

Captura de CO₂ por *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus obliquus* bajo condiciones controladas en fotobiorreactores.

Leonardo Vergara Patiño

Universidad Nacional Abierta y a Distancia

Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente

Programa de Ingeniería ambiental

Cali, Colombia

2019

Captura de CO₂ por *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus obliquus* bajo condiciones controladas en fotobiorreactores.

Autor
Leonardo Vergara Patiño

**Proyecto aplicado presentado como requisito parcial para optar al título de:
Ingeniero ambiental**

Director
Oscar Eduardo Sanclemente Reyes

Línea de investigación
Gestión ambiental y sustentabilidad

Grupo de investigación
PRODUCCION SOSTENIBLE

Universidad Nacional Abierta y a Distancia
Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente
Programa de Ingeniería ambiental
Cali, Colombia
2019

*“No se puede pasar un solo día
sin tener un impacto en el mundo
que nos rodea. Lo que hacemos
marca la diferencia, y tenemos
que decidir qué tipo de diferencia
queremos hacer.”*

Jane Goodall.

Agradecimientos

En la realización y ejecución de este trabajo de grado deseo expresar mis más sinceros agradecimientos:

A Dios por iluminar mi camino y brindarme la capacidad, fortaleza y paciencia para lograr lo que parecía imposible.

A mis padres y hermana por creer en mí y por su apoyo incondicional para lograr esta meta, además de su colaboración en la elaboración y consecución de elementos necesarios para el desarrollo de este proyecto.

A Oscar Sanclemente, asesor del trabajo de grado, por sus ideas, dedicación, acompañamiento, orientaciones y conocimiento, que permitieron encaminar la elaboración y el buen desarrollo de este proyecto.

A Raúl Cuervo Mulet por su importante asesoría en el tema de las microalgas y los consejos brindados para el buen desarrollo de este proyecto.

A Pablo Gallo, por su asesoría en el análisis de conteo celular con cámara de Neubauer, sus consejos y conocimientos en microbiología brindados para el buen desarrollo del proyecto.

A la empresa NUTRE S.A.S. por su colaboración en la adquisición y envío de las cepas de microalgas y medios de cultivos utilizados en el desarrollo de este proyecto.

A German Bolaños por su asesoría en temas de emisiones de gases de efecto invernadero.

A la universidad nacional abierta y a distancia CEAD Palmira, por permitirme la utilización del material, equipo e instalaciones del laboratorio en las ocasiones que fue requerido.

Tabla de contenido

1.	RESUMEN	16
1.	INTRODUCCIÓN.....	18
2.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	22
3.	JUSTIFICACIÓN	25
4.	OBJETIVOS	27
4.1	Objetivo general	27
4.2	Objetivos específicos.....	27
5.	MARCO CONCEPTUAL Y TEÓRICO.....	28
5.1	Contaminación atmosférica y cambio climático	28
5.1.1	Principales fuentes de contaminación atmosférica.....	28
5.1.2	Marco normativo para emisiones atmosféricas en Colombia	31
5.1.2.1	Marco normativo para la calidad del aire.....	32
5.1.2.2	Marco normativo para emisiones por fuentes fijas	32
5.1.2.3	Marco normativo para emisiones por fuentes móviles.....	33
5.1.3	El efecto invernadero	33
5.1.3.1	Tipos de contaminantes.....	34
5.1.3.2	Principales gases de efecto invernadero (GEI)	35
5.1.4	Calentamiento global.....	37
5.1.4.1	Causas del calentamiento global	37

5.1.5 Cambio climático	38
5.1.5.1 Consecuencias del cambio climático.....	39
5.2 CO ₂ y cambio climático	40
5.2.1 Evolución de las emisiones de CO ₂ a nivel global.....	41
5.2.2 Evolución de las emisiones de CO ₂ en Colombia.....	42
5.2.2.1 Estado de las emisiones y absorciones de CO ₂ en los departamentos con mayores emisiones de GEI en Colombia.....	43
5.2.2.2 Emisiones y absorciones totales de GEI de los departamentos con mayores niveles de emisión en el país para el año 2012.....	49
5.2.3 Mitigación del CO ₂	50
5.2.3.1 Reducción de emisiones y eficiencia energética	50
5.2.3.2 Captación y almacenamiento de CO ₂	51
5.3 Microalgas y fijación de CO ₂	53
5.3.1 Fijación del CO ₂ a través de la fotosíntesis en microalgas	55
5.3.1.1 Ciclo Calvin Benson Bassham	56
5.3.2 Usos y aplicaciones de las microalgas	58
5.3.3 Requerimientos para el cultivo de microalgas	60
5.4 Sistemas para el cultivo de microalgas	62
5.4.1 sistemas abiertos.....	63
5.4.2 Sistemas cerrados	64

6. MATERIALES Y METODOLOGÍA	65
6.1 Localización	65
6.2 Adquisición de cepas de microalgas	65
6.3 Mantenimiento de las cepas	65
6.4 Preparación de los medios de cultivo artificiales	66
6.4.1 Medio de cultivo para <i>Chlorella Vulgaris</i>	67
6.4.2 Medio de cultivo para <i>Scenedesmus Obliquus</i>	68
6.5 Escalado de las cepas	70
6.6 Montaje del sistema de cultivo experimental.....	71
6.7 Condiciones del cultivo en los tratamientos para la de captura de CO ₂	74
6.8 Cuantificación de la producción de biomasa microalgal y fijación de CO ₂	76
6.9 Análisis estadístico de la información.....	82
7. RESULTADOS Y ANALISIS	83
7.1 Crecimiento de las cepas de <i>C. vulgaris</i> . y <i>S. obliquus</i> . bajo diferentes dosificaciones de CO ₂	83
7.1.1 Crecimiento de la cepa <i>Chlorella vulgaris</i>	83
7.1.2 Crecimiento de la cepa <i>Scenedesmus obliquus</i>	86
7.1.3 Comparación de resultados entre cepas para la variable densidad celular.....	88
7.2 Producción de biomasa de las cepas <i>C. vulgaris</i> . y <i>S. obliquus</i> . bajo diferentes dosificaciones de CO ₂	92

7.2.1 Producción de biomasa de la cepa <i>C. vulgaris</i>	92
7.2.2 Producción de biomasa de la cepa <i>S. obliquus</i>	94
7.2.3 Comparación de resultados entre cepas para la variable biomasa.	96
7.3 Biofijación de CO ₂ de las cepas <i>C. vulgaris</i> . y <i>S. obliquus</i> . bajo diferentes dosificaciones de CO ₂	100
7.3.1 Biofijación de CO ₂ por la cepa <i>C. vulgaris</i>	101
7.3.2 Biofijación de CO ₂ de la cepa <i>S. obliquus</i>	103
7.3.3 Comparación de resultados entre cepas para la variable CO ₂ biofijado.	105
7.4 Confluencia de los resultados con otras investigaciones	110
8. CONCLUSIONES.....	113
9. RECOMENDACIONES	115
10. ANEXOS.....	116
10.1 Anexo 1. Composición del medio de cultivo Bristol proporcionado por la empresa NUTRE S.A.S.	116
10.2 Anexo 2. Composición medio de cultivo artificial para <i>C. vulgaris</i>	117
10.3 Anexo 3. Composición medio de cultivo artificial para <i>S. obliquus</i>	117
10.4 Anexo 4. Composición del fertilizante Nitrato de Potasio (Microfertisa)	117
10.5 Anexo 5. Composición del fertilizante FOSFACEL 800 (Cosmoagro).....	117
10.6 Anexo 6. Composición del fertilizante TODO EN UNO (Súper abono).....	118
10.7 Anexo 7. Composición del fertilizante Nitrax - S (Yara)	118

10.8 Anexo 8. Concentración celular por cepa. Tratamientos T1 y T4	119
10.9 Anexo 9. Concentración celular por cepa. Tratamientos T2 y T5	119
10.10 Anexo 10. Concentración celular por cepa. Tratamientos T3 y T6	119
10.11 Anexo 11. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Concentración celular en T1 a T3 para <i>C. vulgaris</i>	120
10.12 Anexo 12. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Concentración celular en T4 a T6 para <i>S. obliquus</i>	120
10.13 Anexo 13. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Concentración celular en T1 y T4 para <i>C. vulgaris</i> y <i>S. obliquus</i>	120
10.14 Anexo 14. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Concentración celular en T2 y T5 para <i>C. vulgaris</i> y <i>S. obliquus</i>	121
10.15 Anexo 15. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Concentración celular en T3 y T6 para <i>C. vulgaris</i> y <i>S. obliquus</i>	121
10.16 Anexo 16. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Producción de biomasa en T1 a T3 para <i>C. vulgaris</i>	121
10.17 Anexo 17. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Producción de biomasa en T4 a T6 para <i>S. obliquus</i>	122
10.18 Anexo 18. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Producción de biomasa en T1 y T4 para <i>C. vulgaris</i> y <i>S. obliquus</i>	122
10.19 Anexo 19. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Producción de biomasa en T2 y T5 para <i>C. vulgaris</i> y <i>S. obliquus</i>	122

10.20 Anexo 20. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Producción de biomasa en T3 y T6 para <i>C. vulgaris</i> y <i>S. obliquus</i>	123
10.21 Anexo 21. Análisis de varianza ANOVA – Variable: CO ₂ biofijado en T1 a T3 para <i>C. vulgaris</i>	123
10.22 Anexo 22. Análisis de varianza ANOVA – Variable: CO ₂ biofijado en T4 a T6 para <i>S. obliquus</i>	123
10.23 Anexo 23. Análisis de varianza ANOVA – Variable: CO ₂ biofijado en T1 y T4 para <i>C. vulgaris</i> y <i>S. obliquus</i>	124
10.24 Anexo 24. Análisis de varianza ANOVA – Variable: CO ₂ biofijado en T2 y T5 para <i>C. vulgaris</i> y <i>S. obliquus</i>	124
10.25 Anexo 25. Análisis de varianza ANOVA – Variable: CO ₂ biofijado en T3 y T6 para <i>C. vulgaris</i> y <i>S. obliquus</i>	124
Referencias	125

Lista de tablas

Tabla 1. Emisiones de GEI por sector económico en los departamentos con más emisiones.	44
Tabla 2. Tratamientos realizados para el crecimiento, la producción de biomasa y la estimación de la capacidad de captura de CO ₂ por las microalgas <i>C. vulgaris</i> . y <i>S. obliquus</i>	75
Tabla 3. Prueba de rangos múltiples para concentración celular en T1 a T3.	85
Tabla 4. Tasa de crecimiento de <i>C. vulgaris</i> . Tratamientos T1 a T3, iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.	85
Tabla 5. Prueba de rangos múltiples para concentración celular en T4 a T6.	87
Tabla 6. Tasa de crecimiento de <i>S. obliquus</i> . Tratamientos T4 a T6, iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.	88
Tabla 7. Biomasa seca producida por la cepa <i>C. vulgaris</i> . Tratamientos T1 a T3. Prueba de rangos múltiples para T1 a T3. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.	94
Tabla 8. Biomasa seca producida por la cepa <i>S. obliquus</i> . Tratamientos T4 a T6. Prueba de rangos múltiples para T4 a T6. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.	96
Tabla 9. Composición elemental CHN de las cepas <i>C. vulgaris</i> y <i>S. obliquus</i>	100
Tabla 10. CO ₂ biofijado por la cepa <i>C. vulgaris</i> . Tratamientos T1 a T3. Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.	102
Tabla 11. CO ₂ biofijado por la cepa <i>S. obliquus</i> . Tratamientos T4 a T6. Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.	104
Tabla 12. Relación entre CO ₂ Biofijado, Producción de biomasa y Densidad celular.	110

Lista de graficas

Gráfica 1. Histórico de emisiones y absorciones sector Industrias manufactureras Mton CO ₂ eq, periodo 1990 – 2012, porcentaje de CO ₂ 82,28%.....	45
Gráfica 2. Histórico de emisiones y absorciones sector Minas y Energía Mton CO ₂ eq, periodo 1990 – 2012, porcentaje de CO ₂ 73,86%.....	45
Gráfica 3. Histórico de emisiones y absorciones sector Transporte Mton CO ₂ eq, periodo 1990 – 2012, porcentaje de CO ₂ 97,62%.....	46
Gráfica 4. Histórico de emisiones y absorciones sector Residencial Mton CO ₂ eq, periodo 1990 – 2012, porcentaje de CO ₂ 65,40%.....	46
Gráfica 5. Histórico de emisiones y absorciones sector Comercial Mton CO ₂ eq, periodo 1990 – 2012, porcentaje de CO ₂ 87,12%.....	47
Gráfica 6. Histórico de emisiones y absorciones sector Saneamiento Mton CO ₂ eq, periodo 1990 – 2012, porcentaje de CO ₂ 4,54%.....	47
Gráfica 7. Histórico de emisiones y absorciones sector Agropecuario Mton CO ₂ eq, periodo 1990 – 2012, porcentaje de CO ₂ 25,22%.....	48
Gráfica 8. Histórico de emisiones y absorciones sector Forestal Mton CO ₂ eq, periodo 1990 – 2012, porcentaje de CO ₂ 99,58%.....	48
Gráfica 9. Curva de crecimiento de <i>C. vulgaris</i> . Tratamientos T1 a T3, iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.....	84
Gráfica 10. Curva de crecimiento de <i>S. obliquus</i> . Tratamientos T4 a T6, iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.....	87

- Gráfica 11.** ANOVA – Densidad celular de *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T1 y T4. Prueba de rangos múltiples para T1 y T4. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C. 89
- Gráfica 12.** ANOVA – Densidad celular de *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T2 y T5. Prueba de rangos múltiples para T2 y T5. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C. 90
- Gráfica 13.** ANOVA – Densidad celular de *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T3 y T6. Prueba de rangos múltiples para T3 y T6. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C. 91
- Gráfica 14.** ANOVA - Producción de biomasa seca de *C. vulgaris*. Tratamientos T1 a T3. Prueba de rangos múltiples para T1 a T3. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C. 93
- Gráfica 15.** ANOVA - Producción de biomasa seca de *S. obliquus*. Tratamientos T4 a T6. Prueba de rangos múltiples para T4 a T6. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C. 95
- Gráfica 16.** ANOVA – Producción de biomasa en *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T1 y T4. Prueba de rangos múltiples para T1 y T4. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C. 97
- Gráfica 17.** ANOVA – Producción de biomasa en *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T2 y T5. Prueba de rangos múltiples para T2 y T5. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C. 98

- Gráfica 18.** ANOVA – Producción de biomasa en *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T3 y T6. Prueba de rangos múltiples para T3 y T6. Tukey (Alpha=0.05) iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C..... 99
- Gráfica 19.** ANOVA – CO₂ biofijado por *C. vulgaris*. Tratamientos T1 a T3. Prueba de rangos múltiples para CO₂ biofijado en T4 a T6. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C. 102
- Gráfica 20.** ANOVA – CO₂ biofijado por *S. obliquus*. Tratamientos T4 a T6. Prueba de rangos múltiples para CO₂ biofijado en T4 a T6. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C. 104
- Gráfica 21.** ANOVA – CO₂ biofijado por *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T1 y T4. Prueba de rangos múltiples para CO₂ biofijado en T1 y T4. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C. 106
- Gráfica 22.** ANOVA – CO₂ biofijado por *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T2 y T5. Prueba de rangos múltiples para CO₂ biofijado en T2 y T5. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C. 107
- Gráfica 23.** ANOVA – CO₂ biofijado por *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T3 y T6. Prueba de rangos múltiples para CO₂ biofijado en T3 y T6. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C. 108
- Gráfica 24.** Relación entre Producción de biomasa y CO₂ Biofijado. A) Tratamientos T1 y T4. B) Tratamientos T2 y T5. C) Tratamientos T3 y T6..... 109

Lista de imágenes

Imagen 1. Sistema de cultivo abierto tipo Raceway.	63
Imagen 2. Sistema de cultivo cerrado tubular.	64
Imagen 3. Esquema del escalado de las cepas.	71
Imagen 4. Montaje del sistema de cultivo experimental. A) Cámara de cultivo. B) Temporizador cíclico para la dosificación de aire y CO ₂ . C) Temporizador programable para el control del fotoperiodo.	71
Imagen 5. Fotobiorreactores, capacidad 4 L, ingreso de aire y CO ₂ desde el fondo con piedra difusora.	72
Imagen 6. Esquema general del montaje.	73
Imagen 7. Sistema de dosificación de aire y CO ₂ . A) Flauta de distribución y cámaras de mezcla con las válvulas antiretorno y válvulas estranguladoras. B) Válvula de tres vías para la regulación del aire. C) Bomba aireadora de uso en acuariofilia.	73
Imagen 8. Ilustración de la Cámara de Neubauer.	76
Imagen 9. Vista en cámara de Neubauer a través del microscopio. A) <i>C. vulgaris</i> . B) <i>S. obliquus</i>	77
Imagen 10. Determinación de la biomasa por metodología del peso seco. A) Secado del filtro sin muestra. B) Pesaje del filtro sin muestra. C) Filtrado al vacío de la muestra. D) secado de la muestra filtrada. E) Enfriamiento de los filtros en desecador. F) Pesaje de la muestra filtrada y secada.	79

1. RESUMEN

El aumento de las concentraciones de GEI es considerado como el responsable del actual calentamiento global, siendo el CO₂ el principal GEI debido a las emisiones antropogénicas y registrando un aumento de 2,2 ppm en la concentración del CO₂ de la atmosfera entre los años 2016 y 2017 alcanzando a una concentración global promedio de 405 ppm en 2017 la más alta registrada en los últimos 58 años.

En base a lo anterior, se estimó la capacidad de captura de CO₂ de las especies de microalgas *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus obliquus* en el ciclo de luz-oscuridad 12:12h, bajo condiciones controladas en fotobiorreactores. Cada cepa se cultivó por triplicado con una inyección intercalada de CO₂ puro y aire atmosférico en diferentes dosificaciones, la iluminación artificial fue proporcionada por una lámpara fluorescente de 4400 lúmenes y los medios de cultivo se prepararon con fertilizantes de uso agrícola (fertilizante NPK + elementos menores). La densidad celular se determinó mediante una cámara de Neubauer realizando conteos diarios, igualmente se estimó la producción de biomasa por el método de peso seco, se midió la temperatura de la cámara de cultivo en las fases luz y oscuridad y pH cada 24 horas.

Los resultados de este trabajo fueron sometidos a un análisis de varianza ANOVA y pruebas de Tukey, permitiendo determinar que *C. vulgaris* obtuvo la mayor eficiencia en cuanto a crecimiento celular, producción de biomasa, biofijación y porcentaje de remoción de CO₂. Los resultados obtenidos permiten establecer condiciones de cultivo apropiadas para la producción de biomasa de alto valor y eficiencias de remoción de CO₂ más altas, e igualmente evidencian que

la asociación del cultivo de microalgas a fuentes de CO₂ adicional favorecen la productividad microalgal con miras a la obtención de productos de alto valor comercial.

Palabras clave: CO₂, calentamiento global, microalgas, fotobiorreactor, densidad celular, biomasa microalgal.

1. INTRODUCCIÓN

Las variaciones del clima de nuestro planeta dependen principalmente de la dinámica estacional, estas variaciones son naturales y obedecen a los ciclos de la trayectoria orbital del planeta, a la intensidad de la radiación solar, la composición química de la atmosfera, los componentes la biosfera y demás factores que puedan influir. El cambio climático natural es generado por las alteraciones presentadas en el estado medio del clima por periodos prolongados de tiempo debido a factores naturales, sin embargo, actualmente las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) generadas por las actividades antrópicas han intensificado notablemente la velocidad con la que ocurren estos cambios, alterando el ciclo hidrológico y las condiciones meteorológicas (OMM, 2013). Las consecuencias que ha tenido el cambio climático sobre el sector agropecuario han incrementado la inseguridad alimentaria (Sierra, 2015). El incremento de la temperatura global también ha perjudicado considerablemente los ecosistemas marinos y el océano en general, ocasionando la desaparición de gran parte de los arrecifes coralinos y la disminución del hielo marino (OMM, 2017).

La situación que se vive actualmente con el cambio climático es una realidad evidente, desde 1950 se han percibido cambios sin antecedente alguno durante miles de años. El aumento de la temperatura del planeta ha calentado la atmosfera y los océanos reduciendo considerablemente la cantidad de hielo y volumen de nieve en los nevados a nivel mundial, lo que ha provocado como consecuencia el aumento en el nivel del mar (IPCC, 2014). En el año 2016 los GEI de mayor emisión a la atmosfera fueron el CO₂, metano y el óxido nitroso, con respecto al CO₂, este es el gas de mayor concentración en la atmosfera sobrepasando las 400

ppm (Blunden, 2018). El aumento de la concentración de CO₂ en la atmósfera que se ha presentado en los últimos 60 años es unas 100 veces más rápida que los incrementos naturales anteriores. Entre los años 2016 y 2017 se registró un aumento de 2,2 ppm en la concentración del CO₂ de la atmosfera llegando a una concentración promedio de 405 ppm en 2017 (Lindsey, 2018). Según el IDEAM en el inventario nacional y departamental de gases de efecto invernadero, los aportes de GEI en Colombia para el año 2012 alcanzaron las 258,8 Mton CO₂ eq. Siendo el 73,98% correspondiente a CO₂ (IDEAM, 2016), notándose una leve reducción en comparación con 2010 donde las emisiones de GEI alcanzaron las 281Mton CO₂ eq. aun así, desde el año1990 hasta 2010 se reportó en el país un aumento del 15% de las emisiones de GEI (PNUD, 2016).

Las microalgas son organismos unicelulares (microscópicos), que poseen semejanzas con las plantas terrestres, estos microorganismos son capaces de realizar fotosíntesis al igual que las plantas utilizando el CO₂ como fuente de carbono para transformarlo en azúcares, igualmente son las responsables de la producción de entre el 50 y el 87% del oxígeno a nivel mundial (Enzing, 2014). Estos microorganismos tienen la capacidad de crecer en una variedad de ambientes y climas bastante amplia, pudiendo desarrollarse sin la necesidad de tierras fértiles ni agua potable, pueden crecer inclusive en aguas contaminadas (Acien, 2017). Los ciclos del carbono y el oxígeno se relacionan directamente con los procesos de la fotosíntesis y la respiración, la respiración aeróbica determina el ciclo del oxígeno que todos los organismos vivos consumen en su forma libre (O₂) esto produce dióxido de carbono y agua como residuos del proceso, por otro lado, la fotosíntesis utiliza el dióxido de carbono y agua anteriormente generado para producir los carbohidratos requeridos por la célula y el oxígeno molecular que es

liberado (Barsanti, 2006). Las microalgas representan menos del 1% de la biomasa del planeta, sin embargo, cuentan con tasas de crecimiento bastante altas contribuyendo a una producción de biomasa elevada y su mayor ventaja sobre las plantas terrestres es la eficiencia de la actividad fotosintética la cual es hasta 50 veces mayor para la fijación del CO₂ (Barajas, 2012).

En el cultivo de las microalgas se deben considerar algunas variables que pueden afectar considerablemente el buen desarrollo de las mismas, se debe tener presente que cada especie es diferente y tiene sus propios requisitos para el cultivo que dependen en gran medida de su lugar de origen. La intensidad lumínica es quizás el factor más importante para el crecimiento, la fuente de luz usada puede ser tanto natural como artificial, a una mayor intensidad lumínica una mayor tasa de crecimiento, sin embargo, un exceso de luz podría implicar la fotoinhibición de las microalgas siendo contraproducente para el desarrollo (Benavente, 2012). Los nutrientes primordiales para el crecimiento de las microalgas son, el carbono, este se obtiene principalmente de la atmosfera, el nitrógeno, este nutriente influye de directamente en la producción de lípidos. Aunque las microalgas no poseen más del 1% de fosforo en su composición, un medio de cultivo con deficiencias de este nutriente causaría limitaciones en el crecimiento debido a que es fundamental para la transmisión de energía y la producción de ácidos nucleicos (Pérez, 2014).

Algunos investigadores sugieren que la alta capacidad de fijación de CO₂ que poseen las microalgas sería de gran utilidad en el control las emisiones antrópicas de este GEI, gracias a su capacidad para fijar CO₂ en lugares con concentraciones hasta 1000 veces a la concentración ambiental. En cultivos realizados únicamente con la concentración ambiental del CO₂ se han

obtenido producciones de biomasa inferiores a los cultivos donde se ha inyectado CO₂ con concentraciones de alrededor del 5% (Oscanoa, 2015). Estas investigaciones han contribuido a la evaluación de la viabilidad de las diferentes condiciones para el cultivo de las microalgas haciendo uso de las emisiones de CO₂ antropogénico, dirigidas principalmente a estimar la dosificación adecuada de este gas que favorezca una mayor tasa de crecimiento y logrando un eficiente uso del espacio. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue estimar la capacidad de captura de CO₂ de las especies de microalgas *Chlorella Vulgaris*. y *Scenedesmus Obliquus*. mediante el uso de fotobiorreactores con miras al desarrollo biotecnológico de controles de contaminación atmosférica.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El aumento de la concentración de gases de efecto invernadero producto de las actividades antropogénicas, principalmente del uso de combustibles fósiles, es la causa principal del actual cambio climático que ha derivado en perturbaciones a nivel mundial, estas emisiones han provocado un aumento considerable de las concentraciones de CO₂ en la atmosfera las cuales registraron un aumento de 3,5 ppm entre el año 2015 y 2016, siendo el mayor incremento registrado en los últimos 58 años. De igual forma se debe considerar que entre enero y febrero de 2016 la concentración media de CO₂ en el planeta sobrepaso los 400 ppm, valor considerado como el umbral máximo que no debería superarse, sin embargo, el último registro fue de 402,9 ppm (Blunden, 2018).

Actualmente con la firma y aprobación de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático, Colombia está comprometida con el reporte periódico de las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) generadas en el territorio nacional, esto lo hace a través de las Comunicaciones Nacionales de Cambio Climático e informes Bienales de Actualización, siendo el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM) la entidad responsable de realizar los Inventarios Nacionales de GEI. Para el año 2012 según el Inventario Nacional y Departamental de Gases Efecto Invernadero – Colombia, el país aporta el 0,4% de GEI ocupando el puesto 5 a nivel de Latinoamérica con una emisión per cápita de 4,2 ton CO₂ eq./ habitante, siendo los departamentos de mayor aporte al total de emisiones de GEI, Antioquia con 22,9 Mton GEI, Meta con 21,24 Mton GEI, Caquetá con 19,84 Mton GEI, Valle del Cauca con 16,50 Mton GEI, Santander con 14,38 Mton GEI y Cundinamarca con 13,27 Mton

GEI (IDEAM, 2016).

Según lo establecido por el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo en Colombia (PNUD), El aumento de las emisiones de CO₂ en Colombia fue de un 15% entre el año 1990 y 2010, pasando de 245 Mton a 281 Mton lo que representa un incremento de 36 Mton de CO₂ eq. Sin embargo, para el año 2012 la emisión de CO₂ fue de 258 Mton CO₂ eq. Pasando de aportar el 0,37% de las misiones mundiales a emitir el 0,42% en los últimos años (PNUD, 2016).

Debido a la situación climática actual en la que el aumento de las emisiones de CO₂ ha sido importante llegando a superar valores que se habían considerado umbrales máximos, se hace necesario implementar acciones que contribuyan a la reducción de las emisiones e igualmente desarrollar tecnologías que permitan la transformación del CO₂ emitido a la atmosfera, actualmente la principal estrategia de captura de CO₂ son los sumideros de carbono, estos consisten en el almacenamiento del CO₂ en la biomasa arbórea mediante la fotosíntesis de las plantas y en el suelo a través de la materia orgánica (Vega, 2014), sin embargo no es suficiente ya que la capacidad de captura de CO₂ de los bosques está siendo superada por el creciente incremento de las emisiones, sumado a esto está el problema de la deforestación en zonas protegidas, por esto es preciso desarrollar tecnologías que contribuyan a reducir el aumento de las concentraciones de CO₂ en la atmosfera como lo es el uso de las microalgas, las cuales se ha demostrado que pueden ser hasta 50 veces más eficientes en la transformación de CO₂ atmosférico en comparación con las plantas terrestres (Oscanoa, 2015). La preocupación por el cambio climático ha impulsado las investigaciones sobre el impacto medioambiental que tienen los productos agroindustriales en su cadena productiva completa, de ahí que la huella de carbono

se ha convertido en una herramienta que permite cuantificar las emisiones para posteriormente encontrar la forma de mitigarlas (Andrade, 2015). De aquí la importancia de investigar y desarrollar nuevas tecnologías que aprovechen el potencial de los microorganismos fotosintéticos como las microalgas, en la fijación y transformación del CO₂ atmosférico mediante la modificación de las condiciones de cultivo, como puede ser la cantidad de horas luz durante el fotoperiodo y la concentración de CO₂ inyectado en el fotobiorreactor, condiciones indispensables en el cultivo de estos microorganismos y que pueden determinar su efectividad. De este modo, evaluar la posibilidad de usar estos sistemas para mitigar las emisiones de CO₂ por diferentes fuentes.

Pregunta de investigación

¿Cuál será la capacidad de captura de CO₂ de dos especies de microalgas bajo condiciones controladas en un sistema de fotobiorreactores en la ciudad de Cali?

3. JUSTIFICACIÓN

La Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD, es un ente autónomo de orden nacional, con régimen especial, personería jurídica, autonomía académica, administrativa y financiera, patrimonio independiente y capacidad para gobernarse, vinculado al Ministerio de Educación Nacional en los términos definidos por la Ley 30 de 1992 (Acuerdo CSU No. 003 de 2012). Desde su autonomía académica, la UNAD propende por la formación básica específica, el fomento del espíritu científico o investigativo y, la formación Socio- humanista, articulada al Proyecto Académico Pedagógico Solidario PAP'S (VIACI- UNAD, 2011). Precisamente el carácter investigativo y Socio-humanista de la UNAD posibilita su acción en torno al diagnóstico y solución de problemas que presentan diferentes sectores sociales y productivos de nuestro país. Al mismo tiempo, la UNAD reconoce la importancia de la adecuada relación hombre- naturaleza como mecanismo fundamental para alcanzar verdaderas sociedades sustentables. Bajo esta mirada la UNAD propende el fomento de la investigación enfocada en proyectos que promuevan la captura de CO₂ y otros gases contaminantes que aportan a la problemática del cambio climático.

Las actividades humanas son las responsables del incremento de las emisiones de GEI causantes del actual cambio climático, debido a esta problemática se ha promovido intensificar el mantenimiento de los sistemas que absorben y almacenan carbono con el fin de lograr la meta de que al año 2050 la temperatura de la tierra no aumente en más de 2°C. Colombia que se ha comprometido a reducir en un 20% las emisiones de GEI en el marco del Acuerdo de París tiene la tarea de implementar planes de acción enfocados en este objetivo, sin embargo se observa

como en los últimos 20 años Colombia paso de aportar el 0,37% de las emisiones mundiales a 0,42% en 2010, siendo los sectores económicos industriales, de transporte, minas y energía, agropecuario y forestal los mayores aportantes de CO₂ emitido a la atmosfera (IDEAM, 2016).

La mitigación biológica de este problema se ha basado en el aprovechamiento de la fotosíntesis de las plantas las cuales han contribuido con la reducción de un 3% a un 6% de las emisiones totales, en el caso de las microalgas, estas tienen ventajas como tasas de crecimiento altas, mayor eficiencia fotosintética y una alta producción de biomasa comparada con los cultivos terrestres, se les atribuye aproximadamente el 70% de la producción de oxígeno del planeta considerándolas hasta 50 veces más eficientes en la transformación de CO₂ atmosférico en comparación con las plantas terrestres (Oscanoa, 2015).

En tal sentido esta investigación permitirá estimar la capacidad de captura y transformación de CO₂ de dos especies de microalgas bajo condiciones controladas en un sistema de fotobiorreactores en la ciudad de Cali, con el fin de contribuir al desarrollo de biotecnologías para el control de la contaminación atmosférica proveniente de fuentes fijas y móviles enfocado en las emisiones de CO₂. De igual forma, este trabajo investigativo permitirá aplicar las competencias alcanzadas en el proceso de formación integral en ingeniería ambiental, con miras de cumplir con el requisito de trabajo de grado, así como fortalecer el espíritu investigativo del grupo Producción Sostenible, de su semillero SIPAS y de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Estimar la capacidad de captura de CO₂ por *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus obliquus* bajo condiciones controladas en fotobiorreactores.

4.2 Objetivos específicos

- Diseñar el montaje y puesta en marcha de seis fotobiorreactores a escala de laboratorio para el cultivo controlado de dos especies de microalgas.
- Estimar la tasa de fijación de CO₂ y producción de biomasa de las dos especies de microalgas en un fotoperiodo 12:12 y tres dosificaciones de CO₂ diferentes.
- Comparar los resultados de fijación de CO₂, para las interacciones cepa x dosificación de CO₂.

5. MARCO CONCEPTUAL Y TEÓRICO

5.1 Contaminación atmosférica y cambio climático

La influencia humana sobre el sistema climático es evidente, los actuales cambios en el clima han generado fuertes impactos sobre los sistemas humanos y naturales, esto debido claramente a que las actuales emisiones de GEI son las más altas de la historia. Los aumentos en el nivel del mar, la disminución del volumen de nieve y hielo se deben al aumento de las temperaturas en la atmosfera y los océanos y desde la década de 1950 los cambios que se han presentado no tienen precedentes, siendo el periodo comprendido entre 1983 y 2012 el periodo más cálido en los últimos 1400 años en el hemisferio norte (IPCC, 2014).

El deterioro de la calidad del aire en los centros urbanos principalmente es un fenómeno que ha ido incrementándose con el tiempo, llegando a límites críticos en los últimos años debido principalmente al uso de combustibles fósiles y la alta densidad poblacional de la actualidad. Desde este punto de vista se puede estimar que la contaminación del aire es el producto del desarrollo económico que la humanidad ha implementado en su afán por tener una mejor calidad de vida, sin embargo, los impactos de la contaminación del aire repercuten directamente sobre la salud de las personas (Universidad de los Andes, 2008).

5.1.1 Principales fuentes de contaminación atmosférica

El forzamiento radiativo es evidente y ha dado lugar a un aumento en la absorción de

energía por parte del sistema climático, la mayor contribución a este forzamiento total proviene de las emisiones de CO₂ cuyas concentraciones vienen en aumento desde 1750. Este tipo de forzamiento radiativo se considera positivo debido a que se manifiesta como un aumento de la temperatura, caso contrario, si hubiera una disminución de la temperatura se consideraría un forzamiento negativo. Se estima que el forzamiento radiativo a causa de actividades antropogénicas en 2011 con relación al año 1750 es $2,29\text{Wm}^{-2}$ y presentando un incremento más acelerado en 1970, este forzamiento radiativo es provocado principalmente por las emisiones de GEI como el CO₂, el metano (CH₄), el óxido nitroso (N₂O) y los halocarbonos, solo las emisiones de CO₂ han provocado un forzamiento radiativo de $1,68\text{Wm}^{-2}$ (IPCC, 2013).

Fuentes fijas. La resolución 909 de 2008 del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial define fuente fija como *“fuente de emisión situada en un lugar determinado e inamovible, aun cuando la descarga de contaminantes se produzca en forma dispersa”*. Dentro de estas fuentes tenemos las fuentes fijas dispersas definidas por la resolución 909 de 2008 del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial como *“Aquellas en que los focos de emisión de una fuente fija se dispersan en un área, por razón del desplazamiento de la acción causante de la emisión, como por ejemplo, en el caso de las quemas abiertas controladas en zonas rurales”*, y las fuentes fijas puntuales definidas por la resolución 909 de 2008 del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial como *“La fuente fija que emite contaminantes al aire por ductos o chimeneas”* (MAVDT, 2008).

Algunas de las actividades industriales contempladas en la resolución 909 de 2008 del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial como emisoras de contaminantes a la

atmosfera son las actividades de producción de ácidos, llantas, mezclas asfálticas y productos de asfalto, fundición y manufactura de metales como el acero, cobre, plomo y zinc, actividades de fabricación de cal, fibras de vidrio, carbón, coque, fertilizantes, cemento, y actividades como los hornos crematorios y de incineración de residuos y demás actividades establecidas por la norma (MAVDT, 2008).

Fuentes móviles. La resolución 910 de 2008 del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial define fuente móvil como *“La fuente de emisión que, por razón de su uso o propósito, es susceptible de desplazarse. Son fuentes móviles los vehículos automotores, las motocicletas, los motociclos y los mototriciclos”* (MAVDT, 2008).

El aumento masivo del uso de vehículos de motores de combustión interna en diferentes formas de transporte ha contribuido considerablemente a la contaminación atmosférica, generando grandes preocupaciones en torno a los problemas que esto conlleva a la comunidad, a mediados del siglo XX se logró identificar la problemática y desde entonces se han dedicado grandes esfuerzos para reducir las emisiones asociadas a las fuentes móviles, y se avanzó en la creación de nuevas tecnologías que reducen la emisión de gases producto de la combustión, por ejemplo la introducción de catalizadores y los motores diésel (Hickey, 2014).

Fuentes naturales. Las fuentes de emisiones atmosféricas naturales o biogénicas son aquellas que se generan a partir de actividades naturales como, la actividad volcánica que emite monóxido de carbono, óxidos de azufre, material particulado entre otros gases y sustancias tóxicas, encontramos también la erosión la cual emite material particulado durante el proceso, y los incendios forestales (naturales) los cuales emiten a la atmosfera monóxido de carbono, óxidos

de azufre, óxidos de nitrógeno y material particulado (Universidad de los Andes, 2008).

Las emisiones biogénicas en su mayoría pertenecen al grupo de los compuestos orgánicos volátiles COV's dentro de estas emisiones destacan las que provienen de la vegetación, estas emisiones una vez liberadas a la atmosfera reaccionan con otros compuestos contribuyendo a la formación de contaminantes fotoquímicos entre los que se destaca el ozono troposférico, estas emisiones alcanzan hasta las dos terceras partes de las emisiones globales llegando a superar a las emisiones antropogénicas (Bolaño, 2015).

Las fuentes naturales de emisiones atmosféricas son las responsables de la liberación de 12.000 Tm/año de Plomo, 45.000 Tm/año de Zinc, 1.400 Tm/año de Cadmio, 43.000 Tm/año de Cromo, 28.000 Tm/año de Cobre y 29.000 Tm/año de Níquel, estas emisiones proceden principalmente de la degradación de la corteza terrestre y la actividad volcánica, estas dos fuentes de emisión representan el 10% cada una (Sherwood, 2005).

5.1.2 Marco normativo para emisiones atmosféricas en Colombia

El tema de la calidad del aire en Colombia representa uno de los retos más grandes que tiene el país en términos de contaminación, ya que el deterioro de la calidad el aire ha influido de forma directa en la salud de los colombianos en cuanto a enfermedades respiratorias se trata, es por eso que cada vez se realizan mayores esfuerzos en implementar normas que contribuyan a la disminución de las emisiones atmosféricas, dentro de estas normas destacan las siguientes:

5.1.2.1 Marco normativo para la calidad del aire

- **Resolución 601 de 2006:** *“Por la cual se establece la Norma de Calidad del Aire o Nivel de Inmisión, para todo el territorio nacional en condiciones de referencia”*
- **Resolución 610 de 2010:** *“Por la cual se modifica la Resolución 601 del 4 de abril de 2006”*
- **Resolución 650 de 2010:** *“Por la cual se adopta el Protocolo para el Monitoreo y Seguimiento de la Calidad del Aire”*
- **Resolución 2154 de 2010:** *“Por la cual se ajusta el Protocolo para el Monitoreo y Seguimiento de la Calidad del Aire adoptado a través de la Resolución 650 de 2010 y se adoptan otras disposiciones”*

5.1.2.2 Marco normativo para emisiones por fuentes fijas

- **Resolución 909 de 2008:** *“Por la cual se establecen las normas y estándares de emisión admisibles de contaminantes a la atmósfera por fuentes fijas y se dictan otras disposiciones”*
- **Resolución 0935 del 2011:** *“por la cual se establecen los métodos para la evaluación de emisiones contaminantes por fuentes fijas y se determina el número de pruebas o corridas para la medición de contaminantes en fuentes fijas”*

5.1.2.3 Marco normativo para emisiones por fuentes móviles

- **Resolución 910 de 2008:** *“Por la cual se reglamentan los niveles permisibles de emisión de contaminantes que deberán cumplir las fuentes móviles terrestres, se reglamenta el artículo 91 del Decreto 948 de 1995 y se adoptan otras disposiciones”*
- **Resolución 1111 de 2013:** *“Por la cual se modifica la resolución 910 de 2008”*

5.1.3 El efecto invernadero

El efecto invernadero es un proceso natural mediante el cual la superficie terrestre se calienta cuando la energía del sol alcanza la atmosfera terrestre, parte de esta energía es reflejada nuevamente al espacio y otra parte es retenida por los gases de efecto invernadero, estos gases incluyen vapor de agua, dióxido de carbono, metano, óxido nitroso, ozono y algunos clorofluorocarbonos (CFC). Esta energía retenida se encarga de calentar la atmosfera y la superficie terrestre manteniendo una temperatura media de 33°C, lo suficiente para sostener la vida en la tierra (Australian Government, 2017).

Ahora el efecto invernadero aumentado es el resultado de las actividades antropogénicas, principalmente la quema de combustibles fósiles, la agricultura intensiva y la deforestación, generando un aumento intencional en las concentraciones de los GEI y consecuentemente el actual calentamiento global (Australian Government, 2017), no debe confundirse estos dos términos ya que el calentamiento global es el resultado del efecto invernadero aumentado.

El actual efecto invernadero que a causa de las actividades humanas ha multiplicado su potencial de retención de la energía solar posee 6 etapas descritas a continuación:

- a) La energía solar llega a la atmosfera terrestre y parte de ella es reflejada nuevamente al espacio.
- b) La energía retenida es absorbida por el planeta.
- c) El calor es irradiado desde la tierra hacia el espacio nuevamente.
- d) Parte de esta energía es retenida por los GEI, manteniendo el calor suficiente para sostener la vida en la tierra.
- e) Las emisiones de GEI por actividades antropogénicas aumentan la cantidad y concentración de estos gases en la atmosfera.
- f) El exceso de GEI hace que más energía de la necesaria quede retenida en la superficie terrestre generando un aumento mayor de la temperatura media del planeta.

5.1.3.1 Tipos de contaminantes

Para comprender mejor la compleja problemática que representa la contaminación atmosférica se deben tener claras algunas definiciones respecto a los tipos de contaminantes emitidos a la atmosfera, sus características y consecuencias.

Contaminantes primarios. Son aquellas sustancias contaminantes emitidas directamente hacia la atmosfera bien se de forma biogénica o antropogénica (Universidad de los Andes, 2008).

Contaminantes secundarios. Este tipo de contaminantes son el resultado de las reacciones químicas que se presentan en la atmosfera por parte de algunos contaminantes primarios, estas reacciones dan lugar a otras sustancias contaminantes y pueden tener un impacto mayor al de la sustancia primaria, entre estas sustancias destaca principalmente el ozono troposférico, el cual se genera a partir de la reacción entre óxidos de nitrógeno e hidrocarburos en presencia de luz solar (Universidad de los Andes, 2008).

Contaminantes criterio. Estas sustancias son utilizadas como referencia para definir el estado de la calidad del aire con base en unos parámetros cuantitativos establecidos por la normatividad ambiental de cada país, en el caso de Colombia los contaminantes criterio definidos son el monóxido de carbono (CO), óxidos de nitrógeno (NO_x), óxidos de azufre (SO_x), material particulado inferior a 10µm (PM10) y el ozono (Universidad de los Andes, 2008).

5.1.3.2 Principales gases de efecto invernadero (GEI)

En 2016 los GEI de mayor liberación a la atmosfera fueron en orden decreciente, el dióxido de carbono, metano y óxido nitroso, su continuo aumento alcanzo niveles más altos que en años anteriores siendo el CO₂ el de mayor aumento en la concentración atmosférica alcanzando las 405± 0.1 ppm (Blunden, 2018). Las emisiones de GEI se miden en CO₂eq, la cual es una unidad de medida común que emplea el Potencial de Calentamiento Global (PCG), un valor relativo que expresa la cantidad de radiación infrarroja que atrapa en la atmósfera un GEI equivalente a la atrapada por el CO₂ (IDEAM, 2016).

Óxido nitroso (N₂O). Esta sustancia es de gran importancia en el tema de los GEI debido a que en la atmosfera puede alcanzar los 114 años y su impacto es 298 veces superior al del CO₂, las emisiones globales de N₂O alcanzan los 17,7 Tera gramos (Tg) por año con un 37,8% procedente de fuentes antrópicas, a su vez el 41,8% de emisiones antrópicas corresponde a los aportes de los suelos agrícolas (Signor, 2013).

Metano (CH₄). Este gas de tipo orgánico es altamente impactante como GEI, llegando a tener una absorción de calor hasta 100 veces mayor al CO₂ mientras ambos gases se encuentran en la atmosfera, y hasta 86 veces después de 20 años (Howarth, 2015). Del total de las emisiones anuales de CH₄ aproximadamente el 60% proviene de fuentes antropogénicas, estas incluyen actividades agrícolas como la ganadería y los cultivos de arroz, la extracción de combustibles fósiles, la quema de biomasa y los vertederos de desechos, es estas actividades la explotación de combustibles fósiles contribuye en un 30% con el total de emisiones antropogénicas (Blunden, 2018). Las emisiones de CH₄ han aumentado en un 250% desde el periodo preindustrial, se estima que las emisiones de CH₄ son de alrededor de 540 Tg/año y su periodo de duración en la atmosfera es de 9,1 años aproximadamente (Blunden, 2018).

Dióxido de carbono (CO₂). Este gas es un compuesto inerte, sin embargo, debido a su concentración en la atmosfera ha sido considerado como el principal gas causante del calentamiento global por el aumento del efecto invernadero (Universidad de los Andes, 2008). Las influencias del CO₂ en la atmosfera persisten en la atmosfera por varios siglos, la explotación de combustibles fósiles y la producción de cemento entre otros procesos industriales

son los responsables actuales de alrededor del 68% del total de las emisiones globales (UNEP, 2016).

5.1.4 Calentamiento global

El calentamiento global consiste en el aumento inusualmente rápido de la temperatura superficial promedio de la tierra, se ha registrado que la temperatura superficial promedio del planeta aumento de 0,6°C a 0,9°C entre 1906 y 2005, la tasa de aumento de la temperatura se ha duplicado en los últimos 50 años (Riebeek, 2010). El calentamiento global es quizá el principal problema ambiental al cual se ve enfrentada la humanidad, el problema se ha atribuido principalmente a las emisiones de gases de efecto invernadero, de los cuales el CO₂ es considerado como el de mayor impacto en el aumento del efecto invernadero (Barajas A. , 2013).

5.1.4.1 Causas del calentamiento global

Según la IPCC, las actividades humanas son la principal causa del actual calentamiento global (IPCC, 2014), razón por la cual en los últimos 250 años el efecto invernadero natural se ha visto modificado aumentando la concentración en forma exponencial los GEI por las actividades antropogénicas, estas actividades ha aumentado las emisiones de CO₂ en un 38% y las de CH₄ en un 148% desde 1750 hasta 2009 (Riebeek, 2010).

Una de las actividades responsables de las mayores emisiones de metano a la atmosfera es la ganadería, debido a que este gas es un subproducto de la fermentación ruminal el cual se

produce por la actividad de bacterias anaerobias presentes en el rumen (Santacoloma, 2011). Las emisiones globales de CO₂ provienen principalmente de la quema de combustibles fósiles y de la producción de cemento, estas emisiones representan actualmente el 68% del total de las emisiones de GEI y se estima que en 2015 se emitieron a la atmosfera 36,2 GtCO₂ (UNEP, 2016).

5.1.5 Cambio climático

El clima de la tierra varía dependiendo de las estaciones, decenios y siglos como respuesta a las variables naturales y humanas, la variación natural del clima obedece a los ciclos y tendencias de la órbita del planeta, la radiación solar incidente, la composición química de la atmosfera, la biosfera, los océanos y demás factores de influencia. El cambio climático se refiere a los cambios presentados por el estado medio del clima en un periodo de tiempo extenso y puede deberse a factores naturales, sin embargo, la velocidad con la que actualmente se han presentado estos cambios se deben en gran medida a las emisiones de GEI producto de actividades antrópicas, igualmente actividades como la urbanización y la deforestación tienen una influencia sobre esta problemática. Entre el año 2001 y 2010 no se presentaron consecuencias importantes durante los fenómenos del niño ocurridos, periodo que presento una tendencia más inclinada hacia el fenómeno de la niña hasta mediados del 2006, igualmente se mantuvo una oscilación entre estos fenómenos hasta el 2010, estas oscilaciones son de carácter natural, sin embargo, el cambio climático originado por actividades antropogénicas presenta una única tendencia y se manifiesta con el aumento de la temperatura media global modificando el ciclo hidrológico y afectando otras condiciones meteorológicas (OMM, 2013).

5.1.5.1 Consecuencias del cambio climático

El cambio climático es tema de gran preocupación en el sector agropecuario debido a que algunos de sus efectos como las sequías, las heladas, las inundaciones, las oleadas de calor y los cambios en los hábitos de vida de las plagas, ponen en riesgo la seguridad alimentaria y el medio de subsistencia de los productores (Sierra, 2015).

El aumento de las temperaturas también afecta los océanos contribuyendo a la destrucción de los ecosistemas de coral, en los sistemas coralinos de los mares tropicales se ha presentado la decoloración del ecosistema, un ejemplo de esta situación se presentó en la Gran Barrera de Arrecifes en la costa este de Australia. En arrecifes ubicados al norte de la isla de Lizard se registró una mortalidad de hasta el 50% de los corales, en la región de Okinawa Japón se presentó igualmente una decoloración grave de los sistemas coralinos, mientras en la laguna de Sekisei la mortalidad de los corales alcanzo el 70% (OMM, 2017). La extensión del hielo marino también ha mostrado un decrecimiento acelerado principalmente en el Ártico donde se ha presentado una pérdida del $13,3\% \pm 2,6\%$ por decenio desde 1979 hasta 2016, en la Antártida la extensión de hielos marinos han registrado pérdidas del $0,9\% \pm 0,6\%$ por decenio desde 1979 hasta 2016 (OMM, 2017).

La salud humana también se ve afectada por el cambio climático, los fenómenos meteorológicos extremos cobran la vida de miles de personas cada año y deterioran la salud física y mental de millones de personas más. La malnutrición y las enfermedades relacionadas a

este problema son consecuencias directas de las sequias, los ciclones y las inundaciones desencadenan infecciones y causan daños en infraestructuras sanitarias, reduciendo la capacidad operativa de hospitales y otros centros médicos en momentos de crisis. El cambio climático a futuro amenaza con empeorar la problemática de los sistemas de protección social, el suministro de agua y alimentos además de las consecuencias que recaerán sobre los servicios ecosistémicos que son esenciales para el bienestar de la humanidad (OMM, OMS., 2013).

5.2 CO₂ y cambio climático

Aunque las actuales emisiones de CO₂ se han ralentizado un poco gracias a las acciones tomadas por las naciones firmantes del Acuerdo de París, estas siguen en aumento y estadísticamente se prevé un aumento de la temperatura de hasta 3,4 °C, los compromisos actuales no reducirían las emisiones en más de un tercio de lo requerido para el año 2030. La enmienda de Kigali propone una reducción de la temperatura de 0,5°C, pero solo hasta después de 2030 lo cual podría desencadenar desastres como la pérdida de biodiversidad y de recursos naturales. Las constantes emisiones de CO₂ han mostrado comportamientos variables en su tasa de aumento de emisión, para el periodo 2000 a 2010 la tasa de aumento fue del 2,2% anual en comparación con el periodo de 1970 a 2000 el cual fue de 1,3% anual, en 2010 y 2011 tuvo un máximo de 3,5% anual, pero en 2012 y 2013 disminuyó a 1,8% anual (UNEP, 2016).

En periodo 1901 a 2012 un alto porcentaje del planeta ha experimentado un aumento de la temperatura en la superficie, los datos de temperatura calculados a partir de una tendencia lineal muestran un aumento de la temperatura de 0,85°C en el periodo 1880 – 2012, sin embargo, entre 2003 y 2012 ese aumento de temperatura fue un poco inferior registrando 0,78°C (IPCC, 2013).

5.2.1 Evolución de las emisiones de CO₂ a nivel global

Los niveles de CO₂ en la atmosfera actuales son los más altos que se han presentado en por lo menos los últimos 800.000 años. Según el informe Estado del Clima en 2017 de la National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) y la American Meteorological Society (AMS) la cantidad en la que el CO₂ atmosférico aumenta cada año se ha cuadruplicado desde 1960, incrementándose de $0,6 \pm 0,1$ ppm anual en 1960 hasta $2,3 \pm 0,3$ ppm anuales en la última década, siendo el mayor incremento registrado el que se presentó en 2015 y 2016 con un valor de $3,5 \pm 0,1$ ppm anual, registrando una concentración de 405ppm en 2017, el mayor incremento presentado en los últimos 58 años. Este aumento del dióxido de carbono atmosférico en las ultimas 6 décadas es 100 veces más rápido que los aumentos por causas naturales ocurridos al final de la última glaciación hace 11.000 – 17.000 años aproximadamente (Lindsey, 2017).

Cerca de la mitad de las emisiones de CO₂ antropogénicas registradas entre 1750 y 2011 se han generado en los últimos 40 años, a partir de 1970 las emisiones de CO₂ producto de la quema de combustibles y la producción de cemento se han triplicado emitiendo cerca de $34,8 \pm 2,9$ GtCO₂/año, por otro lado la silvicultura y otros usos de la tierra aumentaron en un 40% sus emisiones de CO₂, cerca de $3,3 \pm 2,9$ GtCO₂/año (IPCC, 2014). De igual forma para el periodo 1970 y 2010 las emisiones de CO₂ provenientes de la quema de combustibles fósiles contribuyeron con un 78% en el aumento de las emisiones totales de GEI. Las emisiones de CO₂ provenientes de la quema de combustibles fósiles fueron de aproximadamente $32 \pm 2,7$ GtCO₂/año

en el 2010, incrementándose un 3% entre 2010 y 2011, y un 1 – 2% en el periodo 2011 – 2012 (IPCC, 2014).

5.2.2 Evolución de las emisiones de CO₂ en Colombia

Colombia se ha visto fuertemente afectada por los fenómenos hidrometeorológicos ocurridos en los últimos años, el fenómeno de la Niña en 2010 – 2011 y el fenómeno del Niño 2015 – 2016 dejaron enormes pérdidas ambientales, sociales y económicas para el país, conscientes de la importancia de contar con información relevante acerca de las emisiones de GEI la Tercera Comunicación Nacional ha publicado el inventario de GEI para cada uno de los departamentos del país, siendo fundamental en la toma de decisiones que faciliten la puesta en marcha de programas y proyectos que ayuden a la reducción de las emisiones de GEI asociadas a las diferentes actividades económicas (IDEAM, 2016).

Para conocer cuáles son los GEI y que cantidad se emite a la atmosfera, la comunidad científica internacional junto con el Panel Intergubernamental de Cambio Climático (IPCC), han desarrollado estándares y metodologías para la elaboración de inventarios nacionales de GEI, el IDEAM, como autoridad científica nacional de Cambio Climático tiene la responsabilidad de liderar la elaboración de estos inventarios en el territorio nacional. El inventario nacional y departamental de gases de efecto invernadero ha publicado sus resultados diferenciando 8 sectores económicos del país (IDEAM, 2016).

Los resultados del inventario nacional y departamental de gases de efecto invernadero se publican con base en las emisiones del año 2012, año en el cual las emisiones de GEI fueron de 258,8 Mton CO₂eq, de los cuales el 73,98% correspondía a CO₂, también se revelan los porcentajes de participación de cada sector económico y el total de emisiones del año 1990 y 2012 (IDEAM, 2016).

- Industrias manufactureras 11% (1990 14,7 Mto CO₂eq – 2012 28,5 Mto CO₂eq)
- Agropecuario 26% (1990 46,0 Mto CO₂eq – 2012 66,3 Mto CO₂eq)
- Comercial y residencial 3% (1990 4,5 Mto CO₂eq – 2012 7,2 Mto CO₂eq)
- Forestal 36% (debido a la deforestación) (1990 144,2 Mto CO₂eq – 2012 91,1 Mto CO₂eq)
- Minas y energía 10% (1990 13,7 Mto CO₂eq – 2012 25,4 Mto CO₂eq)
- Saneamiento 4% (1990 3,9 Mto CO₂eq – 2012 9,2 Mto CO₂eq)
- Transporte 11% (1990 18,5 Mto CO₂eq – 2012 28,2 Mto CO₂eq)

5.2.2.1 Estado de las emisiones y absorciones de CO₂ en los departamentos con mayores emisiones de GEI en Colombia

Los inventarios departamentales se realizan con base en los datos del año 2012, en el inventario nacional y departamental de gases de efecto invernadero se observa que los cuatro departamentos con mayores emisiones netas son Caquetá, Meta, Antioquia y Valle del Cauca, se entiende por emisiones netas como el total de emisiones de GEI resultado de la diferencia entre las emisiones totales y las absorciones (emisión total – absorción) (IDEAM, 2016). Se presentan

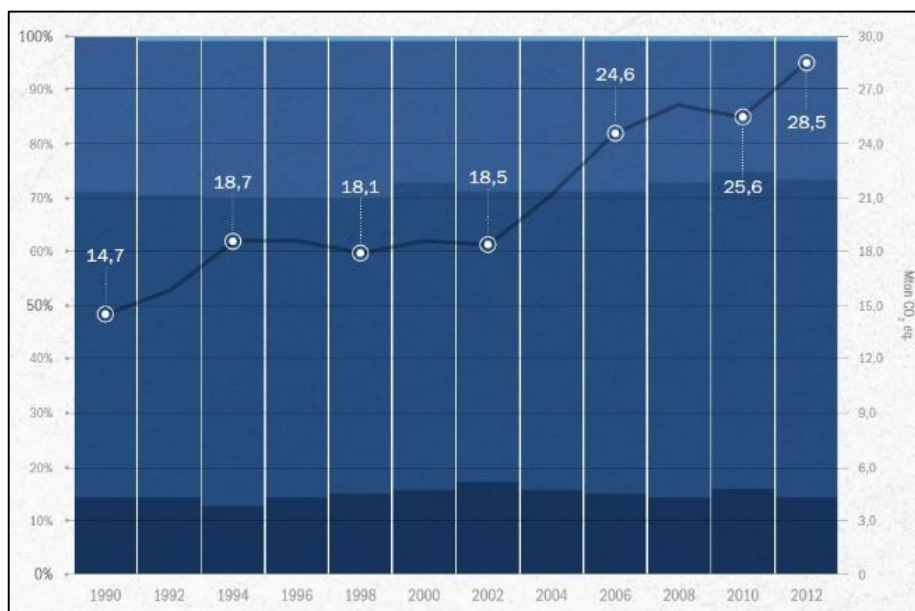
también las emisiones de GEI (Tabla 1) por sector económico en cada uno de los cuatro departamentos.

Tabla 1. Emisiones de GEI por sector económico en los departamentos con más emisiones.

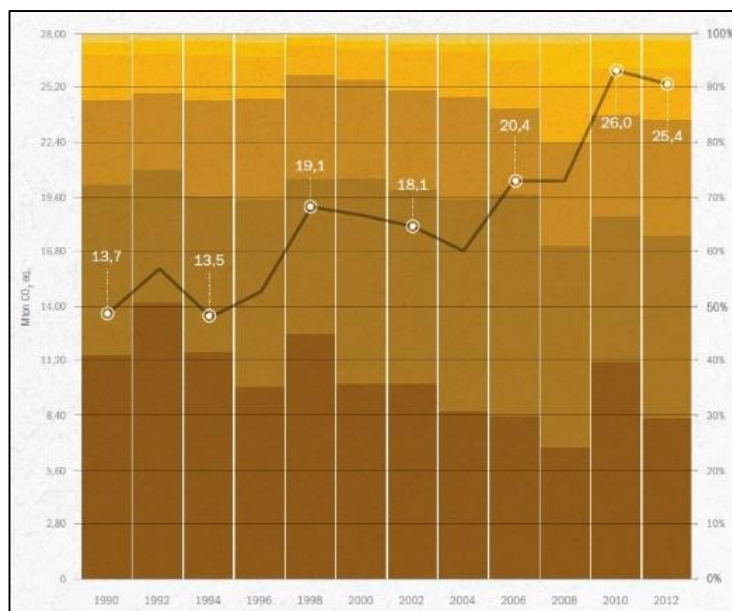
Fuente: Elaboración propia a partir de información obtenida del Inventario Nacional y Departamental de Gases Efecto Invernadero – Colombia, elaborado por el IDEAM en 2016.

	Caquetá	Meta	Antioquia	Valle del Cauca
Industrias manufactureras	0,01MtonCO ₂ eq	0,15MtonCO ₂ eq	5,25MtonCO ₂ eq	6,41MtonCO ₂ eq
Agropecuario	2,29MtonCO ₂ eq	4,49MtonCO ₂ eq	6,11MtonCO ₂ eq	3,84MtonCO ₂ eq
Comercial y residencial	0,07MtonCO ₂ eq	0,12MtonCO ₂ eq	0,85MtonCO ₂ eq	0,63MtonCO ₂ eq
Forestal	17,2MtonCO ₂ eq	13,73MtonCO ₂ eq	5,34MtonCO ₂ eq	1,51MtonCO ₂ eq
Minas y energía	0,01MtonCO ₂ eq	1,67MtonCO ₂ eq	0,48MtonCO ₂ eq	0,08MtonCO ₂ eq
Saneamiento	0,08MtonCO ₂ eq	0,24MtonCO ₂ eq	1,03MtonCO ₂ eq	1,04MtonCO ₂ eq
Transporte	0,2MtonCO ₂ eq	0,84MtonCO ₂ eq	3,88MtonCO ₂ eq	2,99MtonCO ₂ eq

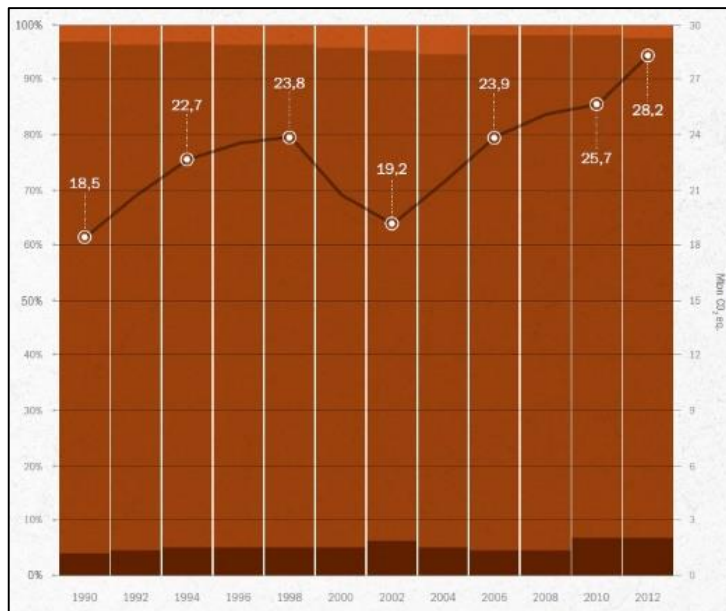
Gráfica 1. Histórico de emisiones y absorciones sector Industrias manufactureras Mton CO₂eq, periodo 1990 – 2012, porcentaje de CO₂ 82,28%. Fuente: (IDEAM, 2016)



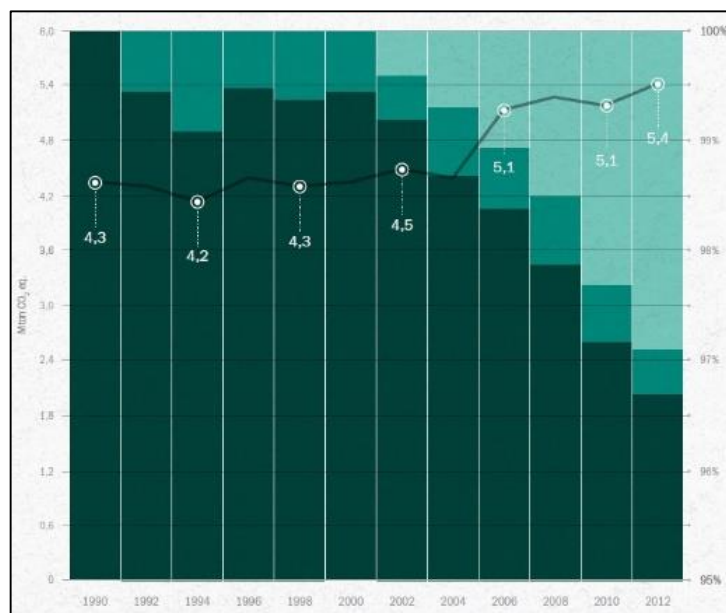
Gráfica 2. Histórico de emisiones y absorciones sector Minas y Energía Mton CO₂eq, periodo 1990 – 2012, porcentaje de CO₂ 73,86%. Fuente: (IDEAM, 2016)



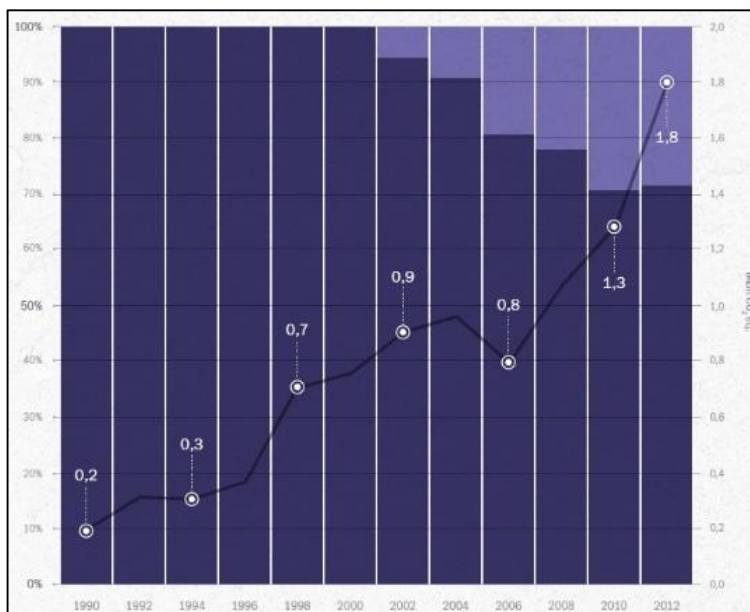
Gráfica 3. Histórico de emisiones y absorciones sector Transporte Mton CO₂eq, periodo 1990 – 2012, porcentaje de CO₂ 97,62%. Fuente: (IDEAM, 2016)



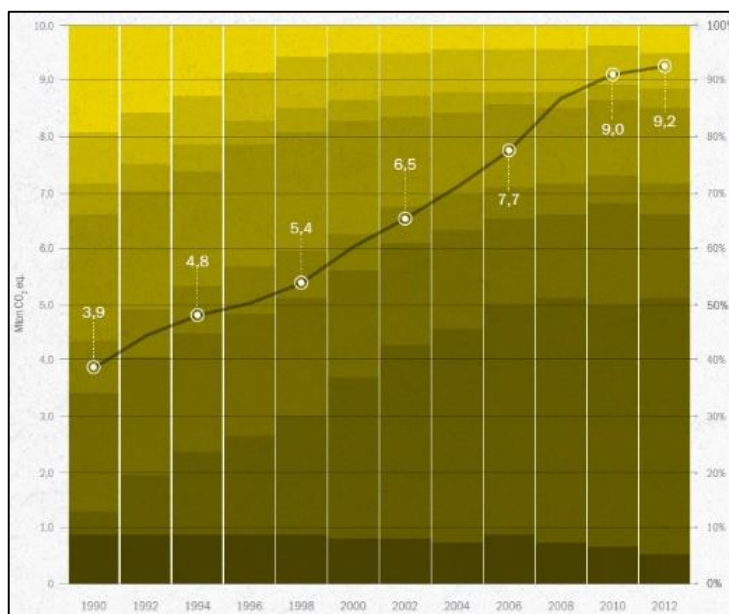
Gráfica 4. Histórico de emisiones y absorciones sector Residencial Mton CO₂eq, periodo 1990 – 2012, porcentaje de CO₂ 65,40%. Fuente: (IDEAM, 2016)



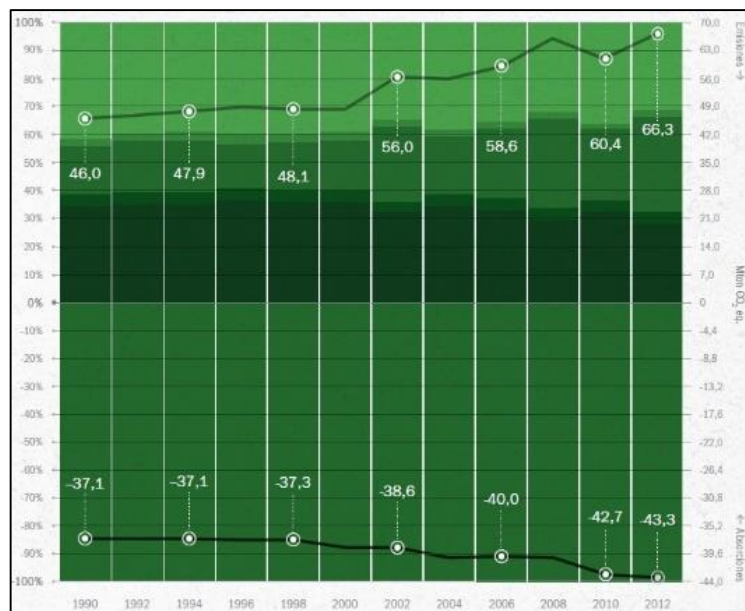
Gráfica 5. Histórico de emisiones y absorciones sector Comercial Mton CO₂eq, periodo 1990 – 2012, porcentaje de CO₂ 87,12%. Fuente: (IDEAM, 2016)



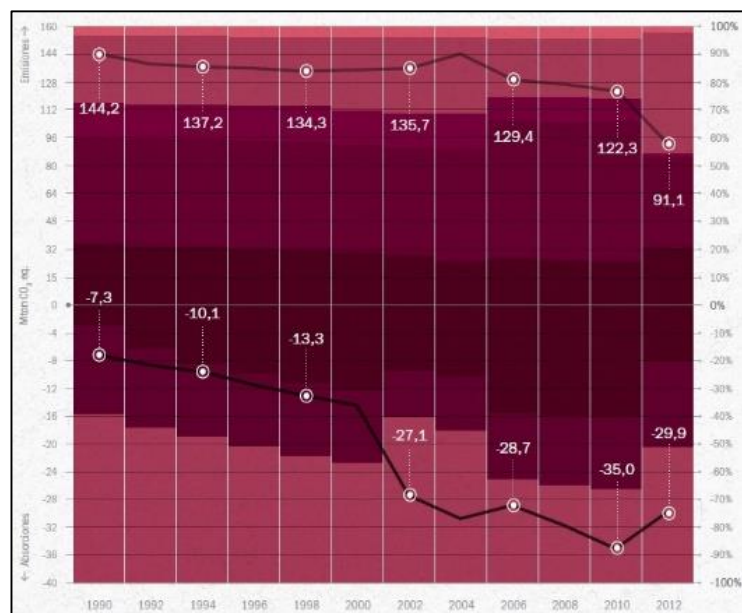
Gráfica 6. Histórico de emisiones y absorciones sector Saneamiento Mton CO₂eq, periodo 1990 – 2012, porcentaje de CO₂ 4,54%. Fuente: (IDEAM, 2016)



Gráfica 7. Histórico de emisiones y absorciones sector Agropecuario Mton CO₂eq, periodo 1990 – 2012, porcentaje de CO₂ 25,22%. Fuente: (IDEAM, 2016)



Gráfica 8. Histórico de emisiones y absorciones sector Forestal Mton CO₂eq, periodo 1990 – 2012, porcentaje de CO₂ 99,58%. Fuente: (IDEAM, 2016)



5.2.2.2 Emisiones y absorciones totales de GEI de los departamentos con mayores niveles de emisión en el país para el año 2012.

Para el 2012 las emisiones de GEI en el departamento del Caquetá fueron 19,84MtonCO₂eq y las absorciones 1,23MtonCO₂eq, el 89,2% correspondían a emisiones de CO₂, las emisiones netas fueron de 18,61MtonCO₂eq y los sectores económicos con mayor participación de las emisiones fueron el forestal y agropecuario, por su parte, en el departamento del Meta las emisiones de GEI fueron 21,24MtonCO₂eq y el nivel de absorciones fue de 3,94MtonCO₂eq, el 80,72% correspondían a emisiones de CO₂, las emisiones netas fueron de 17,3MtonCO₂eq y los sectores económicos con mayor participación de las emisiones fueron los sectores forestal y agropecuario. En el departamento de Antioquia el total de emisiones de GEI fueron 22,94MtonCO₂eq mientras que las absorciones alcanzaron las 9,99MtonCO₂eq, de este total el 69,65% correspondían a emisiones de CO₂, las emisiones netas fueron de 12,95MtonCO₂eq y los sectores económicos con mayor participación de las emisiones fueron las industrias manufactureras, transporte, agropecuario y forestal. Finalmente en el departamento del Valle del Cauca para el 2012 las emisiones de GEI fueron 16,50MtonCO₂eq y las absorciones solo llegaron a unas 4,40MtonCO₂eq, del total de emisiones el 75,10% correspondían a emisiones de CO₂, las emisiones netas fueron de 12,1MtonCO₂eq y los sectores económicos con mayor participación de las emisiones fueron industrias manufactureras, agropecuario y transporte (IDEAM, 2016).

5.2.3 Mitigación del CO₂

Debido a la magnitud de las emisiones actuales de GEI especialmente de CO₂ antropogénico se está apostando al desarrollo de tecnologías que permitan mitigar y reducir estas emisiones, los proyectos desarrollados van desde la implementación de tecnologías más eficientes y de menor consumo energético hasta técnicas para la captura y almacenamiento del CO₂ (González C. A., 2011).

5.2.3.1 Reducción de emisiones y eficiencia energética

Ciertamente las técnicas para la eficiencia energética no están relacionadas con la captura ni el almacenamiento del CO₂, sin embargo, son de gran importancia en la mitigación de las emisiones de CO₂, dentro de estas técnicas se pueden destacar, la eficiencia energética, la cual se define como la relación entre la producción de energía útil u otro producto físico útil que se obtiene por medio de un sistema, un proceso de conversión o una actividad de transmisión o almacenamiento y la cantidad de energía consumida (IPCC, 2011, pág. 167) y las energías alternativas que es considerada una de las estrategias más importantes en la mitigación del cambio climático, implica el uso de energías renovables como la energía hidroeléctrica, geotérmica, eólica y solar (González C. A., 2011). Finalmente esta la forestación, la cual consiste en la conversión directa mediante intervención humana de tierras donde tradicionalmente no han existido bosques, en tierras boscosas mediante plantación, siembra y/o promoción de fuentes de semillas naturales mediante intervención humana” (IPCC, 2011, pág. 162). Los bosques cumplen la función de capturar el CO₂ atmosférico durante su etapa de crecimiento y la lo largo de su

vida, prevenir la deforestación y recuperar suelos donde existían bosques mediante la reforestación permitiría el aumento de la capacidad de captura de CO₂ (González C. A., 2011).

5.2.3.2 Captación y almacenamiento de CO₂

Las técnicas de captura y almacenamiento de CO₂ consisten en el aislamiento de este GEI emitido por fuentes antropogénicas, para posteriormente ser transportado y almacenado evitando su liberación a la atmósfera. Las técnicas para la captura del CO₂ son principalmente tres y estas consisten en:

Captura previa a la combustión. Se procesa el combustible primario con vapor y aire dentro de un reactor produciendo un gas de síntesis que consiste en una mezcla de monóxido de carbono e hidrógeno, en un segundo reactor reaccionan el monóxido de carbono y el vapor generando CO₂ e hidrógeno extra, posteriormente el CO₂ es separado del flujo gaseoso y almacenado (IPCC, 2005).

Captura postcombustión. El CO₂ generado durante el proceso de combustión es separado del flujo de gases por sistemas como membranas, sorbentes sólidos, líquido iónicos, soluciones acuosas de aminas entre otros (González C. A., 2011).

Combustión oxígeno – gas. El proceso de combustión utiliza oxígeno con una pureza superior al 95% en lugar de aire, el gas de combustión generado se compone principalmente de

vapor de agua y CO₂ facilitando la separación del CO₂ debido a su alta concentración (IPCC, 2005).

Una vez el CO₂ es capturado se procede a su almacenamiento, la principal técnica para el almacenamiento de CO₂ es el almacenamiento geológico el cual consiste en inyectar el CO₂ en los yacimientos de petróleo y gas, al interior de formaciones salinas profundas y en capas de carbón consideradas inexplotables (González C. A., 2011). El CO₂ también se almacena al interior del océano inyectándolo y disolviéndolo a una profundidad mayor a los 1000 metros mediante un sistema de gaseoducto, sin embargo, a pesar de ofrecer una gran capacidad de almacenamiento, esta técnica fue rechazada por la Convención del Londres de 1972 debido a que la presencia de CO₂ en dichas concentraciones podría alterar el ecosistema (González C. A., 2011). La carbonatación mineral consiste en la producción de carbonatos estables mediante la reacción del CO₂ con óxidos metálicos, sin embargo, su reacción es muy lenta y tiene un consumo energético alto, además generaría un impacto ambiental considerable debido a los requerimientos minerales y la generación de productos inutilizables (González C. A., 2011).

El CO₂ capturado también puede ser utilizado en diferentes procesos industriales como la producción de urea y metanol, en la horticultura, refrigeración, envasado de alimentos, soldadura entre otros, también es utilizado en la extracción mejorada de petróleo aumentando la producción del mismo, actualmente el CO₂ se usa para la generación de biocombustibles mediante la conversión fotosintética, este proceso utiliza la energía proveniente del sol para fijar el CO₂ y transformarlo en biomasa y oxígeno. Aunque los árboles y otras plantas pueden cultivarse con este fin su eficiencia no es lo suficientemente rentable debido a que el transporte de la biomasa a

distancias superiores a los 50km generaría emisiones de CO₂ superiores al fijado en la biomasa, es por esto que el uso de las microalgas (microorganismos fotosintéticos) ofrece un gran potencial tanto para la producción de biocombustibles como para la captura y fijación de CO₂ ya que su tasa de crecimiento es mucho mayor a la de las plantas superiores y su capacidad de fijación de CO₂ es igualmente superior (González C. A., 2011).

5.3 Microalgas y fijación de CO₂

Todas las fuentes hídricas del mundo incluso las áreas heladas, albergan una gran diversidad de microorganismos que pueden usar la luz como fuente única de energía para la realización de sus procesos metabólicos, las algas son organismos similares a las plantas y en su gran mayoría realizan fotosíntesis para la conversión del CO₂ en azúcares y oxígeno, contribuyendo a su producción en más de un 50%, su tamaño es muy variable y puede ir desde unos pocos micrómetros (microalgas) hasta varios metros de longitud (macroalgas) (Enzing, 2014).

Se estima que la cantidad de especies de algas existentes va de uno hasta los diez millones, siendo las microalgas las que poseen la mayor cantidad de especies. La clasificación de las algas no es fácil debido a que su taxonomía se encuentra en constante revisión, sin embargo, un esquema de su clasificación sugiere dos grandes grupos, el de las procariotas que a su vez contiene dos divisiones: *Cyanophyta* y *Prochlorophyta*, y el grupo de las eucariotas que contiene nueve divisiones: *Glaucophyta*, *Rhodophyta*, *Heterokontophyta*, *Haptophyta*, *Cryptophyta*, *Dinophyta*, *Euglenophyta*, *Chlorarachniophyta* y *Clorophyta* (Barsanti, 2006).

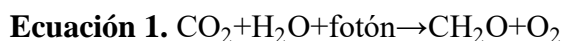
Las microalgas procariotas son aquellas que carecen de plástidos, mitocondrias, núcleo, cuerpos de Golgi y flagelos, dentro de este grupo se encuentran las cianobacterias, por su parte las microalgas eucariotas poseen orgánulos rodeados por una pared celular y una membrana plasmática la cual es responsable del flujo de sustancias en el protoplasma, posee flagelos que le permiten impulsarse a través del medio, su núcleo contiene el material genético y está protegido por una doble membrana. Los cloroplastos poseen una unidad estructural denominada *tilacoide* la cual se encarga de llevar a cabo las reacciones de la fotosíntesis en la fase lumínica, estos se encuentran ubicados en el estroma, lugar donde ocurren las reacciones oscuras de la fijación del carbono (Lee, 2008).

Gran parte de los grupos de microalgas son organismos autótrofos y dependen de la luz solar como fuente de energía y del CO₂ como fuente de carbono para suplir sus necesidades metabólicas a través de la fotosíntesis, también existen especies heterotróficas las cuales pueden obtener carbono orgánico del medio externo por medio de sustancias disueltas o consumiendo bacterias y otras células por fagotrofia, sin embargo, las microalgas usan un complejo sistema de estrategias nutricionales en el cual utilizan tanto la fotoautotrofia como la heterotrofia, por un lado la fijación fotosintética del carbono y el uso de nutrientes como el nitrógeno, fósforo y hierro, además de vitaminas, aminoácidos esenciales y ácidos grasos esenciales contribuyen a un crecimiento óptimo en ambientes extremos con recursos limitados, por su parte la heterotrofia permite la obtención de carbono cuando la luz es limitada permitiendo un sostenimiento de la microalga en situaciones extremas, tanto de escases de alimento como de escases de luz solar (Barsanti, 2006).

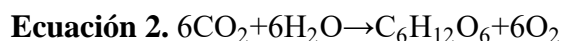
5.3.1 Fijación del CO₂ a través de la fotosíntesis en microalgas

La fotosíntesis es el proceso mediante el cual los organismos fotótrofos convierten la energía capturada de los fotones de la luz en energía bioquímicamente utilizable. Tanto algas como plantas utilizan el rango de luz visible al ojo humano el cual está entre los 400 y 700nm (González C. S., 2014).

Las microalgas por ser organismos fotótrofos requieren de la energía de la luz para sus procesos metabólicos y crecimiento a través del proceso fotosintético, siendo la fotosíntesis el proceso más importante para el metabolismo de las microalgas. Estas usan la energía lumínica para metabolizar el CO₂ y transformarlo en formaldehído CH₂O liberando como residuo el oxígeno molecular O₂. Las moléculas de CH₂O forman bloques que están a cargo de la formación de las moléculas de glucosa en las microalgas, el proceso fotosintético se describe a través de la siguiente ecuación universal (Benavente, 2012).



En la ecuación 1 el CO₂ es metabolizado a compuestos orgánicos usando la luz como fuente de energía, en la ecuación 2 se representa de forma general el proceso.



El proceso fotosintético contiene dos grupos de reacciones, el primer grupo se refiere a las *reacciones dependientes de la luz*, estas reacciones son absorción y transferencia de la energía de los fotones, atrapamiento de la energía y generación de un potencial químico resultante en forma de Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido-Fosfato (NADPH) y Adenosín Trifosfato (ATP), durante estas reacciones se lleva a cabo la oxidación fotoquímica de la molécula de agua H₂O liberando el oxígeno como subproducto de la división de la molécula. Estas reacciones tienen lugar en las membranas de los *Tilacoides* que contiene los complejos *Cromóforo – Proteína*, se trata de una estructura poco rígida y altamente dinámica donde el patrón espacial de sus componentes puede cambiar rápidamente (Barsanti, 2006).

El segundo grupo son las *reacciones independientes de la luz*, en esta etapa del proceso los productos de las reacciones anteriores NADPH y ATP son utilizados para la fijación del CO₂ en carbohidratos, en las algas eucariotas este proceso se da a cabo en el estroma del cloroplasto mientras en las algas procariotas se en el citoplasma, aunque estas reacciones son independientes de la luz no ocurren en ausencia de la misma sino de forma simultánea y se conocen comúnmente como Ciclo de Calvin (Ciclo Calvin Benson Bassham) (Barsanti, 2006).

5.3.1.1 Ciclo Calvin Benson Bassham

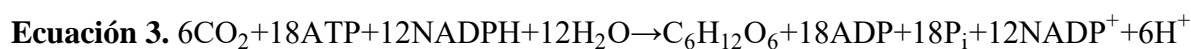
El ciclo de Calvin ocurre en tres procesos conocidos como carboxilación, reducción y regeneración que se describen a continuación:

Carboxilación. Una molécula de CO₂ se adiciona a una molécula de bifosfato de ribulosa (RuBP) la cual hace de “acceptora” esta reacción se cataliza por la encima ribulosa-1,5-bisfosfato

carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO), esta proteína es muy abundante y las plantas invierten una gran cantidad de nitrógeno en su fabricación, esta reacción da como resultado la producción de dos moléculas idénticas que son el 3 – fosfoglicerato (3 – PG), con esto el carbono queda fijado en un producto orgánico pero aún no posee energía (Barsanti, 2006).

Reducción. El 3 – fosfoglicerato es reducido a nivel de carbohidratos simples, el ATP reduce el 3 – PG para formar la molécula de 1, 3 – bifosfoglicerato (1,3 - BPG), posteriormente el NADPH reduce el 1,3 – BPG para formar gliceraldehído – 3 – fosfatos (G3P), durante este proceso se generan como subproductos las moléculas NADP^+ y ADP que luego regresan al tilacoides para regenerar el NADPH y ATP en las reacciones dependientes de la luz (Barsanti, 2006).

Regeneración. Es la etapa final del ciclo de Calvin en la cual se regenera la molécula aceptora de CO_2 RuBP mediante la acción enzimática de Triosa Fosfato que sintetiza y fosforila la molécula de Ru5P volviéndola a su estado de bifosfato de ribulosa. El Triosa Fosfato producido durante el ciclo de Calvin se convierte en almidón durante su permanencia en el cloroplasto, también puede ser liberado en el cloroplasto convirtiéndose en carbohidratos dentro del citoplasma, ambas reacciones son precursoras de la formación de ATP. Finalmente, este ciclo se repite 6 veces para la formación una mol de hexosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) en un balance de energía que puede expresarse de la siguiente forma (Barsanti, 2006).



5.3.2 Usos y aplicaciones de las microalgas

Las microalgas en tiempos pasados fueron las responsables de la reducción del CO₂ transformándolo en rocas cálcicas, diatomeas e incluso en los hidrocarburos que actualmente son utilizados, actualmente son las responsables de la producción de la mayor parte de oxígeno en el planeta además de ser la base de la cadena alimentaria del ecosistema acuático convirtiéndose en pieza fundamental de la sostenibilidad de planeta, y debido a que son fijadoras de CO₂, estas contribuyen a la reducción de los GEI (Acien, 2017).

Gracias a la capacidad que poseen las microalgas para producir biomasa y su composición rica en aminoácidos esenciales, lípidos y ácidos grasos de alto valor, la industria ha fijado especial atención en la producción de estos microorganismos. En 1950 se reportaron las primeras actividades productivas de microalgas en fotobiorreactores tubulares, más tarde se iniciaron los cultivos en canales principalmente para el tratamiento de aguas residuales, los canales para el cultivo de microalgas han sido utilizados desde 1970 para la producción masiva de *Spirulina* y *Dunaliella* como fuente de beta-caroteno, actualmente los fotobiorreactores tubulares y los canales son los sistemas más utilizados para la producción de microalgas, igualmente las cepas de *Spirulina*, *Dunaliella* y *Chlorella* las cuales tienen una producción anual de unas 20,000 T/año de biomasa (Acien, 2017).

Una de las aplicaciones de las microalgas de más alto valor está relacionada con la producción de alimentos para consumo humano directo como los nutraceuticos, cosméticos y productos farmacéuticos, debido a su alto contenido de proteínas, lípidos, carbohidratos,

carotenos, antioxidantes entre otras propiedades, las microalgas son consideradas como un súper alimento. Además de las propiedades nutricionales que poseen las microalgas, estas también son consideradas como una fuente sostenible de alimentos no solo por tener propiedades nutricionales mayores a otros alimentos como los cereales y vegetales, sino por su facilidad de cultivo y adaptación ya que no requieren grandes extensiones de tierra y su cultivo se puede desarrollar terrenos que no son aptos para la agricultura, lo que reduce el riesgo de inseguridad alimentaria (Acien, 2017).

Dentro de las múltiples aplicaciones de las microalgas se encuentra la producción de biocombustibles y biofertilizantes, acopladas al tratamiento de aguas residuales con el objetivo de que sean producciones sostenibles. La alta generación de aguas residuales se ha convertido en un problema crucial que amenaza la salubridad de la población, igualmente las aguas residuales no tratadas causan graves problemas como la eutrofización de los ecosistemas acuáticos, los actuales sistemas de tratamiento de aguas residuales tienen un alto consumo de energía lo cual repercute en grandes emisiones de GEI como CO₂, nitrógeno y fósforo a la atmósfera, la cantidad de estas sustancias emitidas pueden ser utilizadas en la producción de biomasa microalgal al realizar el tratamiento de las aguas residuales con microalgas, esto permite reducir los costos de tratamiento y las emisiones atmosféricas. Las microalgas pueden ser utilizadas en consorcios bacterianos ya que estas producen el oxígeno requerido por las bacterias para degradar la materia orgánica en carbono inorgánico, nitrógeno y fósforo, estos elementos son asimilados por las microalgas para la producción de biomasa microalgal la cual tiene un gran valor comercial (Acien, 2017).

5.3.3 Requerimientos para el cultivo de microalgas

En el cultivo de las microalgas existen algunas variables que pueden afectar su crecimiento, para un resultado óptimo en el crecimiento de las microalgas es importante determinar unas condiciones ideales de cultivo ya que es conocido que la tasa de crecimiento para un mismo género de microalga puede cambiar de acuerdo a su lugar de origen (Benavente, 2012). Algunos de los factores que mayor incidencia tienen en el cultivo de las microalgas son los siguientes:

Luz. Es el factor más importante para el crecimiento de las microalgas, en los sistemas de cultivo puede usarse tanto luz natural como artificial, los sistemas de canales abiertos comúnmente usan luz natural aprovechando la amplia superficie que poseen para captar una gran cantidad de radiación solar. Conforme aumenta la intensidad de luz también se incrementa el crecimiento de las microalgas, sin embargo, cuando se llega al punto máximo de crecimiento este se detiene debido a la fotoinhibición. La luz artificial debe encontrarse en un rango de longitud de onda de 600 a 700nm para que pueda ser de utilidad, siendo los LED tipo AllnGap II una de las fuentes de luz artificial más eficientes y económicas (Benavente, 2012).

Nutrientes. Para los cultivos de microalgas la fuente de carbono más utilizada es el CO₂, gracias a la capacidad de estos microorganismos para sobrevivir a altas concentraciones de CO₂ los contaminantes atmosféricos como el dióxido de nitrógeno y otros GEI pueden ser nutrientes suficientes para un desarrollo apropiado (Benavente, 2012). Después del CO₂ el nitrógeno es el nutriente más importante ya que este influye de forma directa en la producción de lípidos, pero

cuando el nitrógeno se convierte en una limitante del crecimiento se pueden obtener acumulaciones más altas de lípidos, sin embargo, esto afecta la producción de la microalgas siendo una estrategia contraproducente (Pérez, 2014).

En otras investigaciones realizadas se ha demostrado que el uso de fertilizantes comerciales favorece el crecimiento de las microalgas en un porcentaje mayor al crecimiento que se da en medios de cultivo específicos como el medio f/2 entre otros, igualmente favorece el cultivo a escala industrial ya que el costo de los fertilizantes comerciales es mucho menor al de los medios de cultivo específicos (Muñoz, 2012).

Temperatura. La temperatura es un factor ambiental de gran importancia ya que esta puede afectar el desarrollo y crecimiento de las microalgas, siempre se debe conocer cuál es el valor ideal de temperatura según la especie de microalga y su procedencia. Los sistemas fotosintéticos tienen una tasa de conversión de la luz roja a energía química de un 31% la energía restante es liberada en forma de calor debido a eso el enfriamiento en un sistema de cultivo dependerá de la concentración microalgal y la cantidad de luz suministrada, sin embargo, el enfriamiento es utilizado solo en sistemas de cultivo cerrados (Benavente, 2012). La producción de biomasa microalgal aumenta con proporción a la temperatura y cada especie posee su rango óptimo de temperatura, por encima del rango óptimo se incrementa la fotorrespiración y esta disminuye la producción, el rango óptimo de temperatura para muchas esta entre los 28°C y 35°C (Pérez, 2014).

pH. Los requerimientos de pH en los cultivos de microalgas varían según la especie. La mayoría de las especies de microalgas se desarrollan en un rango de pH entre 7 y 9 con un óptimo de 8,2 a 8,7, estos valores pueden ser mantenidos mediante una mezcla de aire y CO₂ ya que además de funcionar como nutriente también corrige el pH evitando un aumento que supere el valor de 9 (Benavente, 2012). El pH puede controlarse mediante la inyección de CO₂ o con la dosificación de algún ácido o base, sin embargo, la dosificación de CO₂, aunque puede ser un costo relativamente alto en la producción comercial se ha estudiado la posibilidad de realizar un trabajo conjunto entre los cultivos comerciales de microalgas y las fuentes generadoras de CO₂ e incluso en fuentes productoras de biogás (Pérez, 2014).

5.4 Sistemas para el cultivo de microalgas

En la producción a gran escala de microalgas existen dos sistemas básicos, los sistemas abiertos y los sistemas cerrados. La elección del sistema de cultivo más adecuado para las microalgas depende del producto que se desee obtener a partir de la biomasa microalgas recolectada, es así como el diseño del sistema de cultivo se realiza con base en diferentes criterios como la biología de la especie, las necesidades nutricionales y lumínicas, la superficie iluminada respecto al volumen del sistema del cultivo, orientación y ubicación del sistema, estos criterios determinarán la velocidad de crecimiento además de la implicación de los costos de construcción y operación cuando se trata de cultivos con fines comerciales (Pérez, 2014).

5.4.1 sistemas abiertos

Es el sistema más comúnmente utilizado, cuenta con diferentes diseños, pero el más utilizado es el *Raceway* (Imagen 1) que consiste en un estanque alargado con un muro que lo atraviesa a lo largo generando así dos canales, la profundidad varia de 15 a 30 cm, en uno de los lados cuenta con un sistema de paletas rotatorias el cual mantiene el cultivo en movimiento. La principal ventaja de este sistema es su rentabilidad y el bajo costo de construcción y operación, igualmente ofrece la posibilidad de realizar tratamiento de aguas residuales disminuyendo también los costos en requerimientos nutricionales de las microalgas, sin embargo, también tiene desventajas significativas como la evaporación, la necesidad de una superficie de tierra bastante amplia y principalmente la exposición a la contaminación y el riesgo de la pérdida del cultivo debido al plancton pastoreador (Pérez, 2014).

Imagen 1. Sistema de cultivo abierto tipo Raceway. Fuente: (AlgaeIndustryMagazine.com, 2017)



5.4.2 Sistemas cerrados

Este tipo de sistemas surgió de la necesidad de corregir las falencias de los sistemas abiertos. Los diseños son variados pero incluyen básicamente dos tipos, los fotobiorreactores de placas o planos cuya agitación se realiza mediante burbujeo, y los fotobiorreactores tubulares sean verticales u horizontales (Imagen 2), cuya agitación se realiza mediante burbujeo o mediante el impulso de bombas (Pérez, 2014).

Los fotobiorreactores cerrados permiten mantener un control estable de los parámetros más importantes, igualmente disminuyen considerablemente la contaminación del cultivo y la pérdida del mismo por la acción del plancton pastoreador, permiten producir cultivos con una concentración muy superior a la de los sistemas abiertos, en este caso los cultivos pueden alcanzar concentraciones de hasta 80g/L (ultra alta densidad) mientras los sistemas abiertos solo llegan a unos 0,7g/L (Pérez, 2014).

Imagen 2. Sistema de cultivo cerrado tubular. Fuente: (AlgaeIndustryMagazine.com, 2017)



6. MATERIALES Y METODOLOGÍA

6.1 Localización

El montaje de los fotobiorreactores para el cultivo de microalgas fue realizado en el barrio la independencia ubicado en la ciudad de Cali, las coordenadas del lugar son $3^{\circ}25'0.52''\text{N}$ - $76^{\circ}31'11.40''\text{O}$, el sitio del montaje está ubicado a una altura de 956 m.s.n.m. y una temperatura promedio anual de $24,0^{\circ}\text{C}$.

6.2 Adquisición de cepas de microalgas

Para los tratamientos de crecimiento y captura de CO_2 de las dos especies de microalgas en diferentes fotoperiodos, se usaron las cepas *Chlorella vulgaris* CV-2714A y *Scenedesmus obliquus* SOB-001, provenientes de la empresa NUTRE S.A.S localizada en Bogotá.

6.3 Mantenimiento de las cepas

Las cepas originales fueron mantenidas en un volumen de 100mL de medio de cultivo Bristol proporcionado por la empresa NUTRE S.A.S cuya composición en gramos por litro de agua destilada (g · L⁻¹ dH₂O) es: $\text{NaNO}_3(25)$, $\text{CaCl}_2(2,5)$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}(7,5)$, $\text{K}_2\text{HPO}_4(7,5)$, $\text{KH}_2\text{PO}_4(17,5)$, $\text{NaCl}(2,5)$, EDTA (50), KOH (31), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (4,89), H_3BO_3 (11,42), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (8,82), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (1,44), MoO_3 (0,71), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (1,57), $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,49) (Andersen, 2005).

Las cepas para los tratamientos fueron mantenidas en dos medios de cultivo diferentes, preparados con los fertilizantes comerciales nitrato de potasio 13-0-43 (KNO_3), TODO EN UNO (Urea 42,5% más elementos menores) y FOSFACEL 53%, para la cepa de *S. obliquus*. Se usó como fuente de nitrógeno complementaria el fertilizante Nitrox-S (28% N) el cual no contiene Urea ya que en ensayos previos este compuesto tuvo efectos negativos sobre la especie. Se usaron botellas plásticas de 4L esterilizadas con peróxido de hidrogeno a una concentración del 3%, con un volumen de cultivo de 3,8L e iluminación artificial por medio de una lámpara fluorescente de 28W para el establecimiento del inoculo inicial que posteriormente fue transferido a los fotobiorreactores.

6.4 Preparación de los medios de cultivo artificiales

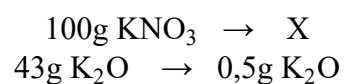
Los medios de cultivo que se utilizaron durante el escalado de las cepas y los tratamientos de crecimiento y captura de CO_2 fueron elaborados con una mezcla de fertilizantes comerciales para uso agrícola. Para la especie *C. vulgaris*. se usó nitrato de potasio 13-0-43 (KNO_3), TODO EN UNO (Urea 42,5% más elementos menores) como fuente de nitrógeno y FOSFACEL 800 (N 20% y P 53%). Para la cepa de *S. obliquus*. se utilizó el fertilizante Nitrox-S (28% N) como fuente de nitrógeno, y los elementos menores fueron obtenidos del fertilizante TODO EN UNO mediante una dilución parcial y posterior filtración.

La concentración de nutrientes que se usó en los medios de cultivo preparados fue de 0,8g/L de N total, 0,5g/L de K_2O y 0,5g/L de P_2O_5 , para obtener estas concentraciones se tuvo en cuenta la respectiva concentración porcentual de cada sustancia y por medio de una regla de tres

se determinó la cantidad en gramos a utilizar de cada sustancia para lograr la concentración final deseada, los cálculos para cada nutriente fueron los siguientes:

6.4.1 Medio de cultivo para *Chlorella Vulgaris*.

Nitrato de potasio

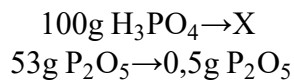


$$X = \frac{100\text{g KNO}_3 * 0,5\text{g K}_2\text{O}}{43\text{g K}_2\text{O}}$$

$$X = 1,16\text{g KNO}_3$$

Para obtener 0,5g de K₂O se necesitaron 1,16g de KNO₃ cuya concentración es del 43%, igualmente se obtuvieron 0,15g de N total teniendo en cuenta que este fertilizante contiene un 13% de N.

Fosfacel 800



$$X = \frac{100\text{g H}_3\text{PO}_4 * 0,5\text{g P}_2\text{O}_5}{53\text{g P}_2\text{O}_5}$$

$$X = 0,94\text{g P}_2\text{O}_5$$

Para obtener 0,5g de P₂O₅ se necesitaron 0,94g de Fosfacel. igualmente se obtuvieron 0,19g de N total teniendo en cuenta que este fertilizante contiene un 20% de N.

Todo en uno

Para obtener los 0,8g de N hizo falta completar con 0,46g N total ya que con los fertilizantes anteriores se obtuvo 0,34g en total.

$$\begin{array}{l}
 100\text{g} \rightarrow X \\
 42,5\text{g N total} \rightarrow 0,46\text{g N total} \\
 X = \frac{100\text{g Todo en uno} * 0,46\text{g N total}}{42,5\text{g N total}}
 \end{array}$$

$$X = 1,08\text{g de Todo en uno}$$

6.4.2 Medio de cultivo para *Scenedesmus Obliquus*.

Para la preparación del medio del cultivo de *S. Obliquus*. se usó el Nitrato de Potasio y el FOSCAEL 800 en las mismas cantidades que se usó para el medio de cultivo de *C. Vulgaris*, y se substituyó el TODO EN UNO por Nitrox-S como fuente de nitrógeno. Los elementos menores se tomaron del fertilizante TODO EN UNO mediante una dilución parcial para obtenerlos de la superficie de la Urea, la cual estaba impregnada con una solución de micronutrientes quelatados.

Nitrax-S

Para obtener los 0,8g de N hizo falta completar con 0,46g N total ya que con los fertilizantes Nitrato de Potasio y el FOSCAEL 800 se obtuvo 0,34g en total.

$$\begin{array}{l}
 100\text{g} \rightarrow X \\
 28\text{g N total} \rightarrow 0,46\text{g N total} \\
 X = \frac{100\text{g Nitrax-S} * 0,46\text{g N total}}{28\text{g N total}}
 \end{array}$$

$$X = 1,64\text{g de Nitrax-S}$$

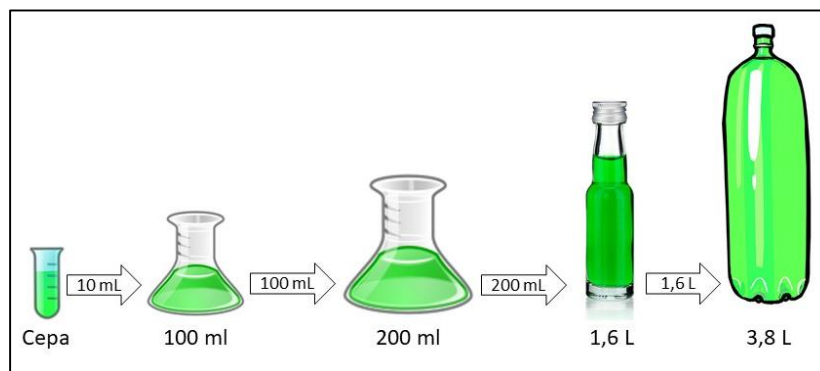
La preparación de los medios de cultivo se hizo con agua proveniente del sistema de acueducto de la ciudad del Cali y fertilizantes comerciales con el objetivo de simular condiciones reales que podrían presentarse a escala industrial. La esterilización del medio de cultivo se realizó con la dosificación de 1mL de hipoclorito de sodio al 5% por cada litro de agua y se dejó reposar durante 24 horas, posteriormente se agregaron 0,25 g de hiposulfito de sodio por cada litro de agua para neutralizar el cloro presente. Una vez removido el cloro del agua se dosificaron los nutrientes uno por uno agitando hasta disolver, finalmente se sometió el medio de cultivo ya preparado a un periodo de exposición de 4 horas con luz UV proveniente de una lámpara germicida LUMEK de 15W.

6.5 Escalado de las cepas

El escalado de las cepas se realizó tomando 20mL de cada una de las cepas originales e introduciéndola inicialmente en 80mL del medio de cultivo artificial preparado para un volumen total de 100mL de cultivo por cada cepa, este primer inóculo se expuso a iluminación artificial por medio de una lámpara fluorescente SYLVANIA de 28W y agitación manual durante 5 segundos 5 veces al día por un periodo de 8 días, posteriormente se adicionaron 100mL de medio de cultivo artificial preparado hasta completar los 200mL del inóculo, el cual se dejó nuevamente con iluminación artificial por medio de una lámpara fluorescente SYLVANIA de 28W y agitación manual durante 5 segundos 5 veces al día por un periodo de 12 días en el cual se pudo observar un buen crecimiento de las microalgas para la obtención del inóculo pre inicial.

Para el escalado de los inóculos pre iniciales se tomaron los 200mL de cultivo elaborado anteriormente y se agregaron 1,6L de medio de cultivo artificial preparado, adicionalmente se introdujo aire mediante una bomba aireadora para evitar el asentamiento de las microalgas y favorecer el desarrollo. Pasados 15 días se transfirieron los 1,8L de cultivo a un recipiente de 4L y se adicionaron 2L de medio de cultivo artificial preparado para obtener un total de 3,8L de la cepa inicial con la cual se inocularon los fotobiorreactores en los que se realizaron los tratamientos de crecimiento y captura de CO₂ (Imagen 3). Finalmente se conservaron las cepas originales en el medio de cultivo Bristol proporcionados por la empresa NUTRE S.A.S.

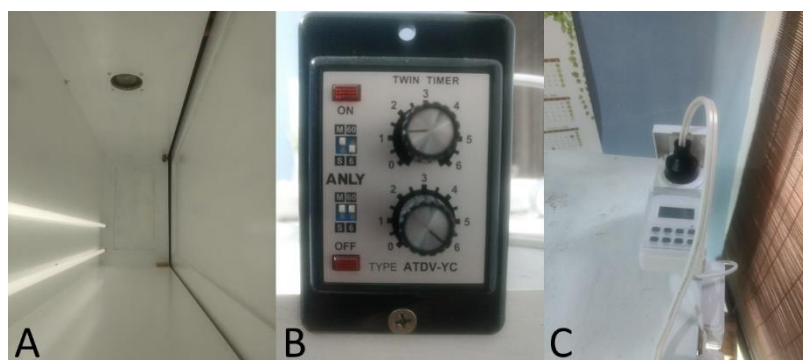
Imagen 3. Esquema del escalado de las cepas. Fuente: El autor



6.6 Montaje del sistema de cultivo experimental

Para la puesta en marcha de los tratamientos se elaboró una cámara de cultivo con las siguientes dimensiones: largo (130cm), fondo (30cm) y alto (50cm), en la cámara de cultivo se incorporó un extractor de aire, iluminación artificial y un sistema con dos temporizadores para el manejo automático del fotoperiodo y la dosificación de aire y CO₂ (Imagen 4).

Imagen 4. Montaje del sistema de cultivo experimental. A) Cámara de cultivo. B) Temporizador cíclico para la dosificación de aire y CO₂. C) Temporizador programable para el control del fotoperiodo. Fuente: El autor



Para los fotobiorreactores se usaron botellas plásticas transparentes de 4L con 3,8L de volumen de cultivo (Imagen 5), el cultivo se hizo por triplicado para cada una de las especies de microalgas en cada uno de los tratamientos. Los fotobiorreactores fueron alimentados de manera alternada por un sistema de inyección de aire con un flujo de 0,7L/min y con CO₂ proveniente de un cilindro a un flujo de 0,15L/min, el suministro de CO₂ del cilindro fue suspendido durante la fase oscura del fotoperiodo mediante el uso de un temporizador programado.

Imagen 5. Fotobiorreactores, capacidad 4 L, ingreso de aire y CO₂ desde el fondo con piedra difusora. Fuente: El autor



El sistema de inyección de aire y CO₂ (Imagen 6) se realizó mediante un sistema de cámaras de mezcla, cada fotobiorreactor contó con una bomba aireadora y una cámara de mezcla la cual posee dos entradas, cada una con una válvula antirretorno, una para el aire proveniente de la bomba aireadora y la otra para el CO₂ proveniente del cilindro. El CO₂ fue dosificado en cada una de las cámaras de mezcla mediante una flauta de distribución que cuenta con 6 salidas y cada salida tuvo adaptada una válvula estranguladora la cual permitió regular el flujo del gas, por otro lado el aire atmosférico fue dosificado mediante una bomba aireadora de uso en acuariofilia y

contó con una válvula de tres vías con la cual se reguló el flujo de aire, la salida de las cámaras se encuentra de forma perpendicular a las entradas, la cual se conecta directamente a la entrada de cada fotobiorreactor (Imagen 7). El flujo dosificado de cada gas fue graduado y verificado mediante un flujómetro para aire.

Imagen 6. Esquema general del montaje. Fuente: El autor

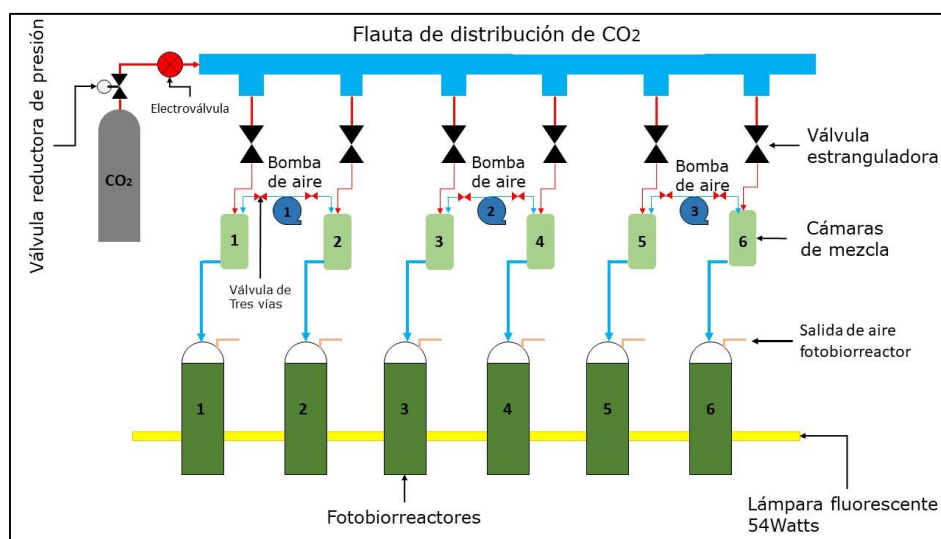
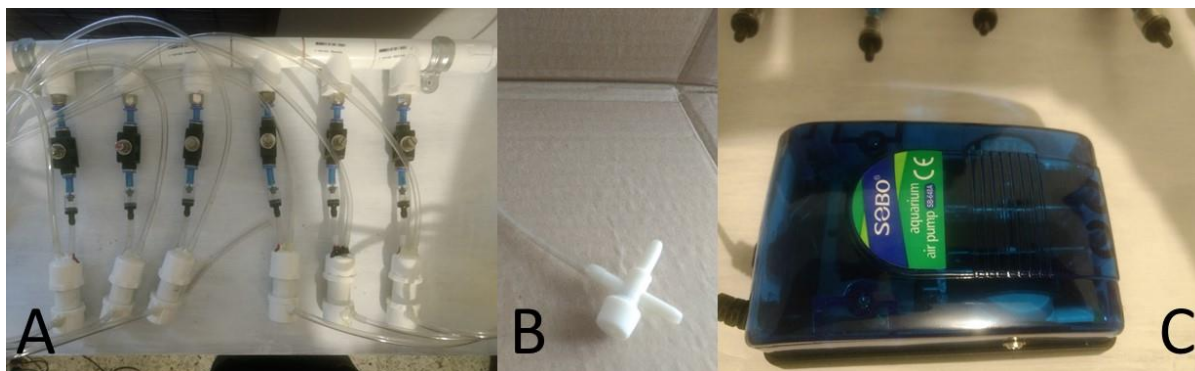


Imagen 7. Sistema de dosificación de aire y CO₂. A) Flauta de distribución y cámaras de mezcla con las válvulas antirretorno y válvulas estranguladoras. B) Válvula de tres vías para la regulación del aire. C) Bomba aireadora de uso en acuariofilia. Fuente: El autor



6.7 Condiciones del cultivo en los tratamientos para la de captura de CO₂

Se emplearon 3 intervalos de dosificación de CO₂ para cada una de las cepas en un fotoperiodo 12:12 (12 horas luz; 12 horas oscuridad), para un total de 6 tratamientos (Tabla 2). Los tratamientos T1 a T3 se realizaron para la cepa *C. vulgaris*. En el primer tratamiento (T1) se dosificaron 0.3 L de CO₂ y 9.1 L de aire en intervalos de 15 minutos durante las 12 horas de luz, el segundo tratamiento (T2) se realizó con un fotoperiodo 12:12 y una dosificación de 0.3 L de CO₂ y 19.6 L de aire en intervalos de 30 minutos durante las 12 horas de luz, y el tercer tratamiento (T3) se hizo únicamente con aire atmosférico anulando la dosificación de CO₂ adicional, con el fin de contrastar cómo influye la dosificación de CO₂ en el crecimiento y producción de biomasa en la microalga *C. vulgaris*. Los tratamientos T4 a T6 se realizaron para la cepa *S. obliquus*. En el cuarto tratamiento (T4) se dosificaron 0.3 L de CO₂ y 9.1 L de aire en intervalos de 15 minutos durante las 12 horas de luz, el quinto tratamiento (T5) se realizó con un fotoperiodo 12:12 y una dosificación de 0.3 L de CO₂ y 19.6 L de aire en intervalos de 30 minutos durante las 12 horas de luz, y el sexto tratamiento (T6) se hizo únicamente con aire atmosférico anulando la dosificación de CO₂ adicional, con el fin de contrastar cómo influye la dosificación de CO₂ en el crecimiento y producción de biomasa en la microalga *S. obliquus*.

Tabla 2. Tratamientos realizados para el crecimiento, la producción de biomasa y la estimación de la capacidad de captura de CO₂ por las microalgas *C. vulgaris*. y *S. obliquus*.

Tratamiento	Cepa	%CO ₂ cilindro	%CO ₂ atmosférico	Dosis de CO ₂ y aire	Vol. CO ₂ dosificado En 5 días (L)	Total CO ₂ en 5 días (g)
T1	<i>C. vulgaris</i> .	87.65%	0.0405%	0.3 L de CO ₂ + 9.1 L de aire ciclos 15 min	63.99	113.08
T2	<i>C. vulgaris</i> .	87.65%	0.0405%	0.3 L de CO ₂ + 19.6 L de aire ciclos 30 min	32.50	57.20
T3	<i>C. vulgaris</i> .	-	0.0405%	0.7L/min aire atmosférico	1.02	1.80
T4	<i>S. obliquus</i> .	87.65%	0.0405%	0.3 L de CO ₂ + 9.1 L de aire ciclo 15 min	63.99	113.08
T5	<i>S. obliquus</i> .	87.65%	0.0405%	0.3 L de CO ₂ + 19.6 L de aire ciclo 30 min	32.50	57.20
T6	<i>S. obliquus</i> .	-	0.0405%	0.7L/min aire atmosférico	1.02	1.80

Para realizar la simulación del fotoperiodo se utilizó iluminación artificial proveniente de una lámpara fluorescente SYLVANIA (luz blanca) de 54W con una intensidad lumínica de 4400 lúmenes. El tiempo de cultivo fue de 5 días para las dos cepas trabajadas en cada uno de los tratamientos realizados. El rango de temperatura de la cámara de cultivo se mantuvo entre 26°C (temperatura mínima durante la fase oscura) y 31°C (temperatura máxima durante la fase luminosa).

6.8 Cuantificación de la producción de biomasa microalgal y fijación de CO₂.

La densidad celular del cultivo se cuantificó mediante conteos con el uso de la cámara de Neubauer en el microscopio óptico (Imagen 8), el conteo se realizó cada 24 horas y el resultado de la densidad celular se expresó en No. Cel/mL (Imagen 9) por medio de la Ecuación 4 (Vélez, 1997).

Ecuación [4]. Cálculo de la densidad celular.

$$\text{Concentración} = \frac{\text{número de células}}{\text{número de cuadros}} * 10000 * \text{FD}$$

Donde FD es el factor de dilución empleado para realizar el conteo (10^1).

Imagen 8. Ilustración de la Cámara de Neubauer. Recuperado de:

<http://metodoslabideanellydiazpuentes.blogspot.com/2009/11/conteo-de-celulas-en-camara-de-neubauer.html>

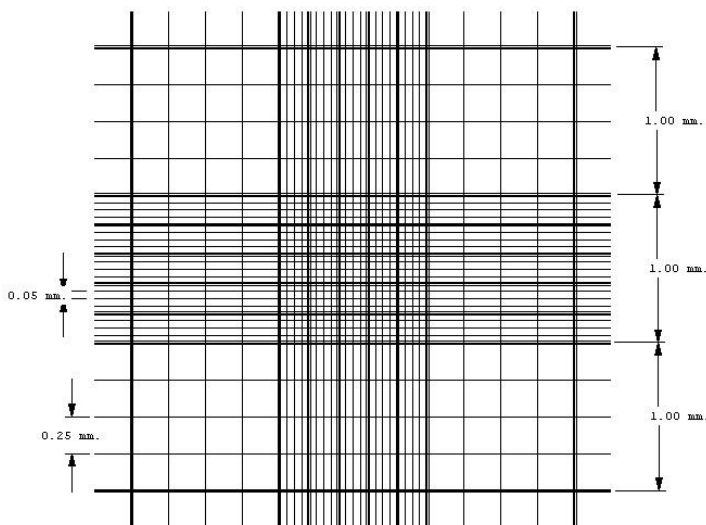
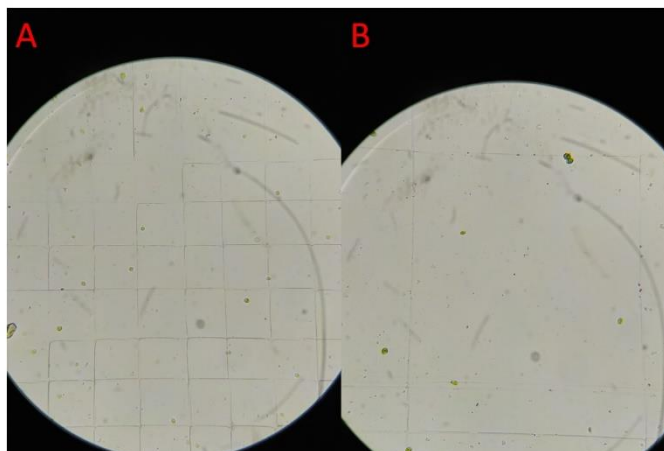


Imagen 9. Vista en cámara de Neubauer a través del microscopio. A) *C. vulgaris*. B) *S. obliquus*. Fuente: El autor



La tasa de crecimiento de las cepas se determinó mediante la ecuación 5 (Andersen, 2005):

Ecuación [5]. Medición de la tasa de crecimiento

$$\mu_{\max} (\text{d}^{-1}) = \frac{\ln CV_{\text{tf}} - \ln CV_{\text{ti}}}{(\text{tf} - \text{ti})}$$

Donde $\ln CV$ es el logaritmo natural de la concentración de células por volumen de medio de cultivo. El tiempo de duplicación en días es el tiempo requerido por las microalgas para su duplicación desde la población inicial, se calcula a partir de la tasa de crecimiento mediante la ecuación 6 (Andersen, 2005):

Ecuación [6]. Tiempo de duplicación celular en días (td).

$$d_{ti} = \frac{\ln 2}{\mu}$$

Para la cuantificación de la producción de biomasa microalgal se utilizó el método del peso seco (Imagen 10), filtrando 10 mL de muestra del cultivo a través de un filtro de microfibra de vidrio AXIVA GF/3f de 1,2 μm de poro previamente secado en horno a 105°C por 6 horas y pesado. El filtrado de la muestra se realizó al vacío con embudo Buchner, posteriormente la muestra filtrada se llevó al horno de secado por 6 horas a una temperatura de 105°C. Pasado este tiempo, la muestra fue introducida en el desecador por 2 horas y luego pesada en balanza analítica, la producción total de la biomasa se determinó por diferencia de pesos inicial y final. Las muestras empleadas para determinar la producción de biomasa microalgal se tomaron al inicio y finalización de cada tratamiento y el valor del peso se expresó en g/L de biomasa. El peso seco se estimó mediante la ecuación 7 (Arredondo, 2007).

Ecuación [7]. Determinación del peso seco.

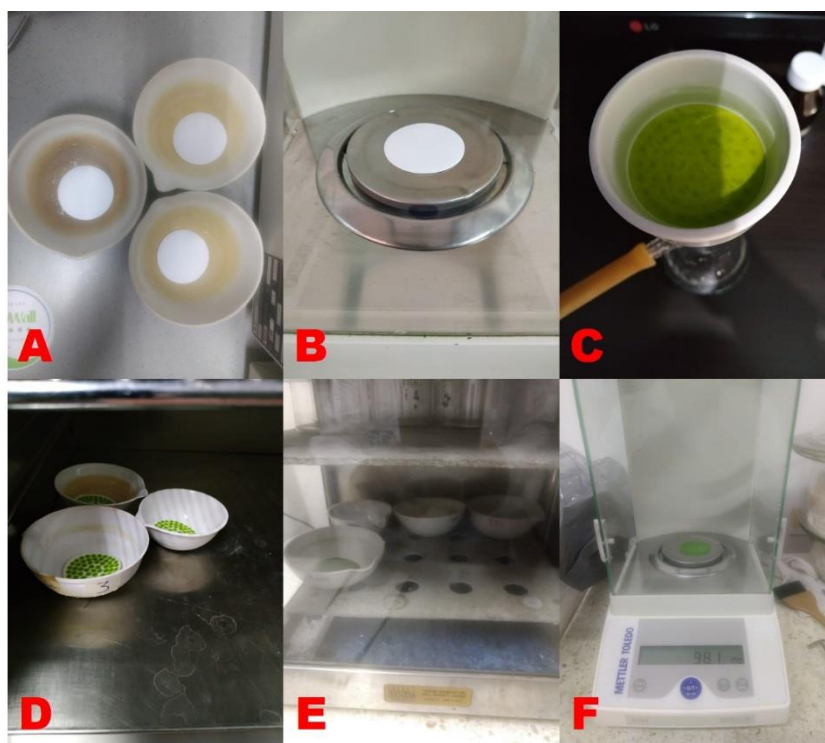
$$\text{Peso seco } \frac{\text{g}}{\text{L}} = \frac{\text{PFM(g)} - \text{PFV(g)}}{\text{Volumen de muestra filtrada (L)}}$$

Donde:

PFM(g) es el peso de la muestra filtrada y secada.

PFV (g) es el peso del filtro vacío y secado.

Imagen 10. Determinación de la biomasa por metodología del peso seco. A) Secado del filtro sin muestra. B) Pesaje del filtro sin muestra. C) Filtrado al vacío de la muestra. D) secado de la muestra filtrada. E) Enfriamiento de los filtros en desecador. F) Pesaje de la muestra filtrada y secada. Fuente: El autor



La estimación de la fijación de CO₂ por las microalgas a partir de la determinación de la biomasa en peso seco se realizó mediante la ecuación 8 (Fan, 2015).

Ecuación [8]. Fijación de CO₂ a partir de la biomasa producida.

$$\text{CO}_2 \text{ fijado} = P * C * \frac{M_{\text{CO}_2}}{M_c}$$

Donde:

P= Biomasa seca producida (g)

C= Porcentaje de carbono de la microalga

M_{CO₂}= Peso molecular del CO₂ (44 g/mol)

M_c= Peso atómico del carbono (12 g/mol)

La cantidad de CO₂ dosificada se estimó mediante el uso de la ecuación 9 y su resultado fue expresado en gramos (Chang, 2010).

Ecuación [9]. Ecuación del gas ideal.

$$PV=nRT$$

Donde:

P= presión atmosférica local

V= volumen de CO₂ dosificado en L por un periodo de 5 días.

n= número de moles

R= constante R de los gases ideales

T= temperatura promedio dentro de la cámara de cultivo

La estimación de la eficiencia de remoción de CO₂ en el fotobiorreactor se efectuó a partir de la cantidad de CO₂ biofijado en g/L mediante la ecuación 10 (Pirkarami, 2017)

Ecuación [10]. Eficiencia de remoción de CO₂ expresada en %

$$\%R = \frac{(C_i - C_f)}{C_i} * 100$$

Donde C_i es la cantidad de CO₂ inicial en g y C_f es la cantidad de CO₂ no fijada en g.

6.9 Análisis estadístico de la información.

Para el análisis de los datos se empleó el software estadístico SAS University Edition. Se efectuaron análisis de varianza ANOVA con una confianza del 95% para la estimación de la fijación de CO₂ en función de la variable dosificación de CO₂ (L/min), y producción de biomasa microalgal en función de la dosificación de CO₂ (L/min); para cada especie (*C. vulgaris* y *S. obliquus*).

Finalmente se realizó un análisis comparativo de las variables dependientes: fijación de CO₂, producción de biomasa microalgal y densidad celular, todas en función de la dosificación de CO₂ (L/min) para cada especie en cada uno de los tratamientos. En los casos donde se marcaron diferencias significativas en el ANOVA, se realizaron pruebas de promedios mediante el test de TUKEY ($p=0.05$), y comparaciones planeadas entre especies.

7. RESULTADOS Y ANALISIS

7.1 Crecimiento de las cepas de *C. vulgaris*. y *S. obliquus*. bajo diferentes dosificaciones de CO₂.

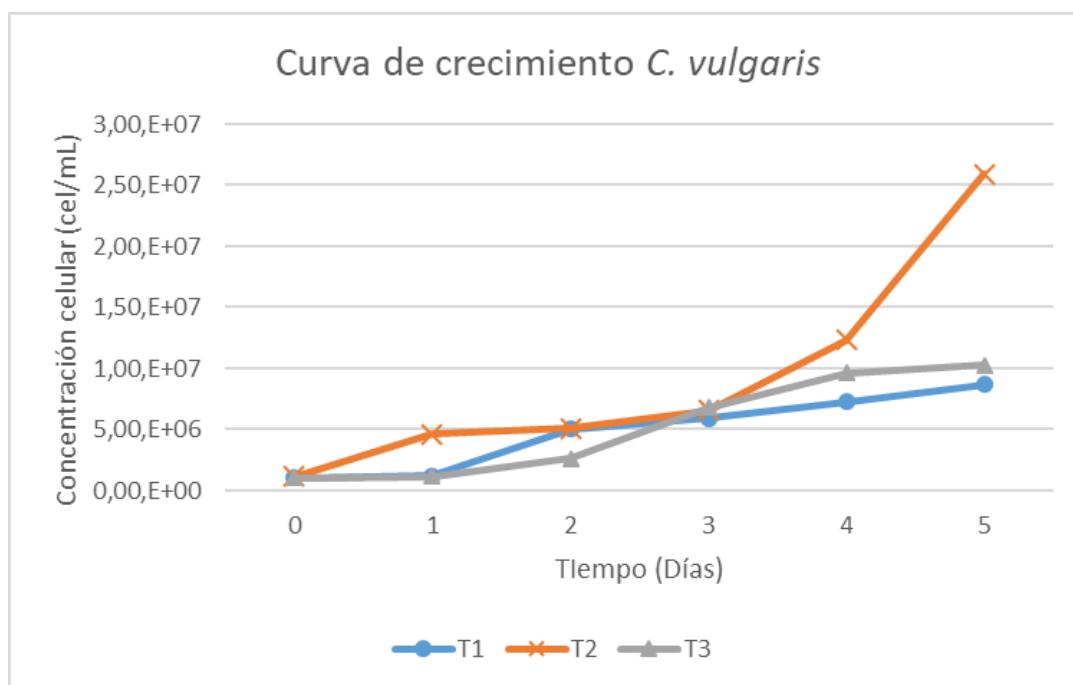
El crecimiento de las cepas de microalgas evaluadas se determinó mediante la medición de la densidad celular con cámara de Neubauer, el resultado fue determinado mediante la ecuación 4 en los seis tratamientos realizados, con el objetivo de evaluar cómo influyen las diferentes dosificaciones de CO₂ en la cinética de crecimiento de las cepas. La densidad celular se analizó como un parámetro que permite evidenciar la diferencia entre un cultivo de microalgas con dosificación de CO₂ adicional y un cultivo sin dosificación de CO₂ y la influencia de este gas de efecto invernadero en la cantidad de biomasa producida.

7.1.1 Crecimiento de la cepa *Chlorella vulgaris*.

En la gráfica 9 se observa el comportamiento presentado por la cepa *C. vulgaris*. al dosificar las cantidades de CO₂ establecidas en la metodología durante el periodo de 5 días de duración que tuvo cada tratamiento. La curva de crecimiento muestra que la fase exponencial para los tratamientos T1 y T3 inicia en el día 1, mientras que para el tratamiento T2 la fase exponencial inicia desde el día cero siendo este tratamiento donde se alcanzó la densidad celular más alta, $2,59 \times 10^7$ cel/ml y un incremento de la densidad celular elevado entre el día 0 y el día 1 pasando de $1,17 \times 10^6$ cel/ml a $4,62 \times 10^6$ cel/ml en 24 horas, y del día 4 al día 5, pasando de $1,23 \times 10^7$ cel/ml a $2,59 \times 10^7$ cel/ml en 24 horas. Para el tratamiento T3 el valor máximo

alcanzado fue de $1,03 \times 10^7$ cel/ml, un valor mayor que el presentado por T1 aun cuando no se dosifico CO_2 adicional, finalmente la menor densidad celular alcanzada se presentó en T1 con un máximo de $8,67 \times 10^6$ cel/ml y un incremento elevado de la densidad celular entre el día 1 y el día 2, pasando de $1,21 \times 10^6$ cel/ml a $5,02 \times 10^6$ cel/ml en 24 horas.

Gráfica 9. Curva de crecimiento de *C. vulgaris*. Tratamientos T1 a T3, iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura $26^\circ\text{C} - 31^\circ\text{C}$.



El análisis de varianza ANOVA (Anexo 11) realizado a los tratamientos T1 a T3 para la variable concentración celular en *C. vulgaris* mostró que hubo diferencias altamente significativas entre los tres tratamientos. Las diferencias entre los tratamientos T1 a T3 se determinaron mediante el test de Tukey (Tabla 3) a un nivel de confianza del 95% ($\text{Alpha}=0.05$).

Tabla 3. Prueba de rangos múltiples para concentración celular en T1 a T3. Tukey (Alpha=0.05).

Tratamiento	Grupos homogéneos
T1	C
T2	A
T3	B

En la tabla 4 se muestra la tasa de crecimiento presentada por *C. vulgaris*, confirmando que T2 alcanzo una mayor velocidad de crecimiento $0.62d^{-1}$ y menor tiempo de duplicación celular 1.12d. Estos parámetros tienen una estrecha relación con la capacidad productiva del sistema y determinan su eficiencia para la producción de biomasa y la fijación del CO₂.

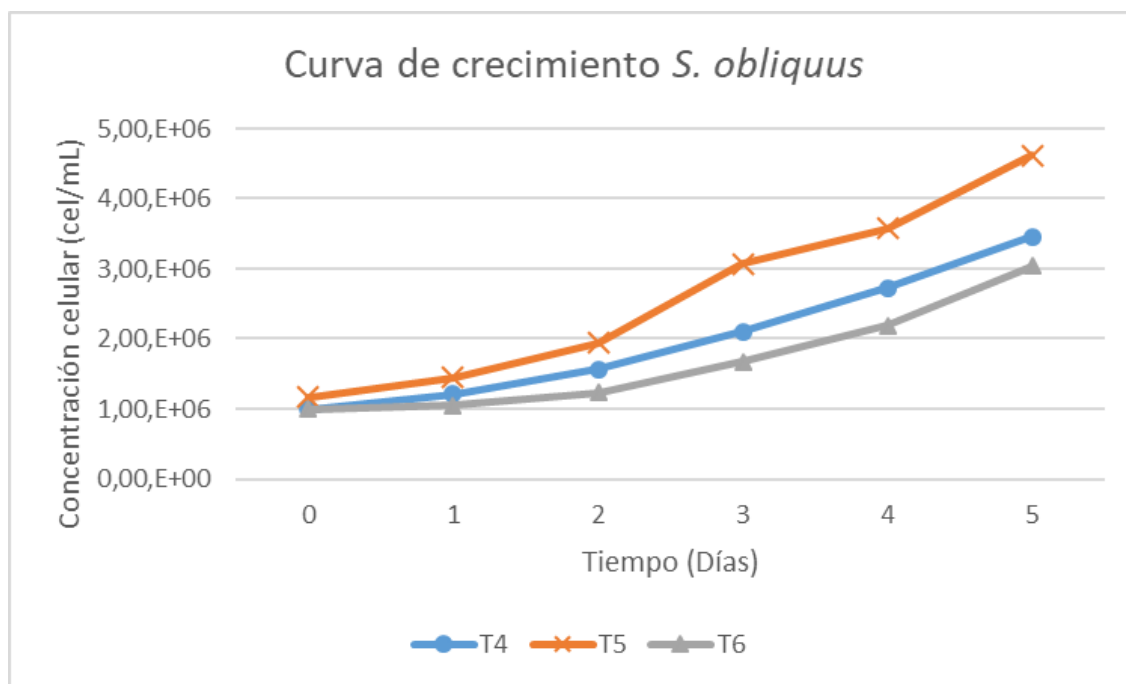
Tabla 4. Tasa de crecimiento de *C. vulgaris*. Tratamientos T1 a T3, iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.

Tratamiento	Cepa	$\mu_{max}(d^{-1})$	d_{ti}
T1	<i>C. vulgaris</i> .	0,43 c	1,60
T2	<i>C. vulgaris</i> .	0,62 a	1,12
T3	<i>C. vulgaris</i> .	0,47 b	1,49

7.1.2 Crecimiento de la cepa *Scenedesmus obliquus*.

En la gráfica 10 se observa el comportamiento presentado por la cepa *S. obliquus*. al dosificar las cantidades de CO₂ establecidas en la metodología durante el periodo de 5 días de duración que tuvo cada tratamiento. La curva de crecimiento muestra que la fase exponencial para los tratamientos T4 a T6 inicia en el día 1, el tratamiento T5 fue donde se presentó la mayor la densidad celular, $4,62 \times 10^6$ cel/ml y un incremento elevado de la densidad celular entre los días 2 y 3 pasando de $1,94 \times 10^6$ cel/ml a $3,07 \times 10^6$ cel/ml en un tiempo de 24 horas. Para el tratamiento T4 el valor máximo alcanzado fue de $3,46 \times 10^6$ cel/ml, finalmente la menor densidad celular alcanzada se presentó en T6 con un máximo de $3,03 \times 10^6$ cel/ml. Cabe anotar que, aunque la cepa *S. obliquus* presentó una dinámica de crecimiento similar en los tres tratamientos realizados, las pruebas de Tukey mostraron la existencia de diferencias altamente significativas en cuanto al incremento de la densidad celular en cada tratamiento, igualmente se pudo observar que una dosificación moderada de CO₂ adicional como la establecida en T5 contribuye a un mejor desarrollo y una mayor productividad.

Gráfica 10. Curva de crecimiento de *S. obliquus*. Tratamientos T4 a T6, iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.



El análisis de varianza ANOVA (Anexo 12) realizado a los tratamientos T4 a T6 para la variable concentración celular en *S. obliquus* mostro que hubo diferencias altamente significativas entre los tres tratamientos. Las diferencias entre los tratamientos T4 a T6 se determinaron mediante el test de Tukey (Tabla 5) a un nivel de confianza del 95% (Alpha=0.05).

Tabla 5. Prueba de rangos múltiples para concentración celular en T4 a T6. Tukey (Alpha=0.05).

Tratamiento	Grupos homogéneos
T4	B
T5	A
T6	C

En la tabla 6 se muestra la tasa de crecimiento presentada por *S. obliquus*, confirmando que T5 alcanzó una mayor velocidad de crecimiento $0.27d^{-1}$ y menor tiempo de duplicación celular 2.52d. Estos parámetros tienen una estrecha relación con la capacidad productiva del sistema y determinan su eficiencia para la producción de biomasa y la fijación del CO₂.

Tabla 6. Tasa de crecimiento de *S. obliquus*. Tratamientos T4 a T6, iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.

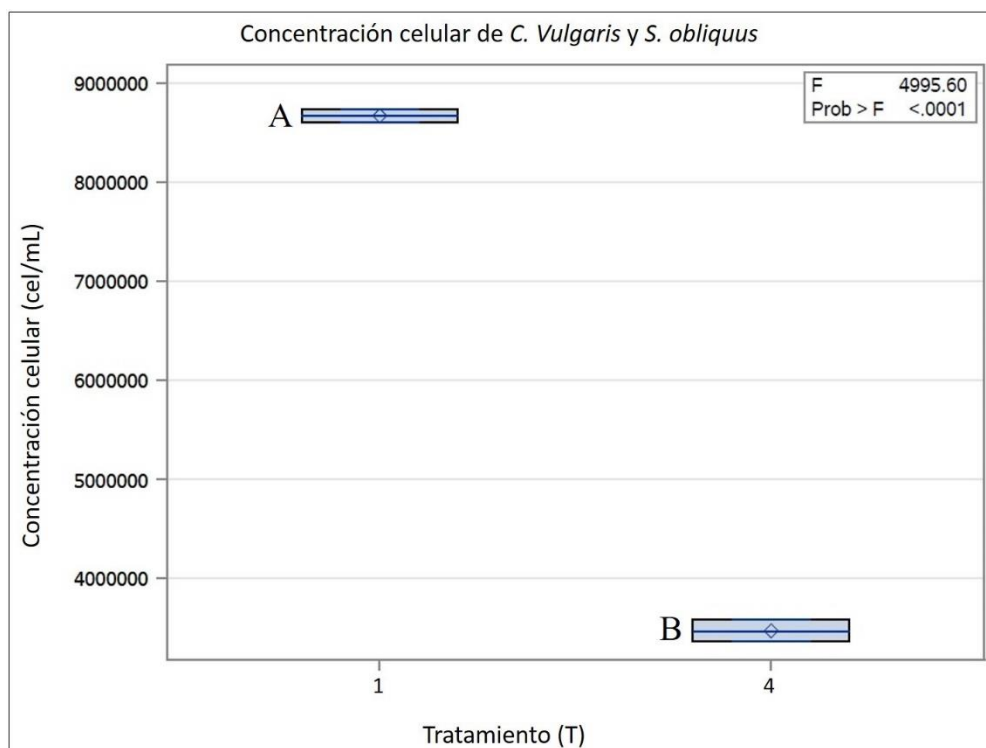
Tratamiento	Cepa	$\mu_{max}(d^{-1})$	d_{ti}
T4	<i>S. obliquus</i> .	0,25 b	2,79
T5	<i>S. obliquus</i> .	0,27 a	2,52
T6	<i>S. obliquus</i> .	0,22c	3,12

7.1.3 Comparación de resultados entre cepas para la variable densidad celular.

La diferencia observada entre la cepa *C. vulgaris* y la cepa *S. obliquus* en los tres tratamientos aplicados a cada una, registró una diferencia altamente significativa en cada uno de los tratamientos donde se pudo observar que la cepa *C. vulgaris* siempre obtuvo una mayor densidad celular. El análisis de varianza ANOVA (Anexo 13) realizado a los tratamientos T1 y T4 arrojó una diferencia altamente significativa entre las dos especies bajo las mismas condiciones de dosificación de CO₂ y aire, donde la cepa *C. vulgaris* alcanzó un máximo de $8,67 \times 10^6$ cel/ml mientras la cepa *S. obliquus* alcanzó un máximo de $3,46 \times 10^6$ cel/ml, observándose una densidad 2,5 veces mayor en *C. vulgaris* como puede apreciarse en la gráfica 11. Las diferencias entre los tratamientos T1 y T4, se determinaron mediante el test de Tukey a

un nivel de confianza del 95% ($\text{Alpha}=0.05$), los grupos homogéneos se encuentran relacionados en la gráfica 11.

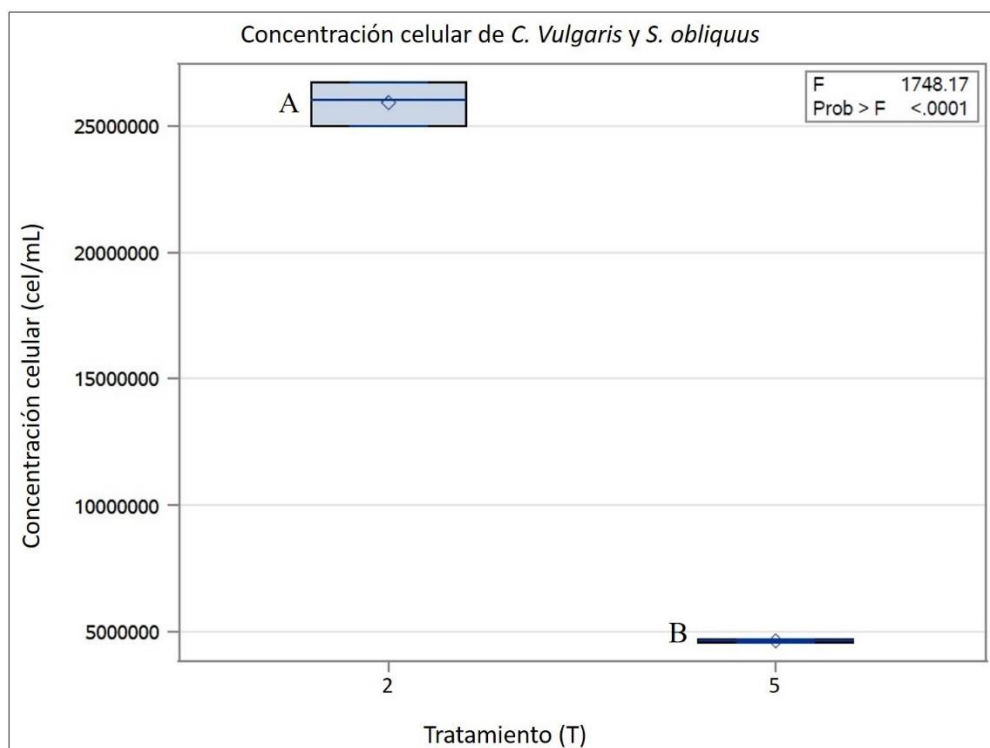
Gráfica 11. ANOVA – Densidad celular de *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T1 y T4. Prueba de rangos múltiples para T1 y T4. Tukey ($\text{Alpha}=0.05$). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.



En la gráfica 12 se puede apreciar que *C. vulgaris* obtuvo una densidad mucho mayor que *S. obliquus* en los tratamientos T2 y T5. El análisis de varianza ANOVA (Anexo 14) realizado a los tratamientos T2 y T5 mostró una diferencia altamente significativa entre las dos especies bajo las mismas condiciones de dosificación de CO₂ y aire, donde la cepa *C. vulgaris* alcanzó un máximo de $2,59 \times 10^7$ cel/ml mientras la cepa *S. obliquus* alcanzó un máximo de $4,62 \times 10^6$ cel/ml, observándose una densidad 5,6 veces mayor en *C. vulgaris*. Las diferencias entre los

tratamientos T2 y T5, se determinaron mediante el test de Tukey a un nivel de confianza del 95% ($\text{Alpha}=0.05$), los grupos homogéneos se encuentran relacionados en la gráfica 12.

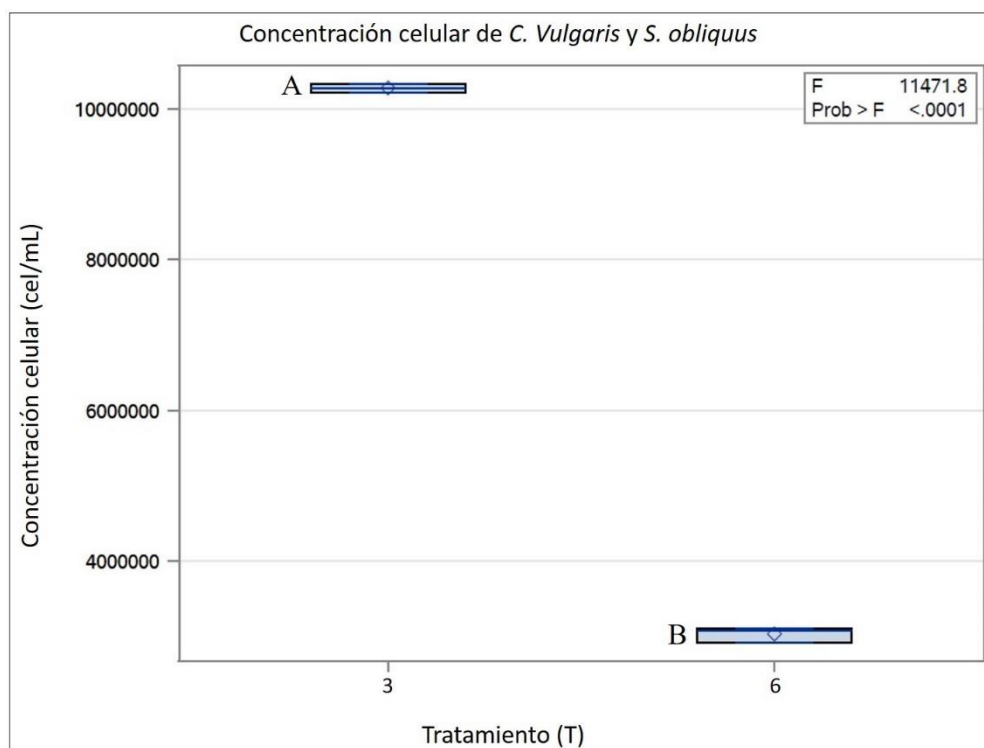
Gráfica 12. ANOVA – Densidad celular de *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T2 y T5. Prueba de rangos múltiples para T2 y T5. Tukey ($\text{Alpha}=0.05$). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.



En la gráfica 13 se puede apreciar que *C. vulgaris* obtuvo una densidad mucho mayor que *S. obliquus* en los tratamientos T3 y T6. El análisis de varianza ANOVA (Anexo 15) realizado a los tratamientos T3 y T6 mostró una diferencia altamente significativa entre las dos especies bajo las mismas condiciones de dosificación de aire, donde la cepa *C. vulgaris* alcanzó un máximo de $1,03 \times 10^7$ cel/ml mientras la cepa *S. obliquus* alcanzó un máximo de $3,03 \times 10^6$ cel/ml, observándose una densidad 3,4 veces mayor en *C. vulgaris*. Las diferencias entre los

tratamientos T3 y T6, se determinaron mediante el test de Tukey a un nivel de confianza del 95% ($\text{Alpha}=0.05$), los grupos homogéneos se encuentran relacionados en la gráfica 13.

Gráfica 13. ANOVA – Densidad celular de *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T3 y T6. Prueba de rangos múltiples para T3 y T6. Tukey ($\text{Alpha}=0.05$). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.



7.2 Producción de biomasa de las cepas *C. vulgaris*. y *S. obliquus*. bajo diferentes dosificaciones de CO₂.

La producción de biomasa en los seis tratamientos se determinó mediante la metodología del peso seco con el objetivo de evaluar cómo influyen las diferentes dosificaciones de CO₂ en la producción de biomasa microalgal, este valor se calculó mediante la ecuación 7. La producción de biomasa se analizó como el parámetro determinante en la elección del mejor método de cultivo de microalgas respecto a la dosificación de CO₂, e igualmente permitirá definir que método de cultivo tiene mejor eficiencia en la captura de este gas de efecto invernadero.

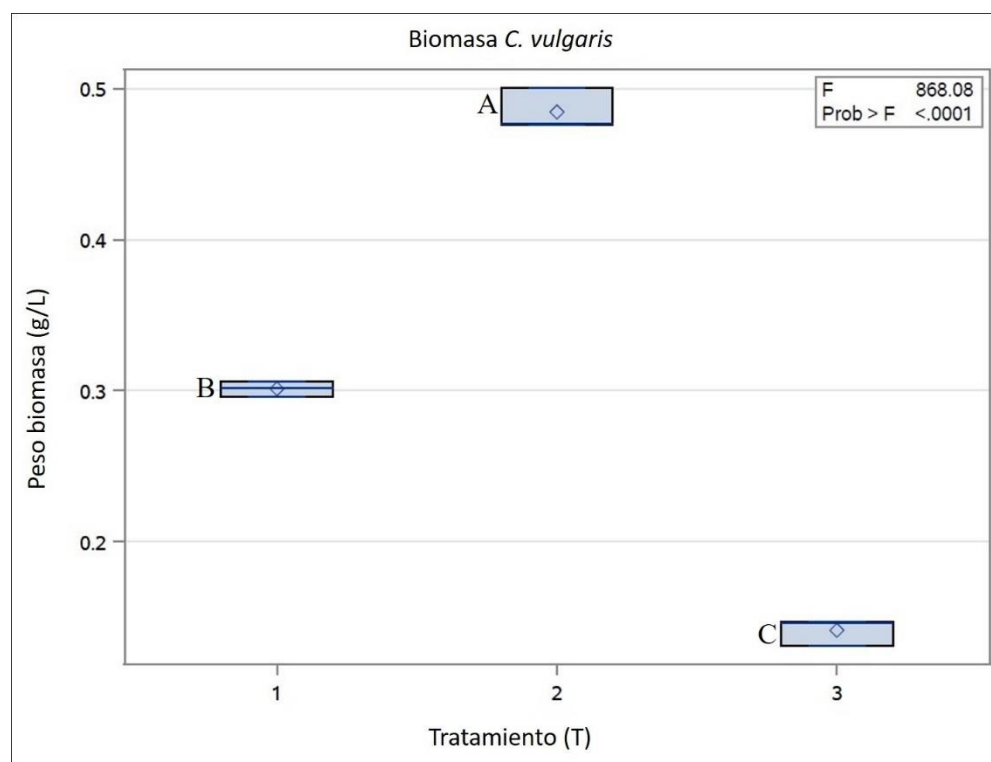
Durante los tratamientos además de seguir la cinética de crecimiento de los cultivos durante los 5 días, se determinó la cantidad de biomasa total producida al final de cada tratamiento, evaluando la incidencia de la dosificación de CO₂ en la producción de biomasa y comparando los resultados con la densidad celular con el fin de establecer si existe una relación proporcional entre la cantidad de CO₂ dosificado, la densidad celular y la biomasa producida.

7.2.1 Producción de biomasa de la cepa *C. vulgaris*.

En la gráfica 14 se puede observar que una dosificación moderada de CO₂ como la establecida en T2, la cepa *Chlorella V.* da una mayor productividad de biomasa seca al haber generado al final del tratamiento 0,485 g/L frente a los tratamientos T1 y T3 los cuales generaron 0,301g/L y 0,141 g/L respectivamente. Este dato nos indica que en el caso de *Chlorella V.* tanto un exceso de CO₂ adicional como la falta del mismo disminuyen el rendimiento en cuanto a la

producción de biomasa. El análisis de varianza ANOVA (Anexo 16) realizado a los tratamientos T1 a T3 para la variable producción de biomasa en *C. vulgaris* mostro que hubo diferencias altamente significativas entre los tres tratamientos. Las diferencias entre los tratamientos T1 a T3 se determinaron mediante el test de Tukey a un nivel de confianza del 95% ($\text{Alpha}=0.05$), los grupos homogéneos se encuentran relacionados en la gráfica 14.

Gráfica 14. ANOVA - Producción de biomasa seca de *C. vulgaris*. Tratamientos T1 a T3. Prueba de rangos múltiples para T1 a T3. Tukey ($\text{Alpha}=0.05$). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.



En la tabla 7 se muestran los datos del peso de la biomasa inicial y final de cada tratamiento, se puede observar que en T3 el peso de la biomasa es muy inferior respecto al peso

obtenido en T1, aun cuando la densidad celular en T3 fue mayor que en T1, esto nos indica que la falta de CO₂ adicional influye de forma significativa en el peso de la microalga *C. vulgaris*.

Tabla 7. Biomasa seca producida por la cepa *C. vulgaris*. Tratamientos T1 a T3. Prueba de rangos múltiples para T1 a T3. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.

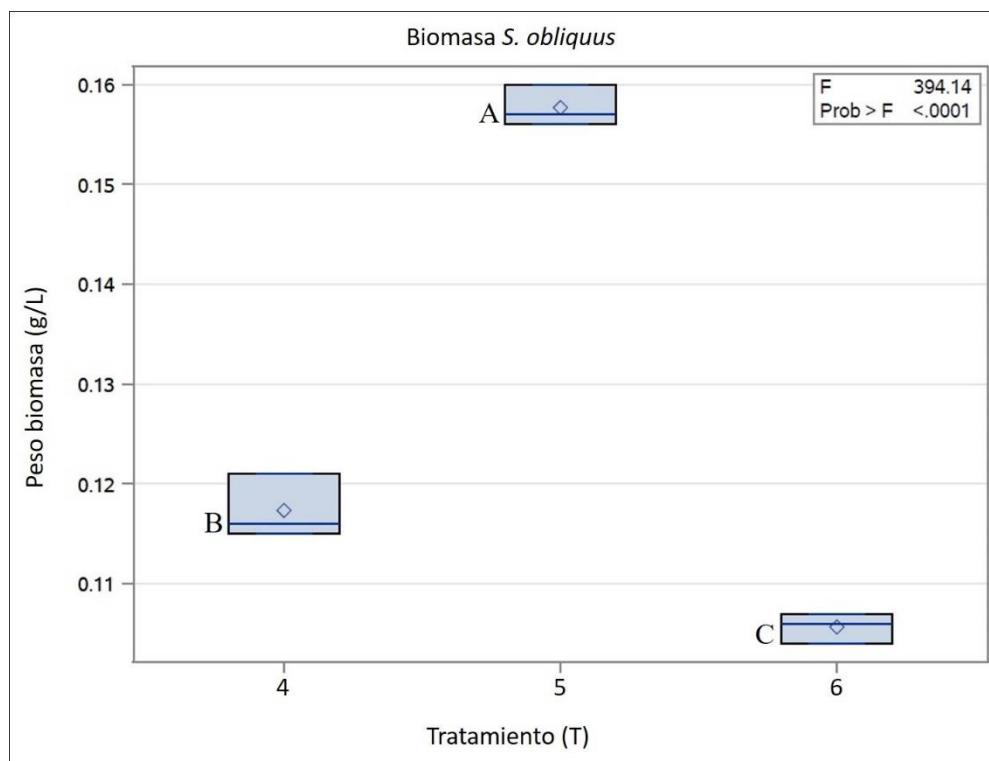
Tratamiento	Cepa	Biomasa seca inicial (g/L)	Biomasa seca final (g/L)	Biomasa seca total (g/L)	Grupos homogéneos
T1	<i>C. vulgaris</i> .	0,032	0,333	0,301	B
T2	<i>C. vulgaris</i> .	0,032	0,517	0,485	A
T3	<i>C. vulgaris</i> .	0,032	0,173	0,141	C

7.2.2 Producción de biomasa de la cepa *S. obliquus*.

En la gráfica 15 se puede observar que una dosificación moderada de CO₂ como la establecida en T5, la cepa *S. obliquus*. obtuvo una mayor productividad de biomasa seca al haber generado al final del tratamiento 0,158 g/L frente a los tratamientos T4 y T6 los cuales generaron 0,117 g/L y 0,106 g/L respectivamente. Este dato nos indica que en el caso de *S. obliquus*. tanto un exceso de CO₂ adicional como la falta del mismo disminuyen notablemente el rendimiento en cuanto a la producción de biomasa. El análisis de varianza ANOVA (Anexo 17) realizado a los tratamientos T4 a T6 para la variable producción de biomasa en *S. obliquus* mostro que hubo diferencias altamente significativas entre los tres tratamientos. Las diferencias entre los

tratamientos T4 a T6 se determinaron mediante el test de Tukey a un nivel de confianza del 95% ($\text{Alpha}=0.05$), los grupos homogéneos se encuentran relacionados en la gráfica 15.

Gráfica 15. ANOVA - Producción de biomasa seca de *S. obliquus*. Tratamientos T4 a T6. Prueba de rangos múltiples para T4 a T6. Tukey ($\text{Alpha}=0.05$). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.



En la tabla 8 se muestran los datos del peso de la biomasa inicial y final de cada tratamiento, se puede observar que la diferencia en cuanto a la cantidad de biomasa producida en los tres tratamientos es altamente significativa al igual que se observó en la cepa *C. vulgaris*, sin embargo, la cantidad de biomasa producida por *S. obliquus* es mucho menor que la de *C. vulgaris* en los tres tratamientos, lo que nos indica que la cepa *S. obliquus* no tuvo una respuesta tan efectiva a la adición de CO_2 como la que tuvo *C. vulgaris*.

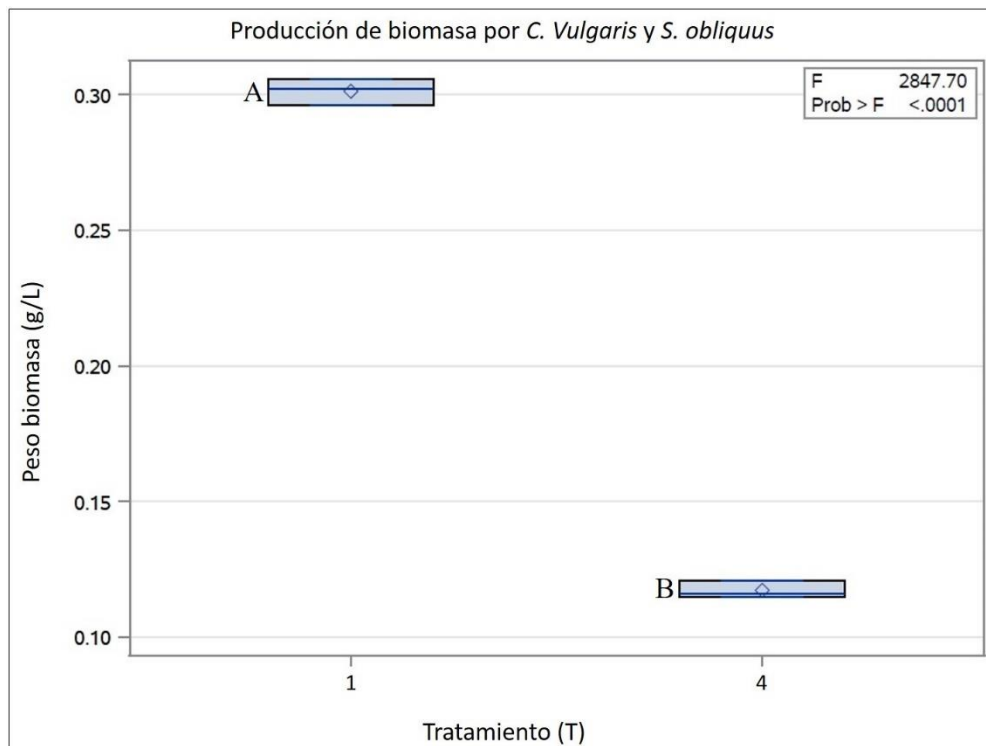
Tabla 8. Biomasa seca producida por la cepa *S. obliquus*. Tratamientos T4 a T6. Prueba de rangos múltiples para T4 a T6. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.

Tratamiento	Cepa	Biomasa seca inicial (g/L)	Biomasa seca final (g/L)	Biomasa seca total (g/L)	Grupos homogéneos
T4	<i>S. obliquus.</i>	0,025	0,143	0,117	B
T5	<i>S. obliquus.</i>	0,026	0,183	0,158	A
T6	<i>S. obliquus.</i>	0,026	0,131	0,106	C

7.2.3 Comparación de resultados entre cepas para la variable biomasa.

En los resultados obtenidos para *C. vulgaris* y *S. obliquus* en los tres tratamientos aplicados a cada cepa, se observó una diferencia altamente significativa en cada uno de los tratamientos donde se pudo apreciar que la cepa *C. vulgaris* siempre produjo la mayor cantidad de biomasa. El análisis de varianza ANOVA (Anexo 18) realizado a los tratamientos T1 y T4 arrojó una diferencia altamente significativa entre las dos especies bajo las mismas condiciones de dosificación de CO₂ y aire, donde la cepa *C. vulgaris* produjo un máximo de 0,301 g/L de biomasa mientras la cepa *S. obliquus* alcanzó un máximo de 0,117 g/L, observándose una cantidad 2,6 veces mayor de biomasa en *C. vulgaris* como puede apreciarse en la gráfica 16. Las diferencias entre los tratamientos T1 y T4, se determinaron mediante el test de Tukey a un nivel de confianza del 95% (Alpha=0.05), los grupos homogéneos se encuentran relacionados en la gráfica 16.

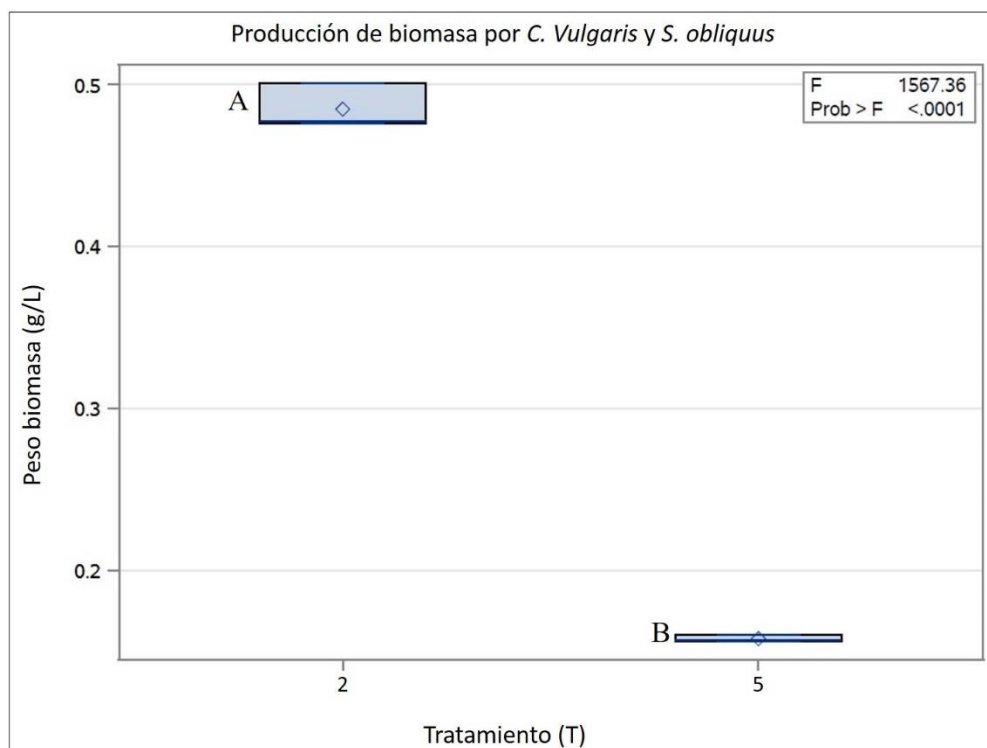
Gráfica 16. ANOVA – Producción de biomasa en *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T1 y T4. Prueba de rangos múltiples para T1 y T4. Tukey (Alpha=0.05). iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.



En la gráfica 17 se puede apreciar que *C. vulgaris* logró una producción de biomasa mucho mayor que *S. obliquus* en los tratamientos T2 y T5. El análisis de varianza ANOVA (Anexo 19) realizado a los tratamientos T2 y T5 mostró una diferencia altamente significativa entre las dos especies bajo las mismas condiciones de dosificación de CO₂ y aire, donde la cepa *C. vulgaris* produjo un máximo de 0,485 g/L mientras la cepa *S. obliquus* alcanzó un máximo de 0,158 g/L, observándose una cantidad 3,1 veces mayor de biomasa en *C. vulgaris*. Las diferencias entre los tratamientos T2 y T5, se determinaron mediante el test de Tukey a un nivel

de confianza del 95% ($\text{Alpha}=0.05$), los grupos homogéneos se encuentran relacionados en la gráfica 17.

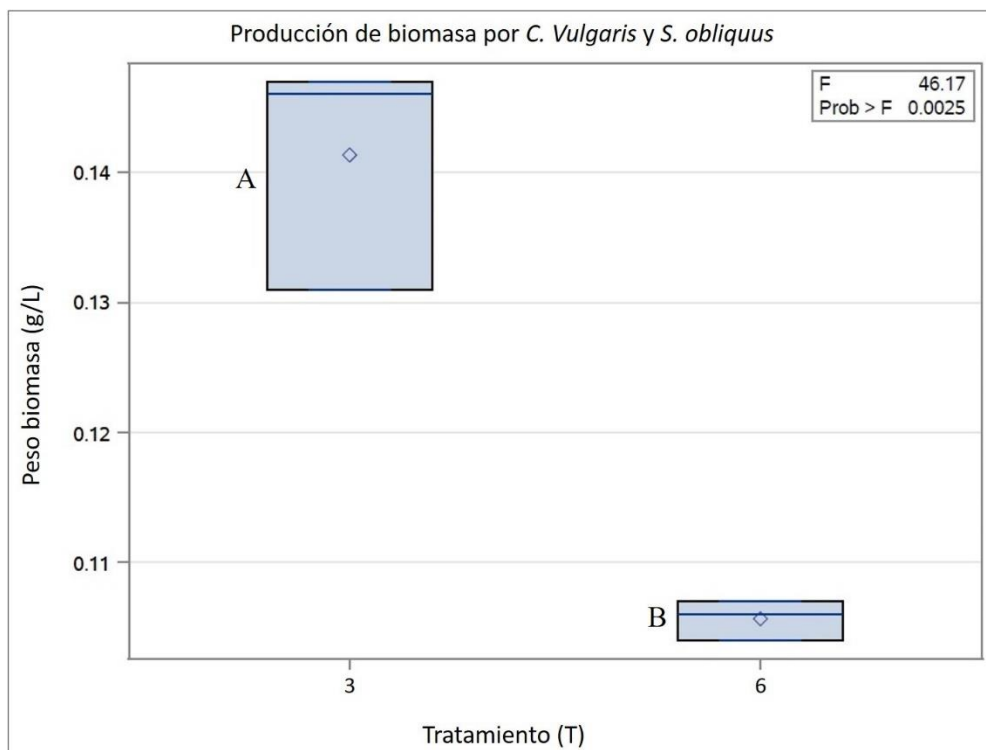
Gráfica 17. ANOVA – Producción de biomasa en *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T2 y T5. Prueba de rangos múltiples para T2 y T5. Tukey ($\text{Alpha}=0.05$). iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.



En la gráfica 18 se observa que *C. vulgaris* logró una producción de biomasa mucho mayor que *S. obliquus* en los tratamientos T3 y T6. El análisis de varianza ANOVA (Anexo 20) realizado a los tratamientos T3 y T6 mostró una diferencia significativa entre las dos especies bajo las mismas condiciones de dosificación de aire, donde la cepa *C. vulgaris* produjo un máximo de 0,141 g/L mientras la cepa *S. obliquus* alcanzó un máximo de 0,106 g/L, observándose una cantidad 1,3 veces mayor de biomasa en *C. vulgaris*. Las diferencias entre los

tratamientos T3 y T6, se determinaron mediante el test de Tukey a un nivel de confianza del 95% ($\text{Alpha}=0.05$), los grupos homogéneos se encuentran relacionados en la gráfica 18.

Gráfica 18. ANOVA – Producción de biomasa en *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T3 y T6. Prueba de rangos múltiples para T3 y T3. Tukey ($\text{Alpha}=0.05$) iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.



7.3 Biofijación de CO₂ de las cepas *C. vulgaris*. y *S. obliquus*. bajo diferentes dosificaciones de CO₂.

En la tabla 9 se encuentran los datos del contenido de carbono de las cepas *C. vulgaris*. y *S. obliquus*. según (Radmann, 2011) después de realizar un análisis elemental a diferentes especies de microalgas. Los resultados arrojados por dichos análisis para las cepas de interés en este estudio fueron los siguientes:

Tabla 9. Composición elemental CHN de las cepas *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Fuente: (Radmann, 2011).

Elemento	Contenido (%)	
	<i>C. vulgaris</i>	<i>S. obliquus</i>
C	45.52	47.84
H	6.41	6.92
N	8.15	8.19

El valor del contenido de carbono de cada cepa es necesario para estimar la capacidad de biofijación de las microalgas objeto de estudio, según lo indicado en la ecuación 5 de la metodología. Para el cálculo de la cantidad de CO₂ biofijado se requiere además el valor de la cantidad en gramos de biomasa seca producida.

7.3.1 Biofijación de CO₂ por la cepa *C. vulgaris*.

En la tabla 2 (ver metodología) se muestran los datos requeridos para el cálculo de la eficiencia de remoción de CO₂ en cada uno de los tratamientos aplicados para *C. vulgaris*. El total de CO₂ en gramos en un periodo de 5 días se obtuvo mediante la ecuación 9 como se establece en la metodología, a partir de los datos de porcentaje de CO₂ en el cilindro y el aire atmosférico, y el volumen total de CO₂ + aire y solo aire suministrado durante las horas de luz del fotoperiodo los 5 días que duro cada tratamiento.

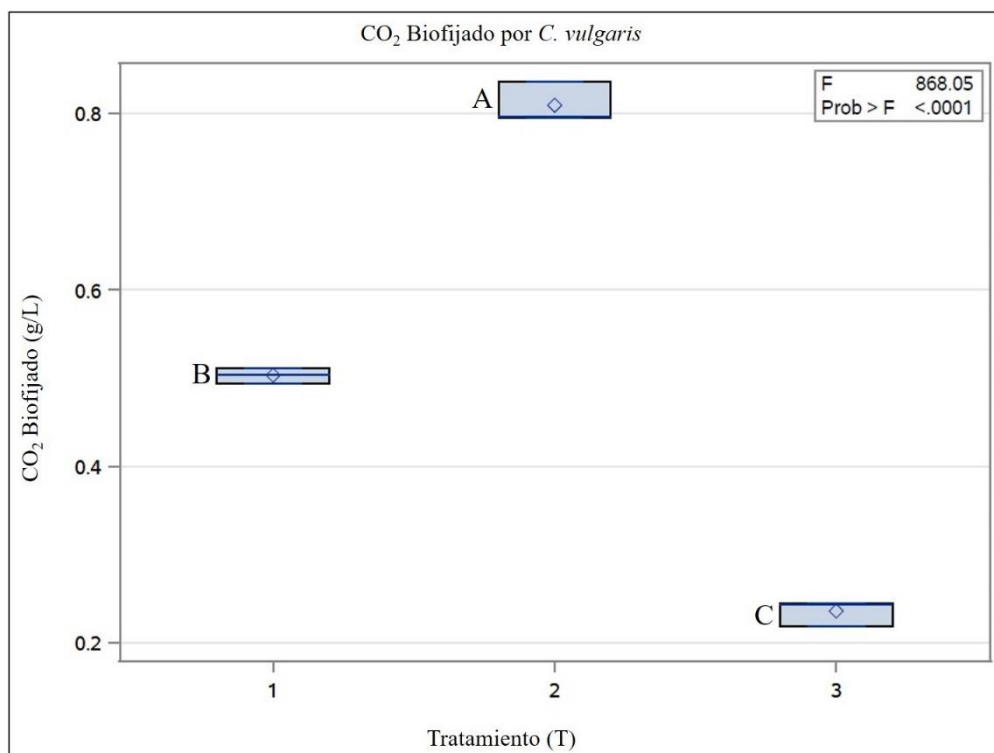
En la tabla 10 se puede observar que la mayor cantidad de CO₂ biofijado se presentó en los tratamientos T2 y T1 respectivamente (grafica 19), sin embargo, teniendo en cuenta que el volumen de CO₂ adicional en T1 y T2 posee una concentración muy superior a la contenida en el aire atmosférico como se observó en la tabla 2, se presentan porcentajes de remoción bajos en comparación con la remoción obtenida en T3, donde se observa un porcentaje de remoción del 49,77% del CO₂ dosificado siendo el tratamiento con la mayor eficiencia de remoción de CO₂. El análisis de varianza ANOVA (Anexo 21) realizado a los tratamientos T1 a T3 para la variable CO₂ biofijado por *C. vulgaris* mostro que hubo diferencias altamente significativas entre los tres tratamientos. Las diferencias entre los tratamientos T1 a T3 se determinaron mediante el test de Tukey a un nivel de confianza del 95% (Alpha=0.05), los grupos homogéneos se encuentran relacionados en la gráfica 19.

Tabla 10. CO₂ biofijado por la cepa *C. vulgaris*. Tratamientos T1 a T3. Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.

Tratamiento	Cepa	Producción biomasa seca (g/L)	Contenido de carbono en la microalga (%)	CO ₂ Biofijado (g/L)	CO ₂ Biofijado (g) en 3.8 L	% de remoción de CO ₂
T1	<i>C. vulgaris</i>	0.301	45.52	0.503b	1.911	1.69
T2	<i>C. vulgaris</i>	0,485	45.52	0,809a	3.074	5.37
T3	<i>C. vulgaris</i>	0,141	45.52	0,236c	0.896	49,77

Las letras en CO₂ biofijado (g/L) indican la diferencia estadística de Tukey (Alpha=0.05)

Gráfica 19. ANOVA – CO₂ biofijado por *C. vulgaris*. Tratamientos T1 a T3. Prueba de rangos múltiples para CO₂ biofijado en T4 a T6. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.



7.3.2 Biofijación de CO₂ de la cepa *S. obliquus*.

En la tabla 2 (ver metodología) se muestran los datos requeridos para el cálculo de la eficiencia de remoción de CO₂ en cada uno de los tratamientos aplicados para *S. obliquus*. El total de CO₂ en gramos en un periodo de 5 días se obtuvo mediante la ecuación 9 como se establece en la metodología, a partir de los datos de porcentaje de CO₂ en el cilindro y el aire atmosférico, y el volumen total de CO₂ + aire y solo aire suministrado durante las horas de luz del fotoperiodo los 5 días que duro cada tratamiento.

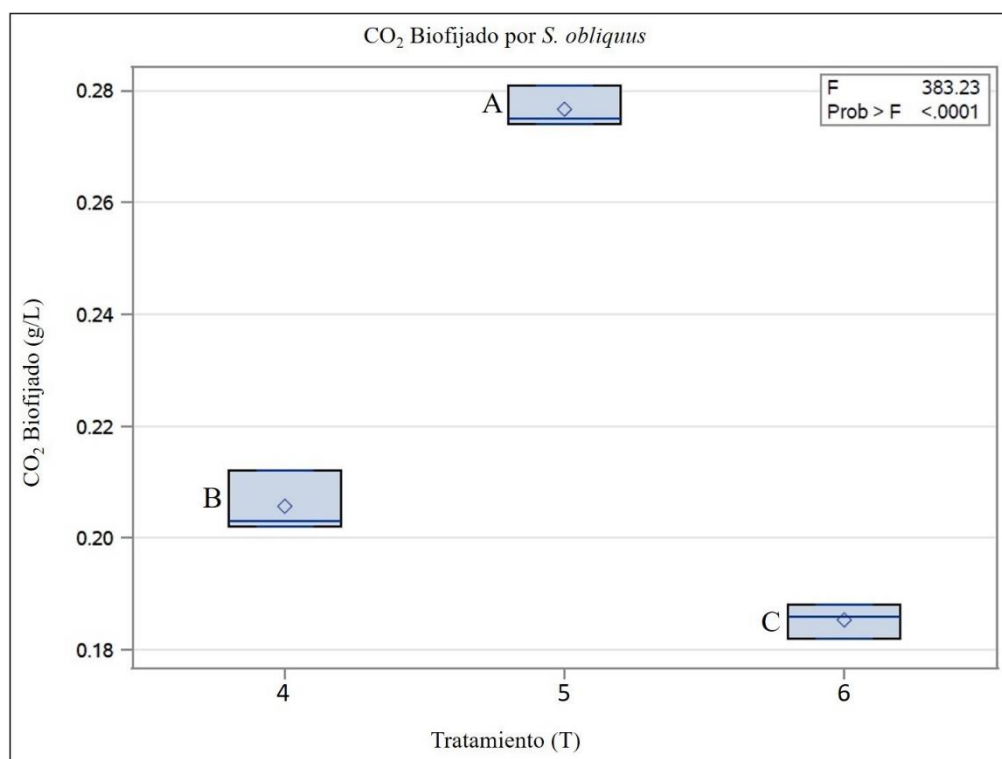
En la tabla 11 se puede observar que la mayor cantidad de CO₂ biofijado se presentó en los tratamientos T5 y T4 (gráfica 20), sin embargo, teniendo en cuenta que el volumen de CO₂ adicional en T4 y T5 posee una concentración mayor que la contenida en el aire atmosférico se presentan porcentajes de remoción bajos en comparación con la remoción presentada en T6, donde se observa un porcentaje de remoción del 39.05% del CO₂ dosificado siendo el tratamiento con la mayor eficiencia de remoción de CO₂ aplicado en *S. obliquus*. El análisis de varianza ANOVA (Anexo 22) realizado a los tratamientos T4 a T6 para la variable CO₂ biofijado por *S. obliquus* mostro que hubo diferencias altamente significativas entre los tres tratamientos. Las diferencias entre los tratamientos T4 a T6 se determinaron mediante el test de Tukey a un nivel de confianza del 95% (Alpha=0.05), los grupos homogéneos se encuentran relacionados en la gráfica 20.

Tabla 11. CO₂ biofijado por la cepa *S. obliquus*. Tratamientos T4 a T6. Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.

Tratamiento	Cepa	Producción biomasa seca (g/L)	Contenido de carbono en la microalga (%)	CO ₂ Biofijado (g/L)	CO ₂ Biofijado (g) en 3.8 L	% de remoción de CO ₂
T4	<i>S. obliquus</i> .	0,117	47.84	0,206 b	0.782	0.70
T5	<i>S. obliquus</i> .	0,158	47.84	0,277 a	1.052	1.83
T6	<i>S. obliquus</i> .	0,106	47.84	0,185 c	0.703	39.05

Las letras en CO₂ biofijado (g/L) indican la diferencia estadística de Tukey (Alpha=0.05)

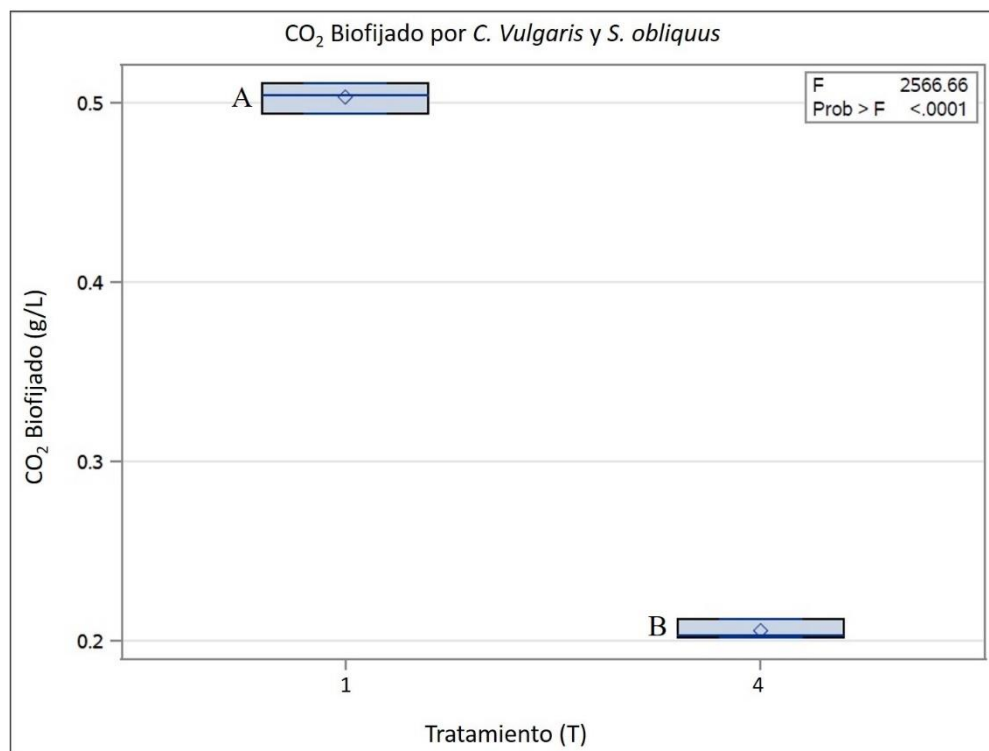
Gráfica 20. ANOVA – CO₂ biofijado por *S. obliquus*. Tratamientos T4 a T6. Prueba de rangos múltiples para CO₂ biofijado en T4 a T6. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.



7.3.3 Comparación de resultados entre cepas para la variable CO₂ biofijado.

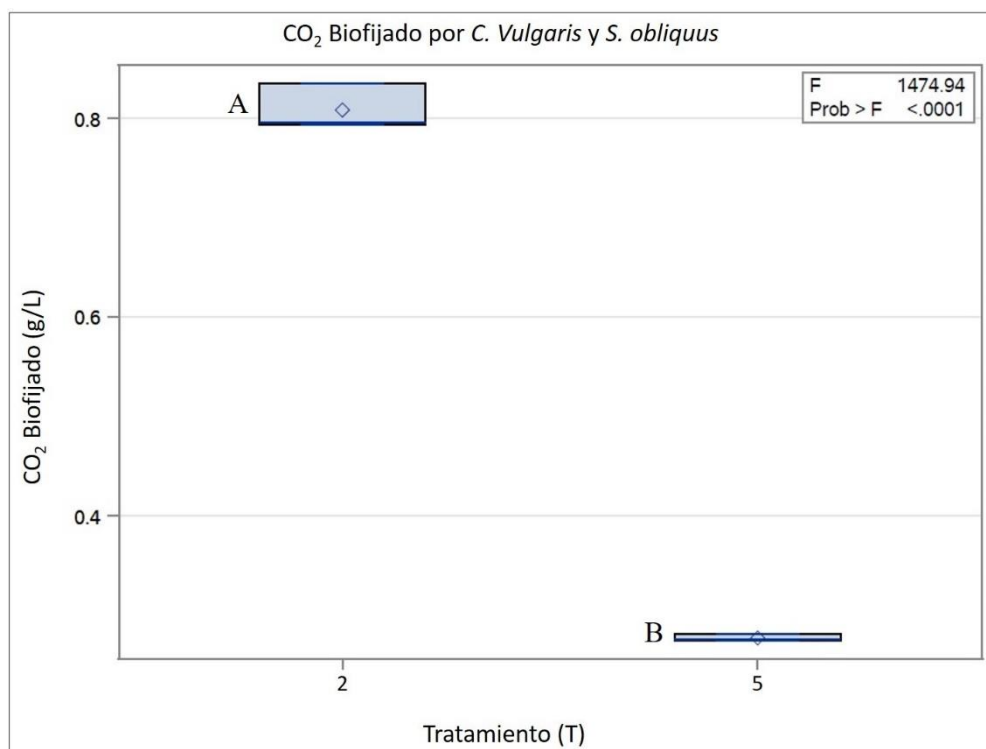
En los resultados obtenidos respecto a la cantidad de CO₂ biofijado por *C. vulgaris* y *S. obliquus* en los tres tratamientos aplicados a cada cepa, se observó una diferencia altamente significativa en cada uno de los tratamientos donde se pudo apreciar que la cepa *C. vulgaris* fijó una mayor cantidad de CO₂ en comparación con la cepa *S. obliquus*. El análisis de varianza ANOVA (Anexo 23) realizado a los tratamientos T1 y T4 arrojó una diferencia altamente significativa entre las dos especies bajo las mismas condiciones de dosificación de CO₂ y aire, donde la cepa *C. vulgaris* fijó 0,503 g de CO₂ por litro de cultivo mientras la cepa *S. obliquus* alcanzó un máximo de 0,206 g/L, siendo una cantidad 2,4 veces mayor de CO₂ biofijado por *C. vulgaris* como puede apreciarse en la gráfica 21. Las diferencias entre los tratamientos T1 y T4, se determinaron mediante el test de Tukey a un nivel de confianza del 95% (Alpha=0.05), los grupos homogéneos se encuentran relacionados en la gráfica 21.

Gráfica 21. ANOVA – CO₂ biofijado por *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T1 y T4. Prueba de rangos múltiples para CO₂ biofijado en T1 y T4. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.



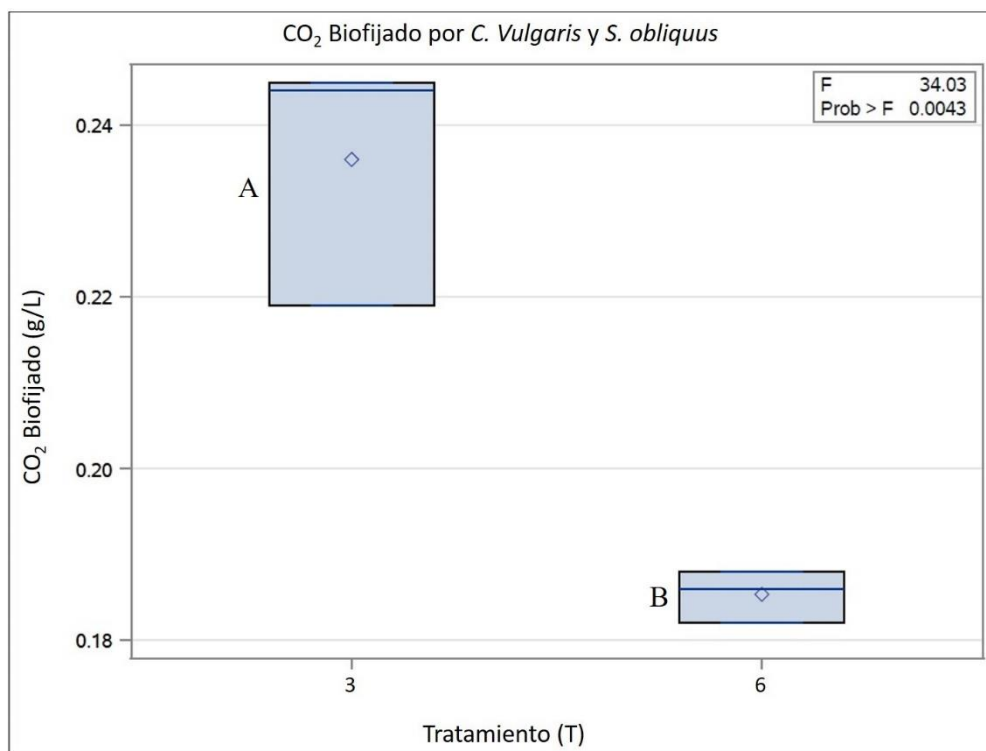
En la gráfica 22 se observa que *C. vulgaris* fijó una mayor cantidad de CO₂ que *S. obliquus* en los tratamientos T2 y T5. El análisis de varianza ANOVA (Anexo 24) realizado a los tratamientos T2 y T5 arrojó una diferencia altamente significativa entre las dos especies bajo las mismas condiciones de dosificación de CO₂ y aire, donde la cepa *C. vulgaris* fijó 0,809 g de CO₂ por litro de cultivo mientras la cepa *S. obliquus* alcanzó un máximo de 0,277 g/L, siendo una cantidad 2,9 veces mayor de CO₂ biofijado por *C. vulgaris*. Las diferencias entre los tratamientos T2 y T5, se determinaron mediante el test de Tukey a un nivel de confianza del 95% (Alpha=0.05), los grupos homogéneos se encuentran relacionados en la gráfica 22.

Gráfica 22. ANOVA – CO₂ biofijado por *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T2 y T5. Prueba de rangos múltiples para CO₂ biofijado en T2 y T5. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.



En la gráfica 23 se observa que *C. vulgaris* capturo y fijó una mayor cantidad de CO₂ que *S. obliquus* en los tratamientos T3 y T6. El análisis de varianza ANOVA (Anexo 25) realizado a los tratamientos T3 y T6 arrojó una diferencia altamente significativa entre las dos especies bajo las mismas condiciones de dosificación de CO₂ y aire, donde la cepa *C. vulgaris* fijó 0,236 g de CO₂ por litro de cultivo mientras la cepa *S. obliquus* alcanzó un máximo de 0,185 g/L, siendo una cantidad 1,3 veces mayor de CO₂ biofijado por *C. vulgaris*. Las diferencias entre los tratamientos T3 y T6, se determinaron mediante el test de Tukey a un nivel de confianza del 95% (Alpha=0.05), los grupos homogéneos se encuentran relacionados en la gráfica 23.

Gráfica 23. ANOVA – CO₂ biofijado por *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Tratamientos T3 y T6. Prueba de rangos múltiples para CO₂ biofijado en T3 y T6. Tukey (Alpha=0.05). Iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), temperatura 26°C – 31°C.



Uggetti *et al.*, 2018 indican que la adición de CO₂ en un cultivo piloto de microalgas resulta en el incremento de la producción de biomasa entre un 66 – 100%, la inyección de CO₂ tuvo un efecto positivo en la concentración de la biomasa microalgal. Esta ventaja se debe principalmente a que las microalgas a través de la fotosíntesis utilizan el CO₂ en la síntesis de nutrientes para sus procesos metabólicos y crecimiento (Cheah, 2015).

En la gráfica 24 se observa que los coeficientes de determinación para la relación Producción de biomasa/CO₂ Biofijado indican una relación alta en los 6 tratamientos. Esto sugiere que existe una relación directa entre la biomasa producida y la cantidad de CO₂ Biofijado

por las microalgas, sin embargo, la relación alta entre CO₂ Biofijado y Densidad celular no es constante en los 6 tratamientos, lo que sugiere que la tasa de fijación de CO₂ de las microalgas no depende completamente de la densidad celular como se indica en la tabla 12.

Gráfica 24. Relación entre Producción de biomasa y CO₂ Biofijado. A) Tratamientos T1 y T4. B) Tratamientos T2 y T5. C) Tratamientos T3 y T6.

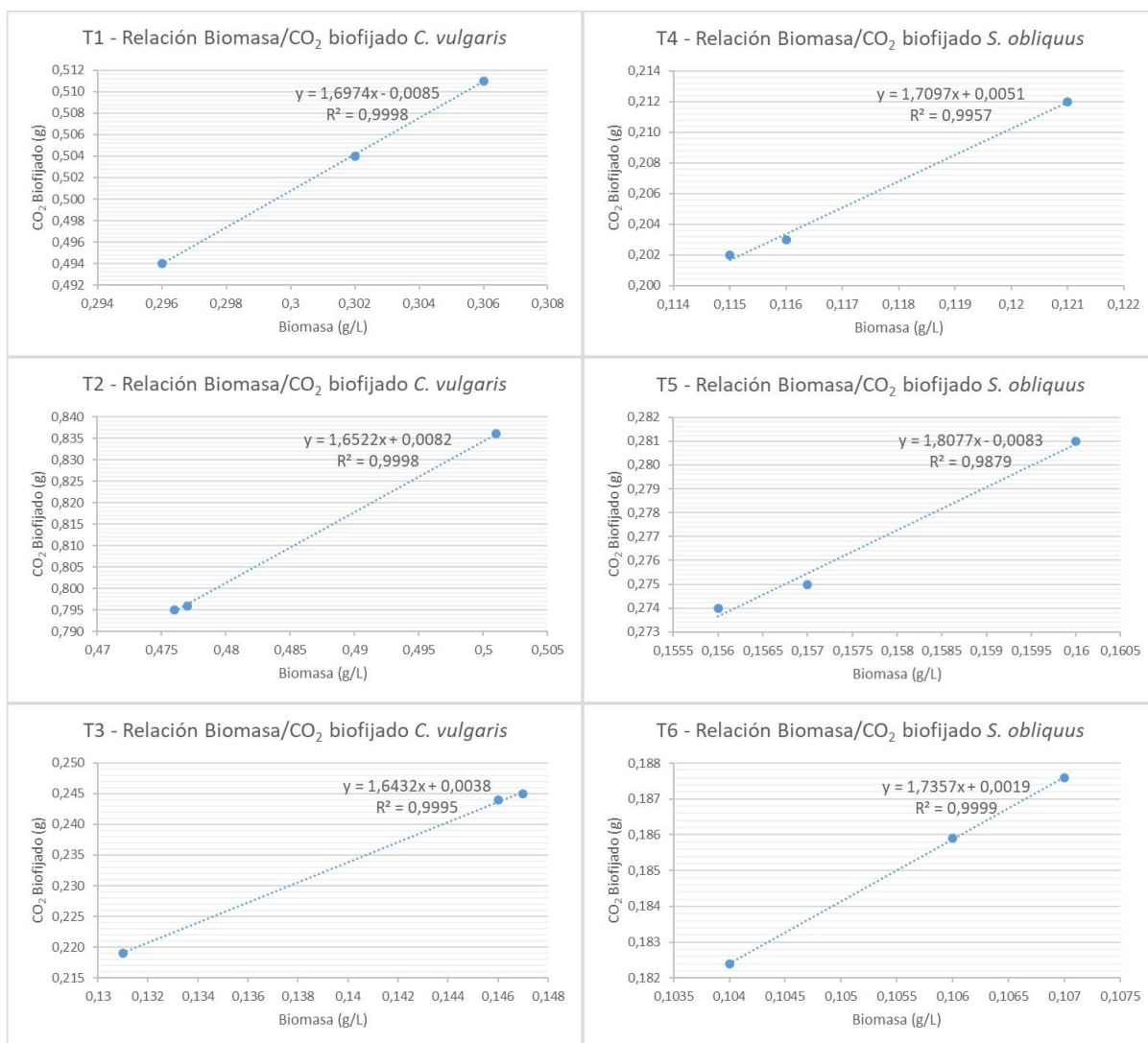


Tabla 12. Relación entre CO₂ Biofijado, Producción de biomasa y Densidad celular.

Cepa	Tratamiento	Coefficiente de determinación Biomasa/CO₂ Biofijado	Coefficiente de determinación Densidad cel/CO₂ Biofijado
<i>C. vulgaris</i>	T1	0,9998	0,9897
<i>C. vulgaris</i>	T2	0,9998	0,6804
<i>C. vulgaris</i>	T3	0,9995	0,7070
<i>S. obliquus</i>	T4	0,9957	0,6252
<i>S. obliquus</i>	T5	0,9879	0,8968
<i>S. obliquus</i>	T6	0,9999	0,8421

7.4 Confluencia de los resultados con otras investigaciones

En un estudio realizado por (García, 2018), evaluaron en diferentes condiciones de cultivo la posibilidad de maximizar la producción de biomasa rica en almidón y la asimilación de CO₂ por parte de la cepa *C. vulgaris*, observando que bajo las condiciones óptimas establecidas por el modelo de crecimiento las cuales sugerían una temperatura de 20°C, pH 7,5, intensidad máxima de luz $3000\mu\text{mol}_{\text{PAR}}\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$, una tasa de dilución de $0,5\text{d}^{-1}$ y una concentración de nitrógeno de 20 mM NaNO₃, se obtenía una acumulación de almidón por debajo del 5% aun cuando la producción de biomasa y la asimilación de CO₂ fueran altas, pero al modificar estas condiciones de cultivo aumentando la tasa de dilución y reduciendo el suministro de nitrógeno, se logró un incremento en la acumulación de almidón hasta un 25% aunque con una reducción de la producción de biomasa y por ende de la asimilación de CO₂, sin embargo, concluyen que un proceso simultaneo que incluya la asimilación de CO₂ y la acumulación de almidón podría ser factible encontrando la relación correcta entre ambos procesos. Estos resultados se asemejan a los obtenidos en esta investigación para el caso de *C. vulgaris* en lo que respecta a la producción de biomasa y su relación con la dosificación de CO₂, donde se encontró que la falta de CO₂ adicional afecta de forma significativa el peso de la microalga y por ende el peso de la biomasa producida.

En el estudio realizado por (Ji, 2015), se investigó la producción de biomasa y lípidos por la microalga *S. obliquus* en condiciones de cultivo mixtas usando aguas residuales como fuente de nutrientes en diferentes proporciones de dilución (0,5 – 2%) y CO₂ en concentraciones de 5, 10 y 14,1%, los resultados de la investigación arrojaron que las diluciones de 0,5 y 1% y las

concentraciones de CO₂ 10 y 14,1% obtuvieron los mejores resultados en cuanto a crecimiento, eliminación de nutrientes y producción de lípidos y carbohidratos tras 6 días de cultivo.

Igualmente se observó que al incrementar el CO₂ de un 5% a un 10% aumento el crecimiento de la microalga lo que sugiere que el agua residual no contenía el carbono suficiente para lograr tasas altas de crecimiento, igualmente la adición de CO₂ también contribuye a la producción de biomasa que permite la obtención de productos como el biodiesel. Estos resultados se asemejan a los obtenidos en esta investigación para el caso de *S. obliquus* en lo que respecta a la producción de biomasa y su relación con la dosificación de CO₂, donde se encontró que la dosificación de CO₂ adicional contribuye de forma positiva a la producción de biomasa, sin embargo, el exceso de CO₂ o la falta de mismo afecta la producción de biomasa, lo que nos indica que una dosificación moderada de CO₂ y nutrientes mejoraría considerablemente la producción de biomasa de alto valor en diferentes especies de microalgas.

8. CONCLUSIONES

La implementación de un sistema automatizado de fotobiorreactores favoreció el manejo de las microalgas durante el tiempo de cultivo, permitiendo la dosificación del CO₂ y aire en las cantidades deseadas y la exposición a la luz el tiempo planeado.

La dosificación de CO₂ adicional favoreció notablemente el crecimiento y la productividad de biomasa microalgal principalmente en la cepa *C. vulgaris*, la dosis aplicada en T2 y T5 arrojó los valores más altos para ambas cepas, siendo la condición más favorable para mejorar la productividad microalgal.

Una dosificación excesiva de CO₂ adicional como la implementada en los tratamientos T1 y T4 y la dosificación de solo aire como en los tratamientos T3 y T6 demostraron ser contraproducentes para la obtención de una mayor cantidad de biomasa.

Los resultados obtenidos en los tratamientos T1 a T3 realizados con la cepa *C. vulgaris* demostraron que no existe una relación directa entre la cantidad de CO₂ dosificado y las variables densidad celular y biomasa, esto debido a que con el uso de solo aire atmosférico la densidad celular de *C. vulgaris* alcanza valores elevados e incluso mayores a los obtenidos con un exceso de CO₂ como en el caso de T1.

Las tasas de biofijación de CO₂ más altas se dieron en los tratamientos donde se dosificó CO₂ adicional, esto debido principalmente a que la tasa de biofijación de CO₂ está directamente

relacionada con el peso de la biomasa y fueron estos tratamientos los que obtuvieron una mayor cantidad, siendo T2 el tratamiento que más cantidad de CO₂ biofijó.

Los tratamientos donde solo se dosificó aire atmosférico tuvieron los porcentajes de eficiencia de remoción de CO₂ más altos a diferencia de los tratamientos donde se usó CO₂ adicional, en el caso de *C. vulgaris* en T3 la eficiencia fue del 49,77%. Esta situación se debió posiblemente al poco tiempo de retención del CO₂ en el fotobiorreactor y por ende la poca disolución del gas en el medio de cultivo.

Este estudio mostró que las especies de microalgas *C. vulgaris* y *S. obliquus* pueden ser utilizadas en cultivos controlados donde se busquen diferentes objetivos, los cultivos asociados a una dosificación adicional de CO₂ favorecen principalmente la producción de biomasa de alto valor con fines comerciales, igualmente el cultivo de microalgas puede asociarse a la captura de CO₂ atmosférico usando únicamente aire o gases producto de las emisiones industriales cuando el objetivo es de carácter ambiental.

9. RECOMENDACIONES

En la realización de este proyecto no fue posible utilizar un sistema que permita mantener una mezcla con las concentraciones constantes de CO₂ y aire de forma precisa, por lo cual se recomienda conseguir un sistema que permita mantener una mezcla constante o en su defecto trabajar con gases de emisión los cuales pueden medirse mediante equipos especializados, y de esta forma poder controlar mejor la cantidad de CO₂ ingresado al sistema.

En este proyecto solo se usó un medio de cultivo para cada cepa, por lo tanto, se recomienda en próximas investigaciones evaluar la incidencia de diferentes medios de cultivo como aguas residuales industriales y domésticas, en el rendimiento y productividad de las microalgas.

Es conveniente el aprovechamiento de la luz solar natural en el cultivo de las microalgas para mejorar la viabilidad económica de este tipo de proyectos, el uso de invernaderos para el cultivo a escala piloto sería apropiado para evaluar el rendimiento en condiciones reales para proyectarlo a una escala industrial.

Con el fin de mejorar la eficiencia de remoción de CO₂ se recomienda el uso de fotobiorreactores que permitan un mayor tiempo de residencia del gas en el medio de cultivo basándose en el volumen de CO₂ a dosificar, como es el caso de los fotobiorreactores tubulares.

10. ANEXOS

10.1 Anexo 1. Composición del medio de cultivo Bristol proporcionado por la empresa

NUTRE S.A.S.

Compuesto	Solución Stock (g/L dH ₂ O)	Cantidad usada (mL)
NaNO ₃	25	10
CaCl ₂ · 2 H ₂ O	2,5	10
MgSO ₄ · 7H ₂ O	7,5	10
K ₂ HPO ₄	7,5	10
KH ₂ PO ₄	17,5	10
NaCl	2,5	10
EDTA	50	1
KOH	31	
FeSO ₄ · 7H ₂ O + H ₂ SO ₄	4,98	1
H ₃ BO ₃	11,42	1
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	8,82	1
MnCl ₂ · 4 H ₂ O	1,44	
Mo O ₃	0,71	
CuSO ₄ · 5H ₂ O	1,57	
(NO ₃) ₂ Co · 6 H ₂ O	0,49	

10.2 Anexo 2. Composición medio de cultivo artificial para *C. vulgaris*

Fertilizante de uso agrícola	Cantidad en (g/L)
Nitrato de potasio	1,16
FOSFACEL 800	0,94
TODO EN UNO	1,08

10.3 Anexo 3. Composición medio de cultivo artificial para *S. obliquus*

Fertilizante de uso agrícola	Cantidad en (g/L)
Nitrato de potasio	1,16
FOSFACEL 800	0,94
Nitrax-S	1,64

10.4 Anexo 4. Composición del fertilizante Nitrato de Potasio (Microfertisa)

Nitrógeno Total (N)	13,0%
Nitrógeno Nítrico (N)	13,0%
Potasio Soluble en agua (K ₂ O)	44,0%
pH en solución al 10%	4,5
Solubilidad en agua a 20°C	37,0 g/100ml

Fuente: <http://www.microfertisa.com.co/index.php?lang=es&opc=4&sel=2&pid=55>

10.5 Anexo 5. Composición del fertilizante FOSFACEL 800 (Cosmoagro)

Nitrógeno Total (N)	20,0%
Nitrógeno Amoniacal (N)	20,0%
Fosforo asimilable (P ₂ O ₅)	53,0%
pH en solución al 10%	7,3
Solubilidad en agua a 20°C	42,0 g/100ml

Fuente: <https://cosmoagro.com/producto/fosfacel-800/>

10.6 Anexo 6. Composición del fertilizante TODO EN UNO (Súper abono)

Nitrógeno total (N)	42,5%
Nitrógeno amoniacal (N)	1.2%
Nitrógeno ureico (N)	41,3%
Calcio (CaO)	0.056%
Magnesio (MgO)	0.315%
Azufre total (S)	0.450%
Boro (B)	0.034%
Cobre(Cu)	0.036%
Hierro(Fe)	0.047%
Manganeso(Mn)	0.100%
Molibdeno(Mo)	0.05%
Zinc(Zn)	0.100%

Fuente: <https://superabono.com/productos/foliares/todo-en-uno/>

10.7 Anexo 7. Composición del fertilizante Nitrox - S (Yara)

Nitrógeno Total (N)	28,0%
Nitrógeno Nítrico (N)	10,5%
Nitrógeno Amoniacal (N)	17,5%
foro asimilable (P ₂ O ₅)	4,0%
Azufre total (S)	6,0%

Fuente: <https://www.yara.com.co/nutricion-vegetal/productos/otros-productos/nitrox-s--28-4-0-6s/>

10.8 Anexo 8. Concentración celular por cepa. Tratamientos T1 y T4

Día	Concentración celular (cel/mL) <i>C. vulgaris</i> .	Concentración celular (cel/mL) <i>S. obliquus</i> .
0	$1,00 \times 10^6$	$1,00 \times 10^6$
1	$1,21 \times 10^6$	$1,21 \times 10^6$
2	$5,02 \times 10^6$	$1,57 \times 10^6$
3	$5,93 \times 10^6$	$2,11 \times 10^6$
4	$7,27 \times 10^6$	$2,73 \times 10^6$
5	$8,67 \times 10^6$	$3,46 \times 10^6$

10.9 Anexo 9. Concentración celular por cepa. Tratamientos T2 y T5

Día	Concentración celular (cel/mL) <i>C. vulgaris</i> .	Concentración celular (cel/mL) <i>S. obliquus</i> .
0	$1,17 \times 10^6$	$1,17 \times 10^6$
1	$4,62 \times 10^6$	$1,44 \times 10^6$
2	$5,08 \times 10^6$	$1,94 \times 10^6$
3	$6,53 \times 10^6$	$3,07 \times 10^6$
4	$1,23 \times 10^7$	$3,57 \times 10^6$
5	$2,59 \times 10^7$	$4,62 \times 10^6$

10.10 Anexo 10. Concentración celular por cepa. Tratamientos T3 y T6

Día	Concentración celular (cel/mL) <i>C. vulgaris</i> .	Concentración celular (cel/mL) <i>S. obliquus</i> .
0	$1,00 \times 10^6$	$1,00 \times 10^6$
1	$1,17 \times 10^6$	$1,05 \times 10^6$
2	$2,62 \times 10^6$	$1,23 \times 10^6$
3	$6,82 \times 10^6$	$1,67 \times 10^6$
4	$9,63 \times 10^6$	$2,19 \times 10^6$
5	$1,03 \times 10^7$	$3,03 \times 10^6$

10.11 Anexo 11. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Concentración celular en T1 a T3 para *C. vulgaris*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Pr > F
Modelo	2	5.4543733E14	2.7271866E14	1047.58	<.0001
Error	6	1.5619906E12	260331769136		
Total corregido	8	5.4699932E14			

10.12 Anexo 12. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Concentración celular en T4 a T6 para *S. obliquus*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Pr > F
Modelo	2	4.0396918E12	2.0198459E12	218.87	<.0001
Error	6	55370107408	9228351234.7		
Total corregido	8	4.0950619E12			

10.13 Anexo 13. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Concentración celular en T1 y T4 para *C. vulgaris* y *S. obliquus*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Pr > F
Modelo	1	4.0473378E13	4.0473378E13	4995.60	<.0001
Error	4	32407214815	8101803703.8		
Total corregido	5	4.0505785E13			

10.14 Anexo 14. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Concentración celular en T2 y T5 para *C. vulgaris* y *S. obliquus*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Pr > F
Modelo	1	6.807125E14	6.807125E14	1748.17	<.0001
Error	4	1.5575463E12	389386573148		
Total corregido	5	6.8227005E14			

10.15 Anexo 15. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Concentración celular en T3 y T6 para *C. vulgaris* y *S. obliquus*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Pr > F
Modelo	1	7.8602271E13	7.8602271E13	11471.8	<.0001
Error	4	27407214815	6851803703.8		
Total corregido	5	7.8629678E13			

10.16 Anexo 16. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Producción de biomasa en T1 a T3 para *C. vulgaris*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Pr > F
Modelo	2	0.17708889	0.08854444	868.08	<.0001
Error	6	0.00061200	0.00010200		
Total corregido	8	0.17770089			

10.17 Anexo 17. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Producción de biomasa en T4 a T6 para *S. obliquus*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Pr > F
Modelo	2	0.00446689	0.00223344	394.14	<.0001
Error	6	0.00003400	0.00000567		
Total corregido	8	0.00450089			

10.18 Anexo 18. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Producción de biomasa en T1 y T4 para *C. vulgaris* y *S. obliquus*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Pr > F
Modelo	1	0.05078400	0.05078400	2847.70	<.0001
Error	4	0.00007133	0.00001783		
Total corregido	5	0.05085533			

10.19 Anexo 19. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Producción de biomasa en T2 y T5 para *C. vulgaris* y *S. obliquus*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Pr > F
Modelo	1	0.16039350	0.16039350	1567.36	<.0001
Error	4	0.00040933	0.00010233		
Total corregido	5	0.16080283			

10.20 Anexo 20. Análisis de varianza ANOVA – Variable: Producción de biomasa en T3 y T6 para *C. vulgaris* y *S. obliquus*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Pr > F
Modelo	1	0.00190817	0.00190817	46.17	0.0025
Error	4	0.00016533	0.00004133		
Total corregido	5	0.00207350			

10.21 Anexo 21. Análisis de varianza ANOVA – Variable: CO₂ biofijado en T1 a T3 para *C. vulgaris*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Pr > F
Modelo	2	0.49266822	0.24633411	868.05	<.0001
Error	6	0.00170267	0.00028378		
Total corregido	8	0.49437089			

10.22 Anexo 22. Análisis de varianza ANOVA – Variable: CO₂ biofijado en T4 a T6 para *S. obliquus*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Pr > F
Modelo	2	0.01379622	0.00689811	383.23	<.0001
Error	6	0.00010800	0.00001800		
Total corregido	8	0.01390422			

10.23 Anexo 23. Análisis de varianza ANOVA – Variable: CO₂ biofijado en T1 y T4 para *C. vulgaris* y *S. obliquus*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Pr > F
Modelo	1	0.13261067	0.13261067	2566.66	<.0001
Error	4	0.00020667	0.00005167		
Total corregido	5	0.13281733			

10.24 Anexo 24. Análisis de varianza ANOVA – Variable: CO₂ biofijado en T2 y T5 para *C. vulgaris* y *S. obliquus*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Pr > F
Modelo	1	0.42453600	0.42453600	1474.94	<.0001
Error	4	0.00115133	0.00028783		
Total corregido	5	0.42568733			

10.25 Anexo 25. Análisis de varianza ANOVA – Variable: CO₂ biofijado en T3 y T6 para *C. vulgaris* y *S. obliquus*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Pr > F
Modelo	1	0.00385067	0.00385067	34.03	0.0043
Error	4	0.00045267	0.00011317		
Total corregido	5	0.00430333			

Referencias

- Acien, F. F. (2017). *Microalgae: The Basis of Mankind Sustainability, Case Study of Innovative Projects - Successful Real Cases*. doi:10.5772/67930
- AlgaeIndustryMagazine.com. (21 de Noviembre de 2017). *Indiana U gets Duke Energy grant for algae project*. Obtenido de Algae Industry Magazine.com:
<http://www.algaeindustrymagazine.com/indiana-u-gets-duke-energy-grant-algae-project/>
- AlgaeIndustryMagazine.com. (25 de Junio de 2017). *MicroBio, Colorado Lining design new paddle wheel*. Obtenido de AlgaeIndustryMagazine.com:
<http://www.algaeindustrymagazine.com/microbio-colorado-lining-design-new-paddle-wheel/>
- Andersen, R. (2005). *Algal Culturing Techniques*. Academic Press.
- Andrade, H. S. (2015). Estimación de huella de carbono del sistema de producción de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en Palmira, Valle del Cauca, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 6(1), 19 - 28.
doi:<http://dx.doi.org/10.22490/21456453.1260>
- Arredondo, B. V. (2007). *Métodos y Herramientas Analíticas en la Evaluación de la Biomasa Microalgal*. La Paz, Baja California Sur, México.: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
- Australian Government. (11 de Noviembre de 2017). *Greenhouse Effect*. Obtenido de Climate Change: <http://www.environment.gov.au/climate-change/climate-science-data/climate-science/greenhouse-effect>

- Barajas, A. (2013). Mejoramiento del secuestro de CO₂ por *Chlorella vulgaris* UTEX 1803 en fotobiorreactores a escala laboratorio. *REVISTA ION*, 25(2), 39 - 47. Obtenido de <http://revistas.uis.edu.co/index.php/revistaion/article/view/3120/3370>
- Barajas, A. G. (2012). Mejoramiento del secuestro de CO₂ por *Chlorella vulgaris* UTEX 1803 en fotobiorreactores a escala laboratorio. *Revista ION*, 25(2), 39-47. Obtenido de <https://revistas.uis.edu.co/index.php/revistaion/article/view/3120>
- Barsanti, L. G. (2006). *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology* (1st Edition ed.). CRC Press.
- Benavente, J. M. (2012). *Tecnología de cultivo de microalgas en fotobiorreactores*. Obtenido de <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%207/4.html>
- Blunden, J. A. (Agosto de 2018). *State of the Climate in 2017*. Obtenido de American Meteorological Society: <https://doi.org/10.1175/2018BAMSSStateoftheClimate.1>
- Bolaño, T. C. (2015). Emisiones biogénicas de monoterpenos en el parque nacional natural Tayrona, Santa Marta (Colombia). *Luna Azul*(40), 102 - 116.
doi:10.17151/luaz.2015.40.8
- Chang, R. C. (2010). *Química*. México. D.F.: MCGRAW-HILL.
- Cheah, W. S. (2015). Biosequestration of atmospheric CO₂ and flue gas-containing CO₂ by microalgae. *Bioresource Technology*, 184, 190 - 201. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852414016289>
- Enzing, C. P. (2014). *Microalgae-based products for the food and feed sector: an outlook for Europe*. doi:10.2791/3339
- Fan, J. X. (2015). Impacts of CO₂ concentration on growth, lipid accumulation, and carbon-concentrating-mechanism-related gene expression in oleaginous *Chlorella*. *Applied*

- Microbiology and Biotechnology*, 99(5), 2451–2462. doi:<https://doi.org/10.1007/s00253-015-6397-4>
- García, R. M. (Junio de 2018). How to combine CO₂ abatement and starch production in *Chlorella vulgaris*. *Algal Research*, 270-279. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926417305210>
- González, C. A. (2011). Uso de microalgas como alternativa a las tecnologías disponibles de mitigación de emisiones antropogénicas de CO₂. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, 2(2), 93 - 106. Obtenido de <http://www.solabiaa.org/ojs3/index.php/RELBAA/article/view/31>
- González, C. S. (2014). Estimación de Iluminación en un Fotobiorreactor Productor de Biomasa a. *Conciencia Tecnológica*(47), 29-35. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=94431297004>
- Hickey, N. B. (2014). *Air Pollution from Mobile Sources: Formation and Effects and Abatement Strategies*. Springer Netherlands. doi:10.1007/978-94-017-8777-2
- Howarth, R. (2015). Methane emissions and climatic warming risk from hydraulic fracturing and shale gas development: implications for policy. *Energy and Emission Control Technologies*, 3, 45—54. Obtenido de <https://doi.org/10.2147/EECT.S61539>
- IDEAM. (Noviembre de 2016). *Inventario Nacional y Departamental de Gases Efecto Invernadero - Colombia*. Obtenido de Publicaciones : <http://www.cambioclimatico.gov.co/resultados>
- IPCC. (2005). *La captación y el almacenamiento de dióxido de carbono*. Obtenido de http://www.ipcc.ch/pdf/special-reports/srccs/srccs_spm_ts_sp.pdf

- IPCC. (2011). *Fuentes de energía renovables y mitigación del cambio climático (SRREN)*.
Obtenido de http://www.ipcc.ch/pdf/special-reports/srren/srren_report_es.pdf
- IPCC. (2013). *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Obtenido de
http://www.climatechange2013.org/images/report/WG1AR5_ALL_FINAL.pdf
- IPCC. (2013). *Resumen para responsables de políticas. En: Cambio Climático 2013: Bases físicas. Contribución del Grupo de trabajo I al Quinto Informe de Evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático*. Obtenido de
http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/wg1/WG1_AR5_SPM_ES.pdf
- IPCC. (2014). *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Obtenido de http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/syr/SYR_AR5_FINAL_full_wcover.pdf
- IPCC. (2014). *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Obtenido de https://archive.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/syr/SYR_AR5_FINAL_full_wcover.pdf
- Ji, M. Y. (Agosto de 2015). Mixotrophic cultivation of a microalga *Scenedesmus obliquus* in municipal wastewater supplemented with food wastewater and flue gas CO₂ for biomass production. *Journal of Environmental Management*, 159, 115-120. Obtenido de
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479715300888>
- Lee, R. (2008). *Phycology* (4 ed.). New York: Cambridge University Press.

- Li, R. Z. (2016). Characteristics of Pine Gasification Ash and its Effects on Chlamydomonas debaryana Growth. *BioResources*, 1919-1929. Obtenido de http://stargate.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/BioRes_11_1_1919_Li_Pine_Gasification_Ash_Chlamydomonas
- Lindsey, R. (17 de October de 2017). *Climate Change: Atmospheric Carbon Dioxide*. Recuperado el 16 de Noviembre de 2018, de Climate.gov: <https://www.climate.gov/news-features/understanding-climate/climate-change-atmospheric-carbon-dioxide>
- Lindsey, R. (1 de August de 2018). *Climate Change: Atmospheric Carbon Dioxide*. Recuperado el 20 de Abril de 2019, de Climate.gov: <https://www.climate.gov/news-features/understanding-climate/climate-change-atmospheric-carbon-dioxide>
- MAVDT. (2008). *Resolución 909 de 2008. Por la cual se establecen las normas y estándares de emisión admisibles de contaminantes a la atmósfera por fuentes fijas y se dictan otras disposiciones*. Obtenido de <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=31425>
- MAVDT. (2008). *Resolución 910 de 2008. Por la cual se reglamentan los niveles permisibles de emisión de contaminantes que deberán cumplir las fuentes móviles terrestres, se reglamenta el artículo 91 del Decreto 948 de 1995 y se adoptan otras disposiciones*. Obtenido de <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=31146>
- Muñoz, M. R. (2012). Efecto del medio de cultivo sobre el crecimiento y el contenido proteico de *Chlorella vulgaris*. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25(3), 438-449. Obtenido de <http://aprendeonline.udea.edu.co/revistas/index.php/rccp/article/view/324788>

OMM. (2013). *The Global Climate 2001-2010: a decade of climate extremes - Summary Report*.

Obtenido de

https://library.wmo.int/index.php?lvl=notice_display&id=15110#.XTPOLnt7mM8

OMM. (2017). *Declaración sobre el estado del clima mundial en 2016*. Obtenido de Biblioteca de la OMM - Exposición de publicaciones:

https://library.wmo.int/opac/doc_num.php?explnum_id=3516

OMM, OMS. (2013). *Atlas de la Salud y del Clima*. Obtenido de Biblioteca de la OMM -

Exposición de publicaciones: https://library.wmo.int/pmb_ged/wmo_1098_es.pdf

Oscanoa, A. Y. (2015). Impacto del CO₂ sobre la densidad celular en seis cepas de microalgas marinas. *Revista ION*, 28(2), 23-32. Obtenido de

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-

[100X2015000200003&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-100X2015000200003&lng=es&nrm=iso)

Pérez, A. L. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de biología marina y oceanografía*, 49(2), 157-173. Obtenido de <https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0718->

[19572014000200001&script=sci_arttext&tlng=pt](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0718-19572014000200001&script=sci_arttext&tlng=pt)

Pirkarami, A. O. (2017). Removal of dye from industrial wastewater with an emphasis on

improving economic efficiency and degradation mechanism. *Journal of Saudi Chemical*

Society, 21, S179-S186. doi:10.1016/j.jscs.2013.12.008

PNUD. (3 de Noviembre de 2016). *IDEAM y PNUD presentan Inventario Nacional de*

Emisiones de Gases de Efecto Invernadero. Obtenido de

<http://www.co.undp.org/content/colombia/es/home/presscenter/articles/2016/11/03/ideam>

[-y-pnud-presentan-inventario-nacional-de-emisiones-de-gases-de-efecto-](http://www.co.undp.org/content/colombia/es/home/presscenter/articles/2016/11/03/ideam)

[invernadero.html](http://www.co.undp.org/content/colombia/es/home/presscenter/articles/2016/11/03/ideam)

- Radmann, E. C. (2011). Isolation and application of SO_x and NO_x resistant microalgae in biofixation of CO₂ from thermoelectricity plants. *Energy Conversion and Management*, 52, 3132-3136. doi:doi:10.1016/j.enconman.2011.04.021
- Riebeek, H. (3 de Junio de 2010). *Global Warming*. Obtenido de Earth Observatory: <https://earthobservatory.nasa.gov/Features/GlobalWarming/printall.php>
- Santacoloma, L. (2011). Las dietas en las emisiones de metano durante el proceso de rumia en sistemas de producción bovina. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 2(1), 55-64. doi:http://dx.doi.org/10.22490/21456453.913
- Sherwood, B. (2005). *Environmental Geochemistry* (Vol. 9). ELSEVIER. Obtenido de https://books.google.com.co/books?id=_NdjXZ4IU0EC&printsec=frontcover&source=gs_b_s_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Sierra, S. C. (2015). Estrategias de adaptación al cambio climático en dos localidades del municipio de Junín, Cundinamarca, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 6(1), 227- 237. doi:http://dx.doi.org/10.22490/21456453.1282
- Signor, D. P. (2013). Nitrous oxide emissions in agricultural soils: a review. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 43(3), 322 - 338. doi:10.1590/S1983-40632013000300014
- Uggetti, E. S. (2018). CO₂ addition to increase biomass production and control microalgae species in high rate algal ponds treating wastewater. *Journal of CO₂ Utilization*, 28, 292 - 298. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212982018306127>
- UNEP. (2016). *The Emissions Gap Report 2016*. Obtenido de <http://uneplive.unep.org/theme/index/13#egr>
- Universidad de los Andes. (2008). *Fundamentos de contaminación del aire* . Obtenido de Conceptos generales, definiciones y política ambiental:

<http://www.metropol.gov.co/CalidadAire/lsdocCalidadAire/Fundamentos%20de%20contaminacion%20del%20aire.pdf>

- Vega, G. O. (2014). Almacenamiento de carbono en arreglos agroforestales asociados con café(*Coffea arabica*) en el sur de Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 5(1), 213-221. doi:<http://dx.doi.org/10.22490/21456453.956>
- Vélez, P. P. (1997). *Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos*. Chinchiná, Caldas.: Cenicafé.