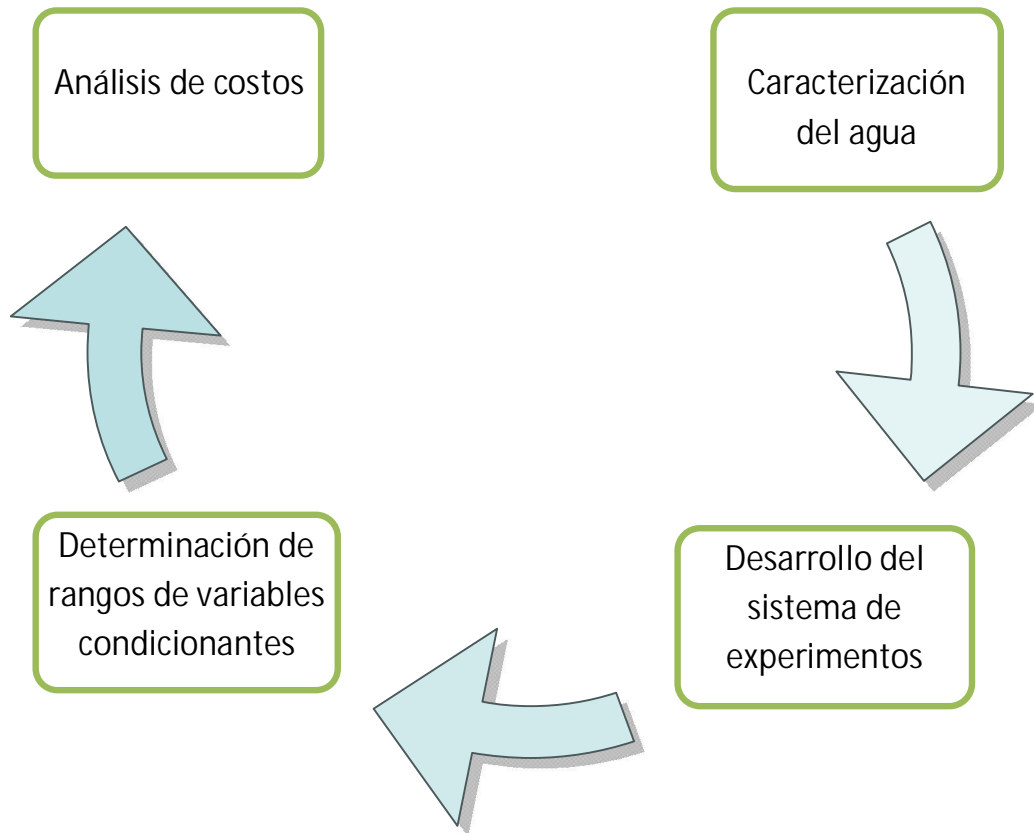


Figura 1. Esquema del Desarrollo Experimental
Fuente: Elaborado por autores

2.1 CARACTERIZACIÓN DEL AGUA:

Después de 10 días de las fases de crecimiento del cultivo microalgal, se separaron la biomasa y el agua con centrifugación. Inicialmente se realizó la caracterización fisicoquímica del agua residual del cultivo con las respectivas mediciones de pH, temperatura y contenido de minerales.

2.2 IMPLEMENTACIÓN DEL SISTEMA DE EXPERIMENTOS:



Figura 2. Cultivos de *C. vulgaris* en medio Bold Basal

Fuente: Laboratorio de Biomasa. Escuela de Ingeniería Química. Universidad Industrial de Santander.

El crecimiento celular estaba determinado por condiciones estándares para un cultivo de *C. vulgaris* en erlenmeyers de 500 ml, de donde se tomaba una alícuota para realizar las mediciones de concentración de biomasa cada 12 horas durante 10 días, de esta manera, se hacía el monitoreo y conteo de células, y con las lecturas tomadas del espectrofotómetro, se obtuvieron las curvas de crecimiento para cada una de las corridas del experimento, además de determinar las velocidades de consumo de nutrientes limitantes del proceso como Nitrógeno y Fósforo.

Al finalizar los 10 días de las fases de crecimiento se recuperó el medio por centrifugación y se dispuso para determinar la posibilidad de una nueva etapa de crecimiento, desarrollo y metabolismo, a partir de la inoculación de la microalga en él. Al finalizar los siguientes 10 días de multiplicación celular, se realizaron análisis de absorción atómica, Kjeldahl y Colorimetría, para conocer las concentraciones de sales, Nitrógeno y Fósforo, respectivamente.

2.3 DETERMINACIÓN DE RANGOS DE VARIABLES CONDICIONANTES:



Figura 3. Fotobiorreactor con cultivo de *C. vulgaris* en medio Bold Basal
Fuente: Laboratorio de Biomasa. Escuela de Ingeniería Química. Universidad Industrial de Santander.

Con las mediciones de las variables, y sabiendo en qué condiciones se favorece la producción de lípidos en el cultivo, se pudieron establecer los rangos admisibles para la reutilización del agua en el fotobiorreactor.

Tabla 2 Condiciones del cultivo de *C. vulgaris*

PARÁMETROS	CONDICIONES
Temperatura	24 °C ± 2°C
Luz	Max. 500 lux
Iluminación	Continua - Ciclo 12/12
Agitación	Aireación constante
Esterilización	Cultivo axénico

Fuente: Elaborado por autores

2.4 ANÁLISIS DE COSTOS:

2.4.1 Costos de preparación del medio inicial

En la Tabla 3 se muestran las composiciones y precios de los nutrientes presentes en el medio Bold Basal. Partiendo de los precios de venta cotizados en distintas distribuidoras de productos químicos en Bucaramanga, la cantidad mínima de venta y las cantidades requeridas de cada nutriente para preparar el medio, se calculó el costo total requerido para la elaboración de 1 L de medio, del cual se toman de 80 a 100 mL para realizar un experimento de crecimiento durante un periodo de diez días.

Tabla 3 Costos de insumos para preparación del medio Bold Basal

SOLUCIÓN	CANTIDAD COMPRADA (g)	CANTIDAD REQUERIDA (g)	PRECIO DE COMPRA (\$)	PRECIO CANT. REQ. (\$)
MACRONUTRIENTES				
NaNO ₃	500	10	82.264	1.645
MgSO ₄ • 7H ₂ O	500	3	146.160	877
NaCl	1.000	1	36.500	37
K ₂ HPO ₄	500	3	92.620	556
KH ₂ PO ₄	1.000	7	114.840	804
CaCl ₂ • 2H ₂ O	500	1	1.800	4

MICRONUTRIENTES				
ZnSO ₄ • 7H ₂ O	500	8,82	76.560	1.351
MnCl ₂ • 4H ₂ O	100	1,44	190.240	2.739
MoO ₃	125	0,71	266.220	1.512
CuSO ₄ • 5H ₂ O	500	1,57	120.640	379
Co(NO ₃) ₂ • 6H ₂ O	50	0,49	578.260	5.667
H ₃ BO ₃	500	11,42	107.880	2.464
EDTA	100	50	121.000	60.500
KOH	500	31	5.000	310
FeSO ₄ • 7H ₂ O	500	4,98	97.000	966
H ₂ SO ₄ (Concentrado)	500*	1*	5.000	10
AGUA DESTILADA	18.927*	936*	5.500	272

* Unidades: ml

Fuente: Elaborado por autores

2.4.2 Costos de adicionar componentes al medio residual

Tabla 4 Costos de insumos para preparación del medio Bold Basal con Úrea

SOLUCIÓN	CANTIDAD COMPRADA (g)	CANTIDAD REQUERIDA (g)	PRECIO DE COMPRA (\$)	PRECIO CANT. REQ. (\$)
MACRONUTRIENTES				
CO(NH ₂) ₂	1.000	0,52	4.000	2
MgSO ₄ • 7H ₂ O	500	3	146.160	877
NaCl	1000	1	36.500	37
K ₂ HPO ₄	500	3	92.620	556
KH ₂ PO ₄	1.000	7	114.840	804
CaCl ₂ • 2H ₂ O	500	1	1.800	4
MICRONUTRIENTES				
ZnSO ₄ • 7H ₂ O	500	8,82	76.560	1.351
MnCl ₂ • 4H ₂ O	100	1,44	190.240	2.739
MoO ₃	125	0,71	266.220	1.512
CuSO ₄ • 5H ₂ O	500	1,57	120.640	379
Co(NO ₃) ₂ • 6H ₂ O	50	0,49	578.260	5.667
H ₃ BO ₃	500	11,42	107.880	2.464
EDTA	100	50	121.000	60.500
KOH	500	31	5.000	310
FeSO ₄ • 7H ₂ O	500	4,98	97.000	966
H ₂ SO ₄ (Concentrado)	500*	1*	5.000	10
AGUA DESTILADA	18.927*	936*	5.500	272

* Unidades: ml

Fuente: Elaborado por autores

Luego se planteó la posibilidad de readaptar las condiciones del medio a la salida de los 10 días de cultivo, enriqueciéndolo con Úrea como nueva fuente de Nitrógeno.

Debido a que la Úrea posee un alto contenido de Nitrógeno (46%), la cantidad de de Úrea necesaria para satisfacer la concentración de Nitrógeno se reduce a poco más del 50% en comparación con el Nitrato de Sodio que era la anterior fuente de este nutriente, significando un ahorro en el suministro de insumos.

2.4.3 Selección del destino final del agua residual del proceso

Por medio de la comparación de las Tablas 3 y 4, que corresponden a las dos listas de precios y costos de preparación de medio, se estableció el valor económico de los procedimientos abastecer–desechar (agua + medio utilizado), o recircular (agua + medio enriquecido), para determinar la conveniencia de elegir una u otra opción.

3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 Crecimiento Celular de *C. vulgaris* en medio Bold Basal

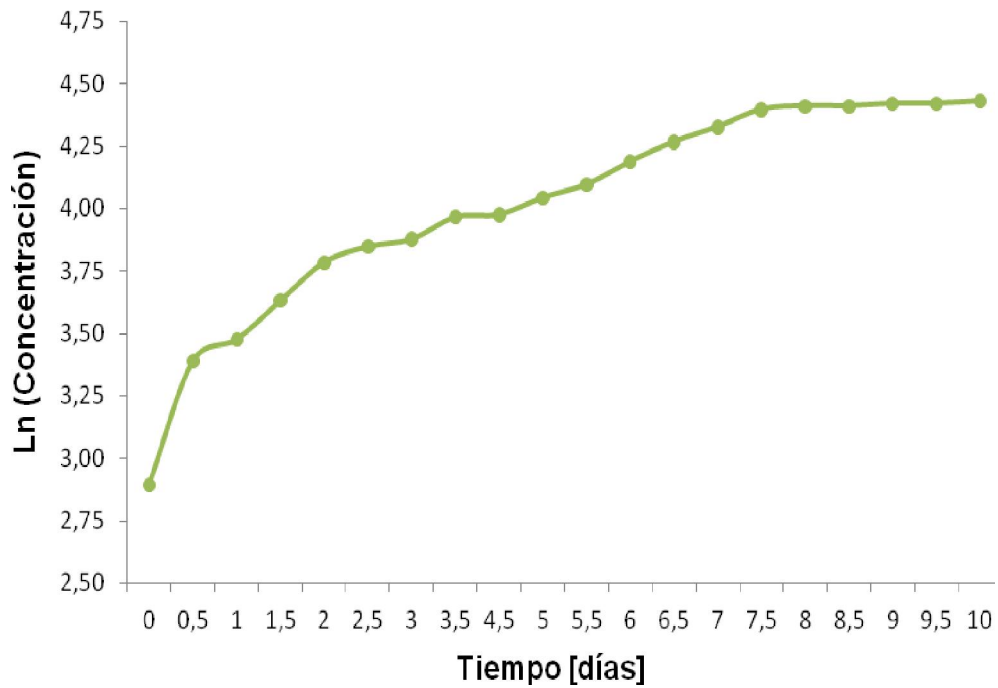


Figura 4: Ln (concentración) vs. Tiempo
Fuente: Elaborado por autores

Descrito en la figura 4 se encuentra el crecimiento celular de la microalga *C. vulgaris* después de 10 días de cultivo describiendo las diferentes fases de su desarrollo; este comportamiento fue utilizado como patrón de comparación con las siguientes curvas de crecimiento, obtenidas de algún tipo de modificación a las condiciones o al medio.

3.2 Crecimiento celular de *C. vulgaris* en el agua residual

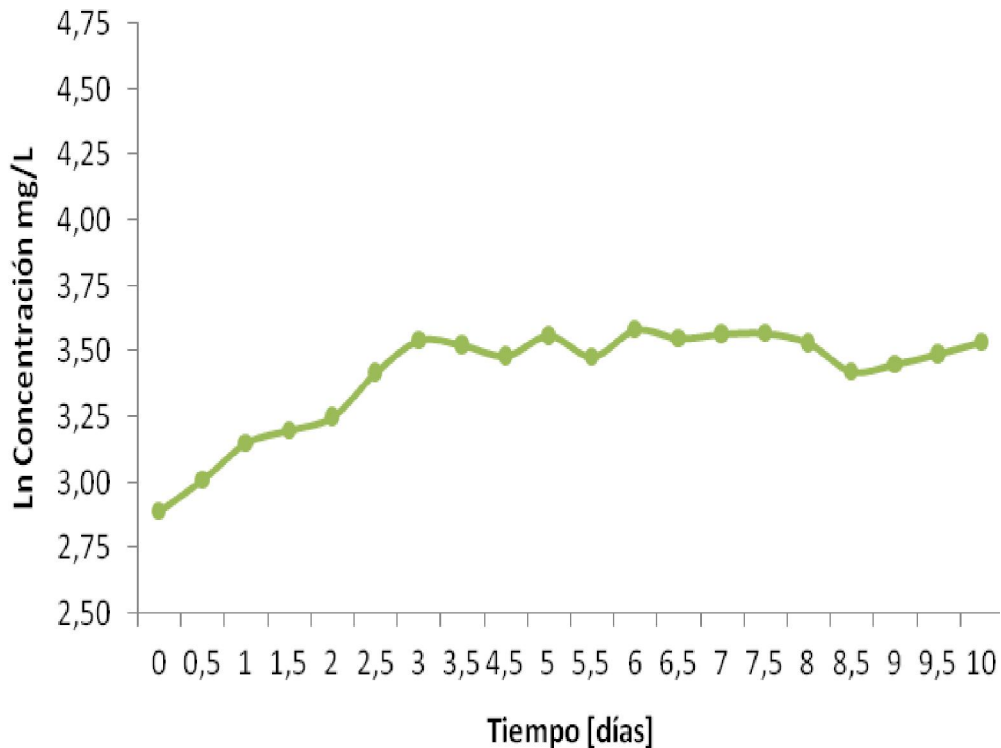


Figura 5: Ln (Concentración) vs. Tiempo
Fuente: Elaborado por autores

Al finalizar un experimento, después de 10 días de desarrollo, se separó la biomasa del agua, esta agua fue nuevamente inoculada con *C. vulgaris*, sin ningún tipo de modificación química del medio, pero sí a las mismas condiciones de temperatura, pH e iluminación. Se monitoreó su comportamiento durante 10 días más.

Evidentemente, la concentración celular es mucho más baja que la obtenida con el medio inicial, indicando además de una menor densidad celular, una más temprana estabilización de metabolismo celular y por lo tanto, menor cantidad de lípidos, carbohidratos, proteínas por cochada de medio.

3.3 Variación de la concentración de Nitrógeno y Fósforo en el medio

Durante los 10 días que duraba cada experimento, se realizaron mediciones periódicas de concentración de los dos componentes determinantes del crecimiento celular, Nitrógeno y Fósforo, obteniéndose así, la velocidad de consumo de estos nutrientes en el medio.

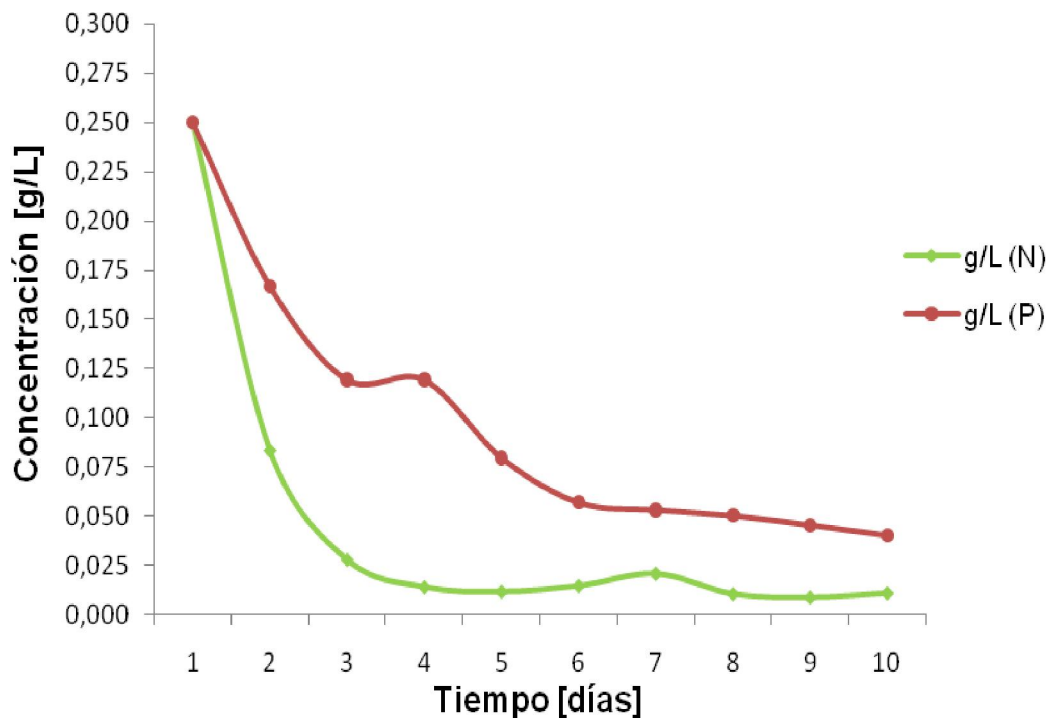


Figura 6: Concentración vs. Tiempo
Fuente: Elaborado por autores

Como se muestra en la figura 6, el nutriente que más se agota es el Nitrógeno, consumiéndose en un 95,6% durante el crecimiento de la microalga, y el Fósforo, que si bien no es limitante en el proceso, sí afecta la composición bioquímica final de *C. vulgaris*.

3.4 Determinación del costo de medio utilizado inicialmente

A partir de las cantidades de nutrientes y los respectivos precios registrados en la Tabla 3, se pudo determinar el costo total de elaborar 1 litro de medio resumido así:

Tabla 5 Costo total de preparación de 1 litro de medio Bold Basal

COMPOSICION MEDIO	PRECIO
MACRONUTRIENTES	\$558
MICRONUTRIENTES	\$304
AGUA DESTILADA	\$272
TOTAL	\$1.134

Fuente: Elaborado por autores

3.5 Determinación del costo de medio reemplazando la fuente de Nitrógeno

Tabla 6 Costo total de preparación de 1 litro de medio utilizando Úrea como fuente de Nitrógeno

COMPOSICION MEDIO	PRECIO
MACRONUTRIENTES	\$345
MICRONUTRIENTES	\$304
AGUA DESTILADA	\$272
TOTAL	\$921

Fuente: Elaborado por autores

Como se puede observar en la Tabla 6, el costo de reacondicionamiento del medio, adicionando solamente Úrea como nueva fuente de Nitrógeno,

representa una disminución de un 18,8 % en los costos, y constituye la alternativa a una nueva preparación de medio.

Enriquecer el medio de salida del proceso, garantiza un mejor rendimiento del cultivo, permite el ahorro de insumos y energía significativos y constituye un medio alternativo y de bajo costo, siendo posible producir concentraciones celulares de *C. vulgaris* muy similares a las que se obtienen en el medio preparado (Bold Basal).

4. CONCLUSIONES

Se realizó el estudio de la influencia del uso de agua residual sobre el rendimiento del cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* en un fotobiorreactor a escala laboratorio.

Por medio de la realización de diferentes experimentos se determinó que no es conveniente, sin un reacondicionamiento del medio, recircular el agua al fotobiorreactor para efectos de un nuevo ciclo de crecimiento de la microalga, debido a que la concentración de nutrientes ha disminuido en proporciones que no permiten obtener un buen rendimiento del cultivo.

Teniendo en cuenta la importancia del ahorro y conservación de recursos, la recirculación representa una disminución de consumo de agua, de energía y de costos debido a la reutilización del medio residual adicionando nuevas fuentes de Nitrógeno, principalmente.

La utilización de soluciones hidropónicas residuales como medio de cultivo alternativo para *Chlorella vulgaris* genera buenas perspectivas para la producción de lípidos y ácidos grasos, además, constituye un medio alternativo y de bajo costo, que favorece concentraciones celulares de microalgas similares a las que se obtienen en medios preparados como el Bold Basal.

5. RECOMENDACIONES

Debido a la importancia de la acidez del medio, se debe tener muy en cuenta que el rango de pH, medido en la alícuota cada 12 horas, esté siempre dentro de los límites admisibles para prevenir inhibición del crecimiento celular; determinándose además, si la presencia de metabolitos afecta de manera significativa al cultivo.

Para escalar los resultados a cultivos masificados en grandes estanques, se debe realizar un nuevo análisis de costos, esta vez, con precios comerciales de insumos, compuestos, nutrientes y agua.

Usar aguas residuales como las de tipo urbano, que contienen cantidades más representativas de nutrientes como Nitrógeno y Fósforo que las aguas residuales industriales, plantea un conveniente aprovechamiento de los residuos, cambiando su destino más común, ser vertidas a los ríos y reservas de agua dulce, y proveería al sistema de crecimiento de la microalga, los requerimientos nutricionales y las condiciones necesarias para su desarrollo.

6. BIBLIOGRAFÍA

- ¹ GONZÁLEZ MARIÑO GLORIA EUGENIA. “Determinación de los parámetros óptimos del crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* y las condiciones de mayor productividad para el diseño de un fotobiorreactor”. Grupo de investigación: Procesos agroindustriales. Universidad de La Sabana. Colombia.
- ² GLORIA VALLEJO MARTÍN. “Evaluación de la sensibilidad de *Chlorella vulgaris*” Mayo de 2001. Trabajo de grado. (Biología).
- ³ GUSTAVO ADOLFO ETCHETTO. “Biodiesel de Algas. Proceso de producción de biodiesel utilizando microalgas”. Energías renovables, biocombustibles, cultivos energéticos.
- ⁴ Medios de cultivo para microalgas [en línea]
<http://148.206.53.231/UAM6317.PDF> [citado el 15 de Noviembre de 2009]
- ⁵ JORGE SILVA, PATRICIA TORRES. Reuso de aguas domésticas en agricultura. Vol. 26. Bogotá. 2008. 13p. ISSN 0120-9965
- ⁶ MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE. Gestión para el manejo, tratamiento y disposición final de las aguas residuales municipales. 2000. 32p. ISBN 958-9487-46-7
- ⁷ MARGARITA MARIA MEJIA BARRENECHE. Estación depuradora de aguas residuales [en línea]
<<http://fluidos.eia.edu.co/hidraulica/articulos/interesantes/edar/edar.html>>
[citado en noviembre 11 de 2009]
- ⁸ UNIVERSIDAD DE CIENCIAS AGRICOLAS DE SUECIA. Sauces para energía y fitorremediación en Suecia [en línea]

<www.fao.org/docrep/008/a0026s/a0026s11.htm> [citado en noviembre 10 de 2009]

⁹ Depuración biológicas de las aguas residuales urbanas [en línea]
<http://www.tdr.cesca.es/TESIS_UPC/AVAILABLE/TDX-0727105-133519//08Mjkm08de18.pdf> [citado en octubre 30 de 2009]

¹⁰ MIGUELI CERRO CARPIO. Composición cualitativa de las aguas residuales [en línea].
<<http://www.olivacordobesa.es/COMPOSICON%20CUALITATIVA%20AGUAS%20RESIDUALES.pdf>> [citado en noviembre 12 de 2009]

7. ANEXOS

ANEXO A. Parámetros de caracterización del Agua residual

La composición de las aguas residuales se analiza con diversas mediciones físicas, químicas y biológicas. Las mediciones más comunes incluyen la determinación del contenido en sólidos, la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), la demanda química de oxígeno (DQO), y el pH.

Los parámetros que se utilizan para la caracterización de las aguas residuales son:

1. *Parámetros físicos*

- *Sólidos totales.* Se divide en sólidos en suspensión y sólidos disueltos. Los sólidos disueltos son productos capaces de atravesar un papel de filtro, y los suspendidos los que no pueden hacerlo. Todos estos sólidos pueden dividirse en volátiles y fijos, siendo los volátiles, por lo general, productos orgánicos y los fijos materia inorgánica o mineral.
- *Turbiedad.* Se define como la ausencia de claridad en un agua, debida a la presencia de impurezas insolubles, finamente divididas, que están suspendidas en ella. Estas impurezas pueden ser materias en suspensión o materias coloidales.
- *Color y olor.* El color no es indicativo de cuan contaminada está el agua pero indica trazas de contaminación como Hierro y Manganeso. El olor también se debe a la presencia de compuestos químicos, materia orgánica en descomposición, entre otros.
- *El pH.* Mide la acidez de una muestra de aguas residuales. Influye en la velocidad de las reacciones químicas presentes en el agua y en la supervivencia de los microorganismos presentes en la misma.

- *Temperatura.* Influye en las reacciones químicas y su cinética. La solubilidad de los gases (Oxígeno disuelto), disminuye al aumentar la temperatura. Asimismo, el aumento de la temperatura produce un aumento de la actividad metabólica de los microorganismos, es decir, un aumento en la velocidad de consumo de Oxígeno.

2. *Parámetros químicos*

La concentración de materia orgánica se mide con los análisis DBO₅ y DQO.

- *DBO₅.* Demanda Bioquímica de Oxígeno. Es la cantidad de Oxígeno empleado por los microorganismos a lo largo de un periodo de cinco días para descomponer la materia orgánica de las aguas residuales a una temperatura de 20 °C.

La oxidación es un proceso lento sin embargo la aproximación a veinte días puede afirmar que el nivel de oxidación alcanza el 95-99 %. Esta DBO obtenida a los 20 días se denomina DBO última. La DBO₅ representa únicamente una oxidación del orden del 60-75 %.

- *DQO.* Demanda Química de Oxígeno. Es la cantidad de Oxígeno necesario para oxidar la materia orgánica por medio de Dicromato de potasio en caliente en una solución ácida y convertirla en Dióxido de carbono y agua. El valor de la DQO es siempre superior al de la DBO₅ porque muchas sustancias orgánicas pueden oxidarse químicamente, pero no biológicamente.

La DBO₅ suele emplearse para comprobar la carga orgánica de las aguas residuales municipales e industriales biodegradables, sin tratar y tratadas.

La DQO se usa para comprobar la carga orgánica de aguas residuales que, o no son biodegradables o contienen compuestos que inhiben la actividad de los microorganismos.

El contenido típico en materia orgánica de estas aguas es un 50% de carbohidratos, un 40% de proteínas y un 10% de grasas; el pH puede variar de 6,5 a 8,0.

PRINCIPALES FUENTES DE NITROGENO

Las principales fuentes de Nitrógeno que un cultivo de microalgas tolera son:

- Amoníaco: Con un aporte de nitrógeno de 82%
- Úrea: Con un aporte de nitrógeno de 46%

COMPOSICION DEL AGUA RESIDUAL URBANA

Aunque el Nitrógeno molecular es un componente principal de la atmósfera terrestre no es fuente apropiada de Nitrógeno para la mayoría de los organismos debido a que la molécula de este elemento es químicamente inerte. Desde el punto de vista nutritivo, casi todos los animales, plantas superiores y microorganismos dependen del nitrógeno combinado. Este, en forma de amoníaco, nitrato y compuestos orgánicos, es relativamente escaso en los suelos y en las aguas y con frecuencia su concentración es el factor limitante para el crecimiento de los organismos vivos.

Tabla 7: Composición típica de aguas residuales urbanas

COMPOSICION TIPICA DE AGUAS RESIDUALES (ARU)			
Parámetro	Concentración (mg/l)		
	ARU Débil	ARU Media	ARU Fuerte
Sólidos totales	350	720	1200
DBO5	100	200	300
COT	80	160	290
DQO	250	500	1000
Nitrógeno total	20	40	85
Orgánico	8	15	35
Amoniac libre	12	25	50
Nitritos	0	0	0
Nitratos	0	0	0
Fósforo total	4	8	15
Oxígeno disuelto	0,2	0,1	0
Cloruros	30	50	100
Sulfato	20	30	50
Alcalinidad	50	100	200
Aceites y grasas	50	100	150
pH (Unidades)	5,0		9,0
Temperatura (°C)			< 40

NPM: Número mas probable de microorganismos

Fuente: www.miliarium.com/Paginas/Prontu/Tablas/Aguas/CaracterizacionAguasResidualesUrbanas.htm#ParametrosARU