

**ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE BIOFIJACIÓN DE CO<sub>2</sub> DE UNA LAGUNA  
ALGAL DE ALTA TASA EN CONDICIONES DEL TRÓPICO**

**Víctor Alfonso Cerón Hernández, 1988**

**Biólogo**

**UNIVERSIDAD DEL VALLE  
MAESTRIA EN INGENIERIA  
ESCUELA DE INGENIERIA DE RECURSOS NATURALES Y DEL  
AMBIENTE  
AREA ACADEMICA DE INGENIERIA SANITARIA Y AMBIENTAL  
SANTIAGO DE CALI  
2014**

**ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE BIOFIJACIÓN DE CO<sub>2</sub> DE UNA LAGUNA  
ALGAL DE ALTA TASA EN CONDICIONES DEL TRÓPICO**

**Víctor Alfonso Cerón Hernández**

**Biólogo**

**Trabajo de Grado para optar al Título de  
Maestría en Ingeniería, con énfasis en Ingeniería Sanitaria y Ambiental.**

**Director**

**Carlos Arturo Madera, MSc, Ph.D(C).**

**Codirector:**

**Miguel Ricardo Peña Varón, MS.c, Ph.D**

**Asesor:**

**Juan Pablo Silva, MSc, PhD (C).**

**UNIVERSIDAD DEL VALLE  
MAESTRIA EN INGENIERIA  
ESCUELA DE INGENIERIA DE RECURSOS NATURALES Y DEL  
AMBIENTE  
AREA ACADEMICA DE INGENIERIA SANITARIA Y AMBIENTAL  
SANTIAGO DE CALI  
2014**

## **DEDICATORIA**

Quiero agradecer a Dios por darme la sabiduría necesaria para afrontar los retos que la vida me ha puesto.

Así mismo, quiero dedicar este trabajo de investigación a mi familia. Mi madre, María del Carmen Hernández Media, que con su ejemplo y rectitud, me enseñó que la vida no es fácil. Sin embargo, eso no es excusa para la mediocridad. A mi hermano, Carlos Javier Castro Hernández, quien ha sido mi figura paterna y me ha enseñado a que a pesar de las adversidades toca seguir adelante en la Vida.

Por último, Quisiera dedicar este trabajo a mi futuro Hijo, Lian Daniel Cerón Espinosa, que sin haber nacido aún, me ha enseñado que la vida es el regalo más valioso que Dios nos da. Espero que cuando seas adulto leas estas palabras, te sientas orgulloso de tu padre; que se exigió para ser excelente.

## **UBICACIÓN**

Para futuras consultas con los autores del trabajo:

Ms.C- Víctor Alfonso Cerón Hernández- [victor.a.ceron@correounivalle.edu.co](mailto:victor.a.ceron@correounivalle.edu.co)

Ph. D. Carlos Arturo Madera Parra- [carlos.a.madera@correounivalle.edu.co](mailto:carlos.a.madera@correounivalle.edu.co)

Ph. D. Miguel Peña Varon- [miguel.pena@correounivalle.edu.co](mailto:miguel.pena@correounivalle.edu.co)

## TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	13
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.....	14
3. MARCO TEÓRICO .....	17
3.1 Lixiviados .....	17
3.2 Lagunas algales de alta tasa .....	18
3.3 Fijación de CO <sub>2</sub> .....	21
3.4 Eliminación de Metales pesados con microalgas.....	22
4. OBJETIVOS .....	24
4.1 Objetivo general.....	24
4.2 Objetivos específicos .....	24
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
5.1 Zona de estudio .....	24
5.2 Acople tecnológico y laguna de algas de alta tasa.....	24
5.2.2.1 Arranque del sistema algal .....	27
5.3 Puntos de muestreo .....	28
5.3.1 Instalación de estación meteorológica .....	28
5.4 Metodología por objetivo.....	28
5.4.1 Objetivo 1 .....	28
5.4.1.1 Monitoreo de variables Físicoquímicas.....	28
5.4.1.2 Balance de masa para determinar la tasa de fijación de CO <sub>2</sub> -.....	30
5.4.1.2.1 Calculo de los diferentes componentes del balance de masa .....	30
5.4.1.2.2 Calculo de Flux de Gas.....	31
5.4.1.2 Experimentó adicionales .....	33
5.4.1.2.1 Inyección de CO <sub>2</sub> al sistema.....	33
5.4.1.2.2 Determinación del flujo hidráulico superficial del reactor .....	33
5.4.2 Objetivo 2 .....	34
5.4.2.1 Toma y Análisis de muestras Biológicas .....	34
5.4.2.1.1 Toma y preservación de muestras de Algas .....	34
5.4.2.1.2 Procesamiento e identificación de microalgas.....	34
5.4.2.1.3 Determinación de especies .....	34
5.4.2.2 Prueba adicionales.....	34

5.4.2.2.1	Identificación de especies algales con técnicas moleculares.....	34
5.4.2.2.2	Determinación exploraría de bacterias mediante la técnica molecular de FISH .....	35
5.4.3	Objetivo 3 .....	35
5.4.3.1	Toma de muestra de metales .....	35
5.4.3.2	Medición de un metal pesado.....	35
5.6	Aplicación de técnicas estadísticas para análisis de resultados .....	35
5.6.2.1	Análisis de la eficiencia de eliminación mediante test de Friedman.....	36
5.6.2.2	Análisis de Flux.....	37
5.6.2.3	Análisis estadístico del metal ( $Cr^{6+}$ ).....	37
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	38
6.1	Resultados del Objetivo 1 .....	38
6.1.1.1	Comportamiento de los parámetros tomados “In situ” en la matriz agua... 42	
6.1.1.1.1	Temperatura.....	43
6.1.1.1.2	Oxígeno Disuelto y Clorofila a.....	43
6.1.1.1.3	pH.....	44
6.1.2.1	Calculo de los componentes del balance de masa.....	45
6.1.2.2	Relación $CO_2$ y la Clorofila a, durante el ciclo diurno .....	47
6.1.2.3	Monitoreo de las variables fisicoquímicas .....	48
6.1.2.3.1	Comportamiento de la Materia orgánica .....	49
6.1.2.3.2	Comportamiento de Nitrógeno .....	50
6.1.2.3.3	Comportamiento de Fosforo.....	52
6.1.2.3.4	Generación de Biomasa-productividad .....	53
6.1.2.3.5	Eliminación de contaminantes (Materia orgánica y nutrientes) .....	54
6.1.2.3.6	Análisis estadístico del desempeño del sistema. ....	56
6.1.2.3.6.1	Validación del supuesto de Normalidad .....	56
6.1.2.3.6.2	Resultado del test de Friedman para las concentraciones.....	57
6.1.2.3.6.3	Resultado del test de Friedman para las eliminaciones .....	57
6.1.3.1	Flux de $CO_2$ .....	58
6.1.3.1.1	Test de Wilcoxon.....	61
6.1.3.2	Experimento exploratorio.....	61
6.1.3.2.1	Adición de $CO_2$ al sistema.....	61
6.1.3.3	Variación de altura de la laguna y reducción del color. ....	63
6.1.3.4	Determinación cualitativa del flujo superficial de agua en el reactor. ....	64

6.2 Resultados del objetivo 2 .....	66
6.2.2.1 Identificación molecular .....	69
6.2.2.2 Técnica de FISH (Hibridación in situ fluorescente) para identificación de bacterias generales y las asociadas al ciclo del nitrógeno. ....	70
6.2.2.3 Relación exploratoria algal/bacteria .....	74
6.2.2.4 Posible producción de biocombustibles .....	75
6.3 Resultados del objetivo 3 .....	76
6.3.1 Eliminación de Cr <sup>6+</sup> .....	76
6.3.2 Resultados estadísticos en la eliminación del Cr <sup>6+</sup> .....	79
7. CONCLUSIONES .....	79
8. RECOMENDACIONES .....	81
9. AGRADECIMIENTOS .....	81
10. RESULTADOS DERIVADOS DE LA INVESTIGACION .....	82
10.1 Escritura de artículos científicos, sometidos y en proceso de sometimiento .....	82
10.2 Artículos en preparación. ....	82
10.3 Presentación de ponencias en eventos de alta impacto. ....	82
10.4 Pasantías internacionales. ....	83
10.5 Establecimiento de cooperación institucionales internacional .....	83
11. LITERATURA CITADA .....	83
12 ANEXOS .....	97
Arranque del sistema .....	99

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los lixiviados de rellenos sanitarios según la edad del relleno sanitario. ....	17
Tabla 2. Tecnologías de tratamiento aplicadas en lixiviados .....	17
Tabla 3. Rendimiento en el tratamiento de lixiviados empleando Humedales Construidos de Flujo Horizontal. ....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Tabla 4. Características principales de las Lagunas algales de alta tasa .....	18
Tabla 5 Característica de la laguna algal de alta tasa .....	25
Tabla 6. Sitio, frecuencia y Parámetros físico y químicos medidos en la matriz agua, en la LAAT .....	29
Tabla 7. Horas de medición del Flux en el sistema algal. ....	31
Tabla 8. Parámetros fijos para el cálculo de Flux .....	33
Tabla 9. Eficiencias de eliminación evaluadas para cada una de las determinadas en el sistema algal de alta tasa .....	36
Tabla 10. Datos promedio meteorológicos de la zona de estudio. ....	38
Tabla 11. Temperatura del Agua, Concentración de Oxígeno Disuelto (OD), Potencial de Oxidoreducción (Pot Redox), Conductividad Eléctrica (CE), Clorofila <i>a</i> , Caudal (Q) y pH, del sistema completo. ....	40
Tabla 12. Valores promedio de cada uno de los componentes del balance de masa.....	45
Tabla 13. Concentraciones promedio en cada hora, durante el tiempo de evaluación diaria de CO <sub>2</sub> y Clorofila <i>a</i> durante horas diurnas en el reactor algal de alta tasa. ....	47
Tabla 14. Características fisicoquímica del sistema completo y porcentaje de eliminación.....	48
Tabla 15. Productividad de algas y productividad de biomasa del sistema algal de alta tasa, comparando sin la adición de CO <sub>2</sub> y con la adición de CO <sub>2</sub> . ....	54
Tabla 16. Validación del supuesto de normalidad bajo un diseño de Bloques (Análisis de los Residuales). ....	56
Tabla 17. Validación del supuesto de normalidad bajo un diseño de Bloques (Análisis de los Residuales). ....	56
Tabla 18. Resultados del Test de Friedman para las concentraciones de los parámetros bajo estudio, utilizando un $\alpha=0,05$ . ....	57
Tabla 19. Resultados del Test de Friedman para las concentraciones de los parámetros bajo estudio utilizando un $\alpha=0,05$ . ....	57
Tabla 20. Resultados del Test de Friedman para la eficiencia de eliminación de los parámetros bajo estudio utilizando un $\alpha=0,05$ . ....	58
Tabla 21. Resultados del Test de Friedman para la eficiencia de remoción de los parámetros bajo estudio utilizando un $\alpha=0,05$ . ....	58
Tabla 22. Número de pelotas utilizadas en la determinación cualitativa del flujo.....	65
Tabla 23. Organismos microalgales identificados en el sistema algal de Alta tasa, después del periodo de estabilización. ....	67
Tabla 24. Identificación molecular de especies del sistema algal de alta tasa. ....	70
Tabla 25. Confirmación de las sondas utilizadas para grupos bacterianos. ....	70
Tabla 26. Posibilidad de producción de lípidos, empleando especies reportadas en la investigación. ....	76
Tabla 27. Resultados del Test de Rangos con Signo de Wilcoxon para las concentraciones de Cr <sup>6+</sup> , utilizando un $\alpha=0,05$ . ....	79

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema general de una Laguna Algal de Alta Tasa. Fuente: Broekhuizen et al. (2012).....	19
Figura 2. Ubicación del municipio de San Pedro -Vista panorámica del Relleno .....	24
Figura 3. Esquema general de la planta piloto.....	25
Figura 4. Diseño final de la laguna algal de alta tasa (sin escala) .....	25
Figura 5. Proceso de construcción del sistema piloto. <i>a.</i> Demarcación de la sección en terreno, para la construcción del sistema piloto completo. <i>b.</i> Construcción inicial del sistema piloto. <i>c.</i> Fase 2 de construcción. <i>d.</i> Fase final del sistema piloto.....	26
Figura 6. Proceso de instalación de la Laguna algal de alta tasa. <i>a.</i> Laguna piloto antes de la instalación definitiva. <i>b.</i> Instalación del sistema algal de alta tasa. <i>c.</i> Arranque del sistema. <i>d.</i> Puesta en funcionamiento del sistema algal de alta tasa. ....	27
Figura 7. Montaje final de la Laguna algal de alta tasa. ....	27
Figura 8. Puntos de muestreo .....	28
Figura 9. Medición de Flux, utilizando una cámara estática. ....	31
Figura 10. Toma de muestra de Gas en la cámara estática. ....	32
Figura 11. Comportamiento de la biomasa algal durante el tiempo la investigación.....	39
Figura 12. Radiación Solar en $W.m^{-2}$ en la zona de estudio, en días sin nubosidad. ....	41
Figura 13. Relación de la Clorofila <i>a</i> y la radiación solar $W.m^{-2}$ . ....	41
Figura 14. Comportamiento del Oxígeno disuelto. ....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 15. Comportamiento de la Temperatura.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 16. Relación entre la concentración de Oxígeno disuelto y la Clorofila <i>a</i> . ....	44
Figura 17. Comportamiento del pH en cada punto del sistema.....	45
Figura 18. Cantidad de Carbono fijado por el sistema durante el tiempo de experimentación. En el eje X, los meses de monitoreo. En el Eje Y principal la Fijación por fotosíntesis. El eje Y secundario la cantidad de Carbono en el reactor. ....	46
Figura 19. Comportamiento de la concentración de $CO_2$ y Clorofila <i>a</i> . ....	48
Figura 20. Concentración cualitativa de la Clorofila <i>a</i> en cada punto del bioreactor de algas. <i>a</i> entrada. <i>b</i> Punto medio y <i>c</i> salida.....	48
Figura 21. Comportamiento de la DQO total en el sistema.....	50
Figura 22. Comportamiento de la DQO filtrada en el sistema .....	50
Figura 23. Comportamiento del N en el reactor.....	52
Figura 24. Comportamiento del N-Filtrado en el reactor. ....	52
Figura 25. Relación entre los SST, SSV y la Biomasa algal. ....	53
Figura 26. Porcentajes de carga eliminada de cada uno de los parámetros determinados. ....	55
Figura 27. Relación entre SST/SSV en el reactor. ....	56
Figura 28. Comportamiento del Flux de $CO_2$ en el reactor. ....	59
Figura 29. Flux de $CO_2$ para las horas diurnas (10 y 12 horas).....	60
Figura 30. Flux de $CO_2$ para las horas nocturnas (18 y 20 horas).....	61



Figura 31. Inyección de CO <sub>2</sub> al sistema algal de alta tasa. <i>a</i> Inyección de CO <sub>2</sub> , empleando un sistema de Cilindro y manueras. <i>b</i> Burjeo del gas. <i>c</i> Cambio de coloración un verde definido. ....	62
Figura 32. Cambio cualitativo del color y en la concentración en biomasa en la matriz líquida durante el ensayo con adicción de CO <sub>2</sub> . ....	62
Figura 33. Comparación de la concentración de Clorofila <i>a</i> , en la laguna algal con y sin aplicación de CO <sub>2</sub> . ....	63
Figura 34. Observación cualitativa del color del agua del reactor algal a mitad de la experimentación.....	64
Figura 35. Esquema general del diseño de la pelota que determino el flujo superficial del reactor. ....	64
Figura 36. Proceso de determinación del flujo del reactor. ....	65
Figura 37. Esquema general del flujo superficial de la laguna algal de alta tasa .....	66
Figura 38. Proceso de establecimiento de la comunidad algal del sistema. ....	68
Figura 39. Riqueza de los diferentes grupos algales de en el sistema. ....	69
Figura 40. Hibridación con la sonda NSO1212 (Oxidadoras de Amonio). <i>a</i> . Filtro DAPI (Fluorescencia de ADN, en general). <i>b</i> . Filtro CY3 (Bacterias oxidadoras de Amonio). <i>c</i> . Filtro FAM (Fluorescencia natural de las algas). <i>d</i> . Interacción alga-bacterias (Todos los filtros).....	71
Figura 41. Hibridación con la sonda NTSPA662-Nitrospira-Oxidadora de Nitritos. <i>a</i> . Filtro DAPI (Fluorescencia de ADN, en general). <i>b</i> . Filtro CY3 (Nitrospora). <i>c</i> . Interacción alga-bacterias (Todos los filtros). ....	72
Figura 42. Hibridación con la sonda EUB383-Bacterias Generales. <i>a</i> . Interacción alga-bacterias (Todos los filtros). <i>b</i> . Filtro DAPI (Fluorescencia de ADN, en general). <i>c</i> . Filtro CY3 (Bacterias generales). <i>d</i> . Filtro FAM (Fluorescencia natural de las algas y bacterias).....	73
Figura 43. Hibridación con la sonda Gam 42 <sup>a</sup> ( $\gamma$ Proteobacterias). <i>a</i> . Filtro DAPI (Fluorescencia de ADN) <i>b</i> . Filtro CY3 (Bacterias de la Clase $\gamma$ Proteobacterias). <i>c</i> . Filtro FAM (Fluorescencia). <i>d</i> . Interacción alga-bacterias (Todos los filtros).....	73
Figura 44. Interacción de bacterias oxidadoras del Amonio con una célula algal ( <i>Desmodesmus quadricauda</i> ). <i>a</i> . Interacción bacteriana-célula algal. <i>b</i> . Agrupación de células bacterianas en las proximidades de un posible cloroplasto en el cenobio algal. *Imágenes derivadas del FISH.....	75
Figura 45. Interacción de bacterias con una célula algal ( <i>Chilomonas insignis</i> ). <i>a</i> . Interacción bacteriana-célula algal. <i>b</i> . Agrupación de células bacterianas distribuidas por toda la superficie del alga. *Imágenes derivadas del FISH .....	75
Figura 46. Concentraciones de entrada y salida del sistema durante el tiempo de monitoreo de Cr <sup>6+</sup> .....	77
Figura 47. Porcentaje de eliminación de Cr <sup>6+</sup> .....	78

## Lista de abreviaturas

CO<sub>2</sub>: Dióxido de Carbono

OD: Oxígeno Disuelto

CE: Conductividad Eléctrica

PotRedox: Potencial de Oxido-Reducción

COD: Carbono Orgánico Disuelto

DQO<sub>t</sub>: Demanda Química de Oxígeno-Total

DQO<sub>f</sub>: Demanda Química de Oxígeno-Filtrada

DBO<sub>5</sub>: Demanda Bioquímica de Oxígeno

NTK<sub>t</sub>: Nitrógeno Total Kjeldahl-Total

NTK<sub>f</sub>: Nitrógeno Total Kjeldahl-Filtrada

N-NH<sub>4</sub>Total: Nitrógeno Amoniacal-Total

N-NH<sub>4</sub>filtrado: Nitrógeno Amoniacal-Filtrado

N-NO<sub>3</sub>: Nitratos

SSV: Sólidos Suspendidos Volátiles

SST: Sólidos Suspendidos Totales

CVC: Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca

LAAT: Laguna Algal de Alta Tasa

PCR: Polymerase Chain Reaction (Reacción en cadena de la polimerasa)

## RESUMEN

Se denominan sistemas de algal de alta tasa por la mejora en el rendimiento o productividad en la biomasa y en la capacidad de tratamiento de aguas residuales. En este, la fotosíntesis es un proceso fundamental, en donde las algas verdes y cianobacterias reducen el  $\text{CO}_2$  a expensas del agua con la energía solar capturada por los pigmentos clorofílicos. Con base a estos conceptos se diseñó y construyó un sistema algal de alta tasa que recibía una carga volumétrica de  $6.5 \text{ gr m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$  y un caudal promedio de  $0,1 \text{ m}^3 \text{d}^{-1}$  provenientes de un acople tecnológico (Laguna anaerobia de alta tasa + Humedal de Flujo Sub-superficial) para el tratamiento de lixiviado de relleno sanitario. En este sistema se monitoreo variables fisicoquímicas como pH, Oxígeno Disuelto (OD), Conductividad Eléctrica (CE) y Potencial de Oxido-reducción (PotRedox) empleando una sonda multiparametrica WTW Modelo 340i. La Clorofila *a* se determinó empelando un Fluorometro AquaFluorTMTuner y de estableció la productividad en biomasa. Así mismo, semanalmente se determinó COD (Carbono Orgánico Disuelto), Alcalinidad, Fosfatos ( $\text{PO}_4\text{-P}$ ), DQO total y filtrada (Demanda Química de Oxígeno), NTK (Nitrógeno Total Kjeldahl),  $\text{N-NH}_4$  (Nitrógeno Amoniacal),  $\text{N-NO}_3$  (Nitratos) y Cromo IV ( $\text{Cr}^{+6}$ ) durante el periodo de Enero-Julio de 2013. El potencial de Fijación de  $\text{CO}_2$  de las algas se determinó mediante balances de masa. Por otro lado, se determinó hasta la taxa más específica posible las células algales establecidas, empleando técnicas de microscopia clásica (Taxonomía) y métodos moleculares (DGGE y Secuenciación). Para el análisis de los datos recolectados durante el periodo de muestreo se empleó un test de Friedman y el Test de Wilcoxon, para analizar los Flux de gas y las concentraciones de entrada y salida del Cromo VI. Según el análisis de las variables físicas, el sistema se comportó como un sistema aerobio, presentando todas las condiciones para que se genera un fotooxidación de los compuestos orgánicos e inorgánicos, alcanzando concentraciones de oxígeno disuelto superiores a  $20 \text{ mgL}^{-1}$ , niveles de pH superiores a 8 y potenciales redox superiores a 300 mV. Estas condiciones, permitieron un crecimiento algal similar a lo reportado por otros sistemas. Alcanzando una productividad de  $7.2 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{día}^{-1}$  de biomasa algal, valor que puede considerarse alto considerando que la unidad estaba tratando lixiviado de relleno sanitario. Por otro lado el sistema alga de alta tasa, presentó una buena eliminación de NTK filtrado,  $\text{N-NH}_4$  Filtrada y Nitratos con 38.4 %, 36.7 % y 25 % en carga aplicada, respectivamente. El ortofosfato ( $\text{P-PO}_4^{-2}$ ) por su parte, presentó una eliminación del 8,2 % siendo alta según los reportes para esta clase de sistemas. En términos de materia orgánica el bioreactor obtuvo una eficiencia de eliminación de 71 % en  $\text{DBO}_5$  y 31.5 % de DOQ filtrada. La cantidad de carbono fijado por la las algas a través de la Fotosíntesis en el reactor durante el tiempo de la experimentación, fue de  $26.1 \text{ g de C d}^{-1}$  y  $-18.1 \text{ g de C} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ , valores similar a lo reportado por en otros estudios. Mediante el Test de Friedman se encontraron diferencias significativas en las variables como materia orgánica (COD, DQOF) y nitrógenos (NTK, NTKF,  $\text{N-NH}_4$ ,  $\text{N-NO}_3$ ) dado que el valor-p es menor que 0.05, siendo la entrada la que más diferencias tenía con respecto a los demás puntos de muestreo, comprobando así que el sistema algal de alta tasa

realizó una transformación de los contaminantes. Así mismo, se encontraron diferencias significativas ( $p$ -valor  $< 0.05$ ) en los flux diurnos y nocturnos, demostrando estadísticamente que el sistema tiene dos comportamientos en términos del  $\text{CO}_2$ , el cual depende de la luz solar. Respecto al Cromo hexavalente, la laguna alcanzó una eliminación superior al 80 % y diferencias significativas ( $p$ -valor  $< 0.05$ ) en las concentraciones de este metal en la entrada y salida del sistema. Al presentarse una mayor concentración a la entrada del sistema. Esta eliminación o retención del Cromo hexavalente, se pudo haber presentado por procesos mediados por la actividad fotosintética y microorganismos presentes mediante adsorción física, intercambio de iones y quimiosorción, precipitación química, reacciones redox o cristalización en la superficie celular, entre otros mecanismos. En lo relacionado a la identificación de organismos algales y bacterias del sistema, se encontraron 16 especies algales diferentes, de estos 10 pertenecen a la Clase Chlorophyceae, dos a la Chlamydomphyceae y dos a la Cryptophyceae. De estas especies, se encontró que para *Chilomonas insignis* y *Chroomonas coerulea* no existen reportes científicos de la presencia de estos organismos en este tipo de unidades tratando aguas residuales. Por otro lado, se determinó la presencia de bacterias pertenecientes a consorcios de oxidadoras de Nitritos y Amonio, quienes guardan una posible relación comensalista con los grupos algales en el sistema. En conclusión a pesar de que se trató de un residuo muy complejo y heterogéneo como lo es el lixiviado de relleno sanitario, el sistema algal de alta tasa operó durante el periodo del estudio sin grandes inconvenientes, presentado unas adecuadas eficiencias de eliminación de contaminantes (materia orgánica, nutrientes, Cr VI) y aportando grandes beneficios con la bio-fijación de  $\text{CO}_2$ .

## 1. INTRODUCCIÓN

La mala disposición de los residuos sólidos, la lluvia, el manejo inadecuado del relleno sanitario y entre otros factores, favorecen la producción de lixiviados, los cuales son un agua residual compleja generada cuando el contenido de humedad o agua de los residuos sólidos del relleno es mayor a la capacidad de campo del sitio del relleno (Lin & Chang 2000; Wiszniewski et al. 2006; Renou et al. 2008; Ahmed & Lan 2012). La presencia de agua permite una combinación de procesos físicos, químicos y microbiológicos para transferir contaminantes del residuo sólido al líquido, resultando así la formación del lixiviado (Lei et al. 2007). Este residuo sin tratamiento contribuye al deterioro de la calidad de los cuerpos hídricos, además de ser de gran riesgo a la salud de la población. El volumen de este líquido tiende a aumentar debido a varios factores, el crecimiento acelerado y desorganizado de la población urbana, quienes aportan más residuos sólidos, las lluvias y la acumulación de lixiviados por falta de un tratamiento adecuado. Además de estos, factores técnicos como, un mal manejo del relleno sanitario, mala compactación, tipo de residuo enterrado y un terreno inadecuado (SSPD 2011).

Para intentar mitigar los efectos negativos de los lixiviados se han propuesto alternativas tecnológicas para su tratamiento, como los humedales construidos, las lagunas de estabilización y algales siendo el principio fundamental para el tratamiento la actividad biológica, donde se da una simbiosis entre bacterias y microalgas, lo que permite la eliminación de diversos contaminantes como, metales pesados, nutrientes, materia orgánica, algunos compuestos xenobioticos y otros contaminantes. Así mismo, es posible el mejoramiento en las condiciones fisicoquímicas generales del agua antes de ser vertida a una fuente receptora (Rawat et al. 2011). En este orden de ideas, el sistema de laguna algal de alta tasa presenta ventajas tales como: no generar contaminación adicional, ya que la biomasa puede ser cosechada, permitiendo un efectivo reciclaje de nutrientes (Peña et al. 2005; Day & Benson 1999); es de bajo costo; y no requiere de equipos complejos para su funcionamiento y mantenimiento (Craggs et al. 2012), se puede utilizar como un sistema que captura CO<sub>2</sub>, la biomasa de algas producidas y cosechadas a partir de estos sistemas se podrían convertir a través de diversos métodos en biocombustibles (Park & Craggs 2011a).

Las algas involucradas en estos sistemas biológicos son utilizadas para la biorremediación de contaminantes, empleando configuraciones como las lagunas algales de alta tasa, que proporcionan las mejores condiciones en la estabilización de aguas residuales domésticas, industriales y lixiviados, pues la fotosíntesis como principal proceso biológico de las algas, produce oxígeno, que es a su vez utilizado para la actividad de transformación/degradación bacteriana (Craggs et al. 2002). Adicional a la opción de un tratamiento, también contribuyen en la mitigación de los efectos producidos por el exceso de CO<sub>2</sub> en la atmósfera. Se estima que para el 2009 se emitieron 5,505.2 millones de toneladas métricas de CO<sub>2</sub> a la atmósfera en promedio (EPA 2011), lo que representó aproximadamente el 68 % del total de emisiones de gases de efecto invernadero producidas antropogénicamente (S. Ho et al. 2011). Seguramente esa cifra tenderá hacia el aumento con el crecimiento de la población mundial que supera los 7000 millones de habitantes (UNFPA 2011).

Para dar solución parcial al exceso de CO<sub>2</sub> que se encuentra en la atmósfera, se han planteado utilizar las microalgas como estrategia de control de este gas de efecto de invernadero, al tener uno de los más eficientes procesos naturales de biofijación de CO<sub>2</sub>, la Fotosíntesis (Tang et al. 2011). Estos organismos presentan una serie de

características que los hacen muy atractivos como una posible solución al aumento de concentración de CO<sub>2</sub> en la atmosfera, en comparación con los cultivos terrestres, pues el requerimiento de nutrientes para su crecimiento es simple (nitrógeno, una fuente de fosfato, trazas de metales, agua, CO<sub>2</sub> y luz solar) (Mata et al. 2010). Estos son similares a lo que necesitan las plantas terrestres, pero la diferencia fundamental se encuentra en el uso eficiente del agua por parte de las microalgas. Sin embargo, un argumento en contra de estos sistemas son los altos requerimientos de área superficial, pero esta puede estar destinada para cultivos o alguna otra actividad agrícola, comercial o productiva (Chelf et al. 1994). Sin embargo, este argumento pierde peso, ya que los cultivos algales son igualmente una alternativa productiva.

Esta investigación hizo parte del proyecto de investigación titulado “Eco-Tecnología Para La Biorremediación De Lixiviados De Rellenos Sanitarios: Acople Tecnológico Laguna Anaerobia de Alta Tasa Y Humedal Construido de Flujo Sub-Superficial” financiado por la Universidad del Valle y el instituto UNESCO-IHE de Holanda, a través del proyecto EVOTEC con fondos del programa DUPC. Este proyecto de investigación se realizó en las instalaciones del Relleno Sanitario de BugaAseo, en el municipio de San Pedro, Valle del Cauca. Se tuvo como objetivo principal, evaluar la capacidad de fijación de CO<sub>2</sub> de una laguna algal de alta tasa en condiciones del ambiente tropical americano tratando lixiviado de relleno sanitario a escala piloto. Para esto se construyó un sistema piloto de laguna algal de alta tasa, el cual se les determinó mediante un balance de masa la contribución que tenía las algas en la captura o emisión de CO<sub>2</sub>. Como resultado se obtuvo que la actividad fotosintética neta se presenta durante 5 a 6 horas al día, las cuales generalmente van desde las 10 a las 16 horas, dependiendo de las condiciones de Luz solar. Es en este tiempo que el sistema se comporta como Sumidero de Carbono, y por ende una mayor actividad de las algas, que son las que realizan el tratamiento de los contaminantes.

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN**

El calentamiento global ha llegado a un nivel alarmante, debido al cambio en el medio ambiente a nivel mundial. Industrias relacionadas con la generación de electricidad, procesamiento de gas natural, cemento, hierro y la fabricación de acero, combustión de residuos sólidos urbanos, son los principales contribuyentes de CO<sub>2</sub> en la atmósfera debido a su dependencia de fuentes de carbono como el petróleo, el carbón y el gas natural para cumplir con su requisito de energía (EPA 2011a). Esto ha recibido una gran atención debido a que el CO<sub>2</sub>, es un gas de efecto invernadero; representando el 76,7% (v / v) del total de gases expulsados a la atmosfera (Tang et al. 2011), el cual ha venido aumentando con el incremento de la población mundial (Ramanathan 1988; Stewart & Hessami 2005). Según el reporte del Centro de Análisis de Información de Dióxido de Carbono, las emisiones de CO<sub>2</sub> han aumentado de 3 toneladas métricas en 1.751 a 8.230 toneladas métricas en 2006 (Kumar et al. 2011). Otra fuente de CO<sub>2</sub> proviene de los sistemas de tratamiento de aguas residuales, como los sistemas anaerobios como las lagunas anaerobios y UASB entre otros, pero cuya participación de generación en el ambiente mundial es baja. Sin embargo, la EPA continúa evaluando los diferentes sistemas, actualizando los datos para determinar si su contribución en las emisiones cambia a significativa (Environmental Protection Agency 2011a)

El secuestro estratégico de CO<sub>2</sub> adoptado hasta el momento se puede dividir en sistemas físicos y biológicos. Sin embargo, los medios físicos tienen desventajas tales como:

altos costos asociados al desarrollo de las tecnologías apropiadas, la captura, transporte y almacenamiento de CO<sub>2</sub> (Steenveeldt et al. 2006). Los métodos biológicos de secuestro de CO<sub>2</sub> son una alternativa a los métodos físicos y el uso de microalgas para el secuestro de CO<sub>2</sub> presenta varias ventajas, entre otras: la mitigación de CO<sub>2</sub> que es una de las principales fuente del calentamiento global (Gavrilescu 2005), así como la producción de biocarburantes y otros metabolitos secundarios (Kumar et al. 2011). Por estas razones la implementación de sistemas algales de alta tasa pueden ser una alternativa ventajosa, frente a otras tecnologías, pues tiene una alta tasa fotosintética, permite tratar efluentes contaminados y una alta productividad de biomasa (que se traduce en la reducción de NH<sub>4</sub>) (Oswald & Gotaas 1955; Park et al. 2011).

Otro problema ambiental grave es la producción de lixiviados y su constante aumento, residuo líquido que se caracteriza por presentar como principales componentes materia orgánica, nutrientes, metales pesados, compuestos recalcitrantes y xenobióticos (Monje-Ramirez & Orta de Velásquez 2004; Renou et al. 2008) y su tratamiento inadecuado o la ausencia de este contaminan las matrices agua, suelo y aire (Calvo 2003). Los metales pesados a diferencia de los contaminantes orgánicos, pueden persistir en la naturaleza y dada su disposición en el suelo se puede llegar a predecir su presencia en un horizonte de más de 100 años (Rao et al. 2005). Estos metales pueden ser perjudiciales si se vierten en las corrientes hídricas, convirtiéndose a mediano y largo plazo en un riesgo para la salud humana (Kadrivelu et al. 2001; Obersteiner et al. 2007). Un ejemplo, son las Malformaciones Congénitas, derivadas en la mayoría de los casos por exposición a metales pesados, pesticidas y solventes, los se encuentran en los lixiviados, convirtiendo a este residuo en un agente teratogenico. El cual afecta principalmente a las comunidades que se encuentran cerca de los vertederos y expuestas por largos periodos de tiempo. Sin embargo, esta alteración genética, se presenta si es superado el umbral del efecto teratogenico (Dolk et al. 1998; Méndez et al. 2006).

Los lixiviados al ser desechos líquidos tiene una mayor movilidad en el medio ambiente especialmente en las matrices agua y suelo (Obersteiner et al. 2007), lo que posiblemente podría ocasionar un problema generalizado en salud de la comunidad, generado por el escape de estos en los rellenos sanitarios o su vertimiento sin tratar o parcialmente tratado a fuentes hídricas o el suelo. El volumen de este residuo aumenta rápidamente, debido a los incrementos de las lluvias y constante producción de residuos sólidos, lo que evidencia la necesidad que tiene el ambiente y la sociedad de encontrar alternativas sostenibles para el tratamiento de los lixiviados.

Sin embargo, posterior a algún tipo de tratamiento al lixiviado, se pueden presentar concentraciones de contaminantes que son vertidos a una corriente superficial contaminándola. Desencadenando problemas ambientales como eutrofización de las aguas superficiales, deterioro ambiental, entre otras. Las cuales afectaran la salud de las comunidades circundantes (Konnerup et al. 2009). Es por esto, que se plantea la posibilidad de dar una uso ecológico a estos efluentes con contienen alguna clase de Nutrientes para diversos organismos (Mustafa et al. 2011). Utilizándolos como medio para mantener poblaciones de microalgas, quienes pueden aprovechar los nutrientes presentes en el medio líquido y adicional a esto, tomar CO<sub>2</sub> del ambiente o de sistemas previos de tratamiento y aprovechar su biomasa en la producción de Biocombustibles (Frac et al. 2010), cerrando así el ciclo de tratamiento de aguas residuales. aprovechando el exceso de contaminación que presentan este tipo de aguas (Mara 2004).

Sistemas de tratamiento de lixiviados existen variados métodos y tecnologías, desde los fisicoquímicos como Coagulación – floculación (Monje-Ramirez & Orta de Velásquez 2004; Kurniawan et al. 2006 y Renou et al. 2008), Adsorción (Amokrane et al. 1997; Wiszniowski et al. 2006), Precipitación Química (Altinbas et al. 2002; IzzetOzturk et al. 2003), Air stripping (Martinen et al. 2002; IzzetOzturk et al. 2003), entre otros. Pasando por los biológicos, como aeróbico (LIN & Chang 2000; Renou et al. 2008; H. Li et al. 2009) y anaeróbico (Wiszniowski et al., 2006). Con múltiples sistemas desarrollados para este fin. Sin embargo, muchas de estos métodos y tecnologías, presentan problemas por la complejidad que representa tratar este residuo líquido.

En este estudio se propuso la implementación de una laguna algal de alta que estuvo acoplada a un sistema compuesto por laguna anaerobia de alta + un humedal sub-superficial de flujo horizontal, cuyo objetivo fue evaluar a escala piloto y exploratorio el desempeño de esta tecnología como una barrera de pulimento y determinar la tasa de biofijación de CO<sub>2</sub>. De este tipo de investigaciones, donde explora la contribución de las algas en la captura de CO<sub>2</sub> en reactores abiertos bajo condiciones reales del trópico, hay pocos reportes en la literatura científica. evaluando el efecto que este podría tener en el sistema el cual además de tomar el CO<sub>2</sub>, podría presentar una tratamiento adicional al efluente (Packer 2009) (en términos de eliminar la presencia de contaminantes de la matriz agua, ejemplo nutrientes y metales pesados) y siendo más escasa cuando se ha utilizado efluente de tratamientos biológicos de lixiviados de rellenos sanitarios. Se espera que el sistema presente un buen comportamiento, ya que en trabajos previos realizados en Ginebra, mostraron concentraciones de biomasa algal estaban entre 400-800 µg.L<sup>-1</sup> (Ceron 2011). Así mismo, factores internos o externos como toxinas o inhibidores no han sido un factor que reduce el crecimiento de las algas en estos sistemas abiertos. Estos resultados colocan de manifiesto que una apropiada combinación de especies algales, las variables ambientales propias del trópico y una posible suministro de CO<sub>2</sub> presentan un escenario que contribuya a mitigar la huella de carbono de los sistemas de tratamiento o al menos hacerla neutra y generar combustible verde a partir de las algas.



### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 Lixiviados

La composición de los lixiviados comprende materia orgánica, nutrientes, metales pesados, compuestos recalcitrantes y xenobióticos (Monje-Ramirez & Orta de Velásquez 2004; Renou et al. 2008). Los metales pesados a diferencia de los contaminantes orgánicos, son persistentes en la naturaleza y dada su disposición en el suelo se puede llegar a predecir su presencia en un horizonte de más de 100 años (De Feo & Malvano 2009; Obersteiner et al. 2007), por lo cual tienden a acumularse en distintos nichos de los ecosistemas y son bioacumulados y bioaumentados a medida que se avanza en la red trófica. La Tabla 1 muestra los distintos tipos de lixiviados, según la edad. La Tabla 2 presenta algunos de las tecnologías de tratamiento de lixiviados más empleadas.

**Tabla 1.** Clasificación de los lixiviados de rellenos sanitarios según la edad del relleno sanitario.

	<b>Reciente</b>	<b>Intermedio</b>	<b>Viejo</b>
Edad (años)	<5	5-10	>10
pH	6.5	6.5-7.5	>7.5
DQO (mgL <sup>-1</sup> )	>10,000	4000-10,000	<4000
DBO <sub>5</sub> /DQO	>0.3	0.1-0.3	<0.1
Compuestos orgánicos	80% Ácidos Grasos Volátiles	5-30% Ácidos Grasos Volátiles+ ácidos húmicos y Fúlvicos	Ácidos húmicos y fúlvicos
Metales pesados	Bajo-Medio		Bajo
Biodegradabilidad	Alta	Medio	Bajo

Fuente: (Renou et al. 2008)

**Tabla 2.** Tecnologías de tratamiento aplicadas en lixiviados

<b>Tratamiento</b>	<b>Descripción</b>	<b>Referencia</b>
<b>Fisicoquímico</b>		
<b>Coagulación -floculación</b>	La coagulación-floculación se puede utilizar con éxito en el tratamiento de lixiviados estabilizados y viejos. Se utiliza ampliamente como un pre-tratamiento, previo a un tratamiento biológico o la ósmosis inversa, o como una etapa de un tratamiento final con el fin de eliminar la materia orgánica no biodegradable	(Monje-Ramirez & Orta de Velásquez 2004), (Kurniawan et al. 2006) y (Renou et al. 2008)).
<b>Adsorción</b>	Se utiliza como una etapa integrada al tratamiento químico-físico-biológico de lixiviados de rellenos sanitarios o simultáneamente con un proceso biológico. El adsorbente más utilizado es el carbón activado en polvo o granular, el cual permite la eliminación del 50-70% tanto de DQO como nitrógeno amoniacal, reduciendo hasta el 85% de la DQO en un residuo de 200 mg L <sup>-1</sup> de DQO.	(Amokrane et al. 1997) y (Wiszniewski et al. 2006).
<b>Precipitación Química</b>	Se utiliza ampliamente como pre-tratamiento, con el fin de eliminar la alta resistencia del nitrógeno amoniacal (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N). La precipitación del amonio se hace principalmente con la	(M. Altinbas et al. 2002) y Izzet Ozturk et al.

formación de iones de fosfato de amónico manganeso (MAP (2003). por sus siglas en inglés) con la adición de  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  y  $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ , manteniendo una relación de  $Mg/NH_4/PO_4$  de 1/1/1 a un pH de 8,5-9.

<b>Oxidación Química</b>	Se utiliza para el tratamiento de aguas residuales que contienen materia orgánica soluble (que no se puede retirar físicamente), no biodegradable y / o sustancias tóxicas. Los oxidantes más comúnmente utilizados como Cloro, Ozono, Permanganato de Potasio e Hidrocloruro de Calcio, para el tratamiento de lixiviados de rellenos sanitarios.	(Amokrane et al. 1997) y (Wiszniewski et al. 2006).
<b>Air stripping</b>	Es el método más común para la eliminación de concentraciones altas de $NH_4^+-N$ , que se encuentran generalmente en los lixiviados y extraerlo ayuda para eliminar los contaminantes, que aumentan la toxicidad de las aguas residuales.	(Marttinen et al. 2002) y (Izzet Ozturk et al. 2003)

---

### Biológico

---

<b>aeróbico</b>	Permite una reducción parcial de los contaminantes orgánicos biodegradables y logra la nitrificación del Nitrógeno orgánico. Existen dos procesos aeróbicos, los basados en el crecimiento de biomasa suspendida como las lagunas aireadas, procesos convencionales de lodos activados y reactores Bach en serie y los sistemas de crecimiento adherido recientemente han tenido un mayor interés, principalmente el reactor de biopelícula de lecho móvil y biofiltros.	(LIN & C. C. Chang 2000); (Renou et al. 2008; H. Li et al. 2009).
<b>anaeróbico</b>	Implica la descomposición biológica de la materia orgánica e inorgánica en ausencia de oxígeno molecular. Como resultado de la conversión una variedad de productos finales incluyendo metano ( $CH_4$ ) y el dióxido de carbono ( $CO_2$ ).	Wiszniewski et al., (2006) y (Renou et al. 2008).

---

### 3.2 Lagunas algales de alta tasa

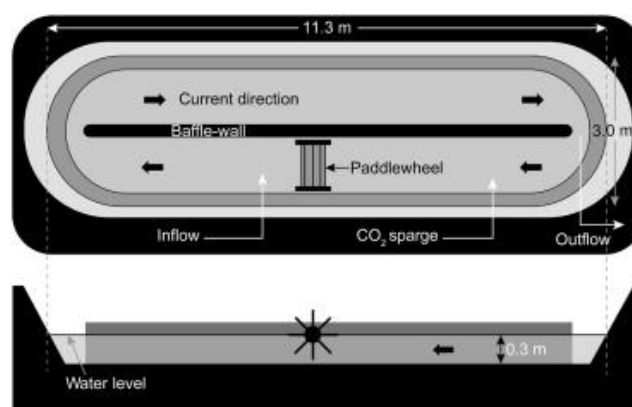
Se denominan sistemas de alta tasa por la mejora en el rendimiento o productividad en la biomasa y en la capacidad de tratamiento de aguas residuales, en comparación con otros sistemas como las lagunas facultativas (García et al. 2000; Valigore 2011), pues su tiempo de retención celular es mucho mayor que el tiempo de retención hidráulico. La Tabla 3 y la Figura 1 muestran las principales características desarrolladas para una sistema algal de alta tasa a de competencia.

**Tabla 3.** Características principales de las Lagunas algales de alta tasa

Característica	Unidad	Referencia
Profundidad	0.2-1 m	(Aguirre et al. 2011),(John R Benemann 2003)(I Rawat et al. 2011)
Largo	2-3 m	(Valigore 2011),(Hadiyanto et al. 2013)

Forma	Abierta y Circular	(Rupert Craggs 2005; William J. Oswald 1990)
Tipo de Mezcla	Continua	(Aguirre et al. 2011)
Tiempo de Residencia Hidráulico	2-8 días	(Rupert Craggs 2005; William J. Oswald 1990)
Tiempo de Residencia Celular	4-13 días	(Park et al. 2013),(Rupert Craggs 2005)
Implementación-usos	Aguas Residuales municipales, industriales y agrícolas.	(Park et al. 2011)
Energía	Luz Solar	(Hadiyanto et al. 2013)

Estos sistemas se han utilizado principalmente para el tratamiento aguas residuales municipales, industriales y agrícolas (Park et al. 2011). Se ven afectados por el ritmo diurno ya que su funcionamiento está sujeto a la actividad fotosintética de las algas en la mezcla y en la columna de agua, lo cual causa variaciones en la concentración oxígeno disuelto (OD) y el pH durante el día (García et al. 2006). La concentración de OD y el pH pueden alcanzar un pico máximo al mediodía y por el contrario en la noche pueden alcanzar valores muy bajos, reportándose períodos anóxicos en la noche, mientras que la concentración de OD al mediodía puede fácilmente sobrepasar los  $20 \text{ mg L}^{-1}$  (Picot et al. 1994).



**Figura 1.** Esquema general de una Laguna Algal de Alta Tasa. Fuente: Broekhuizen et al. (2012)

Así mismo, es una tecnología de bajo costo y mantenimiento, su funcionamiento se basa principalmente en la oxidación de la materia orgánica mediante la oxigenación fotosintética proporcionada por las microalgas presentes en el sistema, las cuales son impulsadas por la energía solar y el  $\text{CO}_2$  disuelto en el agua derivado principalmente de la mineralización de la materia orgánica llevado a cabo por la comunidad microbiana presente (Oron et al. 1979; Godosa et al. 2010). Las algas posteriormente liberan oxígeno por fotosíntesis el cual es utilizado por las bacterias, que también mineralizan nutrientes como nitrógeno y fósforo, aunque también se produce asimilación de la biomasa microalgal (Nurdogan & Oswald 1995) con lo que se consigue un proceso de reciclaje de nutrientes (Oron et al. 1979; Pagand et al. 2000).

Teniendo en cuenta la termodinámica de estos sistemas, se estima que cerca de 300 unidades bacterianas se necesitan para suplir el carbono necesario en forma de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) por unidad algal, esta cifra hace referencia en condiciones ideales. Sin embargo, en condiciones prácticas la relación alga / bacteria es de aproximadamente 1:250, y una fuente alternativa de CO<sub>2</sub> tendría que considerarse para mantener el sistema termodinámicamente en equilibrio. No obstante Oron et al. (1979) reportan que para condiciones favorables de explotación de algas con alta productividad, la relación Alga/Bacteria en sistemas algales de alta tasa puede ser en el orden de 1:100 o incluso superiores y que esta relación puede ser un criterio de funcionamiento de la laguna. Este también puede ser utilizado como guía para generar cambios necesarios para aumentar el crecimiento de algas y mejorar la productividad del sistema y la calidad del efluente.

### **3.2.1 Organismos en lagunas de algas**

Las especies de algas que generalmente se encuentran en sistemas algales de alta tasa para el tratamiento de aguas residuales son: *Desmodesmus* sp., *Micractinium* sp., *Actinastrum* sp., *Pediastrum* sp., *Dictyosphaerium* sp. Y *Coelastrum* sp., estos organismos suelen formar grandes colonias que sedimentan (diámetro: 50 – 200 µm), lo que permite una rentable y sencilla cosecha de la biomasa por gravedad (García et al. 2000; Park et al. 2011; Craggs et al. 2011). Park & Craggs (2010) reportan que los organismos dominantes al evaluar estos sistemas durante 5 meses fueron colonias de *Scenedesmus* sp., *Microactinium* sp. y *Pediastrum* sp., y pocas células observadas de *Ankistrodesmus* sp. las cuales formaron bioflocs de gran tamaño (diámetro: > 500 µm) cuando se adiciono CO<sub>2</sub>, depositándose rápidamente en conos de cosechado cuando el sistema presentaba un tiempo de retención de 12 horas o menos. Este resultado sugiere, que promover el crecimiento de determinadas especies de algas que puedan sedimentar como organismos coloniales y de agregación algal-bacteria podría aumentar la eficiencia y al mismo tiempo facilitar la cosecha de biomasa algal en el efluente.

Experiencias desarrolladas en la Estación de tratamiento de aguas residuales de Ginebra, Valle del Cauca-Colombia, con sistemas algales abiertos (lagunas facultativas mejoradas) mostraron que por procesos naturales a esta matriz líquida migran una cantidad importante de organismos algales entre las que se destacan especies de la taxa Chlorococcal del género *Chlorococcum* sp, así mismo especies de los géneros *Desmodesmus* sp., *Chlamydomona* ssp., *Phacus* sp., *Euglena* sp., *Merismopedia* sp., *Synechococcus* sp., entre otros organismos (Ceron 2011).

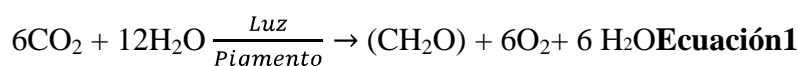
### **3.2.2 Tratamiento de aguas residuales con lagunas algales de alta tasa**

Las lagunas algales de alta tasa facilitan el tratamiento de aguas residuales, proporcionando una estabilización de esta clase de aguas por medio de estanques o lagunas con un crecimiento de algas y una producción de oxígeno alto, mediante una tasa fotosintética elevada, proporcionando un ambiente favorable para que las bacterias realicen la degradación de la materia orgánica (Pagand et al. 2000; Park & Craggs 2010). Esta clase de lagunas se establecen preferiblemente en sitios donde la irradiación solar es constante y así obtener una alta tasa fotosintética por parte de las microalgas presentes. Además del tratamiento biológico, la biomasa producida en algas tiene un uso potencial como alimento, fertilizantes y biofertilizantes y al mismo tiempo contribuye en la captura de dióxido de carbono presente en el medio ambiente (Park & Craggs 2011a). Mustafa et al. (2011) mencionan el escaso uso de una laguna algal de Alta tasa para pulimiento de lixiviados de rellenos sanitarios. Estos autores realizan la primera implementación de esta tecnología en el tratamiento secundario de lixiviados de

un Relleno Sanitario situado en Selangor, Malasia, donde las condiciones climáticas son similares a las de Colombia, por ejemplo una irradiación solar constante.

### 3.3 Fijación de CO<sub>2</sub>

La fotosíntesis es un proceso fundamental que se presenta en sistemas algales de alta tasa, ya que durante este proceso las algas al igual que las plantas verdes reducen a expensas del agua y con la energía solar absorbida por los pigmentos clorofílicos (Steenveeldt et al. 2006), sustratos oxidados como el CO<sub>2</sub>, molécula de la cual obtienen el Carbono. La reacción general es (Stepan et al. 2002):



Donde el termino (CH<sub>2</sub>O) simboliza un hidrato de Carbono, así pues, durante la asimilación del anhídrido de carbono por el alga, la intensidad de la fotosíntesis en las algas dependen de la radiación solar (Mathews & Holde 1998; Guerrero & Barea 1974). Sin embargo la solubilización natural del CO<sub>2</sub> del aire en el agua no es suficiente para satisfacer los requerimientos de este gas en los sistemas de alta tasa, aunque solo sea necesario durante el día, ya que en la noche las algas respiran produciendo CO<sub>2</sub>, por lo cual se ha sugerido el burbujeo de aire en el agua en horas del día. Sin embargo, el aire contiene un 0.0383 % de CO<sub>2</sub> por lo que se necesitaría todo el CO<sub>2</sub> disponible en 37,000 m<sup>3</sup> de aire para conseguir una buena productividad de algas por encima del 1g.L<sup>-1</sup> (FAO 2009; José & Vicente 2010).

Si a la laguna no se le adiciona alguna fuente de carbono, las algas utilizan bajo condiciones fototróficas el CO<sub>2</sub> atmosférico como fuente de carbono para sintetizar compuestos orgánico (Rasineni et al. 2011). No obstante existen varios problemas con este método de cultivo de algas entre los cuales se puede mencionar, la limitación de CO<sub>2</sub> en la atmosfera pues la concentración de este gas es baja (menos de 400 ppm), la suspensión del cultivo de algas es muy superficial (15-30 cm) en las lagunas y por ultimo una alta productividad por área que tienen estos organismos combinado con una tasa relativamente baja de CO<sub>2</sub> desde el aire al agua al estanque genera el decaimiento de la productividad (Putt et al. 2011); pues se estima que se puede obtener sólo el 5% de sus necesidades de carbono de la atmósfera (Stepan et al. 2002), lo que obliga a las microalgas a tomar el carbono de otras fuentes lo que configura un escenario problema al momento de su implementación si se piensa en producción de biomasa, sin embargo se podría obtener un mejor tratamiento pues esta utilizarían el carbono de los contaminantes presentes en el medio acuoso. Por otra parte, la aparición de depredadores y otros organismos heterótrofos de rápido crecimiento, restringe la producción comercial de algas en sistemas abiertos (Singh & Sharma 2012).

Sin embargo, Weissman & Tillett (1992) reportaron que la captura de CO<sub>2</sub> en sistemas lagunares de gran escala, bajo óptimas condiciones de operación, es alta, superando el 80 % (Stepan et al. 2002). Así mismo, Dua et al. (2012), mencionan que se logra una adecuada inyección de CO<sub>2</sub>, utilizando un sistema modificado de inyección de tubo Venturi, lo que mejora la disolución del mismo en lagunas de cultivo a cielo abierto. Esta mejora en la inyección de CO<sub>2</sub>, favorecería el crecimiento de las algas, al tener una eficiencia superior para fijar el CO<sub>2</sub>, que las plantas terrestres, alcanzando eficiencias superiores del 10 a 50%, dependiendo la especie de alga (Singh et al. 2014; Ho et al. 2011). Investigaciones realizadas por Park & Craggs (2011b); Park & Craggs (2010), reportaron como las eficiencia tanto en biomasa como en el tratamiento de aguas

residuales se incrementaba en 40 %, aproximadamente. Por su parte Devi & Mohan (2012), reportaron que en un periodo de tiempo con intervalos de burbujeo (Horas diurnas) de CO<sub>2</sub> influenciaba notablemente el crecimiento en biomasa y la acumulación de lípidos en el crecimiento de algas mixotróficas. Putt et al. (2011) reportan un avance en la forma de transferencia de CO<sub>2</sub> al agua, estos investigadores usaron una columna de carbonatación para la transferencia de masa de CO<sub>2</sub> en lagunas algales de alta tasa. Mostraron que la transferencia de CO<sub>2</sub> en la parte acuosa es del doble de la velocidad, en comparación con la transferencia del burbujeo directo.

### 3.4 Eliminación de Metales pesados con microalgas

Las microalgas y algunos hongos han desarrollado una capacidad de producir péptidos capaces de unirse a los metales pesados. Estas moléculas, forman complejos organometálicos, que son repartidas en el interior de las vacuolas y facilitar un control adecuado de la concentración de iones metálicos en el citoplasma y así prevenir o neutralizar el efecto tóxico del metal (Cobbett & Goldsbrough 2002). En contraste de este mecanismo utilizado por organismos eucariotas, las células procariotas como algunas cianobacterias y bacterias emplean ATP en el flujo de salida de los metales pesados o el cambio enzimático de especiación para lograr la captura (Perales-Vela et al. 2006).

Existen diferentes grupos de organismos que pueden generar péptidos y estos se pueden clasificar en dos categorías. La primera son enzimas sintetizadas o polipéptidos de cadena corta llamados fitoquelatinas (PCs-clase III metalotioninas), las cuales se encuentran en plantas superiores, algas y ciertos hongos. El segundo grupo de proteínas, son codificadas por genes de la clase II de metalotioninas (MTs) (identificados en cianobacterias, algas y plantas superiores) (Cobbett & Goldsbrough 2002) y metalotioninas clase I que se encuentran en la mayoría de los vertebrados y observado también en *Neurospora* y *Agaricusbisporus*, pero en algas no se ha reportado (Thiele 1992), sin embargo la mayoría de estas, se secuenciaron e identificaron de genes de una especie de planta herbácea *Arabidopsis thaliana*.

Por otro lado se ha propuesto la utilización de la biomasa del consorcio alga-bacteria a partir de procesos de tratamiento microalgales, lo cual tendría la capacidad de adsorción de las microalgas con el bajo costo de la biomasa residual bacteriana del tratamiento de aguas residuales. Según Muñoz et al. (2006) la biomasa alga-bacteria tiene un buen rendimiento con respecto a la absorción de Cobre (Cu). Por su parte Loutseti et al. (2009) reporta que la biomasa alga-bacteria presenta una alta afinidad por el Cadmio (Cd) que para los iones de Cromo (Cr). Sin embargo cuando se ha propuesto sistema de tratamiento de efluentes contaminados con metales pesados los arreglos más comunes son Lagunas de Alta Tasa de Algas (Oswald 1988), las cuales emplean la biomasa suspendida que comúnmente son algas verdes (*Chlorella*, *Scenedesmus*, *Cladophora* entre otras), cianobacterias (*Spirulina*, *Oscillatoria*, *Anabaena*) o consorcios de ambos (Perales-Vela et al. 2006). La mayoría de estos estudios son realizados en zonas templadas, lo que limita la información sobre la capacidad de eliminar metales pesados por parte de microalgas nativas en zonas tropicales.

### **3.4.1 Experiencias de sistemas algales implementados en la captura de metales pesados**

El empleo de organismos para la captura o eliminación de metales pesados ha tenido una gran acogida, debido que a la reducción de costos y su alta eficiencia a diferencia de los métodos convencionales.

Dentro de las microalgas de agua dulce utilizadas para la eliminación de iones metálicos se encuentran *Chlorella vulgaris*, *Chlorella kesslerii*, *Scenedesmus quadricauda* y *S. incrassatules* (Perales-Vela et al. 2006; Lourie et al. 2009; Rajfur et al. 2010; Bulgariu & Bulgariu 2012; Cobbett & Goldsbrough 2002; Shpiner et al. 2009). Sin embargo, la mayoría de estos trabajos se han realizado en condiciones experimentales, generalmente empleando reactores tipo batch, en los cuales conocen la concentración del ion metálico brindándole las condiciones para un buen establecimiento de la biomasa de los microorganismos.

Piotrowska-Niczyporuk et al. (2012) reportan la influencia en la aplicación de fitohormonas como las auxinas (IAA, IBA, NAA, PAA), citoquininas (BA, CPPU, DPU, 2iP, Kin, TDZ, Z), giberelinas (GA3), ácido jasmónico (JA), así como también de poliaminas- espermidina (SPD) en el crecimiento y el metabolismo de la microalga *Chlorellavulgaris* (Chlorophyceae) expuestos a estrés de los metales pesados (Cd, Cu, Pb), encontrando que la biosorción de los iones metálicos reduce el crecimiento de la biomasa algal y del metabolismos oxidativo, sin embargo con la aplicación de las fitohormonas auxinas, citoquininas, giberelina y la poliamina hay una mayor resistencia de las algas y aumenta el crecimiento en presencia del metal pesado. A pesar que estos resultados son importantes, las algas fueron cultivados en condiciones constantes en un medio Knop's modificado (pH 6,8) con  $50 \mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  de intensidad de luz y un fotoperiodo de 16:08 h luz / oscuridad a  $25 (\pm 1) \text{ C}$ , lo que limita mucho su aplicación en condiciones naturales, que es donde se encuentra la contaminación real, además la aplicación de una fitohormona a un sistema construido sería muy costoso, pues el volumen que se necesitaría sería alto y no se podría controlar muchas de la variables que se necesitan para su adecuado funcionamiento. En Colombia, son pocos los estudios que involucran el papel de la biota microbiana en el tratamiento de contaminantes ambientales especialmente de metales pesados, los cuales se encuentran en gran concentración en los lixiviados.

**Hipótesis:** En base a la literatura revisada, se plantea que el sistema de alguna algal de alta tasa presentara una capacidad de fijación de  $\text{CO}_2$  eficiente en condiciones del ambiente tropical americano tratando lixiviado de relleno sanitario a escala piloto.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

Evaluar la capacidad de fijación de CO<sub>2</sub> de una laguna algal de alta tasa en condiciones del ambiente tropical americano tratando lixiviado de relleno sanitario a escala piloto.

### 4.2 Objetivos específicos

1. Establecer la tasa de fijación de CO<sub>2</sub> por parte de las microalgas presentes en la laguna algal de alta tasa en condiciones del trópico americano.
2. Determinarla diversidad algal presente en la laguna algal de alta tasa a escala piloto tratando lixiviado de relleno sanitario.
3. Evaluar la capacidad de eliminación de un metal pesado (Cr<sup>+6</sup>) de la laguna algal de alta tasa tratando lixiviado de relleno sanitario.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Zona de estudio

La investigación se llevó a cabo en el marco del proyecto de investigación titulado “Eco-Tecnología Para La Biorremediación De Lixiviados De Rellenos Sanitarios: Acople Tecnológico Laguna Anaerobia de Alta Tasa Y Humedal Construido de Flujo Sub-Superficial” el cual contó con financiación de la Universidad del Valle. La construcción del acople tecnológico a escala piloto se realizó en las instalaciones del relleno sanitario de Presidente, ubicado en el municipio de San Pedro, Valle del Cauca (3°56'01.54" N y 76°26'26.05"O) (Figura 2). En este relleno se disponen aproximadamente 490 t d<sup>-1</sup> de residuos sólidos, donde cerca del 77% es material orgánico y se genera entre 2 y 5 l s<sup>-1</sup> de lixiviado (Bugaseo, 2009).



Figura 2. Ubicación del municipio de San Pedro -Vista panorámica del Relleno

### 5.2 Acople tecnológico y laguna de algas de alta tasa

Las Figuras 3 y 4 muestran el esquema general del sistema piloto completo (Laguna anaerobia de Alta tasa + Humedal superficial de flujo horizontal y Laguna algal de alta tasa) y el plano final de la laguna algal de alta tasa que se evaluó en este estudio, respectivamente. La Tabla 4 muestra las características de la laguna algal de alta tasa, empleada en esta investigación.



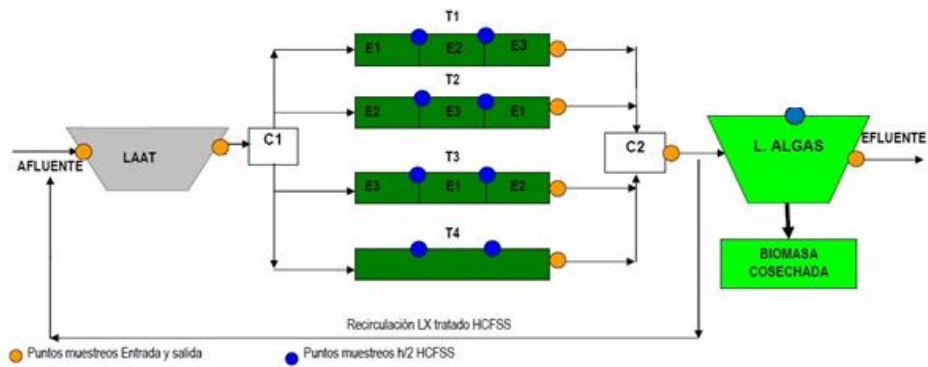


Figura 3. Esquema general de la planta piloto

Tabla 4 Característica de la laguna algal de alta tasa

Forma	Raceway configuration (Ovalo)
Caudal	0,1 m <sup>3</sup> /d
TRH	1 d
COS	6.5 gr/m <sup>2</sup> .d
Volumen	0.28 m <sup>3</sup>
Ancho	0.6 m
Largo	2.4 m
Altura	0.2 m

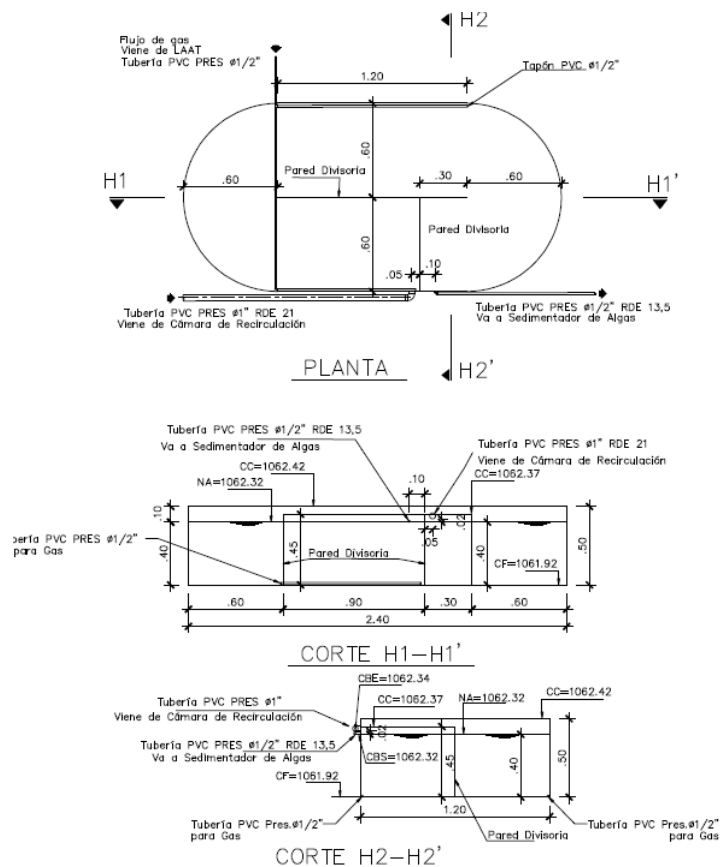


Figura 4. Diseño final de la laguna algal de alta tasa (sin escala).

### 5.2.1 Construcción de la unidad piloto y sistema algal.

La fase construcción de la unidad piloto, tuvo algunos retrasos por la falta de permiso de la empresa que maneja el relleno sanitario de Presidente y por requisitos de la autoridad ambiental (CVC), quienes exigieron la documentación necesaria para que se instalara el sistema completo. Una vez superado este impase, se iniciaron las obras de ingeniería. La Figura 5 muestra el proceso de construcción de la planta piloto. El cual tomo aproximadamente 5 meses desde su inicio hasta la puesta en marcha del mismo.



**Figura 5.** Proceso de construcción del sistema piloto. *a.* Demarcación de la sección en terreno, para la construcción del sistema piloto completo. *b.* Construcción inicial del sistema piloto. *c.* Fase 2 de construcción. *d.* Fase final del sistema piloto.

Así mismo, se construyó en Fibra de Vidrio e instalo la laguna algal de alta tasa. La Figura 6 muestra la laguna terminada antes de su instalación en la planta piloto y durante el proceso de arranque del sistema. Por su parte la Figura 7 muestra el proceso de desarrollo de las diferentes comunidades en la unidad. Esta unidad se evaluó durante 29 semanas, entre los meses de Enero-Julio de 2013.



**Figura 6.**Proceso de instalación de la Laguna algal de alta tasa. *a.* Laguna piloto antes de la instalación definitiva. *b.* Instalación del sistema algal de alta tasa. *c.* Arranque del sistema. *d.* Puesta en funcionamiento del sistema algal de alta tasa.



**Figura 7.**Montaje final de la Laguna algal de alta tasa.

## **5.2.2 Estabilización y puesta en Marcha de la planta piloto**

### **5.2.2.1 Arranque del sistema algal**

Para el arranque de la unidad piloto de la laguna algal de alta tasa, se llenó con agua de permeado (Residuo líquido de la planta de tratamiento de lixiviados que emplea la tecnología de osmosis inversa) a una altura 0.2 m de profundidad en el bioreactor. Desafortunadamente existen pocas experiencias en arranque de esta clase de sistemas, y se siguieron criterios de arranque de una laguna facultativa. Por ende, se esperó entre 7-14 d, tiempo recomendado para el establecimiento de la meta comunidad microbiana

(Mara, 1997). Mendonca (2000) recomienda que el sistema se arranque en época de alta temperatura (verano). Para el caso Colombiano las temperaturas son constantes la mayor parte del año alrededor de los 28°C. En este proceso, se monitoreo el pH, deseando que estuviera en 7.5. En esta etapa, la variable control que indica que el sistema alcanzo una madurez o una estabilidad fue la Biomasa alga calculada según la ecuación 2 (Park & Craggs 2010) la cual se monitoreo cada 3 días durante 3 semanas.

$$Algaebiomass\ mg.L^{-1} = \frac{chlorophyll-a}{1,5} * 100 \text{ Ecuación 2}$$

### 5.3 Puntos de muestreo

Una vez instalada la laguna alga de alta tasa -LAAT, se establecieron los puntos de muestreo, los cuales dependían del parámetro a determinar y la frecuencia de medición. La figura 8 muestra los puntos de muestro definidos para evaluar la unidad, los cuales fueron, la entrada del sistema, un punto medio y la salida. Así mismo, el sistema fue alimentado un 10 % del efluente del humedal superficial de flujo horizontal.

#### 5.3.1 Instalación de estación meteorológica

Con el fin de conocer las condiciones meteorológicas, se midió durante 6 meses (Febrero-Julio del 2013) temperatura exterior, humedad exterior, velocidad del viento, lluvia, radiación solar y evapotranspiración de la zona de estudio. Para esto se instaló en un punto estratégico una estación meteorológica de marca WeatherLink® for Vantage Pro® and Vantage Pro2™.

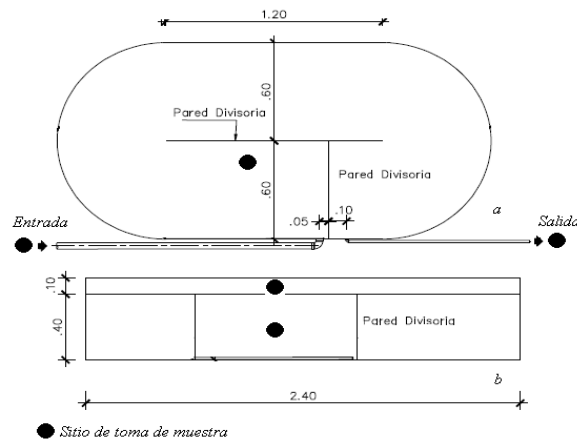


Figura 8. Puntos de muestreo

### 5.4 Metodología por objetivo

#### 5.4.1 Objetivo 1

1. Establecer la tasa de fijación de CO<sub>2</sub> por parte de las microalgas presentes en la laguna alga de alta tasa en condiciones del trópico americano.

##### 5.4.1.1 Monitoreo de variables Físicoquímicas

En los puntos de entrada, intermedio (mitad de la laguna acorde sentido del flujo) y salida de la laguna se tomaron muestras para la determinación de las variables físicas y químicas al agua (Tabla 5), siguiendo los protocolos establecidos por APHA (2005) y el IDEAM (2009).

**Tabla 5.** Sitio, frecuencia y Parámetros físico y químicos medidos en la matriz agua, en la LAAT

Parámetros	Unidad	Técnica	APHA (2005)	Frecuencia de medición	Punto de muestreo
Caudal (Q)	L s <sup>-1</sup>	-	-	Diaria	
Potencial de Hidrogeno (pH)	Un	Potenciómetro	4500-H <sup>+</sup> B.	1/semana	Entrada, H <sub>2</sub> salida
Temperatura (°C)	°C	Termómetro	-	1/semana	Entrada, H <sub>2</sub> salida
Oxígeno Disuelto (OD)	mg L <sup>-1</sup>	Potenciómetro	4500-O G.	1/semana	Entrada, H <sub>2</sub> salida
Potencial de óxido reducción (ORP)	mV	Potenciométrico	-	1/semana	Entrada, H <sub>2</sub> salida
Conductividad Eléctrica (CE)	ms cm <sup>-1</sup>	Electrométrico	-	1/semana	Entrada, H <sub>2</sub> salida
CO <sub>2</sub> Disuelto	mg L <sup>-1</sup>	Titulación/Electrodo	4500-CO <sub>2</sub> D.		Entrada, H <sub>2</sub> salida
Clorofila <i>a</i>	µg l <sup>-1</sup>	Fluorimetría	-		Entrada, H <sub>2</sub> salida
<b>Parámetros de laboratorio</b>					
Alcalinidad	mg L <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub>	Titulación/Volumétrico	2320-B	1/semana	Entrada, H <sub>2</sub> salida
Nitrógeno total kjeldhal (NTK)	mg L <sup>-1</sup>	Macro-Kjeldhal Titulométrico	4500-B 4500-C	1/semana	Entrada, H <sub>2</sub> salida
Amoniac (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	mg L <sup>-1</sup>	Destilación preliminar Titulométrico	4500-B 4500-C	1/semana	Entrada, H <sub>2</sub> salida
Nitratos (NO <sub>3</sub> )	mg L <sup>-1</sup>	Electrodo de nitratos	4500-D	1/semana	Entrada, H <sub>2</sub> salida
Demanda química de Oxígeno. DQO	mg L <sup>-1</sup>	Reflujo cerrado	5220-D	1/semana	Entrada, H <sub>2</sub> salida
Demanda bioquímica de Oxígeno. DBO <sub>5</sub>	mg L <sup>-1</sup>	Oxitop (respirométricos)	5210-D	Mensual	Entrada y salida
Carbono orgánico Disuelto. COD	mg L <sup>-1</sup>	Temperatura alta de Combustión	5310-B	1/semana	Entrada, H <sub>2</sub> salida
Fosfatos (P-PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> )	mg L <sup>-1</sup>	Espectrometría	4500-P	1/semana	Entrada, H <sub>2</sub> salida
Color Real y Aparente	Uni -Pt- Co	Espectrometría	2120-C.	1/semana	Entrada, H <sub>2</sub> salida
SSV	mg L <sup>-1</sup>	Físico	2540-E.	1/semana	Entrada, H <sub>2</sub> salida
SST	mg L <sup>-1</sup>	Físico	2540-D.	1/semana	Entrada, H <sub>2</sub> salida
Cromo Hexavalente-Cr (VI)	mg L <sup>-1</sup>	absorción atómica con horno de grafito	3500-B	1/mes	Entrada y salida
Algas	-	Microscopia	-	-	Entrada, H <sub>2</sub> salida

E: Entrada, S: salida y H2: Superficie (0.08 m)

La eficiencia de eliminación se calculó de dos formas.

1. Teniendo en cuenta solo las concentraciones de entra y salida (EC3)
2. Teniendo en cuenta la carga aplicada. (EC4)

En este sentido, el caudal de entrada y salida se aforó diariamente de forma volumétrica con el fin de calcular la eficiencia de eliminación. Para esto se utilizaron las siguientes ecuaciones.

$$\eta = \left( \frac{C_i - C_e}{C_i} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación. 3}$$

$$\eta = \left( \frac{C_i Q_i - C_e Q_e}{C_i Q_i} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación.4}$$

Donde  $C_i$  y  $C_e$  son las concentraciones afluentes y efluentes en  $\text{Kg.L}^{-1}$ ,  $Q_i$  y  $Q_e$  son los caudales afluente y efluente en  $\text{L.d}^{-1}$ , respectivamente.

#### 5.4.1.2 Balance de masa para determinar la tasa de fijación de $\text{CO}_2$ -

Para determinar la tasa de fijación de  $\text{CO}_2$  por parte de las algas, se planteó el siguiente balance de masa, en donde se consideró los procesos que aportan y extraen  $\text{CO}_2$  al sistema (Fuente propia).

$$\text{Acumulación } \text{CO}_2 = \text{Afluente- Efluente} + \text{Difusión Atmósfera-laguna} - \text{Difusión Laguna atmósfera} + \text{Respiración aeróbica} - \text{Fijación por fotosíntesis} - \text{Alcalinidad}$$

Del balance propuesto se determinó la acumulación de  $\text{CO}_2$ , la concentración en el afluente, en el efluente, la difusión de la laguna-atmosfera o atmosfera-laguna y la alcalinidad. Sin embargo, la respiración aerobia se tomó de la literatura por la complejidad de su medición. Sin embargo, este valor se tomara de una investigación que se realizó en condiciones similares a la del trópico y con características similares del afluente del sistema algal. Con todos estos valores se logró calcular la fijación de  $\text{CO}_2$  por las algas. La EC 5 muestra el balance de Masa de la especie Química  $\text{CO}_2$ .

$$\text{CO}_2 \text{ inorga}/t = Q_e * \text{CO}_2 e - Q_s * \text{CO}_2 s + R_{2DA-L} - R_{1 DL-A} + R_{1Res \text{ aero}} - R_{2Fotosíntesis} - R_{2 Alk} \quad \text{Ecuación 5}$$

**Tabla 6. Descripción de los componentes del balance de masas.**

$\text{CO}_2 \text{ inorga}/t$	Cantidad de masa de $\text{CO}_2$ en el sistema
$Q_e * \text{CO}_2 e$	Flujo másico de $\text{CO}_2$ de entrada
$Q_s * \text{CO}_2 s$	Flujo másico de $\text{CO}_2$ de salida
$R_{2DA-L}$	Tasa transferencia de dióxido de carbono de la atmósfera a la laguna
$R_{1 DL-A}$	Tasa transferencia de dióxido de carbono de la laguna a la atmósfera
$R_{1Res \text{ aero}}$	Tasa de respiración aeróbica
$R_{2Fotosíntesis}$	Tasa consumo de dióxido de carbono por la fotosíntesis
$R_{2 Alk}$	Tasa transformación de $\text{CO}_2$ a carbonatos medido como Alcalinidad

#### 5.4.1.2.1 Calculo de los diferentes componentes del balance de masa

Se determinó la concentración de  $\text{CO}_2$  en la matriz agua en los puntos de muestreo establecidos en la Figura 8. Para esto, se tomaron muestras de agua y se les determinaba la alcalinidad. El valor obtenido se empleó para el cálculo de la concentración de  $\text{CO}_2$  en cada uno de los puntos de medición, según el protocolo 4500- $\text{CO}_2\text{D}$  (Anexo 1), del APHA (2005). Estas mediciones se introdujeron en el balance de masa propuesto para determinar la tasa de fijación de  $\text{CO}_2$ : La tasa de respiración aeróbica se calculó de acuerdo con los establecido por Rosero (2013), esta metodología se describe en el Anexo 12.3.

#### 5.4.1.2.2 *Calculo de Flux de Gas.*

Para determinar el Flux de gas desde la laguna-atmosfera o atmosfera-laguna, se empleó una cámara estática siguiendo el protocolo descrito por Palacios (2006) y Parra et al., (2010), la cual se instaló en un punto fijo en la superficie de la laguna (Figura 9) y así determinar la concentración de CO<sub>2</sub> que emitía o capturaba el sistema algal de alta tasa. Estas mediciones se realizaron en horas establecidas (Tabla 7). Sin embargo, las mediciones en horarios nocturnos solo se pudieron realizar en días puntuales, por las dificultades logísticas que representaba el sitio donde se construyó el sistema piloto y además de los inconvenientes ambientales como la lluvia; que imposibilitaban la ejecución del trabajo de campo.



**Figura 9.** Medición de Flux, utilizando una cámara estática.

**Tabla 6.** Horas de medición del Flux en el sistema algal.

<b>Hora</b>	<b>Condición Ambiental</b>
10:00	Día-Luz Solar
12:00	Día-Luz Solar
18:00*	Noche-Oscuridad
20:00*	Noche-Oscuridad

\* 5 mediciones nocturnas

Las muestras de gas se tomaron con un jeringa de 20 ml y se almacenaban en viales de vidrio de 20 ml al vacío (Wang et al. 2010) (Figura 10), y enviadas para ser analizadas mediante Cromatografía de Gases. Se determinó la concentración de CO<sub>2</sub> utilizando un equipo marca “Qubitsystems G264 Gas controller and flow monitor”. Todas estas

mediciones se realizaron en el Laboratorio de Servicios Ambientales del CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical).



**Figura 10.** Toma de muestra de Gas en la cámara estática.

Una vez obtenido los resultados del laboratorio se procedió al cálculo de los Flux de acuerdo a lo sugerido por Palacios (2006). En esta metodología se grafica la concentración (C) vs tiempo (t) de muestreo (Cada 10 minutos), permitiendo observar las tendencias que presentan los datos. Observada la tendencia de los datos se realizó regresiones lineales para todos los datos obtenidos. Se aceptaron regresiones con una coeficiente de correlación mayor de 0.75 ( $R^2 > 0.75$ ), siendo esto acorde con la investigación de Silva et al. (2012). Una vez que se determinó el comportamiento lineal de los datos se utilizó la siguiente ecuación (EC6) para determinar los flux del sistema:

$$F = \frac{\Delta C}{\Delta t} \times \frac{P_c \times M}{R \times T_c} \times \frac{V_c}{A_c} \times 10^3 \times \frac{1440 \text{ min}}{\text{día}} \text{Ecuación 6}$$

Donde, F es el flux expresado en  $\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ . P es la presión en la cámara en at, R es la constante universal de los gases ( $0.082 \text{ at} \cdot \text{L} \cdot \text{g} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ ), M es el peso molecular del  $\text{CO}_2$ ,  $T_c$  es a temperatura de la cámara en K,  $\frac{\Delta C}{\Delta t}$  es la pendiente de la gráfica de C vs t ( $\text{ppmv} \cdot \text{min}^{-1}$ ),  $V_c$  es el volumen de la cámara en Litros y  $A_c$  es el área transversal de la cámara en  $\text{m}^2$ . La Tabla 8 muestra los valores constantes que se emplearon en el cálculo del flux del sistema.



**Tabla 7.** Parámetros fijos para el cálculo de Flux

Factor	Parte de la ecuación	Valor	Unidad
Pendiente	$\frac{\Delta C}{\Delta t}$	Datos experimentales	ml.m <sup>-3</sup> .dia <sup>-1</sup>
Presión atmosférica	P	0.89	at
Constante de gases ideales	R	0.082	at.L.g-mol <sup>-1</sup> .K <sup>-1</sup>
Temperatura dentro de la cámara	T	Datos experimentales	K
Volumen cámara	V <sub>c</sub>	0.021205	m <sup>3</sup>
Área de cámara	A <sub>c</sub>	0.0706858	m <sup>2</sup>
Factor de conversión	--	1440	min.dia <sup>-1</sup>
Factor de conversión	--	1000	L.ml <sup>-1</sup>
Peso molecular CO <sub>2</sub>	M	44	g.mol <sup>-1</sup>

#### 5.4.1.3 Experimentos adicionales

##### 5.4.1.3.1 Inyección de CO<sub>2</sub> al sistema

Buscando establecer una capacidad de fijación de CO<sub>2</sub> mayor a la obtenida de la difusión de este gas desde la atmosfera a la masa líquida, y con base en la literatura consultada se realizó un experimento de carácter exploratorio. Se inyectó CO<sub>2</sub> industrial a la laguna algal, y se determinó por medio del monitoreo de la Clorofila *a* el comportamiento del reactor frente a este nuevo factor. Para esto se empleó un cilindro de CO<sub>2</sub> industrial con una pureza del 90%. Se diseñó un sistema de mangueras perforadas que distribuían el flujo de CO<sub>2</sub> uniformemente en el fondo del reactor, con un caudal que vario entre 9.44 y 10 L.min<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub> con el fin de que pasara el mayor tiempo en la columna de agua, y así lograr que las algas presentes en el medio pudieran tomarlo. Este experimento, se llevó a cabo los días que se monitoreaba 12 horas continuas para determinar el comportamiento durante una jornada diurna, ya que en las noches las algas no utilizan el CO<sub>2</sub> como fuente de carbono.

##### 5.4.1.3.2 Determinación cualitativa del flujo hidráulico superficial del reactor

Determinar el flujo de un reactor es fundamental para entender el comportamiento de las partículas (Células algales y/o consorcio de bacterias-algas) presentes en el reactor. Como no se contó con los equipos e implementos necesarios para hacer un estudio completo de trazadores, se ideó un instrumento sencillo, de bajo costo y fácil construcción, para determinar el flujo superficial del sistema, considerando que este factor sería representativo de toda la columna de agua, pues la altura de la misma era de 0.2 m. El instrumento consistió en pelotas de pimpón, rellenas de agua, lo que le permitía hundirse 1/3 de su volumen, pudiendo así moverse por acción del flujo del agua y no por acción del viento. Esta variable se discrimino, pues en el sitio de ubicación del sistema piloto, el viento no representaba mayor interferencia.

## 5.4.2 Objetivo 2

2. *Establecer la diversidad algal presente la laguna algal de alta tasa a escala piloto.*

### 5.4.2.1 Toma y Análisis de muestras Biológicas

#### 5.4.2.1.1 Toma y preservación de muestras de Algas

Para las muestras de algas se colectó aproximadamente de 200 ml de agua en recipientes plásticos. Estas se fijaron con 10 ml formol al 4% como agente de preservación según las recomendaciones de Zaixso (2002) y Gómez et al., (2009).

#### 5.4.2.1.2 Procesamiento e identificación de microalgas

Posterior a la toma de muestra, estas se transportaron a la Universidad del Valle donde se procesaron en el laboratorio de Biología Vegetal Aplicada. La identificación se realizó siguiendo los métodos de Edler & Elbrächter (2010); Utermoehl (1958); Villafañe & Reid (1995) y Wetzel & Likens (2000) los cuales sugieren concentrar las muestras, utilizando sedimentación (30 minutos por cada 1 ml) y transvasar parte del sedimentado a una placa porta-objetos para observación en microscopio Invertido y/o Óptico.

#### 5.4.2.1.3 Determinación de especies

Para la identificación de las células algales se empleó dos microscopios ópticos Marca Nikon y Carl Zeiss. Para su determinación hasta la taxa más específica se emplearon las siguientes trabajos de cada uno de los grupos vistos Pochmann (1942); Silva (1998); Godinho (2009); de Castro & C. de Bicudo (2007); Tell & Conforti (1986); Comas (1996); Bicudo & Menezes (2006). Esta identificación se realizó principalmente en los laboratorios del Instituto De Botánica de Sao Paulo, Brasil. Se contó con la con la accesoria de los Doctores Carlos E. De M. Bicudo y Célia L. Sant'Anna, quienes son dos de los mejores especialista en Taxonomía y ecología, de algas y Cianobacterias, respectivamente.

### 5.4.2.2 Prueba adicionales

#### 5.4.2.2.1 Identificación de especies algales con técnicas moleculares.

Se extrajo el ADN a partir de muestras de 80 ml utilizando el DNeasy® Blood and Tissue kit (Qiagen, UK), siguiendo el protocolo de los fabricantes de tejido animal y lo descrito por Eland et al. (2012).

La PCR se llevó a cabo utilizando un set de tres primers; un primer general para eucariotas Euk1A y Euk 516r (Diez et al. 2001), primers para Cianobacterias Cya-b-F371 y Cya-R783 y primers para bacterias generales F357GC and R518 (Zwart et al. 2005). Se corrió la PCR para Cianobacterias y Bacterias generales juntas, para aumentar la amplificación. La PCR fue corrida usando PCR MegaMix Blue® (Microzone, UK), utilizando 1µl de cada primer y un 1µl de ADN extraído, usando un termociclador BioRad C1000™. La amplificación correcta del tamaño de los fragmentos de ADN fue corroborada utilizando una electroforesis en gel de agarosa.

Para los primers Euk 1A y Euk 516r-GC el ciclo de la reacción de PCR fue: primer paso, una desnaturalización de 130 segundos a 94°C, seguido por 35 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30 segundos, el anillamiento fue a 56°C por 45 segundos y una amplificación a 72°C por 130 segundos. La amplificación del último ciclo se extendió por 6 minutos, seguida por una disminución de la temperatura a 4 °C. Para los primers de las cianobacterias y las bacterias generales, la reacción de PCR ocurrió de la siguiente manera: primer paso, una desnaturalización por 1 minuto a 95°C, seguida por 24 ciclos de desnaturalización a 95°C por 30 segundos, anillamiento por 1 minuto a 65°C, reduciendo 1°C cada segundo ciclo, alcanzando una temperatura de anillamiento de 53 °C después de 15 ciclos. El último paso se llevó a cabo, extendiendo a 72 °C durante 10 minutos.

Los productos de PCR se analizaron mediante la técnica DGGE (BioRadssystem), por sus siglas en inglés, que significa Electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización. Esta técnica permite separar los genes amplificados para su posterior secuenciamiento y así realizar la identificación.

#### *5.4.2.2 Determinación exploraría de bacterias mediante la técnica molecular de FISH*

La técnica Hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH, por sus siglas en ingles), es una técnica de uso reciente, la cual se utilizó para determinar presencia de bacterias generales y bacterias asociadas al ciclo de nitrógeno. En esta se empleó diferentes sondas de DNA marcadas con un fluoróforo para detectar o confirmar la presencia de las bacterias. Las sondas utilizadas fueron, la Gam 42a-γ-Proteobacterias y EUB383-Bacterias Generales, que determinan presencia de ADN Bacteriano y una clasificación taxonómica dentro del reino bacteria, respectivamente. Las sondas NSO1225-Oxidadoras de Amonio-β-Proteobacterias y NTSPA662-Nitrospira-Oxidadora de Nitritos, se utilizan para establecer funciones metabólicas en la oxidación del ciclo del nitrógeno y una aproximación a una clasificación taxonómica.

### **5.4.3 Objetivo 3**

3. Evaluar la capacidad de eliminación de un metal pesado ( $Cr^{+6}$ ) de la laguna algal de alta tasa.

#### *5.4.3.1 Toma de muestra de metales*

La muestra del metal se tomó en la entrada y salida de la laguna algal de alta tasa, en recipientes de plásticos y preservadas con ácido Nítrico ( $HNO_3$ ) hasta un pH <2 para su posterior análisis (IDEAM 2009).

#### *5.4.3.2 Medición de un metal pesado.*

Para la medición de Cr hexavalente, se empleó el método de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito (APHA 2005). Estas determinaciones se realizaron en el Laboratorio de Servicios a la Comunidad de la Universidad del Valle.

### **5.5 Aplicación de técnicas estadísticas para análisis de resultados**

El estudio realizado tenía el carácter exploratorio, no se predetermino un diseño experimental propiamente dicho, pues se trató de una investigación donde se evaluó una tecnología no implementada en un contexto local y se observó su comportamiento a lo largo del tiempo. Sin embargo, con los datos obtenidos se pudo realizar un análisis estadístico, ya que se cumplió con la cantidad de datos, la equidistancia de las

mediciones. Aunque no se cumplió con los supuestos de normalidad. Todas estas condiciones permitieron utilizar el test de Friedman a las eficiencias de eliminación de los parámetros determinados. Antes de correr este test, se realizaron los siguientes análisis:

### 5.5.1 Análisis descriptivo

Se procesaron los datos obtenidos en las mediciones de una manera descriptiva, para observar patrones de comportamiento, cambios en el tiempo y/o afectaciones de las variables de respuesta medidas en el sistema a lo largo del tiempo. Mediante uso de medias, gráficos de cajas y de dispersión, los cuales dan una idea de la dinámica del sistema en el tiempo de estudio.

### 5.5.2 Análisis de datos.

Se verifico que los supuestos del diseño en bloques con análisis paramétrico y uno de los supuestos en el que se sustenta es que los términos de los residuales tengan una distribución normal y al no cumplirse este supuesto, el cual valida la prueba F utilizada en el ANOVA en un conjunto de datos, se empleó otra técnica de análisis para que los resultados sean altamente confiables. El test de Friedman (no paramétrico) el cual es la alternativa al análisis de varianza del diseño de bloques, se utilizó, por lo tanto se plantearon las siguientes hipótesis:

$H_0$ : *Los residuales distribuyen normal.*

vs

$H_a$ : *Los residuales No distribuyen normal*

#### 5.5.2.1 Análisis de la eficiencia de eliminación mediante test de Friedman.

Los datos que se utilizaron para el análisis fueron las eficiencias de eliminación de la materia orgánica y los nutrientes, realizado por el sistema algal de alta tasa. La ecuación 7 se utilizó para calcular las respectivas eficiencias de eliminación, tomando tres tramos del mismo por cada una de las variables determinadas en el estudio (Tabla 6), como lo muestra Tabla 9.

$$\eta = \left( \frac{C_i - C_e}{C_i} \right) \times 100 \text{ Ecuación 7}$$

**Tabla 8.** Eficiencias de eliminación evaluadas para cada una de las determinadas en el sistema algal de alta tasa

<b>Tramo</b>		
Afluyente - Efluyente	Afluyente-Punto medio de medición	Punto medio de medición – Efluyente.
% de eliminación 1	% de eliminación 2	% de eliminación 3

Para el test de Friedman se analizó eficiencia en eliminación de la laguna algal de alta tasa en cada uno de los puntos de muestreo establecidos: Entrada del sistema (E), punto intermedio del sistema (H2) y salida del sistema (S). Por lo tanto las hipótesis que se planteó son las siguientes:

$$H_0: \theta_E = \theta_{H2} = \theta_S$$

$$H_a: \theta_i \neq \theta_{i'}$$

Indicando si existen diferencias significativas en cuanto a la eliminación que se presentó en cada uno de los puntos de muestreo en el reactor. Es decir, donde se esté presentando una mayor eliminación con respecto a los parámetros fisicoquímicos medidos como COD, P-PO<sub>4</sub>, DQOT, SST, SSV, SSV/SST, NTK, N-NH<sub>4</sub>, N-NO<sub>3</sub>. Además de analizar el Color Real (CR), Color Aparente (CA) y el Alcalinidad-Total. Como otra forma de medida se analiza igualmente cada parámetro filtrado. Más específicamente, al no existir evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula este es un indicativo de que el efecto de eliminación (concentración) fue similar en los tres puntos de muestreo en el reactor. En caso contrario, es decir de aceptarse la hipótesis alternativa, esta revela que posiblemente difieran los puntos de muestreo con respecto a la eliminación y/o concentración de cada parámetro bajo estudio.

#### 5.5.2.2 Análisis de Flux

Se decidió utilizar el *Test de Wilcoxon* para analizar los datos de flux, por dos razones fundamentales:

1. Poca cantidad de datos (< 10)
2. Los datos no cumplieron los supuestos estadísticos de normalidad.

Para el test de Wilcoxon se analizó los flux de CO<sub>2</sub> de la laguna algal de alta tasa determinados en las horas diurnas y nocturnas (Tabla 7). Por lo tanto las hipótesis que se plantearon fueron las siguientes:

$$H_o: \theta_{Diu} = \theta_{Noc}$$

$$H_a: \theta_{Diu} \neq \theta_{Noc}$$

#### 5.5.2.3 Análisis estadístico del metal (Cr<sup>6+</sup>)

Se utilizó el test de Wilcoxon para analizar si existe una diferencia significativa en el tratamiento del metal analizada (Cr<sup>6+</sup>). El Test de Rangos con Signo de Wilcoxon es una técnica no paramétrica paralela a la prueba t de student para muestras pareadas (test paramétrico). Es utilizada cuando los datos no se distribuyen de manera normal (hipótesis necesaria para realizar el test paramétrico), y cuando la variable es de tipo cuantitativa en escala ordinal. La prueba de Wilcoxon considera la diferencia entre cada observación de los tratamientos, es decir analiza la discrepancia entre los resultados observados y la predicción de la hipótesis nula. Adjudica mayor peso a los pares que muestran mayores diferencias entre los dos tratamientos, más que a los pares cuya diferencia es pequeña.

Como era de interés conocer si la concentración de Cr<sup>6+</sup> presente en el efluente del humedal disminuía después de haber ingresado a la laguna algal de alta tasa, se planteó las siguientes hipótesis.

$$H_o: P \quad X_A - X_D > 0 = 0,5 \quad vs \quad H_a: P \quad X_A - X_D > 0 > 0,5$$

En términos de la mediana, estas hipótesis se traducen en:

$$H_o: Mediana \quad A - D = 0 \quad vs \quad H_a: Mediana \quad A - D > 0$$

Donde A indica las mediciones en el afluente (Entrada) y D las mediciones en el efluente (Salida). Debido a que las mediciones se encuentran pareadas, los datos considerados para esta prueba estadística corresponden a las diferencias entre las mediciones obtenidas antes y después de que el afluente ingreso a la laguna  $X_A - X_D < 0$  o  $A - D < 0$ , esta diferencia significa que lo que ingreso y fue medido en el afluente fue mayor que lo que salió y que fue medido en el efluente.

El criterio de decisión que permitió aceptar o rechazar la hipótesis nula bajo la evidencia muestral fue el valor-p, el cual corresponde a la probabilidad de encontrar un valor más extremo que el encontrado, el cual corresponde al estadístico de prueba  $W^+ = \sum_{i=1}^n R^+$ :

$$P - \text{valor} = P W > W^+$$

Donde W corresponde al valor asociado a la distribución de referencia para contrastar el estadístico  $W^+$  de Wilcoxon.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Resultados del Objetivo 1

La Tabla 10, muestra las variables climatológicas que se determinaron durante el tiempo de investigación. Los meses de mayor lluvia fueron Marzo, Abril y Mayo, siendo este último el mes con mayor precipitación con  $5.9 \text{ mm.d}^{-1}$ , aumentando así la cantidad de nubes en el cielo, reduciendo por ende la radiación solar hasta  $177.64 \text{ W.m}^2$ . Aunque este cambio no es significativo, se cree que tuvo una incidencia en el comportamiento del sistema, al afectar la tasa fotosintética de las algas presentes en el bioreactor, expresado en la disminución de la concentración de Clorofila *a* en la superficie de la columna de agua.

**Tabla 9.** Datos promedio meteorológicos de la zona de estudio.

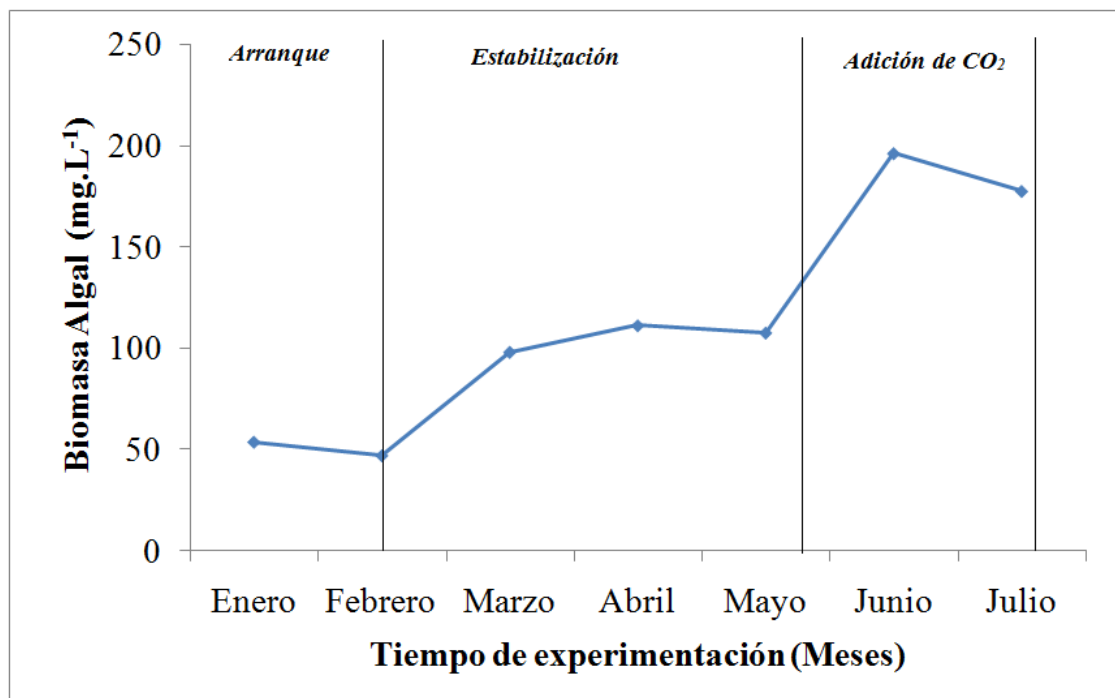
Mes	Temperatura exterior Promedio	Humedad exterior Promedio	Velocidad del viento Promedio	Lluvia- Promedio	Radiación solar Promedio	Evapo-transpiración Promedio
	°C	%	m.s <sup>-1</sup>	mm.d <sup>-1</sup>	W.m <sup>2</sup>	mm.h <sup>-1</sup>
<b>Febrero</b>	24.6	78.3	0.4	2.4	n.d	n.d
<b>Marzo</b>	23.9	79.2	0.5	1.1	n.d	n.d
<b>Abril</b>	24.1	78.2	0.5	3.2	184.9	0.05
<b>Mayo</b>	24.6	78.3	0.5	5.9	177.6	0.09
<b>Junio</b>	24.3	75.3	0.7	0.5	191.9	0.04
<b>Julio</b>	23.9	59.6	0.4	0.5	177.1	0.034

Información registrada y recopilada en la estación meteorológica instalada en el sitio del estudio. Estación marca

En la Figura 11 se puede observar como la biomasa algal empieza con una biomasa algal mínima de  $53.5 \text{ mg.L}^{-1}$  en los primeros dos meses de experimentación. Como se mencionó en materiales y métodos, el sistema algal arrancó retrasado debido a que la primera unidad experimental (laguna anaerobia de alta tasa) tuvo diversas dificultades y

retrasos en su puesta en marcha. Debido a esta situación, se dejó el sistema en batch durante este periodo. Una vez que el sistema entro en funcionamiento continuo, a mediados del mes de Febrero la biomasa algal decreció hasta  $46.8 \text{ mg.L}^{-1}$ , debido posiblemente al estrés que un nuevo sustrato ocasiona, al contener posiblemente diversos compuestos xenobioticos que no fueron eliminados o transformados en las dos tecnologías previas a la LAAT.

Una vez que la poblaciones algales se ambientaron a las nuevas condiciones de carga y nutrientes, el indicador (biomasa algal) alcanzó la estabilidad  $107.4 \text{ mg.L}^{-1}$  y un máximo de  $196 \text{ mg.L}^{-1}$  cuando se le adición  $\text{CO}_2$  al sistema. Estos resultados son inferiores a lo reportado por Park & Craggs (2010) y Park et al. (2011) al encontrar biomasa algal de  $274 \text{ mg.L}^{-1}$ . Sin embargo, estas investigaciones se realizaron bajo otras condiciones de sustrato, como lo son las aguas residuales domésticas de menos complejidad que un lixiviado, ya que las tecnologías utilizadas para tratar lixiviados se han focalizado en métodos químicos y físicos, dejando a un lado los métodos biológicos, y de estas las alternativas más aplicadas han sido los lodos activados y los filtros biológicos (Wiszniewski et al. 2006), lo que evidencia el déficit en investigación aplicada con métodos integrados o acoples de tratamiento y un menos la utilización de lagunas algales de alta tasa.



**Figura 11.** Comportamiento de la biomasa algal durante el tiempo la investigación.

### 6.1.1 Variables de campo

Durante el periodo de evaluación de la laguna, esta presentó un comportamiento como reactor aerobio (Tabla 11), alcanzando niveles de concentración de Oxígeno disuelto alrededor de  $9.4 \text{ mg L}^{-1}$  en promedio. Sin embargo, en algunos momentos de mayor intensidad solar (10-14 horas) (Figura 12), se registraron valores superiores a  $24.7 \text{ mg L}^{-1}$  de Oxígeno. Lo que podría tener un impacto en la producción de algas, pues altas

concentraciones de oxígeno en combinación con luz solar intensa puede afectar las células por fotooxidación o fotoinhibición (Molina et al. 2001). Así mismo, el potencial de Oxido reducción muestra que el sistema se mantuvo todo el tiempo en condiciones oxidantes, siendo concordante con la alta concentración de Oxígeno, permitiendo de esta manera que la materia orgánica y otros compuestos se oxiden rápidamente.

Igualmente se registraron valores altos de pH, alcanzando máximos de 8.9 dentro del reactor, ya que la fotosíntesis de las algas incrementa el pH por el consumo de CO<sub>2</sub> y HCO<sub>3</sub> (Craggs et al. 2011; Park & Craggs 2010). Por otro lado, la temperatura que registro el agua se encontró dentro del optimo reportado para la actividad bacteriana que está entre 25 y 35 °C, dependiendo de las condiciones del medio (Metcalf & Eddy 2003). El monitoreo de la Clorofila *a* durante el tiempo de experimentación, demuestra una estabilidad del sistema algal de alta tasa, al presentar concentraciones de 1530.1 µg.L<sup>-1</sup>, alcanzando concertación en algunos momentos de 3787 µg.L<sup>-1</sup> (Figura 20). Reportes de Park & R. Craggs (2010), son similares, ya que alcanzaron una concentración de 4200 µg.L<sup>-1</sup> de Clorofila *a* en su reactor; utilizando aguas residuales como sustrato. Estas son más estables y de mejor calidad que las que se utilizaron en este estudio, donde se empleó un efluente de tratamiento de lixiviados. Rao et al. (2012), reportan concentraciones de Clorofila *a* alrededor de los 26000 µg.L<sup>-1</sup>, aunque solo cultivó una especie la cual se utilizó para la producción de lípidos, manejándose unas condiciones apropiadas para su crecimiento.

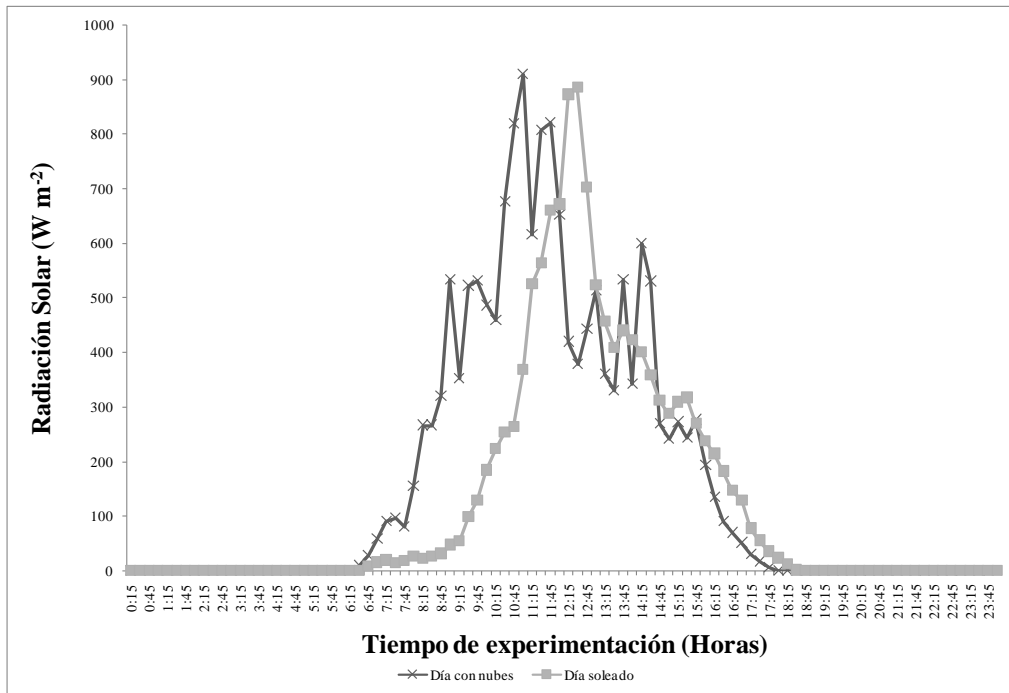
**Tabla 10.** Temperatura del Agua, Concentración de Oxígeno Disuelto (OD), Potencial de Oxidoreducción (PotRedox), Conductividad Eléctrica (CE), Clorofila *a*, Caudal (Q) y pH, del sistema completo.

Punto	Temperatura(°C)		OD(mgL <sup>-1</sup> )		PotRedox(mV)		
	Media ± s.d	Min / Max	Media ± s.d	Min / Max	Media ± s.d	Min / Max	
<b>Entrada</b>	27.17 ± 2.0	23 / 32.4	3.53 ± 2.05	0.12 / 8.78	30.11 ± 2.81		-262.9 / 158
<b>Salida</b>	27.4 ± 2.6	22.8 / 33.6	8.99 ± 5.40	0.65 / 23.9	59.06 ± 107.95		-144.1 / 491
<b>Dentro del rector</b>	27.02 ± 2.61	20.7 / 33.1	9.4 ± 5.53	1.86 / 24.7	61.89 ± 118.21		-194.2 / 377
	CE (ms.cm <sup>-1</sup> )		Clorofila <i>a</i> (µgL <sup>-1</sup> )		Caudal (L.min <sup>-1</sup> )		pH
	Media ± s.d	Min / Max	Media ± s.d	Min / Max	Media ± s.d	Min / Max	Min / Max
<b>Entrada</b>	3.77 ± 0.90	1.976 / 5.36	212.01 ± 208.13	46.7 / 1036	0.11 ± 0.09	0 / 0.9	7.7 / 8.4
<b>Salida</b>	3.47 ± 0.88	1.122 / 5.97	1020.69 ± 693.69	201 / 3659	0.10 ± 0.10	0 / 0.891	7.7 / 8.9
<b>Dentro del rector</b>	3.48 ± 0.95	1.135 / 6.42	1560.09 ± 831.06	233.2 / 3787	--	--	7.6 / 8.9

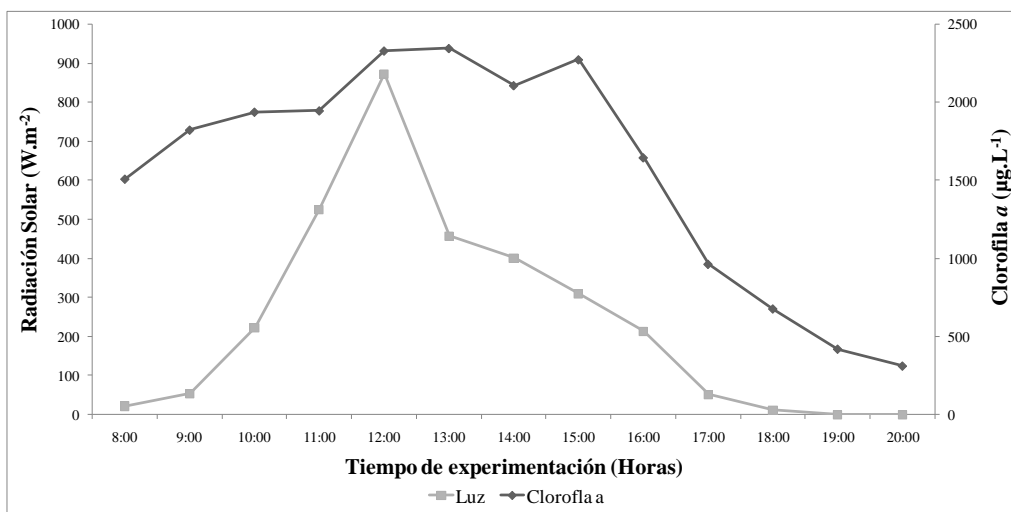
Con respecto a la conductividad eléctrica, se monitoreo como variable de control del sistema, pensando en sus posible vertimiento a un sistema natural, ya que se debe realizar su medición si se espera rehusar el efluente para alguna actividad de agricultura o agronómica (PRESIDENTE DE LA REPÚBLICA DE COLOMBIA 1984; Sperling & Chernicharo 2005). En este caso, este tipo de efluente no podría ser utilizado en la agricultura, ya que presenta una elevada conductividad por encima del agua para usos domestico que está en 0.8 ms.cm<sup>-1</sup>. Sin embargo, según otras normas internacionales como las de la FAO, se podría utilizar este afluente, pues cae en la clasificación de moderado.



En la figura 12 se observa la cantidad de radiación solar expresada en  $W.m^{-2}$  en un día soleado y un día con nubosidad intermitente. En días con nubosidad se observa picos y caídas de radiación solar que podría afectar el proceso fotosintético, pues este proceso está directamente relacionado con la luz directa que es la que excita los electrones del complejo antena permitiendo así transferirla a energía química (hidratos de carbono) (Masojídek & Torzillo 2004). En la figura 13, se observa como la Clorofila *a*, que es un indicador de las algas en el sistema, se ve afectada por las condiciones de luz (Radiación solar), y a medida que esta disminuye, lo hace la clorofila de la superficie indicando que la actividad fotosintética también decrece.



**Figura 12.** Radiación Solar ( $W.m^{-2}$ ) en la zona de estudio en días donde se presentó nubosidad y sin nubosidad.

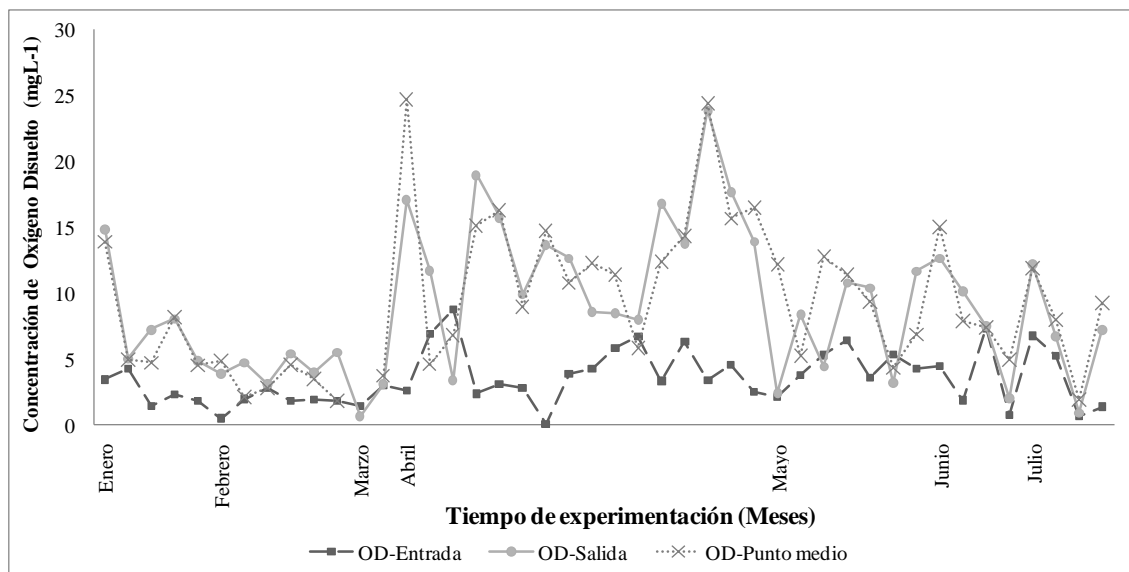


**Figura 13.** Relación entre Clorofila *a* y radiación solar.

#### 6.1.1.1 Comportamiento de los parámetros tomados "In situ" en la matriz agua.

En la figura 14, se puede apreciar el comportamiento del oxígeno disuelto en cada uno de los puntos de muestreo durante la investigación. Esta variable aumenta su concentración a medida que pasa por el reactor, alcanzando valores de  $20 \text{ mg.L}^{-1}$  en ciertos momentos, tanto en el punto medio como en la salida del reactor. Esta situación puede estar asociada a la actividad fotosintética de las algas presentes en el sistema (Oswald 1988; Abeliovich 2004; Mara 2004), aportando oxígeno disuelto al sistema, permitiendo que las bacterias puedan hacer degradación aerobia de los contaminantes presentes en la matriz agua (Doria et al. 2011). Así mismo, esta actividad fotosintética aumenta el potencial de Oxido-Reducción, reportándose lecturas mayores a 300 mV (Tabla 11). En el medio ambiente se da potencial de óxido-reducción desde un mínimo de -0.4 voltios hasta un máximo de +0.8 voltios. El límite inferior corresponde a un ambiente muy reductor rico en gas hidrógeno y por tanto, apropiado para el crecimiento de microorganismos anaerobios estrictos. El límite máximo se produce en ambientes muy oxigenados, y por tanto, oxidantes (Correa 2008). Estos dos fenómenos se presentaron en el reactor, pues en el arranque del sistema las poblaciones algales no se habían establecido y aclimatado a las condiciones ambientales existentes, limitando la tasa fotosintética y por ende el aporte de oxígeno (Muñoz & Guieyssea 2006). Esto se pudo establecer con concentración de Clorofila *a*, pues al inicio de la experimentación se encontraron concentraciones de  $< 1 \text{ mg.L}^{-1}$  y por ende baja concentración de Oxígeno  $< 8 \text{ mg.L}^{-1}$  en horas de máxima radiación solar (Figuras 11 y 14), evidenciando la baja concentración de algas en el bioreactor.

Por otro lado, estos resultados permiten observar el efecto que tiene las condiciones ambientales circundantes al reactor sobre sus comportamiento, ya que en las épocas donde se presentó una mayor Radiación solar y poca lluvia (época seca Mayo -Julio) se reportaron picos de concentración de Oxígeno (Figura 14) en horas diurnas, que van desde las 7-16 horas (Figuras 12), pues es cuando se da la actividad fotosintética de las poblaciones algales presentes en el sistema (Richmond 2004; Arthaud et al. 2012; Park & Craggs 2011). Sin embargo, altas concentraciones de oxígeno o supersaturación del mismo, puede generar una disminución de la actividad fotosintética, dañando las células en algunas ocasiones (Oswald 1988; Raul Muñoz & Guieysse 2006). Para este sistema, por tratarse de un sistema continuo (Existe Afluente y efluente) las altas concentraciones de  $\text{O}_2$  indican un buen tratamiento de los contaminantes presentes (R Muñoz et al. 2004). Además de esto, la profundidad de 0.2 m permite que en toda la columna de agua se presente una actividad fotosintética, expresada por la alta concentración de oxígeno dentro del reactor.



**Figura 14.** Comportamiento del Oxígeno disuelto.

#### 6.1.1.1.1 Temperatura

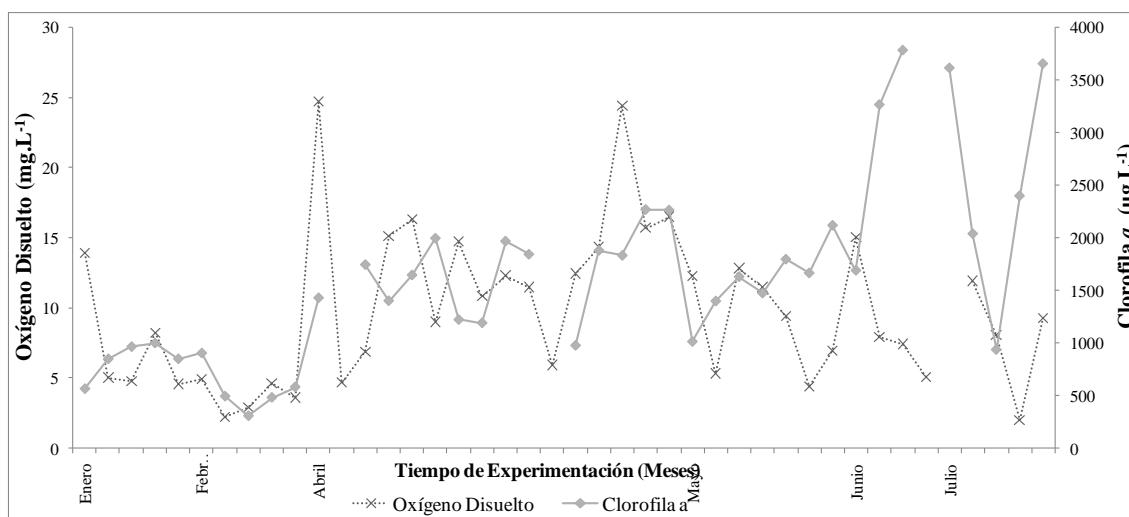
La temperatura por su parte, se mantuvo constante entre 25 y 32 °C en todo el sistema y durante todo el tiempo de monitoreo de la unidad, como se puede apreciar en la figura 15. Este comportamiento ayudo al establecimiento adecuado de las poblaciones algales, a pesar de que las condiciones del medio no eran favorables para su crecimiento. Por ejemplo, el color real del afluente a la unidad fue de 435.9 mg.L<sup>-1</sup> de Pt-Co, lo que podría haber afectado su tasa de crecimiento por inhibición del paso de la luz solar en la unidad. Sin embargo, la producción de algas se vio influenciada directamente por altas temperaturas, pues se mantuvo dentro la temperatura óptima a la cual las algas presentan una tasa fotosintética adecuada y donde se evita la respiración y fotorrespiración algal, que ocurre en altas temperaturas (> 38°C) reduciendo la productividad global (Pulz 2001; Bitog et al. 2011). La temperatura óptima para cultivos de microalgas es generalmente entre 20 y 28°C, aunque puede variar con la composición del medio de cultivo, las especies o la cepa cultivada, siendo este rango el que se mantuvo la matriz agua de la LAAT. Por otro lado, temperaturas inferiores a 16 °C retrasa el crecimiento, mientras que temperaturas superiores a 35°C son letales para una serie de especies (Mehlitz 2009). En algunas ocasiones también puede alterar el equilibrio iónico del agua (pH) y la solubilidad del gas (Oxígeno y CO<sub>2</sub>). Sin embargo, las diferentes especies de algas pueden responder a estos cambios en diferentes grados (Bouterfas et al. 2002).

#### 6.1.1.1.2 Oxígeno Disuelto y Clorofila a.

Como se trató de una unidad de alta tasa fotosintética, la saturación de oxígeno disuelto en el día puede llegar a niveles superiores al 200% alcanzando concentraciones hasta de 20 mg.L<sup>-1</sup> (Park & R Craggs 2010; Craggs et al. 2012). Así mismo, la temperatura del sistema afecta la solubilidad del oxígeno en el agua. Temperaturas entre 22 y 27 °C, presentan solubilidades entre 8.8 y 8.1 mg.L<sup>-1</sup> (Environmental Protection Agency 2011b), esto en condiciones normales de un sistema natural con poca concentración de algas < 10 mg.L<sup>-1</sup> (Canfield et al. 1983). Sin embargo, el sistema mantuvo una

concentración superior a esta ( $> 24 \text{ mg.L}^{-1}$ , Tabla 11). Esta relación entre la concentración de oxígeno disuelto y la Clorofila *a* para este sistema, se puede observar en la figura 16. Aunque, no existe una correlación perfecta, se aprecia que algunos picos y descensos de oxígeno aumenta y decrece la Clorofila *a* también. Esto en la mayoría de las mediciones, lo que indica una buena actividad fotosintética de las comunidades algales en el bioreactor. Sin embargo, concentraciones muy elevadas de oxígeno disuelto pueden afectar la productividad de las algas, promueven la oxidación bacteriana, afectando el desempeño del reactor y por ende el tratamiento (Bitog et al. 2011; Park & R Craggs 2010).

En este tipo de relaciones no se puede establecer una linealidad, pues la concentración de oxígeno disuelto en el matriz agua no depende exclusivamente de la concentración de Clorofila *a*, esta depende de factores como la Temperatura, la radiación solar, presión atmosférica, la respiración aerobia, la calidad de las aguas (Sperling & Chernicharo 2005) entre otras.



**Figura 15.** Relación entre la concentración de Oxígeno disuelto y la Clorofila *a*.

### 6.1.1.1.3 pH

La figura 16 muestra que el pH no tuvo una variación significativa tanto a lo largo de la investigación como en cada punto del sistema (Entrada-Salida y Punto medio), manteniéndose por encima de 7.8. Esta condición de estabilidad, permitió el establecimiento de una población de algas en el sistema, ya que variaciones súbitas y constantes de pH puede afectar la productividad de las algas, la respiración de algas y bacterias, la alcalinidad, la composición iónica del medio, la actividad de autótrofos y heterótrofos (por ejemplo, Nitrificación y Denitrificación) y el desempeño de la unidad (Craggs 2005; Park & Craggs 2011; García & Hernández-Mariné 2000).

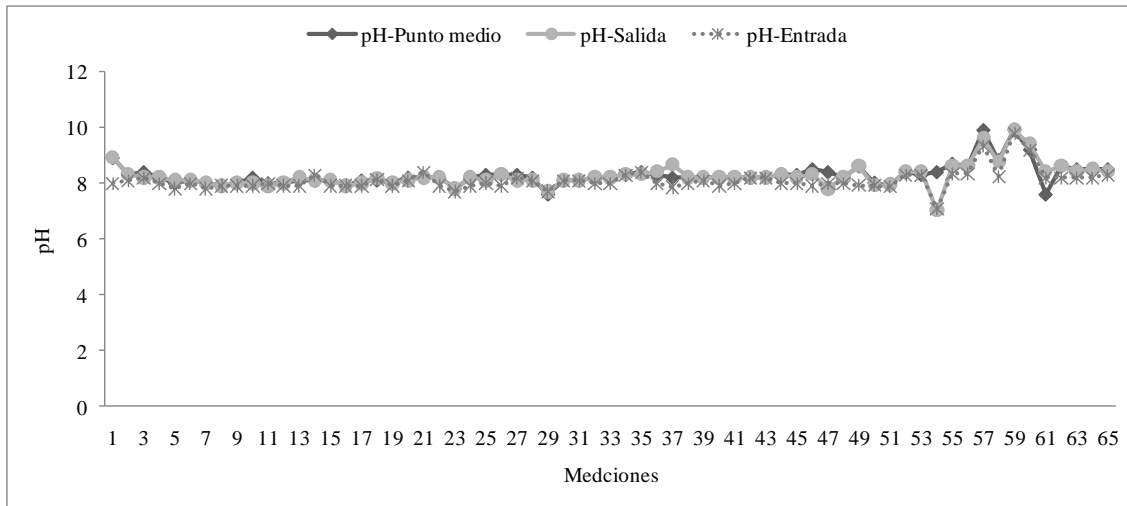


Figura 16. Comportamiento del pH en cada punto del sistema.

### 6.1.2 Biofijación de CO<sub>2</sub>

#### 6.1.2.1 Calculo de los componentes del balance de masa

Acorde con la ecuación definida para el cálculo de biofijación de CO<sub>2</sub>, se planteó que la acumulación de CO<sub>2</sub> dentro del reactor estaba dada por la siguiente interacción de factores:

$$\text{Acumulación CO}_2 = \text{Afluente} - \text{Efluente} + \text{Difusión Atmósfera-laguna} - \text{Difusión Laguna atmósfera} + \text{Respiración aeróbica} - \text{Fijación por fotosíntesis} - \text{Alcalinidad}$$

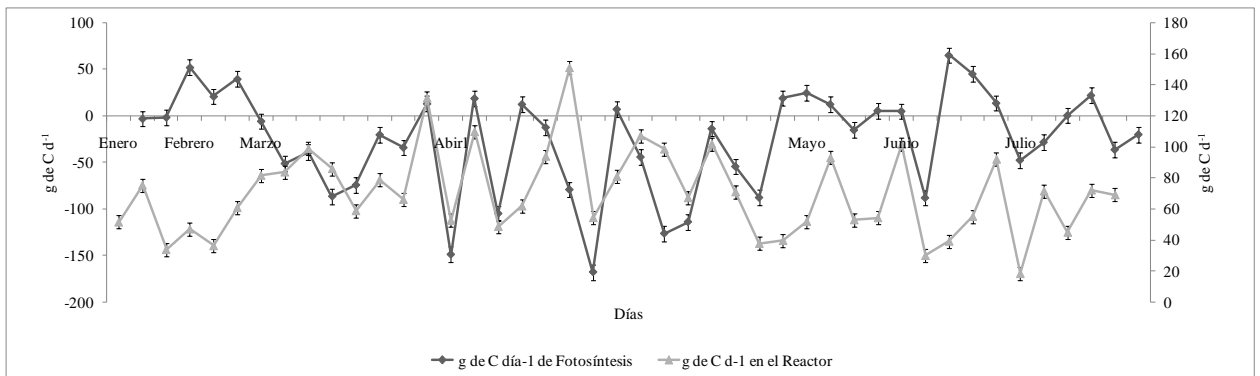
La tabla 12 muestra cada uno de los valores promedios de los componentes del balance de masa de CO<sub>2</sub> expresado en la ecuación 5. De todos los componentes del sistema, solo la respiración aerobia no se determinó en campo, para lo cual se empleó lo reportado por Rosero (2013), quien estableció esta tasa de velocidad en un sistema facultativo piloto en las condiciones locales y características fisicoquímicas del afluente similares a las del estudio.

Tabla 11. Valores promedio de cada uno de los componentes del balance de masa.

Parte del balance	Termino del balance	Valor (g de C.día <sup>-1</sup> )*	Referencia
Acumulación	CO <sub>2</sub> /t	70.1589	Datos Medidos
Flujo másico de entrada	Q <sub>e</sub> *CO <sub>2e</sub>	36.296	Datos Medidos
Flujo másico de salida	Q <sub>s</sub> *CO <sub>2s</sub>	31.08	Datos Medidos
Difusión Atmosfera-Laguna	R <sub>2DA-L</sub>	-3.688	Datos Medidos
Difusión Laguna-Atmosfera	R <sub>1 DL-A</sub>	0	
Respiración aeróbica	R <sub>1Res aero</sub>	101.19	(Rosero 2013)
Fijación por fotosíntesis	R <sub>2Fotosin</sub>	----	Calculado
Alcalinidad	R <sub>2 Alk</sub>	66.063	Datos Medidos

\*para un reactor de 1.44 m<sup>2</sup>

La Figura 17 muestra la cantidad de carbono fijado por la Fotosíntesis en el reactor durante el tiempo de la experimentación, obteniendo un promedio de  $-26.1 \text{ g de C d}^{-1}$  y  $-18.1 \text{ g de C d}^{-1}\text{m}^{-2}$ . El valor negativo indica que este sistema se comporta como sumidero de carbono con relación al  $\text{CO}_2$  fijado mediante fotosíntesis (Silva-Vinasco & Valverde-solís 2011; Palacios 2006) esto en horas diurnas. Sin embargo, en algunos momentos el sistema se comportó como emisor de C en forma de  $\text{CO}_2$ , al existir valores positivos, posiblemente debido a perturbaciones de las comunidades algales por parte de contaminantes que pueden inhibir su crecimiento y por ende su capacidad en la fijación de Carbono. Así como también por foto-inhibición durante intensas horas de radiación solar (Figura 12). Esta situación se presentó durante la etapa de arranque de la laguna, condición donde las poblaciones algales se encontraban aclimatándose al sistema y en un proceso de establecimiento de la comunidad algal. Una vez ambientadas, se dio inicio la fijación de  $\text{CO}_2$  por parte de las algas, alcanzando valores negativos, principalmente después del mes Marzo hasta el final del periodo de monitoreo (Figura 18).



**Figura 17.** Cantidad de Carbono fijado por el sistema durante el tiempo de experimentación. En el eje X, los meses de monitoreo. En el Eje Y principal la Fijación por fotosíntesis. El eje Y secundario la cantidad de Carbono en el reactor.

Por otro lado, en la figura 17 se aprecia, que la cantidad de carbono en el sistema depende de la capacidad de fijación de las algas. A pesar de que se encontraban en un ambiente hostil y posiblemente agreste como lo son los lixiviados tratados, realizaron fijación de carbono, por encima o similar de lo reportado por algunos autores como Choi et al. (2012) quienes reportan un valor de  $216 \text{ mg de CO}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , lo que equivaldría a  $14 \text{ g de C d}^{-1}$  valor menor a lo encontrado en la investigación. Por su parte Watanabe & Hall (1995) reportan  $14.6 \text{ g de C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  equivalentes a  $21 \text{ g de C d}^{-1}\text{m}^{-2}$  en el sistema que estos autores evaluaron, siendo esto mayor a lo encontrado en la investigación. Sin embargo, estas investigaciones se realizaron en sistemas a escala de laboratorio en condiciones piloto y cielo abierto se ha estimado que las algas fijan  $1.83 \text{ g de CO}_2$  que en términos de Carbono equivaldrían a  $0.5 \text{ g de C}$  (Rosenberg et al. 2011) valor que está muy por debajo de lo encontrado en la presente investigación. Por otro lado, la mayoría de estas investigaciones se realizaron en zonas con estaciones, lo que limita el potencial de la capacidad de fijar  $\text{CO}_2$  de las algas al tener una limitación en la radiación solar directa.

### 6.1.2.2 Relación CO<sub>2</sub> y la Clorofila *a*, durante el ciclo diurno

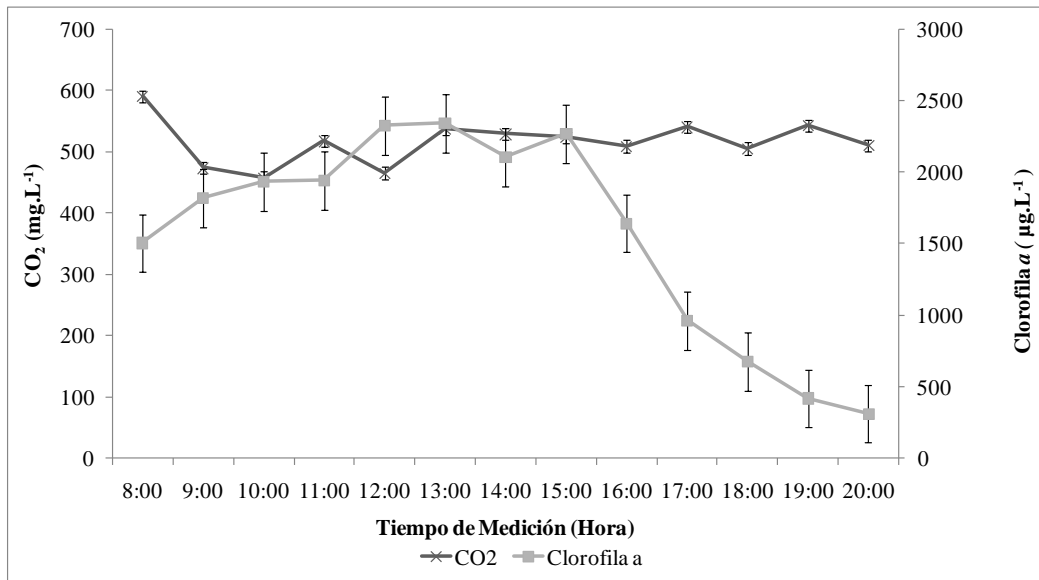
La concentración de CO<sub>2</sub> que se acumuló en el reactor se encontró alrededor de los 516.4 mg.L<sup>-1</sup>, manteniéndose constante durante todo el día (8 -20 Horas) lo que indica que el sistema se estabilizo. Esta concentración en la matriz agua depende de la actividad fotosintética que permite una transferencia del CO<sub>2</sub> atmosférico al medio líquido mediante gradientes de concentración o flux atmosfera-laguna (Tabla 12). Las algas toman el CO<sub>2</sub> como fuente de carbono para sintetizar compuestos orgánicos (Rasineni et al. 2011) permitiendo así incrementar su biomasa. La Figura 18 muestra como la concentración de Clorofila *a* en el reactor aumenta a través del tiempo, alcanzando un máximo en concentración de 2346 µg.L<sup>-1</sup> a las horas de mayor radiación solar que ocurre entre las 11 y 13 horas del día, pasado este periodo la biomasa disminuye alcanzando un mínimo de concentración de hasta 100 µg.L<sup>-1</sup> alrededor de las 20 horas. Sin embargo, en el momento de máxima de radiación solar (12 y 13 horas), la biomasa de la superficie del reactor desciende aproximadamente 15 cm, esta situación se pudo presentar por la migración de las poblaciones algales al fondo del reactor, y de esta manera evitar la fotorespiración algal que se presenta por una fuerte radiación solar, en donde hay una pérdida en la captura de carbono y por ende una disminución en la capacidad del ciclo de Calvin para regenerar el sustrato de azúcar (Sayre 2010), reduciendo la eficiencia de la fotosíntesis y por ende la captura de carbono entre un 20-30% (Zhu et al. 2008).

La figura 19 muestra cualitativamente la concentración de Clorofila *a* en cada uno de los puntos del sistema (Entrada, salida y punto medio-10 cm) en un día de intensa radiación solar. Así mismo, la concentración de CO<sub>2</sub> fluctúa durante las horas de más actividad alga entre las 10 y 16 h (Rasineni et al. 2011) alcanzando una estabilidad en su concentración entre 500 y 543 mg.L<sup>-1</sup> pasadas las 16 horas (Tabla 13), debido posiblemente a que la actividad algales reduce por la disminución de la radiación solar. Sin embargo, dentro del reactor ocurren otros procesos biológicos y químicos que aportan CO<sub>2</sub> al sistema como la respiración bacteriana, difusión atmósfera-laguna y la alcalinidad, manteniéndolo constante su concentración (Figura 18).

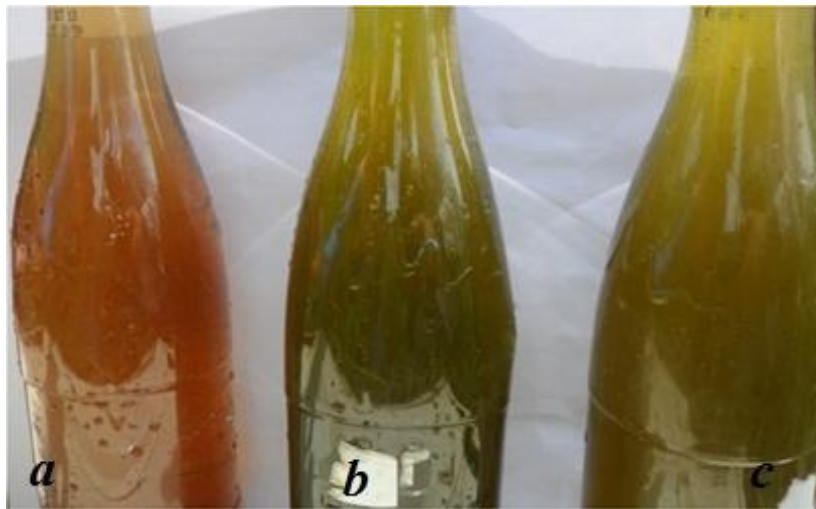
**Tabla 12.** Concentraciones promedio en cada hora, durante el tiempo de evaluación diaria de CO<sub>2</sub> y Clorofila *a* durante horas diurnas en el reactor algal de alta tasa.

Tiempo (Hora)	CO <sub>2</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	Clorofila <i>a</i> (µg.L <sup>-1</sup> )
8:00	591.26	1509.75
9:00	474.73	1823.75
10:00	458.54	1938.75
11:00	518.27	1947
12:00	466.28	2330.5
13:00	538.37	2346.25
14:00	529.87	2108.25
15:00	524.40	2274
16:00	510.16	1646.37
17:00	541.11	964.42
18:00	506.12	678.3

19:00	543.63	420.8
20:00	510.96	312.43



**Figura 18.** Comportamiento de la concentración de CO<sub>2</sub> y Clorofila *a*.



**Figura 19.** Concentración cualitativa de la Clorofila *a* en cada punto del bioreactor de algas. *A* entrada. *b* Punto medio y *c* salida.

### 6.1.2.3 Monitoreo de las variables fisicoquímicas

La tabla 14 muestra el resultado del monitoreo de las variables fisicoquímicas que se realizó al sistema.

**Tabla 13.** Características fisicoquímica del sistema completo y porcentaje de eliminación.

Parámetro mg.L <sup>-1</sup>	Entrada		Salida		Punto medio		% elimi	% deeliminación (Kg.d <sup>-1</sup> )
	X± Sd	Min/Max	X± Sd	Min/Max	X ±Sd	Min/Max		



<b>COD</b>	162.2±45.6	80.9/239.5	144.6±36.3	80.3/201.6	149.4±39.9	88.7/229.1	9.5	20.8
<b>PO<sub>4</sub></b>	3.5±7.1	0.4/7.1	3.2±2.1	0.30/8	3.3±2.2	0.3/8.3	6.5	17.3
<b>PO<sub>4</sub>-Fil</b>	2.6±1.2	0.9/4.8	2.6±1.2	1.2/4.7	2.9±1.4	1.1/5.7	-19	2
<b>Alcalinidad</b>	1624.7±963	705.9/5469	1330.4±651	546.8/3549.4	1617.9±670.1	477.2/3350.5	13.6	
<b>DQO</b>	429±140.8	197.8/745.3	482.3±129.9	195.2/825.5	541.6±193.3	148.2/916	-20	-2.9
<b>DQO Fil</b>	324±87.4	171.3/505.6	253.9±88.8	109.2/405.6	304.5±114.7	130.1/711.4	22.2	31.5
<b>SST</b>	73.9±33.4	30/174	115.8±48.9	54/260	112.1±51.1	50/250	-83.8	--
<b>SSV</b>	65.3±25.4	30/134	104.7±45	54/226	96.5±44.8	50/232	-1.4	--
<b>NTK</b>	176.5±40.7	93/264	140.3±40.5	56/266	144.4±35.8	79/215	20.4	29.9
<b>NTK Fil</b>	134.5±46.6	84/226	105.6±41.9	37/198	119.1±48.7	47/245	22.2	38.5
<b>N-NH<sub>4</sub></b>	131.5±43.5	64.8/231	100.9±36.9	26/188	107.1±34.9	51/177	21.8	31.3
<b>N-NH<sub>4</sub> Fil</b>	102.7±32.1	60/153	80.8±33.9	38/166	83±30.3	40/139	21.9	36.7
<b>N-NO<sub>3</sub></b>	11.5±13.9	1.2/44	8.8±11.2	0.6/47	10.1±14.7	0.51/54	15.9	25
<b>Color Real (Pt-Co)</b>	435.9±163.2	259.7/766.8	365.8±118.3	200.2/671	343.9±141.1	124.1/667.3	11.3	28.8
<b>Color Apparente (Pt-Co)</b>	505±123.7	293.3/757	466.4±135.9	296.5/760.8	457.8±157.4	265.4/786.9	5.6	26.3
<b>DBO<sub>5</sub></b>	65±34.2	10/120	105.6±61.5	20/230	--	--	-1.9	-214
<b>DBO<sub>5</sub> Fil</b>	33.3±15.3	20/50	13.3±5.8	10/20	--	--	58.9	71

#### 6.1.2.3.1 Comportamiento de la Materia orgánica

La materia orgánica se evaluó con diferentes parámetros, como COD, DQO total y filtrada y DBO<sub>5</sub> total y filtrada. Para el caso de la DOQ<sub>filtrada</sub> la eliminación alcanzó el 22.20 %, en promedio, lo que indica que dentro del reactor ocurren fenómenos de transformación y/o degradación de materia orgánica disuelta. Parámetros como DQO total, SST y SSV presentaron porcentajes de eliminación de -20,9, -56,8, -60,2 %, respectivamente, siendo valores negativos. Este resultado se explica, por la generación de biomasa que escapa del reactor, siendo un factor de interferencia para la medición (APHA 2005), por lo que el análisis de la eficiencia de eliminación se considera con las muestras filtradas.

La figura 20 muestra el comportamiento de la DQO total en el sistema completo. Se observa como al principio de la experimentación, la materia orgánica medida en forma de DQO total es mayor que en la salida y en el punto medio. Sin embargo, en varios momentos y en especial al final de la experimentación, el crecimiento en biomasa y la acumulación de Materia orgánica, aumenta la concentración de la misma en el reactor y en la salida. Por su parte en la figura 21, se observa como la DOQ filtrada, tiene un mejor comportamiento, pues la concentración de entrada es superior que en la de salida. En este parámetro se eliminaba la materia orgánica en forma de biomasa (algas en su mayoría) que produce interferencia, permitiendo establecer con certeza cuanto de la materia orgánica disuelta en forma de DQO, el sistema está eliminando.

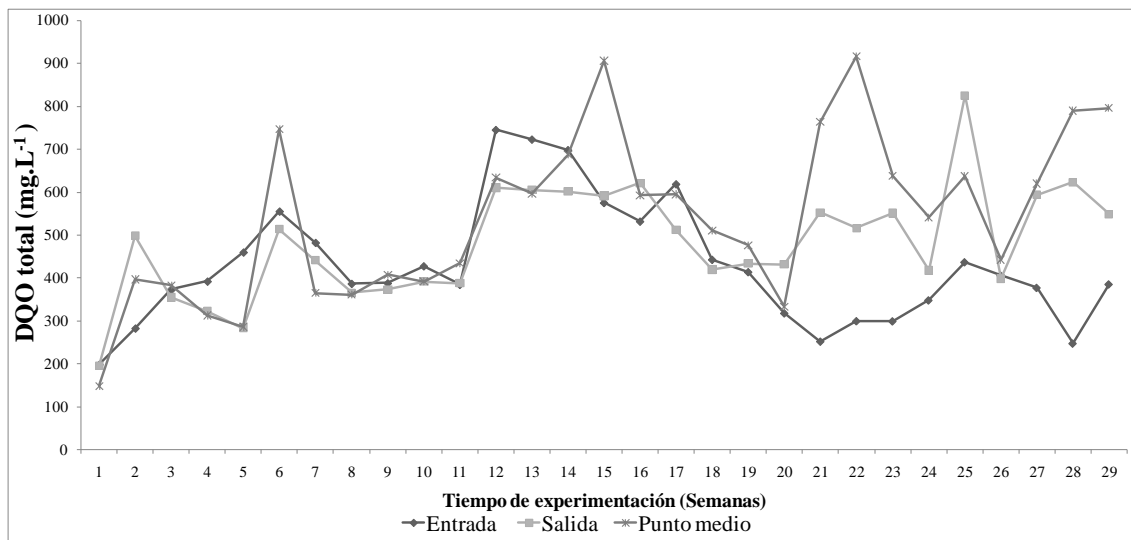


Figura 20. Comportamiento de la DQO total en el sistema.

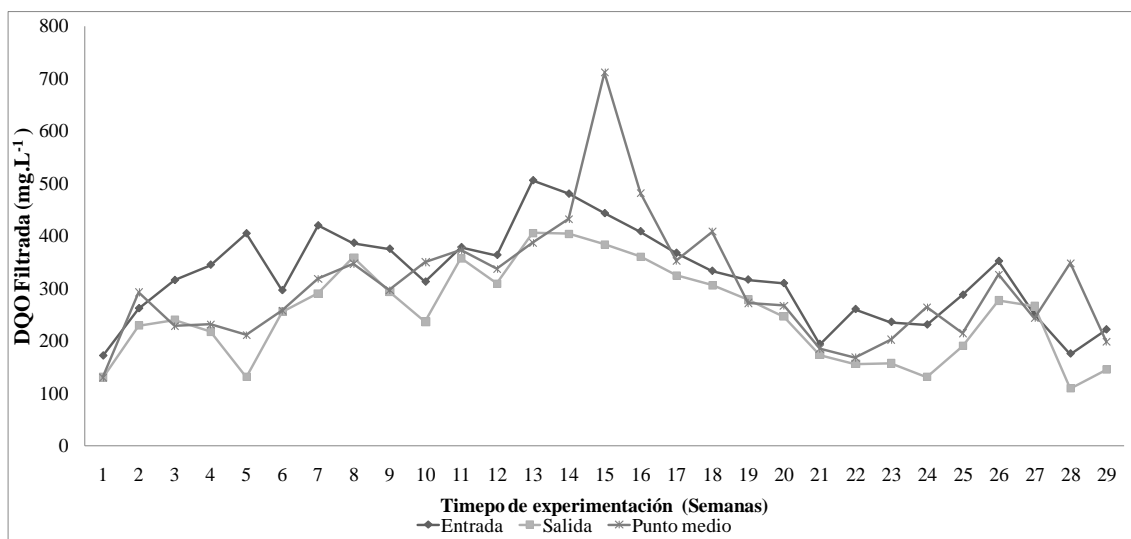


Figura 21. Comportamiento de la DQO filtrada en el sistema

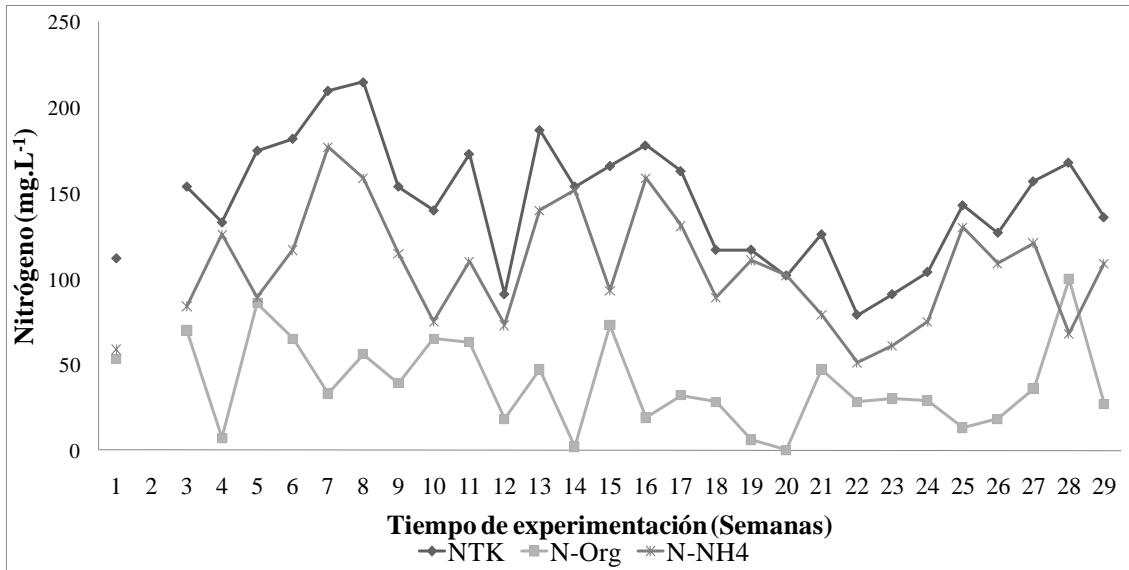
#### 6.1.2.3.2 Comportamiento de Nitrógeno

Esta clase de sistemas algales pueden ser utilizados para el pulimiento de aguas residuales (Mara 2004) en relación a la eliminación de nutrientes, pues presentó una adecuada eliminación de la mayoría de los parámetros medidos. Tal es el caso del  $N-NH_4$  (Nitrógeno amoniacal), el cual presentó una eficiencia de eliminación mayor al 20 % en promedio, alto si se tiene en cuenta que se estaba tratando lixiviado de relleno sanitario (Mustafa et al. 2012). Cuando esta tecnología trata un residuo menos complejo, como las aguas residuales domésticas, puede alcanzar eficiencias de eliminación alrededor del 80 y 90 % (Park & R Craggs 2010), al haber menor concentración de contaminantes xenobioticos e inhibidores, que si pueden estar presente en lixiviado (Renou et al. 2008). En este caso, la relación  $DBO_5/DQO$  del afluente del reactor fue 0.2, indicando un bajo potencial de biodegradabilidad. Sin embargo, para las diferentes especies de Nitrógenos analizados en esta investigación, se observó que la eliminación de  $NTK_{total}$  (Nitrógeno Total Kjeldahl) y  $N-NH_4$  (Nitrógeno amoniacal)

fueron superiores del 20 %. Para el  $N-NH_4$  Filtrada, y  $NTK$  Filtrada se alcanzaron eliminación del 21.9 % y 22.18, respectivamente. Siendo esto bajo para lo reportado por Aguirre et al. (2011) quienes utilizaron un sistema similar, para tratar aguas de porcícolas, que contienen altas cargas de Nitrógeno alcanzaron una eliminación por encima del 70 %. Aunque, la calidad de las aguas tratadas reportadas por estos autores, era mejor que las que tratadas en esta investigación, al solo contener materia orgánica y nutrientes principalmente.

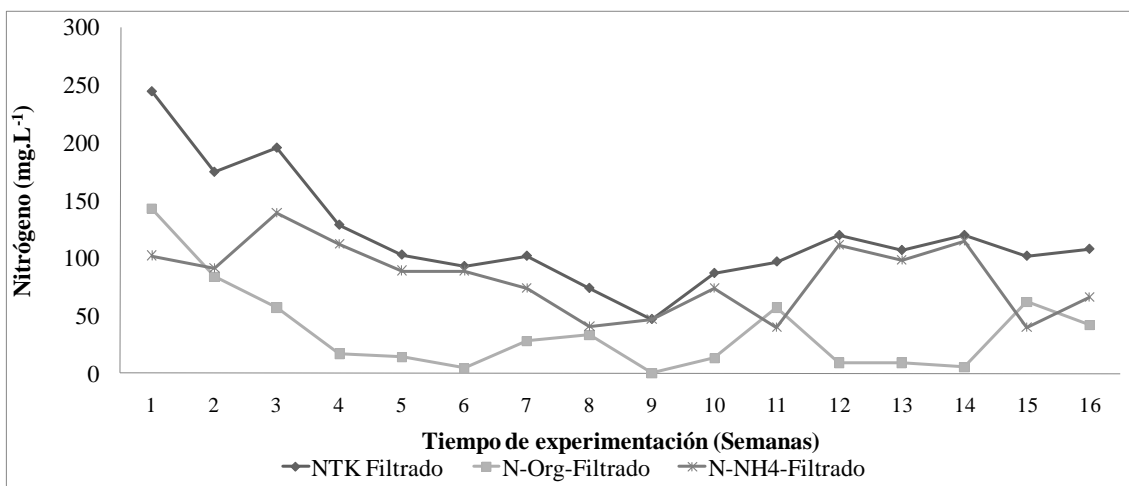
Por otro lado, cuando se analiza la eliminación de las diferentes especies de Nitrógeno, como carga eliminada (Asociada con el caudal que entra y sale del sistema), se observó que la eliminación mejora para todas las formas determinadas (Tabla 14). Alcanzando eliminaciones en la carga ( $Kg.d^{-1}$ ) de  $NTK$  total y filtrado (Nitrógeno Total Kjeldahl),  $N-NH_4$  total y filtrado (Nitrógeno amoniacal) y  $NO_3$  (Nitratos) de, 29.8, 38.4, 31.3, 36.7 y 25 %, respectivamente. Esta eliminación pudo deberse a varios procesos que sucedieron en el reactor, como la volatilización, principalmente del Nitrógeno amoniacal, pues este parámetro se ve afectando por la temperatura y el pH, los cuales son modulados por el proceso de la Fotosíntesis, y en donde se incrementa el pH ( $> 9$ ) (Tabla 11 y figura 16) a través de la captura de  $CO_2$  del agua, favoreciendo la volatilización del  $NH_3$  (50 % del amonio se encuentra en esta forma, debido al  $pH > 9$ ) (Sperling & Chernicharo 2005; Cai et al. 2013). Sin embargo, la asimilación por parte de las microalgas y las bacterias presentes en el sistema puede ser otra contribución significativa a la eliminación y/o transformación del nitrógeno, aunque, el proceso que ellas desempeñan se denomina asimilación, en el cual no solo toman Amonio, pues pueden utilizar Nitritos y Nitratos (Abdel-Raouf et al. 2012). Se considera que la forma de Nitrógeno preferida por las microalgas es el amonio, debido a que no hay una reacción redox involucrada en su asimilación; por lo tanto, requiere menos energía (Cai et al. 2013). No obstante, también emplean los Nitritos y Nitratos, pero son utilizados una vez que hayan consumido el amonio. A pesar de todas estas interacciones biológicas que suceden en esta clase de reactor (alta tasa de algas). García et al. (2000), mostraron que el principal mecanismo de eliminación de Nitrógeno en estos sistemas es la Volatilización, por cambios en el pH que produce la actividad Fotosintética.

En las figuras 22 y 23, se puede observar como es el comportamiento de las distintas especies determinadas de Nitrógeno dentro del reactor. En la figura 22 se muestra que durante el tiempo de la experimentación, la mayor parte del Nitrógeno Total está compuesto por Amonio y este a su vez mantiene una relación inversa con el Nitrógeno Orgánico, pues a medida que aumenta uno disminuye el otro.



**Figura 22.** Comportamiento del N en el reactor.

En la figura 23, se muestran las concentraciones de NTK, N-Orgánico y Amonio (NH<sub>4</sub>), filtrado en el reactor. En este caso, el comportamiento del Amonio, después del periodo de aclimatación del sistema, se hace casi igual a la concentración de NTK.



**Figura 23.** Comportamiento del N-Filtrado en el reactor.

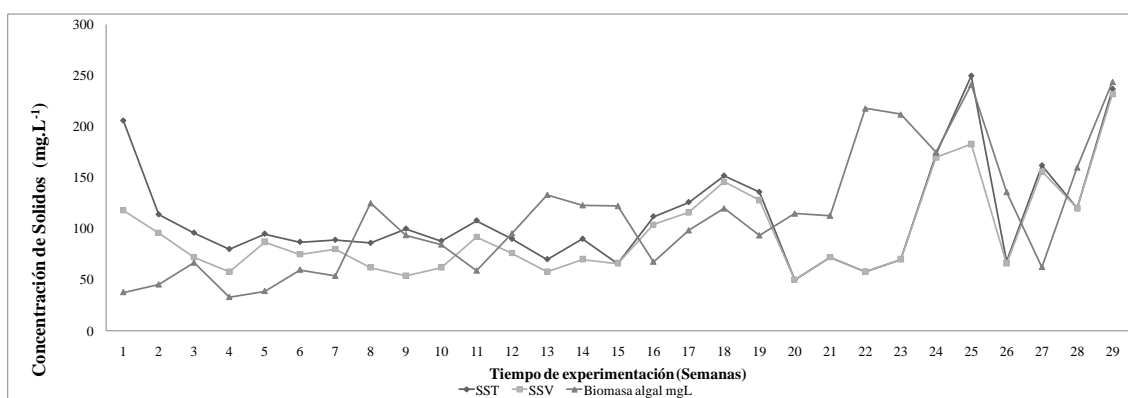
#### 6.1.2.3.3 Comportamiento de Fosforo

El fosforo total (PO<sub>4</sub>) por su parte, presentó una eliminación del 8,3 % siendo alta para esta clase sistemas, ya que Park & Craggs (2011), reportaron un porcentaje de eliminación negativo, demostrando que la asimilación de este compuesto es baja, con tendencia a acumularse en el reactor, además con los altos valores registrados de pH (>8) (Tabla 11), podrían verse afectado y precipitar acumulándose en el sistema, saliendo cuando haya un flujo fuerte que lave la biomasa del fondo del reactor (Sperling & Chernicharo 2005). Sin embargo, cuando se calculó el porcentaje eliminación en carga de esta compuesto, aumento a 17.3 y 2 %, para fosforo total y filtrado, respectivamente.

#### 6.1.2.3.4 Generación de Biomasa-productividad

Además de capturar CO<sub>2</sub> y hacer una descontaminación de las aguas, se puede aprovechar toda la biomasa que se crea mediante anabolismo celular (Sperling & Chernicharo 2005). La cosecha de biomasa es potencialmente importante para la producción de biocombustibles (Abdel-Raouf et al. 2012; Mata et al. 2010), o ser utilizada en digestión anaerobia para producción de gas (Brune et al. 2009; Mata-Alvarez et al. 2000), o fertilizantes y alimento (animal como humano) (Craggs et al. 2012; Craggs 2005). La figura 24 muestra la relación que existe entre los SST, SSV y la biomasa alga del sistema, mostrando un mismo comportamiento, lo que podría ser una potencial fuente de Biomasa, pues la cantidad de sólidos que en su mayoría es biomasa de algas, que supera los 100 mg.L<sup>-1</sup> equivalente a 0.1 g.L<sup>-1</sup>, siendo suficiente biomasa para ser utilizada en algunas de las potencialidades mencionadas anteriormente (Ashokkumar & Rengasamy 2012; Pittman et al. 2011a).

La tabla 15, presenta la productividad de biomasa en términos de SSV y SST, fue de 96.9 y 109 g.m<sup>-3</sup>, respectivamente, cuando al reactor no tenía inyección de CO<sub>2</sub>. Sin embargo, cuando al reactor se le inyectó CO<sub>2</sub>, la productividad fue de 142.2 y 148.9 g.m<sup>-3</sup>, respectivamente. Aumentando un 31.9 % en SSV y 26.8 % en SST. Estos resultados son similares a los reportados por Park & Craggs (2011b), quienes obtuvieron un porcentaje del 44.7 % de aumento en la concentración de SST y un 44.4 % de aumento en la concentración de SSV, cuando se inyectó CO<sub>2</sub>. Cabe mencionar, que la investigación realizada por estos autores, contó con toda la infraestructura y tecnología, que les permitía medir cada minuto, el caudal de CO<sub>2</sub> que se aplicaba y regularlo, dependiendo de los cambios de pH. Proceso que no se pudo realizar en esta investigación, lo que pone de manifiesto como las condiciones del trópico favorecen la actividad de este tipo de sistemas de algas.



**Figura 24.** Relación entre los SST, SSV y la Biomasa algal.

Para el caso de la concentración de Biomasa algal, que se calculó utilizando la ecuación 2, fue de 69.9 g.m<sup>-3</sup>, sin CO<sub>2</sub> y 147.6 con CO<sub>2</sub>. Lo que evidencia como la inyección de este gas, favorece su crecimiento de algas (Das et al. 2011; Tolbert 1997; Watanabe & Hall 1995). De las concentraciones de SST y SSV, el 74.8 y 83.1 % corresponde a biomasa algal, cuando no se le adiciona CO<sub>2</sub>. Por su parte, cuando se le adiciona CO<sub>2</sub>, esta proporción aumentó, a 85.7 y 81.7 %, respectivamente.

Con respecto a la productividad del sistema, en SSV fue mayor cuando no se adicionaba CO<sub>2</sub> al sistema, reportándose una 9.8 g SSV.m<sup>-2</sup>.día<sup>-1</sup> y 50.2 g SSV.m<sup>-3</sup>.día<sup>-1</sup>, comparado con las productividad cuando se le adiciono CO<sub>2</sub>, con una productividad de 9.4 g SSV.m<sup>-2</sup>.día<sup>-1</sup> y 48.1 g SSV.m<sup>-3</sup>.día<sup>-1</sup>. Esto posiblemente por la gran actividad fotosintética que presentó cuando la población de algas aumento, provocando que la población bacteriana se afectara por la fotooxidación. Esto mismo ocurrió, con la productividad medida en términos de SST, con 10.9 g SST.m<sup>-2</sup>.día<sup>-1</sup> y 56.4 g SST.m<sup>-3</sup>.día<sup>-1</sup> sin la adición de CO<sub>2</sub>. Y 9.8 g SST.m<sup>-2</sup>.día<sup>-1</sup> y 50.6 g SST.m<sup>-3</sup>.día<sup>-1</sup>, cuando se le adiciono CO<sub>2</sub> al sistema.

Por el contrario, en términos de productividad algal en metros cuadrados la adición de CO<sub>2</sub> representó un incremento del 11.73 %, alcanzando una productividad en biomasa de 8.2 g.m<sup>-2</sup>.día<sup>-1</sup>, a diferencia de los 7.2 g.m<sup>-2</sup>.día<sup>-1</sup> cuando no se adiciono CO<sub>2</sub>. Para el caso de la productividad por m<sup>3</sup>, esta aumento un 11.7 %, alcanzando una productividad del 42.1 g.m<sup>-3</sup>.día<sup>-1</sup>, con CO<sub>2</sub> y 37.2 g.m<sup>-3</sup>.día<sup>-1</sup> sin CO<sub>2</sub>. Todas estos resultados son similares a los obtenidos por Craggs et al. (2012), quienes evaluaron un sistema similar, pero este a escala real encontrando una productividad de 5 y 15 g.m<sup>-2</sup>.día<sup>-1</sup>, lo que evidencia que de escalarse el sistema su productividad estaría dentro lo esperado. Estos resultados, refuerzan la hipótesis de posibles usos de la biomasa algal, entre las cuales se encuentra la producción de Biocombustibles.

**Tabla 14.** Productividad de algas y productividad de biomasa del sistema algal de alta tasa, comparando sin la adición de CO<sub>2</sub> y con la adición de CO<sub>2</sub>.

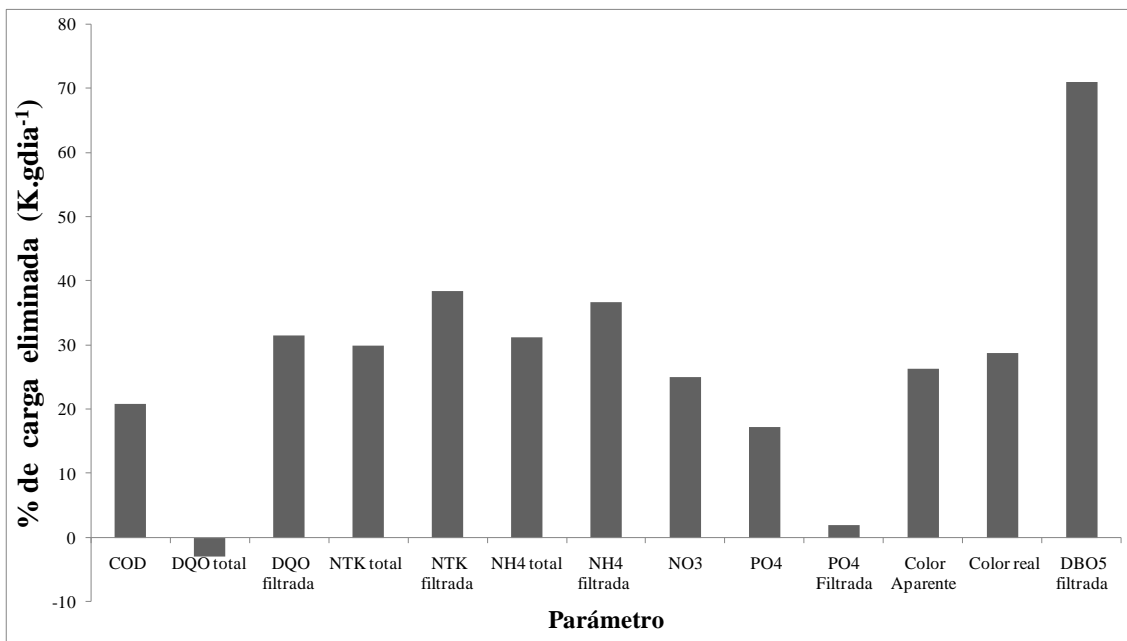
	Sin CO <sub>2</sub>	Con CO <sub>2</sub>
	Promedio ± s.d	Promedio ± s.d
SSV g.m <sup>-3</sup>	96.8 ± 38.05	142.2 ± 61.21
SST g.m <sup>-3</sup>	109 ± 44.98	148.4 ± 58.96
<b>Concentración de Biomasa algal g.m<sup>-3</sup></b>	69.9 ± 39.07	147.6 ± 81.15
Alga (SSV%)	83.1 ± 59.92	85.7 ± 39.29
Alga (SST%)	74.8 ± 57.12	81.7 ± 38.54
<b>Productividad de biomasa (g SSV.m<sup>-2</sup>.día<sup>-1</sup>)</b>	9.8 ± 4.16	9.3 ± 8.61
<b>Productividad de biomasa (g SSV.m<sup>-3</sup>.día<sup>-1</sup>)</b>	50.2 ± 21.38	48.1 ± 44.26
<b>Productividad de biomasa (g SST.m<sup>-2</sup>.día<sup>-1</sup>)</b>	10.9 ± 4.88	9.8 ± 8.90
<b>Productividad de biomasa (g SST.m<sup>-3</sup>.día<sup>-1</sup>)</b>	56.3 ± 25.11	50.6 ± 45.78
<b>Productividad de algas g.m<sup>-2</sup>.día<sup>-1</sup></b>	7.2 ± 4.66	8.2 ± 9.45
<b>Productividad de algas g.m<sup>-3</sup>.día<sup>-1</sup></b>	37.2 ± 23.94	42.1 ± 48.60

#### 6.1.2.3.5 Eliminación de contaminantes (Materia orgánica y nutrientes)

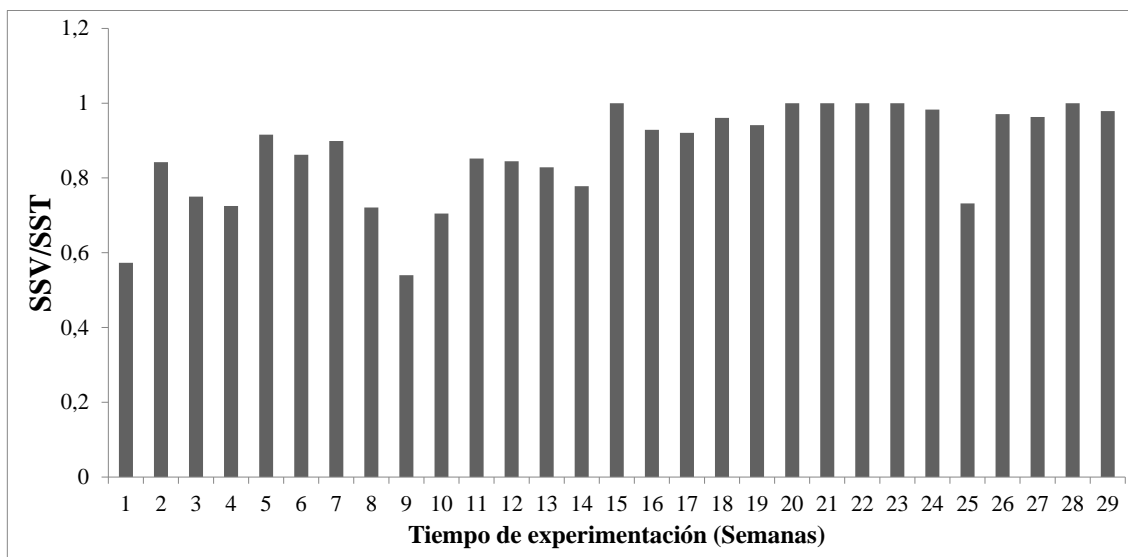
En la figura 25 se puede observar como este sistema en términos de carga, puedo eliminar material orgánico y nutrientes. En términos de DBO<sub>5</sub> se presentó un eficiencia de 71 %, similar a lo reportado por García et al. (2000); Park & Craggs (2010); Park & Craggs (2011)b; Park et al. (2011); quienes en sus investigaciones, mencionan las bondades de esta clase tecnologías. En estos trabajos investigativos se utilizaba aguas residuales domésticas, que son residuos con una alta biodegradabilidad (DBO<sub>5</sub>/DQO > 0.6), a diferencia en esta investigación, donde la calidad del afluente al sistema contaba una baja biodegradabilidad (DBO<sub>5</sub>/DQO de 0.15), por ser lixiviados tratados. Además

podrían contener altas concentraciones de compuestos recalcitrantes y metales pesados. Todo esto ratifica las potencialidades que presenta la implementación de sistemas algales de alta tasa, en un contexto local (temperatura, radiación solar, diversidad ecológica etc.), pues existen las condiciones adecuadas para un buen desarrollo del sistema.

Trabajos de Oswald (1988b); Oswald (1988a); Oswald (1990); Rawat et al. (2011) entre otros autores, mencionan la potencialidad en la eliminación de nutrientes con la implementación de sistemas algales de alta tasa, debido a la alta tasa fotosintética y la asociación de bacterias que hay dentro del sistema. Esta afirmación, se comprueba en esta investigación, pues el sistema tuvo un buen comportamiento eliminando principalmente nitrógeno, el cual se efectuó principalmente por volatilización debido a los grandes cambios del pH del reactor (Tabla 11). Sin embargo, el proceso de asimilación podría haber tenido también un rol, ya que se presentó una alta producción de biomasa expresada en Biomasa algal siendo superior a  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  (Figura 24). La figura 26, muestra la relación entre los SSV/SST; evidenciando la alta producción microbiológica manteniéndose por encima de 0.9 en muchas ocasiones, mostrando que la mayor parte de los sólidos del sistema eran microorganismos (algas o bacterias).



**Figura 25.** Porcentajes de carga eliminada de cada uno de los parámetros determinados.



**Figura 26.** Relación entre SST/SSV en el reactor.

#### 6.1.2.3.6 Análisis estadístico del desempeño del sistema.

##### 6.1.2.3.6.1 Validación del supuesto de Normalidad

La prueba empleada para validar el supuesto de normalidad fue la de Shapiro-Wilk, ya que el número de réplicas o el tamaño del experimento se considera pequeño, entre 15 y 29 mediciones, y el criterio de decisión es rechazar la hipótesis nula cuando el valor-p es menor que el nivel de significancia del 0,05. En las tablas 16 y 17 se puede apreciar que el supuesto no se cumple para la mayoría de los parámetros bajo estudio a excepción de N-NH<sub>4</sub>, Color Aparente (CA), NTKFiltrada, N-NH<sub>4</sub>Filtrada y P-PO<sub>4</sub>Filtrada.

**Tabla 15.** Validación del supuesto de normalidad bajo un diseño de Bloques (Análisis de los Residuales).

Parámetro	COD	DQO	SST	SSV	SSV/SS T	NTK	N-NH <sub>4</sub>	N- NO <sub>3</sub>	P-PO <sub>4</sub>
Valor-p	0,0041	3,52e <sup>-06</sup>	0,000859	0,04857	9,59e <sup>-07</sup>	1,03e <sup>-05</sup>	0,06381*	0,0001 16	0,000517

\*: Se acepta el supuesto de Normalidad a un nivel de Significancia del 0,05.

**Tabla 16.** Validación del supuesto de normalidad bajo un diseño de Bloques (Análisis de los Residuales).

Parámetro	Color Aparente	Color Real	Alcali-T	DQOF	NTKF	N-NH <sub>4</sub> F	P-PO <sub>4</sub> F
Valor-p	0,4177*	3,183e <sup>-5</sup>	0,02337	1,005e <sup>-8</sup>	0,2165*	0,1092*	0,6776*

\*: Se acepta el supuesto de Normalidad a un nivel de Significancia del 0,05.

Al no cumplir todos los parámetros con la distribución normal de los residuales, se determinó utilizar el test de Friedman. Esta prueba de análisis de varianza de dos factores por rango, es la alternativa a los diseños de bloques completamente al azar cuando no se cumplen los supuestos de normalidad. Este análisis de varianza de dos factores por rangos de Friedman perteneciente a la familia no paramétrica se emplea con



datos ordinales (orden de rango) en una situación de hipótesis que implica un diseño con dos o más muestras dependientes (hipótesis sobre la mediana) (Sheskin 2000).

#### 6.1.2.3.6.2 Resultado del test de Friedman para las concentraciones

Como puede observarse en la Tabla 18 y 19, el Test de Friedman indica que se presentaron diferencias para COD, SST, SSV, NTK, N-NH<sub>4</sub>, Color Real (C.R) Alkali-Total, DQO filtrada, NTK filtrada y N-NH<sub>4</sub> filtrada, en términos de las concentraciones que ingresaron al reactor en el periodo de estudio. Una vez se determinó en que parámetros existían diferencias, se utilizó la prueba Post Hoc, para determinar en qué puntos del sistema radican las diferencias. Se encontraron que en general las diferencias se presentan en los puntos de muestreo Entrada (E) y Salida (S) y la relación Entrada Intermedio (E-H2). Al revisar el signo de las diferencias de los rangos y su amplitud se encuentra que respectivamente en la entrada es donde se presenta una mayor concentración, del contaminante. Este resultado permite establecer estadísticamente, que en términos de concentración de los contaminantes, la entrada es la que difiere de las demás, pues de no ser así, indicaría que el contaminante (determinado en las parámetros medidos) cuando entra al sistema, sale sin sufrir algún cambio aparente. Esta situación indica un factor positivo de diferencia, donde en la salida o efluente la presencia del contaminante es menor comparada con la entrada o afluente.

**Tabla 17.** Resultados del Test de Friedman para las concentraciones de los parámetros bajo estudio, utilizando un  $\alpha=0,05$ .

Test de Friedman									
Parámetro	COD	DQO	SST	SSV	SSV/SST	NTK	N-NH <sub>4</sub>	N-NO <sub>3</sub>	P-PO <sub>4</sub>
Valor-p	5,4024e <sup>-5</sup>	0,12203	0,00194	0,00272	0,1405	1,0448e <sup>-10</sup>	3,3599e <sup>-6</sup>	0,0528	0,17377
Test Post Hoc									
E vs H2	S	---	S	NS	---	S	S	---	---
E vs S	S	---	S	S	---	S	S	---	---
H2 vs S	NS	---	NS	NS	---	NS	NS	---	---

NS: No significativo

S: Significativo

**Tabla 18.** Resultados del Test de Friedman para las concentraciones de los parámetros bajo estudio utilizando un  $\alpha=0,05$ .

Test de Friedman							
Parámetro	C.A	C.R.	Alcali-T	DQOF	NTKF	N-NH <sub>4</sub> F	P-PO <sub>4</sub> F
Valor-p	0,34415	0,01402	0,01133	1,1648e-07	5,4763e-06	0,001603	0,25112
Test Post Hoc							
E vs H2	---	S	NS	S	NS	S	---
E vs S	---	NS	S	S	S	S	---
H2 vs S	---	NS	NS	S	S	NS	---

NS: No significativo

S: Significativo

#### 6.1.2.3.6.3 Resultado del test de Friedman para las eliminaciones

En el caso del análisis de eliminación, las tablas 20 y 21 se puede observar que a través del Test de Friedman se detectan diferencias significativas en materia orgánica (COD, DQOFiltrada) y nitrógenos (NTK, NTKFiltrada, N-NH<sub>4</sub>, N-NO<sub>3</sub>) dado que el valor-p es mucho menor que el nivel de significancia establecido (nivel de significancia del 0,05).

A través del Test Post Hoc, se pudo establecer entre que pares de comparaciones de los puntos de muestreo es que se presenta dichas diferencias, mostrando que la entrada (E) y Salida (S) y la relación Intermedio - Salida (H2-S), están las principales diferencias. Sin embargo, es el punto de muestreo (E) en donde se presenta una mayor diferencia con respecto a los otros puntos en términos de eliminación de contaminantes. Este resultado estadístico corrobora lo descrito anteriormente, pues se ha establecido que el sistema cumple con una eliminación significativa de cada uno de los parámetros analizados, especialmente el de materia orgánica (COD y DQOfiltrada) y los Nutrientes (NTK, NTKFiltrada, N-NH<sub>4</sub>, N-NO<sub>3</sub>).

**Tabla 19.** Resultados del Test de Friedman para la eficiencia de eliminación de los parámetros bajo estudio utilizando un  $\alpha=0,05$ .

Test de Friedman									
Parámetro	COD	DQO	SST	SSV	SSV/SST	NTK	N-NH <sub>4</sub>	N-NO <sub>3</sub>	P-PO <sub>4</sub>
Valor-p	0,001558	0,15188	0,14008	0,2889	0,3104	0,00117	0,000762	0,04201	0,1673
Test Post Hoc									
E vs H2	S	---	---	---	---	NS	NS	NS	---
E vs S	S	---	---	---	---	S	S	NS	---
H2 vs S	NS	---	---	---	---	S	S	S	---

NS: No significativo

S: Significativo

**Tabla 20.** Resultados del Test de Friedman para la eficiencia de remoción de los parámetros bajo estudio utilizando un  $\alpha=0,05$ .

Test de Friedman							
Parámetro	C.A	C.R.	Alcali-T	DQOF	NTKF	N-NH <sub>4</sub> F	P-PO <sub>4</sub> F
Valor-p	0,4203	0,0568	0,3678	0,000229	0,00298	0,2853	0,2035
Test Post Hoc							
E vs H2	---	---	---	S	S	---	---
E vs S	---	---	---	S	S	---	---
H2 vs S	---	---	---	NS	NS	---	---

NS: No significativo

S: Significativo

### 6.1.3 Plus de la investigación

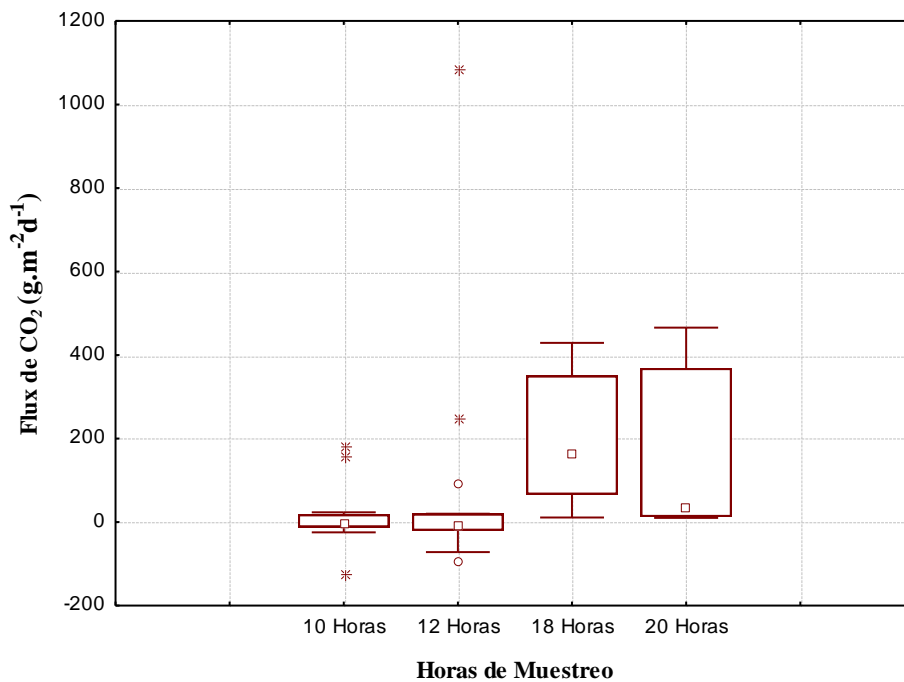
#### 6.1.3.1 Flux de CO<sub>2</sub>

Como parte del balance de masa propuesto para calcular la tasa fotosintética (EC5), se debía calcular el flux de CO<sub>2</sub>. Este fenómeno físico se da en dos direcciones, desde la laguna-atmosfera o atmosfera-laguna, siendo sumidero o emisor, respectivamente. En el primer caso, el sistema captura CO<sub>2</sub> del ambiente, debido a que las algas en su actividad fotosintética consumen el CO<sub>2</sub> disuelto y por gradientes de concentraciones este entra a la laguna (Anthony et al. 1995a). Es en este sentido el balance se considera como flujo negativo, pues el gas entra al sistema, y si este es positivo el gas sale del sistema (Yang et al. 2008).

La figura 28 muestra los flux calculados en el sistema, durante las horas diurnas (10-12 horas) se presenta un flux negativo de -0.7 y -9.4 g.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup> en promedio para cada una de las horas diurnas. De estas mediciones el 61 % fueron Flux Negativos, lo que indica que durante el día el sistema algal de alta tasa se comporta como un sumidero de carbono (Silva et al. 2012; Silva-vinasco & Valverde-solís 2011), similar a lo reportado en lagunas que han sufrido un proceso de hipereutrofización, las cuales se comportan como

sumideros en épocas de verano (Xing et al. 2005). Sin embargo, para las horas nocturnas (18 y 20 horas), el promedio fue de 204.4 y 178.1  $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ , respectivamente. En este caso, el 100 % de las mediciones presentaron flux positivos, mostrando un comportamiento totalmente opuesto a las horas diurnas ya que el sistema emite carbono. Sin embargo, en términos de flux el sistema se comporta como un emisor de carbono al presentar un balance general positivo de 145.6  $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$ . Cabe mencionar, que este valor solo expresa la cantidad de gas que se produce los días de medición y como se ha mencionado a lo largo del documento, este sistema es fuertemente influenciado por la actividad fotosintética de las algas, las cuales a su vez son afectadas por múltiples variables físicas, químicas y biológicas. Llevando a equivocaciones en la interpretación del comportamiento real del sistema.

Así mismo, en la figura 28 se observa datos mayores al promedio, convirtiéndose en datos atípicos de los Flux de  $\text{CO}_2$ , especialmente en las horas diurnas. Estos datos obedecen a dos casos particulares. El primero se da, en el arranque del sistema, donde las poblaciones algales tuvieron problemas y diferentes momentos de aclimatación, pues se debió esperar a que las unidades anteriores a la laguna alcanzaran sus condiciones de estado estacionario. Desafortunadamente estos tiempos no son simétricos, ocasionando que en algunos instantes el sistema algal se desestabilizara (Figura 24), y por ende se redujera la eficiencia fotosintética. El otro caso, fue el experimento que se realizó al final de la investigación donde se inyectó  $\text{CO}_2$  gaseoso al sistema, teniendo como resultado un aumentando la productividad en términos de biomasa (Figura 10). Sin embargo, gran parte del gas escapo a la atmosfera, ya que la solubilidad del  $\text{CO}_2$  en el agua no es alta (Rasineni et al. 2011).

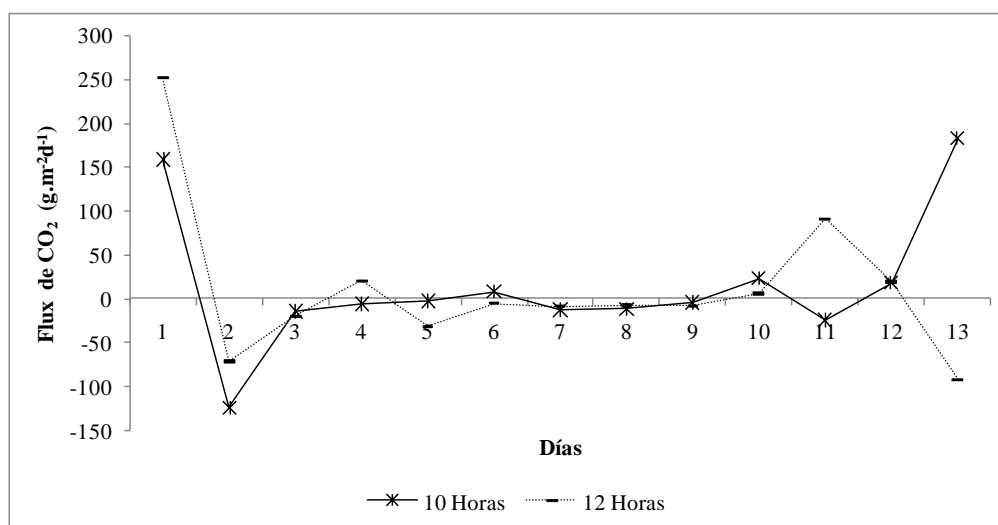


**Figura 27.** Comportamiento del Flux de  $\text{CO}_2$  en el reactor.

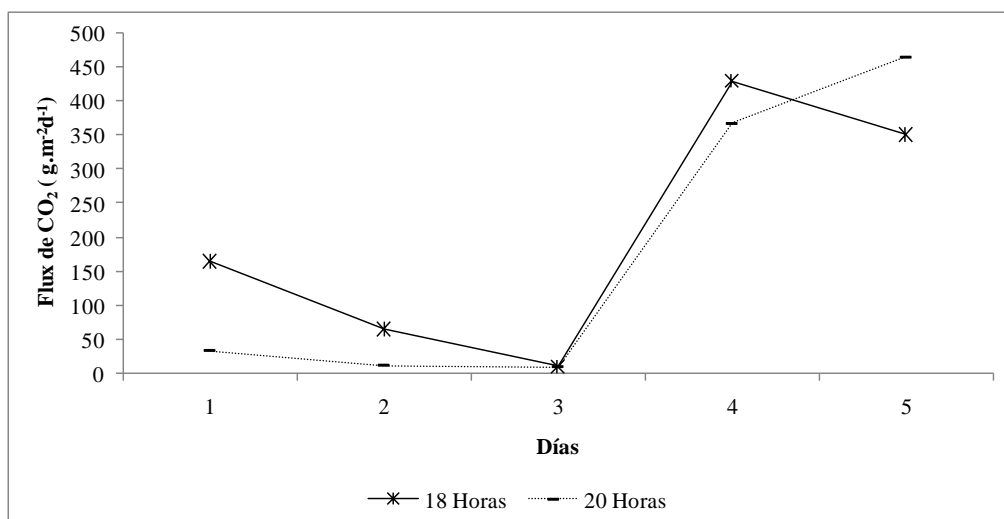
Las figuras 29 y 30, muestran los diferentes Flux para los dos tipos de fotoperiodos evaluados (Diurno y Nocturno). Las mediciones tuvieron un número de datos diferencial, debido a las dificultades logísticas y de seguridad que representaba la medición durante altas hora de la noche. Por su parte, la figura 30, muestra como los valores del Flux en horas diurnas se mantuvieron negativos o muy bajos la mayor parte del tiempo de muestro. Se alcanzó valores negativos de  $-123.8$  y  $-92.4 \text{ g.m}^{-2}\text{d}^{-1}$  a las 10 y 12 horas, respectivamente, a excepción de los casos que se mencionaron anteriormente.

Por otro lado, el hecho de que los flux más negativos se dieran a las 10 horas, se pudo dar por la intensa radiación solar que acontece a las 12 horas (Figura 12), ya que un aumento de la radiación solar directa afecta a las microalgas presentes en el medio, hasta el extremo de alcanzar el punto de compensación de luz y en otros casos la Foto inhibición (Masojídek & Torzillo 2004) que puede afectar negativamente los receptores de luz de las algas, produciendo una disminución en la tasa de fotosíntesis y su productividad. Sin embargo, en los sistemas algales de alta tasa, la mezcla y el crecimiento en densidad, influyen la distribución de la radiación de una manera uniforme a todas las células, disminuyendo la ocurrencia de la Foto inhibición en el sistema (Richmond 2004; Park et al. 2011), lo que explicaría porque a pesar de que a las 12 horas, la radiación pudiera producir una foto inhibición, se dieron también flux negativos.

Los flux en horas nocturnas (18 y 20 horas) se muestran en la figura 29. En este caso, todos los valores fueron positivos, demostrando que este sistema tiene un funcionamiento en términos de actividad fotosintética en horas diurnas. Observándose este proceso hasta las 16 horas (Figura 18), momento en el cual las algas descienden al fondo del reactor, y muy posiblemente reduzcan su tasa fotosintética. Sin embargo, al momento que se realizó el experimento de inyección de  $\text{CO}_2$  al sistema, el flux supero ampliamente el valor promedio, registrando flux máximos de  $429.1$  y  $465.6 \text{ g.m}^{-2}\text{d}^{-1}$  para las horas nocturnas respectivas (18 y 20 horas).



**Figura 28.** Flux de  $\text{CO}_2$  para las horas diurnas (10 y 12 horas).



**Figura 29.** Flux de CO<sub>2</sub> para las horas nocturnas (18 y 20 horas).

#### 6.1.3.1.1 Test de Wilcoxon

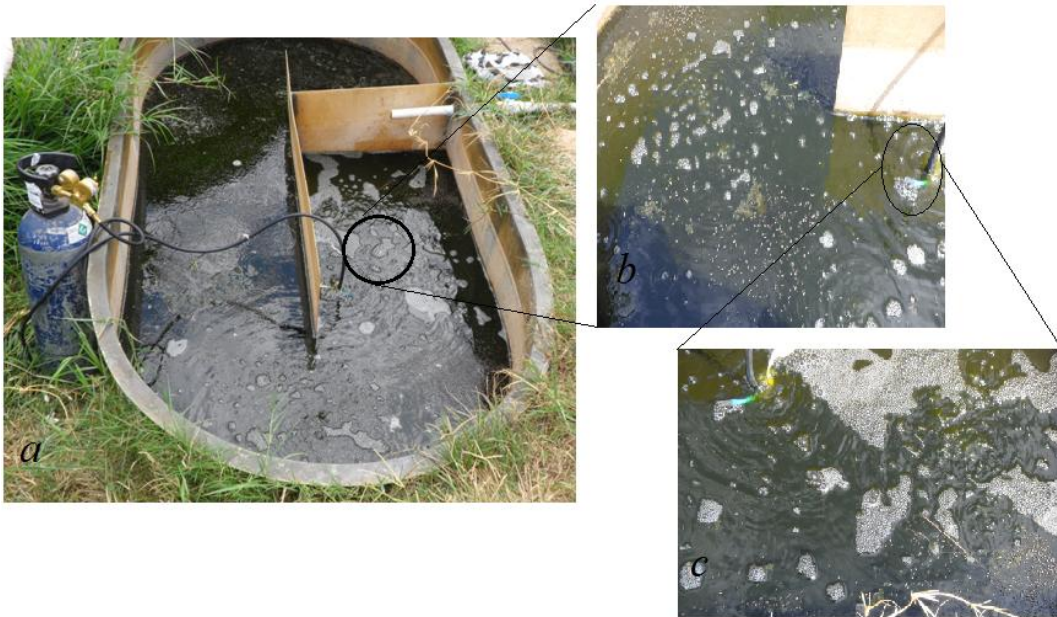
En el análisis estadístico de Wilcoxon, el criterio de decisión para rechazar la hipótesis nula se da cuando el valor-p es menor al nivel de significancia del 0,05. En este caso el valor-p fue de 0.031, (<0.05), indicando que existen diferencias estadísticas entre los flux diurnos y nocturnos. La estadística muestra lo que en términos de procesos ocurre en el bioreactor y que el sistema presenta dos comportamientos, los cuales son dependientes de la luz solar, lo que a su vez afecta la actividad fotosintética de las algas y por ende de la capacidad de fijación de CO<sub>2</sub>. Esta actividad se ve influenciada también por la intensidad de la luz, el ángulo de incidencia de la luz, la superficie del agua, la densidad celular y composición celular de las algas, la ubicación geográfica, el tiempo del período diurno, y las condiciones climáticas (Ho et al. 2011). Afortunadamente las condiciones del trópico, son las ideales para esta clase de sistemas de productividad algal, especialmente la zona de la investigación, pues permanece la mayoría del año, con una alta radiación solar.

#### 6.1.3.2 Experimento exploratorio

##### 6.1.3.2.1 Adición de CO<sub>2</sub> al sistema

Buscando determinar de manera exploratoria la capacidad de fijación de CO<sub>2</sub> por parte de las algas cuando una corriente gaseosa que contiene dicho gas es aplicada en la unidad, se desarrolló una prueba de inyección de CO<sub>2</sub> al reactor y se determinó el comportamiento de la unidad. Acorde con la literatura, autores como Anthony et al. (1995), Watanabe & Hall (1995); Benemann & Oswald (1996); Tolbert (1997); Stepan et al. (2002); Richmond (2004); Giordano et al. (2005); Craggs (2005), Skjånes et al. (2007); José & Vicente (2010), Park & Craggs (2010), Zhao et al. (2011); Park & Craggs (2011b); Park & Craggs (2011a); Putt et al. (2011); Choi et al. (2012); todos en sus investigaciones destacan la condición, que la inyección de CO<sub>2</sub> a un sistema de algas mejora su productividad y rendimiento. Teniendo en cuenta estas observaciones, se planteó hacer un ensayo por un día completo (8 -20 horas), de aplicar CO<sub>2</sub> al sistema. La figura 30 muestra la forma como se aplicó el gas, a la laguna algal de alta tasa, con

un caudal que vario entre 9.4 y 10 L.min<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub>. En este proceso, se pudo observar cualitativamente que después de dos horas de haber iniciado el ensayo, el color de la laguna cambiada de un tono oscuro aun verde definido (figura 31).



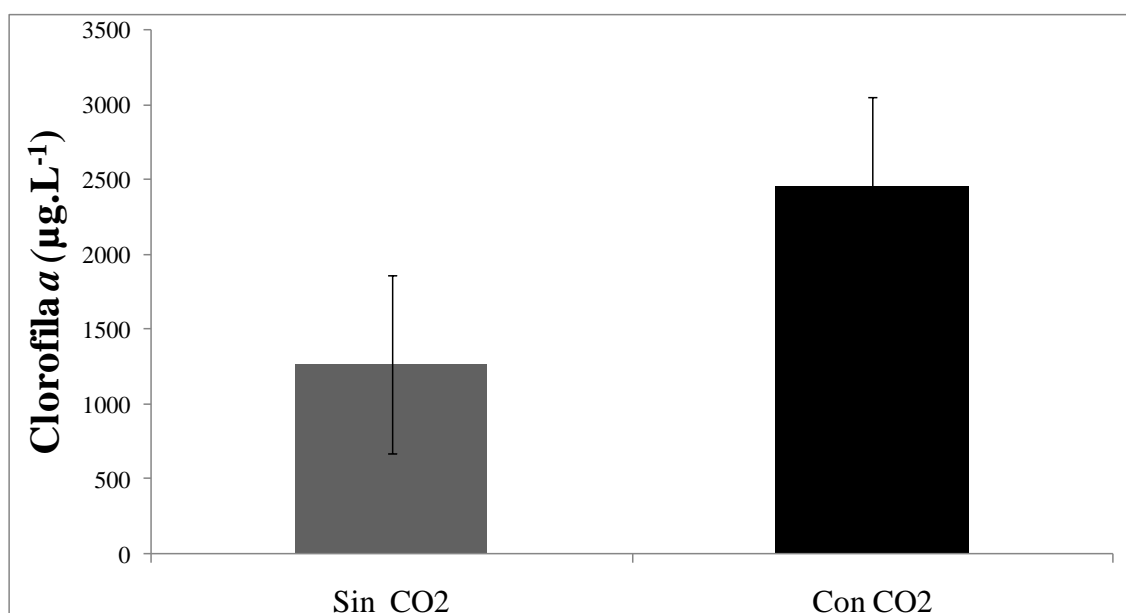
**Figura 30.** Inyeccion de CO<sub>2</sub> al sistema algal de alta tasa. *a* Inyeccion de CO<sub>2</sub>, empleando un sistema de Cilindro y manueras. *b* Burjeo del gas. *c* Cambio de coloracion un verde definido.



**Figura 31.** Cambio cualitativo del color y en la concentración en biomasa en la matriz liquida durante el ensayo con adicción de CO<sub>2</sub>. *E*: entrada al sistema. *H2*: Punto medio en el reactor. *S*: Salida del sistema.

Como este experimento fue realizado por varios días, durante todo un ciclo de 12 horas, se determinó la concentración de Clorofila *a*, la cual se comparó con los valores obtenidos durante los ensayos sin aplicación de CO<sub>2</sub>. La figura 32 muestra el cambio significativo en términos de concentración de Clorofila *a* cuando se adición CO<sub>2</sub> al

sistema, incrementándose en un 51.1 % con respecto a los días que no se inyectó dicho gas.



**Figura 32.** Comparación de la concentración promedio de Clorofila *a*, en la laguna algal con y sin aplicación de CO<sub>2</sub>.

#### 6.1.3.3 Variación de altura de la laguna y reducción del color.

Un resultado que no se tenía contemplado fue el cambio de altura de la laguna. Inicialmente se contempló una altura de 0.5 m (Rawat et al. 2011), pero las altas concentraciones de color real y aparente con 435.9 y 505 mg.L<sup>-1</sup> de Pt-Co, respectivamente (Tabla 14), afectaron negativamente el crecimiento de las poblaciones algales que se habían establecido. Ya que este es un de los principales factores que afecta las comunidades de algas presentes en cualquier cuerpo hídrico (Yong-hong & Zheng-yu 2005). El color del agua está determinado principalmente por altas concentraciones de componentes húmicos en forma carbono orgánico disuelto (COD). Concentraciones alrededor de 20 mg.L<sup>-1</sup> dan como resultado lagos oscuros (Wissel & Boeing 2003; Kortelainen 1993). El sistema algal presentó una concentración de 162.2 mg.L<sup>-1</sup> de COD, siendo este valor muy por encima de los 20 mg.L<sup>-1</sup> produciendo un color oscuro del agua del sistema (Figura 33).

Esta situación obligo a disminuir la altura del reactor de 0.5 a 0.2 m, con el fin de que las poblaciones algales que se encontraban estableciéndose pudieran tener una zona de penetración de luz, ya que el espectro de absorción de la luz estaba siendo alterado o afectado por el color del agua (Shengguang et al. 1991), reduciendo la cantidad de luz captada por las poblaciones algales y por ende su crecimiento en biomasa, situación que es ratificada al inicio del trabajo experimental, cuando la laguna tenía los 0,50 m de columna de agua y los valores de clorofila *a*, fueron muy bajas, alrededor de 0.8 mg.L<sup>-1</sup> (Figura 10).

Sin embargo, el sistema algal presentó eliminación de color real y aparente, así como de COD, con 11.3, 5.6 y 9.7 %, respectivamente (Tabla 14). Aunque en términos

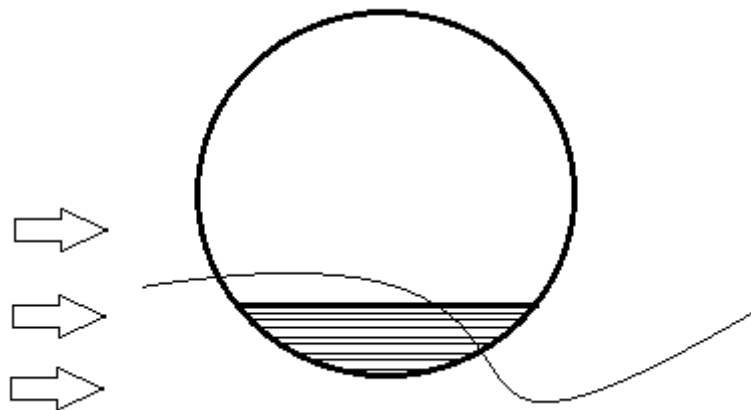
numéricos fue baja, el hecho de que se presentara eliminación de este parámetro, reafirma las bondades que tiene los sistemas algales de alta tasa, al realizar un proceso donde sistemas físico y químicos han mostrado resultados muy alentadores (Renou et al. 2008), pero que dado su carácter son muy costosos y de cierta manera poco apropiados para países con condiciones económicas difíciles.



**Figura 33.** Observación cualitativa del color del agua del reactor algal a mitad de la experimentación.

#### *6.1.3.4 Determinación cualitativa del flujo superficial de agua en el reactor.*

Como parte integral de la investigación, se pretendía poder establecer el flujo superficial preferencial del reactor. Sin embargo, para esta investigación se necesitaría un estudio de trazadores, lo que representaba un mayor costo, tanto en tiempo (Horas/Hombre), equipos y el trazador. Teniendo en cuenta esta limitación, se plantea una estrategia para determinar el flujo superficial del reactor, la cual consistió en utilizar pelotas de pimpón. La figura 34, muestra el esquema de las pelotas de pimpón rellenas de agua.



**Figura 34.** Esquema general del diseño de la pelota que determino el flujo superficial del reactor.

La tabla 22 presenta el número de pelotas inicial (entrada en el reactor) y final (Salida del reactor), las características observadas y el tiempo entre cada característica. Es este resultado permite establecer que el tiempo en reactor es mas de un día (1400 min), pues

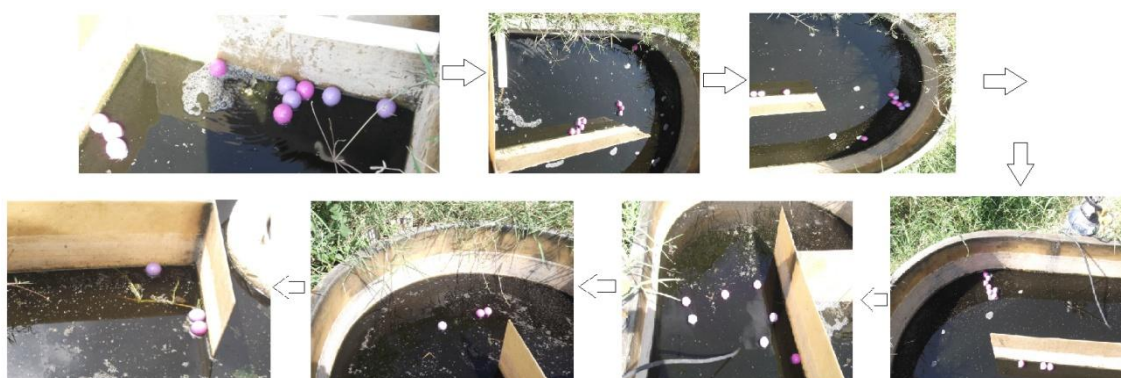


solo 3 pelotas de las 10 iniciales llegaron al final de reactor y estas pudieron ser arrastadas por algunos flujos preferenciales. Las demas pelotas se quedaron en diferente partes del reactor, las paredes y algunos vortices que se identificaron. Este ensayo del flujo superficial del agua, no se pudo evaluar mas de las 12 horas por cuestiones logisticas y de seguridad en la zona.

**Tabla 21.** Número de pelotas utilizadas en la determinación cualitativa del flujo.

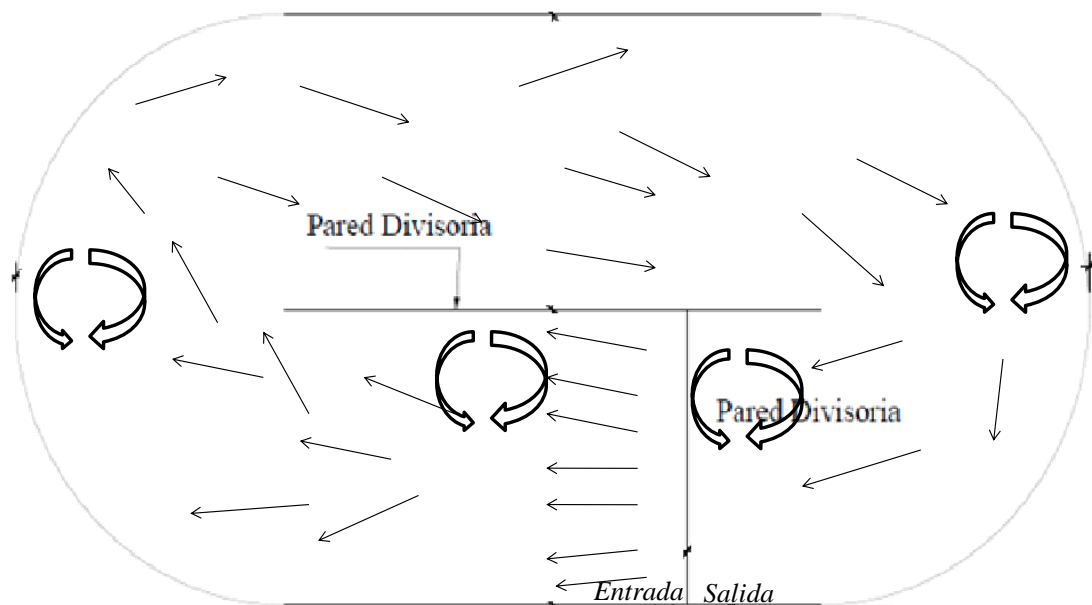
Característica evaluada	Comportamiento			
	Inicial (Entrada)	Final (Salida)	Remolinos	Fricción en paredes
Número de pelotas	10	3	4	3
Tiempo (Minutos)	0	>540	>720	>720

La figura 35 muestra cada una de las situaciones observadas del movimiento superficial que las pelotas tuvieron en la determinación del flujo en el reactor. Así mismo, la figura 36 se esquematiza los posibles flujos y direcciones superficiales del agua que el reactor presenta, como resultado de la evaluación con las pelotas de pimpón. Se pudo determinar la formación de 4 vórtices (dos en el inicio y el final y dos en las parte curva del reactor) y flujos presenciales hacia las paredes del reactor.



**Figura 35.** Proceso de determinación del flujo del reactor.

Esta hidrodinámica, influencia el modo de organización y la distribución de las comunidades algales en el sistema. Por tal motivo, las especies de algas que no presentan flagelo como *Coelosphaerium* sp, *Oscillatoria* sp, *Scenedesmus acuminatus*, *Desmodesmus quadricauda*, *Coleastrum* sp., *Chlorella vulgaris* y *Chlorella* sp., son dependientes de las corrientes. Sin embargo, el hecho de que hay flujo preferenciales hacia las paredes del reactor influencia la formación de biofilm (Algas + bacterias), para así facilitar la captura de nutrientes del medio acuoso. Por otro lado, especies que presentan flagelo como *Chlamydomonas gyrus*, *Chilomonas insignis*, *Chroomonas coerulea* pueden moverse por todo el sistema, buscando preferentemente zonas para permanecer. Aunque esta clase de organismos, pueden ser organismos heterotróficos y no depender de la luz para producir energía, cuando las condiciones lo exijan.



**Figura 36.** Esquema general del flujo superficial de la laguna algal de alta tasa.

## 6.2 Resultados del objetivo 2

### 6.2.1 Identificación taxonómica de especies de algas.

Se identificaron 16 organismos algales diferentes (Índice de riqueza), de estos 10 pertenecen a la Clase *Chlorophyceae*, dos a la *Chlamydomyceae*, dos a la *Cryptophyceae*. De esta última no se tenía reporte de la presencia e identificación de estos organismos en este tipo de sistemas algales de alta tasa. Así mismo, se encontraron dos géneros de la Clase *Cyanophyceae*, que no pertenecen a la clasificación *sensu stricto* de alga (Guiry 2012). Sin embargo, realizan el proceso fotosintético como un alga eucariota. La Tabla 23 muestra las especies que se identificaron con taxonomía clásica que se lograron establecer en el sistema después del periodo de estabilización.

Algunos de estos son reportados en la literatura como organismos comunes en sistemas de tratamiento de aguas residuales. Sin embargo, las especies *Chilomonas insignis* y *Chroomonas coerulea* no se encontró reporte científico de la identificación de estas especies en lagunas algales tratando aguas residuales, a pesar que estos organismos se caracterizan por ser de una amplia distribución y que su hábitat común son aguas con alta carga orgánica y de nutrientes (Castro & C. de M. Bicudo 2007; Bicudo & Menezes 2006).

Así mismo, se identificó la especie *Desmodesmus quadricauda*, la cual fue reportada por Arauzo et al. (2000). Sin embargo, en el reporte de estos autores, aparece con su anterior nombre *Scenedesmus quadricauda*. El cambio taxonómico del género *Desmodesmus* (An, Friedl & Hegewald 1999) tuvo sus orígenes en el género *Scenedesmus* (Meyen 1829), cuando se retiró todas las especies de este último que

presentaban espinas en los extremos de la célula o en el medio del cenobio (Bicudo & Menezes 2006), siendo esto característica de las especies del genero *Desmodesmus* (Nuevo orden). Esta situación de identificación errada de especies algales, plantea la condición del poco conocimiento y los vacíos existentes alrededor de la taxonomía de los organismos algales que tiene su nicho, en esta clase de sistemas, que son empleados para el tratamiento de las aguas residuales. Este problema de clasificación no solamente se da en esta clase de investigaciones, pues trabajos en biocombustibles, como los de Um & Kim (2009) y Mata et al. (2010), clasifican a *Desmodesmus quadricauda* como *Scenedesmus*, evidenciando el mismo error taxonómico.

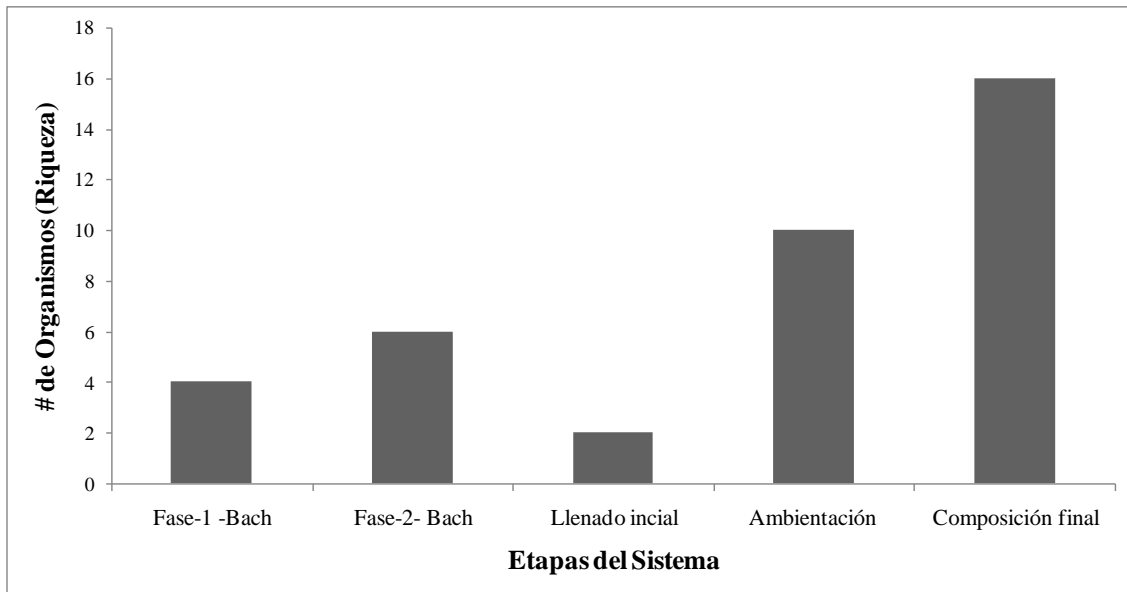
**Tabla 22.** Organismos microalgales identificados en el sistema algal de alta tasa, después del periodo de estabilización.

Clase	Especie	Especies Reportadas en sistemas de Tratamiento de aguas
<i>Cyanophyceae</i>	<i>Coelosphaerium</i> sp.	(Arauzo et al. 2000; Tsai et al. 2012)
	<i>Oscillatoria</i> sp.	
<i>Chlorophyceae</i>	<i>Scenedesmus acuminatus</i>	(Arauzo et al. 2000)
	<i>Desmodesmus quadricauda</i> *	(Arauzo et al. 2000)
	<i>Coleastrum</i> sp.	NR
	<i>Chlorococcum</i> sp.	NR
	<i>Scenedesmus</i> sp.	(Park et al. 2011; Doria et al. 2011)
	<i>Scenedesmus</i> sp.2	(Aguirre et al. 2011)
	<i>Chlorolobium spinosus</i>	NR
	<i>Prototheca</i>	NR
	<i>Chlorellavulgaris</i>	(Aguirre et al. 2011)
<i>Chlorella</i> sp.	(Mata et al. 2010; Park et al. 2011)	
<i>Chlamydomphyceae</i>	<i>Chlamydomonas</i> sp.	(Arauzo et al. 2000)
	<i>Chlamydomonas gyrus</i>	NR
<i>Cryptophyceae</i>	<i>Chilomonas insignis</i>	NR
	<i>Chroomonas coerulea</i>	NR

\*Antes considerado *Scenedesmus quadricauda*- NR: No reportada.

Sin embargo, el establecimiento de los organismos algales tuvo su propia dinámica la cual obedeció a las condiciones de la matriz agua, es decir a la presencia o no de ciertos contaminantes y de su concentración, pues a medida que transcurrían el tiempo de la investigación, se pudo observar como cambio el número de especies presentes (Figura 37), el cual dependió estrechamente del ambiente acuático del reactor que en ciertos casos fue extremo. Esta clase de ambientes suelen apoyar las comunidades de microalgas que viven en condiciones y ambientes extremos (Costas et al. 2013). Sin embargo, se sabe que las microalgas son capaces de adaptarse rápidamente a una amplia variedad de sustancias, incluyendo productos químicos y contaminantes xenobioticos. Estos organismos pueden crecer en presencia de compuestos tóxicos como resultado de la adaptación fisiológica (es decir, la aclimatación) que se apoya en modificaciones de la expresión génica (Bradshaw & Hardrdwick 1989). Por ejemplo, se han reportado microalgas que prosperan con dosis altas de metales pesados en ambientes extremadamente hostiles como lo son efluentes de minas (Costas et al. 2007). En este

caso, la rápida ambientación de las poblaciones algales demuestra su plasticidad y rapidez en modular las diferentes expresiones genéticas que regulan los procesos de aclimatación de estos organismos.



**Figura 37.** Proceso de establecimiento de la comunidad algal del sistema.

La figura 38, muestra como aparecieron las distintas clases de algas a medida que pasa las fases de ambientación al nuevo sustrato. En un principio, cuando el sustrato prevenía del tratamiento de la osmosis inversa de la empresa BugaAseo, los primeros grupos de algas en aparecer fueron Cyanophyceae, Chlorophyceae, Chlamydoephyceae y Cryptophyceae. En la segunda fase aparecieron más individuos del grupo Chlorophyceae (4) y algunos del grupo Chlamydoephyceae (2). Una vez el sistema empieza a recibir el afluente del humedal de flujo subsuperficial, las comunidad de algas se reduce drásticamente permaneciendo individuos de la clase Cyanophyceae y Cryptophyceae, quienes presentan una amplia distribución en ambientes extremos. Posteriormente, aparecen de nuevo las Cyanophyceae y por primera vez tres grupos nuevos Euglenophyceae, Zygnemaphyceae y Bacillariophyta.

Especies como *Euglena hemichromata* Skuja 1948, *Euglena agilis* var *agilis* Carter 1856, *Phacus polytrophos* Pochm 1942, *Lepocinclis salina* Fristsh 1914 son ampliamente reportadas en ambientes contaminados con alta carga orgánica (Bicudo & Menezes 2006). Ya en la última fase cambio de nuevo su estructura, apareciendo otros grupos como Cyanophyceae, Chlorophyceae, Chlamydoephyceae y Cryptophyceae con más representantes de estos grupos los Chlorophyceae con 10 organismos diferentes, entre los cuales se desatacan *Scenedesmus acuminatus*, *Desmodesmus quadricauda*, *Chlorella vulgaris* entre otros (Tabla 23). Sin embargo, esta condición de no haberse identificado otras especies u organismos de otras clases de microalgas, no significa que no estén en el sistema, ya que la presencia de estos en términos de densidad esta modulada por la existencia o no de ciertos contaminantes en la matriz líquida, que pueden afectar o no la población de ciertas especies de microalgas, lo que puede

ratificar el supuesto que cada grupo de organismos presente en el bioreactor dispone de una plasticidad diferente frente a una perturbación en el medio donde crecen (Sultan 2000 y 2007).

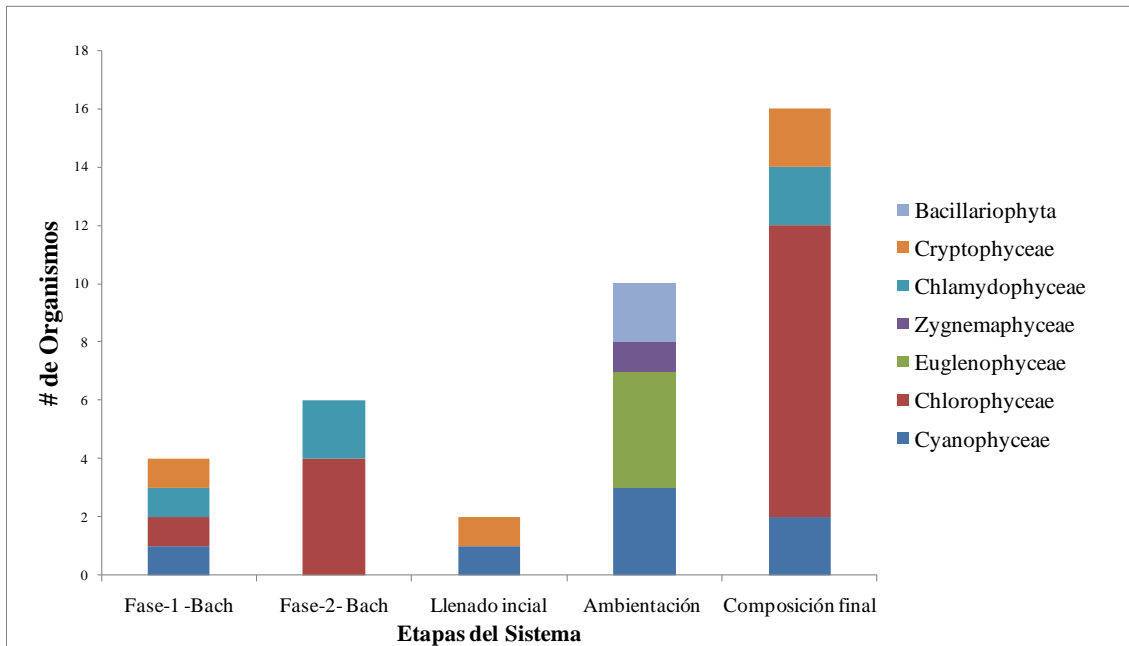


Figura 38. Riqueza de los diferentes grupos algales de en el sistema.

## 6.2.2 Resultados adiciones del objetivo 2

### 6.2.2.1 Identificación molecular

Adicionalmente al trabajo taxonómico que se realizó en la Universidad del Valle-campus Meléndez y en el Instituto de Botánica de Sao Paulo, Brasil. Se pudo hacer una identificación molecular en la Universidad de Newcastle Upon en Inglaterra. Se empleó la técnica de DGGE y secuenciación para la identificación de microorganismos eucarióticos y cianobacterias. Se logró la identificación de 4 organismos diferentes (Tabla 24), entre los cuales el género *Scenedesmus*, se identificó con las dos herramientas taxonómicas (clásica y molecular). La diferencia sustancial entre las especies encontradas mediante identificación taxonómica y molecular está dada por el momento de toma de muestra. Pues para la identificación molecular se utilizó muestra recolectada en el arranque del sistema, en la Fase 1-Bach, en donde la comunidad microalgal apenas se estaba estableciendo. Sin embargo, las pocas especies de algas identificadas por métodos moleculares demuestran que esta clase de metodologías requieren ser manejadas con cuidado, pues se puede llegar a cometer errores, es decir determinar especies erradas.

**Tabla 23.** Identificación molecular de especies del sistema algal de alta tasa.

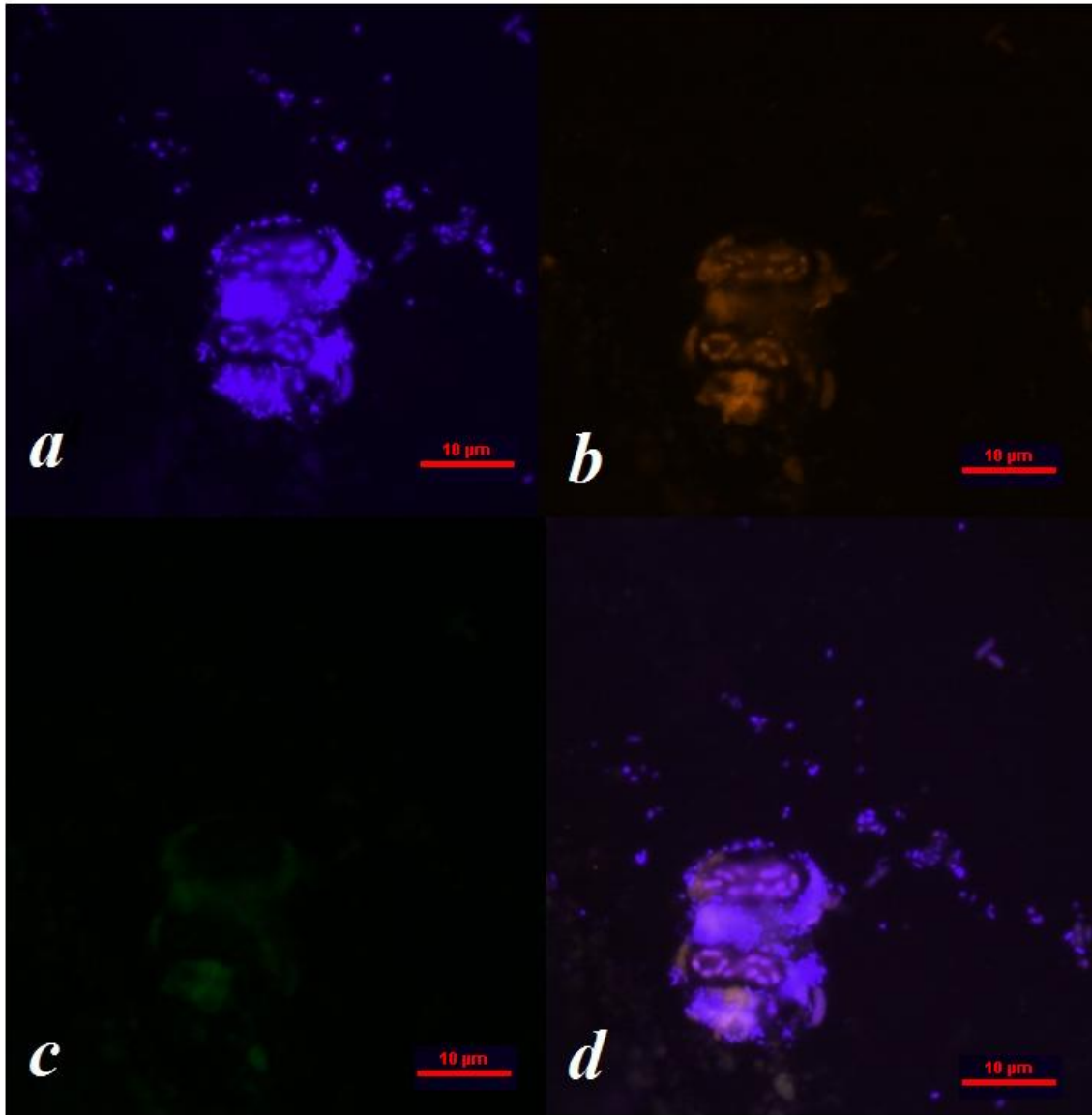
<b>Especie</b>	<b>Presencia en la unidad piloto</b>
<i>Unculturedfungus</i>	1
<i>Cyclidium glaucoma</i>	1
<i>Schroederiellaapiculata</i>	1
<i>Scenedesmusobliquus</i> , <i>S.pectinatus</i> , <i>S.deserticola</i> , <i>S.littoralis</i> , <i>S.rubescens</i>	1
<b>Total</b>	<b>4</b>

#### 6.2.2.2 Técnica de FISH (Hibridación in situ fluorescente) para identificación de bacterias generales y las asociadas al ciclo del nitrógeno.

La tabla 25 muestra que las sondas hibridaron en la muestra de la laguna. Es decir que hay presencia de cada una de los grupos de bacterias en el sistema. De estas la sonda NSO1225, mostro que el sistema tiene una alta abundancia de bacterias oxidadoras de amonio (Figura 39). Por su parte la sonda NTSPA662-(Nitrospira), que indica la presencia de bacterias Oxidadoras de Nitritos, no hibrido abundantemente, pues no se encontraron abundancia de bacterias de este grupo metabólico (Figura 40-b), debido posiblemente a que este grupo de bacterias utilizan el NO<sub>2</sub> como último aceptor de electrones, oxidándolo hasta NO<sub>3</sub>. Además, el nitrito es un compuesto muy inestable que en condiciones adecuadas es rápidamente oxidado a nitrato, y una más cuando en el medio se da una alta concentración de O<sub>2</sub> (> 20 mg.L<sup>-1</sup>) (Tabla 11), pues el proceso se lleva a cabo rápidamente disminuyendo la concentración de nitritos, lo que regula negativamente la abundancia en el reactor de esta clase de bacterias.

**Tabla 24.** Confirmación de las sondas utilizadas para grupos bacterianos.

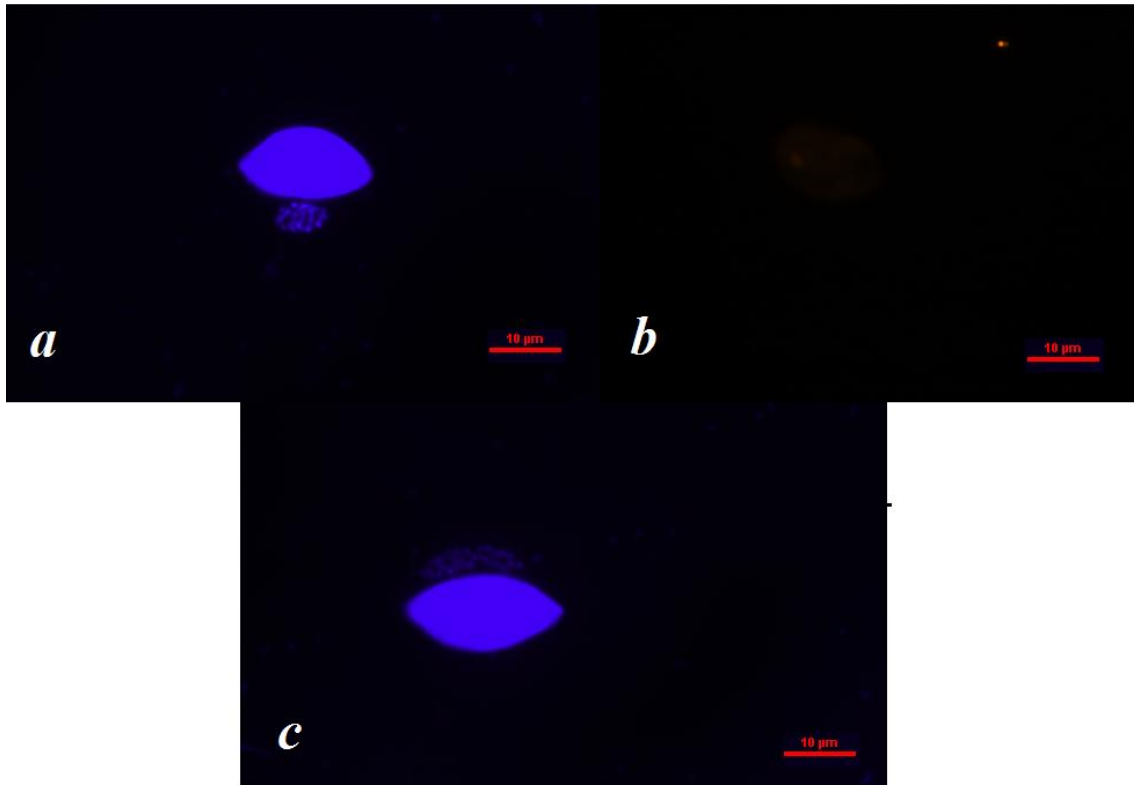
<b>Criterio</b>	<b>Sonda de FISH</b>	<b>Presencia</b>
Determinación general de ADN Bacteriano	EUB383-Bacterias Generales	Positivo
Funcional	NTSPA662-Nitrospira-Oxidadora de Nitritos	Positivo
Función y Clasificación Taxonómica	NSO1225-Oxidadoras de Amonio-βProteobacterias	Positivo
Clasificación Taxonómica	Gam 42a-γProteobacterias	Positivo



**Figura 39.** Hibridación con la sonda NSO1212 (Oxidadoras de Amonio). *a.* Filtro DAPI (Fluorescencia de ADN, en general). *b.* Filtro CY3 (Bacterias oxidadoras de Amonio). *c.* Filtro FAM (Fluorescencia natural de las algas). *d.* Interacción alga-bacterias (Todos los filtros).

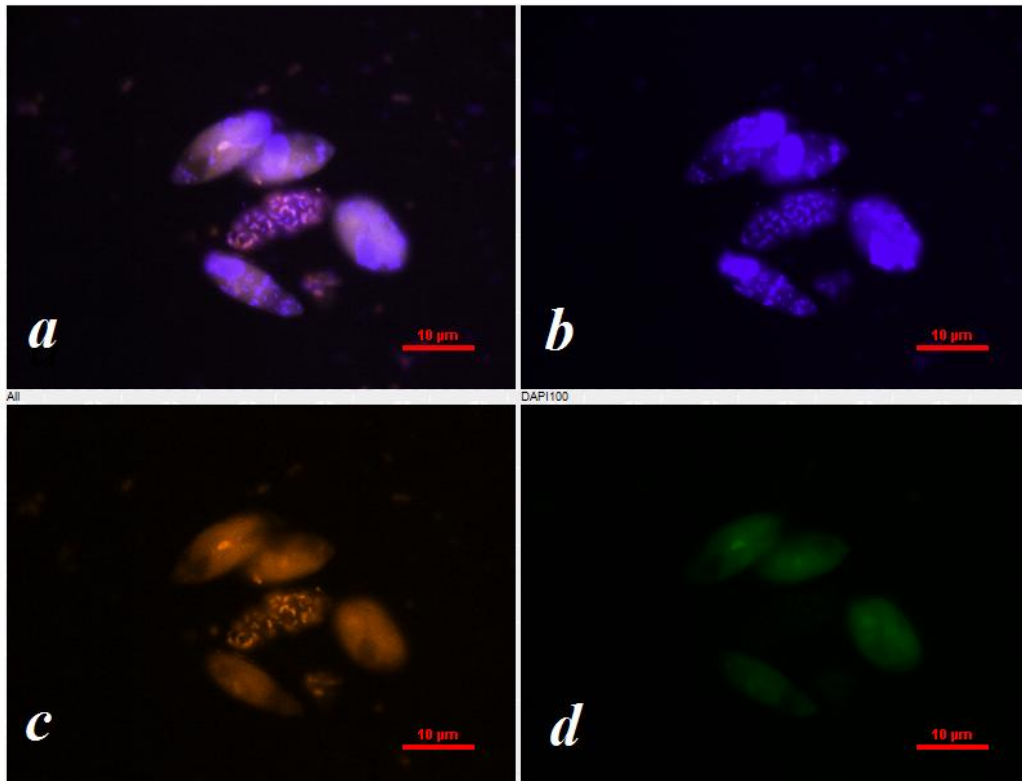
Por su parte la sonda EUB383 que indica la presencia de bacterias generales, es decir, todos los organismos que tengan ADN bacteriano presentaron una hibridación alta (Figura 41). Esta sonda, permitió establecer que muchas de las bacterias del sistema están estrechamente relacionadas entre sí y al mismo tiempo con las diferentes poblaciones de algas del sistema. En la figura 42, se observa claramente como las bacterias del sistema se asocian con una especie de alga *Chilomonas insignis*. Situación que no se había reportado, y siendo escasa para esta clase de algas poco estudiadas en estos sistemas construidos para el tratamiento de aguas residuales. Por su parte en la figura 42, se muestra como la sonda Gam 42a que identifica bacterias de la clase  $\gamma$ Proteobacterias no presentó una hibridación, posiblemente a que esta clase pertenece gran cantidad de patógenos importantes por ende su establecimiento estará limitado, por

el propio diseño del reactor, al presentar una eliminación de esta clase de patógenos por acción de luz solar, altas concentraciones de oxígeno y los cambios significativos del pH además de los inhibidores presentes en el lixiviado.

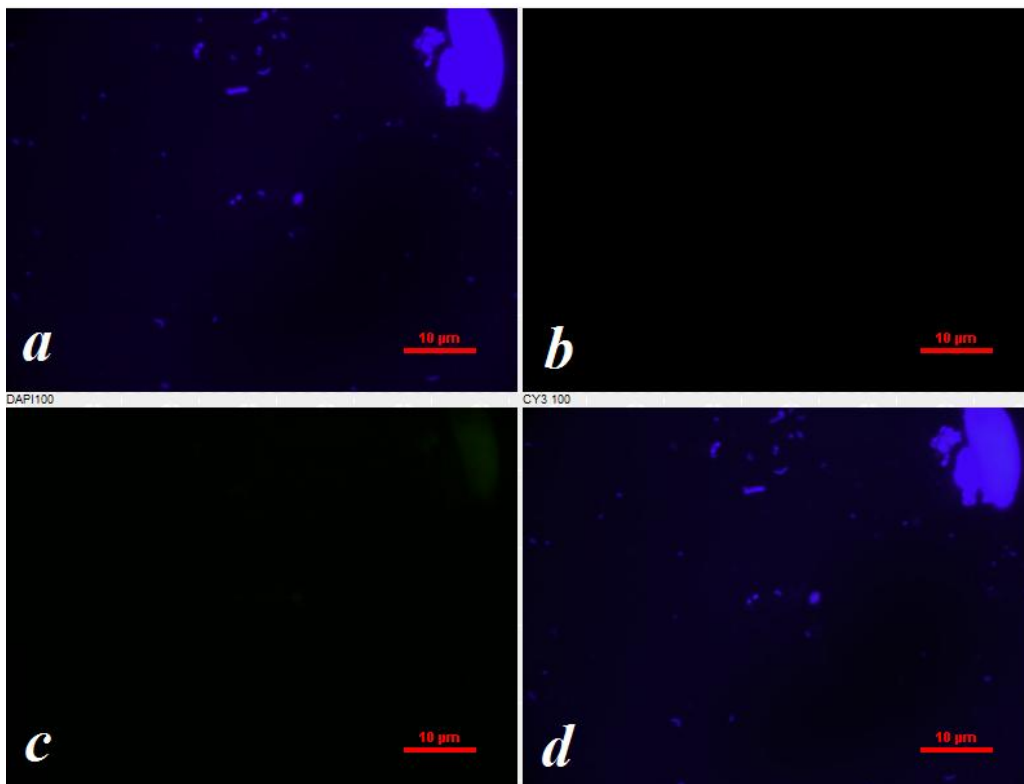


**Figura 40.** Hibridación con la sonda NTSPA662-Nitrospira-Oxidadora de Nitritos. *a.* Filtro DAPI (Fluorescencia de ADN, en general). *b.* Filtro CY3 (Nitrospora). *c.* Interacción alga-bacterias (Todos los filtros).





**Figura 41.** Hibridación con la sonda EUB383-Bacterias Generales. *a.* Interacción alga-bacterias (Todos los filtros). *b.* Filtro DAPI (Fluorescencia de ADN, en general). *c.* Filtro CY3 (Bacterias generales). *d.* Filtro FAM (Fluorescencia natural de las algas y bacterias).



**Figura 42.** Hibridación con la sonda Gam 42<sup>a</sup> ( $\gamma$ Proteobacterias). *a.* Filtro DAPI (Fluorescencia de ADN) *b.* Filtro CY3 (Bacterias de la Clase  $\gamma$ Proteobacterias). *c.* Filtro FAM (Fluorescencia). *d.* Interacción alga-bacterias (Todos los filtros).

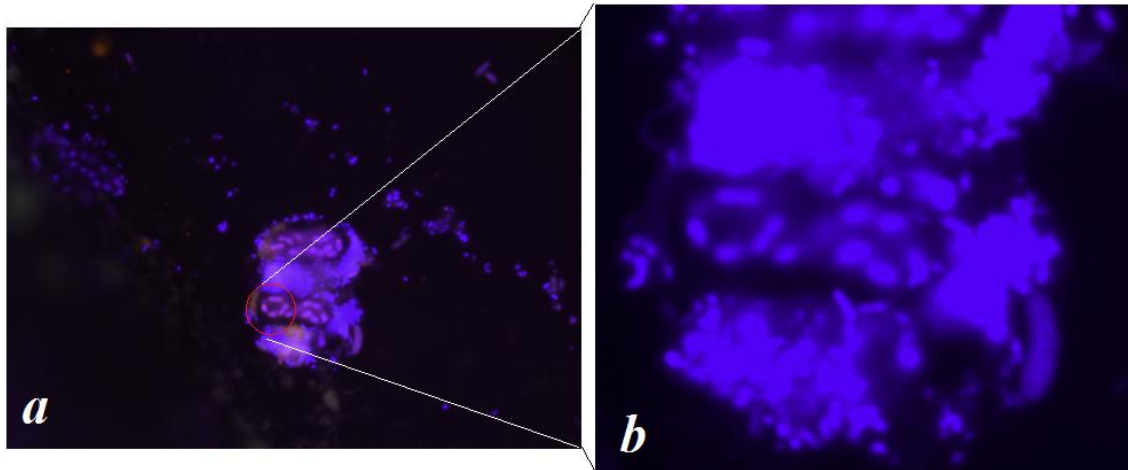
### 6.2.2.3 Relación exploratoria algal/bacteria

La relación entre las algas y las bacterias se ha considerado como una interacción comensalista debido a que el crecimiento bacteriano depende de la cantidad de carbono producido en la fotosíntesis (Gurung et al. 1999). Entre estas relaciones comensalistas, las especies de algas *Desmodesmus quadricauda*, *Chilomonas insignis* y *Chlamydomonas* sp. mostraron (de forma cualitativa mediante la imagen fotográfica) una relación con bacterias generales y bacterias oxidadoras de Amonio. En esta asociación alga/bacteria de tipo comensalista para el caso del amonio, permite que la bacteria utilice el amonio como aceptor de electrones oxidándolo a Nitrato, el cual puede ser tomado y utilizado por el alga como fuente de Nitrógeno para su crecimiento celular y de biomasa (Abdel-Raouf et al. 2012), y así evitar gastar energía al introducir a la célula la cantidad que no sea toxica, pues altas concentraciones de Amonio pueden inhibir tanto el crecimiento bacteriano (Ho & Ho 2012) como el del alga.

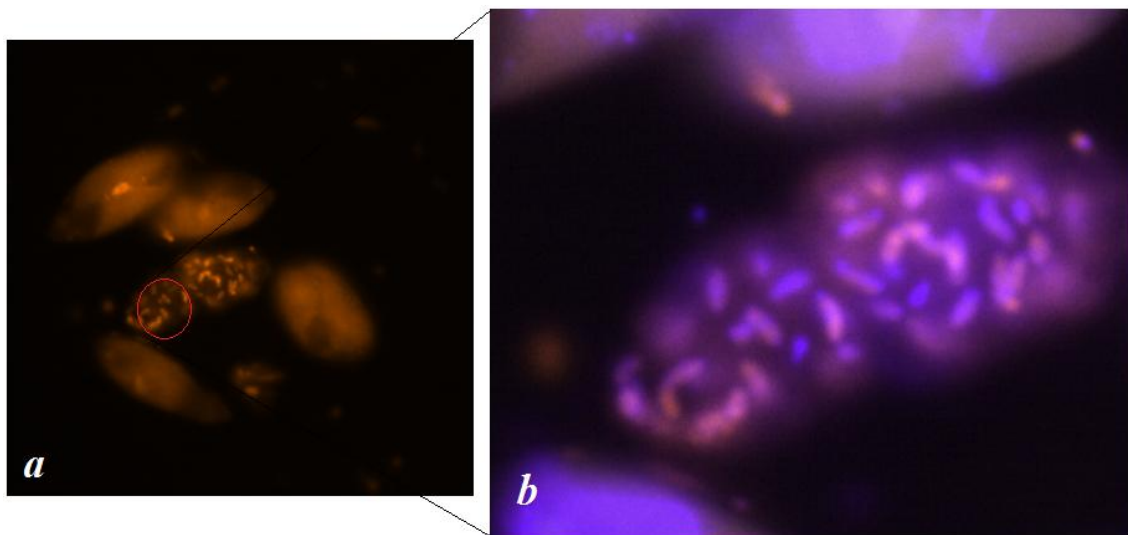
En la figura 43, se puede observar como las células bacterianas se agrupan en la parte superficial de la célula algal, muy cerca de lo que posiblemente serían los Cloroplastos del alga. Este comportamiento o relación comensalista ha sido ampliamente conceptualizado, pues los exudados de algas son la principal fuente de carbono para las bacterias, mientras que las algas también pueden beneficiarse de las bacterias, al producir los nutrientes disponibles a través de la materia orgánica en descomposición (Liu et al. 2012a).

Otra interacción que se logró identificar entre algas de la especie *Chilomonas insignis* y varios consorcios de bacterias es mostrada en la figura 44, pues las sondas de hibridación para este caso eran de bacterias generales, permitiendo así establecer que muchos de los microorganismos procariotas mantienen una relación estrecha con las algas del sistema. Liu et al. (2012) establecieron que la limitación de nutrientes para las algas y bacterias puede ser regulada por la producción extracelular de enzimas. Sin embargo, en este caso podría funcionar de manera contrario, la alta concentración de nutrientes y compuestos de baja biodegradabilidad. Es decir, que no se involucran en alguna ruta metabólica y promueven la relación mutualista para aclimatarse y sobrevivir.

En dichas condiciones ambientales, se muestra la plasticidad que tienen los organismos eucariotas y procariotas para aclimatarse en ambientes hostiles, pues la aclimatación fisiológica es suficiente para lograr la adaptación en condiciones estresantes (Costas et al. 2008; Carrera-Martinez et al. 2011). Sin embargo, esta clase de condiciones selecciona los organismos capaces de establecerse, pues solo dos especies de algas muestran esta condición en esta sistema, *Desmodesmus quadricauda* y *Chilomonas insignis*.



**Figura 43.** Interacción de bacterias oxidadoras del Amonio con una célula algal (*Desmodesmus quadricauda*). *a.* Interacción bacteriana-célula algal. *b.* Agrupación de células bacterianas en las proximidades de un posible cloroplasto en el cenobio algal. \*Imágenes derivadas del FISH



**Figura 44.** Interacción de bacterias con una célula algal (*Chilomonas insignis*). *a.* Interacción bacteriana-célula algal. *b.* Agrupación de células bacterianas distribuidas por toda la superficie del alga. \*Imágenes derivadas del FISH

#### 6.2.2.4 Posible producción de biocombustibles

La tabla 26, presenta algunas de las especies de microalgas encontradas en el sistema algal, las cuales podrían tener una potencial aplicación en la producción de biocombustibles, debido a su contenido y producción de lípidos que reportan. De estas especies, *Scenedesmus* sp y *Chlamydomonas* sp. tuvieron una alta concentración en biomasa. Sin embargo la especie *Chilomonas insignis*, presentó una dominancia con respecto las mencionadas. Aunque esta especie está emparentada con *Chlamydomonas* sp. y no se conoce su potencial uso para la producción de biocombustibles, lo que configura un escenario prometedor en la utilización de estos sistemas para la producción de biocombustibles, reutilizando las aguas residuales. La alta producción de biomasa obtenida en este estudio, presume que la producción de lípidos en las células algales

podría ser significativa, pues muchas de especies encontradas reportan contenido de lípidos. Por ejemplo, especies del género *Chlamydomonas* sp. han reportado un 21 % de lípidos, especies de género *Scenedesmus* sp., varían entre 12 y 40 % (Pittman et al. 2011b), sin embargo, estos contenidos dependerán de las condiciones del sistema (Costa & De Morais 2011).

**Tabla 25.** Posibilidad de producción de lípidos, empleando especies reportadas en la investigación.

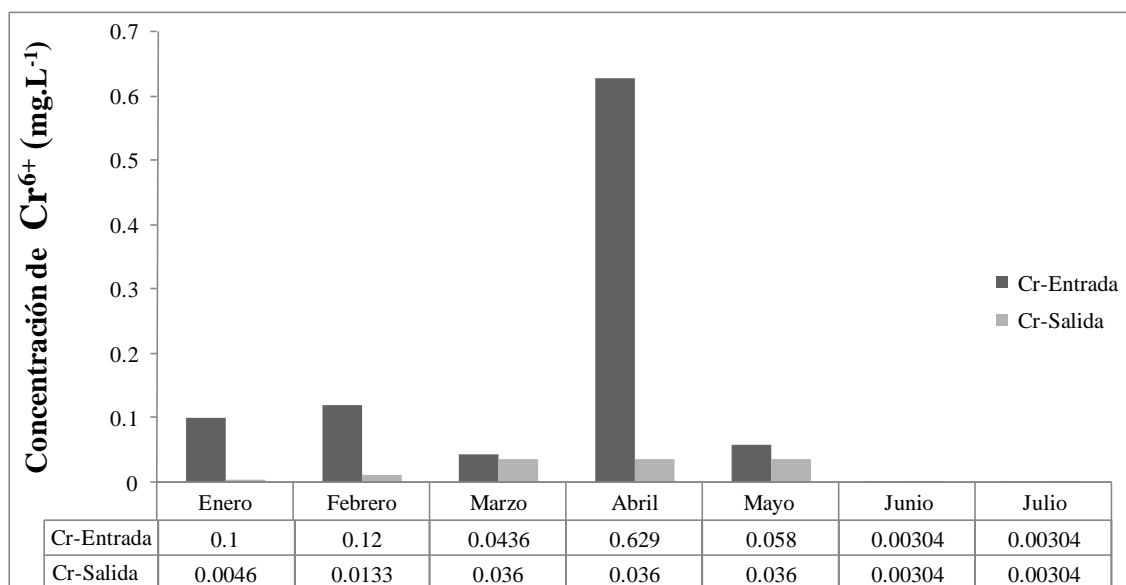
Especie	Contenido de lípidos (% de peso en biomasa seca)	Producción de lípidos mg.L <sup>-1</sup> .día <sup>-1</sup>	Lípidos	Proteína	Carbohidratos	Referencia
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	9.0-18.8	34.8	-	-	-	(Mata et al. 2010)
<i>Desmodesmus quadricauda</i> *	1.9-18.4	35.1	1.9	47	-	(Mata et al. 2010; Um & Y.-S. Kim 2009)
<i>Scenedesmus</i> sp.	19.6-21.1	40.8-53.9	16-40	8-18	24-52	(Brennan & Owende 2010; Mata et al. 2010)
<i>Chlorella vulgaris</i>	5.0-58.0	1214	14-22	51-58	12-17	(Mata et al. 2010; Um & Y.-S. Kim 2009)
<i>Chlorococcum</i> sp.	19.3	10.0 (g.L <sup>-1</sup> ) -53.7	-	-	-	(Mata et al. 2010; I Rawat et al. 2011)
<i>Chlamydomonas</i> sp.	21	2.5 (ml.h <sup>-1</sup> )	21	48	17	(A. Singh et al. 2011; Um & Y.-S. Kim 2009)

\*Antes considerado *Scenedesmus quadricauda*

### 6.3 Resultados del objetivo 3

#### 6.3.1 Eliminación de Cr<sup>6+</sup>

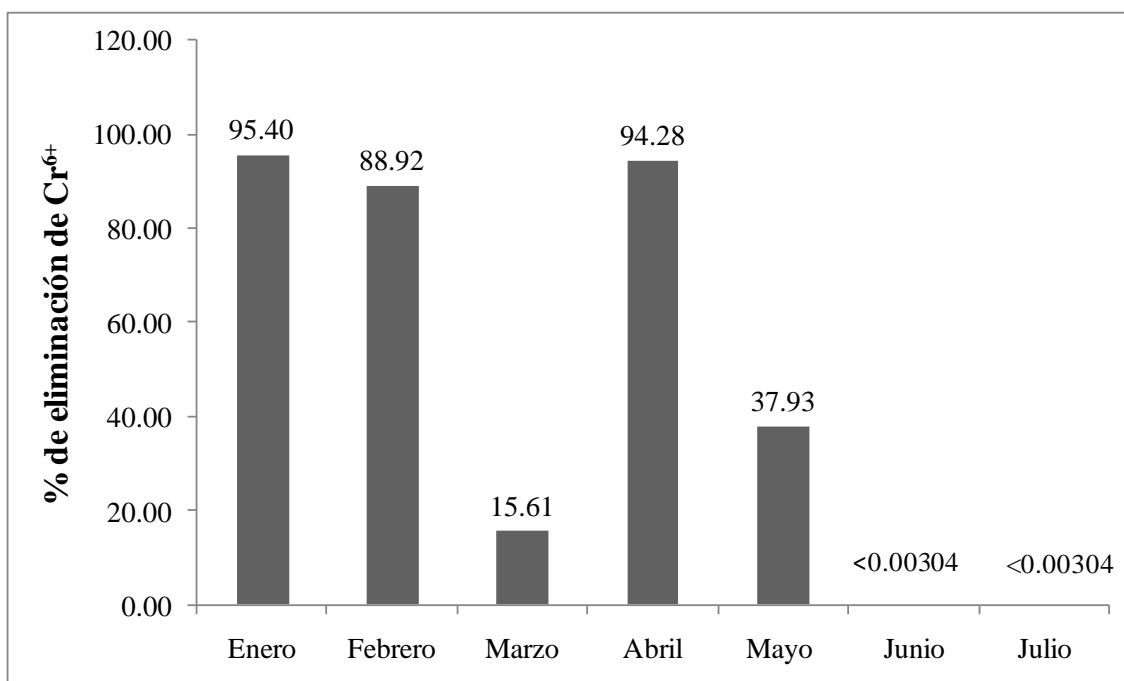
Las concentración promedio de este metal en el afluente al sistema, fue de 0.125 mg.L<sup>-1</sup>, valor ligeramente superior al límite para agua de consumo humano que es de 0,1 mg.L<sup>-1</sup> establecido por la EPA, USA, (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, ASTDR 2011). Sin embargo, el sistema presentó una eliminación promedio en la mayoría de las mediciones por encima del 80 % (Figura 45). Con respecto a la legislación Colombiana, las concentraciones de Cromo VI (Cr<sup>6+</sup>) en el afluente fue en promedio el doble de la establecida para la descarga de efluente tratado en cuerpos de agua que son utilizados aguas abajo del vertimiento como fuente para consumo humano (0,05 mg L<sup>-1</sup>). La concentración promedio de Cr VI (Cr<sup>6+</sup>) en el efluente fue de 0.021 mg.L<sup>-1</sup>, valor menor al límite definido en la norma colombiana, cumpliendo con la estipulado por el decreto 1594-84 para uso agrícola y humano (PRESIDENCIA DE LA REPÚBLICA DE COLOMBIA 1984).



**Figura 45.** Concentraciones de entra y salida del sistema durante el tiempo de monitoreo de Cr<sup>6+</sup>

La figura 46, presenta las eficiencias de eliminación de este metal a lo largo de la experimentación. Se puede apreciar una buena eficiencia de eliminación, pero con un dato atípico del mes de marzo, cuyo valor fue del 15.6 %, situación posiblemente generado por error experimental en la toma de muestra o en la determinación del mismo, pues fue el único valor registrado en esa magnitud. Para los meses de Junio y Julio, las concentración en el afluente y efluente estuvieron por debajo del límite de detección del equipo de medición, por ende no se conoce las concentraciones reales, pero si se puede afirmar que están por debajo de la norma Colombiana mencionada anteriormente.

Por otro lado, el sistema algal presentó un buen comportamiento frente a la eliminación o retención de este metal. Es importante mencionar, que estudios sobre el desempeño de sistemas algales de alta tasa tratando lixiviados de rellenos sanitarios y específicamente en lo asociado a la eliminación de a metales pesados, son escasos. Sin embargo, si existen estudios sobre la eliminación de metales pesados utilizando sistemas similares, donde poblaciones algales realizan o intervienen en los procesos de tratamiento. Ustün (2009) reporta la eliminación de metales pesados de sistemas de lagunas de estabilización y de lodos activados en la ciudad de Bursa (Turkey). En el primer sistema la eficiencia de eliminación fue cercana al 58% para el Cr, mientras que para el Cd, Mn y Pb fue inferior al 20%. En el segundo sistema (el de algas) se reportaron altas eficiencias, las cuales van de un 47% para el Ni y de 95% para el Cr. Muy similares a las encontradas en esta investigación, con relación al Cromo. Estos autores mencionan también que las lagunas de estabilización pueden mejoran el efluente con respecto a los metales pesados como Cr, Cu, Ni y Pb.



**Figura 46.** Porcentaje de eliminación de Cr<sup>6+</sup>

Sekomo et al. (2012) realizaron una aproximación un poco más realista del tratamiento real de efluentes de aguas contaminadas con metales pesados, estos autores construyeron líneas de tratamiento mediante lagunas Duckweed (Lenteja de agua) lagunas algales como pos-tratamiento de aguas residuales de la industria textil, evaluando la capacidad de eliminación de Cd, Cr, Cu, Pb y Zn tomando en consideración condiciones diferentes de pH, potencial redox (ORP) y Oxígeno Disuelto (OD), podrían variar la eficiencia de eliminación. Este estudio mostró que lagunas de lenteja de agua y de algas son adecuadas como pulimento para eliminar metales pesados, especialmente Cr y Zn en bajas concentraciones.

Estos microorganismos fotosintéticos pueden acumular metales pesados mediante diferentes mecanismos entre los cuales se tienen: adsorción física, intercambio de iones y quimiosorción, por enlaces covalentes, precipitación, reacciones redox o cristalización en la superficie celular (Chojnacka et al. 2005). La absorción activa que a menudo implica el transporte de los metales en el interior de la célula es a menudo una herramienta de defensa para evitar la intoxicación o que sirve para acumular elementos traza esenciales. Las microalgas pueden liberar metabolitos extracelulares, que son capaces de quelar metales iones (Muñoz & B Guieysse 2006). Por último, el aumento en el pH asociado con microalgas el crecimiento puede mejorar la precipitación de metales pesados, mecanismo que posiblemente fue el predominante en el sistema, sin desconocer que probablemente algunos de los otros mecanismos se pueden haber presentado.

### 6.3.2 Resultados estadísticos en la eliminación del $Cr^{6+}$

En la tabla 27, se puede muestra como la concentración de salida del Cromo, presento disminuciones significativas con respecto a lo que entraba al sistema (afluente-efluente) pues el valor-p es menor que el nivel de significancia establecido.

**Tabla 26.** Resultados del Test de Rangos con Signo de Wilcoxon para las concentraciones de  $Cr^{6+}$ , utilizando un  $\alpha=0,05$ .

Parámetro	$Cr^{6+}$
Valor-p	0,01802*

\*: Evidencia suficiente para aceptar  $H_a$ , a un nivel de Significancia del 0,05.

Este resultado, demuestran estadísticamente que el sistema algal de alta tasa (LAAT), presentó una eficiencia en la eliminación del Cromo, pues su concentración decreció significativamente con respecto a la entrada. Como se explicó anteriormente, este proceso, puede haber dado por las diferentes poblaciones de algas que se establecieron, ya que estas pueden retener, quelar y hasta incorporar el metal en sus células.

## 7. CONCLUSIONES

A pesar de la complejidad y heterogeneidad de los lixiviados de relleno sanitario, el sistema de laguna algal de alta tasa trató este residuo alcanzando un desempeño satisfactorio al eliminar materia orgánica, nutrientes y un metal pesado (Cromo VI).

El sistema algal de alta tasa, presentó un comportamiento de un reactor completamente aerobio con concentraciones de Oxígeno disueltos superiores a  $8 \text{ mg L}^{-1}$  en las horas diurnas, alcanzando un máximo de  $24.7 \text{ mg.L}^{-1}$ , lo que pudo favorecer la oxidación de materia orgánica y otros compuestos.

El sistema algal de alta tasa, en horas diurnas se comportó como sumidero de Carbono, el cual depende de la cantidad de Luz disponible (radiación solar) y de la concentración de algas en la superficie. En este caso se encontraron valores de fijación de  $CO_2$  del orden de  $26.1 \text{ g de C d}^{-1}$ .

La biofijación de  $CO_2$  en el sistema LAAT mostró ser una excelente alternativa para el manejo de este gas generado en otras unidades de tratamiento anaerobias, permitiendo cerrar ciclos energéticos y disminuir la huella de carbono de la planta o al menos hacerla neutra.

La actividad algal se da principalmente entre las 10-16 horas, disminuyendo cuando la luz solar se atenúa, lo que implica un tiempo de actividad fotosintética neto de 5 a 6 horas al día.

Altas concentraciones de carbono orgánico disuelto, aumenta el color real y el aparente, reduciendo la zona de captura de luz, lo que hace necesario la construcción de lagunas algales de alta tasa con una profundidad de la columna de agua con valores entre 0.2 a

0,3 m cuando las concentraciones de COD y Color real superen los 20 mg.L<sup>-1</sup> y 200 Pt-Co, respectivamente.

El sistema LAAT presentó un desempeño adecuado en eliminación de contaminantes expresado en DQOfiltrada y DBO5filtrada, del orden del 31.53 y 71 %, respectivamente. Así mismos porcentajes de eliminación de nutrientes en términos de NTKfiltrado, N-NH4filtrado y N-NO3 del 38.45, 36.74 y 25 %, respectivamente.

La productividad de algas alcanzada en el sistema piloto fue de 7.2 g.m<sup>-2</sup>.día<sup>-1</sup> y 37.2 g.m<sup>-3</sup>.día<sup>-1</sup>, permite establecer la posibilidad de un aprovechamiento de esta biomasa algal para la obtención de metabolitos secundarios y la generación de biocombustibles o el uso de esta como alimento a otros animales como ganado vacuno o peces.

La productividad de algas alcanzada en el sistema piloto cuando se adiciono CO<sub>2</sub> fue de 8.2 g.m<sup>-2</sup>.día<sup>-1</sup> y 42.1 g.m<sup>-3</sup>.día<sup>-1</sup>, demuestra que un suministro controlado de este gas, permitiría el aumento en la biomasa cosechada, lo que podría ser aprovechado para diferentes usos comerciales.

La calidad del afluente con el que se alimentaba el sistema algal presentó una relación DBO<sub>5</sub>/DQO de 0.15 indicando una baja biodegradabilidad del sustrato. Sin embargo, la productividad en biomasa alcanzada, la eliminación de materiales orgánicos y nutrientes demuestra la que esta clase sistemas trata residuos con altas concentraciones de compuestos xenobioticos y recalcitrantes. Se podría pensar que si se cambiara el sustrato, por uno menos complejo (Aguas residuales domesticas) se podría alcanzar una mayor eficiencia de eliminación y productividad algal mayor.

Se encontraron 14 especies de algas y 2 de cianofitas en la LAAT, de las cuales *Chlorolobium* sp. y *Chilomonas insignis* no han sido reportadas con anterioridad, por ende no se tiene información sobre su función y papel en esta clase de sistemas.

Los métodos moleculares propuestos hasta el momento para la identificación de especies algales como FISH y DGGE, requieren ser complementados con métodos tradiciones de taxonomía clásica (claves taxonómicas) para reportar con más confiabilidad las especies encontradas, especialmente en sistemas de tratamiento de aguas residuales.

La rápida ambientación que tuvieron las algas encontradas, demuestra la plasticidad que tienen estos organismos frente a los cambios que se presentan en la matriz agua, ya se lograron establecer una metacomunidad de algas y bacterias, estableciendo relaciones metabólicas.

Se pudo establecer cualitativamente la relación simbiótica que existe entre especies de algas (*Chilomonas insignis* y *Desmodesmus quadricauda*) con grupos de bacterias asociadas al ciclo del nitrógeno (Reductoras de amonio).

Existe una posible aplicación en la producción de biocombustibles, pues la mayoría de las especies encontradas, presentan reportes adecuados en el contenido de lípidos, lo que



le permitiría tanto el tratamiento de las aguas residuales y la producción comercial de algas.

La eliminación de Cr VI estuvo en la mayoría de las mediciones por encima del 88 %, mostrando una alta capacidad de eliminación que tienen las algas en este sistema piloto, sobre todo operando bajo las condiciones locales.

El porcentaje de eliminación de materia orgánica en carga aplicada ( $\text{kg.dia}^{-1}$ ) estuvo por encima del 20 % siendo alto, pues este sistema se diseñó principalmente para eliminación de nutrientes. Mostrando la flexibilidad de las comunidades de organismos establecidas.

El porcentaje de eliminación de carga aplicada en Nutrientes (En forma de las diferentes especies de Nitrógeno determinados) estuvo por encima del 30 %, siendo este valor alto, teniendo en cuenta que se trataba de un residuo muy complejo (Múltiples contaminantes) y de baja biodegradabilidad.

## **8. RECOMENDACIONES**

Hacer mediciones de parámetros de laboratorio y flux intensivos (como mínimo en una semana), durante las 24 horas, para determinar el cambio en el comportamiento de las comunidades de microorganismos establecidas.

Hacer un trabajo más exhaustivo de identificación de bacterias, hongos y protozoarios, mediante técnicas clásicas y moleculares, para intentar dilucidar la ecología que se establece.

Diseñar y adecuar un sistema de inyección de  $\text{CO}_2$ , que permita regular el caudal y el tiempo de inyección, dependiendo de los cambios de pH y la hora del día, trabajando preferiblemente con sistemas automatizados, que almacene datos para su validación y análisis.

Realizar un trabajo de microscopia, utilizando técnicas avanzadas de microscopio electrónico de barrido para determinar la afectación de los distintos metales pesados en las estructuras celulares de las microalgas.

Se le recomienda a la empresa BugaAseo, que implemente un sistema combinado de tratamiento de lixiviados, el cual podría ser un sistema biológico y el sistema de osmosis inversa que actualmente posee. Pudiendo reducir costos en la operación y mantenimiento de su sistema.

## **9. AGRADECIMIENTOS**

El autor quiere expresar su agradecimiento a la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Valle, a las Directivas del Relleno Sanitario Regional de Presidente y por el último al Instituto UNESCO-IHE, a través del programa UPaRF, proyecto EVOTEC, quienes apoyaron financieramente este proyecto.

## **10. RESULTADOS DERIVADOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **10.1 Escritura de artículos científicos, sometidos y en proceso de sometimiento**

1. Uso de Lagunas Algales de Alta Tasa para tratamiento de aguas residuales. **Cerón, V**, Madera-Parra, C & Peña, M.R. Sometido a Ingeniería y Desarrollo.
2. Comparison of Molecular and Taxonomic Identification of Photosynthetic organisms in Waste Stabilization Pond Systems. Eland, LE; **Cerón, V**, Mota, C, Madera, C, Davenport, R & Peña, M.A, listo para someter a water research.
3. Characterisation of photosynthetic communities by microscopy in different treatment ponds in South America. **Cerón, V**; Eland, LE, Madera, C, Davenport, RJ, Mota, CR & Peña, M. Sometido a Water Science and technology.

### **10.2 Artículos en preparación.**

4. Biofijación de CO<sub>2</sub> de una laguna algal de alta tasa en condiciones tropicales. **Cerón, V**, Madera-Parra, C & Peña, M.R. En preparación.
5. Implementación y evaluación del desempeño de una laguna de algal de alta tasa para el tratamiento de lixiviados de rellenos sanitarios. **Cerón, V**, Madera-Parra, C & Peña, M.R. En preparación
6. Eliminación de nutrientes en lagunas algales de alta tasa implementada en el tratamiento de lixiviados. **Cerón, V**, Madera-Parra, C & Peña, M.R. En preparación

### **10.3 Presentación de ponencias en eventos de alta impacto.**

**2013 Cerón, V**; Madera-Parra, C & Peña, M. Diversidad microbiológica y sus relaciones en sistemas de Lagunas algales de Alta Tasa Tratando lixiviados de relleno sanitarios. En: **6 Simposio de Investigaciones. 15 Años Programa Doctorado en Ingeniería 25 al 27 noviembre de 2013. Ponencia Oral**

**2013 Cerón, V**; Madera-Parra, C & Peña, M. Capacidad de Biofijación de CO<sub>2</sub> de una Laguna Algal de Alta Tasa-LATAL. En: **6 Simposio de Investigaciones. 15 Años Programa Doctorado en Ingeniería 25 al 27 noviembre de 2013. Ponencia Oral**

**2013 Cerón, V**; Madera-Parra, C & Peña, M. “*Mejoramiento de la calidad del lixiviado con fines de reuso en riego mediante sistema de laguna algal de alta tasa*”. En: **Agua 2013. El riesgo en la gestión del agua. Cali, Colombia. Ponencia Oral.**

**2013 Cerón, V**; Madera, C & Peña, M. “*Biofijación de CO<sub>2</sub> en una laguna algal de alta tasa en condiciones tropicales*” En: **10th IWA Specialist Group Conference on Ponds Technology: Advances and Innovations in Wastewater Pond Technology & 3rd Latin American Ponds Conference 19 to 23 August 2013. Cartagena, Colombia. Ponencia Oral**

#### 10.4 Pasantías internacionales.

**2013 Pasantía Internacional.** *Instituto de Botánica De Sao Paulo*. Brasil. Adiestramiento en taxonomía e identificación de microalgas asociadas a sistemas de tratamiento de aguas residuales.

**2012 Pasantía Internacional.** *Newcastle University*, Reino Unido. Adiestramiento en técnicas moleculares para la identificación taxonómica de microalgas en sistemas de tratamiento de aguas residuales.

#### 10.5 Establecimiento de cooperación institucionales internacional

Establecimiento de cooperación con las siguientes instituciones:

1. Universidad de Newcastle, Reino Unido.
2. Instituto de Botánica de Sao Pablo, Brasil.
3. Universidad federal de Minas Gerias, Brasil.

### 11. LITERATURA CITADA

Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A. a. & Ibraheem, I.B.M., 2012. Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19(3), pp.257–275.

Abeliovich, A., 2004. Water Pollution and Bioremediation by Microalgae. Water Purification: Algae i wastewater Oxidation Ponds. In A. Richmond, ed. *Microalgal Cultere Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Science, p. 566.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2011. *Chromium Toxicity What are the Standards and Regulations for Chromium Exposure?*, Atlanta.

Aguirre, P. et al., 2011. Treatment of piggery wastewater in experimental high rate algal ponds. *Rev Latinoam Biotechnol Amb Algal*, 2(2), pp.57–66.

Ahmed, F.N. & Lan, C.Q., 2012. Treatment of landfill leachate using membrane bioreactors : A review. *Desalination*, 287, pp.41–54.

Altinbas, M., Yangin, C. & Ozturk, I., 2002. Struvite precipitation from anaerobically treated municipal and landfill wastewaters. *Water Sci. Technol*, 46, pp.271–278.

Amokrane, A., Comel, C. & Veron, J., 1997. Landfill leachates pretreatment by coagulation-flocculation. *Water Research*, 31(11), p.2775 2782.

Anthony, W.H., Hutchinson, G.L. & Livingston, G.P., 1995a. Chamber measurement of soil-atmosphere gas exchange: Linear vs. diffusion-based flux models. *Soil Sci. Am. J*, 59, pp.1308–1310.

- Anthony, W.H., Hutchinson, G.L. & Livingston, G.P., 1995b. Chamber measurement of soil-atmosphere gas exchange: Linear vs. diffusion-based flux models. *Soil Sci. Am. J.*, 59, pp.1308–1310.
- APHA, 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*,
- Arauzo, M. et al., 2000. The role of algae in a deep wastewater self- regeneration pond. *Water Research*, 34(14), pp.3666–3674.
- Arthaud, F. et al., 2012. Effect of light stress from phytoplankton on the relationship between aquatic vegetation and the propagule bank in shallow lakes. *Freshwater Biology*, 57(4), pp.666–675.
- Ashokkumar, V. & Rengasamy, R., 2012. Mass culture of *Botryococcus braunii* Kutz. under open raceway pond for biofuel production. *Bioresource technology*, 104, pp.394–9.
- Benemann, John R, 2003. *Biofixation of CO<sub>2</sub> and greenhouse gas abatement with microalgae – technology roadmap*,
- Benemann, John R. & Oswald, William J., 1996. *Systems and economic analysis of microalgae ponds for conversion of CO<sub>2</sub> to biomass.*,
- Bicudo, C.E. & Menezes, N., 2006. *Generos de algas de aguas continentales Do Brasil. Chave para identificacao e descricoes* 2nd ed., RIMA.
- Bitog, J.P. et al., 2011. Application of computational fluid dynamics for modeling and designing photobioreactors for microalgae production: A review. *Computers and Electronics in Agriculture*, 76, pp.131–147.
- Bouterfas, R., Belkoura, M. & Dauta, A., 2002. Light and temperature effects on the growth rate of three freshwater [2pt] algae isolated from a eutrophic lake. *Hydrobiologia*, 489, pp.207–217.
- Bradshaw, A.D. & Hardrdwick, K., 1989. Evolution and stress—genotypic and phenotypic components. *Biological Journal of the Linnean Society*, 37(1-2), pp.137–155.
- Brennan, L. & Owende, P., 2010. Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), pp.557–577.
- Broekhuizen, N. et al., 2012. Modification, calibration and verification of the IWA River Water Quality Model to simulate a pilot-scale High Rate Algal Pond. *Water Research*.
- Brune, D., Lundquist, T. & Benemann, J., 2009. Microalgal Biomass for Greenhouse Gas Reductions: Potential for Replacement of Fossil Fuels and Animal Feeds. *Journal of Environmental Engineering*, 135(11), pp.1136–1144.

- Bulgariu, D. & Bulgariu, L., 2012. Equilibrium and kinetics studies of heavy metal ions biosorption on green algae waste biomass. *Bioresource technology*, 103(1), pp.489–93.
- Cai, T., Park, S.Y. & Li, Y., 2013. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 19, pp.360–369.
- Calvo, M.S., 2003. *Manual de tratamiento, reciclado, aprovechamiento y gestión de las aguas residuales de las industrias agroalimentarias*, Mundi-Prensa Libros.
- Canfield, D. et al., 1983. Trophic State Classification of Lake with Aquatic Macrophytes. *Can. J. Fisch. Aquat. Sci*, 40, pp.1713–1718.
- Carrera-Martinez, D. et al., 2011. Adaptation of microalgae to a gradient of continuous petroleum contamination. *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 101(2), pp.342–50. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21216344> [Accessed January 9, 2014].
- Castro, A.J. de & Bicudo, C. de M., 2007. Flora Ficológica do Estado de Sao Paula- Cryptophyceae. *Fapesp-RIMA*, 11.
- Ceron, V., 2011. *Estructura y dinámica de comunidades microalgales asociadas a lagunas facultativas secundarias en la estación de investigación y transferencia de tecnología en aguas residuales y reuso, municipio de Ginebra, Valle del Cauca*. Universidad del Valle.
- Chelf, P., Brown, L.M. & Wyman, C.E., 1994. Aquatic biomass resources and carbon dioxide trapping. *Biomass Bioenergy*, (4), pp.175–183.
- Choi, W., Kim, G. & Lee, K., 2012a. Influence of the CO<sub>2</sub> absorbent monoethanolamine on growth and carbon fixation by the green alga *Scenedesmus* sp. A. Shilton, ed. *Bioresource technology*, 120, pp.295–9.
- Choi, W., Kim, G. & Lee, K., 2012b. Influence of the CO<sub>2</sub> absorbent monoethanolamine on growth and carbon fixation by the green alga *Scenedesmus* sp. A. Shilton, ed. *Bioresource technology*, 120, pp.295–9.
- Chojnacka, K., Chojnacki, A. & Górecka, H., 2005. Biosorption of Cr<sup>3+</sup>, Cd<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> ions by blue-green algae *Spirulina* sp.: kinetics, equilibrium and the mechanism of the process. *Chemosphere*, 59(1), pp.75–84.
- Cobbett, C. & Goldsbrough, P., 2002. Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annual review of plant biology*, 53, pp.159–82.
- Comas, A., 1996. *Las Chlorococcales dulciacuícolas de Cuba*, Biblioteca Phycologica. J. CRAMER.

- Corre, G., 2008. *Evaluación y monitoreo del sistema de lagunas de Estabilización del municipio de santa fé de antioquia, Colombia*. Universidad De Antioquia.
- Costa, J.A.V. & De Morais, M.G., 2011. The role of biochemical engineering in the production of biofuels from microalgae. *Bioresource technology*, 102(1), pp.2–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20580548> [Accessed January 12, 2014].
- Costas, E. et al., 2007. How eukaryotic algae can adapt to the Spain's Rio Tinto: a neo-Darwinian proposal for rapid adaptation to an extremely hostile ecosystem. *The New phytologist*, 175(2), pp.334–9.
- Costas, E. et al., 2013. Mutation of microalgae from antifouling sensitivity to antifouling resistance allows phytoplankton dispersal through ships' biofouling. *Biological Invasions*, 15(8), pp.1739–1750.
- Costas, E., Flores-Moya, A. & López-Rodas, V., 2008. Rapid adaptation of phytoplankters to geothermal waters is achieved by single mutations: were extreme environments "Noah's Arks" for photosynthesizers during the Neoproterozoic "snowball Earth"? *The New phytologist*, 180(4), pp.922–32. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18803596> [Accessed January 12, 2014].
- Craggs, R J et al., 2011. Algal biofuels from wastewater treatment high rate algal ponds. *Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research*, 63(4), pp.660–5.
- Craggs, R. J. et al., 2002. Advanced pond system: performance with high rate ponds of different depths and areas. In *5th International IWA specialist group conference on waste stabilisation ponds*. New Zealand.
- Craggs, Rupert, 2005. Advanced integrated wastewater ponds. In A. Shilton, ed. *Pond Treatment Technology*. London, UK: IWA Scientific and Technical Report Series, IWA, pp. 282–310.
- Craggs, Sutherland, D. & Campbell, H., 2012. Hectare-scale demonstration of high rate algal ponds for enhanced wastewater treatment and biofuel production. *Journal of Applied Phycology*, 24(3), pp.329–337.
- Das, P., Aziz, S.S. & Obbard, J.P., 2011. Two phase microalgae growth in the open system for enhanced lipid productivity. *Renewable Energy*, 36(9), pp.2524–2528.
- Day, B. & Benson, F., 1999. In vitro culture and conservation of microalgae: applications for aquaculture, biotechnology and environmental research. *Society for In Vitro Biology*, 35, pp.89–95.
- Devi, M.P. & Mohan, S.V., 2012. CO<sub>2</sub> supplementation to domestic wastewater enhances microalgae lipid accumulation under mixotrophic microenvironment: effect of sparging period and interval. *Bioresource technology*, 112, pp.116–23.

- Diez, B. et al., 2001. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) to study the diversity of marine picoeukaryotic assemblages and comparison of DGGE with other molecular techniques. *Applied and environmental microbiology*, 67(7), pp.2942–2951.
- Dolk, H. et al., 1998. Risk of congenital anomalies near hazardous-waste landfill sites in Europe: the EUROHAZCON study. *Lancet*, 352(9126), pp.423–7.
- Doria, E. et al., 2011. Isolation and characterization of a *Scenedesmus acutus* strain to be used for bioremediation of urban wastewater. *Journal of Applied Phycology*, 24(3), pp.375–383. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10811-011-9759-z> [Accessed April 4, 2013].
- Edler, L. & Elbrächter, M., 2010. The Utermöhl method for quantitative phytoplankton analysis. In B. Karlson, C. Cusack, & E. Bresnan, eds. *Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis*. Paris: UNESCO. (IOC Manuals and Guides), p. 110.
- Eland, L.E., Davenport, R. & Mota, C., 2012. Evaluation of DNA extraction methods for freshwater eukaryotic microalgae. *Water Research*, 46(16), pp.5355–5364.
- Environmental Protection Agency, 2011a. *INVENTORY OF U.S. GREENHOUSE GAS EMISSIONS AND SINKS: 1990 – 2009*,
- Environmental Protection Agency, 2011b. *Principles of Design and Operations of Wastewater Treatment Pond Systems for Plant Operators, Engineers, and Managers*,
- FAO, 2009. *Algae-Based Biofuels: A Review of Challenges and Opportunities for Developing Countries*, Roma.
- De Feo, M. & Malvano, C., 2009. The use of LCA in selecting the best MSW management system. *Waste Management*, 29, pp.1901–1915.
- Frac, M., Jeziarska-tys, S. & Tys, J., 2010. Microalgae for biofuels production and environmental applications : A review. *Journal of Biotechnology*, 9(54), pp.9227–9236.
- García, J, Mujeriego, R. & Hernández-Mariné, M., 2000. High rate algal pond operating strategies for urban wastewater nitrogen removal. *Journal of Applied Phycology*, 12, pp.331–339.
- García, J. et al., 2006. Long term diurnal variations in contaminant removal in high rate ponds treating urban wastewater. *Bioresource Technology*, 97(14), pp.1709–1715.
- García, J., Mujeriego, R. & Hernández-Mariné, M., 2000. High rate algal pond operating strategies for urban wastewater nitrogen removal. *Journal of Applied Phycology*, 12, pp.331–339.

- García, J.M. & Hernández-Mariné Rafael Mujeriego, 2000. Influence of Phytoplankton Composition on Biomass Removal from High-Rate Oxidation Lagoons by Means of Sedimentation and Spontaneous Flocculation. *Water Environment Research*, 72(2), pp.230–237.
- Gavrilescu, M., 2005. Biotechnology – a sustainable alternative for chemical industry. *Biotechnol. Adv.*, 23, pp.477–499.
- Giordano, M., Beardall, J. & Raven, J. a, 2005. CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution. *Annual review of plant biology*, 56, pp.99–131.
- Godinho, L.R., 2009. *Familia Scenedemaceae no Estado de Sao Paulo: Lavantamiento Florístico*. Instituto de Botanica da Secretaria do Medio Ambiente do Estado de Sao Paulo.
- Godosa, I. de et al., 2010. Influence of flue gas sparging on the performance of high rate algae ponds treating agro-industrial wastewaters. *Journal of Hazardous Materials*, 179, pp.1049–1054.
- Goméz, N. et al., 2009. La Biota De Los Ríos: Los Microorganismos Autótrofos. In A. Elozegi & S. Sabater, eds. *Conceptos Y Técnicas En Ecología Fluvial*. España: Fundación Bbva.
- Guerrero, M.G. & Barea, J.L., 1974. *Prácticas de Bioquímica*, Sevilla: Universidad de Sevilla.
- Guiry, M.D., 2012. How Many Species of Algae Are There? *Journal of Phycology*, 48(5), pp.1057–1063.
- Gurung, T.B., Urabe, J. & Nakanishi, M., 1999. Regulation of the relationship between phytoplankton *Scenedesmus acutus* and heterotrophic bacteria by the balance of light and nutrients. *Aquatic Microbial Ecology*, 17, pp.27–35.
- Hadiyanto, H. et al., 2013. Hydrodynamic evaluations in high rate algae pond (HRAP) design. *Chemical Engineering Journal*, 217, pp.231–239.
- Ho, L. & Ho, G., 2012. Mitigating ammonia inhibition of thermophilic anaerobic treatment of digested piggyery wastewater: use of pH reduction, zeolite, biomass and humic acid. *Water research*, 46(14), pp.4339–50.
- Ho, S. et al., 2011. Perspectives on microalgal CO<sub>2</sub> -emission mitigation systems — A review. *Biotechnology Advances*, 29(2), pp.189–198.
- IDEAM, 2009a. *Procedimiento para el muestreo de aguas y sedimentos para determinación de metales*, Colombia.
- IDEAM, 2009b. *Procedimiento para el muestreo de aguas y sedimentos para determinación de metales*, Colombia.



- Jiri Masojídek, M.K. & Torzillo, G., 2004. Photosynthesis in Microalgae. In A. Richmond, ed. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Science, pp. 20–39.
- José, M. & Vicente, G., 2010. *Captura de CO<sub>2</sub> Mediante Algas Unicelulares*. ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS AGRÓNOMOS.
- Kadrivelu, K., Thamilaselvi, K. & Namasivayam, C., 2001. Adsorption of nickel (II) from aqueous solution onto activated carbon prepared from coirpith. *Sep. Purif. Technol*, 24(3), p.479.
- Konnerup, D., Koottatep, T. & Brix, H., 2009. Treatment of domestic wastewater in tropical, subsurface flow constructed wetlands planted with *Canna* and *Heliconia*. *Ecological Engineering*, 35(2), pp.248–257.
- Kortelainen, P., 1993. Content of Total Organic Carbon in Finnish Lakes and Its Relationship to Catchment Characteristics. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50(7), pp.1477–1483.
- Kumar, K. et al., 2011. Bioresource Technology Development of suitable photobioreactors for CO<sub>2</sub> sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. *Bioresource Technology*, 102(8), pp.4945–4953.
- Kurniawan, T., Lo, W. & Chan, G., 2006. Radicals-catalyzed oxidation reactions for degradation of recalcitrant compounds from landfill leachate. *Chemical Engineering Journal*, 125(1), pp.35–57.
- Lei, Y. et al., 2007. Treatment of landfill leachate by combined aged-refuse bioreactor and electro-oxidation. *Water Research*, 41, pp.2417–2426.
- Li, H. et al., 2009. Advanced treatment of landfill leachate by a new combination process in a full-scale plant. *Journal of Hazardous Materials*, 172, pp.408–415.
- LIN, S.H. & Chang, C.C., 2000. Treatment of landfill leachate by combined electro-fenton oxidation and sequencing batch reactor method. *Science*, 34(17), pp.4243–4249.
- Liu, H. et al., 2012a. Shifting nutrient-mediated interactions between algae and bacteria in a microcosm: evidence from alkaline phosphatase assay. *Microbiological research*, 167(5), pp.292–8.
- Liu, H. et al., 2012b. Shifting nutrient-mediated interactions between algae and bacteria in a microcosm: evidence from alkaline phosphatase assay. *Microbiological research*, 167(5), pp.292–8.
- Lourie, E., Patil, V. & Gjengedal, E., 2009. Efficient Purification of Heavy-Metal-Contaminated Water by Microalgae-Activated Pine Bark. *Water, Air, & Soil Pollution*, 210(1-4), pp.493–500.

- Loutseti, S. et al., 2009. The application of a micro-algal/bacterial biofilter for the detoxification of copper and cadmium metal wastes. *Bioresour Technology*, 100, pp.2909–2105.
- Mara, D., 2004. *Domestic Wastewater Treatment in Developing Countries*, London: Earthscan.
- Mara, Duncan, 1997. *Design Manual for Waste Stabilization Ponds in India*, Leeds, England.: Lagoon Technology International.
- Marttinen, S.K. et al., 2002. Screening of physical-chemical methods for removal of organic material, nitrogen and toxicity from low strength landfill leachates. *Chemosphere*, 46(6), pp.851–8.
- Mata, T.M., Martins, A.A. & Caetano, N.S., 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications : A review. *Energy*, 14, pp.217–232.
- Mata-Alvarez, J., Macé, S. & Llabrés, P., 2000. Anaerobic digestion of organic solid waste. An overview of research achievements and perspectives. *Bioresource Technology*, 74, pp.3–16.
- Mathews, C.K. & Holde, K.E. Van, 1998. *Bioquímica* 2nd ed., McGraw-Hill Book Company.
- Mehlitz, T., 2009. *Temperature influence and heat management requirements of microalgae cultivation in photobioreactors*. California Polytechnic State University, USA.
- Mendonca, S.R., 2000. *Sistema de lagunas de estabilización: Como utilizar aguas residuales tratadas en sistemas de riego*, Colombia: McGraw-Hill Book Company.
- Mercalf & Eddy, 2003. *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse* 4th ed. G. Tchobanoglous, F. Buto L., & D. Stensel, eds., McGraw-Hill.
- Molina, E. et al., 2001. Tubular photobioreactor design for algal cultures. *Journal of biotechnology*, 92(2), pp.113–31.
- Monje-Ramirez, I. & Orta de Velásquez, M.T., 2004. Removal and transformation of recalcitrant organic matter from stabilized saline landfill leachates by coagulation-ozonation coupling processes. *Water research*, 38(9), pp.2358–66.
- Mustafa, E.-M., Phang, S.-M. & Chu, W.-L., 2012. Use of an algal consortium of five algae in the treatment of landfill leachate using the high-rate algal pond system. *Journal of Applied Phycology*.
- Muñoz, R et al., 2004. Photosynthetically oxygenated salicylate biodegradation in a continuous stirred tank photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 87(6), pp.797–803.

- Muñoz, R & Guieysse, B, 2006. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. *Water research*, 40(15), pp.2799–815.
- Muñoz, R. & Guieyssea, B., 2006. Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. *Water Research*, 40, pp.2799 – 2815.
- Muñoz, Raul et al., 2006. Sequential removal of heavy metals ions and organic pollutants using an algal-bacterial consortium. *Chemosphere*, 63(6), pp.903–11.
- Méndez, F. et al., 2006. *Impacto del botadero a cielo abierto de Navarro (BN) de la ciudad de Cali, en la salud, en el ambiente físico y social y en los costos en salud*, Cali.
- Nurdogan, Y. & Oswald, William J., 1995. Enhanced nutrient removal in high-rate ponds. *Water science and technology*, 31(12), pp.33–43.
- Obersteiner, G. et al., 2007. Landfill modeling in LCA - A contribution based on empirical data. *Waste Management*, 27, pp.58–74.
- Oron, G. et al., 1979. Algae / Bacteria Ratio in High-Rate Ponds Used for Waste Treatment. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 38(4), pp.570–576.
- Oswald, W.J., 1988. Microalgae and wastewater treatment. In A. Borowitzka & L. Borowitzka, eds. *Microalgal Biotechnology*. New York: Cambridge University Press., pp. 305–328.
- Oswald, William J., 1990. Advanced integrated wastewater ponds systems. *Supplying Water and Saving the Environment*, pp.73–81.
- Oswald, William J. & Gotaas, H.B., 1955. Photosynthesis in sewage treatment. *American Society of civil engineers*, pp.73–105.
- Ozturk, Izzet et al., 2003. Advanced physico-chemical treatment experiences on young municipal landfill leachates. *Waste management (New York, N.Y.)*, 23(5), pp.441–6.
- Packer, M., 2009. Algal capture of carbon dioxide ; biomass generation as a tool for greenhouse gas mitigation with reference to New Zealand energy strategy and policy. *Energy Policy*, 37(9), pp.3428–3437.
- Pagand, P. et al., 2000. The use of high rate algal ponds for the treatment of marine effluent from a recirculating fish rearing system. *Aquaculture*, 31, pp.729–736.
- Palacios, A., 2006. *Cámaras estáticas para la estimación de gases de efecto invernadero en lagunas de estabilización para el tratamiento de aguas residuales domésticas*. Universidad del Valle.

- Park, J B K, Craggs, R J & Shilton, a N., 2011. Recycling algae to improve species control and harvest efficiency from a high rate algal pond. *Water research*, 45(20), pp.6637–49.
- Park, J & Craggs, R, 2010. Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds with carbon dioxide addition. *Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research*, 61(3), pp.633–9.
- Park, J, Craggs, R J & Shilton, a N., 2011. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource technology*, 102(1), pp.35–42.
- Park, J. B. K. & Craggs, R. J., 2011. Nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds with carbon dioxide addition. *Water Science & Technology*, 63(8), p.1758.
- Park, J. & Craggs, R., 2011. Algal production in wastewater treatment high rate algal ponds for potential biofuel use. *Water Science & Technology*, 63(10), p.2403.
- Park, J.B.K., Craggs, R.J. & Shilton, A.N., 2013. Enhancing biomass energy yield from pilot-scale high rate algal ponds with recycling. *Water Research*.
- Parra, R., Apaza, G. & Agramont, A., 2010. Estimación de factores de emisión de gases de efecto invernadero en una planta de tratamiento de aguas residuales. *REVISTA BOLIVIANA DE QUÍMICA*, 27(2), pp.81–88.
- Perales-Vela, H.V., Castro, J.M.P.- & Cañizares-Villanueva, R.O., 2006. Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae. *Chemosphere*, 64, pp.1–10.
- Peña, E.J., Palacios, M.L. & Ospina-Alvarez, N., 2005. *Algas como indicadores ambientales*, Programa Editorial Universidad del Valle.
- Picot, B. et al., 1994. Using Diurnal Variations in a High Rate Algal Pond for Management Pattern. *Water Science & Technology*, 28(10), pp.169–175.
- Piotrowska-Niczyporuk, A. et al., 2012. Phytohormones as regulators of heavy metal biosorption and toxicity in green alga *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae). *Plant physiology and biochemistry : PPB / Société française de physiologie végétale*, 52, pp.52–65.
- Pittman, J.K., Dean, A.P. & Osundeko, O., 2011a. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource technology*, 102(1), pp.17–25. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20594826> [Accessed February 28, 2013].
- Pittman, J.K., Dean, A.P. & Osundeko, O., 2011b. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource technology*, 102(1), pp.17–25. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20594826> [Accessed January 12, 2014].

- Pochmann, A., 1942. *Synopsis der Gattung Phacus*, Germany: Aus dem Botanischen Institut der Deutschen, Karls-Universität Prag.
- PRESIDENTE DE LA REPÚBLICA DE COLOMBIA, 1984. *DECRETO 1594 DE 1984*,
- Pulz, O., 2001. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57(3), pp.287–293.
- Putt, R. et al., 2011. An efficient system for carbonation of high-rate algae pond water to enhance CO<sub>2</sub> mass transfer. *Bioresource technology*, 102, pp.3240–3245.
- Qiang, H., 2004. Environmental Effects on Cell Composition. In A. Richmond, ed. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. UK: Blackwell Science, p. 566.
- Rajfur, M., Kłos, A. & Waclawek, M., 2010. Sorption properties of algae *Spirogyra* sp. and their use for determination of heavy metal ions concentrations in surface water. *Bioelectrochemistry (Amsterdam, Netherlands)*, 80(1), pp.81–6.
- Ramanathan, V., 1988. The greenhouse theory of climate change: a test by an inadvertent global experiment. *Science*, 240, pp.293–299.
- Ranga Rao, a, Ravishankar, G. a & Sarada, R., 2012. Cultivation of green alga *Botryococcus braunii* in raceway, circular ponds under outdoor conditions and its growth, hydrocarbon production. *Bioresource technology*, 123, pp.528–33.
- Rao, P.S. et al., 2005. Comparison of Biosorption of Nickel ( II ) and Copper ( II ) Ions from Aqueous Solution by *Sphaeroplea* Algae and Acid Treated *Sphaeroplea* Algae. *Separation Science and Technology*, 40, pp.3149–3165.
- Rasineni, G.K., Guha, A. & Reddy, A.R., 2011. Elevated atmospheric CO<sub>2</sub> mitigated photoinhibition in a tropical tree species, *Gmelina arborea*. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, 103(2), pp.159–65.
- Rawat, I et al., 2011. Dual role of microalgae : Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy*, 88(10), pp.3411–3424.
- Renou, S. et al., 2008. Landfill leachate treatment: review and opportunity. *Journal of Hazardous Materials*, 150, pp.468–493.
- Richmond, A., 2004. Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors: an overview. *Hydrobiologia* 512:, 512, pp.33–37.
- Rosenberg, J.N. et al., 2011. Microalgal biomass production and carbon dioxide sequestration from an integrated ethanol biorefinery in Iowa : A technical appraisal and economic feasibility evaluation. *Biomass and Bioenergy*, 35(9), pp.3865–3876.

- Rosero, Á., 2013. *Propuesta de un modelo matemático para la transformación de nitrógeno y carbono presentes en lagunas facultativas secundarias, utilizadas en el tratamiento de aguas residuales*. Universidad del Valle.
- Sastre, J.A.S., 2005. *Tecnologías para la sostenibilidad: procesos y operaciones unitarias en depuración de aguas residuales*,
- Sayre, R., 2010. Microalgae: the potential for carbon capture. *Bioscience*, 60, pp.722–727.
- Sekomo, C.B. et al., 2012. Heavy metal removal in duckweed and algae ponds as a polishing step for textile wastewater treatment. *Ecological Engineering*, 44, pp.102–110.
- Shengguang, Y. et al., 1991. Effect of algae and water on water color shift. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 9(1), pp.49–56.
- Sheskin, D., 2000. *Parametric and Nonparametric Statistical Procedures* 2nd ed., New York: Chapman & Hall/CRC.
- Shpiner, R., Vathi, S. & Stuckey, D.C., 2009. Treatment of oil well “produced water” by waste stabilization ponds: removal of heavy metals. *Water research*, 43(17), pp.4258–68.
- Silva, J.P. et al., 2012. Influence of photoperiod on carbon dioxide and methane emissions from two pilot-scale stabilization ponds. *Water Science & Technology*, 66.9, pp.1930–1940.
- Silva, S.A. da, 1998. *Levantamento Toxonómico e variaçao temporal das Euglenophyceae de um reservatorio Raso no município de Triunfo, Estado do Rio Grande do Soul*. Universidade Estadual Paulista, “Campus” de Rio Claro.
- Silva-vinasco, J.P. & Valverde-solís, A., 2011. Estimación de gases de efecto invernadero en humedales construidos de flujo. *Ing. Univ. Bogotá*, 15(2), pp.519–533.
- Singh, A., Singh, P. & Murphy, J.D., 2011. Renewable fuels from algae : An answer to debatable land based fuels. *Bioresource Technology*, 102, pp.10–16.
- Singh, B. et al., 2014. Towards a sustainable approach for development of biodiesel from plant and microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 29, pp.216–245.
- Singh, R.N. & Sharma, S., 2012. Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(4), pp.2347–2353.
- Skjånes, K., Lindblad, P. & Muller, J., 2007. BioCO<sub>2</sub> – A multidisciplinary, biological approach using solar energy to capture CO<sub>2</sub> while producing H<sub>2</sub> and high value products. *Biomolecular engineering*, 24(4), pp.405–13.

- Sperling, M. von & Chernicharo, C.A. de L., 2005. *Biological Wastewater Treatment in Warm Climate Regions*, London: IWA Publishing.
- Steeneveldt, R., Berger, B. & Torp, T. a., 2006. CO<sub>2</sub> Capture and Storage. *Chemical Engineering Research and Design*, 84(9), pp.739–763.
- Stepan, D.J. et al., 2002. *Carbon dioxide sequestering using microalgal systems*, Pittsburgh.
- Stewart, C. & Hessami, M.-A., 2005. A study of methods of carbon dioxide capture and sequestration — the sustainability of a photosynthetic bioreactor approach. *Energy Convers Manage*, pp.403–420.
- Sultan, S E, 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in plant science*, 5(12), pp.537–42.
- Sultan, Sonia E, 2007. Development in context : the timely emergence of eco-devo. *Evolution*, 22(11), pp.575–582.
- Tang, D. et al., 2011. CO<sub>2</sub> biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO<sub>2</sub> levels. *Bioresource Technology*, 102(3), pp.3071–3076.
- Tell, G. & Conforti, V., 1986. *Euglenophyta pigmentadas de la Argentina*, Departamento de Ciencias Biológicas. Ciudad Universitaria. Buenos Aires. Argentina: Biblioteca Phycologica.
- Thiele, D.J., 1992. Metal-regulated transcription in eukaryotes. *Nucleic acids research*, 20(6), pp.1183–91.
- Tolbert, N.E., 1997. The C<sub>2</sub> Oxidative Photosynthetic Carbon Cycle. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*, 48, pp.1–25.
- Tsai, D.D.-W., Ramaraj, R. & Chen, P.H., 2012. Growth condition study of algae function in ecosystem for CO<sub>2</sub> bio-fixation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 107, pp.27–34.
- Um, B.-H. & Kim, Y.-S., 2009. Review: A chance for Korea to advance algal-biodiesel technology. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 15(1), pp.1–7.
- UNFPA, 2011. *7 mil millones de personas su mundo , sus posibilidades*,
- Ustün, G.E., 2009. Occurrence and removal of metals in urban wastewater treatment plants. *Journal of hazardous materials*, 172(2-3), pp.833–8.
- Utermoehl, H., 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. Mitt. int. Verein. theor. angew. *Limnologia*, 9, p.38.
- Valigore, J.M., 2011. *Microbial ( Microalgal-Bacterial ) Biomass Grown on Municipal Wastewater for Sustainable Biofuel Production*. University of Canterbury.

- Villafañe, v. E. & Reid, F.M., 1995. Métodos de microscopía para la cuantificación del fitoplancton. In K. Alveal et al., eds. *Manual de métodos ficológicos*. Chile: Universidad de Concepción, pp. 169–185.
- Wang, X. et al., 2010. Sequestration of CO<sub>2</sub> discharged from anode by algal cathode in microbial carbon capture cells (MCCs). *Biosensors & bioelectronics*, 25(12), pp.2639–43.
- Watanabe, Y. & Hall, D.O., 1995. Photosynthetic CO<sub>2</sub> Fixation Technologies Using a Helical Tubular Bioreactor Incorporating the Filamentous Cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Energy Conversion and Management*, 36, pp.721–724.
- Weissman, J.C. & Tillett, D., 1992. Aquatic Species Project Report; NREL/MP-232-4174. In L.M Brown & S. Sprague, eds. *National Renewable Energy Laboratory: Golden, CO.*, pp. 41–58.
- Wetzel, R. & Likens, G., 2000. *Limnological Analyses* 3rd ed., United States Of America: Springer.
- Wissel, B. & Boeing, W.J., 2003. Effects of water color on predation regimes and zooplankton assemblages in freshwater lakes. *Limnol. Oceanogr*, 48(5), pp.1965–1976.
- Wiszniewski, J. et al., 2006. Landfill leachate treatment methods: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 4(1), pp.51–61.
- Xing, Y. et al., 2005. Methane and carbon dioxide fluxes from a shallow hypereutrophic subtropical Lake in China. *Atmospheric Environment*, 39, pp.5532–5540.
- Yang, H. et al., 2008. Carbon source/sink function of a subtropical, eutrophic lake determined from an overall mass balance and a gas exchange and carbon burial balance. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 151(3), pp.559–68.
- Yong-hong, B. & Zheng-yu, H., 2005. Relationship between watercolor and phytoplankton. *Ecologic Science*, 01.
- Zaixso, H., 2002. *Manual De Campo Para El Muestreo De Columna De Agua*, San Juna Bosco.
- Zhao, B. et al., 2011. Effect of cultivation mode on microalgal growth and CO<sub>2</sub> fixation. *Chemical Engineering Research and Design*, 89(9), pp.1758–1762.
- Zhu, X.-G., Long, S.P. & Ort, D.R., 2008. What is the maximum efficiency with which photosynthesis can convert solar energy into biomass? *Current Opinion in Biotechnology*, 19, pp.153–159.
- Zwart, G. et al., 2005. Molecular characterization of cyanobacterial diversity in a shallow eutrophic lake. *Environmental Microbiology*, 7(3), pp.365–377.



## 12 ANEXOS

### 12.1 Ecuaciones utilizadas en el cálculo de $CO_2$

a. Bicarbonate alkalinity

$$HCO_3 \text{ como } mg \frac{CaCO_3}{L} = \frac{T - 5.0 \times 10^{(pH-10)}}{1 + 0.94 \times 10^{(pH-10)}}$$

T: total alkalinity, mg  $CaCO_3/L$ .

b. Carbonate alkalinity:

$$CO_3 \text{ como } mg \frac{CaCO_3}{L} = 0.94 \times B \times 10^{(pH-10)}$$

B: bicarbonate alkalinity, from a.

c. Hydroxide alkalinity:

$$OH^- \text{ como } mg \frac{CaCO_3}{L} = 5.0 \times 10^{pH-10}$$

*d. Free carbon dioxide:*

$$mg \frac{CO_2}{L} = 2.0 \times B \times 10^{(pH-10)}$$

*B:* bicarbonate alkalinity, from *a*.

*e. Total carbon dioxide:*

$$mg \frac{CO_2}{L} = A + 0.44 (2B + C)$$

*A:* mg free CO<sub>2</sub>/L,  
*B:* bicarbonate alkalinity from *a*, and  
*C:* carbonate alkalinity from *b*.

## ***Anexo 12.2 Arranque del sistema***

### **Arranque del sistema**

La puesta en marcha de un sistema de lagunas, sea cual sea el sistema no es simple, dado que los microorganismos responsables de la depuración o tratamiento, no aparecen instantáneamente. Por el contrario, necesitan de un período de tiempo más o menos largo, el cual va a depender las poblaciones que se deseen establecer y de las condiciones ambientales (EPA 2011b).

Según Sastre (2005), al momento de arrancar un sistema lagunar, lo ideal es estar durante la primavera o inicio del verano (para el caso de zonas con estaciones). La velocidad de crecimiento de los microorganismos es mayor en esta época, debido a la alta temperatura. Esta situación en el contexto local, es favorable, pues las variaciones climáticas están determinados por una bimodalidad, en la cual se presenta una temporada seca (Diciembre-Enero y Julio Agosto) y lluviosa (Abril-Mayo y Octubre-Noviembre), manteniendo una temperatura ambiental relativamente constante alrededor de los 24°C, como se puede observar en la Tabla 10. Siendo esta temperatura ambiental óptima para el desarrollo de las algas, encontrándose en rango establecido (20 y 35 °C), lo que favoreció la tasa de crecimiento las mismas, sin embargo, esto puede variar entre especies algales (Qiang 2004).

### Anexo 12.3 Determinación de la Respiración aerobia por Rosero 2013

La tasa de respiración aeróbica se toma de la tesis de Maestría en Ingeniería Sanitaria y Ambiental, titulada “Propuesta de un modelo matemático para la transformación de nitrógeno y carbono presentes en lagunas facultativas secundarias, utilizadas en el tratamiento de aguas residuales” donde se evaluó un sistema facultativo piloto. En esta investigación se modeló la eliminación de Nitrógeno y Carbono. Estos modelos se validaron y calibraron con datos de campo. Este proceso se llevó a cabo en el programa Stella (Structural Thinking Experimental Learning Laboratory with Animation).

Para la determinación de la tasa respiratoria aerobia se implementó las siguientes ecuaciones.

**$r_{1Rae}$  Tasa de respiración aeróbica (g C\*m-3 \*día-1)**

$$r_{1Rae} = K_{1ox} * \theta_{10x}^{(T-20)} * \frac{O_2}{K_{1O_2} + O_2} * COD \text{ Ec. 1}$$

$$COD = 0.7658 * COT \text{ Ec. 2}$$

La relación de carbono orgánico total y disuelto de la ecuación 2 se obtuvo de los datos experimentales en el efluente de la laguna, la expresión 1 fue implementada en el modelo de Mashauri y Kayombo (2002). Una vez se calibró el modelo en el programa Stella, se evaluó los datos del modelo con los medidos en Campo dando como resultado los siguientes valores:

En la Tabla 1 se muestran las correlaciones obtenidas para cada especie entre los datos medidos y los obtenidos por el modelo. De acuerdo a los resultados se determinó que existe una relación por encima del 68% entre el modelo y los resultados obtenidos experimentalmente.

**Tabla 1** Coeficiente de correlación y porcentaje de error promedio para el día y la noche en la evaluación del modelo de Carbono

Especie química	R <sup>2</sup>		% error promedio	
	Día (Tipo II)	Noche (Tipo III)	Día (Tipo II)	Noche (Tipo III)
CO <sub>2</sub>	0.81	0.82	16.66	34.4
COT	0.73	0.69	9.75	10.02

Se realizó un análisis estadístico de relación de medias para muestras, entre los datos obtenidos en el modelo y los datos medidos experimentalmente, para conocer si existen relaciones entre estos la tabla 2 muestran los valores de las significancias obtenidas en los análisis.

**Tabla 2** Resultado de la prueba comparación de medias, para la evaluación del modelo de carbono

Especies	Sig. (bilateral)	Sig. (bilateral)	Prueba	Prueba
----------	------------------	------------------	--------	--------

	<i>DÍA</i>	<i>NOCHE</i>	<i>DÍA</i>	<i>NOCHE</i>
COT-Modelo - COT-Medido	0.270	0.341	T-pareada	T-pareada
CO <sub>2</sub> -Medido- CO <sub>2</sub> -Modelo	0.878	0.017	Wilcoxon	Wilcoxon

Se establece que las especies químicas que fueron medidas experimentalmente y las obtenidas por el modelo, son estadísticamente iguales, tanto en el periodo diurno como en el nocturno a excepción del dióxido de carbono en los datos noche, ya que presenta una significancia menor a 0.05.

De los 10 datos obtenidos en cada periodo de simulación, para cada proceso de transformación y eliminación, se realizó un promedio para el estudio de estas tasas en los dos periodos, como se muestra en la Tabla 3

**Tabla 3** Tasas promedio en el periodo diurno y nocturno para cada uno de los procesos de transformación y eliminación para el modelo de carbono.

Periodo	R <sub>2Alk</sub>	R <sub>1CB</sub>	R <sub>1CBh</sub>	R <sub>2Fo</sub>	R <sub>1Rae</sub>	R <sub>1Ran</sub>	V <sub>IS</sub>	R <sub>2DA-L</sub>	R <sub>2DL-A</sub>	R <sub>1DCH4</sub>	R <sub>2DBe</sub>
Noche	367.67	193.46	322.44	0.00	<b>86.37</b>	133.15	42.78	0.00	132.72	162.80	0.09
Día	384.39	1133.59	385.45	863.87	<b>101.19</b>	99.99	44.75	2.85	0.00	162.80	0.09

R<sub>1CB</sub> =Tasa de crecimiento para la biomasa (g C \*día<sup>-1</sup>)

R<sub>1CBh</sub> =Tasa de consumo de carbono orgánico para el crecimiento de bacterias heterótrofas (g C\*día<sup>-1</sup>).

R<sub>1Rae</sub> =Tasa de respiración aeróbica (g C\*día<sup>-1</sup>)

R<sub>1Ran</sub> =Tasa de respiración anaeróbica (g C\*día<sup>-1</sup>)

R<sub>2Fo</sub> =Tasa consumo de dióxido de carbono en la fotosíntesis (g C\*día<sup>-1</sup>)

R<sub>2DA-L</sub> =Tasa transferencia de dióxido de carbono de la atmósfera a la laguna (g C\*día<sup>-1</sup>)

R<sub>2DL-A</sub> =Tasa transferencia de dióxido de carbono de la laguna a la atmósfera (g C\*m<sup>-3</sup> \*día<sup>-1</sup>)

R<sub>2Alk</sub> =Tasa transformación de CO<sub>2</sub> a carbonatos medido como Alcalinidad (g C\*día<sup>-1</sup>)

R<sub>2DBe</sub> =Tasa difusión de CO<sub>2</sub> desde el bentos (g C\*m<sup>-3</sup> \*día<sup>-1</sup>)

R<sub>1DCH4</sub> =Tasa difusión de metano desde la laguna (g C \*día<sup>-1</sup>)

V<sub>IS</sub> =Velocidad de Sedimentación (g C \*día)