



**Facultad de Ingeniería**

**Escuela de Ingeniería en Medioambiente**

**Ingeniería Ambiental**

# **Desarrollo de un fotorreactor para el cultivo de microalgas como aporte a la sustentabilidad energética en hogares**

**Informe de Trabajo de Título para optar por el título de Ingeniera Ambiental.**

**AUTOR: JAVIERA LEYTON MORALES**

**PROFESOR GUÍA: JOAO CERQUEIRA PINTO**

**VALPARAISO, 4 DE MARZO, 2019**

## **Agradecimiento**

Agradezco a mi familia por el incondicional apoyo, sobre todo cuando se presentaron problemas en el transcurso de la elaboración del documento.

A mis amistades por el ánimo entregado y el recargo de energías.

A mi profesor guía, Joao Cerqueira, por la completa disposición y entrega a lo largo de todo este proceso.

## Abstract

The use of microalgae cultures to create heat offers a valuable alternative to tackle our current energy crisis and the considerable loss of cultivable areas. This proposal is of great economic and environmental interest since these cultures are carbon neutral and they don't compete with other fertile agricultural land.

This thesis explored the behavior of *Chlorella vulgaris* microalgae in two synthetic gray water growth media with the aim of testing its viability as a culture environment. Such experiments were carried out in a flat-plate photoreactor, a biomass maximizing device. This device was selected since it can perform in unused surfaces and thus, increase its viable use in households as it doesn't need a more complex environment. This photoreactor has a venting system on both sides, fed with a airflow of 0.5 vvm through a valve that injects air from said environment into the device. Through the activities implemented, it was determined that it is possible to use water as a culture medium, however, the use of the system selected for the maximization of biomass is not feasible, and that production is too low to replace firewood.

# Resumen

El cultivo de microalgas para ser utilizadas como medio de calefacción proporciona una alternativa importante para combatir la actual crisis energética y pérdida considerable de áreas cultivables. Esta propuesta involucra gran interés económico como ambiental considerando, por una parte, que su cultivo no compite con suelos fértiles y, por otra parte, se trata de una fuente de carbono neutral.

En este trabajo de título se estudió el comportamiento de la microalga *Chlorella vulgaris* en dos medios de agua gris sintético, para verificar la factibilidad de uso de este como medio de cultivo. El cultivo se realizó dentro de un dispositivo de maximización de biomasa, más específicamente en un fotorreactor de placa plana. La elección de este dispositivo se justifica en base a que puede aplicarse en superficies que se encuentran sin uso y así aumentar la factibilidad de su uso en hogares, al no necesitar un espacio más amplio para su funcionamiento. El fotorreactor consiste en un sistema de aireación en ambos extremos con un flujo de 0.5 vvm conectado a una bomba que inyecta aire del medio al sistema.

A través de las actividades realizadas, se determinó que es posible utilizar el agua gris como medio de cultivo, sin embargo, la utilización del sistema seleccionado para la maximización de biomasa no es factible, ya que la producción es muy baja para reemplazar la leña.

# Índice

Introducción .....	1
1.1 Usos de la energía.....	1
1.2 Calefacción en hogares .....	2
2 Problemática.....	4
3 Objetivos.....	5
3.1 Objetivo general .....	5
3.2 Objetivos específicos.....	5
4 Revisión bibliográfica .....	6
4.1 Microalgas .....	6
4.2 Nutrientes .....	12
4.2.1 Carbono.....	12
4.2.2 Nitrógeno.....	14
4.3 Medios de cultivo .....	15
4.3.1 Aguas grises.....	15
4.3.2. Medios artificiales .....	18
4.4 Fotorreactores .....	22
4.4.1 Variables de operación .....	26
4.5 Biomasa como combustible .....	32
4.5.1 Leña .....	32
4.5.2 Pellet de madera.....	34
4.5.3 Pellet de Microalgas .....	35
4.6 Prefactibilidad económica .....	37
5 Metodología.....	38
5.1 Metodología experimental.....	39
5.1.1 Construcción de un sistema de producción de microalgas.....	39
5.1.2 Selección de microalga.....	39
5.1.3 Cultivo microalgal .....	40
5.1.4 Evaluación medios de cultivo.....	40
5.1.5 Análisis técnico-económico.....	41

5.2	Metodología analítica.....	42
5.2.1	Cuantificación microalgal.....	42
a)	Barrido.....	42
b)	Concentración Celular.....	42
5.2.2	Medición de CO2.....	44
6	Resultados.....	45
6.1	Selección y construcción de un sistema de producción microalgal.....	45
6.2	Selección de la microalga.....	51
6.2.1	Cultivo microalga.....	52
6.3	Análisis comparativo.....	56
7	Discusión.....	62
8	Conclusión.....	65
9	Referencias.....	66
10	Anexos.....	72

## Índice de Tablas

Tabla 1. Composición química en % según especie de microalga. (Hagen,2009) .....	7
Tabla 2. Contenido de Lípidos en microalgas (Adaptación de Mata et al., 2010) .....	7
Tabla 3. Características de algunas de las especies de microalgas (FAO).....	11
Tabla 4. Concentración de dióxido de carbono tolerable por especie de microalga (J. R. Benavente-Valdés, 2012) .....	13
Tabla 5. Matriz grupos experimentales. ....	14
Tabla 6. Composición de agua gris sintética. (Adaptación de Murcia, et al. 2014).....	18
Tabla 7. Composición de agua gris sintética. (Adaptación de Ortiz & Vargas., 2016) .....	18
Tabla 8. Composición medio Guillar. ....	19
Tabla 9. Composición medio Bristol. (Adaptación Figueroa & De Lara- Isassis., 1998) .....	19
Tabla 10. Composición medio Knop (Adaptación Figueroa & De Lara- Isassis., 1998).....	20
Tabla 11. composición medio Warris. (Adaptación Figueroa & De Lara- Isassis., 1998).....	20
Tabla 12. Medio de cultivo USEPA,2002a .....	21
Tabla 13. Ventajas y desventajas de los sistemas abiertos y cerrados (Adaptado de Pulz,2001.) .....	25
Tabla 14. Densidad celular a distintos valores de pH (Adaptado de Moraga et al., 2006). ...	29
Tabla 15. Influencia de la temperatura en el crecimiento microalgal. ....	31
Tabla 16. Poder calorífico para distintas especies con distinto porcentaje de humedad. ....	32
Tabla 17. Características leña de eucaliptus y pino. ....	33
Tabla 18. Matriz de selección .....	39
Tabla 19. Matriz de selección realizada. ....	51
Tabla 20. Costos de materiales de un fotorreactor .....	57
Tabla 21. Costos de electricidad.....	57
Tabla 22. Tabla de escenarios y su respectiva descripción. ....	59
Tabla 23. Flujo de caja para escenario 1.0 .....	59
Tabla 24. Flujo de caja para escenario 1.1. ....	59
Tabla 25. Flujo de caja para escenario 1.2. ....	60
Tabla 26. Flujo de caja para escenario 2.0 .....	60
Tabla 27. Flujo de caja para escenario 2.1. ....	60
Tabla 28. Flujo de caja para escenario 2.2 .....	60
Tabla 29. Flujo de caja para escenario 3. ....	61

## Índice de Figuras

Figura 1. Distribución nacional del total de oferta de energía para el año 2015. (CNE,2016).	2
Figura 2. Porcentajes de utilización de leña a nivel nacional. ....	3
Figura 3. Curva de crecimiento celular en 5 fases (Essman., 2011). ....	10
Figura 4. Curva de crecimiento celular en 6 fases. (Vonshak & Maske., 1982).....	11
Figura 5. Fotoreactor tubular (hagen,2009) .....	23
Figura 6. Sistema abierto tipo carrusel. (Hagen,2009).....	23
Figura 7. Sistema placa plana. (Oligae,2015) .....	24
Figura 8. Crecimiento microalgal a diferentes tasas propuestas (Robles et al,2016).....	27
Figura 9. Curva respuesta de la actividad fotosintética en relación a la intensidad de luz.....	30
Figura 10. Gráfico de precio por cantidad de combustible .....	35
Figura 11. Perfil de temperatura externa e interna de un pellet .....	36
Figura 12. Comparación del perfil de temperatura de pellet microalgal y pellet de trigo.....	36
Figura 13. Esquema de metodología. ....	38
Figura 14. Test de CO <sub>2</sub> Azoo. ....	45
Figura 15. Representación del sistema de crecimiento microalgal seleccionado. ....	47
Figura 16. Entrada de aire al sistema.. ....	48
Figura 17. Distribución de aire.....	48
Figura 18. Distribución de aire en modelo preliminar.....	49
Figura 19. Difusor de aire de 10 cm.....	49
Figura 20. Representación del sistema de crecimiento microalgal final. ....	50
Figura 21. Burbujeo en el sistema. ....	50
Figura 22. Crecimiento de microalgas en medio control y gris. ....	53
Figura 23. Gráfico concentración vs Tiempo.....	55
Figura 24. Gráfico concentración vs Tiempo (Fotorreactores). ....	55

## Índice de ecuaciones

Ecuación 1. Cálculo del valor actual neto .....	41
Ecuación 2. Cálculo de concentración microalgal. ....	43

# 1 INTRODUCCIÓN

## 1.1 Usos de la energía

En un modo general, las fuentes de energía se clasifican como renovables y no renovables, encontrándose dentro de primera categoría la energía eólica, hidráulica, geotérmica, mareomotriz, solar y las energías provenientes de biomasa como lo son el bioetanol, la combustión directa de biomasa leñosa, la pirolisis y la producción de gas por biodigestión anaeróbica. Dentro de las segundas se encuentra el petróleo, el metano y la energía nuclear, entre otras, siendo el petróleo la principal fuente de energía.

En el año 2008 el 31,5% de la energía primaria a nivel mundial fue producida a partir del petróleo, posicionándolo en el número uno. Frente a este análisis, Chile es parte del porcentaje, considerando que el 35% de la energía primaria producida es en base a la misma fuente. (*Vázquez et al.,2007*)

La Figura N°1 representa el aporte energético de Chile proveniente de los combustibles fósiles durante el año 2015 (Petróleo crudo, gas natural y carbón) que se eleva al 70%, El porcentaje restante es conformado por biomasa y energía hidroeléctrica (23%), solar y eólica (7%).

Es importante hacer mención que los sectores que demandaron mayor energía durante el año 2015 en el país, según un estudio realizado por la comisión nacional de energía de Chile (CNE), dató que las principales demandas fueron realizadas por el sector de transporte, minería y finalmente el sector residencial, enfocado principalmente en calefacción.

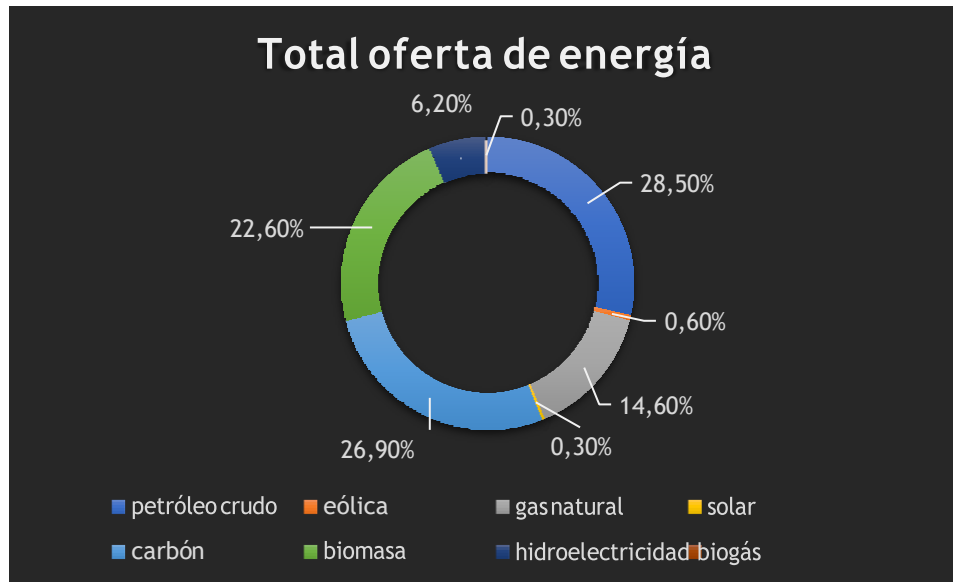


Figura 1. Distribución nacional del total de oferta de energía para el año 2015. (CNE,2016). La figura indica los porcentajes de ocupación de las energías utilizadas en Chile, siendo los siguientes: petróleo crudo: 28,50%; Carbón: 26,90%; Eólica: 0,60%; Biomasa: 22,60%; Gas natural: 0,30%; Hidroelectricidad: 6,20%; Solar: 0,30%; biogás: 0,60%

## 1.2 Calefacción en hogares

La leña es la biomasa más comúnmente utilizada en el mundo como medio de calefacción en los hogares, utilizándose de manera no procesada o como carbón. (Junemann & Legarreta., 2007)

En Chile, la leña se considera una importante fuente de energía, especialmente en la zona sur del país donde aproximadamente el 80% de los hogares utilizan este combustible para calefaccionar y/o cocinar, penetrando un 33,2% en los hogares a nivel nacional, aumentando progresivamente el porcentaje a medida que se avanza hacia la zona sur del país, siendo la XI región la que presenta el mayor consumo (Figura 2). Por otra parte, la región que presenta el mayor consumo por hogar corresponde a la XII región, con un consumo de 18,3 m<sup>3</sup> st/año (m<sup>3</sup> estéreo por año), donde la mayor parte de la población declara utilizar leña, con un consumo, mayor al promedio anual, que se estima es de 6,8 m<sup>3</sup> st/ año. (CDT., 2015). Sin embargo, el uso excesivo conlleva a una gran emisión de contaminantes que son perjudiciales para la salud y el medio ambiente, esto se debe a que la madera absorbe y contiene gran

cantidad de humedad, afectando la calidad de la combustión ya que pierde energía convirtiendo el agua en vapor, lo que, a su vez, disminuye la generación de calor. (Doclean., 2017)

La quema ineficiente de leña húmeda de baja calidad es la principal causa de la contaminación del aire en el país. (International & Agency., 2018). De las 20 ciudades más contaminadas por humo en América, 6 se encuentran en la zona centro sur de Chile. (Doclean., 2017)

Por otra parte, una considerable proporción de los terrenos de uso agrícola está destinado a cubrir necesidades económicas, causando pérdida o destrucción parcial de las cubiertas vegetales protectoras por la extracción de leña y madera para uso doméstico y/o industrial. Lo anteriormente mencionado ha contribuido y, actualmente, contribuye en gran medida a la aceleración de los procesos erosivos y pérdida de tierras cultivables. (Espinoza et al., 1992)

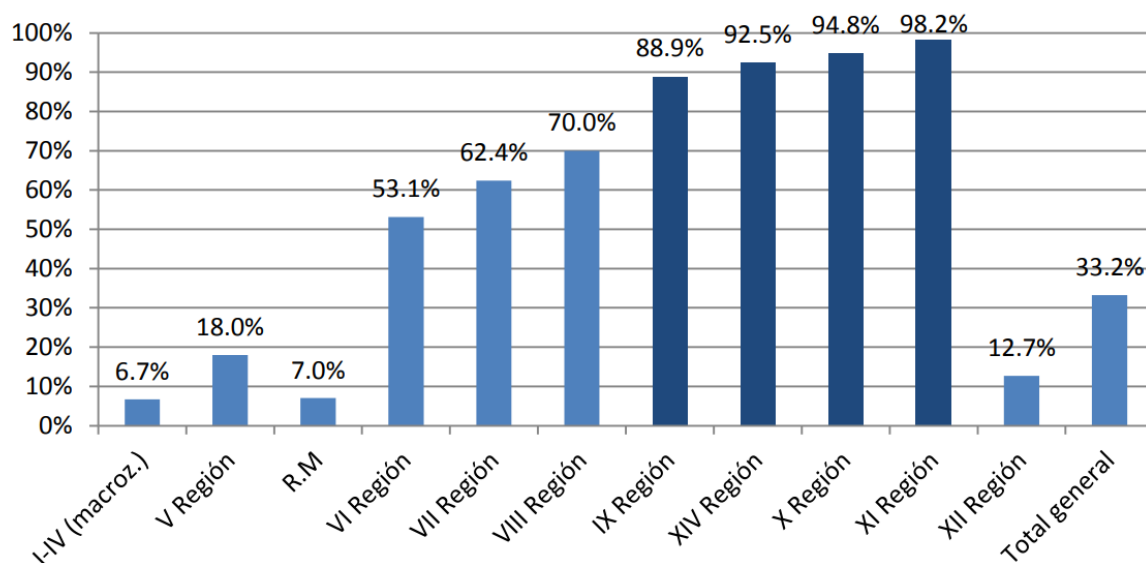


Figura 2. Porcentajes de utilización de leña a nivel nacional. La figura muestra en formato de gráfico el consumo nacional anual de leña, siendo la X región la que presenta el mayor consumo (3,1 MMm<sup>3</sup> st./año), seguida de la VIII región (2,3 MMm<sup>3</sup> st./año), y de la IX región (2,0 MMm<sup>3</sup> st/año)

## 2 PROBLEMÁTICA

Considerando los aspectos ya señalados, como la combustión de combustibles fósiles y la combustión inadecuada de biomasa, junto con la pérdida de tierras cultivables, han llevado al desequilibrio del ciclo del carbono, aumentando la concentración de este en el medio. En la actualidad, la mayor parte de la energía generada proviene de la combustión y ésta genera alrededor de 24 gigatoneladas de dióxido de carbono anualmente. *(Sayre.,2010)*

La mejor forma de reducir las emisiones de gases de efecto invernadero provenientes de la combustión es generar energía a partir de la producción de fuentes de emisiones reducidas en carbono o de carbono neutral *(Sayre., 2010)*. Además, por la pérdida de tierras posiblemente cultivables se hace necesaria una estrategia de producción novedosa en un área que no se utilice actualmente para ser productiva.

Frente a este escenario, la utilización de biomasa microalgal es prometedora como una fuente de producción de energía alternativa y sustentable ya que corresponde a una fuente carbono neutral y no compite por las tierras de cultivo siendo una atractiva fuente de materia prima. *(Rodríguez et al., 2015.)*

## 3 OBJETIVOS

### 3.1 Objetivo general

- Establecer un sistema de cultivo microalgal de bajo costo, con la finalidad de utilizar microalgas cultivadas en aguas grises como sustituto al uso de biomasa leñosa como alternativa a la calefacción de hogares.

### 3.2 Objetivos específicos

- Construir un sistema de producción de microalgas a bajo costo.
- Evaluar el uso de aguas grises como medio de cultivo.
- Estimar los costos del uso del sistema para la producción de microalgas y comparar estos con los correspondientes a la leña.

## 4 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 Microalgas

Las microalgas son organismos microscópicos que normalmente crecen suspendidas en agua y que realizan la conversión de agua y CO<sub>2</sub> en el proceso fotosintético al igual que las plantas superiores terrestres, utilizando para esto la energía de la luz solar, oxígeno y biomasa. Sin embargo, de todos los organismos capaces de fijar o acumular CO<sub>2</sub>, éstas poseen un potencial de productividad mucho mayor que el de las plantas superiores y otras plantas acuáticas. (García., 2012)

Son un grupo muy diverso de organismos fotosintéticos que contienen distintos componentes en su interior, como lo son aceites, colorantes y polisacáridos que son utilizadas en rubros industriales como aditivo alimentario (*Froylán.,2017*), aceites, cosméticos (*Gajardo et al., 2011*) y, más recientemente, en el área energético (*Fernández., 2012*). Dado que su crecimiento se puede dar en una amplia gama de hábitats, es posible maximizar su productividad. (*Gang et al., 2015*)

Las microalgas verdes son uno de los grupos más grandes de algas en términos de variedad de especies y en su mayoría viven en agua dulce. La composición de estos organismos varía según la especie que se cultive, componiéndose en distintas proporciones por lípidos, proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos, sílice, principalmente, siendo los lípidos un componente importante del peso seco de la biomasa (Jarrett., 2011). Un ejemplo de lo anterior son las Tablas 1 y 2 en la cual se enlistan distintas especies de microalgas con sus distintas composiciones químicas.

Tabla 1. Composición química en % según especie de microalga. (Hagen,2009)

<b>Especie</b>	<b>Proteínas</b>	<b>Carbohidratos</b>	<b>lípidos</b>	<b>Acidos nucleicos</b>
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14	3-6
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	47	-	1.9	-
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8-18	21-52	16-40	-
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21	-
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22	4-5
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	26	2	-
<i>Spirogyra sp.</i>	6-20	33-64	11-21	-
<i>Dunaliella bioculata</i>	49	4	8	-
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6	-
<i>Euglena gracilis</i>	39-61	14-18	14-20	-
<i>Prymnesium parvum</i>	28-45	25-33	22-38	1-2
<i>Tetraselmis maculata</i>	52	15	3	-
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14	-
<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9	2-5
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	13-16	6-7	3-4,5
<i>Synechococcus sp.</i>	63	15	11	5
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7	-

Tabla 2. Contenido de Lípidos en microalgas (Adaptación de Mata et al., 2010)

<i>Especie</i>	<i>Contenido de Lípidos (% de biomasa, peso en seco)</i>
<i>Anistrodesmus sp.</i>	24-31
<i>Botryococcus braunii</i>	25-75
<i>Chaetoceros muelleri</i>	33,6
<i>Chlorella emersonii</i>	25-63
<i>Chlorella protothecoides</i>	14,6-57,8
<i>Chlorella sorokiniana</i>	19-22
<i>Chlorella vulgaris</i>	5-58
<i>Chlorella sp.</i>	10-48
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20-51
<i>Dunaliella salina</i>	6-25
<i>Dunaliella primolecta</i>	23,1
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	16,7-71,0
<i>Dunaliella sp.</i>	17,5-67
<i>Ellipsodion sp.</i>	27,4

<i>Haematococcus pluvialis</i>	25
<i>Isochrysis galbana</i>	7-40
<i>Isochrysis sp.</i>	7,1-33
<i>Monallanthus salina</i>	20-22
<i>Nannochloris sp</i>	20-56
<i>Nannochloropsis oculata</i>	22,7-29,7
<i>Nannochloropsis sp.</i>	12-53
<i>Neochloris oleoabundans</i>	29-65
<i>Pavlova salina</i>	30,9
<i>Pavlova lutheri</i>	35,5
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	18-57
<i>Scenedesmus obliquus</i>	11-55
<i>Skeletonema costatum</i>	13,5-51,3

El crecimiento de las algas pasa a través de varias fases (Figura 3). Una primera fase consiste en el inoculo del cultivo a un nuevo medio, donde las microalgas tomarán un tiempo en acostumbrarse a las nuevas condiciones antes de comenzar a crecer, esta fase o periodo se conoce como latencia o adaptación. La segunda fase consiste en el crecimiento del cultivo, conocida como fase logarítmica o exponencial aumentando la biomasa por unidad de tiempo. La tercera fase consiste en la disminución gradual del crecimiento provocado por la disminución de los nutrientes en el medio encontrándose de manera limitada, fase conocida como estado de decrecimiento o crecimiento lineal. En la cuarta fase, el cultivo alcanza su máxima concentración celular, manteniéndose en estado estacionario. En una quinta y última fase el suministro de luz tanto como los nutrientes se ven empobrecidos, por lo que lentamente la muerte celular comienza a ser mayor que la tasa de renovación, la quinta fase consiste en la muerte exponencial, lo que lleva a una ruptura completa de la población. (Hagen., 2009; Essman., 2011)

La velocidad de crecimiento es otro factor que depende de la especie de la microalga, las condiciones del medio de cultivo y sus variables.

Otros autores, como *Vonshak y Maske (1982)*, describen seis etapas o fases de crecimiento microagal, las cuales se representan en la Figura 3.

La primera fase de la figura 4 corresponde a la fase lag, o fase de adaptación que consiste en que el comportamiento inicial de cultivo depende de las condiciones en las que se encuentran las células del inóculo. De estas condiciones depende el éxito del cultivo. Si estas no se encuentran en condiciones adecuadas se presenta una fase de retardo del crecimiento. Los cambios en las condiciones de temperatura, iluminación y pH también pueden causar un retardo del crecimiento en la fase inicial de un cultivo.

La segunda fase recibe el nombre de “fase de aceleramiento” que se caracteriza por el incremento secuencial de los diferentes componentes estructurales que conforman los organismos, siendo la concentración celular generalmente la última que muestra este incremento.

La tercera fase recibe el nombre de “exponencial”. En este periodo la velocidad de crecimiento adquiere su valor máximo y, considerando que no existen factores limitantes, la concentración celular aumenta rápidamente, llegando a un valor casi constante.

La cuarta fase recibe el nombre de “Fase de desaceleración”. En esta fase comienza a manifestarse la falta o menor disponibilidad de alguno de los factores que regulan el crecimiento, por lo que la tasa de división celular disminuye, aunque, en vista del alto número de células, la concentración celular alcanza su máximo valor.

La quinta fase o “Fase estacionaria” se caracteriza por las condiciones limitantes de cultivo y la igualdad existente entre la natalidad y la mortalidad, por lo cual, la concentración celular y los componentes de la biomasa permanecen sin cambios relevantes. Este comportamiento se debe a la baja concentración de algún nutriente esencial o a un cambio considerable en alguna de los factores mencionados anteriormente, aunque, usualmente el motivo más importante es la baja penetración de la luz causada por la alta concentración celular.

La sexta y última fase corresponde a la “fase de muerte”, donde la tasa de mortalidad es superior a la de natalidad, por lo que la concentración se ve disminuida. Además, se conoce una disminución en la biomasa de los organismos unitarios como consecuencia de un aumento en la proporción entre respiración y fotosíntesis sumado a la ausencia de nutrientes, que conlleva a la muerte o lisis celular.

En la tabla 3 se enlistan las temperaturas y tiempo de ciclo celular de siete géneros de microalgas.

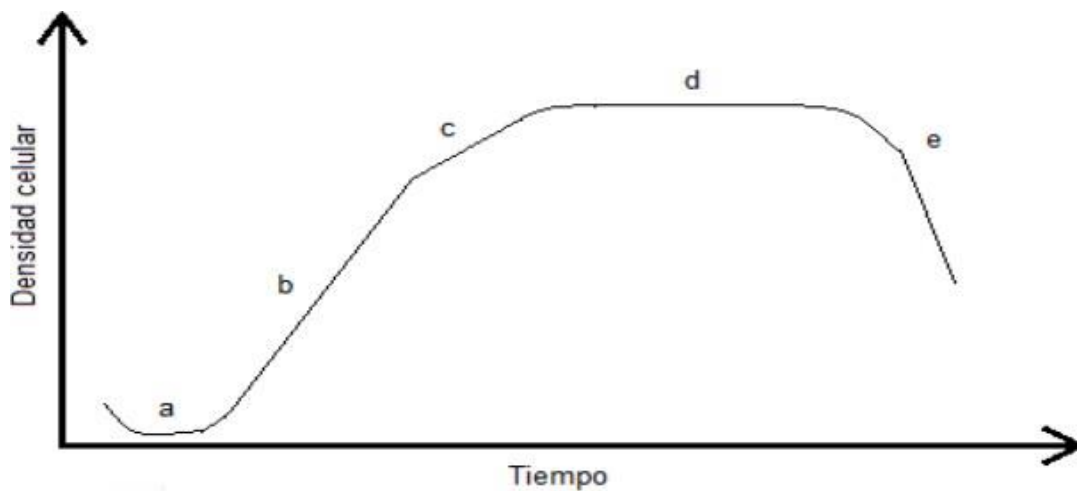


Figura 3. Curva de crecimiento celular en 5 fases (Essman., 2011). Las fases indicadas en la figura corresponden a lo siguiente: “a” fase de adaptación o latencia, “b” fase logarítmica o exponencial, “c” decrecimiento o crecimiento lineal, “d” estacionario, “e” muerte exponencial.

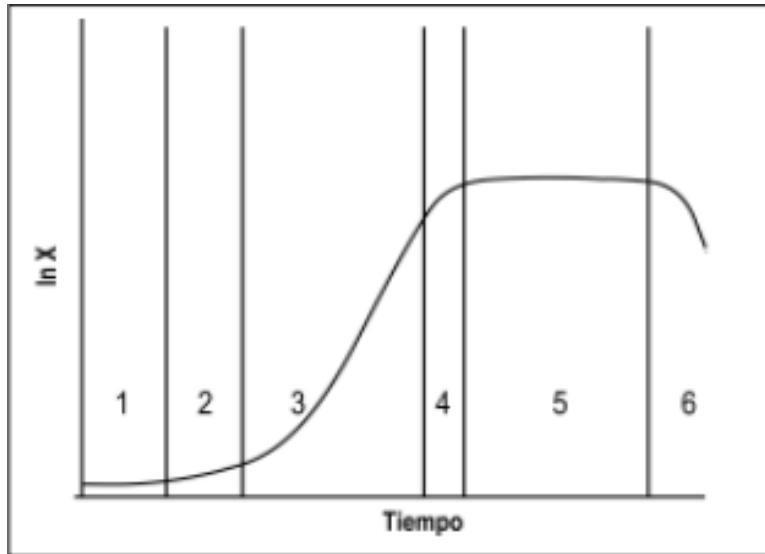


Figura 4. Curva de crecimiento celular en 6 fases. (Vonshak & Maske., 1982). Las etapas descritas en la figura corresponden a: "1" fase lag, o fase de adaptación, "2" fase de aceleramiento, "3" fase exponencial, "4" fase de desaceleración, "5" fase estacionaria, "6" fase de muerte.

Tabla 3. Características de algunas de las especies de microalgas (FAO)<sup>1</sup>

Género	Ciclo	Temperatura óptima
<i>Phaeodactylum</i> (diatomea)	10 h	25°C
<i>Skeletonema</i> (diatomea)	13,1 h	18°C
<i>Dunaliella</i> (clorofícea)	24 h	16°C
<i>Chlorella</i> (clorofícea)	7,7 h	25°C
<i>Tetraselmis</i> (clorofícea)	18 h	18°C
<i>Monochrysis</i> (crisofícea)	15,3 h	20-25°C
<i>Isochrysis</i> (crisofícea)	30,2 h	20°C

<sup>1</sup> <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab473s/AB473S02.htm>

## 4.2 Nutrientes

Las diferentes especies algales se encuentran bien adaptadas a condiciones particulares del medio, existiendo algunas generalistas y otras especialistas en los rangos de tolerancia a los factores ambientales. En este sentido la presencia o ausencia de nutrientes y las cantidades en las que se presentan en el sistema son aspectos determinantes en la estructura de una comunidad algal establecida en dicho ambiente. *(Delgadillo., 2014)*

### 4.2.1 Carbono

El CO<sub>2</sub> es la fuente de carbono más utilizada en los cultivos microalgales.

La alimentación de CO<sub>2</sub> enriquecido en los cultivos algales puede aumentar significativamente la biomasa y la optimización de nutrientes, aumentando la productividad del sistema. *(Schenk et al., 2008)*

Algunos autores, como García & Marín (2011) establecen que para obtener el máximo crecimiento microalgal, la concentración de CO<sub>2</sub> debe ser de 1% al 5% del volumen inyección, pero existen experiencias en laboratorios donde la inyección de CO<sub>2</sub> llega a valores entre el 5% y el 15,5%.

Las microalgas pueden vivir bajo altas concentraciones de CO<sub>2</sub>, pero la tolerancia de éstas varía según la especie, como aparece representado en la Tabla 4.

Tabla 4. Concentración de dióxido de carbono tolerable por especie de microalga (J. R. Benavente-Valdés, 2012)

<b>Especie</b>	<b>Tolerancia máx. de concentración de CO<sub>2</sub></b>
<i>Cyanidium caldarium</i>	100%
<i>Scenedesmus ap.</i>	80%
<i>Chlorococcum littorale</i>	60%
<i>Synechococcus elongatus</i>	60%
<i>Euglena gracilis</i>	45%
<i>Chlorella sp.</i>	40%
<i>Eudorina sp.</i>	20%
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	15%
<i>Nannochloris sp.</i>	15%
<i>Chlamydomonas sp.</i>	15%
<i>Tetraselmis sp.</i>	14%

Para satisfacer la demanda de carbono de un cultivo, en el caso de un fotoreactor, la manera más fácil corresponde a la aireación con aire ambiente, sin embargo, la concentración de CO<sub>2</sub> en el aire natural es del 0,03% aproximadamente, siendo un valor muy bajo para lo que realmente se necesita en un crecimiento óptimo. Por lo general el CO<sub>2</sub> se suministra por medio de aire enriquecido a los sistemas. (Hager,2009)

En la realización de un estudio se observó el comportamiento del crecimiento y producción de hidrógeno por parte de *Arthrospira jenneri*, vulgarmente conocida como espirulina a distintas concentraciones de CO<sub>2</sub> y fotoperiodo. El estudio consistió en nueve recipientes de vidrio que contenían las siguientes variables:

- CO<sub>2</sub>: A1:0,05 % v/v; A2:0,15 % v/v; A3: 0,25 % v/v
- Fotoperiodo: B1: 8 /16 h; B2: 10 /14 h; B3: 12 / 12 h.

Realizando seis grupos experimentales por nivel donde se mezclan las variables en forma de matriz (Tabla 5).

Según Bernabé et al (2006), el grupo correspondiente al tratamiento de

concentración de CO<sub>2</sub> de 0,15 % (v/v) y fotoperiodo 8/16 h, fue donde se logró obtener un mayor crecimiento microalgal con 198891 tricomas/mL. Mientras que el grupo con el tratamiento de CO<sub>2</sub> de 0,05 % v/v y fotoperiodo 12/12 h, fue el grupo donde se obtuvo el menor crecimiento celular con 122 250 tricomas/mL.

Tabla 5. Matriz grupos experimentales.

	<b>B1</b>	<b>B2</b>	<b>B3</b>
<b>A1</b>	A1B1	A1B2	A1B3
<b>A2</b>	A2B1	A2B2	A2B3
<b>A3</b>	A3B1	A3B2	A3B3

#### 4.2.2 Nitrógeno

El nitrógeno, después del carbono, es el nutriente más importante para las microalgas, siendo un regulador de contenido lipídico ya que cuando este nutriente se encuentra en cantidades limitantes la cantidad de lípidos aumentan aproximadamente en un 20%, pero, por otra parte, la disminución de nitrógeno lleva consigo una disminución en la producción de algas, por lo que la alta productividad y el alto contenido lipídico son excluyentes entre sí. *(Hernández & Labbé., 2014)*

La disponibilidad de nitrógeno se encuentra relacionada con la abundancia de productores primarios, sin embargo, existe una alta posibilidad de que el nitrógeno inorgánico que no puede ser asimilado por los sistemas ecológicos cause efectos negativos en los organismos menos tolerantes.

El nitrógeno se puede presentar de distintas formas en el agua, como lo son: Nitrógeno diatómico, amonio, nitrito, nitrato, otros óxidos de nitrógeno y nitrógenos en compuestos orgánicos. *(González., 2010)*

En cultivos de microalgas, el nitrógeno se puede suplir en forma de sales de amonio o nitratos, ya que estas son las principales formas de nitrógeno que usan estos organismos. *(Lina., 2010)*

### **4.2.3 Fósforo**

En los cultivos microalgales el fósforo es parte fundamental de numerosos procesos celulares, a pesar de que el contenido en estos organismos es menor al 1%, la deficiencia de este nutriente es considerada una de las mayores limitaciones para el crecimiento de los mismos aun cuando algunas especies son capaces de almacenar fósforo en su interior en forma de polifosfato para utilizarlas en los procesos de metabolismo celular.

Las microalgas pueden utilizar el nitrógeno de distintas formas, como se menciona en el punto anterior, pero el fósforo se asimila casi exclusivamente en forma de fosfatos y es la concentración de este compuesto la que determina la tasa de crecimiento microalgal. *(Hernández & Labbé., 2014)*

## **4.3 Medios de cultivo**

### **4.3.1 Aguas grises**

Las aguas grises corresponden a aguas residuales domésticas, exceptuando las provenientes de descarga de excretas, como los inodoros y urinarios, más conocidas como aguas negras. Algunos autores separan las aguas grises en claras y oscuras, siendo las claras las aguas provenientes de lavamanos y duchas, y las oscuras las que incluyen las aguas provenientes de la cocina y lavadoras. *(Franco., 2007)*. Las aguas grises difieren de las aguas negras o del resto de las aguas residuales domésticas como tal, en que poseen una baja carga de materia orgánica y una menor concentración de detergentes, jabones y contaminantes microbianos. Representan a rededor del 75% del volumen de las aguas residuales domésticas.

Estas aguas pueden ser una importante fuente hídrica, principalmente en sectores donde existe una escases hídrica. En la actualidad hay distintos factores que hacen que sea necesario realizar una gestión del recurso hídrico, como lo son el aumento de la población y cambios climáticos. *(Murcia et al., 2014)*

El año 2004, se publicó un estudio donde se observó la respuesta en el crecimiento de distintas hortalizas (pimentón, papa, espinaca) al ser regadas con solución nutritiva obtenida comercialmente, aguas grises y agua de grifo. (*Salukazana et al., 2004*)

Se usaron entrevistas y cuestionarios para medir la producción de aguas grises y proveniencia de éstas. Como resultado se obtuvo que el crecimiento de las hortalizas, según lo indicado por la altura del tallo, mostró que había un aumento constante en la altura de las plantas cuando los cultivos fueron irrigados con solución nutritiva y con aguas grises, en comparación con el agua del grifo.

El crecimiento con riego de aguas grises fue menor que con solución nutritiva, pero significativamente mayor en comparación con el agua del grifo. Las plantas irrigadas con agua de grifo no aumentaron significativamente su altura durante todo el ciclo de cultivo, mientras que la altura aumentó constantemente con el tiempo tanto con la solución de nutrientes como con el riego de aguas grises. La papa fue la única que respondió de manera distinta, aumentando el crecimiento en presencia de la solución de nutrientes, pero disminuyó significativamente en las últimas dos semanas con riego de aguas grises.

Además de los métodos de cultivo con aguas grises y tratamiento de aguas con plantas, se están modificando los procesos para tratar grandes cantidades de agua en un tiempo relativamente corto, estos procesos pueden ser de utilidad para las industrias y en general empresas que generen grandes volúmenes de agua residual. Dentro de esos procesos se encuentran los cultivos hiperconcentrados, sistema de celdas algales inmóviles, cultivos de algas por diálisis, fotobiorreactores tubulares, piscinas de estabilización y mantos algales. (*Candela., 2016*)

En Veracruz, México se ha desarrollado una biorrefinería para el tratamiento de aguas residuales domésticas por medio de microalgas para la posterior obtención de biocombustibles. En el año 2014 comienza a desarrollarse el proyecto que entrega información hasta el 2016, años en los que aún se encontraba en fase de prueba. La biorrefinería consta de tres módulos, en primer lugar, se encuentra una

laguna de fitofiltración, donde la planta acuática *Pistia stratiotes* remueve los contaminantes del agua y el exceso de nutrientes. En el segundo módulo se realiza la producción de biogás e hidrógeno a partir de la biomasa hidrolizada de la vegetación acuática. Finalmente, en el tercer módulo se cultivan las microalgas utilizando el agua fitotratada anteriormente. (Conacyt.,2016)

Un estudio realizado por *Murcia et al., 2014*, utilizó un medio de agua gris sintético (conformado por los compuestos enlistados en la tabla 6) para analizar los efectos que genera el riego con estas aguas sobre las distintas propiedades de los suelos y en la producción del cultivo de frijol calima (*Phaseolous vulgaris*) en condiciones de invernadero. Para ello se utilizaron dos escenarios, agua tratada y agua sin tratar. El tratamiento consistió en dos formas de filtración, por medio de un filtro lento en área y por medio de un humedal artificial de flujo sub-superficial. Las propiedades que se estudiaron fueron conductividad eléctrica, porcentaje de sodio intercambiable, diámetro ponderado medio y retención de humedad del suelo. Como resultado del estudio, se concluyó que el uso de este medio sintético no afectaba la calidad del suelo, sin embargo, es fundamental considerar los efectos adversos que puede generar el uso prolongado de las mismas.

Otro estudio realizado por *Ortiz & Vargas., 2016*, consistió en evaluar la capacidad del mucílago de Llantén como coagulante-floculante biodegradable frente a la capacidad del coagulante convencional, Sulfato de aluminio, para remover la turbidez de muestras de aguas residuales domésticas, grises específicamente, recreadas de manera sintética para representar las aguas de origen doméstico que usualmente son vertidas en fuentes naturales sin tratamientos previos en Colombia. En este estudio se definen las aguas grises sintéticas como las utilizadas principalmente para facilitar procesos experimentales, ya que, en algunas ocasiones, la recolección de estas aguas puede ser dificultosa.

Los componentes de los medios sintéticos se describen en la tabla 6 y 7.

Tabla 6. Composición de agua gris sintética. (*Adaptación de Murcia, et al. 2014*)

Componente	Cantidad
Agua	2 L
Detergente en polvo	0,16 g
Champú	0,2 g
Aceite vegetal	0,03

Tabla 7. Composición de agua gris sintética. (*Adaptación de Ortiz & Vargas., 2016*)

Compuesto	Cantidad (mg/L)
Leche en polvo	100
Gelatina sin sabor	35
Maicena	170
Sal común	7
Azúcar	28
Urea	3
Fosfato bicálcico	40
Sulfato de Magnesio	2,5

#### 4.3.2. Medios artificiales

En la historia, se han desarrollado distintos medios de cultivo para microalgas, pero los métodos artificiales son los más utilizados ya que proporcionan, de cierto modo, resultados constantes a diferencia de los medios que constan en retirar muestras en fuentes naturales, ya que estas pueden variar dependiendo de la localización y forma de extracción.

Dentro de las fórmulas más utilizadas se encuentra el medio guillar agua<sup>2</sup>, medio Bristol, medio Knop y el medio Warris, entre otros, detallándose en las tablas 8, 9, 10 y 11 respectivamente. (*Figuroa & De Lara- Isassis., 1998*)

<sup>2</sup> <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab473s/AB473S02.htm>

Tabla 8. Composición medio Guillar.

<b>Macronutrientes</b>		
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	36,76	g/L
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	36,97	g/L
NaHCO <sub>3</sub>	12,60	g/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	8,71	g/L
NaNO <sub>3</sub>	85,01	g/L
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> .9H <sub>2</sub> O	28,42	g/L
<b>Micronutrientes</b>		
Na <sub>2</sub> EDTA	4,36	g/L
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	3,15	g/L
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,01	g/L
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,022	g/L
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,01	g/L
MnCl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	0,18	g/L
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,006	g/L
<b>Vitaminas</b>		
Thiamine. HCl	0,1	Mg/L
Biotin	0,5	g/L
Cyanocobalamina	0,5	g/L
<b>Tris</b>		
Tris (Hydroxymethyl)-Aminomethano	50 g/200ml H <sub>2</sub> O destilada.	

Tabla 9. Composición medio Bristol. (Adaptación Figueroa & De Lara- Isassis., 1998)

<b>Compuesto</b>		
NaNO <sub>3</sub>	0,25	g/L
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,075	g/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,075	g/L
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,175	g/L
Elementos traza	10 ml/L	
<b>Elementos traza</b>		
CaCl <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O	26,5	Mg/L
FeCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	5,0	Mg/L
MnCl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	0,3	Mg/L
CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0,02	Mg/L
CuSO <sub>4</sub>	0,01	Mg/L
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,04	Mg/L
Na EDTA 2H <sub>2</sub> O	6,90	Mg/L

Tabla 10. Composición medio Knop (*Adaptación Figueroa & De Lara- Isassis., 1998*)

Compuesto	concentración	Unidad
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,01	g/L
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,2	g/L
FeCl <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O	0,001	g/L
KNO <sub>3</sub>	1,0	g/L
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,1	g/L

Tabla 11. composición medio Warris. (*Adaptación Figueroa & De Lara- Isassis., 1998*)

Compuesto	Concentración	Unidad
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,02	g/L
KNO <sub>3</sub>	0,2	g/L
CaSO <sub>4</sub>	0,05	g/L
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,02	g/L
EDTA	1,3	g/L
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	1,25	g/L
KOH	13,5 ml/L	

Casi cualquiera de las soluciones salinas de cultivo que son conocidas como estándar, suelen ser suficientes para proporcionar un mínimo de nutrientes esenciales de los requerimientos. Existe una variedad de formas de combinación de sales minerales que usualmente se usan en los cultivos, estas fórmulas generalmente reciben el nombre de sus investigadores. Los elementos minerales necesarios para el crecimiento de los organismos se separan en macroelementos y microelementos, siendo estos Carbono, hidrógeno, oxígeno, fósforo, potasio, nitrógeno, azufre, calcio, magnesio y boro, zinc, manganeso, cobre, molibdeno, fierro, cloro respectivamente. (*Krikorian., 1991*)

Una prueba de crecimiento y toxicidad crónica realizada en el alga *Selenastrum capricornutum* utiliza el medio descrito por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos en el método 1003.0, el cual posee los macro y micronutrientes que se enlistan en la tabla 12. Este medio es el único medio estándar reconocido en la normativa Chilena.

Tabla 12. Medio de cultivo USEPA,2002a

Solución stock	Componentes	Disolver en 500 mL de agua MILLI- Q o similar	
<b>1. MACRONUTRIENTES</b>			
A.	MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	6,08	g
	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	2,20	g
	NaNO <sub>2</sub>	12,75	g
B.	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	7,35	g
C.	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,522	g
D.	NaHCO <sub>3</sub>	7,50	g
<b>2. MICRONUTRIENTES</b>			
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	92,8	mg
	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	208,0	mg
	ZnCl <sub>2</sub>	1,64	mg <sup>1</sup>
	FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	79,9	mg
	CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,714	mg <sup>2</sup>
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	3,63	mg <sup>3</sup>
	CuCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,006	mg <sup>4</sup>
	Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	150,0	mg
	Na <sub>3</sub> SeO <sub>4</sub>	1,196	mg <sup>5</sup>

#### 4.4 Fotorreactores

El cultivo de microalgas en fotorreactores es una forma bastante efectiva de maximizar la producción de biomasa microalgal ya que, dentro de los biorreactores, es posible controlar las condiciones de cultivo.

Un fotorreactor es un dispositivo que proporciona las condiciones necesarias para que los organismos que se encuentren dentro de éstos desarrollen de manera adecuada sus procesos fotosintéticos, permitiendo una reproducción eficaz. (Martínez García., 2012)

Los fotobiorreactores son una de las mejores alternativas para este tipo de procesos debido a que están diseñados para reproducir microorganismos fotosintéticos y operan suministrando los requerimientos óptimos de luz, temperatura, pH, agitación y transferencia de masa (disponibilidad de nutrientes) (Pulz et al., 2001)

Existen diseños de fotorreactores para la producción de microorganismos fotoautótrofos, siendo la principal clasificación entre los sistemas abiertos a la atmósfera y sistemas cerrados, donde el biorreactor tiene poco o ningún contacto con la atmósfera. Estos sistemas cerrados se caracterizan por la regulación y control de los parámetros, al mismo tiempo que reducen el riesgo de contaminación y las pérdidas de CO<sub>2</sub>, además de permitir condiciones de cultivo reproducibles. En estos equipos, la luz no incide directamente en las células, sino que atraviesa unas paredes transparentes, generalmente, para llegar hasta ellas. Por ello es que en estos sistemas el intercambio de gases entre el cultivo y la atmósfera suele estar limitado. (Contreras et al., 2003)

Dentro de los principales tipos de fotorreactores encontramos:

- Fotorreactores tubulares (Figura 5): Son tubos de acrílico o vidrio que se presentan en forma de serpentín, espiral o fija, por donde el cultivo se mueve de manera horizontal, generalmente.

Dentro de las ventajas de estos sistemas se encuentra la máxima eficiencia luz, ahorro de espacio, poca mano de obra. Como desventaja, se encuentra

la formación de zonas oscuras y la necesidad de bombas.

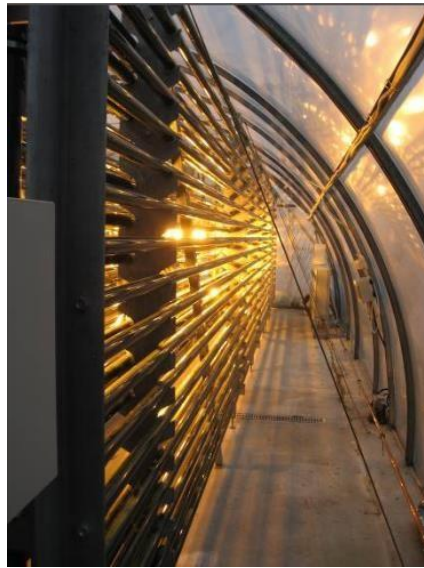


Figura 5. Fotoreactor tubular (hagen,2009)

- Fotorreactores de carrusel (Figura 6): Son estanques de poca profundidad en los que el cultivo se mantiene en movimiento por medio de paletas. Son relativamente baratos y fácil de construir, pero son muy susceptibles a la contaminación. Otra de sus desventajas es el poco aprovechamiento de la luz, ya que las partículas que se encuentran más abajo se ven afectadas por el efecto sombra generado por las que se encuentran más arriba.



Figura 6. Sistema abierto tipo carrusel. (Hagen,2009)

- Fotorreactor de placa plana (Figura 7): Son paneles de acrílico o vidrio y están diseñados para optimizar la luz solar de tal manera que la relación superficie volumen sea grande. La agitación se puede llevar a cabo por medio de burbujeo de aire.



Figura 7.Sistema placa plana. (Oligae,2015)

Los sistemas de placas planas, inclinados o verticales tienen como principal ventaja una gran superficie iluminada. Se ha comprobado que las concentraciones de  $O_2$  disueltos son bajas y que se alcanzan altas eficiencias fotosintéticas. Una de sus dificultades es el control de la temperatura y posible estrés hidrodinámico de ciertas especies. (Martínez García., 2012)

Gran parte de los sistemas industriales de producción de biomasa microalgal que fueron construidos antes de los años 90, fueron sistemas abiertos de tipo carrusel. Estos sistemas generalmente requieren de grandes áreas de terreno, elevados consumos de agua para compensar las pérdidas causadas por la evaporación, se encuentran expuestos a factores ambientales y animales, aunque tienen como ventaja el bajo costo de producción de biomasa, pero, uno de sus grandes inconvenientes, además de los nombrados anteriormente, es la baja productividad y costosa recuperación del producto en medios diluidos, por estas razones se recomienda la

utilización de especies adaptadas a condiciones más extremas, como lo son la *Spirullina*, *Dunaliella* y *Chlorella*. (Verdeza et al., 2016)

En la tabla 13 se enlistan las principales ventajas y desventajas de los sistemas anteriormente mencionados.

Tabla 13. Ventajas y desventajas de los sistemas abiertos y cerrados (Adaptado de Pulz,2001.)

Parámetro	Sistema abierto	Sistema cerrado
Riesgo de contaminación	Extremadamente alto	Bajo
Espacio requerido	Alto	bajo
Pérdidas de agua	Extremadamente alto	Casi ninguno
Pérdidas de CO <sub>2</sub>	Alto	Casi ninguno
Calidad de biomasa	No susceptible	susceptible
Variabilidad en cuanto al cultivo de especies	No tiene, las posibilidades de cultivo están restringidas a unas pocas variedades de algas	Altas, casi todas las variedades de microalgas pueden ser cultivadas
Flexibilidad de producción	El cambio de producción puede ser casi imposible	Puede haber un cambio de producción sin problemas
Reproducibilidad de parámetros de producción	No tiene, depende de las condiciones exteriores	Posible dentro de ciertas tolerancias
Control de procesos	No dado	Dado
Estandarización	No posible	Posible
Dependencia del clima	Absoluto, producción imposible durante lluvias	Insignificantes, ya que las configuraciones cerradas permiten la producción también durante el mal tiempo relativamente corto, aproximadamente
Concentración de biomasa durante el proceso	Baja, app 0.1-0.2 g/L	Alta, app 2-8 g/L

#### **4.4.1 Variables de operación**

##### **4.4.1.1 Aireación y agitación**

La agitación es de gran importancia para los cultivos microalgales, ya que permite una homogenización de los nutrientes, el pH y los gases, permite el movimiento de las microalgas evitando así que algunas obtengan mayor cantidad de luz, mejorado así la distribución de esta. Por otra parte, también impide la sedimentación de las células, manteniéndolas en constante movimiento. (*Cartagena et al., 2017*)

El principal problema de la agitación en los cultivos es el daño causado por el esfuerzo de corte, ya que la agitación mecánica, al igual que por medio del aire comprimido, provoca turbulencia, lo que, dependiendo de la cepa de microalga, puede generar daños a la estructura de éstas, afectando su crecimiento. (*Benavente et al., 2012*)

En cuanto a la aireación, ésta depende del tipo de fotorreactor que se utilice, pero en el caso del tipo placa plana, se sabe que una velocidad de aireación de 0.05 vvm, resulta suficiente para la mantención y mejoramiento del mezclado del cultivo. (*Benavente et al., 2012*)

Un estudio realizado por Robles et al (2016) demuestra que a distintas tasas de aireación (1,4 ;1,8 y 2,3 vvm), *Chlorella vulgaris* aumenta su densidad celular tanto en un fotorreactor airlift como en uno de tipo columna de burbujeo convencional. (Figura 8)

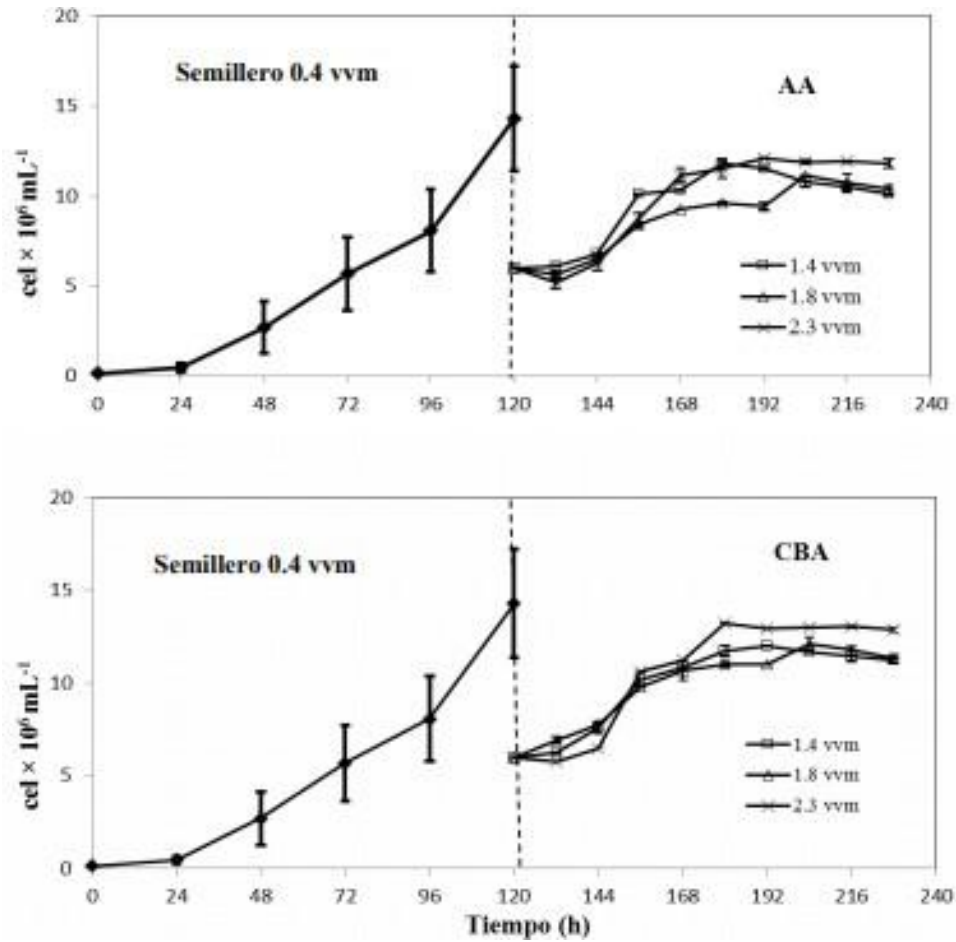


Figura 8. Crecimiento microalgal a diferentes tasas propuestas (Robles et al,2016). El gráfico superior corresponde a un crecimiento de microalgas en un fotorreactor airlift, donde el mayor crecimiento corresponde a una aireación de 2,3 vvm. El gráfico posterior corresponde a un crecimiento en un fotorreactor de columna de burbujeo convencional, donde, de igual forma el mayor crecimiento se obtuvo a una aireación de 2,3 vvm.

#### 4.4.1.2 pH

El pH es una medida que indica la concentración de iones hidrógeno en una solución.

Según la especie de microalga, éstas tendrán distintos requerimientos de pH para llevar a cabo su crecimiento en condiciones óptimas. El pH está estrechamente relacionado con la disponibilidad de CO<sub>2</sub>. (Benavente., 2012) El valor de pH aumenta cuando la cantidad de CO<sub>2</sub> se ve reducida y, por el contrario, disminuye cuando la concentración del gas aumenta. (Rodríguez et al., 2006)

El rango de pH para la gran mayoría de los cultivos microalgales se encuentra dentro del rango de 7 y 9, siendo el rango óptimo entre 8,2 a 8,7. Un pH óptimo en el cultivo generalmente es mantenido gracias a la aeración con aire enriquecido con CO<sub>2</sub> (Benavente., 2012). Siguiendo éste mismo fundamento, Hernandez et al (2014) postula que el pH 8 es el más indicado para especies dulceacuícolas, presentando problemas en su productividad por encima o por debajo de este valor.

Un estudio realizado en Venezuela por Moronta et al (2006) analizó la respuesta de las microalgas frente a la variación de pH bajo la premisa de que su comportamiento variaba ampliamente debido a que el pH es determinante para a solubilidad de dióxido de carbono. La microalga de estudió correspondía a la especie *C. sorokiniana*, evaluando su producción a pH 1, 3, 5, 6, 7, 8 y 9. Se ajustó el pH dos veces a día con tris HCl, mientras que el control correspondió a cultivos sin ajuste de pH. A los 15 días de iniciado el cultivo se determinó el crecimiento celular, obteniendo como resultado los valores registrados en la tabla 14.

Tabla 14. Densidad celular a distintos valores de pH (*Adaptado de Moraga et al., 2006*).

<b>pH</b>	<b>Densidad celular (x10<sup>6</sup> cel. ml<sup>-1</sup>)</b>
Control	168,21 +/- 1,43
5,0	0,22 +/- 0,01
6,0	154,52 +/- 1,11
7,0	192,46 +/- 6,46
8,0	344,68 +/- 33,45
9,0	352,34 +/- 51,47

Determinando que el crecimiento microalgal aumentó en función del pH, indicando que la densidad celular se ve optimizada en los rangos alcalinos.

#### **4.4.1.3 Luz**

La luz es un factor ambiental muy importante en el desarrollo de los organismos fotosintéticos. La disponibilidad de luz determina la intensidad a la que se realiza la fotosíntesis y, como consecuencia, determina también la velocidad de crecimiento (*Benavente., 2012*). Cuando la tasa de crecimiento llega a su punto máximo, ésta comienza a disminuir a medida que aumenta la intensidad de la luz, debido a un fenómeno conocido como fotoinhibición, junto con la manifestación de caracteres (*Bohne & Linden., 2002*). La fotoinhibición consiste en la disminución de la capacidad del alga para llevar a cabo sus procesos fotosintéticos provocado por la absorción de demasiada luz, al estar expuestas a luz intensa, en comparación con la capacidad fotosintética. (*Hagen., 2009*)

En todos los sistemas de cultivo, las microalgas que se encuentran más cercanas a la superficie de donde proviene la luz, producen un efecto sombra sobre las células que se encuentran más abajo, debido a esto, dentro de otras causas, es que se hace necesario un sistema de agitación. (*Benavente., 2012*)

Los parámetros básicos para describir la disponibilidad de luz son la relación periodo oscuridad, intensidad de luz y la trayectoria de ésta en el reactor.

La trayectoria de la luz es inversa a la frecuencia de la relación luz/oscuridad, aumentando la relación si la trayectoria es pequeña y reduciendo la relación si ésta es mayor, a pesar de que este comportamiento varía dependiendo del diseño de fotorreactor, pero se mantiene de esta manera en los tubulares y de placa plana vertical o inclinado.

La figura 9 muestra una curva respuesta de la actividad fotosintética en relación a la intensidad de luz. La curva se divide en tres zonas claramente observables. La primera zona corresponde a la zona de limitación de luz, donde la actividad fotosintética aumenta hasta alcanzar un máximo, la segunda zona corresponde a la zona de saturación por luz, donde la actividad se mantiene fija en el punto máximo independiente de la intensidad de la luz, la tercera y última zona corresponde a la zona de fotoinhibición por luz, donde la actividad fotosintética comienza a reducirse y a desacelerar a medida que aumenta la intensidad de luz.

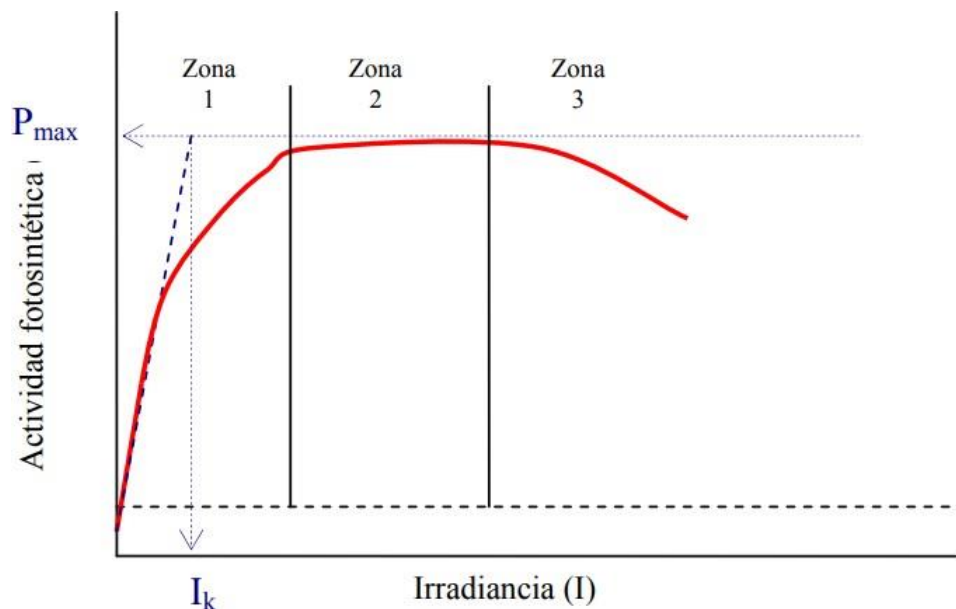


Figura 9. Curva respuesta de la actividad fotosintética en relación a la intensidad de luz. La zona 1 representada en la figura corresponde a la zona de limitación de luz, la zona 2 corresponde a la zona de saturación por luz y, finalmente, la zona 3 corresponde a la zona de fotoinhibición por luz. P<sub>max</sub> corresponde al punto máx de actividad fotosintética y el punto I<sub>k</sub> corresponde a la intensidad de luz donde se alcanza la mayor actividad fotosintética.

Un estudio realizado por Hu y reportado en el trabajo de *Flores et al (2003)*, reportó que la influencia de la trayectoria de la luz en un fotorreactor plano influye en la densidad celular y velocidad específica de crecimiento, demostrando que las células microalgales aumentan al reducir la trayectoria de la luz de 10,4 cm a 1,3cm.

#### 4.4.1.4 Temperatura

La producción algal aumenta proporcionalmente con la temperatura, a pesar de que el punto óptimo varía según las especies, el rango general se encuentra entre los 28°C y 35° C (*Hernandez et al., 2014*). Otros autores afirman que a temperatura de crecimiento varía de los 15 a los 40°C, también dependiendo de las especies. (Díaz & Restrepo., 2011)

Un estudio realizado por Converti et al (2009) tuvo por objetivo analizar los efectos de la temperatura en la tasa de crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* y su posible utilización para la producción de biodiesel. El práctico consistió en cultivar la microalga a 30°C para posteriormente realizar experimentos ya sea aumentando o reduciendo la temperatura en intervalos de 5°C, cultivando igualmente a 38°C para evaluar el comportamiento del organismo a altas temperaturas. El resultado de la influencia de la temperatura en el crecimiento de *C. vulgaris* se puede apreciar en la tabla 15.

Tabla 15. Influencia de la temperatura en el crecimiento microalgal.

Temperatura (°C)	Tasa específica de crecimiento (días <sup>-1</sup> )
25	0,06 +/- 0,00
30	0,13 +/- 0,00
35	0,07 +/- 0,01
38	-0,01 +/- 0,01

El crecimiento de *Chlorella vulgaris* se vio afectado por temperaturas superiores a 30°C, interrumpiéndose su crecimiento a la temperatura de 38°C, muriendo finalmente.

## 4.5 Biomasa como combustible

### 4.5.1 Leña

El poder calorífico de la leña es menor a resto de los combustibles que se utilizan comúnmente ya que este está directamente relacionado con la humedad que posea y la especie de la que se trate, aunque, en Chile, el 72% de la leña consumida corresponde a eucaliptus.

Tabla 16. Poder calorífico para distintas especies con distinto porcentaje de humedad.

Poder calorífico neto (MJ/kg)								
U%	Roble	Coigue	Lingue	Euc.nitens	Euc.globulus	Aromo	Radal	Ulmo
18	16,5	14,99	15,81	16,12	14,56	15,78	16,8	15,3
25	14,5	13,51	14,26	14,54	13,11	14,23	15,16	13,78
3	13,1	11,8	12,47	12,73	11,45	12,45	13,28	12,05

Para el caso de este combustible existe diferencias según el sector que se analice, ya que hay sectores donde participan mas actores como lo son productores, intermediarios e industria en el caso del sector residencial, habiendo a demas un cierto grado de informalidad. Por otra parte, en el caso de grandes consumidores y establecimientos de uso publico, existe solo el productor, exceptuando algunos casos en que existe un intermediario mayorista, no existiendo informalidades producto de las grandes cantidades que se comercializan y del requerimiento tributario, lo que genera ventas legales. Las características de los actores del mercado se mencionan a continuación:

Productores: Son quienes inician a cadena de comercialización, generalmente está constituido por dueños de predios.

Las especies que se extraen dependen de la zona del país y la ciudad, siendo las más comunes Hualle o Roble, Ulmo, Luma, Aromo y Coigüe. La capacidad de

producción va a depender de la zona en que esté emplazado el predio y puede llegar hasta los 1.000 m<sup>3</sup> st. (en zonas como Chillán) o 7.700 m<sup>3</sup> st. por año (en zonas como Puerto Montt).

Intermediarios: Se encuentran al medio de la cadena de comercialización y su rol es ser un conector entre el productor y el resto de la cadena de abastecimiento, encargándose de entregar el producto directamente al consumidor o leñerías. Dentro de este grupo se encuentran:

- Transportistas minoristas: Funcionan en su mayoría en las épocas con mayor demanda de leña y se abastecen directamente del productor en la mayoría de los casos.
- Transportistas mayoristas: Se encargan de comprarle leña a los productores y luego se la venden a los transportistas minoristas.
- Leñerías: Corresponde a locales establecidos y especializados en la venta de leña durante todo el año.

Industria de la madera: Corresponde al segmento del cual se desprenden los desechos del proceso productivo de la madera. Dentro de estos desechos se encuentran el aserrín, virutas y despuntes.

La venta de leña generalmente no está certificada, de hecho, solo un 10% declara vender leña certificada, pero alrededor de un 40% de los comerciantes declaran no conocer el Sistema Nacional de Certificación de Leña (SNCL).

Tabla 17. Características leña de eucaliptus y pino.

Características	Unidad	Especie	
		Eucaliptus	Pino Radiata
Poder Calorífico Inferior	[kcal/kg]	4.311- 4.339	4.501
Poder calorífico superior	[kcal/kg]	4.620- 4.648	4.810
Contenido energético al 20% de humedad	[GJ/ m3]	5-5.5	4

#### 4.5.2 Pellet de madera

El pellet de madera es un tipo de combustible granulado alargado a base de madera que se fabrica mediante prensado de serrín donde la propia lignina hace de aglomerante. No se necesita ni pegamento ni ninguna otra sustancia más que la misma madera. En Chile, el 100% del pellet suministrado proviene de pino radiata, y presenta varias características que lo hacen muy atractivo, por ejemplo, los equipos calefactores de pellets dosifican automáticamente la alimentación de pellets en el calefactor de acuerdo a la demanda energética, a diferencia de la leña, lo que optimiza el quemado obteniéndose mayores eficiencias de combustión respecto a equipos calefactores a leña de doble cámara.

El pellet de madera como combustible para la calefacción ha aumentado considerablemente y presenta muchas de las características que poseen los combustibles líquidos, tales como:

- certificación del combustible en términos de emisiones, poder calorífico y humedad. y producción de cenizas, lo que permite contar con un combustible de condiciones estándar para el uso residencial. lo que representa la principal ventaja frente a la leña.
- Pocos productores, y un número creciente de distribuidores de mediano y gran tamaño.
- Las emisiones de material particulado son menores que en el caso de la leña, aunque mayores que la de combustibles líquidos.

En Chile, los pellets que se comercializan tienen un poder calorífico inferior entre los 4.100 y 4.300 kcal/kg, una humedad entre 6%-10% y contenido de cenizas entre 0,1% y 0,5% en peso, pero tienen un mayor precio en comparación a otros combustibles provenientes de la madera (figura 10)

Una encuesta realizada en la región metropolitana demostró que la leña y el pellet tienen volúmenes considerables por proveedor, pero es necesario distinguir que el mercado del pellet presenta una pequeña participación en el mercado, pero también pocos distribuidores, por otra parte, la leña tiene una gran participación del mercado al igual que muchos proveedores.

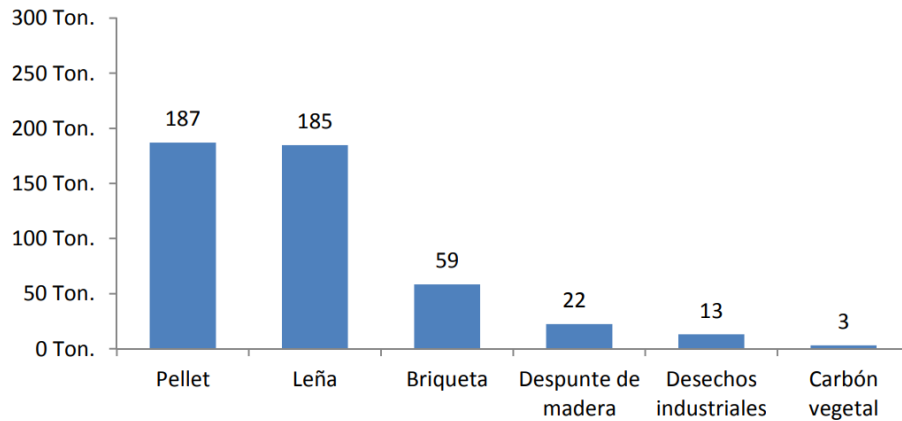


Figura 10. Gráfico de precio por cantidad de combustible. El combustible que presenta un mayor precio de venta al público por kg corresponde al pellet, seguido del carbón, la briqueta, la leña, el despunte, desechos industriales y carbón vegetal.

#### 4.5.3 Pellet de Microalgas

Un experimento realizado por Kosowska-Golachowska et al (2016) convirtió microalgas en pellet a través de una granulación.

El proceso consistió en secar la materia prima de microalgas, posteriormente, el material seco fue molido por un molino de laboratorio. En una tercera etapa, el molido de microalgas se tamizó a través de distintos tamices con diferentes tamaños y, finalmente, este se mezcló con almidón de patata para utilizarlo como aglutinante y agua.

Para analizar el comportamiento de la combustión de los pellets de microalgas, se quemó una muestra en un lecho fluidizado circulante a una temperatura constante de 850 ° C por medio de un controlador de microprocesador. Durante el proceso se midió la temperatura externa e interna del pellet, arrojando los resultados representados en la figura 11.

Ya teniendo el perfil de temperatura del pellet de microalgas, se realizó una comparación con el perfil obtenido por una muestra de pellet de paja de trigo representado en la figura 12, demostrando que el pellet de paja de trigo se agotó un 42% más rápido que el de microalgas.

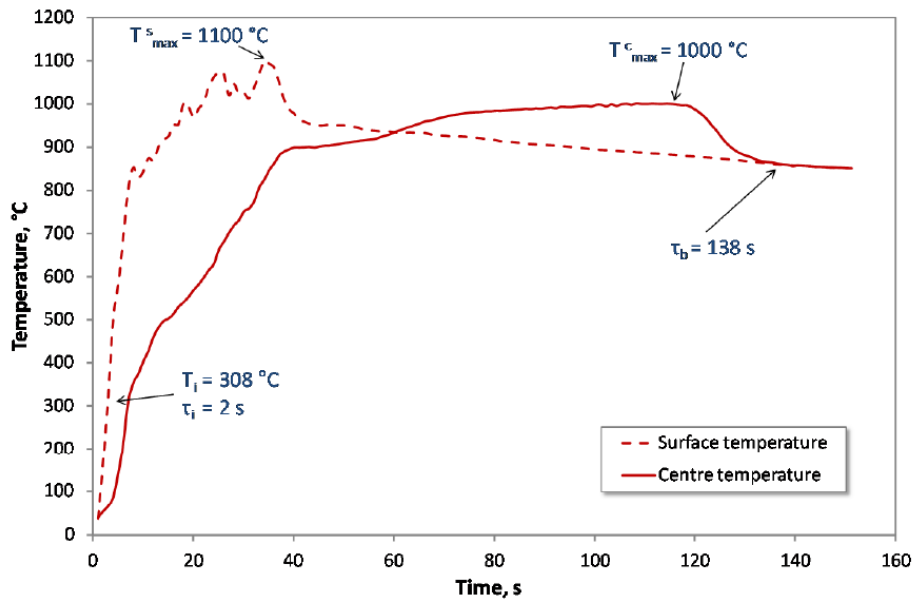


Figura 11. Perfil de temperatura externa e interna de un pellet La temperatura promedio de ignición de los gránulos de microalgas fue a los 308 ° C. Cuando la llama se acerca a su punto de extinción, la temperatura de la superficie alcanza su valor máximo. En la superficie la temperatura máxima fue de aproximadamente 1100°C. En el proceso de combustión, el centro alcanzo una temperatura de 1000°C aproximadamente y el tiempo de agotamiento del sedimento de microalgas fue de aproximadamente 138 s.

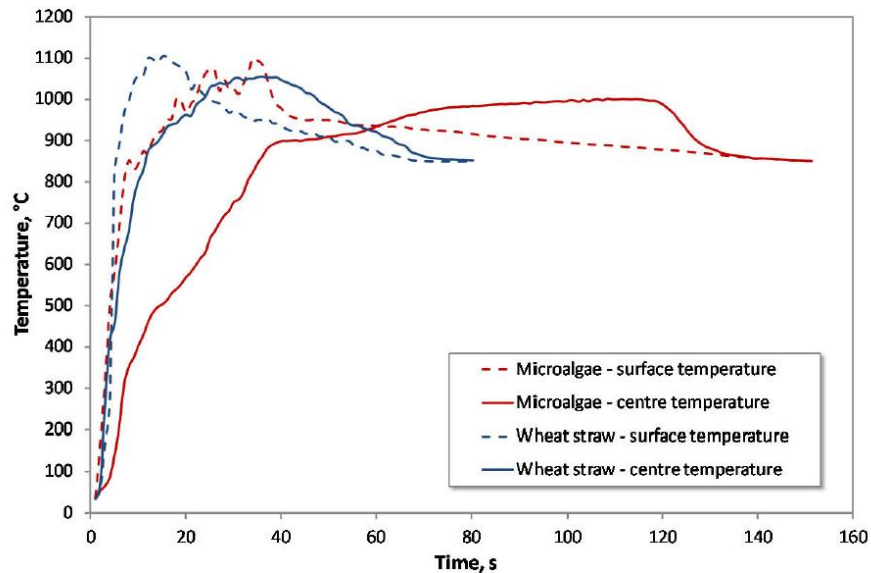


Figura 12. Comparación del perfil de temperatura de pellet microalgal y pellet de trigo. En ambos casos, la temperatura central excede la temperatura externa, alcanzando los 100°C casi al inicio del proceso. Los perfiles de temperatura para ambos pellets son similares. Sin embargo, el proceso de combustión del pellet de paja alcanzo temperaturas ligeramente más altas y en un menor tiempo que el pellet de microalga.

El valor del poder calorífico superior de la microalga utilizada (*Oscillatoria sp*) es de 15,86 MJ/kg.

#### **4.6 Prefactibilidad económica**

El Valor Actual Neto (VAN) es un indicador que forma parte del análisis beneficio costo, es decir, cuando se aplica a los casos en que los beneficios de una inversión compensen a los costos. El VAN es un indicador que muestra la riqueza que se genera a partir de un proyecto luego de cubrir los costos de éste en un horizonte determinado de tiempo. (*Valencia., 2011*)

Cuando la VAN es positiva ( $VAN > 0$ ), el proyecto se acepta, ya que indica que la inversión produciría ganancias. Por otra parte, cuando la VAN es negativa ( $VAN < 0$ ), la inversión produciría pérdidas, por lo que el proyecto debería rechazarse. Si la VAN es nula ( $VAN = 0$ ), la inversión no produciría ganancias ni pérdidas, porque sería necesario analizar los beneficios no económicos del proyecto, como su posicionamiento en el mercado. (*Cabrera., 2013*)

## 5 METODOLOGÍA

La metodología a presentar en este trabajo de título se desarrolló según las actividades representadas en la Figura 13.

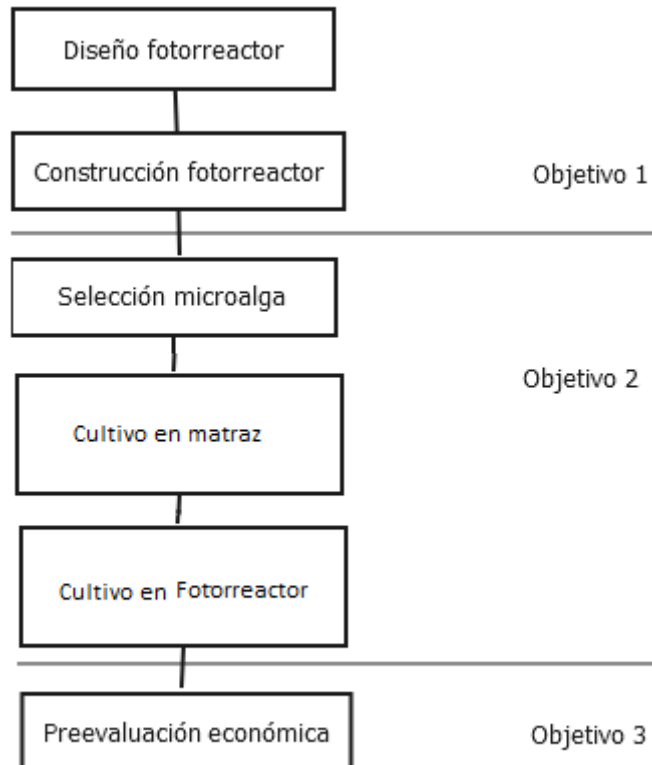


Figura 13. Esquema de metodología.

Dentro de las actividades se contó con una metodología analítica, la cual se describe en el punto 5.2.

## 5.1 Metodología experimental

### 5.1.1 Construcción de un sistema de producción de microalgas

Por medio de revisión bibliográfica, se seleccionó un sistema de producción microalgal cuyas dimensiones puedan adecuarse a una vivienda y cuyos materiales son de bajo costo y fácil adquisición, maximizando de igual forma la producción de microalgas.

### 5.1.2 Selección de microalga

Por medio de revisión de bibliografía, se seleccionó una microalga que cumple con las siguientes características.

- Rápido crecimiento
- Contenido promedio de lípidos
- Tolerancia a las concentraciones de CO<sub>2</sub>

Por medio de la realización de una matriz de selección (Tabla 18), se seleccionó la microalga que cumple con las características descritas.

La tabla indica las características de seis géneros de microalgas encontrados en la bibliografía, valorando estas en una escala del 1 al 5, donde 1 corresponde al género con condiciones más favorables para cada casilla, disminuyendo el numero en relación directa a su conveniencia.

Tabla 18. Matriz de selección

Género	Rápido crecimiento	Contenido promedio de lípidos	Tolerancia a las concentraciones de CO <sub>2</sub>

### **5.1.3 Cultivo microalgal**

Para llevar a cabo el crecimiento microalgal, en una primera instancia, se seleccionó como medio control un medio de cultivo estándar y que es nombrado en la bibliografía como el más conveniente para conseguir un desarrollo óptimo del organismo seleccionado anteriormente.

Para llevar a cabo el pre- cultivo, se inoculó la microalga seleccionada en un matraz de 250 ml con el medio de cultivo seleccionado anteriormente. Dentro de este medio, crecerán las microalgas hasta que se establezca su crecimiento debido a factores limitantes.

Para conocer en qué fase del crecimiento se encuentra la microalga, se realizaron cuantificaciones microalgales a lo largo del tiempo.

### **5.1.4 Evaluación medios de cultivo**

Se evaluó el uso de al menos dos medios de cultivo, caracterizados como grises, en el sistema y en matraces, seleccionando el medio que generó una mayor concentración de organismos.

Para realizar la selección del medio se tomaron mediciones de absorbancia, cada dos días, para evaluar y comparar el crecimiento de los organismos en los distintos medios, a través de la utilización de un espectrofotómetro.

Para la realización del medio de cultivo correspondiente a agua gris sintética, no fue considerado el fluido séptico indicado en la literatura ya que este fluido representa el aporte microbiológico al medio. La existencia de este tipo de materia con presencia microbiológica podría representar un problema en el crecimiento del organismo de interés ya que existe la ocurrencia de fenómenos de competencia y/o depredación. Por otra parte, la materia fecal posee microorganismos patógenos, los que, al ser manipulados, podrían causar problemas a la salud.

### 5.1.5 Análisis técnico-económicos

Con la información recopilada se realizó un análisis técnico-económico, abordando la posible localización del sistema, costos relacionados con la producción y el proceso del mismo con la finalidad de realizar un análisis comparativo entre la madera y las microalgas.

Para ello se realizaron cálculos para estimar el espacio, cantidad de fotorreactores y biomasa que se requiere para generar una producción similar a la necesaria para abastecer un hogar promedio con leña.

Posteriormente se evaluó la factibilidad de la microalga, seleccionada anteriormente, como sustituto a la madera utilizada para calefaccionar hogares a partir del cálculo del VAN para tres escenarios distintos en un mismo tiempo determinado. Los escenarios corresponden al uso de los datos de crecimiento obtenido de las microalgas cultivadas en matraces, en fotorreactor y una última situación maximizando la producción, considerando como ingreso el dinero que se ahorra en la compra de madera.

Para calcular el valor actual neto (VAN o VPN), se utilizó la siguiente fórmula.

$$VPN=VPN = \sum_{t=0}^{t=n} \frac{FC_t}{(1+r)^t}$$

Ecuación 1. Cálculo del valor actual neto

## **5.2 Metodología analítica**

### **5.2.1 Cuantificación microalgal**

La determinación de la concentración celular del cultivo se realizó por medio del siguiente protocolo (*Cabrera,2013; Anzueto ,2008; Universidad de Buenos Aires*):

#### **a) Barrido**

El barrido espectral es una gráfica formada por el conjunto de valores de absorbancia de una sustancia a diferentes longitudes de onda.

Se obtiene utilizando una misma muestra de color y concentración constante, a la cual se miden los valores de absorbancias correspondientes a distintas longitudes de onda, que son seleccionadas dentro de un rango de trabajo.

#### **b) Concentración Celular**

Para conocer la concentración de células microalgales, se realizará curvas de calibración, relacionando la densidad óptica de una muestra. Siguiendo los siguientes pasos:

##### **b.i ) Preparación del cultivo para la calibración**

Incubar microalgas en 100 mL de medio de cultivo en un matraz de 250 mL por 15 días, a temperatura aproximadamente 25°C, agitación constante, periodos de luz de 24 horas y un pH entre 6,6- 7.

Después de la incubación, separar el cultivo en dos partes iguales, cada una de 50 mL.

##### **b.ii) Longitud de onda de máxima absorción**

La espectroscopia de absorción es la medida de la cantidad de luz absorbida por un compuesto en función de la longitud de onda de la luz. En general se irradia una muestra con una fuente de luz y se mide la cantidad de luz absorbida a través de un barrido de longitud de onda.

Para este trabajo se tomará una alícuota del medio de cultivo anterior al cual se le realizará un barrido entre 400 a 800 nm. con un ancho de banda por paso de 4nm. Posteriormente, se identificará la longitud de onda correspondiente al peak de absorbancia máximo observado.

### **b.iii) Peso seco**

Para cuantificar la biomasa con base en el peso seco, se tomó uno de los volúmenes de 50 ml y se filtró por medio de un sistema kitasato, utilizando un papel de filtro pretarado, secado previamente en una estufa a 105°C ,(pfs). Posteriormente, los filtros con las muestras microalgales, se colocaron en una estufa, a la misma temperatura a la cual fueron secados los papeles de filtros, hasta alcanzar un peso constante (mfs).

La concentración de microalgas presentes en el medio de cultivo se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$[\text{Migroagal}] = \frac{mfs - pfs}{50} \left[ \frac{g}{mL} \right]$$

Ecuación 2. Cálculo de concentración microalgal.

### **b.iv) Calibración**

Realizar diluciones seriadas a razón 1:1, 1:2 y 1:3, desde los 50ml restantes, midiendo la absorbancia a la longitud de onda determinado en el punto anterior. Los valores de absorbancia deben estar comprendidos entre 0.1 y 0.8.

Graficar la absorbancia de cada dilución v/s concentración ya obtenidas de la alícuota medida para obtener la ecuación lineal que relaciona la absorbancia con la concentración celular.

### **b.v) Cuantificación**

1. Tomar una alícuota de cultivo.
2. Diluir la muestra para que el valor de la absorbancia se encuentre entre los valores mínimo y máximo arrojados en la curva de calibración.

3. Obtener la absorbancia de la muestra.
4. Realizar un blanco midiendo la absorbancia de una alícuota con medio de cultivo.
5. La absorbancia de cuantificación corresponde a la absorbancia de la muestra menos la absorbancia del blanco.
6. Sustituir el valor en la ecuación de calibración obtenido en el punto anterior, y determinar la concentración de la biomasa presente en el cultivo.

### 5.2.2 Medición de CO<sub>2</sub>

Se realizó la medición de CO<sub>2</sub> por medio de un kit de medición AZOO (Figura 14), el que cuenta con dos reactivos y un envase o vial para realizar el análisis. La finalidad de la medición es detectar si su concentración variaba en el tiempo, lo que indicaría de manera indirecta la existencia de organismos consumidores de CO<sub>2</sub>.

El proceso de análisis descrito en el manual corresponde al siguiente:

1. Enjuagar el vial de prueba con agua limpia varias veces.
2. Llenar el vial de medida hasta la marca de 10 mL con agua a analizar.
3. Agregar 5 gotas del reactivo 1 y agitar ligeramente.
4. Agregar el reactivo 2 gota a gota agitando ligeramente después de añadir cada una de ellas hasta que observe un cambio de color en la muestra.

La prueba finaliza cuando el líquido adquiere una tonalidad rosa que persista al menos 30 segundos. Durante este paso se deben contar todas las gotas añadidas del reactivo 2 para determinar la concentración de CO<sub>2</sub>.

Cada gota del reactivo 2 añadido al vial representa 2 mg/l de CO<sub>2</sub> disuelto en el agua. El nivel de CO<sub>2</sub> se determina multiplicando el total de gotas por 2. De este modo, si se hubiese contado 5 gotas, representará el valor de 10 mg/l de CO<sub>2</sub>.



Figura 14. Test de CO<sub>2</sub> Azoo.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 Selección y construcción de un sistema de producción microalgal

Dentro de los sistemas más utilizados para la producción microalgal se encuentran los fotorreactores, siendo los de sistemas cerrados los más eficientes.

Las características que presenta este sistema, encontradas por medio de revisión bibliográfica, se describen en la tabla 13.

Dado las ventajas de este tipo de sistemas, destacando el bajo espacio requerido y la concentración de biomasa, se espera que el sistema de producción seleccionado para llevar a cabo el crecimiento microalgal sea de tipo cerrado, específicamente un fotorreactor de placa plana, ya que, además de las ventajas presentadas anteriormente, los materiales que se utilizan, principalmente vidrio, pueden ser fácilmente reemplazables por paneles acrílicos o de plástico.

### **6.1.1 Parámetros del sistema**

Con la finalidad de mantener controlados los factores de estudio y conseguir un crecimiento adecuado, se establecieron las siguientes condiciones para el diseño del sistema:

- Entrada de aire.
- Salida de aire.
- Toma de muestra.
- Entrada de medio de cultivo al sistema.

### **6.1.2 Construcción del sistema**

Para la construcción del sistema de crecimiento microalgal, se utilizó una placa alveolar cerrada en sus extremos por dos tubos de PVC, cuyas medidas se representan en la figura 15.

En una primera instancia, el sistema de inyección de aire estaba formado por 28 accesorios en “T” para acuarios, distribuidos de tal forma que en dos celdas de la placa alveolar se encuentren dos “T”, una en cada celda respectivamente y luego una celda vacía, como se muestra en la figura 16.

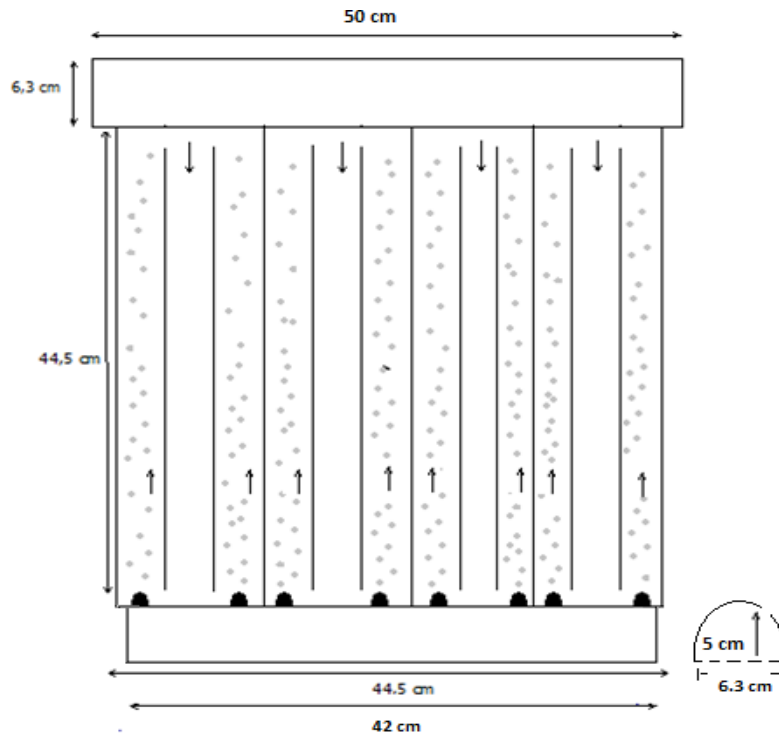


Figura 15. Representación del sistema de crecimiento microalgal seleccionado. En la figura se puede apreciar el comportamiento teórico del flujo de aire inyectado al sistema, donde los puntos negros al inferior de la imagen representan a los accesorios "T" por donde ingresa el aire al sistema. Las flechas indican el movimiento del fluido al interior del reactor. Además, se indican las medidas de las partes que conforman el sistema. El sistema real posee 41 casillas de 8 mm, en 25 de ellas se encuentran ubicados los accesorios "T".

Cada accesorio en "T" se unió a otro cada 4 celdas por medio de una manguera plástica de 5 mm de diámetro ubicada en la parte inferior del tubo pvc, lo que permitía que el aire inyectado al sistema, por medio de una bomba conectada por dos "T", sea distribuido por ambos extremos del tubo de PVC para tener una aireación homogénea. (Figura 17)



Figura 16. Entrada de aire al sistema. El ingreso de aire al sistema se llevó a cabo por grupos de dos celdas que poseen en su interior tubos "T", por una celda vacía.



Figura 17. Distribución de aire. El sistema de distribución de aire se llevó a cabo por accesorios "T" unidos por mangueras, por las cuales se moverá el aire hacia otros accesorios "T".

El sistema anteriormente descrito no presentó una distribución de aire favorable ya que ingresaba al sistema por un único extremo (Figura 18 B), por lo que fue necesario realizar una modificación de este. Esta consistió en reemplazar el sistema de entradas, esta vez haciendo uso de dos barras difusoras de aire (Figura 19 y 20). El uso de las nuevas barras difusoras permitió la aireación que se presenta en la Figura 21.

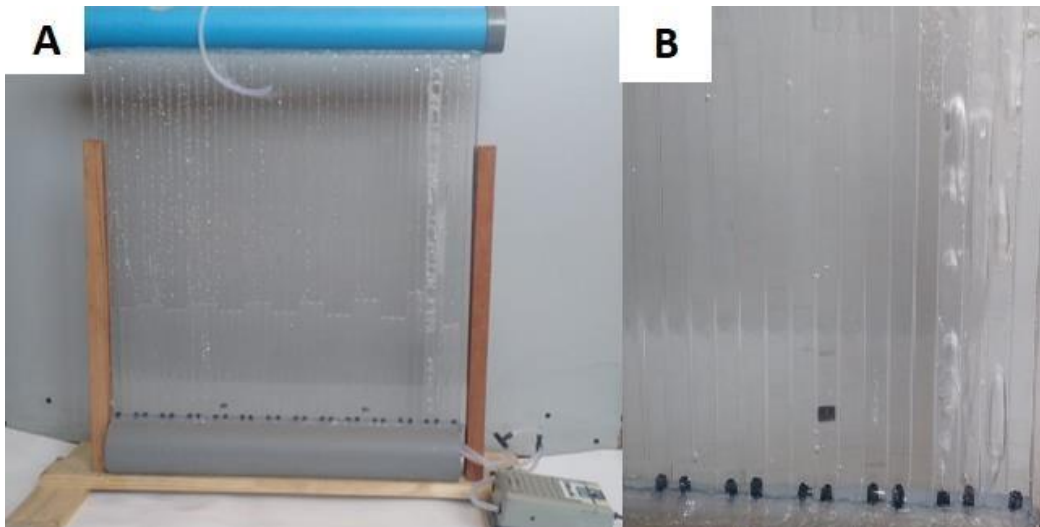


Figura 18. Distribución de aire en modelo preliminar. La figura A) corresponde al funcionamiento del fotorreactor, donde la aireación se presenta únicamente en un extremo de este. La figura B) corresponde a un acercamiento a los difusores de aire, en la cual es posible evidenciar que la aireación no se presenta en todos los difusores.

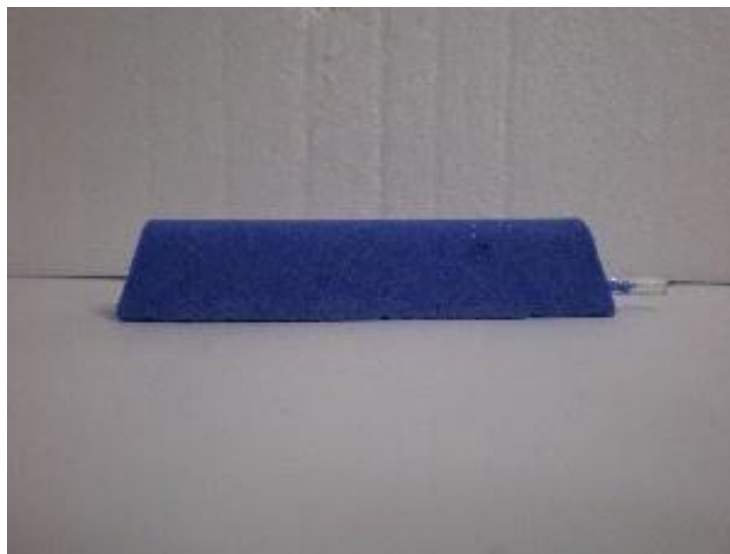


Figura 19. Difusor de aire de 10 cm.

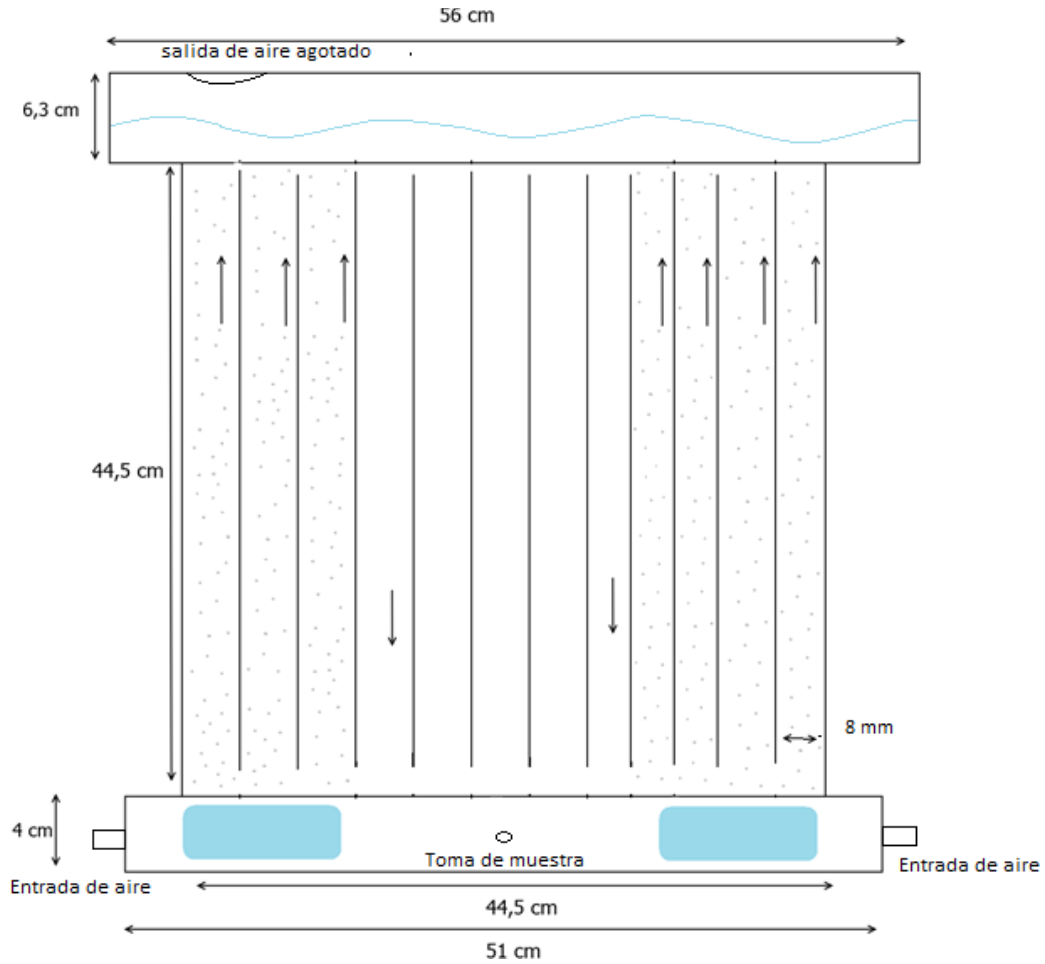


Figura 20. Representación del sistema de crecimiento microalgal final. En la figura se pueden observar las entradas y salidas de aire y la ubicación de los dispersores en el sistema, indicando que el aire entrará al sistema únicamente por los extremos del mismo.

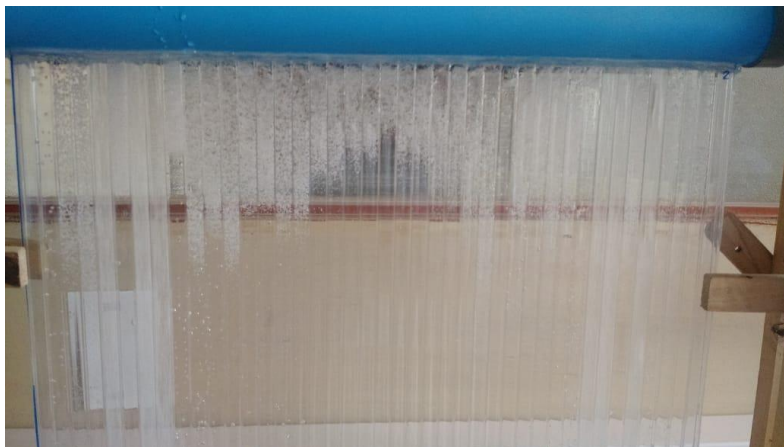


Figura 21. Burbujeo en el sistema. En la figura se puede observar que la entrada de aire al sistema se realiza por los extremos, bajando en el sector central, como se representa en el esquema de la figura 20.

## 6.2 Selección de la microalga

Dentro de las especies que contaban con las características mencionadas en la metodología, se seleccionó el género *Chlorella* de acuerdo a la matriz de selección que se representa en la tabla 19.

Tabla 19. Matriz de selección realizada.

Género	Rápido crecimiento	Contenido promedio de lípidos	Tolerancia a variación de CO <sub>2</sub>
<i>Phaeodactylum</i>	2	4	2
<i>Skeletonema</i>	3	4	3
<i>Dunaliella</i>	6	5	4
<i>Chlorella</i>	1	2	2
<i>Tetraselmis</i>	5	1	3

Dentro del género *Chlorella* se encuentran seis especies:

- *Chlorella autotrophica*
- *Chlorella minutissima*
- *Chlorella pyrenoidosa*
- *Chlorella sorokiniana*
- *Chlorella variabilis*
- *Chlorella vulgaris*

Y de las especies mencionadas, *Chlorella vulgaris* es la especie de más fácil adquisición, ya que el cepario que abastece a la universidad posee el organismo y, por trabajos previos en la escuela, se cuenta con conocimiento y experiencia sobre esta.

### **6.2.1 Cultivo microalga**

Para llevar a cabo el crecimiento microalgal, se utilizaron tres medios de cultivo. El método seleccionado para la realización del cultivo inicial o precultivo corresponde al descrito en la NCh 2706. Of2002, Calidad de Aguas, también encontrado en USEPA,2002<sup>a</sup> método 1003.0.

Luego del periodo de adaptación del microorganismo, este fue inoculado al sistema desarrollado para el crecimiento microalgal descrito anteriormente, el cual contendrá un litro de agua gris sintética que reemplazará al medio de cultivo utilizado hasta el momento. Para esto se eligieron dos medios de cultivos a través de la revisión bibliográfica.

En la figura 22 se muestra la comparación del crecimiento microalgal en los tres medios utilizados en el proceso experimental al finalizar el séptimo día de cultivo.

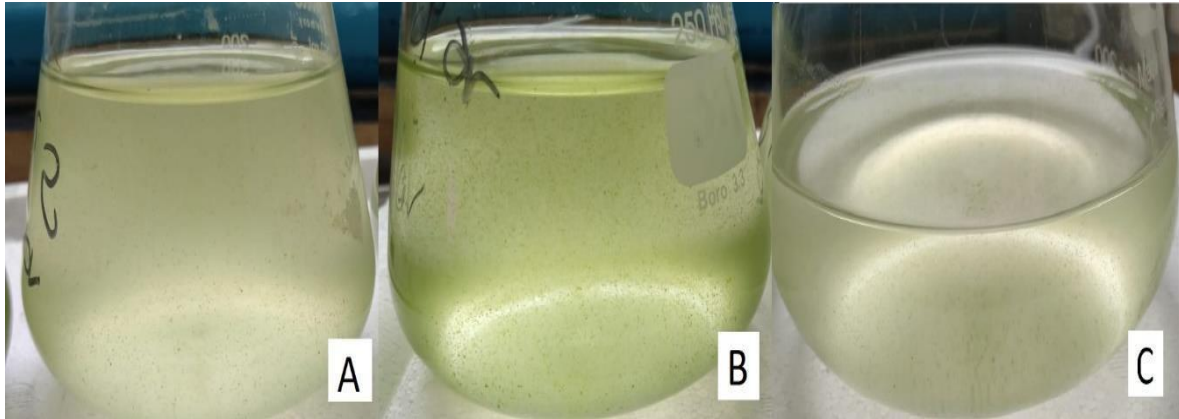


Figura 22. Crecimiento de microalgas en medio control y gris. La figura corresponde a una fotografía del crecimiento en su día siete. El matraz "A" corresponde al crecimiento de organismos en el medio gris descrito en la tabla 7. Aquí la tonalidad turbia- verdosa evidencia que los organismos fueron capaces de adaptarse y crecer en este medio. Por otro lado, el matraz "B" corresponde al crecimiento de organismos en el medio estándar descrito en la tabla 8. La tonalidad verdosa indica que las microalgas crecieron según lo descrito en la bibliografía utilizada. Finalmente, el matraz "C" corresponde al crecimiento de organismos en el medio gris descrito en la tabla 6, donde la tonalidad incolora indica que el medio no fue propicio para el crecimiento microalgal.

#### **6.2.1.1 Barrido**

El conjunto de valores de absorbancia en el rango de longitudes de onda de 400 a 800 nm, donde el rango entre 680 y 690 nm corresponde al espectro de absorción de la clorofila, alcanzando la máxima absorbancia de 0,764 en 685 nm

#### **6.2.1.2 Longitud de onda de máxima absorción**

Como resultado del barrido anterior, se obtuvo que la longitud de onda de máxima absorción de 685 nm, identificándose un peak de absorbancia de 0,764.

### **6.2.1.3 *Peso seco***

Luego de realizar el secado al vacío del volumen de cultivo con microalgas, se obtuvo un papel filtro con microalgas secas.

La concentración de microalgas en el medio de cultivo estándar se calculó por medio de la ecuación dos, dando un resultado de 0,134 g/L. Para el caso del cultivo gris 1 y gris 2, la concentración fue de 0,066 g/L y 0,148 g/L, respectivamente.

### **6.2.1.4 *Calibración***

La absorbancia de la dilución realizada fue medida a la longitud de onda determinada anteriormente. La primera muestra corresponde a la obtenida directamente de la solución madre la cual fue diluida en razón 1:2 (segunda muestra), cuyo resultado de absorbancia fue igual a 0,372. Se realizó una tercera dilución a razón 1:3, donde el resultado de absorbancia fue negativo, considerándose igual a 0.

### **6.2.1.5 *Cuantificación***

Para la cuantificación de organismos, se realizó una comparación en la concentración microalgal de los tres medios, obteniendo como resultado los valores presentados en las figuras 23 y 24.

obteniendo como resultado la concentración correspondiente a las diluciones realizadas al reemplazar las absorbancias de las muestras en el valor obtenido en la ecuación de calibración.

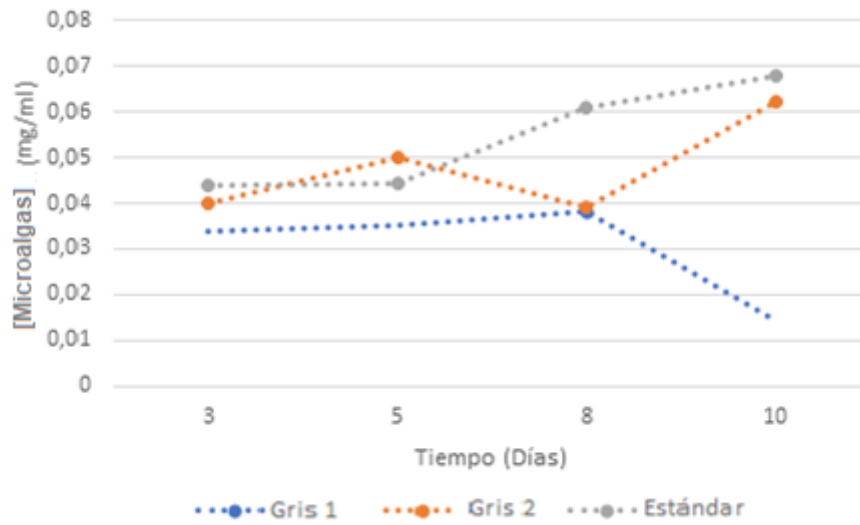


Figura 23. Gráfico concentración vs Tiempo. El gráfico representa la concentración de organismos en los distintos medios realizados en matraces.

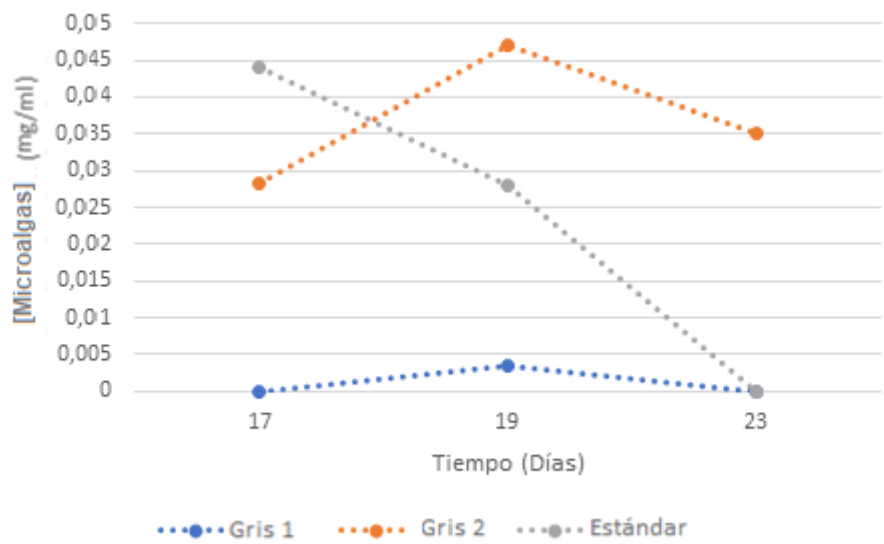


Figura 24. Gráfico concentración vs Tiempo (Fotorreactores). El gráfico representa la concentración de organismos en los distintos medios realizados en fotorreactores.

#### **6.2.1.6. Medición de CO<sub>2</sub>**

El nivel resultante de CO<sub>2</sub> disuelto en el agua para el medio gris fue de aproximadamente de 4 mg/L de CO<sub>2</sub>, (equivalente a 2 gotas del producto 2) antes de su ingreso al fotorreactor, posteriormente al transcurrir dos días de ingresar al fotorreactor, la concentración aumentó a 18 mg/L de CO<sub>2</sub> aproximadamente.

### **6.3 Análisis comparativo**

Se han elegido fotorreactores con tamaños adecuados a las techumbres de las viviendas, con la finalidad de no utilizar áreas posiblemente productivas. Para calcular el tamaño del fotorreactor a utilizar se consideró la superficie de una vivienda promedio, la cual poseería un área de aproximadamente 108 m<sup>2</sup>. En base a lo anterior y al área de un fotorreactor, que es igual a 12,226 m<sup>2</sup>, se estima que en una techumbre se podrían colocar aproximadamente 8 fotorreactores.

En la tabla 20 se exponen los cálculos utilizados para estimar los costos de producción de los fotorreactores, obteniéndose un valor total de \$37242 por reactor.

Tabla 20. Costos de materiales de un fotorreactor

<b>Costo por reactor</b>			
	<b>cantidad</b>	<b>precio</b>	<b>total</b>
<b>Lamina alveolar</b>	1	\$13.490	13490
<b>Tubos pvc 4</b>	1	\$990	990
<b>Tubos pvc 5</b>	1	\$1.620	1620
<b>Difusor</b>	2	\$900	1800
<b>Dispersores T</b>	3	\$180	\$540
<b>Bombas</b>	1	\$4.100	4100
<b>Mangueras 3m</b>	2	\$2.990	5980
<b>Medidor de aire</b>	1	\$6.642	6642
<b>Regulador</b>	1	\$360	360
<b>Tapas 4</b>	2	\$360	720
<b>Tapas 5</b>	1	\$720	720
<b>Válvula antirretor no</b>	1	\$1.390	1390
<b>Codo</b>	1	\$280	280
		<b>Total</b>	<b>\$37.242</b>

Además del costo de los materiales para la construcción de los fotorreactores, se suma el costo de energía para el funcionamiento de la bomba que mantiene el burbujeo del líquido al interior del dispositivo. El precio de la electricidad cada 2 minutos es de \$6,76 y en la tabla 21 se proyecta el costo diario por el funcionamiento de un reactor, 8 reactores y finalmente el costo anual.

Tabla 21. Costos de electricidad.

<b>Costo energético</b>	<b>Costo (\$)</b>
costo de electricidad cada 2 minutos	6,76
costo diario de electricidad por reactor	81,12
costo total por 8 reactores diarios	648,96
costo anual en electricidad	236870,4

Se calculó que al utilizar los 8 fotorreactores, una casa tendría como producto alrededor de 83 gr anuales de microalga (con un poder calorífico de aproximadamente 15,86 MJ/kg (*Kasowska- Golachowska., 2017*) y en el mercado un saco de leña de 20 kg (poder calorífico de aproximadamente 20,12 MJ/kg. (*Fredes., 2014*)), consumo que

se contará como mensual para finalidad del estudio.

La conveniencia económica de la producción de microalga *Chlorella vulgaris* depende directamente de los escenarios de evaluación (Tabla 22), los que corresponden a cultivo en matraz de medio estándar, gris 1 y gris 2, además de cultivo en fotorreactor para los medios mencionados anteriormente y, finalmente, en condiciones maximizadas, donde la producción de microalgas sea equivalente al uso de madera calculado como 20 kg mensuales durante el periodo de cinco años.

En las tablas 23, 24, 25, 26, 27, 28 y 29 se pueden apreciar los flujos de cajas calculados para cinco años considerando condiciones de laboratorio y utilizando una tasa de descuento igual a 6, que corresponde a la tasa social de descuento vigente. Esta tasa representa el costo de oportunidad en que incurre un país al usar recursos para financiar proyectos. (Ministerio de Desarrollo Social, 2016)

En los flujos de caja no se consideró el ítem mantenimiento.

La sección de ingresos hace referencia al ahorro monetario generado por la equivalencia de la producción de microalgas con respecto a la madera, es así como en la tabla 23, para una producción en matraz con cultivo estándar, se ahorraron 154 pesos, cantidad que se descuenta al monto total de \$3690 que corresponden al precio de 20 kg de madera. Los cálculos para obtener los valores representados se encuentran en la sección de anexos.

Tabla 22. Tabla de escenarios y su respectiva descripción.

Escenarios	Descripción
1.0	Corresponde a la situación real obtenida por el crecimiento del microorganismo en un matraz con medio de cultivo estándar
1.1	Corresponde a la situación real obtenida por el crecimiento del microorganismo en un matraz con medio de cultivo gris 1.
1.2	Corresponde a la situación real obtenida por el crecimiento del microorganismo en un matraz con medio de cultivo gris 2.
2.0	Corresponde a la situación real obtenida por el crecimiento del microorganismo en un fotorreactor con medio de cultivo estándar
2.1	Corresponde a la situación real obtenida por el crecimiento del microorganismo en un fotorreactor con medio de cultivo gris 1
2.2	Corresponde a la situación real obtenida por el crecimiento del microorganismo en un fotorreactor con medio de cultivo gris 2
3.0	Corresponde a una situación ficticia con producción maximizada, donde la cantidad de microalgas sea equivalente a la madera utilizada.

Tabla 23. Flujo de caja para escenario 1.0

Periodo	0	1	2	3	4	5
Costo		-236870,4	-236870,4	-236870,4	-236870,4	-236870,4
Ingreso		154	154	154	154	154
Inversión	\$-297.936					
Total	\$-297.936	-236716,4	-236716,4	-236716,4	-236716,4	-236716,4
VAN	\$-48198					

Tabla 24. Flujo de caja para escenario 1.1.

Periodo	0	1	2	3	4	5
Costo		-236870,4	-236870,4	-236870,4	-236870,4	-236870,4
Ingreso		75,6	75,6	75,6	75,6	75,6
Inversión	\$-297.936					
Total	\$-297.936	-236794,8	-236794,8	-236794,8	-236794,8	-236794,8
VAN	\$-8199,92					

Tabla 25. Flujo de caja para escenario 1.2.

Periodo	0	1	2	3	4	5
costo		-236870,4	-236870,4	-236870,4	-236870,4	-236870,4
ingreso		171,6	171,6	171,6	171,6	171,6
inversión	\$-297.936					
Total	\$-297.936	-236698,8	-236698,8	-236698,8	-236698,8	-236698,8
VAN	\$-48197,64					

Tabla 26. Flujo de caja para escenario 2.0

Periodo	0	1	2	3	4	5
Costo		-236870,4	-236870,4	-236870,4	-236870,4	-236870,4
Ingreso		50,8	50,8	50,8	50,8	50,8
Inversión	\$-297.936					
Total	\$-297.936	-236819,6	-236819,6	-236819,6	-236819,6	-236819,6
VAN	\$-48200,51					

Tabla 27. Flujo de caja para escenario 2.1.

Periodo	0	1	2	3	4	5
Costo		-236870,4	-236870,4	-236870,4	-236870,4	-236870,4
Ingreso		3,92	3,92	3,92	3,92	3,92
Inversión	\$-297.936					
Total	\$-297.936	-236866,48	-236866,48	-236866,48	-236866,48	-236866,48
VAN	\$-48201,63					

Tabla 28. Flujo de caja para escenario 2.2

Periodo	0	1	2	3	4	5
Costo		-236870,4	-236870,4	-236870,4	-236870,4	-236870,4
Ingreso		54,24	54,24	54,24	54,24	54,24
Inversión	\$-297.936					
Total	\$-297.936	-236816,16	-236816,16	-236816,16	-236816,16	-236816,16
VAN	\$-48200,43					

Tabla 29. Flujo de caja para escenario 3.

Periodo	0	1	2	3	4	5
<b>Costo</b>		-236870,4	-236870,4	-236870,4	-236870,4	-236870,4
<b>Ingreso</b>		43915	43915	43915	43915	43915
<b>Inversión</b>	<b>\$-297.936</b>					
<b>Total</b>	<b>\$-297.936</b>	-192955,4	-192955,4	-192955,4	-192955,4	-192955,4
<b>VAN</b>	<b>\$-47156,19</b>					

En todos los escenarios los valores obtenidos en los flujos de caja fueron negativos, por lo que el cálculo de la VAN dio como resultado los valores negativos de \$-48198, \$-48199,92, \$-48197,64, \$-48200,51, \$-48201,63, \$-48200,43 y \$-47156,19 respectivamente.

## 7 DISCUSIÓN

El fotorreactor realizado en una primera instancia, no presentó una aireación favorable, ya que, el aire únicamente entró al sistema por el extremo más próximo a la bomba de aireación a pesar de contar con mangueras que, teóricamente, inyectarían el aire por ambos extremos y lo distribuirían por todas las entradas (accesorios en "T"). Por este motivo, se hizo necesario rediseñar el sistema y cambiar los dispositivos por los cuales haría ingreso el aire al sistema, lográndose entonces una aireación más adecuada.

Las absorbancias medidas en los matraces para observar el crecimiento de los organismos en los distintos medios, dio como resultado una curva de crecimiento donde el medio estándar fue el que presentó una mayor concentración de organismos a medida que transcurría el tiempo. Por otra parte, el medio gris 1 presentó el menor crecimiento, lo que se puede explicar por los componentes que se usaron en la preparación del cultivo, principalmente champú y detergente, ya que ninguno de ellos posee nitrógeno ni fósforo en ninguna de sus formas, compuestos que son indispensables para el crecimiento de los organismos. Por otro lado, sí se ha demostrado en otros estudios un crecimiento óptimo de microalgas utilizando anteriormente fitoremediación, proceso de tratamiento que absorbería una gran cantidad de compuestos que podrían ser perjudiciales para las microalgas (*Conacyt.,2016*). En cuanto a las mediciones realizadas en los fotorreactores, los resultados obtenidos indicaron que los organismos no crecían en el transcurso del tiempo, más bien, su concentración disminuía entre las mediciones. Este comportamiento particular se puede asociar a que los organismos se aglomeraron y posteriormente se adhirieron a las paredes de los fotorreactores en las zonas centrales, donde no existía aireación y, por lo tanto, la turbulencia era menor o casi inexistente. Por lo anterior, se recomienda un rediseño en el sistema, donde la turbulencia no impida el crecimiento de los organismos, para ello se propone que las subsecciones de la placa sean de mayor tamaño, seleccionando placas con espacios de mayor medida o bien, cortando las divisiones para así tener un área de

aireación mayor por el volumen de aire utilizado en la práctica.

La absorbancia en el caso del fotorreactor con el medio de cultivo gris 2 se pudo ver alterada por la presencia de aglomeraciones de alguno de los compuestos que conformaban el medio, no presentándose en el cultivo realizado en el matraz, por lo que permitió que el crecimiento de las microalgas fuese de forma estable en este.

El medio utilizado para la medición de CO<sub>2</sub> resultó ser inexacto, ya que se basa en una titulación cuyos rangos son bastante amplios y distantes unos de otros, además de entregar una tabla de rangos estimados bastante acotada, es decir, el producto entrega información para un rango de 5,10 y 15 gotas del valorante, con valores que van de 10 a 15, 15 a 30 y 30 a 40, respectivamente. Debido a lo anterior, la medición de CO<sub>2</sub> se utilizó para tener un estimado de la concentración de carbono en el medio y de esta manera poder verificar si los organismos consumían o no el carbono disponible, por otra parte, el producto permitió verificar que la concentración de carbono aumentó en el medio a partir del burbujeo de aire por medio del aireador unido a la bomba.

En cuanto al análisis técnico-económico del uso de microalgas, el uso de fotorreactores con medio gris como medio de cultivo, no resulta técnica ni económicamente viable, ya que el poder calorífico de las microalgas es menor al de la leña y su producción en los fotorreactores es considerablemente menor a lo utilizado para abastecer un hogar promedio (según el caso propuesto para el estudio de 20kg mensuales), además el resultado del valor actual neto corresponde a un valor negativo, por lo que no representaría un ingreso o un ahorro para el hogar, esto es debido a que la leña tiene un precio comercial muy bajo, lo que se relaciona con la “incorrecta” fijación de los precios de productos forestales y la baja o inexistente cobranza de impuestos (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura ,1999). Por otra parte, no es suficiente realizar una evaluación privada del sistema, sino que es necesario realizar una valoración económica ambiental, ya que esta pretende medir monetariamente la ganancia del bienestar o utilidad de una persona o de un colectivo a causa de una mejora o daño de un activo ambiental. Estos beneficios pueden estar derivados por acciones como lo son el uso de un activo ambiental, realización de una mejora ambiental o la

generación de un daño ambiental. Las técnicas de valoración ambiental pretenden obtener la disposición a pagar por un cambio positivo en un bien ambiental o la disposición a aceptar una compensación por un cambio negativo (Raffo, 2015). En el caso de la madera y su uso como biomasa leñosa, implica la existencia de externalidades negativas, como lo es el desplazamiento de otros tipos de usos de suelo debido a la distribución de las plantaciones forestales, que tienden a utilizar la mayor cantidad de superficie posible de manera continua, la gran contribución a los procesos erosivos( Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 1999), la pérdida de bosque nativo , ya que para el año 2009, se consideraba que un 70% del total de biomasa leñosa generada provenía de bosques nativos degradando suelos, agua y pérdida de biodiversidad (Martínez, 2014), la descapitalización social y económica de los sectores rurales (Gutierrez,2005) y problemas a la salud generados por el uso incorrecto de la leña, que alcanzaron un costo monetario de alrededor \$420.000 anuales asociado a un uso de 6m<sup>3</sup> para el año 2005, el cual se agrega al valor mismo de la leña , el cual corresponde a \$86.000 aproximadamente por el mismo uso (Gutierrez,2005) y la evasión de IVA producto de la informalidad del comercio estimada en \$8.000 millones anuales (Martínez, 2014). Estos costos ambientales y a la salud pública son cantidades que no se incorporan en los precios finales de venta de la leña (Chile Ambiente Corporación, 2008).

## 8 CONCLUSIÓN

El diseño del fotorreactor es de fácil construcción y adaptación en hogares, pero no permite el crecimiento de los organismos de manera adecuada.

El crecimiento de los organismos se ve reducido debido principalmente a la turbulencia que este genera, por lo que se hace necesario considerar un nuevo diseño del sistema. En las condiciones actuales de diseño, no es posible su uso para producir microalgas y sustituir el consumo de leña.

El uso de agua gris como medio de cultivo para microalgas, específicamente *Chlorella vulgaris*, si es posible, ya que el organismo se adaptó a ambos medios grises sintéticos, siendo mayor la producción en el medio gris 2.

Técnica y económicamente, el sistema de producción microalgal no es viable, ya que a cantidad de microalgas producida no da abasto para suplir la madera considerando el inferior poder calorífico del pellet de microalgas. Por otra parte, tanto el sistema real para matraz, fotorreactor y producción maximizada, generan VAN negativas, pero, por otra parte, hay que considerar los costos ambientales y sociales que el uso del sistema rediseñado podría disminuir.

## 9 REFERENCIAS

- Benavente,J; Montañez,J; Aguilar,C; Méndez, A. and Valdivia,B (2012), Tecnología de cultivo de microalgas en fotobiorreactores. *Revista autónoma de Coahuila*,4(7).
- Bernabé, P, Velásquez, S. and Bernabé, N. (2006). Influencia del dióxido de carbono y fotoperiodo en la producción de biohidrógeno por *Arthrospira jenneri* “espirulina” en fotobiorreactor solar. *Ciencia Y Tecnología*, pp. 59–69.
- Bohne, F. and Linden, H. (2002). Regulation of carotenoid biosynthesis genes in response to light in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression*, 1579(1), pp.26-34.
- Cabrera,N. (2013).Efectos de la salinidad temperatura y pH sobre la producción de aceite a partir de la microalga *Chlorella sp.* Universidad de Valparaíso, Chile.
- Candela, R. (2016). Las microalgas y el tratamiento de aguas residuales: conceptos y aplicaciones. Una revisión bibliográfica. Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Bucaramanga, Colombia.
- Cartagena, J; Malo, B. (2017). Evaluación del uso de la microalga *chlorella vulgaris* en la *remoción* de materia orgánica de las aguas residuales de la ptar el salitre a nivel laboratorio. Fundación universidad de América facultad de ingeniería programa de ingeniería química, Bogotá D.C.
- CDT. (2015). medición del consumo nacional de leña y otros combustibles sólidos derivados de la madera. Ministerio de energía, Chile. Disponible en: [http://dataset.cne.cl/energia\\_abierta/estudios/minerg/medici%20n%20del%20consumo%20nacional%20de%20le%20y%20otros%20combustibles%20s%20lidos%20derivados%20de%20la%20madera.pdf](http://dataset.cne.cl/energia_abierta/estudios/minerg/medici%20n%20del%20consumo%20nacional%20de%20le%20y%20otros%20combustibles%20s%20lidos%20derivados%20de%20la%20madera.pdf)
- Chile Ambiente Corporación (2008). Estudio de “Análisis del potencial estratégico de la leña en la matriz energética Chilena”. *Centro de estudios del desarrollo*. Disponible en: <http://www.ced.cl/ced/wp-content/uploads/2012/03/potencial-de-la-lena-en-matriz-energetica.pdf>

Conacyt. Mezcla aguas residuales y microalgas capaz generar biocombustibles. *Iagua*. Disponible en: <https://www.iagua.es/noticias/mexico/conacyt/16/10/21/mezcla-aguas-residuales-y-microalgas-capaz-generar-biocombustibles>. (2016, Octubre 21)

Contreras, C; Peña, J; Flores Cotera, Luis Bernardo; Cañizares Villanueva, Rosa Olivia; (2003). Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. *Interciencia*, Agosto, 450-456.

Converti A; Casazza, A; Ortiz, E; Perego, P. and Del Borghi, M. (2009). Effect of temperatura and nitrogen concnetration on the growth and lipid content of *Nannochloropsia oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chemical Engineering and Processing* (48); pp 1146-1151)

Delgadillo, I. (2014). Respuestas biológicas de *Scenedesmus ovalternus* y *Chlorella vulgaris* inmovilizadas en alginato de calcio, ante diferentes concnetraciones de nutrientes en condiciones de laboratorio. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Díaz, A. and Restrepo, R. (2011). Empleo de las microalgas en la fijación del CO<sub>2</sub> presente en los gases de chimenea de equipos industriales de combustión en Colombia. *ITECKNE* (8), pp, 23-30

Doclean (2017). Doclean: el biocombustible que remplazaría la leña o carbón. *Laboratorio de gobierno*. Disponible en: [https://lab.gob.cl/uploads/filer\\_public/b5/bd/b5bdbf9e-97b4-4d4a-add1-0a55889f234f/10\\_doclean\\_3.pdf](https://lab.gob.cl/uploads/filer_public/b5/bd/b5bdbf9e-97b4-4d4a-add1-0a55889f234f/10_doclean_3.pdf)

Energia, S. (2017). *Información y Estadísticas - Comisión Nacional de Energía*. Disponible en: <https://www.cne.cl/nuestros-servicios/reportes/informacion-y-estadisticas/>. (2017, Noviembre 11).

Espinoza, J; Lagos, M. and Ortiz, A. (1992). Erosión de los suelos en Chile.

Disponibe en: <http://www.fao.org/docrep/t2351s/T2351S0e.htm>

- Essmann, M.(2011). Determinación de parámetros biológicos de microalga *Isochrysis aff.Galbana*: Comparación de un fotoreactor continuo versus un cultivo batch.
- Fernández, L; Montiel, J; Millán, A. and Badillo, J. (2012). Producción de biocombustibles a partir de microalgas. *Ra Ximhai*.8(3b),101-115.
- Franco, M.(2007). Tratamiento y reutilización de aguas grises con aplicación a caso en Chile. Universidad de Chile, Santiago de Chile.
- Froylán, M. (2017). Microalgas en la alimentación ¿Suplementos novedosos o reinventados? *Ciencia*.68(2).
- Gangl, D; Zedler, J;Rajakumar, P; Martinez, E; Riseley, A; Włodarczyk, A; Purton, S; Sakuragi, Y; Howe, C;Jensen, P. and Robinson, C. (2015). Biotechnological exploitation of microalgae. *Journal of Experimental Botany*, 66(22), pp.6975- 6990
- Gajardo, A; Benites, J; López, J; Burgos, N; Caro,C. and Rojas, M. (2011).Astaxantina: antioxidante de origen natural con variadas aplicaciones en cosmética.*BIOFARBO*.12(2).
- García, C. and Marín, D.(2011).Diseño de un sistema de bombeo y de desgasificación para un fotobiorreactor utilizado en la producción de biomasa y ácidos grasos a partir de microalgas.universidad autonoma de occidente,Santiago de Calí.
- González, L. (2010). Influencia de la deficiencia de nitrógeno y fósforo en las interacciones competitivas entre *Chlorella vulgaris* Y *Scenedesmus acutus*. Universidad nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Gutierrez, A. (2005). Análisis prospectivo del sector forestal. *ODEPA*. Disponible en: <https://www.odepa.gob.cl/publicaciones/articulos/analisis-prospectivo-del-sector-forestal-2>
- Hagen,T. (2009). Temperature Influence and Heat Management Requirements of Microalgae Cultivation in Photobioreactors. The Faculty of California Polythecnia State Universityy, San Luis Obispo.
- Hernández, A. and Labbé, J. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de biología marina y oceanografía*, 49(2), pp.157-173.

International, I. E. A., & Agency, E. (2018). ENERGY POLICIES BEYOND IEA, Chile.

Jarret, G. (2011). Diseño y operación de un fotobio reactor orientado al cultivo de microalgas, destinadas a la producción de aceite para biodiesel. Universidad de Valparaíso, Chile.

Junemann, A. and Legarreta, G. (2007). Inhalación de humo de leña: una causa relevante pero poco reconocida de Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica. *Revista Argentina de Medicina Respiratoria*, 2, 51–57

Krikorian, A. (1991). Medios de cultivo: Generalidades, composición y preparación. In: Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicaciones. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, CO, 151, 41-77.

Lennart.E., Ljungman, S. (1999). Mas allá de la ordenación forestal sostenible oportunidades y desafíos para una mejor ordenación forestal en el próximo milenio. FAO. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/003/X7019S/X7019S06.htm#TopOfPage> .

Martínez, L. (2012). Eliminación de CO2 con microalgas autóctonas, 226. Universidad de León, España.

Martínez, P. (2014). Análisis de las etapas que componen la cadena de comercialización de leña para consumo residencial: Problemáticas y políticas presentes en la comuna de Valdivia, Región de los Ríos. Universidad Austral de Chile, Valdivia.

Mata, T., Martins, A. and Caetano, N. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1), 217-232.

Ministerio de Desarrollo Social. (2016). Precios sociales Vigentes 2016. Disponible en: <http://sitio.gorebiobio.cl/wp-content/uploads/2015/05/Precios-Sociales-Vigentes-2016-10mar.pdf>

Murcia, M; Calderón, O. and Díaz, J. (2014). Impacto de aguas grises en propiedades físicas del suelo”, *Tecnológicas*, vol. 17, no. 32, pp. 57-65, 2014.

- Ohse, Silvana, Bianchini Derner, Roberto, Ávila Ozório, Renata, Gordo Corrêa, Rafaela, Badiale Furlong, Eliana, & Roberto Cunha, Paulo Cesar. (2015). Lipid content and fatty acid profiles in ten species of microalgae. *Idesia (Arica)*, 33(1), 93-101. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292015000100010>
- Ortiz, M; Cortés, C; Sánchez, J; Padilla, J. and Otero, A. (2011). Evaluación del crecimiento de la microalga *Chlorella sorokiniana* en diferentes medios de cultivo en condiciones autotróficas y mixotróficas. *ORINOQUIA*.16(1).
- Ortiz and Vargas.(2016). Comparación de la capacidad coagulante del Llantén *Plantago major* (sp) frente al coagulante convencional sulfato de aluminio en agua residual doméstica sintética. Universidad de la Salle,Bogotá, Colombia.
- Pulz, O. (2001). Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms . *Appl Microbiol Biotechnol* . 57:287–293
- Raffo, E. (2015). Valoración económica ambiental: el problema del costo social. *Industrial Data*, 18 (1), 108-118.
- Robles, J; Sacramento, C; Ruiz,A; Baz,S; Canedo,Y. and Narváez,A.(2016),Evaluación de crecimiento celular, remoción de nitrógeno y producción de lípidos por *Chlorella Vulgaris* a diferentes condiciones de aireación en dos tipos de fotobiorreactores anulares.*Revista Mexicana de Ingeniería Química*,15(2),361-377.
- Salukazana ,L; Jackson ,S; Rodda, N; Smith, M; Gounden, T; Macleod, N. and C. BuckleyPlant (2004).growth and microbiological safety of plants irrigated with greywater, 1–37.
- Sayre, R. (2010). Microalgae: The Potential for Carbon Capture. *BioScience*, 60(9), pp.722-727.
- Simas-Rodrigues, C; Villela, H; Martins, A; Marques, L; Colepicolo, P. and Tonon, A. (2015). Microalgae for economic applications: advantages and perspectives for bioethanol. *Journal of Experimental Botany*, 66(14), pp.4097-4108.

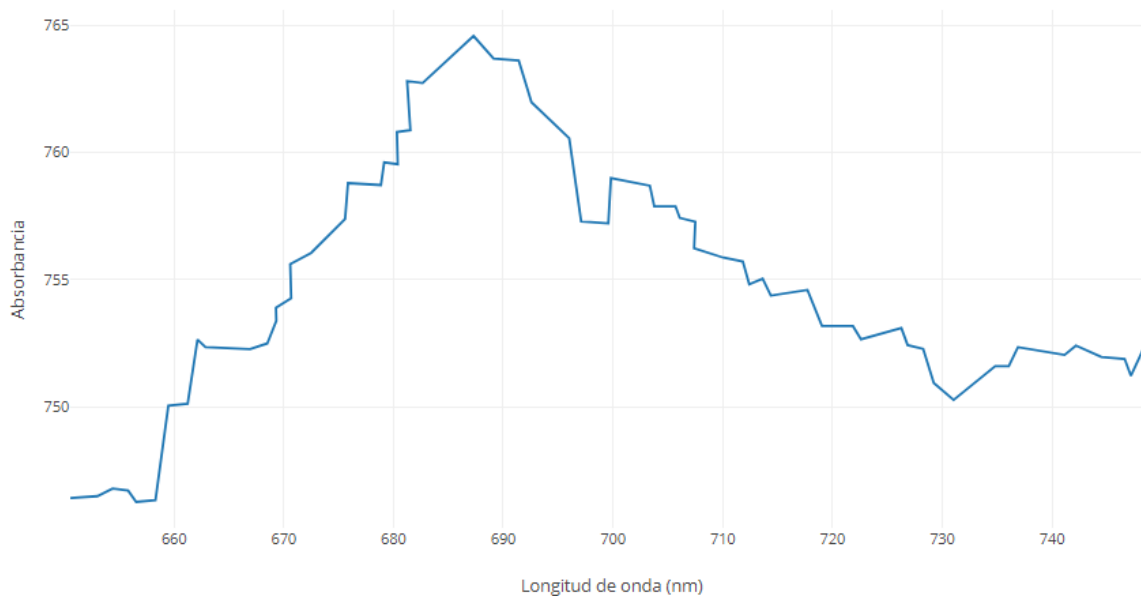
Valencia, W. (2011). Indicador de Rentabilidad de Proyectos: el Valor Actual Neto (VAN) o el Valor Económico Agregado (EVA). Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81622582003>

Vázquez, H. and Dacosta, O. (2007). Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. *Ingeniería, investigación y tecnología*, 8(4), 249-259.

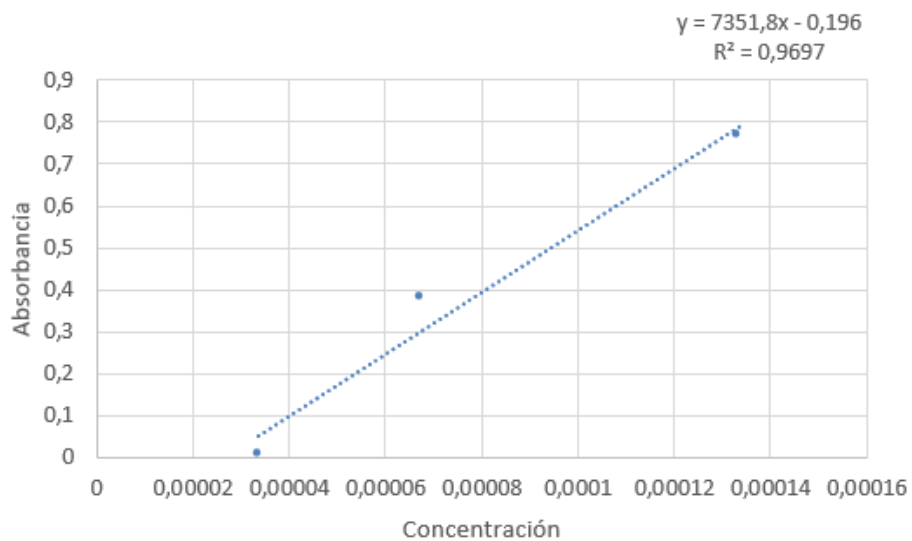
Vonshak, A. and Maske, H. (1982). Algae: Growth Techniques and Biomass Production. En: *Techniques in Bioproducity and Photosynthesis*. Coombs, J. y Hall, D.O. (eds). Pergamon Press. Section 3. 62-77 pp.

## 10 ANEXOS

- Barrido



- Curva de calibrado



- Cálculos de costos

<b>Cantidad de madera</b>	<b>precio</b>
20 kg	\$3.690
19,8	\$3,65
2000 g	\$3.690
84 g	\$154
93 g	\$171,60
41 g	\$75,60

- Cálculo de área

<b>Área (m<sup>2</sup>)</b>	
<b>Casa</b>	108
<b>Reactor</b>	12,22
<b>Reactores por casa</b>	8,8379705 4

- Producción real en medio estándar (matraz).

<b>Generación de algas por reactor</b>		
<b>ml</b>	<b>g/ml</b>	<b>Total (g)</b>
3260	0,000134	0,43684

<b>Producción por reactor(g)</b>	
<b>Mensual</b>	0,87368
<b>Anual</b>	10,48416

<b>Producción por casa (g)</b>	
<b>Mensual</b>	6,98944
<b>Anual</b>	83,87328

- Producción real en medio gris 1 (Matraz)

<b>Generación de algas por reactor</b>		
<b>ml</b>	<b>g/ml</b>	<b>Total (g)</b>
32	0,000	0,21
60	066	516

<b>Producción por reactor (g)</b>	
<b>Mensual</b>	0,43032
<b>Anual</b>	5,16384

<b>Producción por casa(g)</b>	
<b>Mensual</b>	3,44256
<b>Anual</b>	41,31072

- Producción real en medio gris 2 (Matraz)

<b>Generación de algas por reactor</b>		
<b>ml</b>	<b>g/ml</b>	<b>Total g</b>
3260	0,000148	0,48248

<b>Producción por reactor (g)</b>	
<b>Mensual</b>	0,96496
<b>Anual</b>	11,57952

<b>Producción por casa (g)</b>	
<b>Mensual</b>	7,71968
<b>Anual</b>	92,63616

- Producción real en medio estándar (Fotorreactor).

<b>ml</b>	<b>g/ml</b>	<b>Total g</b>
3260	0,000044	0,14344

<b>Producción por reactor</b>	
<b>Mensual</b>	0,28688
<b>Anual</b>	3,44256

<b>Producción por casa</b>	
<b>mensual</b>	2,29504
<b>anual</b>	27,54048

- Producción real en medio gris 1 (Fotorreactor).

<b>ml</b>	<b>g/ml</b>	<b>Total (g)</b>
3260	0,00000341	0,0111166

<b>Producción por reactor</b>	
<b>Mensual</b>	0,0222332
<b>Anual</b>	0,2667984

<b>Producción por casa</b>	
<b>Mensual</b>	0,1778656
<b>Anual</b>	2,1343872

- Producción real en medio gris 2 (Fotorreactor).

<b>ml</b>	<b>g/ml</b>	<b>Total (g)</b>
3260	0,000047	0,15322

<b>Producción por reactor</b>	
<b>Mensual</b>	0,30644
<b>Anual</b>	3,67728

<b>Producción por casa</b>	
<b>Mensual</b>	2,45152
<b>Anual</b>	29,41824