



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
AMBIENTAL – AIRE

**CARACTERIZACIÓN CINÉTICA DE MICROALGAS BAJO CONDICIONES
REPRESENTATIVAS DEL TRATAMIENTO DE EMISIONES DE CO₂ DE GASES DE
COMBUSTIÓN**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:
ELISA LEONOR GARCÍA CRUZ

TUTOR PRINCIPAL
Dr. ARMANDO GONZÁLEZ SÁNCHEZ, INSTITUTO DE INGENIERÍA- UNAM
COMITÉ TUTOR
Dr. IGNACIO MONJE RAMÍREZ, INSTITUTO DE INGENIERÍA- UNAM
Dr. RAÚL MUÑOZ TORRE, UNIVERSIDAD DE VALLADOLID (ESPAÑA)

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., DICIEMBRE, 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidenta: Dra. Marcia Morales Ibarría, Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa

Secretario: Dr. Ignacio Monje Ramírez, Instituto de Ingeniería- UNAM

1er. vocal: Dr. Raúl Muñoz Torre, Universidad de Valladolid, España

2do. vocal: Dr. Julián Carrillo Reyes, Instituto de Ingeniería- UNAM

3er. vocal: Dr. Armando González Sánchez, Instituto de Ingeniería- UNAM

Lugar donde se realizó la tesis:

Laboratorio de Ingeniería Ambiental - Instituto de Ingeniería- UNAM, CDMX.

TUTOR DE TESIS:

Dr. Armando González Sánchez, Instituto de Ingeniería- UNAM

El trabajo experimental fue realizado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM que cuenta con certificado de conformidad otorgado por el organismo acreditado Certificación Mexicana, S.C., por haber implementado y mantener un Sistema de Gestión de la Calidad de conformidad con los requisitos de la norma internacional ISO 9001:2015

No. de Certificado CMX C SGC 155 2017, válido en el período del 09 de noviembre de 2017 al 09 de noviembre de 2020



Índice general

1	Introducción	13
2	Marco Teórico	15
2.1	Gases de combustión.....	15
2.1.1	Generalidades.....	15
2.1.2	Composición	16
2.1.3	Temperatura y presión.....	18
2.1.4	Condiciones representativas de los gases de combustión	19
2.2	Tratamiento biológico de emisiones de CO ₂	19
2.2.1	Generalidades de las microalgas	19
2.2.2	Radiación fotosintéticamente activa (PAR)	21
2.2.3	Nutrición de las microalgas	22
2.2.4	Efecto de los gases de combustión sobre las microalgas	22
2.2.5	Efecto de la temperatura en el cultivo de microalgas	24
2.3	Absorción de CO ₂	26
2.4	Crecimiento de microalgas en fotobiorreactor de tanque agitado.....	28
2.4.1	Cultivo discontinuo o lote	30
2.4.2	Cultivo lote alimentado	31
2.4.3	Cultivo continuo.....	33
3	Antecedentes	37
4	Justificación	39
5	Objetivos.....	39
5.1	Objetivo General:.....	39

5.1.1	Objetivos Particulares:.....	40
6	Hipótesis	40
7	Metodología.....	40
7.1	Colecta de microalgas	40
7.1.1	Colecta de consorcios de microalgas termófilas.....	40
7.1.1	Caracterización fisicoquímica del agua de colecta.....	41
7.1.2	Tratamiento de los consorcios colectados	42
7.2	Adaptación y selección de los consorcios termófilos	44
7.2.1	Adaptación de los consorcios de microalgas.....	44
7.2.2	Selección de los consorcios de microalgas	44
7.3	Caracterización cinética.....	45
7.3.1	Aproximación experimental	45
7.3.2	Condiciones de cultivo.....	47
7.3.1	Sistema experimental.....	48
7.3.2	Transferencia de masa (CO ₂) al sistema.....	48
7.3.3	Determinación de los parámetros cinéticos.....	49
7.3.4	Determinaciones analíticas	51
7.3.5	Clasificación taxonómica	52
8	Resultados y discusión.....	53
8.1	Colecta de consorcios termófilos	53
8.2	Clasificación Taxonómica	56
8.2.1	Clasificación taxonómica de las microalgas colectadas en campo.....	56

8.2.2	Clasificación taxonómica de los consorcios empleados en la caracterización cinética	57
8.3	Transferencia de masa de CO ₂ en los ensayos cinéticos de microalgas	63
8.4	Caracterización cinética de los consorcios de microalgas en temperaturas de 35 y 40°C y concentraciones de CO ₂ de 3 y 15% (v/v)	65
8.4.1	Curvas de crecimiento	65
8.4.2	Tasa específica de crecimiento	66
8.4.3	Productividad de biomasa microalgal	69
8.4.4	Tasa de fijación de carbono	75
8.4.5		77
8.4.6	Balance de carbono	77
8.4.7	Destino del CO ₂	79
8.4.8	Efecto de las altas concentraciones de CO ₂ sobre el pH	81
8.5	Caracterización cinética del consorcio A en diferentes intensidades PAR a 35 °C y CO ₂ 15% (v/v)	85
8.5.1	Curvas de crecimiento diferentes intensidades PAR	85
8.5.2	Tasas específicas de crecimiento a diferentes PAR	86
8.5.1	Productividad en diferentes intensidades PAR	90
8.5.2	Tasa de fijación de carbono en diferentes intensidades luminosas	93
8.5.3	Efecto del pH a diferentes intensidades luminosas	95
8.5.4	Destino del CO ₂ en diferentes intensidades luminosas	97
8.5.5	Fijación de Nitrógeno en diferentes intensidades luminosas	99
8.5.6	Perfil bioquímico de la biomasa a diferente intensidad luminosa	100
9	Conclusiones	108

10	Referencias Bibliográficas.....	109
11	Anexo	116
11.1	Análisis estadístico	116

Índice de tablas

Tabla 1.	Tecnologías para la captura de carbono, elaborada a partir de Steward y Hessami, (2005).	14
Tabla 2.	Concentración de CO ₂ de los gases de combustión según el combustible de origen.	17
Tabla 3.	Compuestos de importancia en los gases de combustión, elaborada a partir de Stepan <i>et al.</i> , (2002).	18
Tabla 4.	Condiciones y composiciones representativas del gas de combustión emitido en una planta de generación energía, elaborada a partir de Stepan <i>et al.</i> , (2002).	19
Tabla 5.	Productividades de diferentes microalgas creciendo con concentraciones de CO ₂ de los gases de combustión.	24
Tabla 6.	Constantes de la ley de Henry para los principales componentes de los gases de combustión bajo diferentes temperaturas, elaborada a partir de (Stepan, 2002).	27
Tabla 7.	Preparación de Medio BG 11 modificado.....	43
Tabla 8.	Criterios para seleccionar consorcios.	45
Tabla 9.	Caracterización cinética en condiciones representativas de los gases de combustión.....	46
Tabla 10.	Caracterización cinética en diferentes intensidades luminosas.....	47

Tabla 11. Condiciones de cultivo para las cinéticas con base en González- Sánchez y Posten, (2017).....	47
Tabla 12. Determinaciones Analíticas.....	52
Tabla 13. Métodos de tinción reportados por Kumar y Sing (1979).	53
Tabla 14. Caracterización <i>in situ</i> del agua, en cada punto de muestreo.....	54
Tabla 15. Composición del agua en los puntos de colecta.	55
Tabla 16. Clasificación taxonómica de las microalgas colectadas en campo.....	56
Tabla 17. Clasificación taxonómica de las microalgas predominantes en los consorcios empleados en la caracterización cinética.	63
Tabla 18. Transferencia de masa (CO ₂).	64
Tabla 19. Suministro de CO ₂ en los cultivos.	65
Tabla 20. Tasas específicas de crecimiento para microalgas termófilas, cultivadas con CO ₂ en concentraciones representativas de gases de combustión.	69
Tabla 21. Productividades obtenidas para los consorcios "A, B y C" en concentraciones de CO ₂ Md y Mc, bajo diferentes temperaturas.	70
Tabla 22. Detalles de las condiciones de cultivo de las productividades reportadas por Zhao y Su, (2014).....	72
Tabla 23. Productividades reportadas para microalgas termófilas.	74
Tabla 24. Tasas de fijación de CO ₂ reportadas para microalgas termófilas.	77
Tabla 25. Balance de CO ₂	77
Tabla 26. Carbono Orgánico Total (COT)	80
Tabla 27. Carbono Inorgánico disuelto (CID)	81
Tabla 28. Tasas específicas de crecimiento reportadas para diferentes intensidades luminosas.....	89

Tabla 29. Productividades reportadas para microalgas con diferentes intensidades luminosas.....	92
Tabla 30. Tasas de fijación de carbono reportadas para microalgas con diferentes intensidades luminosas.	94
Tabla 31. Consumo de nitrógeno a diferentes PAR	100
Tabla 32. Productividad de lípidos a diferentes intensidades PAR.....	102
Tabla 33. Lípidos obtenidos por Iasimone <i>et al.</i> , (2018).....	104
Tabla 34. Productividad de carbohidratos en diferentes PAR.....	106
Tabla 35. Contenido de carbohidratos obtenido por Ho <i>et al.</i> , (2013).....	106

Índice de figuras

Figura 1. Simulación de la solubilidad de un gas de combustión en BBM (Stepan, 2002)..	28
Figura 2. Cultivo en lote	30
Figura 3. Cultivo discontinuo alimentado	32
Figura 4. Cultivo continuo.	34
Figura 5. Metodología General.....	40
Figura 6. Ubicación del Bosque de la Primavera Jalisco, México.....	41
Figura 7. Muestras colectadas de microalgas termófilas.	42
Figura 8. Esquema del sistema experimental.	48
Figura 9. Fotografías obtenidas en el microscopio con un aumento 100x.	57
Figura 10. Consorcios en fase de adaptación.....	58
Figura 11. Consorcio 19, 17 y 20 posteriormente renombrados como consorcios B, A y C, respectivamente.	59

Figura 12. Microfotografía de <i>Chlorella vulgaris</i> cf. a 100x.	61
Figura 13. Microfotografía de <i>Leptolyngbya</i> sp. a 100x.	62
Figura 14. Microfotografías <i>Trebouxia</i> sp. a 100x.	62
Figura 15. Modelo de transferencia de masa (J.a) del CO ₂ al sistema experimental.....	64
Figura 16. Curvas de crecimiento de los consorcios “A, B y C” con CO ₂ Md, bajo 40 °C. ...	66
Figura 17. Tasa específica de crecimiento de los consorcios A, B, y C con CO ₂ Md (3% v/v), bajo diferentes temperaturas.	67
Figura 18. Tasa específica de crecimiento para los consorcios A, B, y C con CO ₂ Mc (15% v/v), bajo diferentes temperaturas.	67
Figura 19. Productividades de diferentes microalgas, elaborada a partir de Zhao y Su (2014).	73
Figura 20. Tasa de fijación de carbono con mezclas de CO ₂ Md, bajo diferentes temperaturas.	75
Figura 21. Tasa de fijación de carbono con mezclas de CO ₂ Mc, bajo diferentes temperaturas.	76
Figura 22. Monitoreo del pH bajo temperatura de 35°C y mezclas de CO ₂ Md.	82
Figura 23. Monitoreo del pH bajo temperatura de 35°C y mezclas de CO ₂ Mc.....	82
Figura 24. Monitoreo del pH a temperatura de 40°C y mezclas de CO ₂ Md.	83
Figura 25. Monitoreo del pH a temperatura de 40°C y mezclas de CO ₂ Mc.	83
Figura 26. Sistema experimental con diferentes intensidades luminosas.....	85
Figura 27. Curvas de crecimiento del consorcio A en diferentes intensidades PAR.	86
Figura 28. Tasa específica de crecimiento a diferentes PAR.	87
Figura 29 específicas de crecimiento obtenidas por Toledo- Cervantes et al., (2013).	88
Figura 30. Productividades del consorcio A con diferentes intensidades luminosas PAR. 90	

Figura 31. Tasa de fijación de carbono en diferentes PAR.	93
Figura 32. Monitoreo del pH en los tratamientos, con carga de CO ₂	95
Figura 33. Monitoreo del pH en cultivos control, sin carga de CO ₂	96
Figura 34. Monitoreo de carbono inorgánico.	97
Figura 35. Monitoreo del carbono orgánico total a diferentes intensidades luminosas	98
Figura 36. Monitoreo de nitrógeno en los cultivos a diferentes PAR.	99
Figura 37. Contenido de lípidos a diferentes intensidades PAR.	101
Figura 38. Porcentaje de carbohidratos en diferentes intensidades luminosas.	105

Resumen

Debido al potencial del CO₂ como gas de efecto invernadero (GEI), se ha tenido la necesidad de desarrollar tecnologías para capturar y almacenar carbono, a fin de evitar su emisión a la atmósfera. Aunque los gases de combustión requieren un enfriamiento previo para su tratamiento con microalgas, lo que representa un alto consumo energético y por tanto un incremento en los costos de operación. Una opción para reducir los costos asociados al enfriamiento de los gases de combustión es el empleo de microalgas termófilas pues, son capaces de crecer en temperaturas \geq a 39 °C. Posteriormente las microalgas pueden disponerse de manera adecuada o emplearse como precursores de compuestos de valor agregado.

Previo a la aplicación de microalgas termófilas, en el tratamiento de gases de combustión, es necesaria la caracterización cinética de las microalgas. Para ello se colectaron consorcios de microalgas termófilas en Río Caliente, Jalisco (60°C). Posteriormente se realizó la caracterización cinética (CC), bajo condiciones representativas del tratamiento de gases de combustión: temperaturas 35 y 40°C, con mezclas de CO₂ del 3 y 15% (v/v). Adicionalmente se realizaron CC en condiciones representativas de los gases de combustión bajo diferentes intensidades luminosas.

Los resultados indican que en los cultivos de microalgas a 35°C, la capacidad de transferencia de masa (CO₂) teórica fue de 6.424 g CO₂ L⁻¹ d⁻¹ mientras que, de manera experimental la máxima tasa de fijación de carbono fue de 72. 4 ± 5.78 mg CO₂ L⁻¹d⁻¹ con CO₂ 15% (v/v) y PAR 130 (μ mol f m⁻² s⁻¹), lo cual demuestra que la limitante para el tratamiento de CO₂ en condiciones representativas de los gases de combustión fue debida a la reacción biológica.

1 Introducción

El calentamiento global se define como el aumento gradual (observado o proyectado) de la temperatura en la superficie de la Tierra debido al incremento de las emisiones de gases de efecto invernadero (IPCC, 2014).

Las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) están constituidas por compuestos gaseosos que está presentes y/o se liberan a la atmósfera y que pueden ser de origen natural o antropogénico. Dichos gases son capaces de absorber y además emitir radiación, esta propiedad de emitir radiación en todas direcciones aunada al incremento antropogénico de emisiones de GEI provoca un incremento en la temperatura de la superficie de la Tierra, a este fenómeno se le conoce como efecto invernadero (IPCC, 2014).

En el ambiente existen GEI de origen exclusivamente antropogénico como los halocarburos, sustancias que contienen cloro y bromo, compuestos de azufre como el hexafluoruro (SF_6), hidrofluorocarbonos (HFC) y perfluorocarbonos (PFCs) (IPCC, 2014). Gases como CO_2 , N_2O y CH_4 existen en la naturaleza, sin embargo, las actividades antropogénicas contribuyen significativamente a incrementar su contenido en la atmósfera. Dentro de los principales gases de efecto invernadero en la atmósfera terrestre se encuentran: el vapor de agua (H_2O), el dióxido de carbono (CO_2), el óxido nitroso (N_2O), el metano (CH_4) y el ozono (O_3).

El potencial de calentamiento global (por sus siglas en inglés, GWP) representa el efecto combinado de los diferentes tiempos en que los GEI permanecen en la atmósfera aunado a su eficacia relativa para causar el forzamiento radiativo. El CO_2 es el principal gas que afecta el equilibrio radiativo de la Tierra y por tanto es el gas de referencia para comparar otros gases de efecto invernadero, de manera que el CO_2 tiene un GWP 1, mientras que el CH_4 de 25, el N_2O 298 con una permanencia en la atmósfera terrestre a 100 años (IPCC, 2014).

Se estima que las actividades antropogénicas contribuyen con el 77% del total de emisiones de gases de efecto invernadero (Songolzadeh *et al.*, 2014). Actividades como la

deforestación, la generación de energía y mediante la quema de combustibles fósiles son las principales actividades antropogénicas que han intensificado las emisiones de GEI (Cheah *et al.*, 2015).

El dióxido de carbono es el gas más abundante derivado de las actividades antropogénicas. Se estima que el 52% de los GEI corresponden a CO₂, ya que es un subproducto de actividades antropogénicas tales como: procesos industriales (por ejemplo, producción de cemento), y de la quema de combustibles fósiles tales como el petróleo, gas, carbón además de la quema de biomasa. Todas las actividades anteriores con llevan a la generación de gases de combustión (Cheah *et al.*, 2015).

Ya que el CO₂ es el principal GEI se ha tenido la necesidad de secuestrar y capturar carbono; la captura de carbono hace referencia al almacenamiento de carbono mientras que se habla de “captura y utilización de CO₂” para hacer referencia a los procesos que almacenan CO₂, proveniente de una corriente industrial y además lo transforman en un producto (IPCC, 2018). En la Tabla 1 se muestran algunas tecnologías para la captura de carbono.

Tabla 1. Tecnologías para la captura de carbono, elaborada a partir de Steward y Hessami, (2005).

Tecnología de Captura de CO ₂	Descripción del proceso
Absorción con monoetanolamina (MEA)	Es un proceso comercial en el cual se utiliza MEA que en contacto con el CO ₂ lo absorbe. La MEA se puede calentar para liberar el CO ₂ , almacenarlo y finalmente reusar la MEA. Sin embargo, calentar la MEA implica un gasto energético y por ende no es económicamente viable.

Adsorción desecante	Se pueden aplicar gases de combustión a un desecante, (materiales sólidos, adsorbentes, en cuya superficie se retiene el compuesto de interés), por ejemplo la zeolita.
Eliminación mediante inyección directa	Se refiere al proceso en el cual el CO ₂ se bombea directamente a un sumidero geológico (capaz de almacenar varias megatoneladas), eventualmente los sumideros perderán una parte del gas, sin embargo han contribuido significativamente a capturar carbono.
Vetas de Carbón	El dióxido de carbono se inyecta en vetas de carbón donde se difunde a través de la estructura porosa del mismo y finalmente se adsorbe físicamente de manera que es posible la retención de CO ₂ de forma permanente.
Fijación fotosintética	La captura y utilización de CO ₂ a través de microorganismos, capaces de realizar fotosíntesis oxigénica y fijar carbono en biomasa mediante el ciclo de Calvin-Benson, creciendo bajo condiciones ambientales controladas.

2 Marco Teórico

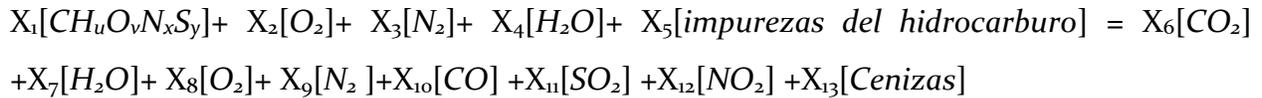
2.1 Gases de combustión

2.1.1 Generalidades

Las emisiones antropogénicas de CO₂ se generan principalmente por la quema de combustibles fósiles y carbón, a estas emisiones se les conoce como gases de combustión.

La reacción de combustión más idealizada considera como combustible a un hidrocarburo (HC) y como comburente al oxígeno (O₂), de la cual se derivan como productos CO₂ y agua.

De acuerdo con Martínez (1992), la reacción de combustión de un hidrocarburo se puede representar, de manera general, por la Ecuación 1.



Ecuación 1

Las constantes X_i son los coeficientes estequiométricos, los cuales dependerán de las condiciones iniciales y la cámara de combustión, aunque generalmente se basan en una mol del combustible, $CH_uO_vN_xS_y$, (Martínez, 1992).

El nitrógeno molecular (N_2), es el componente más abundante en la atmósfera ($\approx 78\%$ v/v), por lo que también representa el constituyente más abundante de los gases de combustión que se producen durante una combustión típica (Martínez, 1992).

En la actualidad se emplean comúnmente dos tipos de combustión: i) la combustión típica que se realiza con oxígeno atmosférico, y ii) la oxi-combustión que se realiza mediante la inyección de oxígeno prácticamente (Songolzadeh *et al.*, 2014).

2.1.2 Composición

El CO_2 es el principal constituyente de los gases de combustión debido al efecto conjunto de su concentración y a su potencial de calentamiento global (GWP) IPCC, 2014. La concentración del CO_2 en los gases de combustión varía dependiendo del tipo de combustible a partir del cual se hayan originado, en la Tabla 2 se muestra la concentración de CO_2 en los gases de combustión, de los combustibles más comunes en la actualidad.

Tabla 2. Concentración de CO₂ de los gases de combustión según el combustible de origen.

Combustible	Concentración de CO ₂ (% v/v)
Gas natural	3 a 5
Carbón	12 al 15
Diésel	12 al 15

Elaborada a partir de Songolzadeh *et al.* (2014).

Como se muestra en la Ecuación 1, una combustión tradicional (con aire) con un hidrocarburo además del CO₂ y vapor de agua contiene diversos óxidos de nitrógeno (NO_x), óxidos de azufre (SO_x), e incluso la reacción puede ser más compleja dependiendo el tipo de combustible empleado (González, 2015). En algunos casos también puede contener metales tales como el níquel (Ni), vanadio (V) y mercurio (Hg) y algunos compuestos orgánicos volátiles (COVs) como tolueno, benceno, etilbenceno, m-xileno, p-xileno, principalmente. En el caso del en el caso de carbón, incluso puede contener metales pesados como mercurio y plomo.

En la Tabla 3 se muestran las concentraciones típicas de los contaminantes más comunes, presentes en los gases de combustión, originados a partir de la quema de combustibles fósiles y carbón (Stepan, 2002).

Tabla 3. Compuestos de importancia en los gases de combustión, elaborada a partir de Stepan *et al.*, (2002).

Compuesto	Concentración
SO _x	200 ppm _v - 400 ppm _v
NO _x	120 ppm _v - 400 ppm _v
Cenizas	Hasta 10% peso

Para el caso de los combustibles líquidos y gaseosos, la humedad y cenizas son despreciables mientras que la combustión de carbón comúnmente emite gases de combustión con $\approx 5\%$ peso de humedad y hasta un 10% (p/p) de cenizas (Martínez, 1992).

2.1.3 Temperatura y presión

Cuando los gases de combustión son generados tienen temperaturas cercanas superiores a los 100 °C, una vez que los gases de combustión (combustión típica) salen de las chimeneas alcanzan temperaturas cercanas a los 127 °C, eventualmente la temperatura puede descender hasta alcanzar el equilibrio con la temperatura del ambiente. Mientras que las presiones de los gases de combustión son las presiones atmosféricas (Songolzadeh *et al.*, 2014).

En la Tabla 4 se muestra las condiciones y composiciones típicas de los gases de combustión originados a partir de la quema de carbón en una planta de generación de energía.

Tabla 4. Condiciones y composiciones representativas del gas de combustión emitido en una planta de generación energía, elaborada a partir de Stepan *et al.*, (2002).

	Temperatura (° C)	CO ₂ % (v/v)	O ₂ % (v/v)	SO ₂ (ppm _v)	NO _x (ppm _v)
Promedio	115.3	12.1	5.5	422.9	123.6
Alto	122.2	12.4	6.6	450.5	142.4
Bajo	109.1	11.8	4.7	399.3	106.2

2.1.4 Condiciones representativas de los gases de combustión

El presente trabajo se enfoca en el tratamiento de gases de combustión, originados a partir de una combustión típica. De acuerdo Songolzadeh *et al.*, (2014) para el tratamiento de los gases de combustión es necesario tomar en cuenta las siguientes características o condiciones de estado:

1. Composición
2. Temperatura
3. Presión

En el presente trabajo se denominará “condiciones representativas de los gases de combustión” a mezclas con concentraciones de CO₂ típicas de los gases de combustión (3 y 15 % v/v), a presión atmosféricas y en temperaturas de 35-40°C.

2.2 Tratamiento biológico de emisiones de CO₂

2.2.1 Generalidades de las microalgas

Las microalgas son organismos fotosintéticos que tienen una gran capacidad para fijar CO₂ pues, son hasta 50 veces más eficientes que las plantas terrestres (Cheng *et al.*, 2013; Lam *et*

al., 2012). Aunque el “**término microalga**”, no pertenece formalmente a la taxonomía pues hace referencia a un grupo de organismos polifiléticos (historia y linaje evolutivo diferente), este término hace referencia a organismos fotosintéticos, microscópicos, que de manera general miden entre 2 a 50 μm sin embargo, su tamaño puede variar en función de la especie (Barsanti y Gualtieri , 2014). Por lo que en este trabajo el termino microalga hará referencia a cianobacterias y clorófitas.

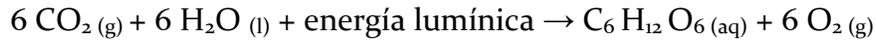
Adicionalmente las microalgas tienen alta productividad de biomasa, acumulan lípidos, generan productos de valor agregado como pigmentos y carotenos, estos últimos son precursores de terpenos por lo que tiene valor nutricional.

Debido a su “**capacidades cinéticas**” (tasa de fijación de carbono, tasa específica de crecimiento y productividad), las microalgas son empleadas en diversas tecnologías para la remoción de CO_2 proveniente de diversas corrientes por ejemplo: i) en el enriquecimiento de biogás que tiene un alto contenido de CO_2 , entre 15 hasta 55% (v/v) (Franco-Morgado *et al.*, 2017); ii) el tratamiento conjunto de emisiones de CO_2 y agua residual (Kumar *et al.*, 2019); iii) la captura de carbono para la obtención de precursores biodiésel como lípidos (Aslam *et al.*, 2017); iv) el tratamiento de gases de combustión con la generación de biomasa (Songolzadeh *et al.*, 2014)

Actualmente el término microalga se encuentra estrechamente ligado al desarrollo biotecnológico, por lo que se hace referencia a “**microalgas comerciales**” para referirse a cepas que se desarrollan óptimamente en temperaturas cercanas a los 25°C y se cultivan con la finalidad de obtener biomasa valorizada y /o compuestos de valor agregado, además estas cepas no son capaces de sobrevivir en temperaturas $\geq 40^\circ\text{C}$ (Béchet *et al.*, 2010; Ras *et al.*, 2013).

La fotosíntesis oxigénica es un proceso bioquímico, mediante el cual algunos organismos tienen la capacidad de utilizar a la luz como fuente de energía primaria para luego sintetizar compuestos orgánicos como glucosa a partir de carbono inorgánico, con la producción simultánea de oxígeno molecular (Campbell y Jane, 2007).

De manera general, la fotosíntesis oxigénica puede definirse con la Ecuación 2:



Ecuación 2

En el presente trabajo se hará referencia a la fotosíntesis oxigénica, simplemente como fotosíntesis. Durante la fotosíntesis se oxida el agua (H_2O) y se libera oxígeno molecular (O_2) a este proceso se le denomina fotosíntesis oxigénica (Campbell y Jane, 2007), a continuación, se le denominará simplemente fotosíntesis.

La fotosíntesis se lleva a cabo en dos etapas:

- 1) Las reacciones dependientes de la luz (fotosíntesis), donde se obtiene la energía primaria.
- 2) Las reacciones conocidas como ciclo de Calvin- Benson, en donde se genera carbono orgánico (Campbell y Jane, 2007).

2.2.2 Radiación fotosintéticamente activa (PAR)

La luz es la fuente primaria de energía para las microalgas por lo que, la disponibilidad de energía lumínica tiene un efecto directo en las “**capacidades cinéticas**” (la tasa de fijación de carbono, tasa específica de crecimiento y la productividad) de las microalgas. La disponibilidad de la luz también tiene un efecto en los rendimientos (biomasa/carbono), así como la composición de la biomasa (Zhang, 2015).

Los organismos fotosintéticos como las microalgas requieren de la luz, que corresponde a las longitudes de onda entre 400 - 700 nm, a este rango se le ha denominado radiación fotosintéticamente activa (**PAR** por sus siglas en inglés). Este concepto se debe a que sólo la energía que tienen los fotones de dicha región espectral se puede convertir en energía química a través de los procesos de fotosíntesis de las plantas y microalgas. PAR se puede expresar en términos de irradiancia solar en el rango espectral arriba citado (W m^{-2}), o de manera común para los cultivos de microalgas, se expresa como en flujo de fotones fotosintéticos ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Sun et al., 2017).

2.2.3 Nutrición de las microalgas

El carbono es el elemento más importante en la nutrición de las microalgas. Se estima que la biomasa seca de las microalgas contiene aproximadamente el 50% (p/p) de carbono derivado de la fijación de CO₂ (Lam *et al.*, 2012), también se ha reportado que aproximadamente por cada 1 kg de biomasa de microalgas producida se fijan 1.83 kg de CO₂ (Chisti, 2007; Jiang *et al.*, 2013).

La biomasa de las microalgas contiene tres veces más nutrientes que la biomasa de las plantas terrestres debido a que, su contenido en celulosa es menor, por lo que los cultivos de microalgas requieren mayor demanda de nutrientes incluso que los cultivos agrícolas (Markou *et al.*, 2014).

Las microalgas requieren nutrientes esenciales conocidos como macronutrientes (C, N, P, S, K) que son indispensables para el desarrollo y crecimiento celular así que, la deficiencia de alguno de estos nutrientes conducirá a la reducción celular, por lo tanto, los macronutrientes deben estar presentes en el medio de cultivo en forma biodisponible y en proporciones adecuadas (Markou *et al.*, 2014).

Para suplir las concentraciones adecuadas de nutrientes se considera una composición elemental de la biomasa: C₁₀₆: N₁₆: P₁, que ha sido ampliamente aceptada y reportada (Bahr *et al.*, 2013).

Las microalgas también requieren algunos elementos en concentraciones traza denominados micronutrientes; sin embargo, su disponibilidad en el medio de cultivo es necesaria para el crecimiento de las microalgas. Los micronutrientes esenciales son: Mg, S, Ca, Na, Cl, Fe, Zn, Cu, Mo, Mn, B y Co. El agua residual así como el agua de mar son buenas fuentes para la mayoría de estos micronutrientes (Markou *et al.*, 2014).

2.2.4 Efecto de los gases de combustión sobre las microalgas

Estudios previos (con la misma concentración de CO₂) demuestran que la inyección de gases de combustión en cultivos de microalgas puede incrementar la productividad de la

biomasa hasta en un 30% respecto la inyección de CO₂ puro, posiblemente este efecto se deba a la presencia de nitrógeno y azufre presentes en los gases de combustión (Sayre, 2010).

Actualmente en muchos de los cultivos a gran escala de microalgas se emplean mezclas comerciales de CO₂ y su precio puede representar entre el 8% - 27% del costo del cultivo, por lo que emplear CO₂ a partir de gases de combustión para el cultivo de microalgas es una opción viable económica pues reduciría los costos asociados al suministro de CO₂ y ambientalmente pues es una tecnología de captura de carbono (Yen *et al.*, 2015).

En la Tabla 5 se muestran diferentes productividades de microalgas obtenidas a partir de concentraciones de CO₂ típicas de gases de combustión. También se puede observar como el tipo de operación de los fotobiorreactores afecta directamente la producción de biomasa y fijación de carbono. Como se ha mencionado antes, un factor importante para elegir el tipo de microalga es la tolerancia que ésta presenta a las concentraciones de CO₂ (Cheah *et al.*, 2015).

Tabla 5. Productividades de diferentes microalgas creciendo con concentraciones de CO₂ de los gases de combustión.

Cepa	Flujo de Gas (vvm)	CO ₂ v/v (%)	Sistema de Cultivo	T (°C)	Productividad (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	P _{CO₂} (mgL ⁻¹ d ⁻¹)	Referencia
<i>Chlorella</i> sp.	15	0.83	Matraces (lote)	45	106	--	Maeda <i>et al.</i> , (1995)
<i>Chlorella</i> sp.	15	0.83	Matraces (lote)	30	90	--	
<i>Chlorella</i> sp. KR-1	15	0.5	Botes (Lote)	25	108	204	Lee <i>et al.</i> , (2002)
<i>Euglena gracilis</i>	10	0.03	Columna de burbujeo (semi-continuo)	28	214	114	Chae <i>et al.</i> , (2006)
<i>Aphanothece microscopica</i>	15	1.0	Columna de burbujeo (lote)	35	769	1446	Schenk <i>et al.</i> , (2008)
<i>Spirulina</i> sp.	12	0.3	Columna de burbujeo	30	200	376	Morrais y Acosta (2007)

vvm: volumen de aire por volumen de líquido por minuto.

P_{CO₂}: Tasa fijación CO₂ (mgL⁻¹d⁻¹)

2.2.5 Efecto de la temperatura en el cultivo de microalgas

López- Sandoval *et al.*, (2016), clasificaron a los microorganismos, basándose en el intervalo de temperatura que pueden tolerar de la siguiente manera: psicrófilos (-7 a 18 °C), mesófilos (9 a 48 °C), **termófilos (39 a 73 °C)** y extremófilos (65 a 110 °C).

Sin embargo, hay que considerar que la temperatura óptima para que lleve a cabo la fotosíntesis se encuentra entre 25°C - 35°C de manera general (Barsanti y Gualtieri, 2014; Ras *et al.*, 2013), lo cual explica porque la mayor diversidad de microalgas acuáticas se presente entre los 20- 30°C (mesófilas), mientras que la diversidad disminuye drásticamente a partir de los 40°C (termófilas). Incluso está reportado que el límite máximo de temperatura para las microalgas eucariontes oscila alrededor de los 40°C, mientras que de manera excepcional algunas cianobacterias pueden desarrollarse hasta los 60°C por lo que se les considera extremófilas, tales como: *Oedogonium sp*, *Mougeotia sp*, *Spirogyra sp.*, *Ulothrix sp.*, *Closterium sp.* (Sandoval *et al.*, 2016).

Aunque las temperaturas óptimas de crecimiento de las microalgas están asociadas a las condiciones ambientales de su lugar de origen, así como las características intrínsecas de la especie, las temperaturas elevadas por encima de su punto óptimo de crecimiento, son más perjudiciales incluso que las bajas temperaturas tanto para las microalgas mesófilas como para las termófilas (Ras *et al.*, 2013).

Algunas microalgas como *Microcystis aeruginosa* y *Scenedesmus acutus*, expuestas al incremento de temperatura, aumentaron su tasa de respiración y por ende se redujo su tamaño celular. Lo que sugiere que la reducción en el tamaño celular podría ser una respuesta para contrarrestar el desequilibrio entre los procesos catabólicos y anabólicos debidos al incremento de temperatura (Ras *et al.*, 2013).

Otros efectos comunes que resultan del incremento de la temperatura son la desnaturalización, inactivación o modificación de las proteínas involucradas en los procesos fotosintéticos, por ejemplo, un desequilibrio entre el suministro y consumo de energía debido a cambios ambientales por temperatura puede modificar del complejo enzimático ribulosa 1, 5 bifosfato (RuBisCO), a este fenómeno se le conoce como aclimatación a la temperatura fotosintética (Ras *et al.*, 2013).

La enzima RuBisCO cataliza dos vías metabólicas competitivas: la fotosíntesis y la fotorrespiración pues tiene una doble actividad enzimática, para funcionar como carboxilasa u oxigenasa (Staehr y Birkeland, 2006).

En las microalgas el efecto más común observado en altas temperaturas es la inhibición de los fotosistemas I y II, como resultado se generan radicales del oxígeno (moléculas que pertenecen a al grupo de las especies reactivas del oxígeno, por sus siglas en inglés ROS), que causan desequilibrios en la membrana, así como daños en compuestos bioquímicos por ejemplo la peroxidación de ácidos grasos dentro de la célula (Ras *et al.*, 2013).

Las microalgas se caracterizan por tener una plasticidad genética que les permite adaptarse a condiciones desfavorables ante el incremento de temperatura (Ras *et al.*, 2013). Se desarrolló un estudio en el que *Scenedesmus intermedius*, colectada en aguas continentales pudo adaptarse a 30°C después de 15 generaciones, a 35°C después de 30 generaciones y finalmente la microalga logró adaptarse a 40°C después de 135 generaciones (Huertas *et al.*, 2011).

2.3 Absorción de CO₂

La principal limitación para suministrar CO₂ a las microalgas se encuentra en primera instancia a la absorción del CO₂ en el medio de cultivo ya que la biodisponibilidad de carbono es un factor limitante para el crecimiento de las microalgas (Pires *et al.*, 2012; Stepan, 2002).

La solubilidad de los gases disminuye inversamente proporcional al incremento de la temperatura, por lo tanto, la temperatura de los gases de combustión condicionará la solubilidad (Pires *et al.*, 2012; Stepan, 2002).

Una vez que se logra solubilizar el CO₂ en el medio de cultivo, las altas concentraciones de CO₂ pueden generar un descenso en el pH, limitando o incluso inhibiendo el crecimiento de las microalgas (Pires *et al.*, 2012; Stepan, 2002).

Aunque el CO₂ es el principal componente de los gases de combustión deben considerarse a los SO_x y NO_x por su efecto perjudicial en la atmósfera. En la **Tabla 6** se muestran las constantes de la ley de Henry para los principales componentes de un gas de combustión bajo diferentes temperaturas.

Tabla 6. Constantes de la ley de Henry para los principales componentes de los gases de combustión bajo diferentes temperaturas, elaborada a partir de (Stepan, 2002).

Gas	Temperatura (°C)	Constante de Henry H ^t
Dióxido de carbono (CO ₂)	0	1.71
	20	0.87
	60	0.35
Dióxido de azufre (SO ₂)	0	79.78
	20	39.37
	60	18.76
Óxido de nitrógeno (NO)	0	0.073
	20	0.05
	60	0.295

H^t= Concentración Acuosa / Concentración del gas; (adimensional). Para más detalles consultar Sander, (2015).

Los valores en la Tabla 6 se reportan para la solubilidad de cada compuesto sin la interferencia del resto de gases de los que componen la mezcla del gas de combustión. Por otro lado, a medida que los gases contenidos en las emisiones de combustión reaccionan con el agua y oxígeno, éstas forman nuevas especies químicas, lo que puede modificar la solubilidad real de los gases.

El centro de investigación de energía y medio ambiente de los Estados Unidos evaluó la solubilidad combinada de los principales compuestos de los gases de combustión en condiciones de presión y temperatura estándar (0°C y 1 Atm de presión), a través del programa FacAct. Se simuló el gas de combustión de una planta de energía (que emplea carbón) en contacto con medio de cultivo para microalgas Bold Basal (BBM). El programa

también estimó la concentración de todas las especies presentes en el gas de combustión (vapor, cenizas, CO₂, O₂, SO₂, NO_x y N₂), basándose en la química de las cenizas de carbón de la central eléctrica de Dakota del Norte, EUA (Stepan, 2002).

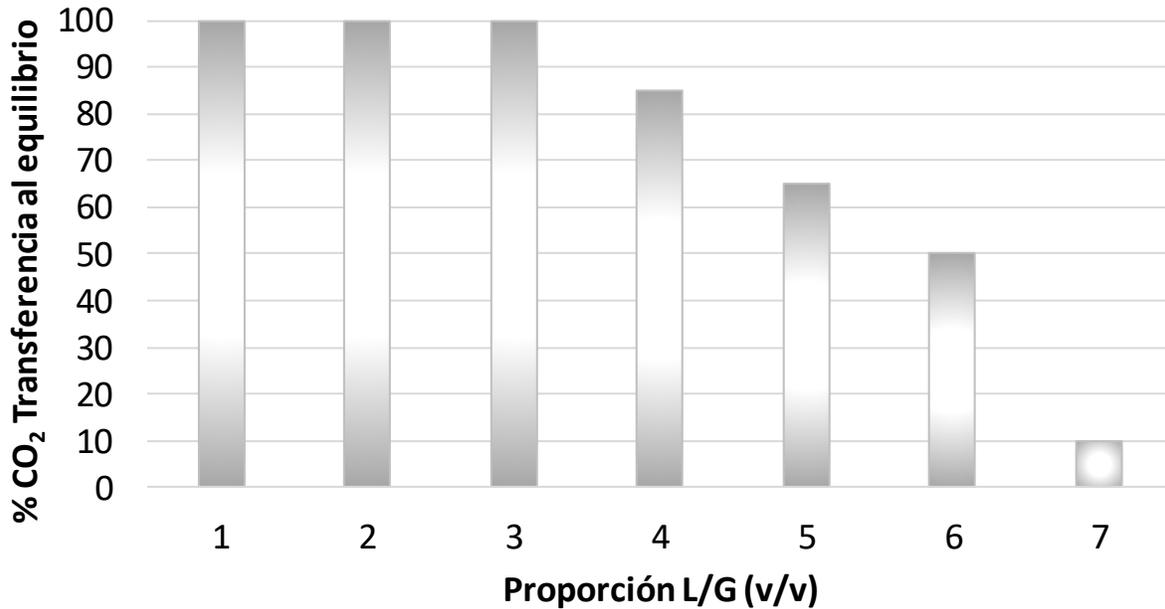


Figura 1. Simulación de la solubilidad de un gas de combustión en BBM (Stepan, 2002).

Como se muestra en la Figura 1 el modelo predijo que se requiere una relación inferior a 3:1 gas-líquido (v/v) para obtener una transferencia de masa de CO₂ al medio de cultivo del 100%, además con esta relación 3:1 el O₂, SO₂ y NO_x están también en solución (Stepan, 2002). El modelo también predijo que bajo dichas condiciones en la relación gas-líquido 6:1 habría un 50% de transferencia de masa del CO₂ al líquido. Mientras que en una relación 12:1 solamente el 10% del gas de combustión se solubilizaría (Stepan, 2002).

2.4 Crecimiento de microalgas en fotobiorreactor de tanque agitado

Para el caso de los microorganismos, el crecimiento celular se define como el aumento de los constituyentes celulares reflejados en el incremento en el número de células para el caso de los microorganismos que se multiplican por fisión binaria y gemación, mientras que para los microorganismos cenocíticos presentan un incremento de tamaño sin tener un incremento en el número de células.

El crecimiento celular requiere el aporte de energía que se suministra través de sustratos (medios de cultivo y luz en el caso de los procesos fotosintéticos), para que se lleve a cabo la síntesis de material celular para crecimiento y generación de metabolitos, por lo que se requieren estar biodisponibles todos los elementos necesarios para la formación de material celular adicional (Casablanca *et al.*, 1998).

Los procesos de crecimiento celular obedecen las leyes de conservación de la materia por lo tanto es posible cuantificar los nutrientes requeridos para el crecimiento celular, la formación de productos derivados del crecimiento celular (metabolitos), entonces es posible la aplicación de balances de materia (Casablanca *et al.*, 1998).

En los balances de masas y modelos matemáticos no es posible considerar todos los componentes del medio de cultivo, por lo que se consideran sólo los nutrientes de interés, capaces de limitar el crecimiento celular (sustrato limitante).

En el caso particular de los organismos fotosintéticos la luz, es la fuente primaria de energía por lo que su disponibilidad, tiene un efecto directo en el crecimiento en este sentido la luz se puede considerar un sustrato limitante (Zhang, 2015). Para el caso de los sustratos limitantes se utilizan las correspondientes reacciones metabólicas cuyas relaciones molares se representan en ecuaciones estequiométricas (Casablanca *et al.*, 1998). Como se ha mencionado en la sección 2.2.3 Nutrición, el carbono es el elemento más importante en la nutrición de las microalgas pues la biomasa seca contiene alrededor de 50% (p/p) de carbono derivado de CO₂ (Lam *et al.*, 2012).

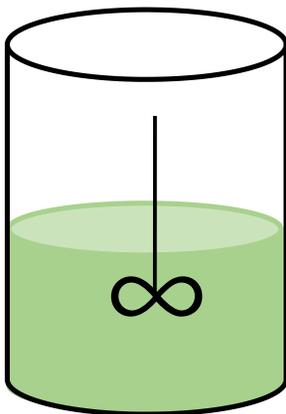
Para estudiar a una población de microorganismos como a las microalgas de manera práctica se considera que todas las células son homogéneas y se comportan de la misma forma, es decir, que la población se considera como un sistema no estructurado y no segregado. De esta forma se pueden emplear modelos que describen la velocidad de reacción biológica como el Modelo de Monod, en el que se asume que a pesar de que se necesitan muchos sustratos sólo uno será limitante para la producción de biomasa (Dunn *et al.*, 2003; Casablanca *et al.*, 1998).

En general, cuando se hacen estudios cinéticos de una población celular, estos se realizan en tanques agitados y los regímenes de alimentación son tres: 1) cultivo en lote, 2) cultivo lote alimentado, 3) cultivo continuo.

2.4.1 Cultivo discontinuo o lote

Al inicio del cultivo se coloca medio nutritivo en el fotobiorreactor y se inocula con el microorganismo en cuestión. Posteriormente, no hay renovación del medio de cultivo por lo que alguno de los nutrientes eventualmente se agota y habrá una limitación por sustrato. Por ejemplo, en los cultivos de microalgas el incremento de biomasa reduce la disponibilidad de la luz. Por otro lado, bajo este régimen también puede ocurrir la acumulación de algún producto tóxico, que ha sido producido derivado del metabolismo de los propios microorganismos como se ejemplifica en la Figura 2.

En este caso los términos de entrada y salida del material son nulos por lo que el balance de biomasa general se puede expresar como en la Ecuación 3 de acuerdo con Dunn *et al.*, 2003; Casablanco *et al.*, 1998).



$$\{Acumulación\} = \left\{ \begin{array}{l} \text{Generación por} \\ \text{reacción bioquímica} \end{array} \right\}$$

Ecuación 3

Figura 2. Cultivo en lote

Un modelo ampliamente usado para describir la velocidad de crecimiento celular en función de un sustrato limitante es la ecuación empírica de Monod, y ésta última se incluye en el balance general como lo indica la Ecuación 4.

$$\frac{dX}{dt} = \mu * X = \frac{\mu_{max} * S * X}{K_s + S}$$

$$t=0 \quad X=0$$

Ecuación 4

X: Biomasa (g L⁻¹)

S: Sustrato (g L⁻¹)

μ: Tasa específica de crecimiento (d⁻¹)

μ_{max}: Tasa específica de crecimiento máxima (d⁻¹)

K_s: Constante de afinidad por el sustrato (g L⁻¹)

Donde μ puede ser μ_{max} cuando el cultivo registra S >> K_s.

Aplicando el balance al sustrato en un reactor con volumen constante la velocidad de consumo del sustrato $\left(\frac{dS}{dt}\right)$, dependerá de dos factores, si el sustrato es usado para crecimiento (Y_{S/X}), o para la formación de productos (Y_{S/P}). La Ecuación 5 muestra el balance correspondiente, donde el signo negativo indica que el sustrato desaparece con el tiempo.

Balance de Sustrato

$$-\frac{dS}{dt} = \mu * X * Y_{S/X} + r_P * Y_{S/P}$$

Ecuación 5

S: Sustrato (g L⁻¹)

Y_{S/X}: Rendimiento Sustrato/Biomasa (g g⁻¹)

Y_{S/P}: Rendimiento Sustrato/Producto (g g⁻¹)

r_P: Tasa de generación de producto (g L⁻¹ d⁻¹)

2.4.2 Cultivo lote alimentado

En este caso el medio de cultivo se alimenta en cargas sucesivas ya sea de forma cíclica o continua sin que haya una salida del producto, así que, el volumen del medio de reacción

varía a lo largo del proceso (Figura 3). Esta configuración permite modificar las concentraciones de los sustratos y nutrientes con el objetivo de añadir el sustrato a medida que se consume para, permitir determinadas velocidades de reacción, de esta forma se minimiza la inhibición del crecimiento microbiano debido al producto o bien cuando hay inhibición por sustrato. A continuación en la Ecuación 6 se presenta el balance de masa, que aplica tanto a la biomasa como al sustrato/producto:

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{Tasa de} \\ \text{Acumulación} \end{array} \right\} = \left\{ \begin{array}{l} \text{Tasa de Alimentación} \\ \text{de especie} \end{array} \right\} \mp \left\{ \begin{array}{l} \text{Tasa de transformación} \\ \text{de especie} \end{array} \right\} \quad \text{Ecuación 6}$$

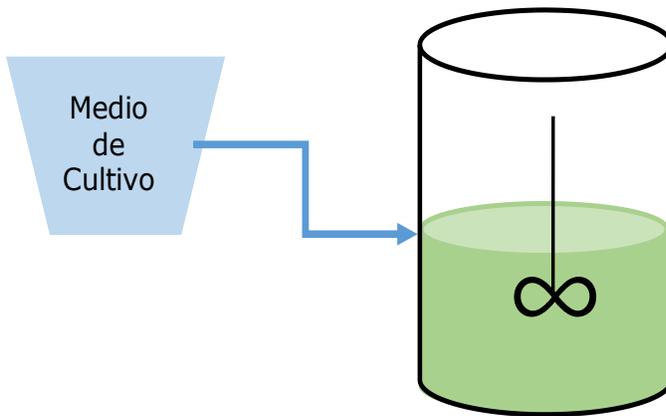


Figura 3. Cultivo discontinuo alimentado

De manera general, el medio de cultivo alimentado debe estar estéril, además se considera que el medio de cultivo de entrada, tiene la misma densidad que el medio de cultivo presente en el biorreactor. Si se considera que la densidad del fluido en la corriente de entrada es igual a la del biorreactor, se puede establecer que la variación de volumen en el tiempo será igual al caudal alimentado y por lo tanto el balance general se describe con la Ecuación 7.

$$\frac{dC_i}{dt} = \frac{Q_e}{V} (C_{e,i} - C_i) \mp r_i$$

$$t=0; C=C_i$$

Ecuación 7

Q_e: Caudal de alimentación (L h⁻¹)

C_i: Concentración de especie i (g L⁻¹)

C_{e,i}: Concentración de especie i a la entrada del sistema (g L⁻¹)

ri: Velocidad global del proceso referida a la especie i (mg L⁻¹ d⁻¹)

Balance de Biomasa (X) considerando una entrada inerte

$$\frac{dX}{dt} = \mu * X - \frac{Qe}{V} * X$$

t=0; X=X0

Ecuación 8

Balance de Sustrato (S)

$$\frac{dS}{dt} = \frac{Qe}{V} (Se - S) - \frac{1}{Y_{x/s}} * \mu * X$$

t=0; S=S0

Ecuación 9

Se: Sustrato en la corriente de alimentación (g L⁻¹)

2.4.3 Cultivo continuo

De acuerdo con Casablancas *et al.*, (1998) el biorreactor tiene una entrada y una salida. En este régimen de alimentación, se suministra el medio de cultivo que generalmente es estéril mientras que la corriente de salida tiene la misma composición que el interior del biorreactor. La entrada y la salida tienen el mismo caudal así que el biorreactor mantiene un volumen constante como se muestra en la Figura 4, por lo que, una vez que se han fijado las condiciones de operación las células alcanzarán un determinado estado estacionario en consecuencia es posible mantener a las células en un estado definido y reproducible (si se cumple con la Ecuación 11), sin embargo, los experimentos en continuo requieren un mayor tiempo de ejecución para generar el estado estacionario. Los cultivos en continuo son más susceptibles a contaminación que los cultivos discontinuos. De acuerdo con Duun *et al.*,

(2003), en la Ecuación 10 se presenta el balance de masa considerando un estado estacionario:

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{tasa de flujo másico} \\ \text{que entra al sistema} \end{array} \right\} = \left\{ \begin{array}{l} \text{tasa de flujo másico} \\ \text{a la salida del sistema} \end{array} \right\} \mp \left\{ \begin{array}{l} \text{tasa de transformación en} \\ \text{el sistema} \end{array} \right\}$$

Ecuación 10

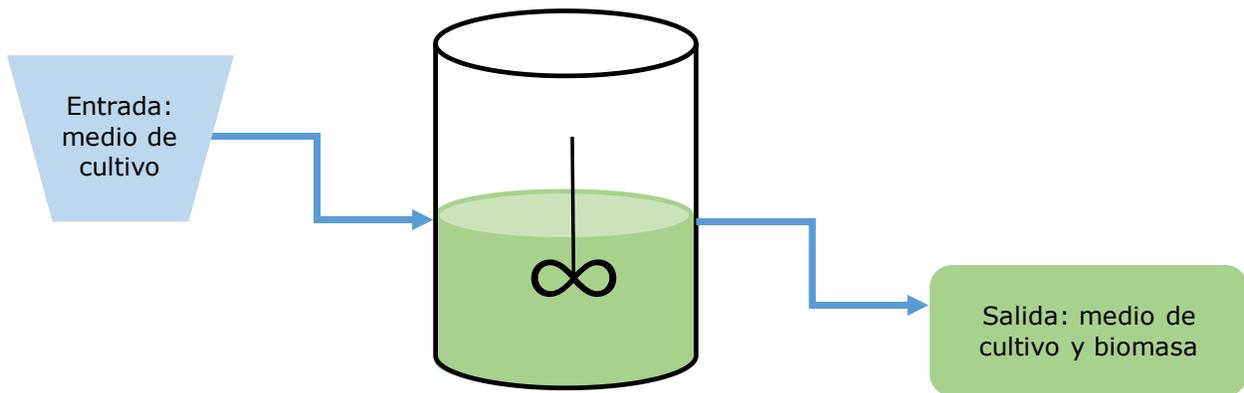


Figura 4. Cultivo continuo.

Dado que en la mayoría de los casos el biorreactor se alimenta con una solución estéril ($X_e=0$) se obtiene la condición de estado estacionario y se expresa con la Ecuación 11.

$$\mu = D$$

D: tasa de dilución (d^{-1})

Ecuación 11

De manera general y de acuerdo con Casablancas *et al.*, (1998) el producto en la corriente de entrada es nulo ($P_e=0$), por lo que introduciendo el cociente entre el producto obtenido y el crecimiento microbiano ($Y_{P/X}$), denominado rendimiento, se obtiene la Ecuación 12 que relaciona la productividad global (r_p) con la tasa específica de crecimiento;

$$r_p = D * P = Y_{P/X} * \mu * X$$

r_p : Productividad de metabolito ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)
 $Y_{P/X}$: Rendimiento producto/biomasa (mg/mg)
 P : Producto (mg L^{-1})

Si se considera el crecimiento microbiano definido de acuerdo con la cinética de Monod en un quimiostato en estado estacionario, los balances de biomasa, sustrato y producto en un biorreactor se pueden describir mediante las ecuaciones: Ecuación 13, Ecuación 14 y Ecuación 15 de acuerdo con Casablancas *et al.*, (1998).

Biomasa (X)

$$X = Y_{X/S} * \left[S_e - \frac{D * K_S}{\mu_{\text{máx}} - D} \right]$$

Ecuación 13

Sustrato (S)

$$S = \frac{D * K_S}{\mu_{\text{máx}} - D}$$

Ecuación 14

Producto (P)

$$P = Y_{P/X} * X$$

Ecuación 15

Balances de masa dinámicos o estado no estacionario (transitorio):

Los biorreactores tienen diversas aplicaciones por lo que, las condiciones pueden cambiar con el tiempo, en estas circunstancias un balance de masa en estado estacionario es inadecuado así que, debe ser reemplazado por un balance de masa en estado dinámico, que se puede expresar de acuerdo con la Ecuación 16.

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{tasa de} \\ \text{acumulación} \\ \text{de masa en} \\ \text{el sistema} \end{array} \right\} = \left\{ \begin{array}{l} \text{tasa de flujo} \\ \text{másico} \\ \text{de entrada} \\ \text{al sistema} \end{array} \right\} - \left\{ \begin{array}{l} \text{tasa de flujo} \\ \text{másico} \\ \text{a la salida del} \\ \text{sistema} \end{array} \right\} \mp \left\{ \begin{array}{l} \text{tasa de} \\ \text{transformación} \\ \text{en} \\ \text{el sistema} \end{array} \right\}$$

Ecuación 16

Si el biorreactor opera en un régimen no estacionario es necesario introducir el término de acumulación para los balances de materia que se presentan en las siguientes ecuaciones (Ecuación 17, Ecuación 18 y Ecuación 19) de acuerdo con Casablanca *et al.*, (1998).

Biomasa (X)

$$\frac{dX}{dt} = -D * (X) + \mu * X$$

$$t=0; X=X_0$$

Ecuación 17

Sustrato (S)

$$\frac{dS}{dt} = D * (S_e - S) - X \left[\frac{\mu}{Y_{X/S}} \right] - \frac{r_p}{Y_{p/S}}$$

$$t=0; S=S_0$$

Ecuación 18

Producto (P)

$$\frac{dP}{dt} = -D * P + r_p$$

$$t=0; P=P_0$$

Ecuación 19

3 Antecedentes

Anbalagan *et al.* (2017) reportaron el tratamiento simultáneo de CO₂ y tolueno, simulando un gas combustión de un motor diésel de combustión interna, (4 pistones, cetano 45 que es el más común en los automóviles de la Unión Europea), a través de un consorcio de microalgas-bacterias en medio nutritivo. El tratamiento del gas de combustión (24% v/v de CO₂, 76% v/v de N₂ y 498 mg m⁻³ de tolueno), se realizó en un fotobiorreactor tubular acoplado a una columna de absorción vertical a temperaturas entre 27-30 °C, además emplearon diluciones de agua residual como fuente de nutrientes. De esta manera demostraron el potencial de un consorcio de microalgas y bacterias marinas para el tratamiento simultáneo de CO₂ y COVs (tolueno). El O₂ generado por las microalgas fue suficiente para mantener el crecimiento de las bacterias, que oxidaron el tolueno. Además, demostraron que las diluciones de agua residual son una fuente de nutrientes capaz de soportar el crecimiento del consorcio alga-bacteria a un bajo costo. Concluyeron que para una columna de absorción acoplada al fotobiorreactor tubular se debe aplicar una relación L/G óptima ≈ 15 , donde se registraron eficiencias de remoción de hasta del 95% de CO₂ y 89 % para el tolueno con una productividad de la biomasa de 42 mg L⁻¹d⁻¹.

Anbalagan *et al.*, (2017) reportaron su configuración de fotobiorreactor tubular en plexiglás, que incluye una columna de absorción, y una cámara de mezclado. Esta configuración demostró ser adecuada para el tratamiento de gases de combustión, pues la columna de absorción con una proporción L/G ≈ 15 permitió incrementar la captura de CO₂ y por consiguiente la Px mejoró. Adicionalmente la cámara de mezclado promueve la desorción del oxígeno, que puede tener efectos negativos sobre la biomasa microalgal (como se ha comentado anteriormente). Sin embargo, a pesar de que se suministró PAR 1,767 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), de manera interna la intensidad luminosa fue de 270- 471 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Está reportado que la intensidad de la luz de saturación (I_s), para microalgas es cercana a 140-210 $\mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Kumar *et al.*, 2011; Zhang, 2015; Zhao y Su, 2014). La I_s de *Chlorella* sp. y es cercana a 200 $\mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Adicionalmente está reportado que un cultivo de microalgas con una concentración de 1.9 gL⁻¹ reduce la irradiancia externa alrededor de

33%, además el material del fotobiorreactor también reducirá la irradiancia (Cobos-Vasconcelos et al., 2016), en este sentido es necesario caracterizar la biomasa microalgal en condiciones de baja intensidad luminosa.

Béchet *et al.* (2010) reportaron un modelo que predice la temperatura del medio de cultivo de un fotobiorreactor de tipo columna en función de diferentes parámetros como la ubicación, geometría del reactor, irradiación de la luz. El modelo se basó en un balance de calor en la fase líquida y predijo que si dicho fotobiorreactor se opera en California (USA), en verano la temperatura podría exceder los 40°C, lo que representaría que ninguna cepa comercial de microalgas podría sobrevivir. De acuerdo a una proyección hecha en este trabajo se estableció que un fotobiorreactor a gran escala tendría que disipar 18,000 GJ año⁻¹ ha⁻¹ de energía térmica para mantener temperaturas por debajo de los 25°C, mientras que si la temperatura se mantuviera por debajo de los 35°C dicha energía térmica se reduce a 5,500 GJ año⁻¹ ha⁻¹. Lo anterior enfatiza la importancia de obtener y caracterizar cinéticamente a microalgas termófilas con la finalidad de reducir los costos de operación del tratamiento basado en microalgas de los gases de combustión.

Actualmente existen pocos trabajos de las capacidades cinéticas de las microalgas termófilas debido, a que de manera comercial son poco empleadas para la obtención de productos de valor agregado (Zhang, 2015).

Adicionalmente las microalgas termófilas, generalmente poseen capacidades cinéticas (P_x , P_{CO_2} y μ) más bajas que las microalgas mesófilas. Por un lado se piensa que se debe a parámetros fisicoquímicos, asociados a la disminución de la solubilidad del CO₂ en altas temperaturas, lo cual limita la transferencia de masa (CO₂) al medio de cultivo, lo cual podría condicionar el crecimiento de las microalgas. Por otra parte se piensa que las CCM de las microalgas termófilas son limitadas en altas concentraciones de CO₂ pues en ambientes naturales con altas temperaturas, generalmente habrá bajas concentraciones de CO₂; tomado en cuenta que la concentración atmosférica de CO₂ 0.0038% (v/v), aunado a la disminución de la solubilidad de los gases con el incremento de la temperatura. En otros términos se ha demostrado que en algunas cepas de microalgas la actividad de la enzima

anhidrasa carbónica, reduce su afinidad al CO₂ bajo altas temperaturas. (Cheah *et al.*, 2015; Vuppaladadiyam *et al.*, 2018; Zhao y Su, 2014).

Sin embargo, debido una capacidad fotosintética eficiente, la robustez de las células en condiciones adversas como actividades metabólicas complejas en altas temperaturas, la fijación de CO₂ y algunos casos de nitrógeno, son candidatas destacados para la producción de grandes cantidades de biomasa, deben explorarse más a fondo para diversas aplicaciones, como la producción de biocombustibles y otros bioquímicos de valor agregado (Patel *et al.*, 2019; Vuppaladadiyam *et al.*, 2018).

Citando textualmente a Patel *et al.*, (2019): <<Teniendo en cuenta todas las características positivas anteriores, no es de extrañar que las microalgas termófilas y las cianobacterias se consideren una “cámara del tesoro” para la investigación básica y para las aplicaciones biotecnológicas del futuro>>.

4 Justificación

El tratamiento de CO₂ contenido en gases de combustión mediante microalgas requiere un enfriamiento previo de la corriente gaseosa, lo que representa un incremento en los costos de operación asociados al alto consumo energético del proceso. Por lo tanto, es recomendable el empleo de microalgas termófilas con previa caracterización cinética de sus capacidades de fijación de CO₂ (crecimiento >35°C) bajo condiciones representativas del tratamiento de emisiones de gases de combustión.

5 Objetivos

5.1 Objetivo General:

Caracterizar cinéticamente el crecimiento de consorcios de microalgas termófilas en condiciones representativas del tratamiento de gases de combustión.

5.1.1 Objetivos Particulares:

- ✓ Colectar muestras en ambientes termales para obtención de consorcios de microalgas termófilas.
- ✓ Identificar taxonómicamente los consorcios de microalgas obtenidos de ambientes termales.
- ✓ Evaluar cinéticamente los consorcios de microalgas en temperaturas $\geq 35^{\circ}\text{C}$, concentración de CO_2 3-15% v/v, e intensidades luminosas PAR 35-130 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

6 Hipótesis

Los consorcios de microalgas termófilas serán capaces de fijar CO_2 en temperaturas superiores a los 35°C , con tasas específicas de crecimiento y productividades equiparables a las reportadas para microalgas comerciales.

7 Metodología

La metodología general de esta investigación se ha dividido en tres etapas experimentales, que se resumen en la Figura 5, posteriormente se detalla cada una de ellas.



Figura 5. Metodología General

7.1 *Colecta de microalgas*

7.1.1 Colecta de consorcios de microalgas termófilas

Para obtener los consorcios de microalgas termófilas (CMT), se realizó una estancia académica en la empresa Microalgas Óleas de México, S.A de C.V, Jalisco, México.

El muestreo se realizó en el Río Caliente ubicado en el Bosque de la Primavera, Zapopan, Jalisco. Debido a que el río presenta temperaturas en un rango de 25- 70°C en su cauce por el bosque de la Primavera, además cuenta con pozas termales con temperaturas alrededor de los 90°C (Díaz-Vera 2014). La Figura 6 hace referencia a la ubicación geográfica del bosque. Las muestras se tomaron en botellas de polietileno de alta densidad y tubos estériles Falcon™.

Se colectó en 6 puntos diferentes a lo largo del río, entorno a las coordenadas: 20° 40' 48.1" N; 103° 34' 37.8 W. Los puntos de muestreo tenían una profundidad de 10- 30 cm y una distancia aproximada de 50 m entre sí.

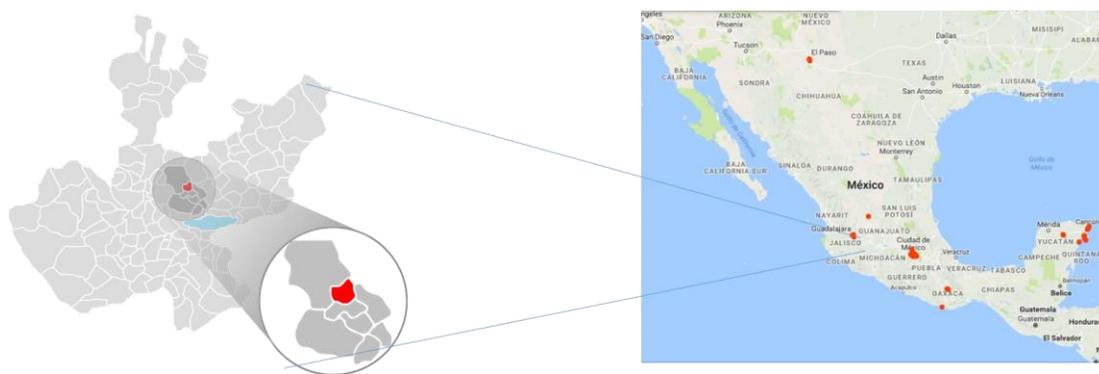


Figura 6. Ubicación del Bosque de la Primavera Jalisco, México.

7.1.1 Caracterización fisicoquímica del agua de colecta

Con una sonda multiparamétrica HANNA IH-9828, se obtuvieron *in situ* los siguientes parámetros: temperatura, conductividad, sólidos suspendidos totales, salinidad, oxígeno disuelto y pH. Además se colectó agua para realizar análisis (“kit” Viscolor ECO) de los siguientes parámetros:

- 1) Fosfatos 931-084
- 2) Nitratos 931-041
- 3) Hierro 931-225
- 4) Dureza total 931-014
- 5) Dureza de carbonatos 931-204

La Figura 7 indica el número de muestras de microalgas y agua colectada.

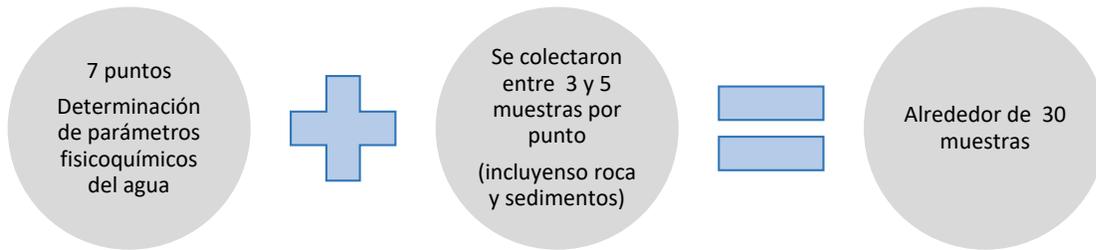


Figura 7. Muestras colectadas de microalgas termófilas.

7.1.2 Tratamiento de los consorcios colectados

Después de la colecta, los CMT en suspensión se sembraron en 25 mL de medio BG₁₁ y se colocaron en tubos Falcon™ de 50 mL. En el caso de CTM con morfología filamentosa, previo a la siembra en medio BG₁₁, se realizó una limpieza manual y con agua destilada para retirar sedimentos adheridos. Los cultivos se mantuvieron con iluminación de lámparas LED, a 50 PAR $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en ciclos de luz- oscuridad 12:12. A temperatura ambiente.

A continuación en la Tabla 7, se detalla la composición del medio de cultivo BG₁₁, modificado para evitar limitaciones de nitrógeno, fósforo y azufre con base a lo reportado por Franco-Morgado et al., (2017).

Tabla 7. Preparación de Medio BG 11 modificado

Soluciones Stock		Stock de metales traza	
Reactivo	Concentración [g/L]	Reactivo	Concentración [g/L]
CaCl ₂ *	36.0	H ₃ BO ₃	2.86
C ₆ H ₈ O ₇	6.0	MnCl ₂ *4H ₂ O	1.81
C ₆ H ₁₁ FeNO ₇	6.0	ZnSO ₄ *7H ₂ O	0.22
EDTA-Na ₂	1.0	Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O	0.39
Na ₂ S ₂ O ₃ *5 H ₂ O	49.8	CuSO ₄ *5H ₂ O	0.08
		Co(NO ₃) ₂ *6H ₂ O	0.05
Medio GB11 modificado			
Solución stock		Alícuotas [mL]	
NaNO ₃		2.10 [g/L]	
K ₂ HPO ₄		1.0 [g/L]	
MgSO ₄ *7 H ₂ O		1.4 [g/L]	
stock CaCl ₂ *2H ₂ O		1.0 mL	
stock C ₆ H ₈ O ₇		1.0 mL	
stock C ₆ H ₁₁ FeNO ₇		1.0 mL	
stock Na ₂ S ₂ O ₃ *5 H ₂ O		1.0 mL	
stock Metales traza		1.0 mL	
*Aforado a 1.0 L			

7.2 Adaptación y selección de los consorcios termófilos

7.2.1 Adaptación de los consorcios de microalgas

Una vez en el laboratorio de ingeniería ambiental (LIA) del Instituto de Ingeniería-UNAM, todos los cultivos CTM colectados en el Río Caliente, se resembraron cada mes, en medio BG11 modificado (ver Tabla 7), con 5.0 mL de inóculo y 20 mL de medio, en tubos Falcon™. Durante el primer mes después de la colecta, los cultivos permanecieron en tubos Falcon™ de 50 mL, periódicamente recibieron agitación manual, con iluminación LED luz blanca fría 50 PAR $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y en temperatura ambiente.

Posteriormente los CTM fueron los cultivados en una incubadora orbital Prendo INO 650 V, con iluminación LED a 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 120 rpm, durante un mes a 35°C, finalmente la temperatura se incrementó a 40°C (sin cambiar el resto de las condiciones de cultivo), los CMT permanecieron en dichas condiciones hasta que se realizaron las cinéticas de crecimiento.

7.2.2 Selección de los consorcios de microalgas

Los CTM fueron observados al microscopio, en algunos casos se aplicó tinta china, safranina o fucsina para permitir y con base en los criterios de la Tabla 8, se seleccionaron 18 consorcios, con los que se realizó una cinética de crecimiento para elegir sólo 3 inóculos que fueron empleados en la fase experimental 3.

Tabla 8. Criterios para seleccionar consorcios.

Condición	Se resiembr	Se descarta	Metodología
Morfología	Células verdes, sin daños aparentes en la pared celular	Células lisadas, cloróticas	Observación al microscopio Tinta china Kumar y Sing (1979).
Diversidad	Preferentemente alta diversidad de microalgas	Con abundantes: protozoarios, bacterias u hongos.	Observación al microscopio Tinta china Kumar y Sing (1979).
Crecimiento	Preferentemente en suspensión	En aglomerados y natas que se adhieren a las paredes del matraz.	---

Las actividades para la selección de cultivos pueden resumirse en los siguientes puntos:

1. Resiembra en tubos Falcon™ de todas las muestras de campo
2. Selección de cultivos, ver Tabla 8.
3. Escalamiento de 18 cultivos (se aproxima a la mitad del total de muestras colectadas), en matraces Erlenmeyer de 250 mL.
4. Cinética de crecimiento preliminar para elegir los 3 inóculos con mayor potencial.

7.3 Caracterización cinética

7.3.1 Aproximación experimental

7.3.1.1 Caracterización cinética en condiciones representativas de los gases de combustión

La caracterización cinética cada experimento se realizó por triplicado. Además se incluyeron controles, sin suministro de CO₂, de esta manera se realizaron un total de 12

experimentos con 48 fotobiorreactores (matraces Erlenmeyer), que se representa en la Tabla 9.

Tabla 9. Caracterización cinética en condiciones representativas de los gases de combustión.

Parámetro	Condición	No de experimentos
Temperatura	35 y 40°C	2
CO ₂	CO ₂ (3 y 15 % v/v)	2
Consortio	A, B y C	3
Intensidad luminosa	130 PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	1
	Total de experimentos	12

7.3.1.2 Caracterización cinética bajo diferentes intensidades PAR

Después de la caracterización cinética en condiciones representativas de los gases de combustión se eligió el consorcio y los parámetros operacionales bajo los cuales se obtuvieran los máximos desempeños. Para posteriormente realizar una caracterización cinética bajo diferentes intensidades luminosas. Se incluyen controles sin suministro de CO₂. La Tabla 10 muestra las condiciones de los cultivos.

Tabla 10. Caracterización cinética en diferentes intensidades luminosas.

Condiciones representativas de los gases de combustión		
Parámetro	Condición	No de experimentos
Consortio	A	1
Temperatura	35 (°C)	1
CO ₂	15 (v/v)	1
Intensidad luminosa	PAR 35, 65 y 130 ($\mu\text{mol}^*\text{f m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	3
Total de experimentos		3

*f: fotones

7.3.2 Condiciones de cultivo

Las condiciones de los cultivos en continuo, para las diferentes caracterizaciones cinéticas:

i) condiciones representativas de los gases de combustión y ii) diferentes intensidades luminosas se muestran en Tabla 11.

Tabla 11. Condiciones de cultivo para las cinéticas con base en González- Sánchez y Posten, (2017).

Parámetro	Condición	Unidades
Cultivo en continuo	14 días.	[d]
Reactor	Matraz Erlenmeyer 500	[mL]
Volumen	200	[mL]
Medio de cultivo	BG11, modificado	[mL]
Agitación orbital	120	[rpm]

7.3.1 Sistema experimental

El sistema experimental (incubadora modificada Prendo INO 650 V) permitió controlar la intensidad luminosa, temperatura y agitación. Las mezclas sintéticas de CO₂ se almacenaron en bolsas Tedlar™ y fueron suministradas mediante una bomba peristáltica como se esquematiza en la Figura 8.

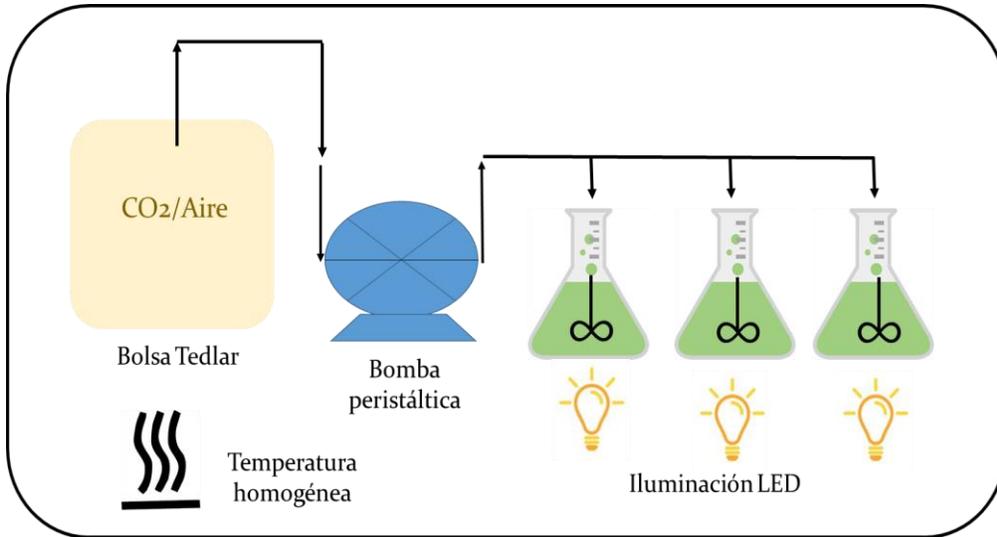


Figura 8. Esquema del sistema experimental.

7.3.2 Transferencia de masa (CO₂) al sistema

Se utilizó un modelo matemático (Ecuación 20), para obtener la capacidad de transferencia de masa ($J.a$) del CO₂ al medio acuoso en el sistema experimental que considera la temperatura.

$$(j.a) = K_L a (P_p CO_2 * H^t - (DCO_2 \nearrow^0))$$

Ecuación 20

($J.a$): Transferencia de masa (CO₂)

$K_L a$: Coeficiente global de transferencia de masa

$P_p CO_2$: Presión parcial del CO₂

H^t : Constante de Henry

DCO_2 : CO₂ disuelto

$K_L a$: 10 (h⁻¹)

El modelo incluye las constantes de Henry (H^t), para el CO_2 en cada temperatura considerada (Sander, 2015), y un coeficiente de transferencia de masa (K_La) de 10 h^{-1} reportado por Reynoso- Cereceda *et al.*, (2016), para matraces Erlenmeyer de 500 mL, con un volumen de líquido de 200 mL, agitación orbital de 120 rpm y una temperatura de 37°C , dichas condiciones experimentales fueron las mismas que se emplearon en este estudio con excepción de la temperatura, la cual fue muy similar. Consideró una tasa de transferencia máxima (DCO_2^{70}), considerando que todo el CO_2 disuelto es consumido por las microalgas.

7.3.3 Determinación de los parámetros cinéticos

Capacidades cinéticas (CCM)

En el presente trabajo hace referencia a los siguientes parámetros: tasa específica de crecimiento (μ), productividad (P_x) y tasa de fijación de CO_2 (P_{CO_2}).

Tasa específica de crecimiento

Para calcular la tasa específica de crecimiento se consideró un quimiostato debido a las condiciones de operación: volumen constante, agitación continua, mezcla homogénea, alimentación de medio de cultivo BG11 sin biomasa. Se consideró un régimen en estado no estacionario de acuerdo con la Ecuación 21. La ecuación anterior se evaluó aproximadamente a $t= 15 \text{ d}$, donde se consideró por ensayos previos en lote, que el consorcio alcanza su máximo crecimiento y a ese tiempo se asume un pseudo-estado estacionario.

$$\mu = \frac{1}{t} \ln \frac{X}{X_0} + D$$

Ecuación 21

μ : Tasa específica de crecimiento (d^{-1})

X_0 : Biomasa inicial (mgL^{-1})

X : Biomasa al tiempo t (mgL^{-1})

D : tasa de dilución (d^{-1})

Productividad de la biomasa

De acuerdo con Vuppaladadiyam *et al.* (2018) y Markou *et al.* (2014), se asume que el carbono es completamente asimilativo por lo que la productividad de la biomasa se calculó con la Ecuación 22.

$$Px = \mu * X$$

Ecuación 22

Px: Productividad de biomasa (mg L⁻¹ d⁻¹)
X: Biomasa al tiempo t (mgL⁻¹)
μ: tasa específica de crecimiento (d⁻¹)

Tasa de fijación de carbono

Como se ha mencionado anteriormente el carbono es el elemento más importante en la nutrición de las microalgas por lo que, la fijación de carbono refleja la bioconversión de carbono en biomasa. La tasa de fijación de carbono se estimó mediante la Ecuación 23.

$$PCO_2 = Y_{(X/C)} * Px \left(\frac{PM_{CO_2}}{PM_C} \right)$$

Ecuación 23

PCO₂: tasa de fijación de carbono (mg C L⁻¹ d⁻¹)
Y_{X/C}: Rendimiento biomasa/carbono (mg_x/mg_c)
Px: Productividad de biomasa (mg L⁻¹d⁻¹)
PMCO₂: Masa molar CO₂
PMC: Masa molar C
Y_{X/C}: 0.5 (Franco-Morgado *et al.*, 2017).

Tasa de consumo de Nitrógeno

$$r_N = (\mu * X * Y_{N/X})$$

r_N : Tasa de consumo de nitrógeno ($\text{mg N L}^{-1} \text{d}^{-1}$)

$Y_{N/X}$: Cociente entre el incremento de biomasa y el consumo de nitrógeno (mgN/mgX)

$Y_{N/X}$: 0.1 (Franco-Morgado et al., 2017)

Productividad de Lípidos

$$P_L = \mu * L$$

P_L : Productividad de lípidos ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)

L : Concentración de lípidos al tiempo t (mg L^{-1})

Productividad de carbohidratos

$$P_{Ca} = \mu * Ca$$

P_L : Productividad de carbohidratos ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)

Ca : Concentración de carbohidratos al tiempo t (mg L^{-1})

Balance de carbono

$$\text{Entrada} = \text{CO}_2 \text{ No consumido} + \text{PCO}_2$$

7.3.4 Determinaciones analíticas

Las determinaciones analíticas se realizaron de acuerdo con la literatura citada en la Tabla 12, para cuantificar los siguientes parámetros: biomasa (X), carbono orgánico total (COT), carbono inorgánico (IC), carbono orgánico total (TC), nitrógeno total (TN).

Tabla 12. Determinaciones Analíticas.

Parámetro	Fundamento	Método Analítico	Fuente
Biomasa	Gravimetría	Sólidos suspendidos totales	APHA, 2017.
COT	Quimioluminiscencia Oxidación catalítica	TOC-Shimadzu-TLM-L	Franco-Morgado <i>et al.</i> , 2017.
IC	Quimioluminiscencia acidificación	TOC-Shimadzu-TLM-L	Franco-Morgado <i>et al.</i> , 2017.
TN	Quimioluminiscencia combustión	TOC-Shimadzu-TLM-L	Franco-Morgado <i>et al.</i> , 2017.
pH	Potenciométrico	Electrodo de vidrio	Franco-Morgado <i>et al.</i> , 2017.
Radiación PAR	Fotoeléctrico	Medior Li-COR 250 A	Bahr <i>et al.</i> , 2015.
Lípidos	Colorimétrico	Sulfo-fosfo vainillina	Knight <i>et al.</i> , 1972.
Carbohidratos	Colorimétrico	Fenol- disulfónico	Toledo-Cervantes <i>et al.</i> , 2013

COT: Carbono Orgánico Total TC: Carbono total PAR: Radiación fotosintéticamente Activa

7.3.5 ***Clasificación taxonómica***

7.3.5.1 *Clasificación taxonómica de la colecta*

El material colectado fue observado en un microscopio óptico Zeiss, Alemania y se obtuvieron fotografías mediante una cámara AxioCam ERc 5s, adaptada al microscopio. Con las claves dicotómicas de: Wehr *et al.*, (2014); Komárek y Anagnostidis, (2002); Komárek y Anagnostidis (1999); Komárek y Fott (1983); se determinó el género de algunas de las cianobacterias colectadas en campo.

7.3.5.2 Clasificación taxonómica de los consorcios A, B y C

Para todos los consorcios, se partió de material vivo en el cual fueron realizadas observaciones por microscopía óptica 100 (Microscopio Leica- Alemania), se tomaron fotografías con una cámara de 20 megapíxeles (Leica- adaptada al microscopio) y filtro azul, además se realizaron las tinciones mencionadas en la Tabla 13. Se emplearon las siguientes claves dicotómicas: Wehr *et al.*, (2014); Bicudo y Menezes (2017); Comas (1996); Komárek y Fott (1983).

Tabla 13. Métodos de tinción reportados por Kumar y Sing (1979).

Tinción	Estructura teñida
Lugol	Almidón como sustancia de reserva.
Verde brillante	Presencia de una pared lisa.
Azul de cresil	Confirma que tienen una capa delgada de mucilago.
Acetocarmín	Presencia de núcleo.

8 Resultados y discusión

8.1 Colecta de consorcios termófilos

La Tabla 14 muestra los parámetros fisicoquímicos para cada muestra colectada (las mediciones se realizaron de manera puntual). La mayoría de las muestras fueron colectadas en temperaturas alrededor de los 65 °C y sólo una muestra a 26.1 °C. La salinidad y la conductividad prácticamente, no presentan diferencias entre los diferentes puntos de colecta.

Tabla 14. Caracterización *in situ* del agua, en cada punto de muestreo.

PARÁMETROS (<i>in situ</i>)	Punto de colecta						
	1	2	3	4	5	6	7
Temperatura (°C)	65.3	66.7	66.7	66.6	67.2	50.0	26.1
Conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.2
Sólidos suspendidos totales (mg L^{-1})	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9	0.8	0.8
Salinidad (PSU)	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Oxígeno disuelto (mg L^{-1})	3.3	2.4	2.7	3.45	4.4	7.1	6.7
pH	7.1	6.9	7.0	6.9	7.0	7.4	7.8

La Tabla 15 muestra la composición del agua origen de las microalgas termófilas realizada en el Río Caliente, Jalisco en cuanto a los macronutrientes esenciales para su nutrición tales como: fósforo, nitrógeno y el hierro, que son esenciales para el crecimiento de las cianobacterias (Markou *et al.*, 2014). Se pudo observar que existe una baja concentración de nutrientes, lo cual indica una calidad de agua buena de acuerdo al Índice de Calidad del Agua (De la Mora *et al.*, 2013).

Tabla 15. Composición del agua en los puntos de colecta.

PARÁMETROS (laboratorio)	Puntos de colecta						
	1	2	3	4	5	6	7
Nitrógeno (NO ₃ -N) (mg L ⁻¹)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.5	0.5
Nitratos (NO ₃ ⁻) (mg L ⁻¹)	1	1	1	1	1	2.5	2.5
Fósforo (PO ₄ -P) (mg L ⁻¹)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.25	0.25
Fosfatos (PO ₄ ³⁻) (mg L ⁻¹)	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.75	0.75
Oxído Fosfórico (P ₂ O ₅) (mg L ⁻¹)	5	5	5	5	5	5	5
Hierro (mg L ⁻¹)	0.04	N/D	N/D	N/D	0.02	0.02	0.02
Dureza de Carbonatos (CaCO ₃) (mg L ⁻¹)	540	360	360	360	540	540	540
dureza Total (CaO) (mmol L ⁻¹)	200	200	200	200	200	200	200
CaCO ₃ (mmol L ⁻¹)	360	360	360	360	360	360	360

N/D: No detectable

El carbono constituye, de manera general el 50% del peso de la biomasa microalgal, por lo que es el principal macroelemento, mientras que el nitrógeno constituye el segundo más abundante de la biomasa de las microalgas y típicamente se encuentra en concentraciones del 5-10% peso. Por su parte, el fósforo puede representar 0.05- 3.3% del peso de la biomasa. El hierro es necesario para las microalgas en cantidades traza (oligoelemento) pues dicho elemento es fundamental para la formación de algunos aminoácidos, complejos enzimáticos, así como para la asimilación de nitrógeno y transferencia de electrones. El calcio es un constituyente de las paredes celulares y típicamente forma parte de la biomasa microalgal de 0.2 - 1.4% pero puede alcanzar hasta un 8% del total del contenido de la biomasa (Markou *et al.*, 2014). Dichos macronutrientes fueron detectados durante la colecta en Río Caliente, Jalisco como se muestra en la Tabla 15. Sin embargo, las concentraciones son inferiores a las reportadas para los medios de cultivo que se emplean

comúnmente, por ejemplo: BBG₁₁ (Rippka et al., 1979), Bold Basal Medium (Bischoff y Bold, 1963).

8.2 Clasificación Taxonómica

8.2.1 Clasificación taxonómica de las microalgas colectadas en campo

En la Tabla 16 se muestran los géneros de microalgas que fue posible identificar mediante claves dicotómicas (Wher *et al.*, 2014; Vinyard, 1977), para los consorcios colectados en Río Caliente, Jalisco.

Tabla 16. Clasificación taxonómica de las microalgas colectadas en campo.

Microorganismo	Punto de colecta						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Synechococcus</i> sp.	*	*		*			*
<i>Jaaginema</i> sp.	*	*					
<i>Epigloesphaera/Aphanotheces</i> sp.		*					
<i>Nostocal</i> sp.			*				
<i>Leptolyngbya</i> sp.			*				*
<i>Pseudoanabaena</i> sp.					*		
<i>Eucapsis</i> sp.					*	*	*
<i>Chroococcus</i> sp.					*	*	*
<i>Rhizochlonium</i> sp.						*	
<i>Denticula</i> sp.						*	
<i>Oscillatoria</i> sp.						*	
<i>Desmidia</i> sp.						*	
<i>Spyrogyra</i> sp.							*
<i>Mougeotia</i> sp.							*
Diatomeas	*	*			*	*	*

Los géneros *Chroococcus* sp., *Pseudoanabaena* sp., *Synechococcus* sp. *Denticula* sp., *Nostocal* (*Nostoc*) sp. han sido reportados previamente como microalgas termófilas (López- Sandoval *et al.*, 2016). En la Figura 9: a) *Eucapsis* sp. b) *Chroococcus* sp. c) *Epigloesphaera/Aphanotheques* d) *Denticula thermalis* c) Sin identificar f) sin identificar g) sin identificar h) sin identificar.

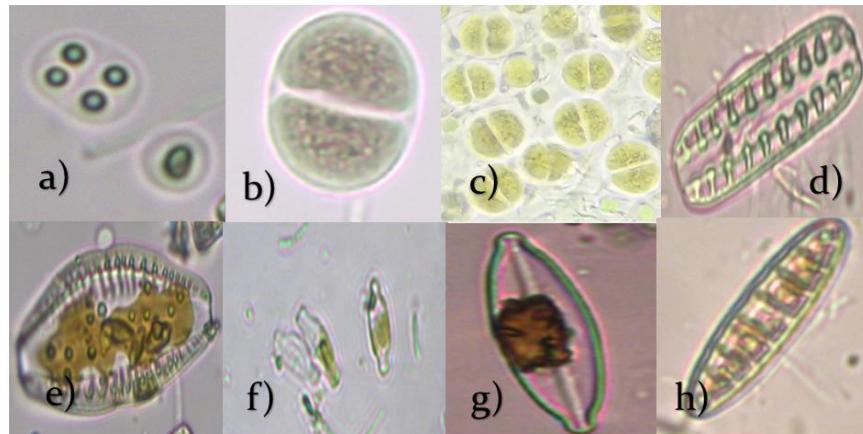


Figura 9. Fotografías obtenidas en el microscopio con un aumento 100x.
Microalgas in vivo, observadas después de la colecta.

8.2.2 Clasificación taxonómica de los consorcios empleados en la caracterización cinética

Una vez en el LIA los consorcios colectados en Río Caliente, Jalisco fueron resembrados en medio BG11 cada 15 día y se desecharon aquellos que no cumplían con las características deseadas (ver Tabla 8). La Figura 10 muestra los diferentes consorcios en fase de adaptación.



Figura 10. Consorcios en fase de adaptación.

Se observan las diferentes morfologías de los consorcios previo a las caracterizaciones cinéticas.

Para realizar la caracterización cinética los consorcios fueron seleccionados por su morfología, preferentemente en suspensión, de acuerdo con las características presentadas en la Tabla 8. Pues, es deseable reducir la bio-incrustación (*biofouling*), o bien promover la inmovilización de las microalgas (aunque de formar controlada, por ejemplo, con alginato), para cosecharlas, para incrementar la vida útil de los fotobiorreactores y las membranas (cuando es el caso como en tratamientos de agua residual), así como disminuir los costos asociados a la limpieza y reemplazo de piezas, además de evitar detener los procesos durante los procedimientos de lavado y reemplazo. Adicionalmente la incrustación o adhesión de las microalgas a las paredes de los fotobiorreactores reducen la disponibilidad de la luz. (Cao *et al.*, 2020; Lien *et al.*, 2018).

En la Figura 11 se muestran los consorcios 17, 19 y 20 elegidos para la caracterización cinética. Estos consorcios fueron colectados en los puntos 7, 5 y 4, respectivamente (ver Tabla 14 y Tabla 15) posteriormente fueron renombrados como consorcios: A, B y C respectivamente.



Figura 11. Consorcio 19, 17 y 20 posteriormente renombrados como consorcios B, A y C, respectivamente.

8.2.2.1 Clasificación taxonómica del Consorcio A

El consorcio “A” que está integrado por *Chlorella vulgaris* cf. y es monoalgal. Para observar estructuras que permitieran la determinación taxonómica del consorcio A fue necesario realizar las siguientes tinciones: lugol, verde brillante, azul de cresil, acetocarmí. A continuación, se presenta su clasificación taxonómica (CT).

Dominio: *Eukarya*

Filo: *Chlorophyta*

Familia: *Chlorellaceae*

Género: *Chlorella*

Especie: *vulgaris* cf.

cf: Debe confirmarse la especie por técnicas de biología molecular, aislar la cepa e incluso microscopía electrónica, para analizar caracteres ultraestructurales.

Descripción: Células uninucleadas, esféricas, ovales y elipsoidales de 3-4 μ m de diámetro; solitarias rodeadas de mucílago; cloroplasto parietal con 1-2 pirenoides, pared celular lisa, reproducción por autosporas de igual tamaño que se liberan por rompimiento de la pared

materna hasta de 7 μm de diámetro. Células adultas generalmente elipsoidales (3 μm de ancho x 7 μm de largo). Leptotipo Beyerinck [Beijerinck] 1890.

CT con base en: Komárek y Fott (1983): 583, lámina 168, figs. 2 y 3; Comas, (1996): 11 fig. 20c; Bicudo y Menezes, (2017): 230, figs. 12.5 y 12.6. En la Figura 12 se pueden observar microfotografías de las principales estructuras que permitieron la determinación de *Chlorella vulgaris* cf.

8.2.2.2 Clasificación taxonómica de las microalgas presentes en Consorcio B y C

En los consorcios se identificó *Chlorella Vulgaris* cf. suspendida en el medio de cultivo mientras que, el precipitado estuvo constituido por una Cyanoprocarionta filamentosa (*Leptolyngbya*) de 2-3 μm de diámetro y una microalga verde (*Trebouxia*) grande con 20-25 μm de diámetro y otras chicas de 3-4 μm de diámetro (sin identificar). Para la determinación taxonómica (DT) del consorcio “B y C” fue necesario realizar las siguientes tinciones: azul de cresil y lugol. A continuación, se presenta la clasificación taxonómica de las microalgas identificadas.

Dominio: *Bacteria*

Filo: *Cyanobacteria*

Familia: *Leptolyngbyaceae*

Género: *Leptolyngbya*

Descripción: Filamento con un tricoma de 2-3 μm de diámetro, sin movilidad, no hay heterocisto. Forma masas enmarañadas con tricomas flexuosos. Tricoma con contenido celular homogéneo, sin aerotopos, células apicales no atenuadas. Leptotipo de [Anagnostidis y Komárek].

CT con base en: Bicudo y Menezes, (2017): 45, figs. 4.10-4.12 En la Figura 13 se puede observar la morfología de *Leptolyngbya*.

Dominio: *Bacteria*

Filo: *Cyanobacteria*

Familia: *Trebouxiaceae*

Género: *Trebouxia* sp.

Descripción: Células esféricas de 20-25 μm de diámetro, con una pared gruesa de 2 μm de ancho, cloroplasto irregularmente lobulado, con un pirenoide. Autosporas del mismo tamaño. Leptotipo [Anagnostidis y Komárek]. Determinación taxonómica con base en: Wehr *et al.*, (2015): 367, figs. 33E y 34C.

A continuación se presentan microfotografías de *Chlorella vulgaris* cf., *Leptolyngbya* sp. y *Trebouxia* sp en: Figura 12, Figura 13, y Figura 14 respectivamente.

En la Figura 12, se pueden observar las siguientes estructuras: a) Autoesporas del mismo tamaño; b) pirenoides; c) capa de mucílago; d) variación de formas de las células; e) rompimiento de pared materna que permitieron la determinación taxonómica de *Chlorella vulgaris* cf.

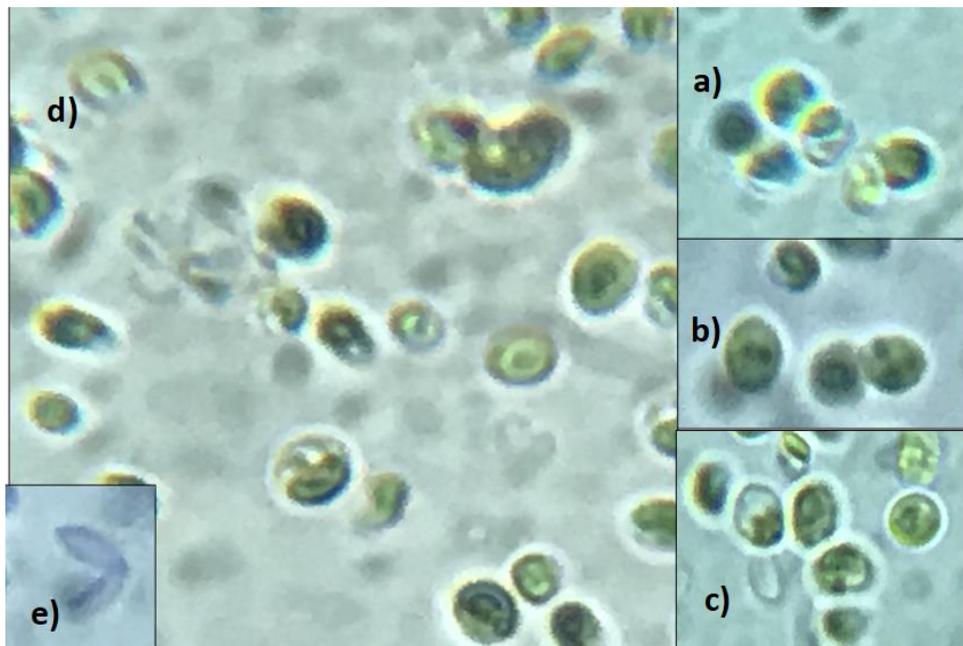


Figura 12. Microfotografía de *Chlorella vulgaris* cf. a 100 \times .
In vivo con filtro azul y aceite de inmersión

En la Figura 13 se muestra un filamento de *Leptolyngbya* sp. La microfotografía fue tomada a 100 \times , con filtro azul y aceite de inmersión.



Figura 13. Microfotografía de *Leptolyngbya* sp. a 100x.
In vivo con filtro azul y aceite de inmersión

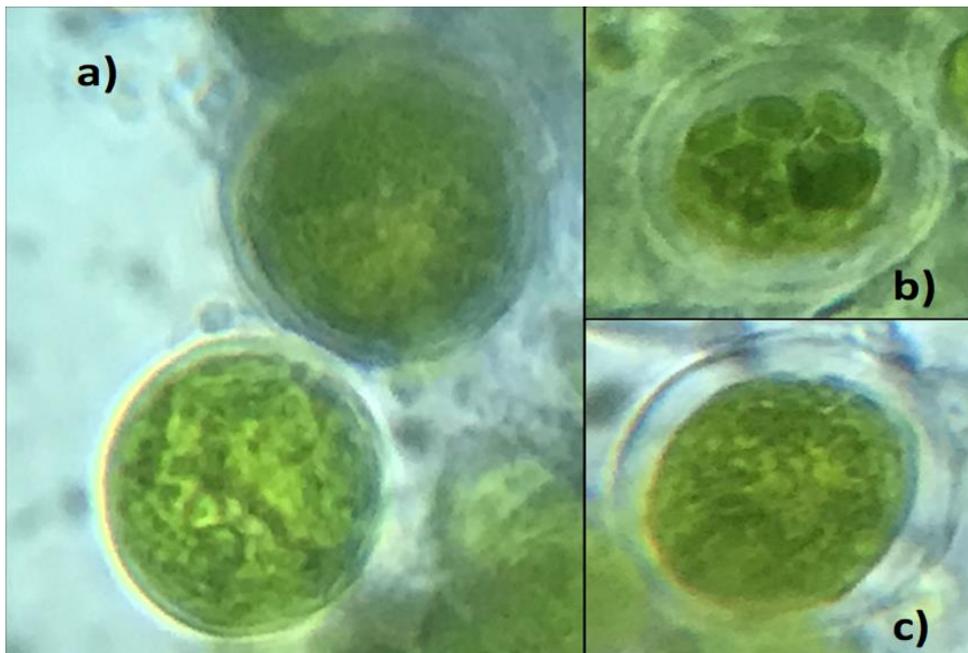


Figura 14. Microfotografías *Trebouxia* sp. a 100x.
In vivo con filtro azul y aceite de inmersión

En Figura 14 se pueden observar las siguientes estructuras: a) Células esféricas 20-25 μm de diámetro con cloroplasto lobulado; b) autoesporas del mismo tamaño; c) pared gruesa 2

μm empleadas para realizar la determinación taxonómica de *Trebouxia* sp. La microfotografía fue tomada con filtro azul y aceite de inmersión.

Tabla 17. Clasificación taxonómica de las microalgas predominantes en los consorcios empleados en la caracterización cinética.

Microalga	Consorcio		
	A	B	C
<i>Chlorella vulgaris</i> cf.	*		
<i>Leptolyngbya</i> sp.	*	*	*
<i>Trebouxia</i> sp.	*	*	*

8.3 Transferencia de masa de CO_2 en los ensayos cinéticos de microalgas

Se utilizó un modelo matemático (Ecuación 20 y Figura 15), basado en un balance masa de CO_2 en los matraces Erlenmeyer para obtener la capacidad de transferencia de masa (J.a) del CO_2 al sistema acuoso del sistema experimental en temperaturas de 35°C (308.15 K) y 40°C (313.15 K).

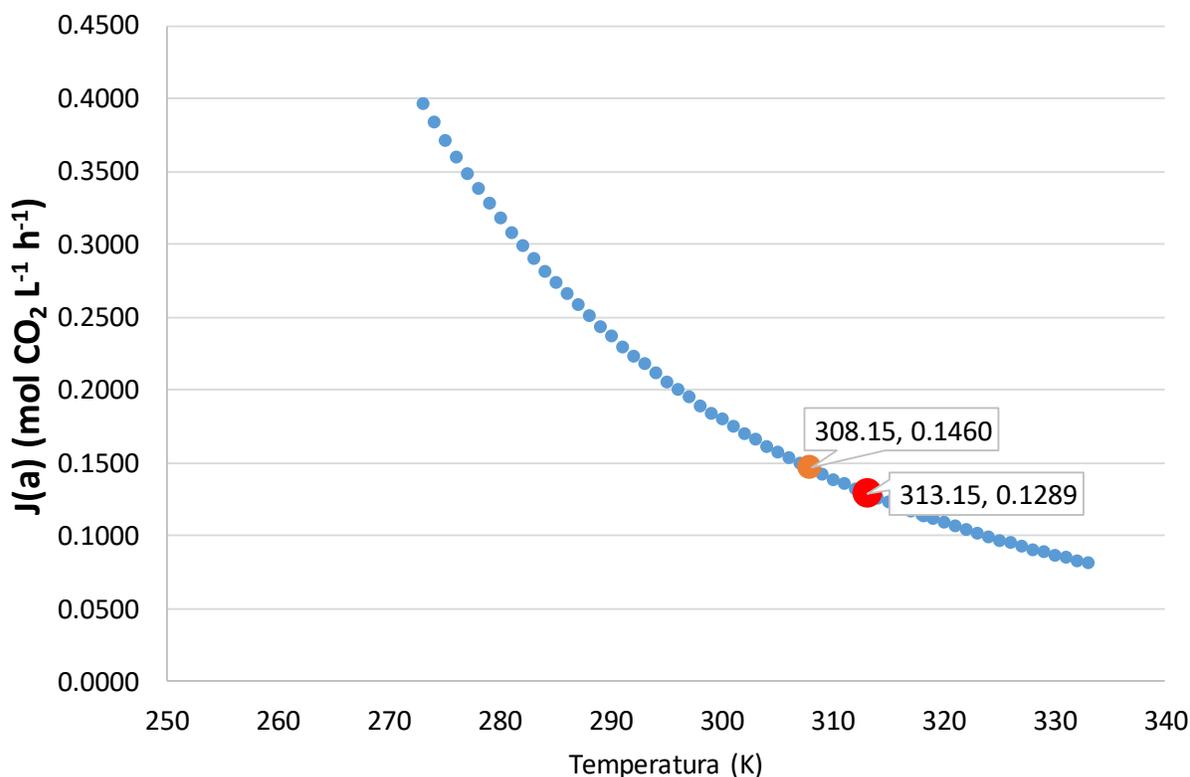


Figura 15. Modelo de transferencia de masa (J.a) del CO₂ al sistema experimental.

Con base en los resultados del modelo matemático de transferencia de masa (Figura 15), el sistema experimental tiene la capacidad de transferir 0.0304 mol CO₂ L⁻¹h⁻¹ a 35 °C (308.15 K) , mientras que a 40°C (313.15) la transferencia de masa es de 0.0269 mol CO₂ L⁻¹ h⁻¹ equivalentes a 6.424 y 5.672 g CO₂ L⁻¹ d⁻¹ respectivamente, como se muestra en la Tabla 18.

Tabla 18. Transferencia de masa (CO₂).

Parámetro	35° C	40° C
CO ₂ (mol L ⁻¹ d ⁻¹)	0.1460	0.1289
CO ₂ (g L ⁻¹ d ⁻¹)	6.424	5.672
C (g L ⁻¹ d ⁻¹)	1.752	1.371

El CO₂ fue suministrado tomando como referencia las tasas de fijación de carbono, reportadas para cultivos en matraces Erlenmeyer, con la finalidad de evitar la acidificación del medio de cultivo por la acumulación excesiva de CO₂ disuelto. Está demostrado que cuando el suministro de CO₂ coincide con las capacidades de fijación de carbono de las

microalgas, los cultivos se realizan con éxito incluso cuando se suministran en concentraciones de CO₂ de 100% (v/v) (Olaizola, 2003).

Se estableció la carga de CO₂ que se muestra en la Tabla 19 con base en Kumar *et al.*, (2019) a partir de sus tasas de fijación de CO₂ (0.007 g CO₂ L⁻¹ d⁻¹) para cultivos en lote, en condiciones similares a este estudio. En el primer experimento el CO₂ se suministró de manera continua mientras que, para el resto de los experimentos se suministró sólo durante 12 horas, de manera simultánea al periodo de luz.

Tabla 19. Suministro de CO₂ en los cultivos.

Temperatura	35 °C		40°C	
	Md	Mc	Md	Mc
*Mezcla de CO ₂	Md	Mc	Md	Mc
Flujo (mL min ⁻¹)	1.54	1.54	1.54	0.47
Carga CO ₂ (g L ⁻¹ d ⁻¹)	0.050	0.126	0.025	0.126
Ciclos	Continuo (24h)	12 h	12 h	12 h

*Mezclas diluidas (**Md**) = 3% CO₂ (v/v)

* Mezclas concentradas (**Mc**)= 15% CO₂ (v/v)

8.4 Caracterización cinética de los consorcios de microalgas en temperaturas de 35 y 40°C y concentraciones de CO₂ de 3 y 15% (v/v)

8.4.1 Curvas de crecimiento

Para el caso de la caracterización cinética en temperaturas de 35 y 40 °C en concentraciones de CO₂ Mc y Md, fue necesario cuantificar la biomasa a través de sólidos suspendidos totales periódicamente, para obtener curvas de crecimiento de cada experimento y se asumió un estado pseudo-estacionario de acuerdo con la Ecuación 21. En la Figura 16 se aprecian las curvas de crecimiento para el experimento a 40°C y CO₂ Mc. Curvas similares

fueron obtenidas para el resto de los experimentos con excepción de los consorcios “B” durante el experimento a 40°C y CO₂ Md pues, no se registró un incremento de biomasa y por ende la productividad fue nula.

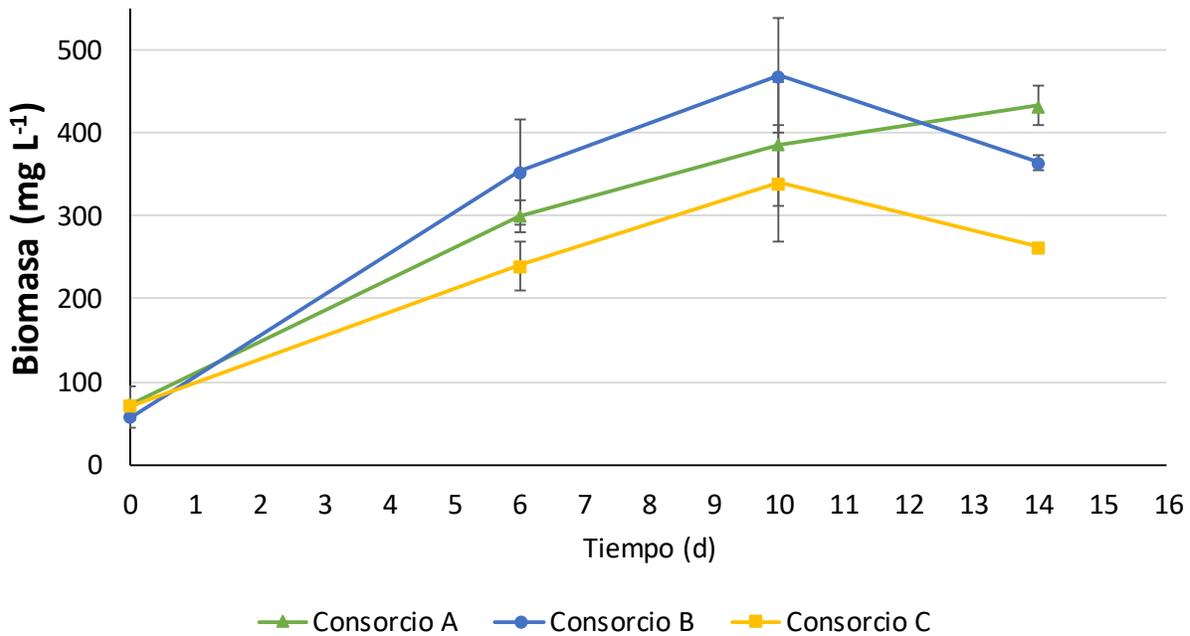


Figura 16. Curvas de crecimiento de los consorcios “A, B y C” con CO₂ Md, bajo 40 °C.

8.4.2 Tasa específica de crecimiento

La tasa específica de crecimiento (μ) se calculó a partir de la Ecuación 21, para experimentos en continuo, que considera la tasa de dilución (flujo volumétrico promedio/V matraz). En la Figura 17 y la Figura 18 se muestran la μ para dos diferentes temperaturas (35 y 40°C) y dos concentraciones de CO₂ 3% y 15 % (v/v), denominadas mezcla diluida (Md) y mezcla concentrada (Mc) respectivamente.

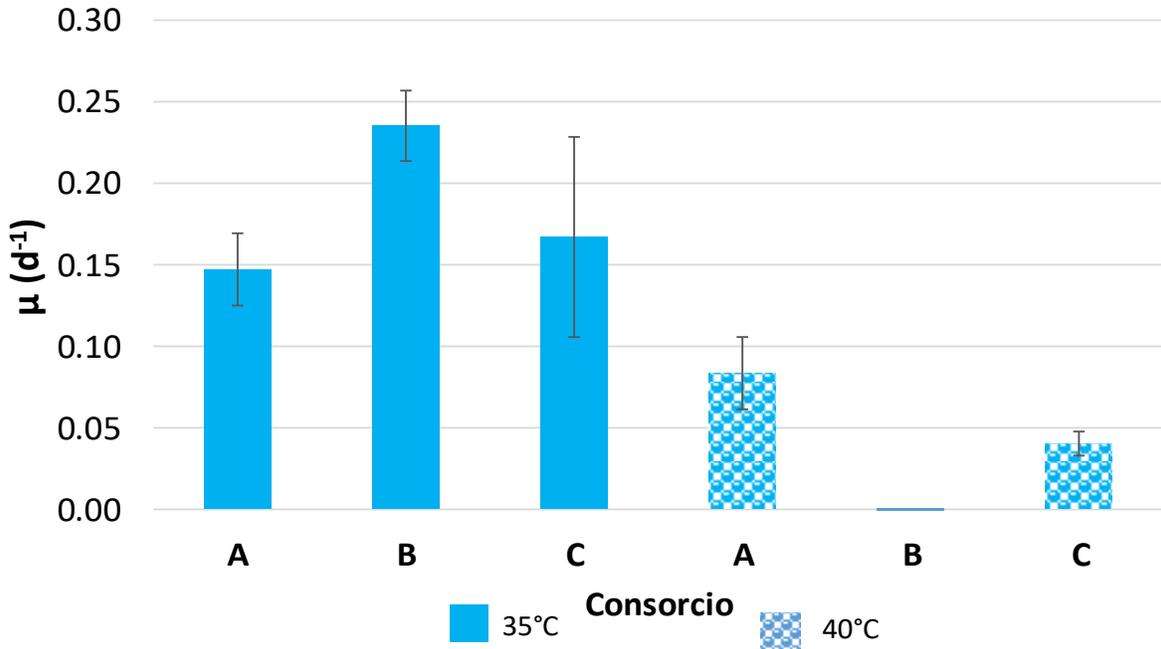


Figura 17. Tasa específica de crecimiento de los consorcios A, B, y C con CO₂ Md (3% v/v), bajo diferentes temperaturas.

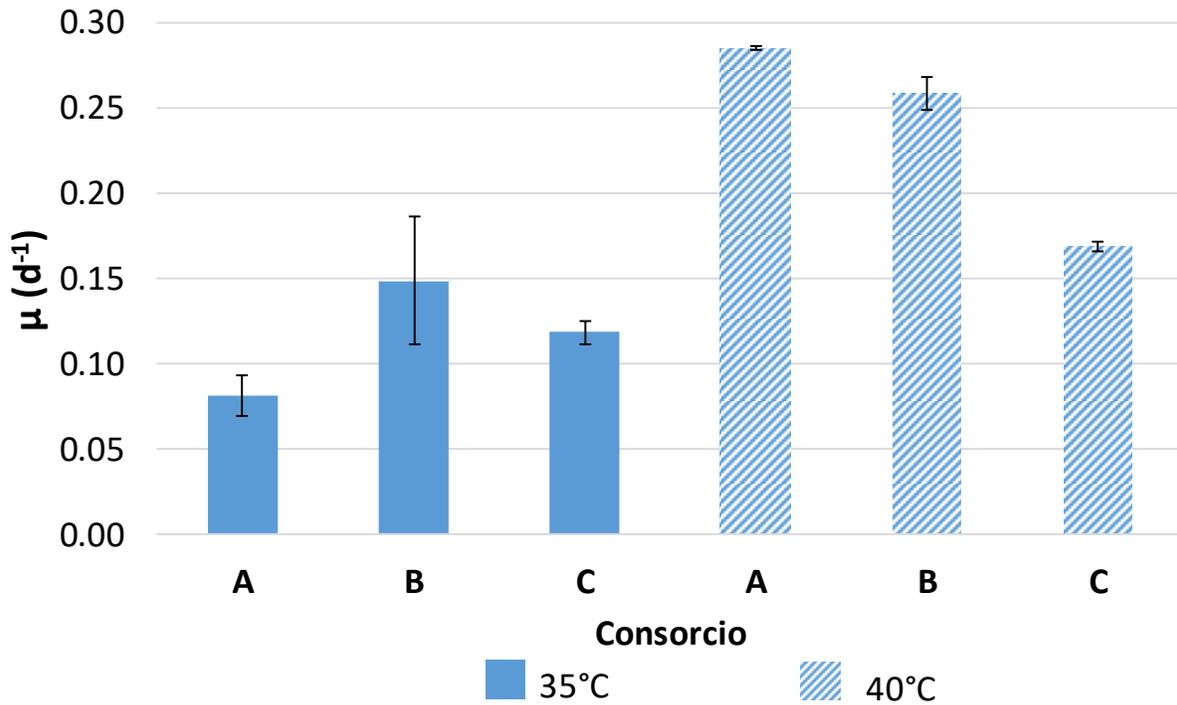


Figura 18. Tasa específica de crecimiento para los consorcios A, B, y C con CO₂ Mc (15% v/v), bajo diferentes temperaturas.

Como se parecía en la Figura 17, con una concentración de CO₂ Md, a 35°C los consorcios “A, B y C” lograron un mayor crecimiento (42%, 100% y 75% respectivamente), en

comparación a 40°C. Lo cual sugiere que el incremento de temperatura tuvo efectos negativos sobre la biomasa, teniendo en cuenta que las altas temperaturas reducen la funcionalidad de las enzimas (ya sea por inactivación o desnaturalización), como resultado habrá efectos negativos sobre el crecimiento y las productividades (Ras *et al.*, 2013). Sin embargo, en la Figura 18 se observa un efecto contrario, pues el aumento de 35°C a 40 °C de temperatura, mejoró las μ en 71% 57% y 30% para los consorcios “A, B y C” respectivamente. Como se observa en la Tabla 19, aunque se empleó la concentración Mc en ambas temperaturas, las cargas de CO₂ fueron diferentes:

- 1) 35 °C carga de 25 mg CO₂ L⁻¹d⁻¹ a
- 2) 40°C carga de 50 mg CO₂ L⁻¹d⁻¹.

La diferencia entre las cargas de CO₂, sugiere que la temperatura no tuvo un efecto negativo y el incremento en la carga de CO₂ contribuyó a mejorar μ .

La Tabla 20 muestra que las μ obtenidas son equiparables con los valores reportados. Los consorcios “A, B y C” en 40°C, con CO₂ Mc tuvieron μ de 0.285 ± 0.009 y 0.258 ± 0.011 d⁻¹, semejante a Liang *et al.*, (2019) quienes obtuvieron μ 0.253 d⁻¹ también con mezclas de CO₂ 15% (v/v). En la tabla también se observan crecimientos nulos en condiciones de cultivo semejantes a los del presente estudio, por lo tanto, los datos mostrados en la Figura 17 no representan datos erróneos o atípicos.

Tabla 20. Tasas específicas de crecimiento para microalgas termófilas, cultivadas con CO₂ en concentraciones representativas de gases de combustión.

μ (d ⁻¹)	Concentración CO ₂ % (v/v)	Temperatura (°C)	Microalga	Referencia
0.228	5	45	<i>Thermosynechococcus</i> E542	Liang <i>et al.</i> , (2019)
0.237	10			
No creció	15			
0.244	5	45	<i>Thermosynechococcus</i> E542 (con control de pH)	Liang <i>et al.</i> , (2019)
0.247	10			
0.253	15			
0.110	5	50	<i>Thermosynechococcus</i> <i>elongatus</i>	Eberly y Ely (2012)
0.120	10			
0.130	20			
No creció	30			
0.285	15	40	Consortio A	Presente estudio
0.235	15	35	Consortio B	Presente estudio

8.4.3 Productividad de biomasa microalgal

La productividad de biomasa (Px) es uno de los indicadores más significativos cuando se estudia la fijación de carbono en los cultivos de microalgas, pues refleja la bio-conversión de CO₂ en términos de biomasa (Cheah *et al.*, 2015).

Para calcular las Px de los consorcios microalgales, se supuso un cultivo en continuo en estado pseudo-estacionario, empleando la Ecuación 22. Las Px obtenidas los consorcios se muestran en la Tabla 21.

Tabla 21. Productividades obtenidas para los consorcios “A, B y C” en concentraciones de CO₂ Md y Mc, bajo diferentes temperaturas.

Carga de CO ₂ (mgL ⁻¹ d ⁻¹)	Temperatura	Mezclas CO ₂	Consortorio A Productividad (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	Consortorio B Productividad (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	Consortorio C Productividad (mg L ⁻¹ d ⁻¹)
25	40 °C	Md	10.014± 0.753	s/c	2.451 ± 0.565
40	40 °C	Mc	35.850 ± 2.087	33.418 ± 0.824	22.117 ± 1.609
50	35 °C	Md	14.625 ± 2.919	35.425 ± 1.340	30.153 ± 4.496
126	35 °C	Mc	14.326 ± 2.626	25.913 ± 0.520	25.099 ± 0.466

Md: 3 % CO₂ (v/v); **Mc:** 15% CO₂ (v/v)

En cuanto a las cargas de CO₂, en la Tabla 21 se aprecia que con la menor carga de CO₂ (25 mg L⁻¹ d⁻¹), se obtuvieron las Px más bajas para todos los consorcios. También se observa que el aumento de la carga hasta CO₂ 50 mg L⁻¹ d⁻¹, mejoró las Px. Aunque al llegar a la carga más alta de CO₂ 126 mg L⁻¹ d⁻¹, las Px no volvieron a incrementar. Zhang, (2015) reportó que las microalgas pueden crecer en amplios rangos de CO₂ que incluyen las concentraciones atmosféricas 0.0038 % (v/v) hasta concentraciones del 100% (v/v), aunque esto dependerá de la cepa de microalga, la estrategia que use para consumo de carbono inorgánico, así como sus mecanismos de concentración de carbono (MCC), por ello algunas microalgas se desarrollan exitosamente en ambientes ricos CO₂ mientras que, otras son sumamente sensibles. Esto explicaría porque los consorcios “B y C” obtuvieron las mejores Px, con una carga de 50 mg L⁻¹ d⁻¹, a diferencia del consorcio “A”, que obtuvo su mejor Px con CO₂ 40 mg L⁻¹ d⁻¹.

Respecto a las temperaturas, se observa que a 40°C el consorcio “A” obtuvo mejores Px que los consorcios “B y C”. Mientras que a 35°C ocurre de manera inversa, las mejores productividades fueron para los consorcios “B y C”.

El consorcio “A” fue monoalgal integrado por *Chlorella vulgaris* cf., como se ha mencionado en la sección Clasificación taxonómica de los consorcios A, B y C. Mientras que “cf” indica se requiere confirmar la especie mediante estudios de microscopia electrónica y biología molecular. El consorcio “A” obtuvo la mayor productividad de biomasa ($35 \pm 2.087 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$), a 40°C con una carga de CO_2 $40 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, por lo que podría tratarse de una variedad termofílica. Kessler (1985), trabajó con 17 variedades diferentes de *Chlorella vulgaris*, concluyendo que la temperatura óptima de crecimiento para dichas cepas fue un rango amplio de $26\text{-}36^\circ\text{C}$, por lo que el género *Chlorella* tiene gran capacidad de colonizar diversos ambientes. Mientras que Ras *et al* (2013) reportaron que existen variedades termofílicas de *Chlorella sorokiniana* y su temperatura óptima de crecimiento es a 40°C .

Los consorcios “B” y “C” obtuvieron Px semejantes entre sí, en todas las condiciones de cultivo, debido a que están integrados por los mismos géneros: *Chlorella vulgaris* cf., *Trebouxia* sp. y *Leptolyngbya* sp.

De acuerdo con Malavasi *et al.*, (2020) el género *Trebouxia* es catalogado como extremófilo, pues se ha registrado su presencia en ambientes áridos como Hanksville, Utah, e incluso en regiones polares. Prihantini *et al.*, (2019) reportaron que el género *Leptolyngbya* puede crecer de manera general en temperaturas de $22\text{-}40^\circ\text{C}$ y algunas especies se desarrollan hasta los 70°C , por lo que colectaron cianobacterias en dos diferentes ambientes termales de Indonesia: 1) En Gunung Pancar a 69°C colectaron *Leptolyngbya* HS-16, y 2) En Maribaya a 42°C obtuvieron a *Leptolyngbya* HS-36. Ambas cepas fueron capaces de crecer en cultivos con temperaturas de $20\text{-}50^\circ\text{C}$, sin embargo, a pesar de ser colectadas en ambientes termófilos, las productividades de biomasa más altas fueron a 35°C . Obtuvieron Px de 570 y $280 \text{ mgL}^{-1}\text{d}^{-1}$ para *Leptolyngbya* HS-16 y *Leptolyngbya* HS-36 respectivamente, por lo que los autores concluyeron que ambas cepas tienen potencial de crecer bajo condiciones termófilas, aunque podrían ser termotolerantes pues sus Px más altas se registraron a tan sólo 35°C . De manera semejante, en este estudio *Leptolyngbya* sp. a pesar de que fue colectada en un ambiente termal, podría ser termotolerante, pues los consorcios “B y C” obtuvieron sus máximas Px a 35°C .

Respecto a las productividades de biomasa, con CO₂ en las concentraciones típicas de los gases de combustión (3- 15% v/v), se reportan Px desde los 40 mg L⁻¹d⁻¹ (Kumar *et al.*, 2019) hasta los 800 mg L⁻¹d⁻¹ (Jacob-Lopes *et al.*, 2009).

La Figura 19 muestra algunas de las productividades obtenidas para el consorcio “A y B” así como las reportadas por Zhao y Su, (2014) para diferentes microalgas, mientras la Tabla 22 muestra los detalles de las condiciones de cultivo.

Tabla 22. Detalles de las condiciones de cultivo de las productividades reportadas por Zhao y Su, (2014).

Microalga	Abreviatura	Productividad (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	CO ₂ % (v/v)	Intensidad luminosa (μmol m ⁻² s ⁻¹)	Temperatura (°C)
<i>Chlorella</i> sp.	CS	400	15	110	45
<i>Scenedesmus obliquus</i>	SO	140	18	44.8	30
<i>Euglena gracilis</i>	EG	110	10	4480	28
Consorcio *A	A-40 °C	35.85	15	130	40
<i>Isochrysis galbana</i>	IG	27	0.0038	115	18
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	CC	20	0.0038	183.6	20
Consorcio *B	B- 35°C	35.42	15	130	35

* Presente estudio

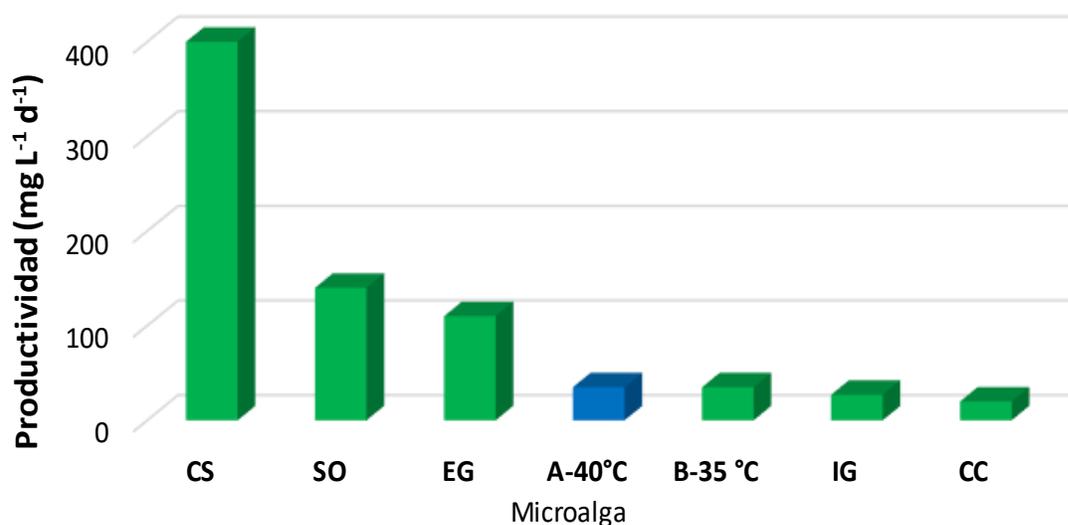


Figura 19. Productividades de diferentes microalgas, elaborada a partir de Zhao y Su (2014). CS: *Chlorella vulgaris*; SO: *Scenedesmus obliquus*; EG: *Euglena gracilis*; A-40 °C: Consorcio A; B:35 °C: Consorcio B; IG: *Isochrysis galbana*; CC: *Chaetoceros calcitrans*.

Las productividades obtenidas en este estudio son comparables a las obtenidas en temperatura ambiente por Kumar *et al.*, (2019) en un rango de 40-60 mg L⁻¹d⁻¹ y a las obtenidas por Kassim *et al.*, (2017) a temperatura de 30°C en rangos de 59- 65 mg L⁻¹d⁻¹ con concentraciones de CO₂ de 5% (v/v) y de 59-67 mg L⁻¹d⁻¹ con concentraciones de CO₂ de 15% (v/v).

Liang *et al.*, (2019) realizaron un estudio con la cyanobacteria *Thermosynechococcus elongatus* colectada en un ambiente termal (67°C), cultivada con regulación de pH con NaOH y sin regulación de pH, bajo las siguientes condiciones: incubadora con agitación orbital (129 rpm), matraces Erlenmeyer de 500 mL (llenados a 350 mL), medio de cultivo BG11, iluminación de 70 μmol m⁻² s⁻¹, ciclos de luz-oscuridad, temperatura de 45°C, únicamente 4 h de suministro de mezclas sintéticas de gas de combustión con una concentración de CO₂ 15 % (v/v). Estas condiciones fueron semejantes a las del presente estudio y obtuvieron las productividades de la Tabla 23.

Tabla 23. Productividades reportadas para microalgas termófilas.

Productividad (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	Concentración CO ₂ % (v/v)	Temperatura (°C)	Microalga	Referencia
65	5	45	<i>Thermosynechococcus</i> E542	Liang et al., (2019)
78	10			
No creció	15			
82	5	45	<i>Thermosynechococcus</i> E542 (con control de pH)	Liang et al., (2019)
89	10			
97	15			
70	5	50	<i>Thermosynechococcus</i> <i>elongatus</i>	Eberly y Ely (2012)
70	10			
90	20			
No creció	30			
68	15	40	Consorcio A	Presente estudio
56	15	35	Consorcio C	Presente estudio

La Tabla 23 muestra que la mezcla de CO₂ 15 % (v/v) sin control de pH, no tuvo crecimiento además se observa que la regulación a pH 7.0 mejoró la productividad. En contraste en esta tesis, el CO₂ se suministró con base en productividades teóricas, por lo que se logró un tratamiento continuo de CO₂ durante las 12 h de luz, sin necesidad de regular el pH (como se muestra más adelante), aunque se obtuvieron Px más bajas, aunque en el mismo orden de magnitud.

Se ha reportado ampliamente que las altas concentraciones de CO₂ (10-20% v/v) reducen la productividad de la biomasa debido al descenso de pH en el medio de cultivo (Zhao y Su, 2014) sin embargo, en el presente estudio la carga de CO₂ se suministró con base en las tasas de fijación de CO₂ reportadas por Kumar *et al.* (2019), como se muestra más adelante no hubo descensos drásticos de pH, lo cual pudo haber favorecido las productividades en ambas temperaturas. Adicionalmente fue posible mantener un suministro de CO₂ continuo, durante los periodos de luz.

En ambientes naturales las microalgas pueden crecer en concentraciones de CO₂ cercanas a 0.0038 % (v/v) por lo que concentraciones de 1% (v/v) son consideradas como altas y concentraciones alrededor del 5% (v/v) son consideradas tóxicas (Zhao y Su, 2014). Por lo

que los consorcios de microalgas “A, B y C” fueron capaces de crecer en concentraciones de CO₂ altas y tóxicas. Las Px obtenidas son menores respecto a las que se han alcanzado para cepas comerciales, no obstante, son equiparables a las reportadas para microalgas termófilas con suministros de CO₂ en concentraciones representativas de los gases de combustión.

8.4.4 Tasa de fijación de carbono

Las microalgas fijan y almacenan CO₂ esencialmente a través de fotosíntesis por lo que, la tasa de fijación de CO₂ y la productividad de la biomasa dependen en gran medida de las condiciones de operación del cultivo por ejemplo, la carga de CO₂, la iluminación, la temperatura, así como la cepa de microalga empleada. Los valores óptimos de estos parámetros, para lograr productividades y tasas de fijación de CO₂ altas suelen ser diferentes para cada especie de microalgas. (Zhao y Su, 2014; Cheah *et al.*, 2015). Para calcular la tasa de fijación de carbono se empleó la Ecuación 23.

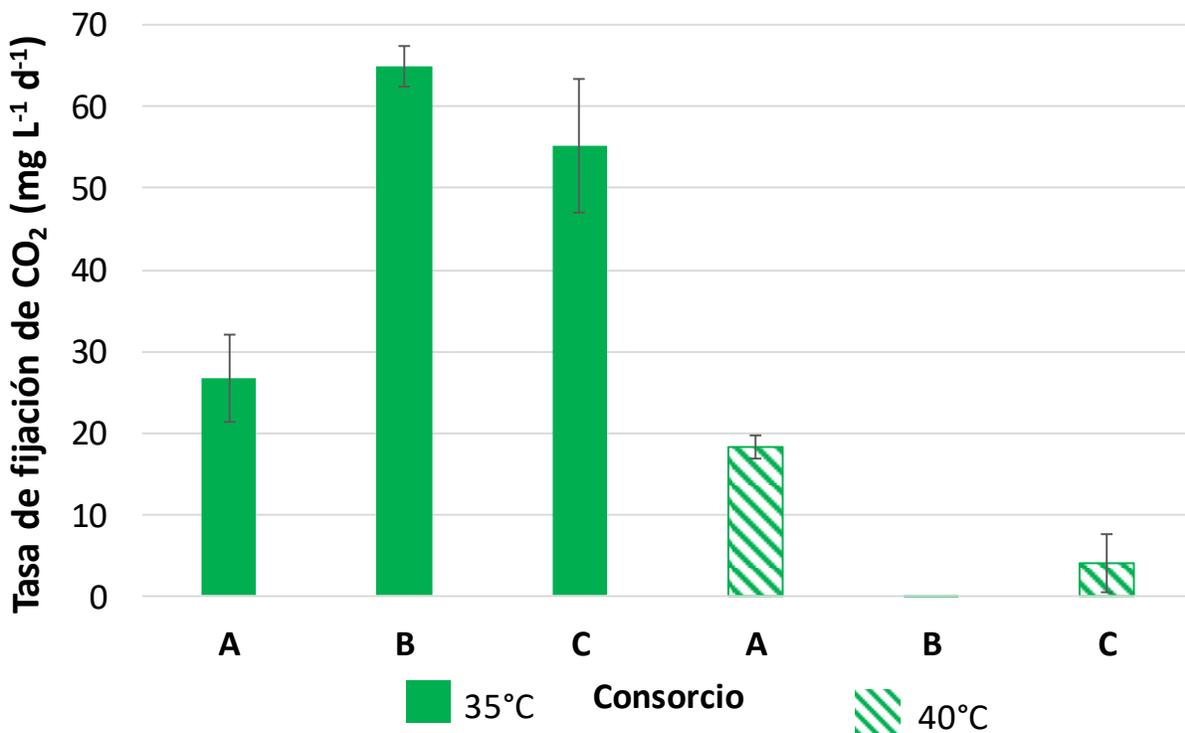


Figura 20. Tasa de fijación de carbono con mezclas de CO₂ Md, bajo diferentes temperaturas.

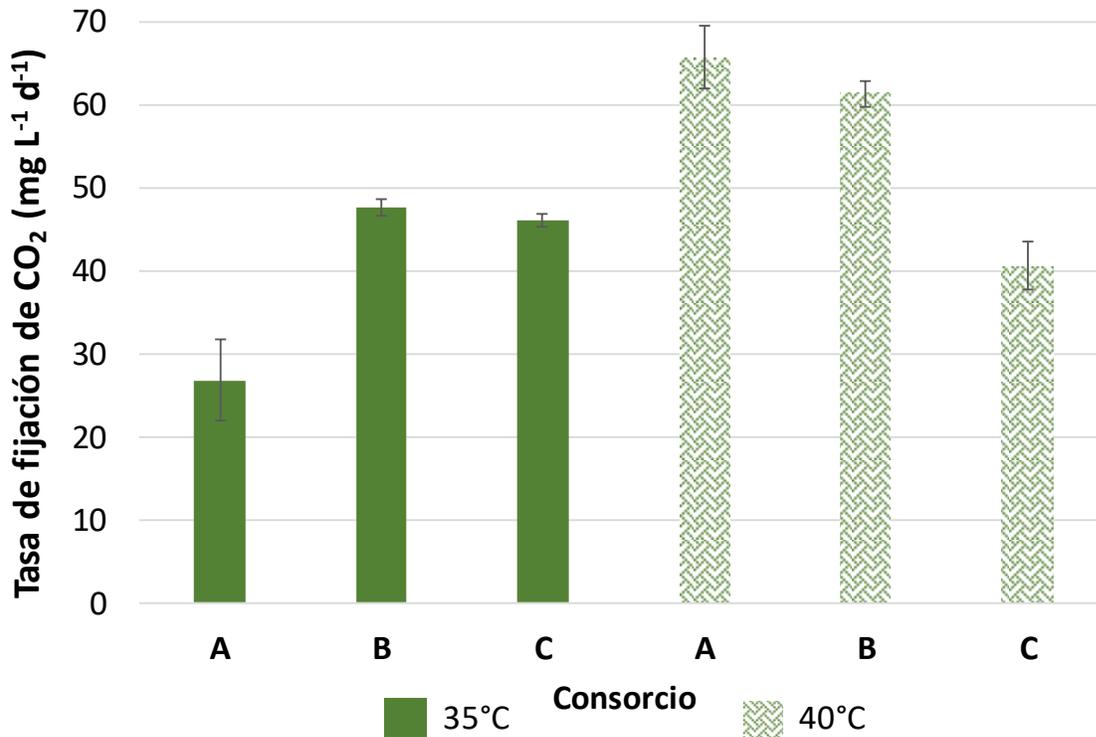


Figura 21. Tasa de fijación de carbono con mezclas de CO₂ Mc, bajo diferentes temperaturas.

La Figura 20 muestra que a 35 °C todos los consorcios microalgales fueron capaces de fijar carbono y su P_{CO₂} aumentó respecto a 40°C (68%, y 97% respectivamente para los consorcios “A y “C), mientras que para “B” la P_{CO₂} incrementó hasta 100%. En contraste la Figura 21 muestra que las P_{CO₂} incrementaron bajo temperatura de 40 °C. No obstante, el incrementó de P_{CO₂} fue el resultado de incrementar la carga de CO₂, con ello la productividad de la biomasa mejoró (como se ha mostrado anteriormente) y por tanto la fijación de carbono también se incrementó.

En la Tabla 24 se muestran tasas de fijación de carbono obtenidas para cepas de microalgas termófilas y *Tetraselmis suecica* (cepa comercial), cultivadas con diferentes concentraciones de CO₂. Se puede observar que las P_{CO₂} obtenidas en este estudio son bajas respecto a las obtenidas por otros estudios.

Tabla 24. Tasas de fijación de CO₂ reportadas para microalgas termófilas.

Tasa de fijación de CO ₂ (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	Concentración CO ₂ (v/v)	T (°C)	Microalga	Referencia
140 130 170 No creció	5 % 10 % 20% 30%	50	<i>Thermosynechococcus elongatus</i>	Eberly y Ely (2012)
14 5	5% 0.0038%	50	<i>Chlorogleopsis</i> sp	Ono y Cuello (2007).
65.661 ± 3.827	15%	40	Consorcio A	Presente estudio
61.266 ± 1.510	15%	35	Consorcio B	Presente estudio
111 104 4.81	3% 15% 30%	30	<i>Tetraselmis suecica</i> (cepa comercial)	Kassim y Meng (2017)

8.4.5

8.4.6 Balance de carbono

Para obtener los balances de carbono se empleó la Ecuación 27, asume que el CO₂ es completamente asimilativo.

Tabla 25. Balance de CO₂

Parámetros			Tasa de fijación de CO ₂ (mg L ⁻¹ d ⁻¹)			CO ₂ No consumido (mg L ⁻¹ d ⁻¹)		
Temperatura (°C)	CO ₂ (v/v)	Carga de CO ₂ (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	Consorcio A	Consorcio B	Consorcio C	Consorcio A	Consorcio B	Consorcio C
40	3%	25	18.359± 1.381	C/N	4.493 ± 2.932	6.641± 1.381	25	20.507 ± 2.932
40	15%	40	65.661± 3.827	43.254 ± 0.058	40.548± 2.950	-15.661± 5.088	-3.000± 0.059	-0.548± 2.950
35	3%	50	26.812± 5.353	61.266± 1.510	55.281± 8.242	23.188± 5.353	-11.266± 2.451	-0.6091± 2.217
35	15%	126	26.264± 4.733	47.507± 0.960	46.015± 0.854	99.736± 4.733	78.00± 0.960	79.985± 0.854

C/N: Crecimiento nulo

Como se aprecia en la Tabla 25, con la menor carga de CO₂ (25 mg L⁻¹ d⁻¹) a 40 °C, se obtuvieron las P_{CO₂} más bajas, para todos los consorcios. Incluso en el caso del consorcio “B”, el crecimiento fue nulo y por consiguiente no fijó carbono. Como se ha mencionado anteriormente (productividad de la biomasa microalgal 8.4.3), los consorcios “B y C” obtuvieron las P_x más altas a temperaturas de 35°C, entonces es posible que los consorcios sean termotolerantes. La enzima anhidrasa carbónica (CA), reduce su afinidad por el CO₂ con el incremento de temperatura (Kumar *et al.*, 2011). Por consiguiente, la mayor diversidad de microalgas se desarrolla óptimamente en temperaturas de 25 °C- 35°C (Barsanti y Gualtieri, 2014). La concentración de CO₂ en la atmósfera es cercana a 0.0038% (v/v), entonces las concentraciones de CO₂ ≥ 1% (v/v) se consideran altas, mientras que concentraciones CO₂ ≥ 5% (v/v) se consideran tóxicas (Cheah *et al.*, 2015). En este sentido es posible que el incremento de temperatura a 40°C, en conjunto con la alta concentración CO₂ (15% v/v) tuvieran un efecto negativo sobre los consorcios “B y C”.

Con una carga de CO₂ 40 mg L⁻¹ d⁻¹, las tasas de fijación de carbono mejoraron. El consorcio “A” obtuvo la mayor P_{CO₂} (57.085 ± 5.088 mg L⁻¹ d⁻¹), aunque obtuvo valores negativos de CO₂ no consumido (-17.085 ± 5.088), posiblemente de manera experimental, se haya sobre estimado la productividad de la biomasa y por ende la P_{CO₂}. En cuanto a los consorcios “B y C” los valores negativos de CO₂ no consumido, son despreciables (-3.0 y -0.5 mg L⁻¹ d⁻¹ respectivamente). En este caso los valores negativos, indican que toda la carga de CO₂ fue consumida. En esta cinética a pesar de que la temperatura fue de 40°C y la carga de CO₂ 40 mg L⁻¹ d⁻¹ (incrementó 63% respecto a CO₂ 25 mg L⁻¹ d⁻¹), todos los consorcios registraron crecimiento de biomasa y por ende fijación de carbono. Maeda *et al.*, (1995) trabajaron cultivos de *Chlorella* sp. con mezclas de CO₂: 10%, 50% y 100% (v/v), entre sus conclusiones indicaron que la preadaptación de las microalgas a bajas concentraciones de CO₂ conduce a la tolerabilidad de mayores concentraciones. En este estudio primero se empleó la carga de CO₂ 25 mg L⁻¹ d⁻¹ (3% v/v) y posteriormente se incrementó a CO₂ 40 mg L⁻¹ d⁻¹ (15% v/v), los consorcios pudieron adaptarse a las altas concentraciones de CO₂ bajo 40°C, entonces al incrementar la carga y la concentración de CO₂ mejoraron las P_x y P_{CO₂}.

Para la carga de CO₂ 50 mg L⁻¹ d⁻¹, la mayor P_{CO₂} se registró en el consorcio “B” (64.945 ± 2.45 mg L⁻¹ d⁻¹), seguida del consorcio “C” (55.281 ± 8.242 mg L⁻¹ d⁻¹) y finalmente el consorcio “A” (26.812 ± 5.353 mg L⁻¹ d⁻¹). Para el consorcio “B” se registraron valores negativos de CO₂ no consumido (-15 ± 2.451mg), no obstante “A” no fijó toda la carga de CO₂ (23.188± 5.353), esto sugiere que “B” pudo consumirla, pues los consorcios “A, B y C” crecieron de manera paralela en la incubadora (Figura 8. Esquema del sistema experimental.)

Con el aumento de la carga de CO₂ a 126 mg L⁻¹ d⁻¹, la tasa de fijación de carbono no incrementó, como en los casos anteriores. El consorcio “A” mantuvo la misma P_{CO₂}, mientras que los consorcios “B y C” disminuyeron su P_{CO₂} 26% y 17% respectivamente, en comparación a la carga de CO₂ 50 mg L⁻¹ d⁻¹. Ras et al., (2011) reportaron que las microalgas pueden tolerar el CO₂ hasta cierta concentración, después de la cual se vuelve perjudicial para el crecimiento por dos razones: 1) El estrés ambiental inducido por la mayor concentración de CO₂, disminuye la capacidad biológica para fijar carbono. 2) A mayor concentración de CO₂, el pH del cultivo disminuye debido a la formación de una gran cantidad de tampón de bicarbonato, el pH no tuvo un descenso drástico (sección 8.4.8) o por debajo de la neutralidad (7.0), esto sugiere que la carga de CO₂ a 126 mg L⁻¹ d⁻¹ indujo un estrés ambiental que disminuyó la fijación de carbono.

8.4.7 Destino del CO₂

Una vez fijado el CO₂ en la biomasa microalgal, una parte del carbono puede metabolizarse y excretarse en forma de compuestos orgánicos (i.e. exopolisacáridos, proteínas). La Tabla 26 muestra el COT disuelto, cuantificado al inicio y final de cada cinética. Se observa que el COT tiende a incrementar al concluir la cinética. Se ha reportado que las microalgas son capaces de excretar compuestos orgánicos que actúan como inhibidores de crecimiento, a fin de limitar la competencia de otras especies (Barsanti y Gualtieri 2014). También se ha reportado que las microalgas distribuyen sus productos fotosintéticos como: almidón, polisacáridos solubles en agua y triacilglicerol para regular la energía principalmente en periodos de oscuridad (Vuppaladadiyam *et al.*, 2018). La excreción de compuestos orgánicos y los mecanismos de partición de carbono pueden explicar el incremento de COT

al final de las cinéticas como se muestra en la Tabla 26. Adicionalmente, la mayor concentración de COT se registró al final de la cinética a 35°C y CO₂ 15% (v/v) posiblemente, debido a que la carga de CO₂ se realizó de manera continua (Tabla 19).

Tabla 26. Carbono Orgánico Total (COT)

T (°C)	Concentración CO ₂ (v/v)	Tiempo (d)	Consortio A COT (mg L ⁻¹)	Consortio B COT (mg L ⁻¹)	Consortio C COT (mg L ⁻¹)
35	3 %	0	35± 3	23 ± 0	30 ± 10
		14	54± 6	45 ± 1	19 ± 20
35	15 %	0	26 ± 1	21 ± 1	21 ± 1
		14	29 ± 4	37 ± 5	35 ± 3
40	3 %	0	18 ± 2	19 ± 1	24 ± 0
		14	32 ± 12	30 ± 6	45 ± 31
40	15 %	0	11 ± 0	9 ± 2	9 ± 0
		14	23 ± 7	13 ± 3	13 ± 3

En la Tabla 27 se muestra el carbono inorgánico disuelto (CID), se puede observar que el CID tiende a incrementar al final de la cinética debido al suministro de mezclas de CO₂. Como se observa en la Tabla 27, la cinética a 35°C y CO₂ 15% (v/v) el incremento de CID fue el más alto posiblemente porque la carga de CO₂ se realizó de manera continua durante 24

h, incluyendo los ciclos de oscuridad. Para el resto de cinéticas el incremento de CID es mínimo debido a que, el suministro de CO₂ se realizó basado en productividades de biomasa reportadas. Está ampliamente documentado que el CO₂ suministrado con base en las productividades reduce la acumulación de CO₂, evita la acidificación del cultivo y reduce las fugas de CO₂ por desorción. Adicionalmente, también se ha reportado que los gases de combustión altamente concentrados en CO₂ con caudales bajos, tendrán como resultado concentraciones bajas de CID (Jacob-Lopes *et al.*, 2009; Vuppaladadiyam *et al.*, 2018).

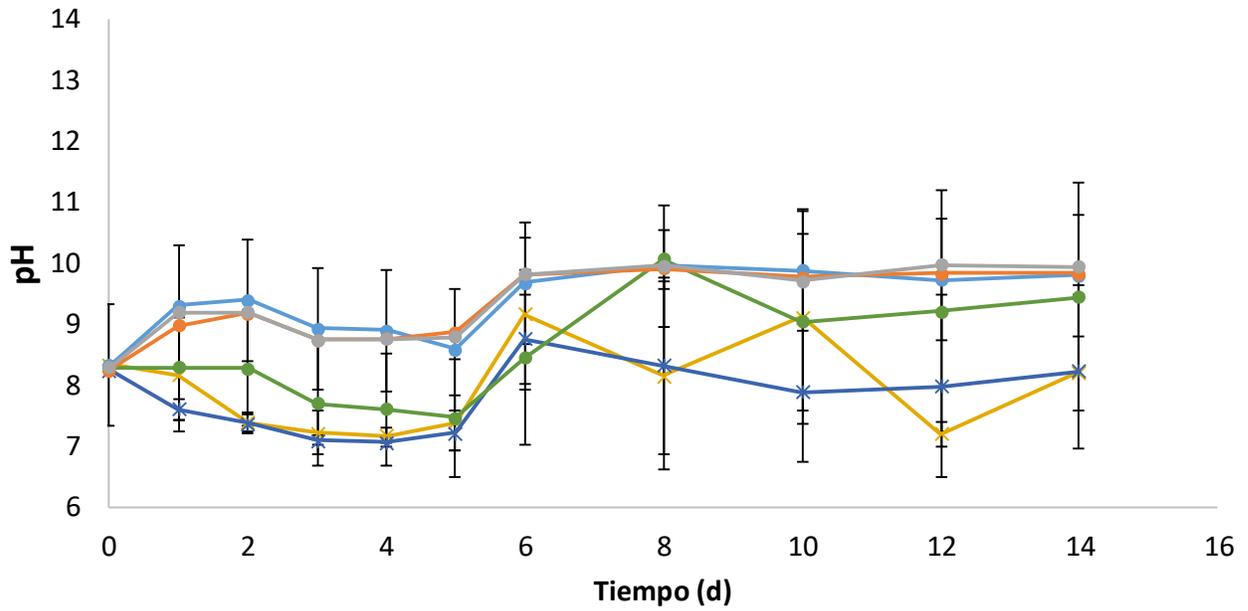
Tabla 27. Carbono Inorgánico disuelto (CID)

T (°C)	Concentración CO ₂ (v/v)	Tiempo (d)	Consortio A CID (mg L ⁻¹)	Consortio B CID (mg L ⁻¹)	Consortio C CID (mg L ⁻¹)
35	3%	0	13 ± 0	12 ± 0	11 ± 0
		14	30 ± 7	23 ± 3	11 ± 4
35	15%	0	11 ± 0	9 ± 0	10 ± 0
		14	16 ± 3	18 ± 2	12 ± 5
40	3%	0	8 ± 0	12 ± 0	10 ±
		14	9 ± 3	12 ± 1	12 ± 2
40	15%	0	6 ± 0	5 ± 1	6 ±
		14	2 ± 1	6 ± 2	3 ± 1

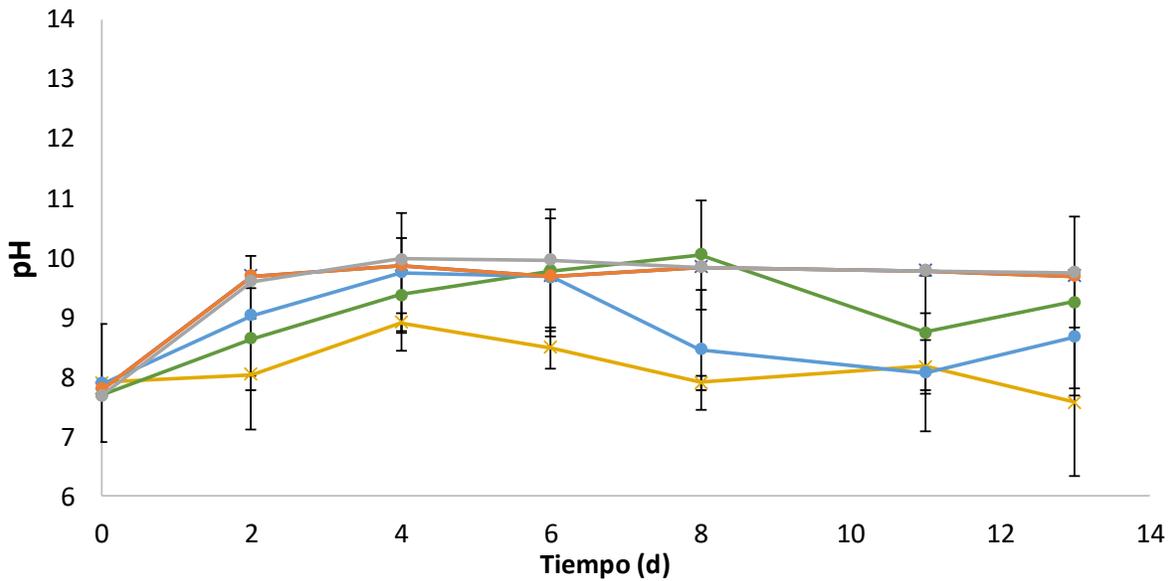
La velocidad de absorción de CO₂ debe ser menor o igual que la velocidad de suministro de CO₂ para evitar la acumulación. Es deseable el control cuidadoso en el suministro de CO₂ con la finalidad de minimizar los cambios en el pH y reducir la desorción de CO₂ (Vuppaladadiyam *et al.*, 2018).

8.4.8 Efecto de las altas concentraciones de CO₂ sobre el pH

Durante los experimentos en 35 °C el pH se midió puntualmente para obtener las gráficas que se muestran en la Figura 22 y hasta la Figura 25.



✖ Consortio A ✖ Consortio B ● Consortio C ● Control A ● Control B ● Control C
 Figura 22. Monitoreo del pH bajo temperatura de 35°C y mezclas de CO₂Md.



✖ Consortio A ✖ Consortio B ● Consortio C ● Control A ● Control B ● Control C
 Figura 23. Monitoreo del pH bajo temperatura de 35°C y mezclas de CO₂Mc.

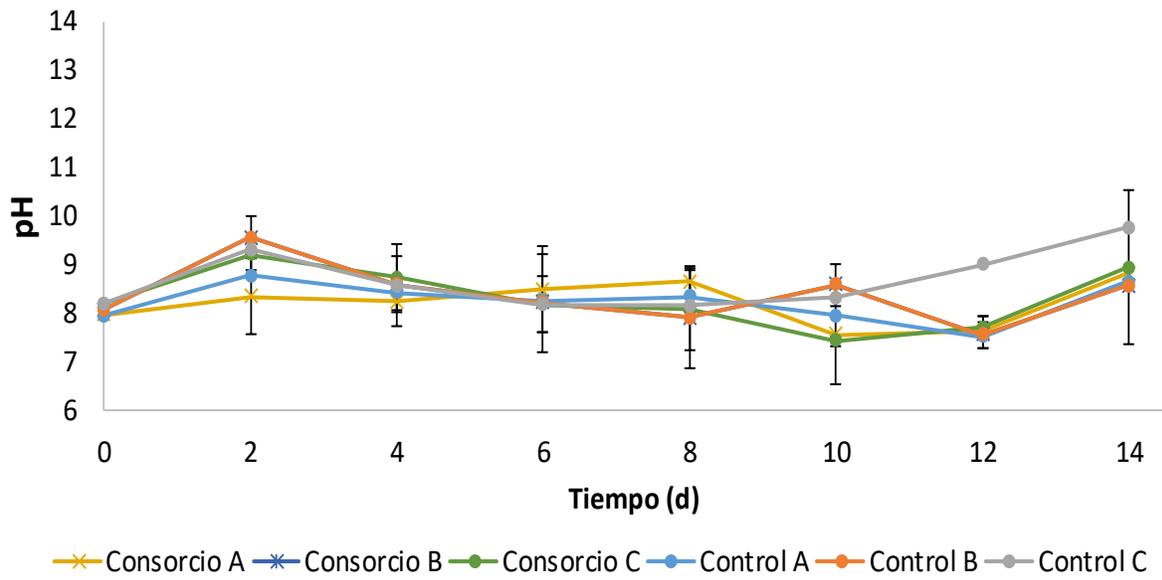


Figura 24. Monitoreo del pH a temperatura de 40°C y mezclas de CO₂ Md.

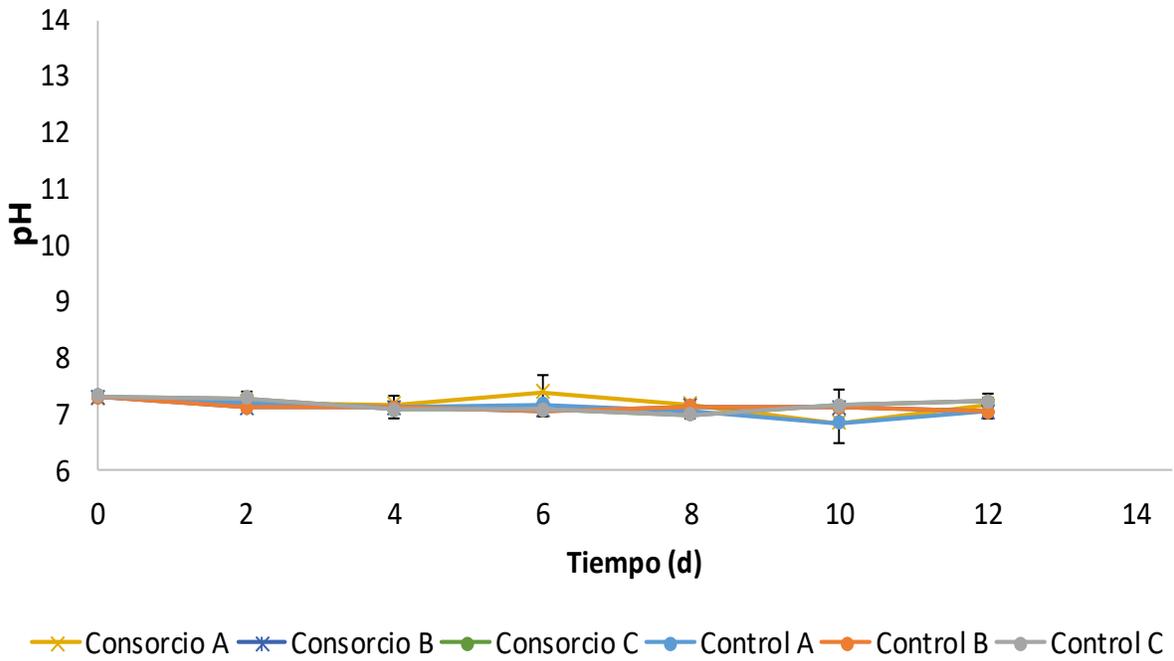


Figura 25. Monitoreo del pH a temperatura de 40°C y mezclas de CO₂ Mc.

Como se aprecia en la Figura 22, el pH oscilo sin embargo, nunca estuvo por debajo de 7.0 y se mantuvo en un intervalo entre 7.5 - 9.5 esto se explica porque cuando el CO₂ está disuelto este reacciona con las moléculas de agua y forma un sistema buffer ácido- base débil (Markou *et al.*, 2014; Zhang, 2015), donde el ion HCO₃⁻ predomina a pH 6.5-10.0 lo cual se explica mediante la Ecuación 28.



Ecuación 28

Para los experimentos a 40°C el pH se monitoreó puntualmente a lo largo del experimento como se muestra a continuación en la Figura 24.

Como se aprecia en la Figura 22 hasta la Figura 25, el pH tuvo menores oscilaciones y las desviaciones estándar disminuyen desde el primer experimento hasta el último debido a que la configuración del suministro de gas se mejoró de manera técnica.

Para la concentración de CO₂ Md, el pH se mantuvo alrededor de 8.5 mientras que a concentración de CO₂ Mc, el pH se mantuvo cercano a 7.2 debido al sistema buffer ácido-base débil en el que predomina el ion HCO₃⁻ como se ha explicado anteriormente en la Ecuación 28. La reacción de hidrólisis del CO₂ en el agua es una reacción prácticamente instantánea (fracción de segundos) por lo que, las velocidades de fijación de carbono de las microalgas no interfieren con el sistema buffer ácido- base débil (Markouk *et al.*, 2014).

Al igual que en este estudio hay reportes previos en donde la alcalinidad de los cultivos no cambia como resultado de la inyección, consumo (por microalgas), o desorción del CO₂ debido a que, en sistemas acuosos las diferentes especies de carbono inorgánico existen en equilibrio y la reacción de interconversión entre ellas es tan rápida que la velocidad de consumo de alguna de especie de carbono no afecta el equilibrio (Kumar *et al.*, 2011; Valdés *et al.*, 2012).

8.5 Caracterización cinética del consorcio A en diferentes intensidades PAR a 35 °C y CO₂ 15% (v/v)

8.5.1 Curvas de crecimiento diferentes intensidades PAR

Para realizar la caracterización cinética en diferentes intensidades PAR se eligió el consorcio “A” debido a que se trató de un cultivo monoalgal de *Chlorella vulgaris* cf. (ver sección 7.3.5.2), su morfología en suspensión permitió un cultivo homogéneo, además este consorcio obtuvo productividades y tasas específicas de crecimiento positivas en todos los experimentos anteriores a diferencia de los otros consorcios.

La cinética de crecimiento se realizó con mezclas de CO₂ Mc, una carga de 0.126 mg CO₂L⁻¹ d⁻¹ y 35°C. Se incluyeron intensidades luminosas: 35, 65 y 130 PAR ($\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$). De manera simultánea a los **tratamientos (con carga de CO₂)**, en el sistema experimental se incluyeron **controles**, es decir cultivos **sin carga de CO₂**. La Figura 26 muestra una fotografía del sistema experimental.



Figura 26. Sistema experimental con diferentes intensidades luminosas. El sistema permite el control de la intensidad luminosa, temperatura, agitación y suministro de carga de CO₂.

En la Figura 27 muestra las curvas de crecimiento del consorcio “A” bajo diferentes intensidades luminosas: 35, 65 y 130 PAR ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Se puede observar que al final de la cinética la mayor concentración de biomasa corresponde a tratamiento y control PAR 130 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$), mientras que PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$) obtuvieron las concentraciones más bajas de biomasa.

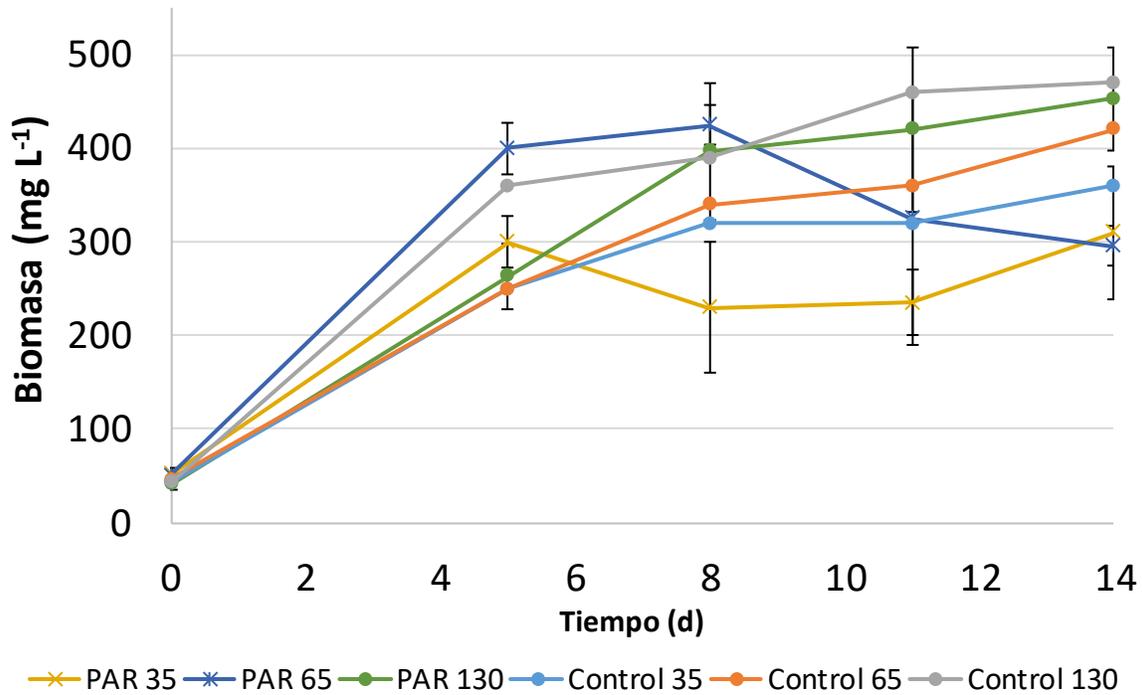


Figura 27. Curvas de crecimiento del consorcio A en diferentes intensidades PAR.

8.5.2 Tasas específicas de crecimiento a diferentes PAR

La Figura 28 muestra las μ del consorcio “A”, con diferentes intensidades luminosas: PAR 35, 65 y 130 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Los resultados de la Figura 28 muestran que a PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$), las tasas específicas de crecimiento son semejantes, a pesar de que la intensidad luminosa casi se duplicó y se registró un incremento de la μ hasta PAR 130 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$), los controles tuvieron el mismo comportamiento.

Se realizó un análisis estadístico ANOVA para evaluar diferencias significativas entre los diferentes tratamientos PAR, al encontrarse diferencias significativas se realizó una prueba de Tukey y finalmente una prueba Q (Anexo 11.1). Las pruebas estadísticas indican que entre PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol f m}^{-2}\text{s}^{-1}$), no hay diferencias significativas a pesar de que la intensidad luminosa casi se duplicó. En cambio cuando se comparó PAR 130 ($\mu\text{mol f m}^{-2}\text{s}^{-1}$), con cualquiera de los otros tratamientos PAR, sí se obtuvieron diferencias significativas.

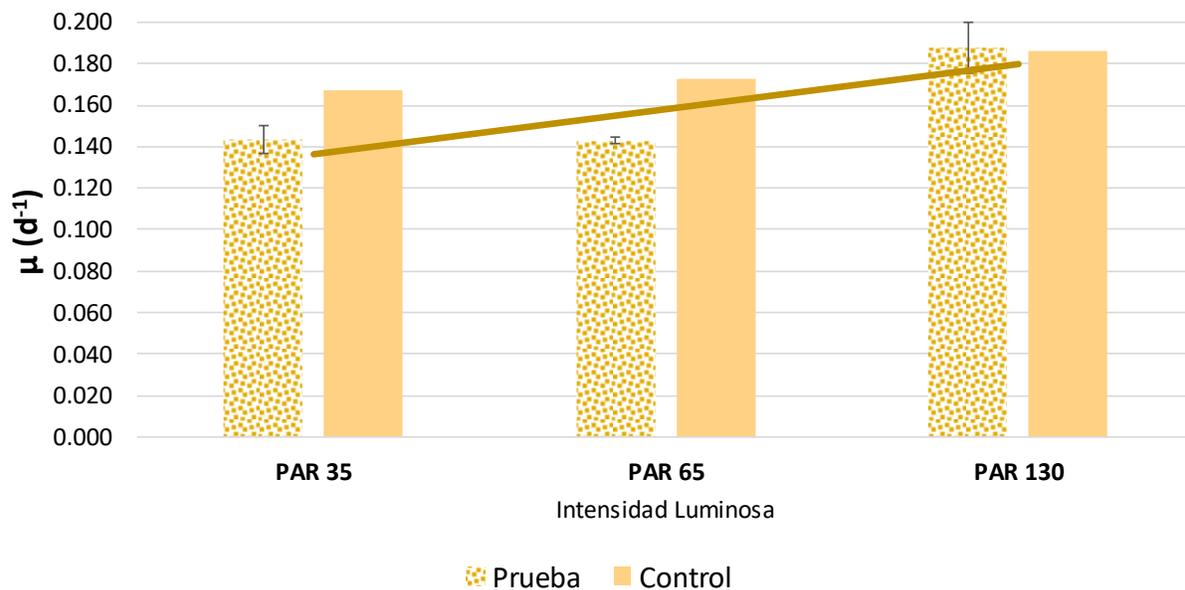


Figura 28. Tasa específica de crecimiento a diferentes PAR.

El análisis estadístico indica que la disponibilidad de la luz puede mejorar la tasa específica de crecimiento sin embargo, no aumenta de manera proporcional a incremento de la luz. Estos datos son congruentes con Toledo- Cervantes et al., (2013) pues reportaron un patrón similar: a $54.7 \mu \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ la tasa específica de crecimiento fue de 0.18 d^{-1} ; que se incrementó a los $94 \mu \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (0.34 d^{-1}); sin embargo, a los $134 \mu \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ el incremento es mínimo (0.38 d^{-1}) como se aprecia en la Figura 29. Los resultados obtenidos por Toledo-Cervantes (2013) fueron obtenidos con CO_2 10% (v/v), 0.4 vvm, temperatura $30 \text{ }^\circ\text{C}$ y con una cepa de *Scenedesmus obtusiusculus*.

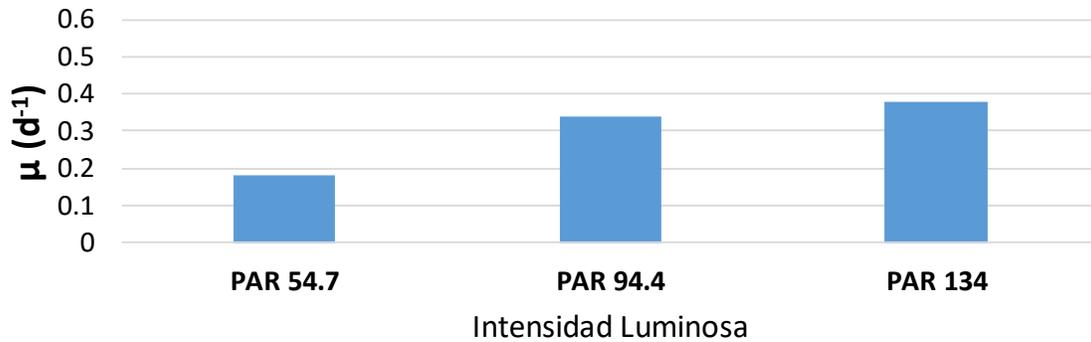


Figura 29 específicas de crecimiento obtenidas por Toledo- Cervantes et al., (2013).

En la Figura 28 se aprecia que la tasa específica de crecimiento mejoró con el incremento de la intensidad luminosa en ambos casos: 1) los tratamientos con CO₂ y 2) los controles sin carga de CO₂. Existen reportes previos (Tabla 28), indicando que el incremento de la intensidad luminosa puede mejorar las tasas específicas de crecimiento por ejemplo, Iasimone *et al.*, (2018), reportaron que un consorcio de microalgas suplementado con la misma concentración de CID a partir de agua residual, mejoró las tasas específicas de crecimiento con el incremento de la luz. No obstante, Wahidin *et al.*, (2013) demostraron que las intensidades de luz más altas o más bajas que el valor óptimo para *Nannochloropsis* condujeron a una disminución de las densidades celulares y tasas específicas de crecimiento.

En la Figura 28 también se observa que los controles 35 y 65 PAR crecieron 15% más respecto a los tratamientos. Es posible que las altas concentraciones de CO₂ (15 % v/v), hayan tenido un impacto negativo debido al descenso del pH (sección Efecto del pH a diferentes intensidades luminosas). En este sentido los controles alcanzaron una mayor productividad. De manera semejante Morrais y Acosta (2007) reportaron que cultivos de *Chlorella kessleri*, con aire o CO₂ (6 y 12 % v/v), obtuvieron tasas de crecimiento similares alrededor de 0.267d⁻¹ sin embargo, el incremento de CO₂ a 18% (v/v) disminuyó la tasa específica de crecimiento a 0.199 d⁻¹.

La Tabla 28 muestra que los resultados obtenidos en este estudio, son menores respecto a las tasas de crecimiento reportadas para cepas de microalgas comerciales a temperaturas típicas (20-25 °C) sin embargo, son equiparables a las tasas específicas de crecimiento reportadas para cepas termófilas.

Tabla 28. Tasas específicas de crecimiento reportadas para diferentes intensidades luminosas.

Tasa específica de crecimiento (d ⁻¹)	PAR (μmol m ⁻² s ⁻¹)	CO ₂ % (v/v)	T (°C)	Microalga	Referencia
0.110 0.130	180	5 20	50	<i>Thermosynechococcus elongatus</i>	Eberly, Ely, (2012).
0.018 0.140	200	5	50	<i>Chlorogleopsis</i> sp	Ono y Cuello (2007).
0.202 0.228 No creció	70	0.0038 10 15	55	<i>Thermosynechococcus</i> E542 (modificada genéticamente)	Liang et al., (2019).
0.216 0.261 0.260	43	0.0038 6 18	30	<i>Scenedesmus obliquus</i>	Morais y Costa (2007).
0.257 0.267 0.267 0.199	43	0.0038 6 12 18	30	<i>Chlorella kessleri</i>	Morais y Costa (2007).
0.207 0.232 0.246	20 50 100	*22 *29 *32	25	Cianobacterias, <i>Chlorella</i> sp. y <i>Scenedesmus</i> sp.	Iasimone et al., (2018).
0.186	130	15	35	Consorcio A <i>Chlorella vulgaris</i> cf.	Este estudio

*Corresponde a CID mg L⁻¹ d⁻¹ a partir de agua residual, el autor reporta que los valores son insignificanmente diferentes entre sí por lo tanto, el suministro limitante es la luz.

Los controles PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), obtuvieron mayores μ respecto a los tratamientos, posiblemente debido a las altas concentraciones de CO_2 en conjunto con la limitación de luz. Por otro lado, el incremento de la intensidad luminosa mejoró la μ sin embargo, no fue proporcional al incremento de la luz, al menos en el rango evaluado.

8.5.1 Productividad en diferentes intensidades PAR

Para calcular las productividades de los cultivos en continuo se empleó la Ecuación 22, que considera la tasa de dilución. En la Figura 30 se muestran las productividades obtenidas.

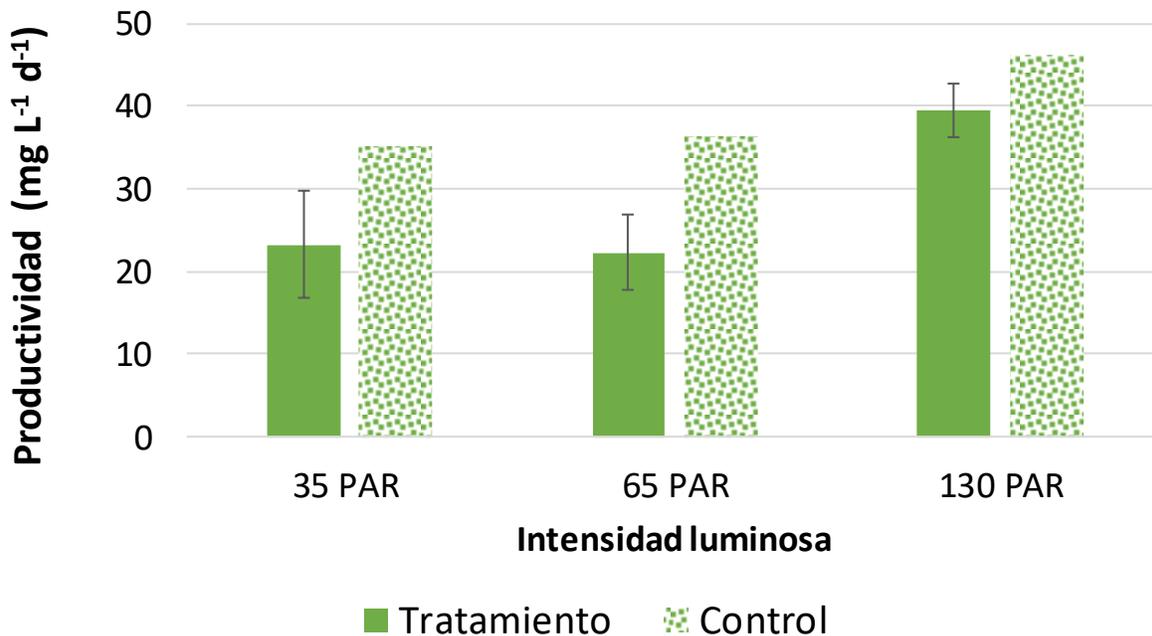


Figura 30. Productividades del consorcio A con diferentes intensidades luminosas PAR.

Como se aprecia en la Figura 30 el incremento de la intensidad luminosa mejoró la productividad en consecuencia, la mayor P_x se obtuvo con PAR 130 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Está ampliamente reportado que el incremento de la intensidad luminosa mejora las CCM (Morais y Costa 2007).

La luz es la fuerza impulsora de las microalgas para fijar el carbono de modo que, su disponibilidad puede limitar las productividades (Chang *et al.*, 2016). También esta reportado que las altas concentraciones CO₂ (≥ 5 % v/v) tienen efectos nocivos en las microalgas pues, dicho gas permea la membrana celular por transporte pasivo (Markou *et al.*, 2014; Zhao y Su, 2014). Esto explica porque los controles PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), obtuvieron productividades más altas (25% y 37% respectivamente), en comparación con los tratamientos.

Adicionalmente Toledo- Cervantes *et al.*, (2013), probaron mezclas de CO₂ 5 y 10% (v/v), concluyendo que las máximas tasas de fijación de carbono y productividad se obtienen con la máxima irradiancia, independientemente de la concentración de CO₂ en este sentido, es posible que los controles hayan obtenido mayores productividades. Adicionalmente los el monitoreo de CID indica que los controles pudieron tener suministro de carbono a partir del CO₂ de salida (no absorbido).

En la Tabla 29 se muestran productividades obtenidas por cepas de microalgas comerciales y cepas termófilas cultivadas en condiciones semejantes a las de este estudio. Se observa que las productividades obtenidas para el consorcio "A", en altas concentraciones de CO₂ y altas temperaturas, son equiparables a las reportadas para temperaturas típicas de cultivo (25-30°C). Incluso son mayores a las reportadas para *Thermosynechococcus* E542 que no creció cuando fue cultivada con CO₂ 15% (v/v), a pesar de que fue modificada genéticamente.

Tabla 29. Productividades reportadas para microalgas con diferentes intensidades luminosas.

Productividad (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	Luz (μmol m ⁻² s ⁻¹)	CO ₂ % (v/v)	T (°C)	Microalga	Referencia
70 90	180	5 20	50	<i>Thermosynecho- ccus elongatus</i>	Eberly, Ely, (2012).
47	200	5	50	<i>Chlorogleopsis</i> sp	Ono y Cuello (2007).
65		0.0038	55	<i>Thermosynecho- ccus E542</i> (modificada genéticamente)	Liang <i>et al.</i> , (2019).
78 No creció	70	10 15			
111 110 114 120	43	0.0038 6 12 18	30	<i>Scenedesmus obliquus</i>	Morais y Costa (2007).
145 98 80 88	43	0.0038 6 12 18	30	<i>Chlorella kessleri</i>	Morais y Costa (2007).
9 50 58	20 50 100	*22 *29 *32	25	Cianobacterias, <i>Chlorella</i> sp. Y <i>Scenedesmus</i> sp.	Iasimone <i>et al.</i> , (2018).
40 ± 3	130	15	35	Consorcio "A" <i>Chlorella vulgaris</i> cf.	Este estudio

*Corresponde a CID (mg L⁻¹ d⁻¹) a partir de agua residual, el autor reporta que los valores son insignificamente diferentes entre sí por lo tanto, el suministro limitante es la luz.

Las productividades obtenidas indican que a PAR 35 y 65 (μmol m⁻² s⁻¹), la intensidad luminosa no es suficiente para fijar de manera fotosintética la carga de CO₂ que se suministró.

Las productividades que se alcanzaron en este estudio se encuentran en el mismo orden de magnitud para reportes previos con microalgas termófilas, cultivadas en concentraciones de CO₂ representativas de los gases de combustión.

8.5.2 Tasa de fijación de carbono en diferentes intensidades luminosas

En la Figura 31 se muestra la tasa de fijación de carbono obtenida con el consorcio “A”, que es un cultivo monoalgal compuesto por *Chlorella vulgaris* cf.

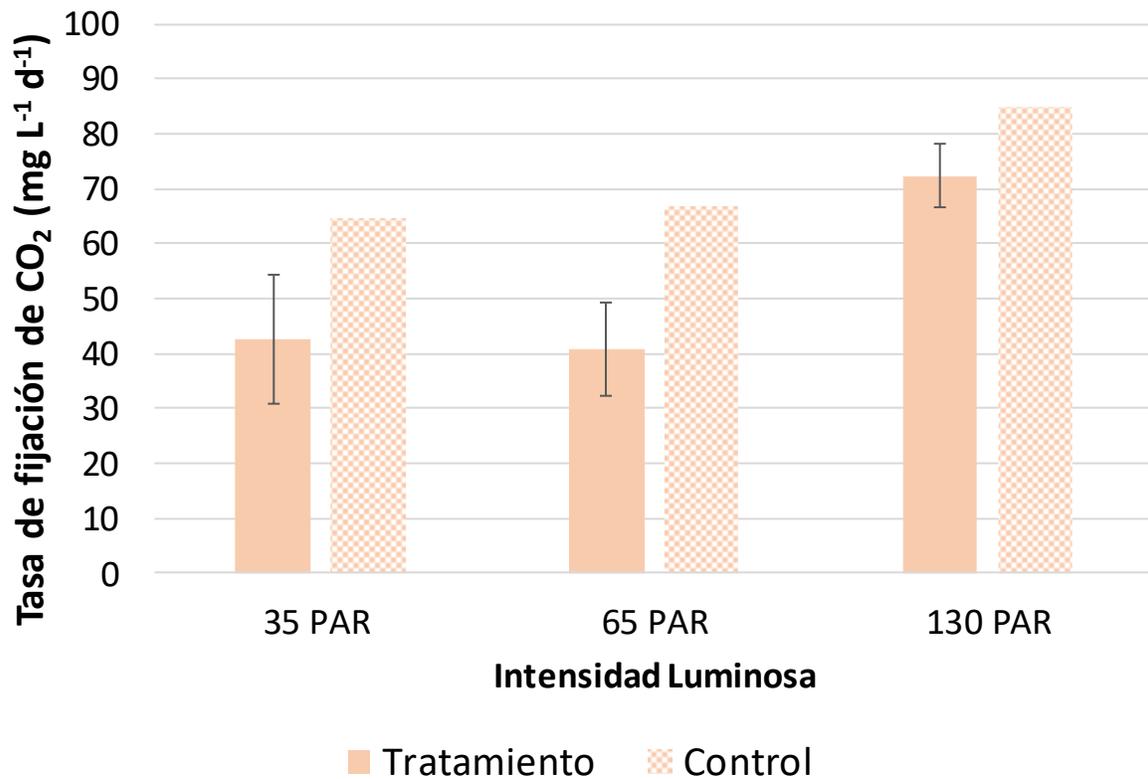


Figura 31. Tasa de fijación de carbono en diferentes PAR.

Como se aprecia en la Figura 31 la intensidad luminosa restringió el crecimiento de las microalgas por lo que, la mayor tasa de fijación ($72.4 \pm 5.78 \text{ mg CO}_2 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) se obtuvo con PAR 130 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Está ampliamente reportado que el incremento de la intensidad luminosa puede mejorar las tasas de fijación de carbono y la productividad (Toledo-Cervantes, 2013), sin embargo, Wahidin *et al.*, (2013) demostraron que las intensidades de luz más altas o más bajas que el valor óptimo disminuyen las tasas de crecimiento específicas, productividades y tasas de fijación de carbono.

En la Figura 31 también se observa que los controles PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$) obtuvieron mayores tasas de fijación de carbono 25 y 37% respectivamente, en comparación con los tratamientos con carga de CO_2 posiblemente debido al descenso del pH, inducido por la carga de CO_2 (Figura 32). Esta reportado que el descenso de pH tiene efectos negativos sobre los cultivos de microalgas (Markouk *et al.*, 2014).

En la Tabla 30 se muestran diferentes tasas de fijación de carbono para cepas de microalgas termófilas y comerciales cultivadas con diferentes intensidades luminosas, con concentraciones de CO_2 típicas de los gases de combustión.

Tabla 30. Tasas de fijación de carbono reportadas para microalgas con diferentes intensidades luminosas.

Tasa de fijación de CO_2 ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)	Luz ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	CO_2 % (v/v)	T ($^{\circ}\text{C}$)	Microalga	Referencia
140 170	180	5 20	50	<i>Thermosynechococcus elongatus</i>	Eberly, Ely, (2012).
14 17 18	100 200 250	5	50	<i>Chlorogleopsis</i> sp.	Ono y Cuello (2007).
72 ± 8	130	15	35	Consorcio A (<i>Chlorella vulgaris</i> cf.)	Este estudio
87 95 97	450	0.04 5 15	30	<i>Chlorella</i> sp.	Kassim y Meng (2017).
490 570 970	54.7 94.4 134	10	30	<i>Scenedesmus obtusiusculus</i>	Toledo-Cervantes <i>et al.</i> , (2013).

En la Tabla 30 se puede apreciar que las tasas de fijación de carbono son muy variadas desde los 14 $\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$ hasta los 970 $\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$ sin embargo, los valores reportados para algunas cepas de microalgas termófilas son desde 14- 140 $\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$ mientras que para cepas de *Chlorella* sp., son de 87 a 97 $\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$ por lo que, los resultados obtenidos en este estudio son comparables con lo reportado.

8.5.3 Efecto del pH a diferentes intensidades luminosas

Durante los experimentos con diferentes intensidades luminosas el pH se midió puntualmente para obtener las gráficas que se muestran en la Figura 32.

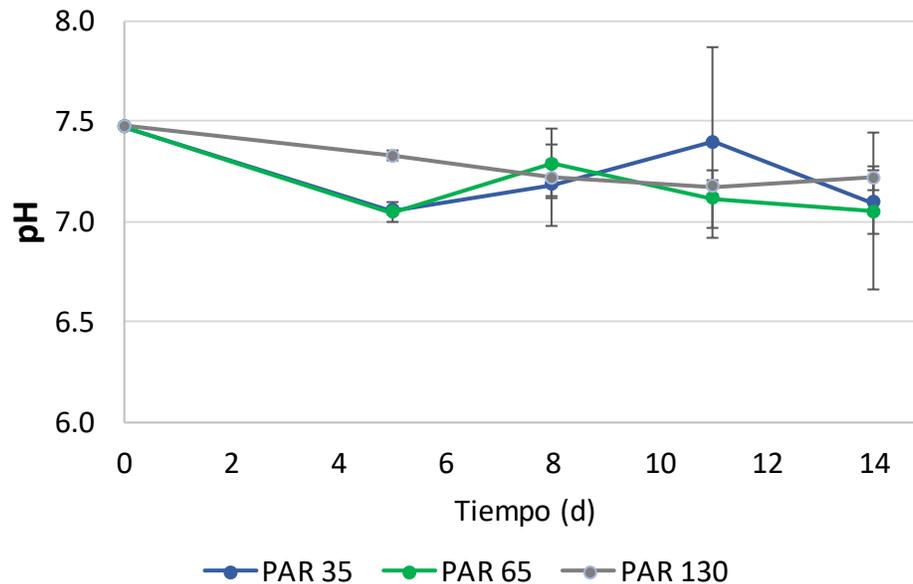


Figura 32. Monitoreo del pH en los tratamientos, con carga de CO₂.

En la Figura 32 se puede observar que para los tratamientos a PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$) el pH desciende en los primeros 5 días de cultivo hasta un valor de 7.05 debido a la carga de CO₂ posteriormente, el pH se incrementa debido al crecimiento de biomasa y consecuente generación de OH⁻ derivados de la fotosíntesis (Markouk *et al.*, 2014) sin embargo PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$), el pH desciende nuevamente a los 11 y 8 días de cultivo respectivamente, lo cual indica que la carga de CO₂ suministrada es mayor al consumido por microalgas, en este sentido la fijación de CO₂ se restringió debido a la limitación de luz pues, esta reportado que la luz es un sustrato que condiciona la fijación de carbono (Chang *et al.*, 2016). A diferencia de la máxima intensidad luminosa con PAR 130 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), en donde el pH también desciende en primeros días de cultivo excepto que el descenso de pH fue menos drástico (7.2) y posteriormente se mantiene constante debido a la mayor disponibilidad de luz.

En la Figura 33 se observa el monitoreo del pH para los controles (sin carga de CO₂)

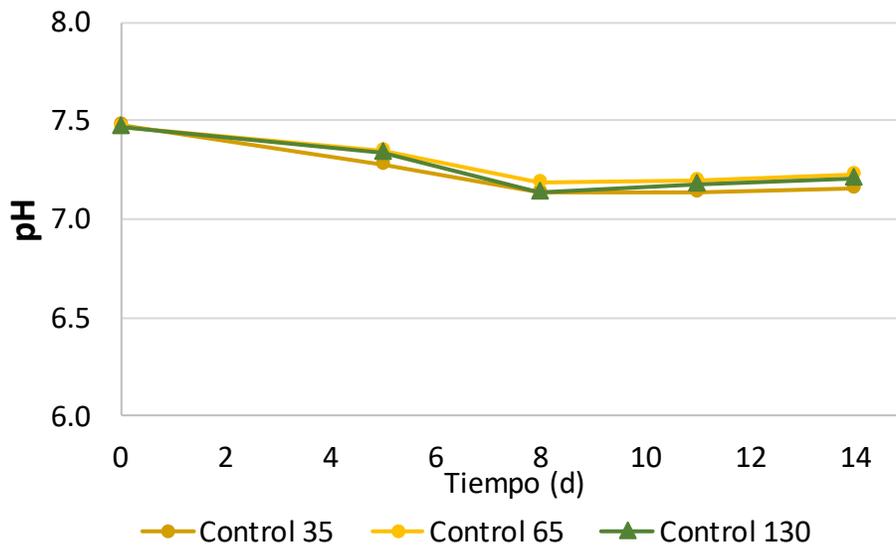


Figura 33. Monitoreo del pH en cultivos control, sin carga de CO₂.

En la Figura 33 se puede apreciar que los controles sin carga de CO₂ tuvieron un descenso de pH esto indica que en la atmósfera del sistema experimental había CO₂, posiblemente derivado de la salida del CO₂ de los tratamientos. Además, como se ha mencionado anteriormente debido a la limitación de la luz a PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la carga de CO₂ fue mayor respecto a la fijación de carbono, en este sentido es posible que hubiera acumulación de CO₂ en el interior del sistema experimental.

El descenso de pH de los controles fue paulatino, en comparación con los tratamientos posteriormente, se mantuvo constante. Es posible que el descenso de haya tenido efectos negativos en las microalgas, Markouk *et al.*, (2014), reportaron que el descenso del pH disminuye e incluso inhibe la capacidad de la enzima anhidrasa carbónica y en consecuencia las CCM de las microalgas se restringen pues, la anhidrasa carbónica cataliza el intercambio entre CO₂ y HCO₃⁻.

Sin embargo, Zhao y Su, (2014), reportaron que al aumentar la concentración de CO₂, su hidrólisis se mueve en dirección positiva de la reacción como resultado, el HCO₃⁻ y la

concentración de H^+ incrementarían y se disminuirá el valor de pH en el medio de cultivo. Un valor de pH ácido puede inhibir la actividad de la anhidrasa carbónica. Esto explicaría porque los controles lograron mayores CCM respecto a los tratamientos con carga de CO_2 , en los cuales el pH disminuyó a 7.05.

8.5.4 Destino del CO_2 en diferentes intensidades luminosas

En la Figura 34, se muestra el CID cuantificado para tratamientos y controles.

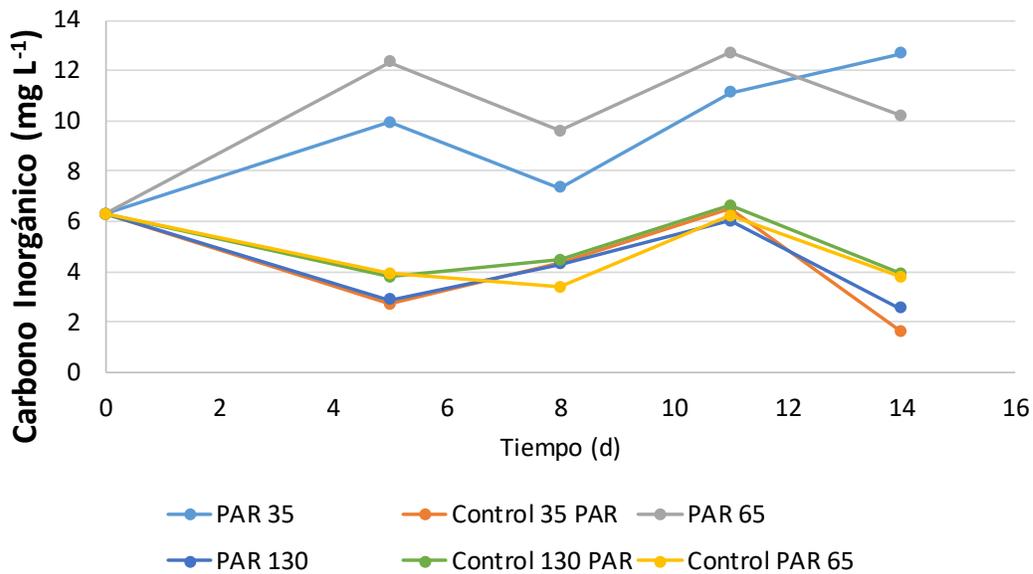


Figura 34. Monitoreo de carbono inorgánico.

En la Figura 34 se observa que los tratamientos a PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), tuvieron la concentración más alta de CID debido a que la deficiencia de luz condicionó la fijación fotosintética de carbono como resultado, el carbono inorgánico se incrementó sin embargo el CID del tratamiento a PAR 130 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) registró una tendencia similar a los controles, ya que la mayor disponibilidad de luz incremento las productividades (Figura 30) por lo tanto el CID fue bio-convertido a biomasa.

En la Figura 34 también, se observa que los tratamientos a PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) tuvieron la concentración más alta de CID. Está ampliamente reportado que el CID determina el crecimiento de las microalgas (Vuppaladadiyam *et al.*, 2018) entonces, se esperaría que la mayor productividad de microalgas se obtuviera en dichos tratamientos,

no obstante, los controles con menores concentraciones de CID obtuvieron mayores CCM, Debido a que las microalgas realizan fotosíntesis, la luz es un sustrato que condiciona la fijación de carbono en este sentido, los tratamientos PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$), carecían de luz suficiente para fijar la toda la carga de CO_2 . También esta reportado que el incremento de CO_2 reduce el pH en consecuencia, se reduce la eficiencia de la anhidrasa carbónica y con ello disminuyen las productividades de la biomasa (Zhao y Su 2014). Esto concuerda con el descenso de pH (ver Figura 32) y las menores productividades de biomasa obtenidas para los tratamientos a PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$), respecto a sus controles.

Adicionalmente en la Figura 34 se observa que los controles (sin carga de CO_2) registraron el mismo patrón de CID que los tratamientos (con carga de CO_2), esto sugiere que el CO_2 de salida (no absorbido) pudo alimentar a los controles y como resultado sus productividades incrementaron.

En la Figura 35 se observa el carbono orgánico total (mg L^{-1}) registrado para los tratamientos y controles evaluados a PAR 35, 65 y 130 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

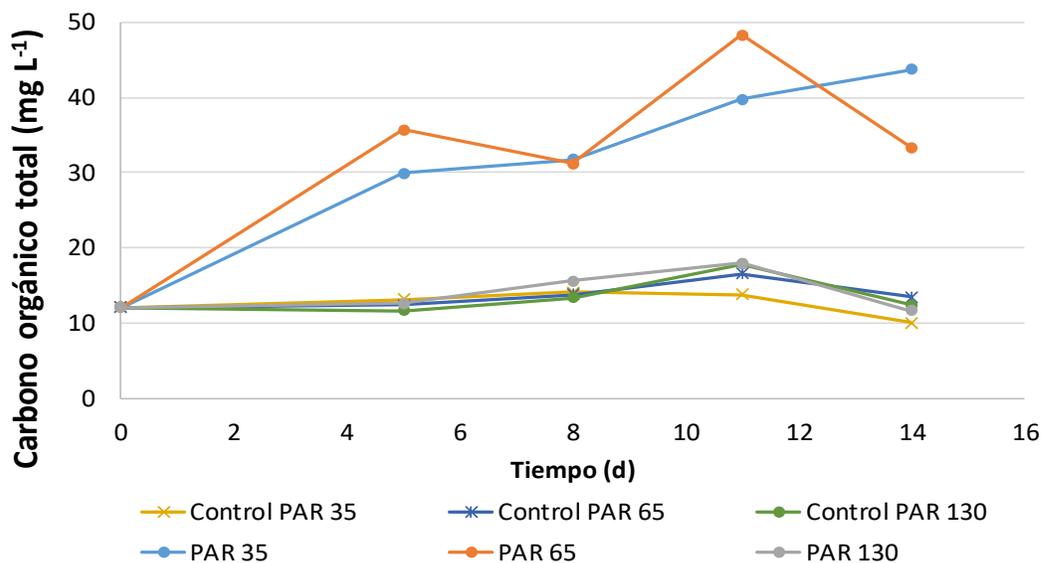


Figura 35. Monitoreo del carbono orgánico total a diferentes intensidades luminosas

En la Figura 35 se observa que los tratamientos a PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) tuvieron la concentración de COT mas alta, posiblemente por a la alta concentración de CO_2 15% (v/v)

en conjunto con la limitación de luz provocaron lisis celular. Esta ampliamente reportado que las concentraciones de $\text{CO}_2 > 5\%$ (v/v) tienen efectos tóxicos en las microalgas (Cheah *et al.*, 2015). Adicionalmente se ha reportado que el carbono orgánico incrementa en los cultivos de microalgas debido a lisis celular (Barsanti y Gualtieri, 2014), es posible que el COT en los tratamientos a PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) sea debido a lisis celular lo cual coincide con las bajas productividades de dichos tratamientos en comparación con sus controles. Adicionalmente, se puede observar que el tratamiento a PAR 130 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$) tiene una baja concentración de COT en comparación con los tratamientos a PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$) no obstante, obtuvo los mayores CCM.

8.5.5 Fijación de Nitrógeno en diferentes intensidades luminosas

En la Figura 36 se observa el monitoreo del nitrógeno total (TN), durante los días de cultivo para los diferentes tratamientos PAR y sus controles.

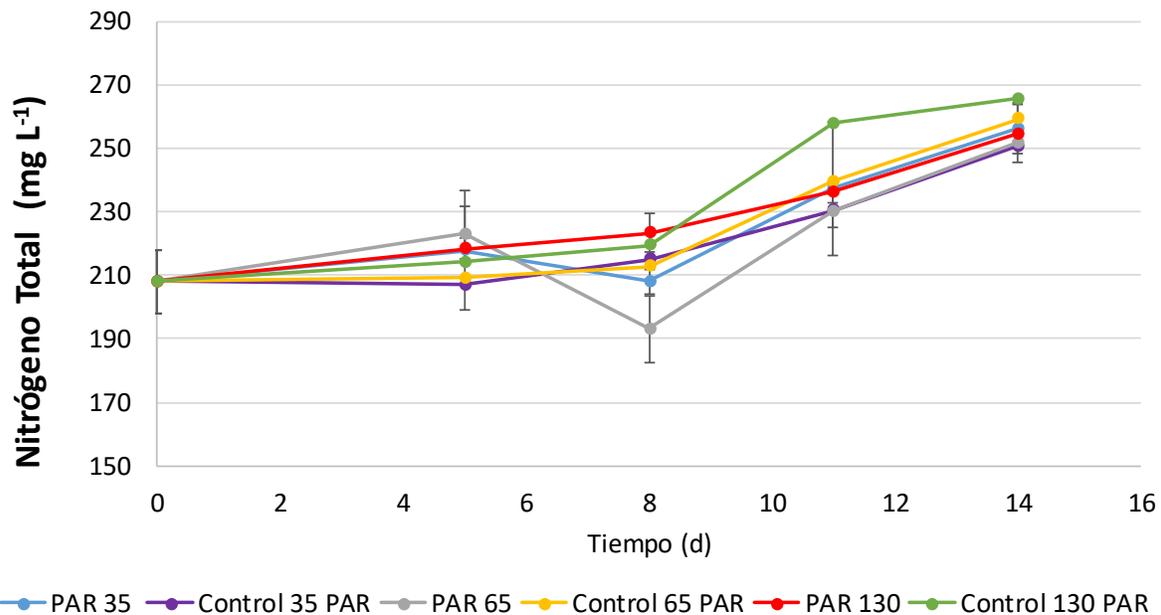


Figura 36. Monitoreo de nitrógeno en los cultivos a diferentes PAR.

En la Figura 36 se muestra que la concentración inicial de nitrógeno total (TN) fue de 210 mg L^{-1} y al finalizar los cultivos la concentración de TN fue alrededor de 250 mg L^{-1} . El incremento de TN fue debido a que el volumen de los cultivos se recuperó con medio BG11

después de cada toma de muestra para las determinaciones analíticas, es decir, se realizó un cultivo en continuo (ver Figura 4 y Determinación de los parámetros cinéticos). El TN fue suministrado a partir de NaNO_3 y el incremento de TN indica que no hubo limitación por nitrógeno.

Tabla 31. Consumo de nitrógeno a diferentes PAR

Intensidad Luminosa ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	PAR 35	PAR 65	PAR 130
Tratamiento ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)	4.5 ± 1.22	4.2 ± 0.3	8.53 ± 1.46
Control ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)	6.02	4.03	8.76

En la Tabla 31 se aprecia que el consumo de nitrógeno fue similar en los tratamientos PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), con Px alrededor de $23 \pm 5 \text{ mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$ mientras que, el tratamiento PAR130 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), obtuvo la mayor Px con $40 \text{ mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$. Respecto a los controles ocurrió el mismo patrón, pues a mayor intensidad luminosa hubo mayor Px, por lo tanto esto explica los consumos de nitrógeno más altos en los tratamientos con mayor concentración de biomasa. Markou *et al.*, (2014), reportaron que el nitrógeno forma parte esencial de la biomasa pues, es necesario para la formación de ácidos nucleicos (DNA Y RNA), aminoácidos y por ende proteínas, así como pigmentos como clorofila y ficocianinas de manera que el nitrógeno es un compuesto estructural de la biomasa.

8.5.6 Perfil bioquímico de la biomasa a diferente intensidad luminosa

8.5.6.1 Contenido de lípidos

Para cuantificar la productividad de los lípidos se empleó la Ecuación 26. El porcentaje de lípidos el consorcio A, en diferentes intensidades luminosas se muestra en la Figura 37. Los

tratamientos se les suministro carga de CO₂ (ver Tabla 19) mientras que, los controles se realizaron sin carga de CO₂.

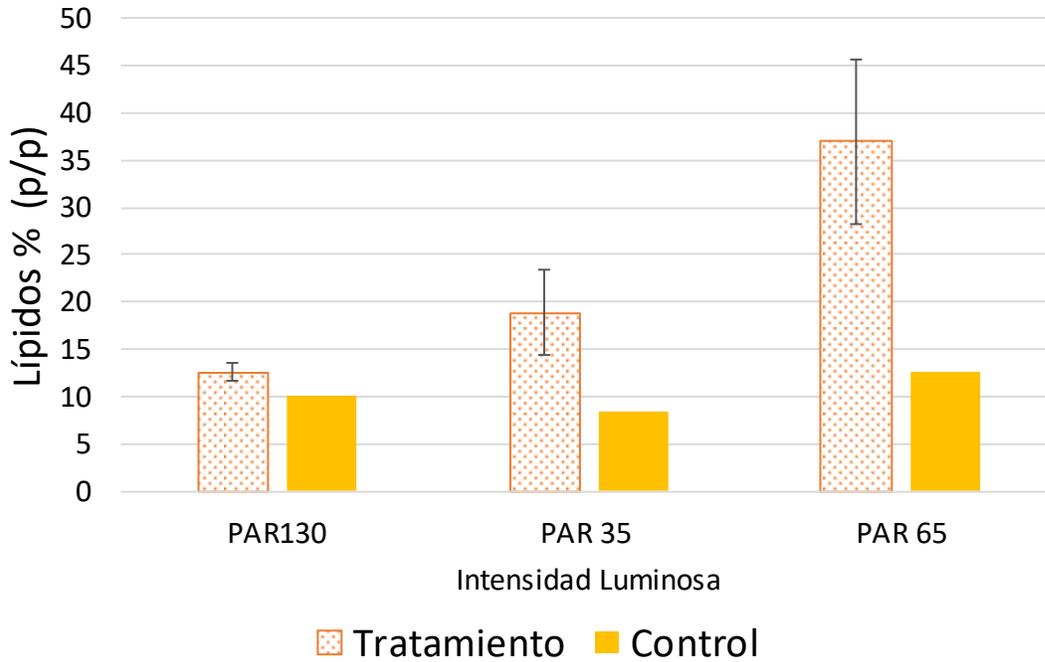


Figura 37. Contenido de lípidos a diferentes intensidades PAR.

En la Figura 37 se aprecia que los tratamientos con carga de CO₂ obtuvieron el mayor porcentaje de lípidos con una intensidad luminosa de PAR 65 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), seguida de PAR 35 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y finalmente la menor acumulación de lípidos se obtuvo a PAR 130 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). En el caso de los controles el patrón fue similar pues el mayor porcentaje de lípidos también se obtuvo a PAR 65 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) aunque, el menor porcentaje de lípidos se obtuvo con PAR 35 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Por lo que, estos resultados sugieren que la intensidad luminosa en conjunto con la carga de CO₂ promueven la acumulación de lípidos.

Tabla 32. Productividad de lípidos a diferentes intensidades PAR

Intensidad luminosa ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	PAR 35	PAR 65	PAR 130
Tratamiento P_L ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)	2.935 ± 0.29	4.180 ± 5.0	14.60 ± 1.0
Control P_L ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)	3.583	3.037	5.82

En la Tabla 32 se observa que los tratamientos con carga de CO_2 lograron una mayor productividad de lípidos respecto a los controles. Para los tratamientos y controles la mayor productividad de lípidos se alcanzó a PAR 65 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$), seguida de PAR 130 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y finalmente la menor productividad de lípidos se obtuvo a PAR 35 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$), de manera análoga con el porcentaje de lípidos en la biomasa.

Kassin *et al.* (2017) cultivaron *Chlorella* sp. bajo las siguientes condiciones: temperatura de 30°C , iluminación de $450 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, en las concentraciones de CO_2 (v/v) 0.04%, 5.0% y 15%, los lípidos obtenidos para dichas concentraciones de CO_2 fueron: 22%, 7% y 8% (p/p), respectivamente. De manera que el incremento en la concentración de CO_2 disminuyó el contenido de lípidos, por el contrario, en este estudio los tratamientos con carga de CO_2 lograron mayor contenido de lípidos sin carga de CO_2 .

Kumar *et al.* (2014) reportaron que *Chlorella sorokiniana* tuvo una concentración de lípidos alrededor de 21 % (p/p), en concentraciones de CO_2 (v/v) de 5% y 15.63% es decir que, *Chlorella sorokiniana* mantuvo una concentración de lípidos semejante, independientemente de la concentración de CO_2 a la que fue expuesta.

Esta ampliamente reportado que el estrés por la limitación de algún nutriente (principalmente nitrógeno), incrementa la acumulación de lípidos (Iasimone *et al.*, 2018). También está reportado de manera general el incremento de la intensidad luminosa mejora el contenido de lípidos, aunque dependerá de la cepa de microalga (He *et al.*, 2015; Iasimone

et al., 2018). Sin embargo, debido a la limitación de nitrógeno hay un efecto negativo en la tasa de crecimiento y productividad de las microalgas (Packer *et al.*, 2011). En este estudio la limitación del sustrato luz en conjunto con la alta concentración de CO₂ promovieron el incremento porcentual lípidos, así como el incremento en la productividad de lípidos (P_L). No obstante, hubo una disminución en la tasa específica de crecimiento y productividades de la biomasa (Figura 30 y Figura 28). Estos hallazgos sugieren un estrés en los cultivos de microalgas por altas concentraciones de CO₂.

Adicionalmente en la Figura 34 se puede observar que los cultivos con mayor concentración de CID (tratamientos PAR 35 y 65 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), son los tratamientos con mayor contenido porcentual y productividad de lípidos (P_L).

Kassim *et al.* (2017), indicaron que las microalgas pueden acumular lípidos hasta el 50% (p/p), aunque de manera general tienen un contenido de lípidos del 20% (p/p). En este estudio el contenido de lípidos para el consorcio “A” (*Chlorella vulgaris* cf.), fue de 37% (p/p) en altas concentraciones de CO₂ por lo que, se obtuvo un porcentaje alto de lípidos.

Toledo- Cervantes *et al.*, (2013) realizaron cultivos en lote de *Scenedesmus obtusiusculus* bajo limitación de nitrógeno, con intensidad luminosa de 54.7 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, con mezclas de CO₂ al 5 y 0.04% (v/v), con 0.8 vvm. Reportaron que con la concentración de 3.0 mg L⁻¹ de nitrógeno obtuvieron el máximo contenido de lípidos. Para las concentraciones de CO₂ 0.04% y 5% (v/v), los contenidos máximos de lípidos fueron 15% y 49%, mientras que las productividades máximas de los lípidos fueron 51 y 200 mgL⁻¹ d⁻¹, respectivamente. En comparación con Toledo- Cervantes *et al.*, (2013), las productividades de lípidos en este estudio fueron muy bajas debido que el porcentaje de lípidos y las tasas de crecimiento fueron menores, adicionalmente las concentraciones de nitrógeno total al inicio del cultivo fueron de 210 mg L⁻¹ y al final del cultivo cercanas a los 250 mg L⁻¹, dichas concentraciones de nitrógeno se incrementaron debido a que se trabajó un cultivo en continuo por lo que, cada toma de muestra se recuperó con medio BG11 fresco.

Iasimone *et al.*, (2018) emplearon consorcios de microalgas provenientes de agua residual, en diferentes intensidades luminosas, suministraron nutrientes a través de alícuotas de agua residual, con una concentración de nitrógeno total cercana a los 100 mg L⁻¹, en su caso el contenido y productividad de lípidos aumentó con el incremento de intensidad luminosa como se observa en la Tabla 33. A diferencia de este estudio, el incremento de intensidad luminosa condujo a una reducción en el contenido y productividad de lípidos.

Tabla 33. Lípidos obtenidos por Iasimone *et al.*, (2018).

Intensidad luminosa	Productividad (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	Contenido (p/p) %
20	39.6	23.4
50	50.4	27.6
100	58.7	29.4

8.5.6.2 Contenido de carbohidratos

Para cuantificar la productividad de los lípidos se empleó la Ecuación 26. En la Figura 38 se aprecia el porcentaje de carbohidratos para el consorcio “A”, bajo diferentes intensidades luminosas. Los tratamientos son cultivos con carga de CO₂ mientras que los controles se realizaron sin carga de CO₂.

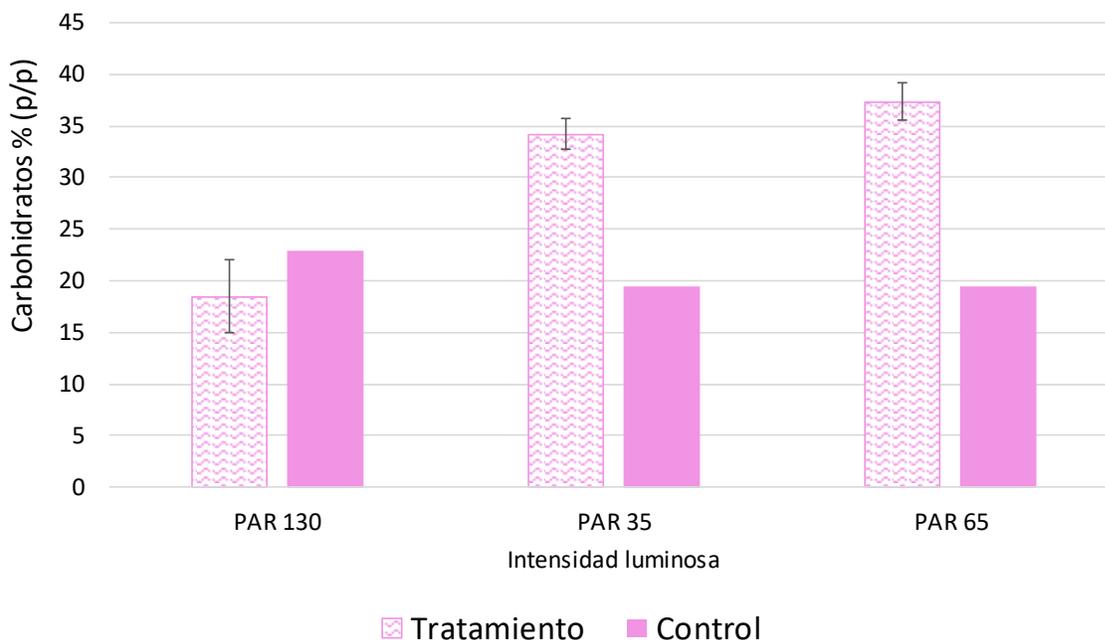


Figura 38. Porcentaje de carbohidratos en diferentes intensidades luminosas.

Como se observa en la Figura 38 en el caso de los tratamientos con carga de CO₂, el mayor porcentaje de carbohidratos se registró a PAR 65 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$), seguido de PAR 35 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y finalmente el menor contenido de lípidos se registró con PAR 130 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$), este patrón fue el mismo que en los lípidos. Sin embargo, en el caso de los controles el porcentaje de carbohidratos más alto fue para PAR 130 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), mientras que PAR 65 y 35 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$) el porcentaje de carbohidratos fue el mismo. También se puede observar que a PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol f m}^{-2} \text{s}^{-1}$) los tratamientos con carga de CO₂ lograron aproximadamente 40% (p/p) más de carbohidratos respecto a los controles.

Está ampliamente reportado que a medida que el nitrógeno se reduce, el contenido de proteínas disminuye, mientras que el contenido de lípidos y carbohidratos aumenta (Toledo- Cervantes *et al.*, 2013; Kassim *et al.*, 2017). En este estudio no hubo restricciones de nitrógeno, como se aprecia en la Figura 34 sin embargo, el mayor contenido de carbohidratos se obtuvo con los tratamientos PAR 35 y 65 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Esto sugiere que, la limitación de la luz en conjunto con la carga de CO₂ propiciaron el incremento de carbohidratos. Está reportado que cuando hay limitación por algún nutriente, las

microalgas comúnmente acumulan carbohidratos y lípidos (Markou *et al.*, 2014), en este sentido el nutriente limitante es la disponibilidad de la luz.

Dragone *et al.*, (2011) indican que la acumulación de carbohidratos en las microalgas habitualmente sucede bajo condiciones de estrés ambiental y también se debe a la deficiencia de nutrientes, por lo que la biomasa tendrá bajas productividades. Los resultados obtenidos indican que la mayor concentración de carbohidratos se obtuvo bajo altas concentraciones de CO₂ 15% (v/v) y limitación de luz a PAR 65 (μmol m⁻² s⁻¹).

Tabla 34. Productividad de carbohidratos en diferentes PAR.

Intensidad luminosa (μmol m ⁻² s ⁻¹)	PAR 35	PAR 65	PAR 130
Tratamiento P _C (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	4.194 ± 0.838	7.548 ± 0.750	14.615 ± 2.92
Control P _C (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	11.702	15.657	22.997

Tabla 35. Contenido de carbohidratos obtenido por Ho *et al.*, (2013).

Cepa	Contenido de Carbohidratos % (p/p)	Productividad de carbohidratos (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	Nitrógeno
<i>C. vulgaris</i> FSP-E 35	12.16	23.26	Sin restricción
<i>C. orbicularis</i> Tai-04	34.05	53.87	
<i>C. vulgaris</i> FSP-E 35	54.13	97.43	Con restricción
<i>C. orbicularis</i> Tai-04	47.35	77.18	

Dragone *et al.*, (2011) reportaron que la acumulación de carbohidratos en las microalgas generalmente ocurre bajo condiciones de estrés ambiental, y comúnmente ocurre por

deficiencia de nutrientes, en este contexto las altas productividades de carbohidratos se asocian con una productividad de biomasa relativamente baja por lo que, comúnmente no es deseable la acumulación de carbohidratos. De manera consistente con Dragone *et al.*, (2011), en este estudio los mayores contenidos de carbohidratos se registraron en los tratamientos con las productividades más bajas de biomasa que corresponden a los cultivos con carga de CO₂ a 35 y 65 PAR. En la Tabla 34 se puede observar que la mayor productividad de carbohidratos se registró en el control a PAR 130 ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), debido a que la productividad de la biomasa alta, por consiguiente la productividad de carbohidratos fue alta.

Ho *et al.* (2013) estudiaron diferentes cepas de *Chlorella* para la generación de carbohidratos con restricción de nitrógeno y sin restricción de nitrógeno bajo las siguientes condiciones de cultivo: temperatura de 28°C, mezclas de CO₂ 2.0 % (v/v), aireación de 0.2 vvm, ciclos de luz -oscuridad 16:8 h, intensidad luminosa de 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y obtuvieron los resultados de la Tabla 35.

Los resultados obtenidos en este estudio son comparables a los obtenidos por Ho *et al.*, (2013), ver la Tabla 35. Pues en los tratamientos con carga de CO₂ se obtuvieron los siguientes resultados: 65 PAR el porcentaje de carbohidratos fue de 37% (p/p), seguido de 34% (p/p) a 35 PAR y finalmente a 130 PAR el porcentaje de carbohidratos fue de 18% (p/p).

Ho *et al.*, (2013), indican que las microalgas *Chlorella sp.* y *Chlamydomonas sp.* se utilizaron ampliamente en estudios para la producción de bioetanol debido a su alto contenido, hasta 55% (p/p) en carbohidratos sin embargo, los carbohidratos son biomoléculas de poco valor por lo que, es preferible el incremento de otros productos de valor agregado como los lípidos o proteínas.

9 Conclusiones

Las microalgas colectadas y cultivadas durante la caracterización cinética corresponden a géneros que han sido reportados con representantes termófilos.

Las capacidades cinéticas (tasa específica de crecimiento, productividad y tasa de fijación de carbono) de los consorcios “A, B y C” mejoraron al incrementar la carga de CO₂ hasta 50 mg L⁻¹d⁻¹.

Las capacidades cinéticas de los consorcios “B y C” fueron afectadas negativamente debido al incremento de temperatura a 40°C, por lo que, las mayores capacidades cinéticas se obtuvieron a 35°C. En contraste el consorcio A obtuvo mejores CCM bajo 40°C de temperatura.

Las capacidades cinéticas mejoraron con el incremento de intensidad luminosa PAR independientemente de la carga de CO₂ empleada.

Las capacidades cinéticas de los tratamientos, en intensidades luminosas de PAR 35 y 65 (μmol f m⁻² s⁻¹), fueron menores respecto a sus controles. Pues las bajas intensidades luminosas restringieron las tasas de fijación de carbono, induciendo un descenso de pH debido a la carga de CO₂.

La capacidad de transferencia de masa (CO₂) teórica para los cultivos de microalgas fue de 6.424 g CO₂ L⁻¹ d⁻¹ a 35 °C mientras que, la máxima tasa de fijación de carbono fue de 72. 4 ± 5.78 mg CO₂ L⁻¹d⁻¹, temperatura de 35°C, mezclas de CO₂ 15% (v/v) y PAR 130 (μmol f m⁻² s⁻¹). Debido a que la transferencia de masa (CO₂) teórica fue un orden de magnitud superior respecto a la tasa de fijación de carbono, la limitante para el tratamiento de CO₂ en condiciones representativas de los gases de combustión fue debida a las capacidades cinéticas de las microalgas.

Los consorcios de microalgas termófilas y termotolerantes cultivados en temperaturas ≥35°C, con concentraciones típicas de los gases de combustión fueron capaces de fijar

carbono. Sin embargo, las tasas específicas de crecimiento y productividades fueron bajas, en comparación con cepas comerciales. No obstante, dichos desempeños cinéticos son equiparables a los reportados para microalgas termófilas.

PERSPECTIVAS:

Los consorcios de microalgas termófilos empleados presentaron capacidades cinéticas bajas para el tratamiento de CO₂ a partir de gases de combustión sin embargo, por su naturaleza termofílica las microalgas podrían contener productos de valor agregado, como proteínas, estables en altas temperaturas, por lo que se recomienda un análisis detallado de la biomasa.

10 Referencias Bibliográficas

Anbalagan, A., Toledo-Cervantes, A., Posadas, E., Rojo, E., Lebrero, R., González-Sánchez, A., Nehrenheim, E. y Muñoz, R. (2017). Continuous photosynthetic abatement of CO₂ and volatile organic compounds from exhaust gas coupled to wastewater treatment: Evaluation of tubular algal-bacterial photobioreactor. *Journal of CO₂ Utilization* (21),353–359.

APHA (2012). *Standard Methods for examination water and waswater*. 20 Ed. APHA, EU. p. 2020.

Aslam, A., Thomas- Hall, S., Mughal, T., Schenk, P. (2017). Selection and adaptation of microalgae to growth in 100% unfiltered coal-fired flue gas. *Bioresource Technology*. (233), 271–283.

Aslam, A., Thomas-Hall, S., Mughal, T., Schenk, P. (2017). Selection and adaptation of microalgae to growth in 100% unfiltered coal-fired flue gas. *Bioresource Technology* (233), 271–283.

- Bahr, M., Díaz, I., Dominguez, A., González-Sánchez, A. y Muñoz Raul. (2014). Microalgal-biotechnology as a platform for an integral biogas upgrading and nutrient removal from anaerobic effluents. *Environmental science & technology*, 48(1) 573–81.
- Barsanti, L. y Gualtieri, P. (2014). *Algae: anatomy, biochemistry and biotechnology*. 2 ed. New York: CRC Press. p.12,17-23.
- Béchet, Q., Shilton, A., Fringer, O.B., Muñoz, R., Guieysse, B. (2010) Mechanistic modelling of broth temperature in outdoor photobioreactors. *Environ Sc Technol*. 44(6), 2197–2203
- Bicudo, C.E. y Menezes, M.A. (2017). *Generos de algas de aguas continentais do Brasil: chave para identificacao e descricoes*. 3a. ed. Sao Carlos: RiMa. 572 pp.
- Bischoff, H.W. y Bold, H.C. (1963). *Phycological studies*. IV. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species. - University of Texas Publications (6318), 1-95.
- Campbell, N. y Jane, R. (2007). *Biología*. España. Panamericana Médica, 184-196.
- Casablanca, F., López, S., Alvero, C., González, G., Lafuente, F., Montesinos, J., Ferrando, C., Valero, F. (1998). *Ingeniería bioquímica*. Editorial síntesis. 350 p.
- Chea, W., Show, P., Chang, J., Chuan, T., Juan, J. (2015). Biosequestration of atmospheric CO₂ and flue gas-containing CO₂ by microalgae. *Bioresource Technology* (184) 190–201.
- Cheah, W., Show, P., Chang, J., Ling, T. y Juan, J. (2015). Biosequestration of atmospheric CO₂ and flue gas-containing CO₂ by microalgae. *Bioresource Technology* (184), 190–201.
- Cheng, J., Huang, Y., Feng, J., Sun, J., Zhou, J., Cen, K. (2013). Improving CO₂ fixation efficiency by optimizing *Chlorella* PY-ZU1 culture conditions in sequential bioreactors. *Bioresour. Technol.*(144), 321–327.
- Chenliang Y., Hong L., Ming L., Chengying Y. y Gurevich Y. (2008) Treating urine by *Spirulina platensis* *Acta Astronautica* (63), 1049 – 1054.
- Chi, Z., O'Fallon, J.V., Chen, S., 2011. Bicarbonate produced from carbon capture for algae culture. *Trends Biotechnol*. 29 (11), 537e541.
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnol. Adv.* (25), 294- 306.

- Cobos-Vasconcelos, D., García- Cruz, E., Franco-Morgado, M., González- Sánchez. (2016). Short-term evaluation of the photosynthetic activity of an alkaliphilic microalgae consortium in a novel tubular closed photobioreactor. *J Appl Phycol* (28),795–802.
- Comas, G. A. 1996. Las Chlorococcales dulceacuícolas de Cuba. Biblioteca Phycologica, Band 99. J. Cramer, Berlin. 192 pp
- De la Mora, C., Flores, E. y Chávez, A. (2013). Calidad del agua del embalse de la presa la vega y su impacto en las tierras agrícolas bajo riego, libro técnico n°6, SAGARPA INIFAP, México, pp. 152.
- Díaz-Vera, A., Anatoly, E., Irina, E. (2014). Bosque de la primavera y su influencia en el clima de Guadalajara. Ediciones EAE, México, pp. 96.
- Doucha, J., Straka, F., Lívanský, K. (2005). Utilization of flue gas for cultivation of microalgae *Chlorella* sp. in an outdoor open thin-layer photobioreactor. *J. Appl. Phycol.* (17), 403–412.
- Dragone, G., Fernandes, B.D., Abreu, A.P., Vicente, A.A., Teixeira, J.A. (2011). Nutrient limitation as a strategy for increasing starch accumulation in microalgae. *Appl. Energy.* 88 (10), 3331–3335.
- Dunn, I.J., Heinzle, E., Ingham, J., Prenosil, J.E. (2003). *Biological Reaction Engineering Dynamic Modelling Fundamentals with Simulation Examples*, 2 Ed. Wiley-VCH GmbH & Co. KGaA. p. 508.
- Franco- Morgado, M., Alcántara, C., Noyola, A., Muñoz, R., González- Sánchez, A. (2017). A study of photosynthetic biogas upgrading based on a high rate algal pond under alkaline conditions: Influence of the illumination regime. *Science of the Total Environment* (592), 419–425.
- González- Sánchez, A. y Posten, C. (2017). Fate of H₂S during the cultivation of *Chlorella* sp. deployed for biogas upgrading. *Journal of Environmental Management.* (191), 252–257.
- González, Calleja, D. (2015). *Motores térmicos y sus sistemas auxiliares*. 2ª ed. Ediciones Paraninfo, SA. pp. 677.
- Hanagata, N., Takeuchi, T., Fukujū, Y., Barnes, D.J., Karube, I. (1992). Tolerance of microalgae to high CO₂ and high temperature. *Phytochemical* 31 (10), 3345– 3348.
- Ho, S., Huang, S., Chen, C., Hasunuma, T., Kondo, A., Chang, J. (2013). Characterization and optimization of carbohydrate production from an indigenous microalga *Chlorella vulgaris* FSP-E. *Bioresource Technology* (135), 157–165.

- Ho, S.-H., Chen, C.-Y., Lee, D.-J., Chang, J.-S. (2011). Perspectives on microalgal CO₂ emission mitigation systems – a review, *Biotechnol. Adv.* (29), 189–198.
- Huertas, I.E., Rouco, M., López-Rodas, V., Costas, E. (2011) Warming will affect phytoplankton differently: evidence through a mechanistic approach. *Proc Biol Sc. The Royal Soc* (278), 3534–3543.
- IPCC. (2014). *Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.* Cambridge University, USA. Pp. 1278.
- Jiang, L., Luo, J., Fan, L., Yang, M., y Guo, B. (2011). Biomass and lipid production of marine microalgae using municipal wastewater and high concentration of CO₂. *Appl. Energy* (88), 3336–3341.
- Jiang, Y.-L., Zhang, W., Wang, J.-F., Chen, Y., Shen, S.-H., Liu, T.-Z. (2013). Utilization of simulated flue gas for cultivation of *Scenedesmus dimorphus*. *Bioresour, Technol*, (128), 359–364.
- Kessler, E. (1985). Upper limits of temperature for growth in *Chlorella*. *Plant Syst Evol* (151), 67–71.
- Knight, J.A., Anderson, S., Rawle, J.M. (1972). Chemical basis of the sulpho- phospho- vanillin reaction for stimating total serum lipids. *Clin. Chem.* (18), 199-202.
- Komárek, J. y Anagnostidis, K. (2002). *Cyanoprokariota 2. Teil: Chroococcales.* Spektrum Akademischer Verlag, Band (19/2) pp. 759
- Komárek, J. y Anagnostidis, K. (1999). *Cyanoprokariota 1. Teil: Oscillatoriales.* Gustav Fischer, Jena Stuttgart Lubeck Ulm, Band. (19/1) pp.548
- Komárek, J. y Fott, B. (1983). *Chlorophyceae (Grünalgen), Ordnung Chlorococcales*
- Kumar K., Dasgupta, Ch., Nayak, B., Lindlad, P., & Das, D. (2011). Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. *Bioresource Technology* (102), 4945–4953.
- Kumar, H.D. y Sing, H.N. (1979). *A text book on algae.* The MacMillan Press LTD. Hong Kong. pp.216
- Kumar, K., Banerjee, D., Das, D. (2014). Carbon dioxide sequestration from industrial flue gas by *Chlorella sorokiniana*. (152), 225-233.

- Kumar, P., Krishna, V., Naidua, S., Verma, K., Bhagawan, D. V., Himabindu V. (2019). Biomass production from microalgae *Chlorella* grown in sewage, kitchen wastewater using industrial CO₂ emissions: Comparative study. *Carbon Resources Conversion. Bioresource Technology*. (2), 126–133.
- Lam, M.K., Lee, K.T., Mohamed, A.R. (2012). Current status and challenges on microalgae-based carbon capture. *Int. J. Greenhouse Gas Control* (10), 456–469.
- Liang, Y., Tang, J., Luo, Y., Kaczmarek, M.B., Li, X., Daroch, M. (2019). *Thermosynechococcus* as a thermophilic photosynthetic microbial cell factory for CO₂ utilisation. *Bioresource Technology* (278), 255–265.
- López-Sandoval, O., Montejano, G., Carmonab, J., Cantoral, E., Becerra-Absalón, I. (2016). Diversidad algal de un ambiente extremo: el manantial geotermal Los Hervideros, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* (87), 1–9.
- Malavasi, V., Soru, S., Cao, G. (2020). Extremophile microalgae: the potential for biotechnological application. *J. Phycol.* (56), 559–573.
- Markou, G., Vandamme, D., y Muylaert, K. (2014). Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients. *Water Research* (65), 186–202.
- Martínez, I. (1992). *Termodinámica básica y aplicada*. Universidad Politécnica de Madrid, Dossat. pp. 642.
- Olaizola, M. (2003). Microalgal removal of CO₂ from flue gases: changes in medium pH and flue gas composition do not appear to affect the photochemical yield of microalgal cultures. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 8 (6), 360–367.
- Packer, A., Andersen, T., Hu, Q., Kuang, Y., Sommerfeld, M. (2011). Growth and neutral lipid synthesis in green microalgae: A mathematical model. *Bioresour. Technol.* (102), 111–117.
- Pires, J.C.M., Alvim-Ferraz, M.C.M., Martins, F.G., Simões, M. (2012). Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: Engineering aspects and biorefinery concept. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. (16), 3043–3053.
- Prihanti, N.B., Pertiwi, Z. D., Yuniati, R., Sjamsuridzal, W., Putrika, A. (2019). The effect of temperature variation on the growth of *Leptolyngbya* (cyanobacteria) HS-16 and HS-36 to biomass weight in BG-11 medium. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 101–105.
- Ras, M., Steyer, J. y Bernard, O. (2013). Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production. *Sci Biotechnol.* (12), 153–164.

- Rippka, R., J. Deruelles, J. Waterbury, M. Herdman and R. Stanier. (1979). Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *J. Gen. Microbiol.* (111), 1-61.
- Sander, R. (2015). Compilation of Henry's law constants (version 4.0) for water as solvent. *Atmos. Chem. Phys.* 4399-4981.
- Sawyer, C., Mc Carty, P. y Parkin, G. (2002). *Chemistry for Environmental Engineering and Science Water Resources and Environmental Engineering*, 5ta Edición, McGraw-Hill Education, pp. 752.
- Sayre, R. (2010). Microalgae: The Potential for Carbon Capture. *BioScience.* (60), 722-727.
- Songolzadeh, M., Soleimani, M., Ravanchi, M., y Songolzadeh, R. (2014). Carbon Dioxide Separation from Flue Gases: A Technological Review Emphasizing Reduction in Greenhouse Gas Emissions. *The scientific world journal.* 2-35.
- Staehr P, Birkeland, J. (2006). Temperature acclimation of growth, photosynthesis and respiration in two mesophilic phytoplankton species. *Phycol.* 45(6),648-656.
- Stepan, D., J., Shockey, R., E., Moe, T., Dorn, R. (2002). Carbon dioxide sequestering using microalgal systems. U.S. Department of Energy, National Energy Technology Laboratory, pp. 27.
- Steward, C. y Hessami, M. (2005). A study of methods of carbon dioxide capture and sequestration the sustainability of a photosynthetic bioreactor approach. *Energy Conversion and Management.* (46), 403-42.
- Sun, Z., Hong, L., Jingmiao, L., Guoping, S. (2017). Estimation of photosynthetically active radiation using solar radiation in the UV-visible spectral band. *Solar Energy.* (153), 611-622.
- Tenney, M., Echelberger, W., Schuessler, R. & Pavoni, J. (1969). Algal flocculation with synthetic organic polyelectrolytes. *Apply Bacteriology.* (18), 965-970.
- Váldez, F.J., Hernández, M.R., Catalá, L. & Marcilla, A. (2012). Estimation of CO₂ stripping/CO₂ microalgae consumption ratios in a bubble column photobioreactor using the analysis of the pH profiles. Application to *Nannochloropsis oculata* microalgae culture. *Bioresource Technology.* (119), 1-6.
- Vinyard, W.C. (1981). *Diatoms of North America.* Mad River Press Inc. p.1300.
- Vuppaladadiyam, A., Yao, J., Florin, N., Wang, A., Labeeuw, L., Jiang, Y., Davis R., Abbas, A., Ralph, P., Fennell, P. y Zhao, M. (2018). Impact of Flue Gas Compounds on

Microalgae and Mechanisms for Carbon Assimilation and Utilization. ChemSusChem Wiley library. (11),334 -355.

Wahidin, S., Idris, A., Shaleh, S.R.M. (2013). The influence of light intensity and photoperiod on the growth and lipid content of microalgae *Nannochloropsis* sp. *Bioresour. Technol.* (129), 7-11.

Wehr, D., Sheath, G y Kociolek, P. (2014). *Freshwater algae of north America: Ecology and classification*, 2 ed. Elsevier Inc. p. 1066.

Xu M, Liu GX, Hu ZY. (2005)Progress of the study on the high-CO₂-tolerant algae and its application in carbon fixation technology. *J Grad School Chin Acad Sci.* 22-35.

Yeh, K.-L., Chang, J.-S. y Chen, W. (2010). Effect of light supply and carbon source on cell growth and cellular composition of a newly isolated microalga *Chlorella vulgaris* ESP-31. *Engineering in Life Sciences.* 10(3),201-208.

Yen, H. W., Ho, S. H., Chen, C. Y., & Chang, J. S. (2015). Removal from flue gas via microalgae cultivation: A critical review. *Biotechnology Journal.* 10(6), 829-839.

Zhang, X. (2015). *Microalgae removal of CO₂ from flue gas.* IEA Clean Coal Centre. P.95

Zhao, B. y Su, Y. (2014). Process effect of microalgal-carbon dioxide fixation and biomass production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* (31), 121-132.

Zhou, W.-G., Chen, P., Min, M., Ma, X.-C., Wang, J.-H., Griffith, R., Hussain, F., Peng, P., Xie, Q.-L., Li, Y., Shi, J., Meng, J.-Z., Ruan, R., (2014). Environment-enhancing algal biofuel production using wastewaters. *Renew. Sustain. Energy Rev.* (36), 256-269.

Reynoso-Cereceda, G., García- Cabrera, R.I., Valdez- Cruz, N., Trujillo, R. (2016). Shaken flasks by resonant acoustic mixing versus orbital mixing: Mass transfer coefficient kLa characterization and *Escherichia coli* cultures comparison. *Biochemical Engineering Journal* (105); 379-390.

11 Anexo

11.1 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar diferencias significativas entre las tasas específicas de crecimiento (μ) en los tratamientos 35, 65 Y 130 PAR con un $\alpha= 0.005$ y 95% de confiabilidad.

Ho: 35 PAR = 65 PAR = 130 PAR

Ha: 35 PAR \neq 65 PAR \neq 130 PAR

Con el ANOVA se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos PAR, por lo que se realizó una prueba de Tukey con un $\alpha= 0.005$ y 95 % de confiabilidad. Finalmente se aplicó una prueba Q, para verificar si los tratamientos tienen efectos idénticos.

ANOVA

<i>Descripción</i>					<i>Alfa</i>	<i>0.05</i>		
					<i>Error</i>			
<i>Grupo</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Media</i>	<i>Varianza</i>	<i>SS</i>	<i>Estándar</i>	<i>Inferior</i>	<i>Superior</i>
35 PAR	3	134.407	44.802	74.433	148.866	5.915	30.330	59.275
65 PAR	3	138.013	46.004	27.488	54.976	5.915	31.532	60.477
130 PAR	3	255.946	85.315	212.919	425.839	5.915	70.843	99.788

<i>Descripción</i>					<i>Alfa</i>	<i>0.05</i>			
					<i>Error</i>				
<i>Grupo</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Media</i>	<i>Varianza</i>	<i>SS</i>	<i>Estándar</i>	<i>Inferior</i>	<i>Superior</i>	
35 PAR	3	134.4071	44.8024	74.4329	148.8658	5.9146	30.3299	59.2748	
65 PAR	3	138.0134	46.0045	27.4878	54.9756	5.9146	31.5320	60.4769	
130 PAR	3	255.9457	85.3152	212.9195	425.8389	5.9146	70.8428	99.7877	

<i>TUKEY</i>						<i>Alfa</i>	<i>0.05</i>	
<i>Grupo</i>	<i>Media</i>	<i>n</i>	<i>ss</i>	<i>df</i>	<i>q- critica</i>			
35 PAR	44.8023768	3	148.8657685					
65 PAR	46.0044652	3	54.97563305					
130 PAR	85.3152474	3	425.8389303					
		9	629.6803318	6	4.339			

RUEBA Q

<i>Grupo</i> <i>1</i>	<i>Grupo</i> <i>2</i>	<i>Media</i>	<i>Error</i> <i>estándar</i>	<i>Q</i> <i>estadístico</i>	<i>Inferior</i>	<i>Superior</i>	<i>P-valor</i>	<i>Media</i> <i>Critica</i>	<i>d-</i> <i>Cohen</i>	
35 PAR	65 PAR	1.202	5.915	0.203	-24.461	26.865	0.989	25.663	0.117	X
35 PAR	130 PAR	40.513	5.915	6.850	14.850	66.176	0.007	25.663	3.955	✓
65 PAR	130 PAR	39.311	5.915	6.646	13.647	64.974	0.008	25.663	3.837	✓

X: No hay diferencias significativas

✓ Sí hay diferencias significativas

AGRADECIMIENTOS

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la Beca Nacional, otorgada para cursar un Programa enlistado en el Padrón del Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC).

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme continuar con mi desarrollo profesional y humano.

Al proyecto CEMIEBIO 247006 del fondo SENER-CONACyT por su apoyo financiero.

Al proyecto PAPIIT IT-100317 por su financiamiento parcial.

Al Dr. Armando González Sánchez por su apoyo permanente, confianza, empeño y paciencia a lo largo de este proceso.

Al Dr. Ignacio Monje Ramírez por el apoyo permanente y las aportaciones realizadas a este trabajo durante todo el proceso.

Al Dr. Raúl Muñoz Torre por la amable disposición y las asesorías durante todo el proceso.

A la Dra. Marcia Morales Ibarría por las aportaciones realizadas a este trabajo.

Al Dr. Julián Carrillo Reyes por las aportaciones realizadas a este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Susana Saval Bohórquez por el invaluable apoyo otorgado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental, IINGEN- UNAM.

Al MsC. Gabriel Renato Castro Núñez por el apoyo otorgado para la colecta y la asesoría en el cultivo de microalgas termófilas.

A la Dra. Gloria Garduño Solórzano por el apoyo en la determinación taxonómica de los consorcios de microalgas.

A la M. Diana Reyes García por la asesoría en el manejo del TOC- L- CSH, Shimadzu, LIA-034.

Al M. Roberto Sotero Briones Méndez por el apoyo, asesoría técnica y analítica.

A la M. Margarita Elizabeth Cisneros Ortiz por el apoyo técnico y la motivación constante.

A la Biól. Diana Lidia Guillen Ruíz por el apoyo en la colecta, así como la asesoría para el cultivo y determinación taxonómica de las microalgas colectadas.

A la M. Denise Reyes García por la asesoría en el manejo del cromatógrafo de Iones LIA-035.

A mis amigos por el apoyo emocional, intelectual y los gratos momentos compartidos: Ana Laura Priego, Andrea García, Arnold Ramírez, Abdiel Olmedo, Brenda Alcántar, Claudia Montoya, Daniela Montaña, Diana Rodríguez, Enrique Romero, Erick Vielma, Guadalupe Ochoa, Isaac Nava, Jazmín Chávez, Marianne Tapia, Melisa Portilla, Reyna Estrada y Verónica Rodríguez.

Dedicatorias:

A mis Abuelitos:

Laurencia García y Refugio García

A mis Tíos:

Amelia García y Alejandro Mondragón