



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

“Efecto de la concentración de dióxido de carbono y agitación del cultivo sobre la fijación de carbono por la microalga *Phaeodactylum tricornutum*, 2018”

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERA AMBIENTAL**

AUTORA:

JERÍ GARCIA, NATHALY JAZMÍN

ASESOR:

Mg. Ing. JUAN ALBERTO PERALTA MEDINA

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

CALIDAD Y GESTIÓN DE RECURSOS NATURALES

LIMA - PERÚ

2018

Página del jurado

.....
Firma
(Presidente)

.....
Firma
(Secretario)

.....
Firma
(Vocal)

Dedicatoria

A mi madre y familia por el respaldo y confianza que siempre han tenido en mí.

Agradecimiento

A mi familia por el apoyo incondicional que siempre me ha brindado para cumplir mis objetivos.

Al ingeniero Manuel Figueroa por darme las facilidades y acceso a las instalaciones del laboratorio de cultivos menores de la Escuela de Ingeniería en Acuicultura de la Universidad Nacional Federico Villarreal para la realización de la primera etapa mi investigación.

A Hanna Hernández bióloga marina de IMARPE, por la disponibilidad para responder cualquier consulta sobre el tema de investigación.

A mi asesor el ingeniero Juan Alberto Peralta por el respaldo y confianza brindada.

Y a cada persona que directa e indirectamente me apoyo para cumplir con mis objetivos.

Declaración de Autenticidad

Yo **Nathaly Jazmín Jerí Garcia** con DNI N° 48045673, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ingeniería, Escuela de Profesional de Ingeniería Ambiental, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

Lima,.....del 2018.

.....

Nathaly Jazmín Jerí Garcia

DNI: 48045673

Presentación

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada “**Efecto de la concentración de dióxido de carbono y agitación del cultivo sobre la fijación de carbono por la microalga *Phaeodactylum tricornutum*, 2018**”, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Ingeniera Ambiental.

La Autora

ÍNDICE

	Pág.
Páginas Preliminares	
Página del jurado	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimiento	iv
Declaración de Autenticidad	v
Presentación	vi
RERUMEN	
ABSTRACT	
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Realidad Problemática	1
1.2. Trabajos previos	2
1.3. Teorías relacionadas al tema	8
1.4. Formulación del problema	21
1.5. Justificación del estudio	22
1.6. Hipótesis	22
1.7. Objetivo	23
II. MÉTODO	23
2.1. Diseño de investigación	23
2.2. Variables	25
2.3. Población y muestra	27
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad	27
2.5. Método de análisis de datos	27
III. RESULTADOS	29
IV. DISCUSIÓN	50
V. CONCLUSIONES	52
VI. RECOMENDACIONES	53
VII. REFERENCIAS	54
ANEXOS	

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura N° 01: Formas típicas de células de la microalga <i>Phaeodactylum tricornutum</i> . A: forma rirradiada. B: forma fusiforme. C, D y E: formas ovaladas.	9
Figura N° 02: Modelo de Fotobiorreactor con agitador.	14
Figura N° 03: Esquema de captura de CO ₂ mediante absorción química.	19
Figura N° 04: Tecnología de captura CO ₂ de antes, durante y después de la combustión.	21
Figura N° 05: Reconocimiento de la cepa de la microalga <i>Phaeodactylum tricornutum</i> .	29
Figura N° 06: Sistema de cultivo con agitación.	30
Figura N° 07: Sistemas con y sin agitación.	31
Figura N° 08: Inoculación de la microalga <i>Phaeodactylum tricornutum</i> en los sistemas con y sin agitación.	32
Figura N° 09: Interior de la cámara de bioseguridad.	32
Figura N° 10: Tanque de CO ₂ y flujometro.	33
Figura N° 11: Medición de pH.	34
Figura N° 12: Rejilla de cámara Neubauer.	35
Figura N° 13: Cámara Neubauer.	36
Figura N° 14: Medición de la densidad final utilizando el hidrómetro.	37
Figura N° 15: Comparación del contenido celular a diferentes concentraciones de CO ₂ y sin agitación el último día de estudio. a) T0 (control), b) T1 (8% CO ₂), c) T2 (25% CO ₂) y d) T3 (50% CO ₂).	39

Figura N° 16: Comparación del contenido celular del a) T0 (control) con agitación y b) T0 (control) sin agitación el último día de estudio.	39
Figura N° 17: Comparación del contenido celular del a) T1 (8% CO ₂), con agitación y b) T1 (8% CO ₂), sin agitación el último día de estudio.	40
Figura N° 18: Comparación del contenido celular del a) T2 (25% CO ₂), con agitación y b) T2 (25% CO ₂), sin agitación el último día de estudio.	40
Figura N° 19: Comparación del contenido celular del a) T3 (50% CO ₂), con agitación y b) T3 (50% CO ₂), sin agitación el último día de estudio.	41
Figura N° 20: Observación en el microscopio de la microalga <i>Phaeodactylum tricornutum</i> el día 0 o de inoculación.	41
Figura N° 21: Observación en el microscopio de la microalga <i>Phaeodactylum tricornutum</i> el día 4 de la muestra control.	42

ÍNDICE DE GRÁFICAS

	Pág.
Gráfico N°01: Crecimiento celular de la microalga <i>Phaeodactylum tricornutum</i> con el tratamiento control (CO ₂ atmosférico) en los sistemas con y sin agitación.	42
Gráfico N°02: Crecimiento celular de la microalga <i>Phaeodactylum tricornutum</i> con el tratamiento uno (8% de CO ₂ v/v) en los sistemas con y sin agitación.	43
Gráfico N° 03: Crecimiento celular de la microalga <i>Phaeodactylum tricornutum</i> con el tratamiento uno (25% de CO ₂ v/v) en los sistemas con y sin agitación.	44
Gráfico N° 04: Crecimiento celular de la microalga <i>Phaeodactylum tricornutum</i> con el tratamiento uno (50% de CO ₂ v/v) en los sistemas con y sin agitación.	45
Gráfico N° 05: Comparación del crecimiento microalgal a diferentes concentraciones de CO ₂ y en un sistema sin agitación.	46
Gráfico N° 06: Comparación del crecimiento microalgal a diferentes concentraciones de CO ₂ y en un sistema con agitación.	46
Gráfico N° 07: Gráfico de efectos principales.	48
Gráfico N° 08: Efectos estandarizados.	48
Gráfico N° 09: Gráfica de interacciones.	49

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla N°01: Descripción de especies marinas y su aplicación a gran escala.	10
Tabla N° 02: Comparación de la tasa óptima de fijación de CO ₂ y el rendimiento de biomasa de diferentes cepas de microalgas.	16
Tabla N° 03: Diseño experimental propuesto.	24
Tabla N° 04: Matriz de operacionalización.	26
Tabla N 05: Técnicas e instrumentos.	27
Tabla N°06: Condiciones iniciales de cultivo.	31
Tabla N°07: Concentraciones de CO ₂ aplicados al medio de cultivo.	33
Tabla N° 08: Resultados de pH el día 6 en la tarde y día 7 en la mañana.	35
Tabla N° 09: Resultados de la densidad celular el último día de cultivo.	36
Tabla N° 10: Resultados del peso de biomasa.	38
Tabla N° 11: Análisis de varianza de los factores y su interacción.	47

RESUMEN

En busca de alternativas para la captura del CO₂ emitido por los gases de combustión, se propone la utilización de las microalgas como agentes de mitigación, superando a las plantas superiores en la capacidad de fijar biológicamente el carbono, además de su gran valor comercial para la industria a través de la obtención de biomasa como materia prima para la generación de otros productos. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del dióxido de carbono a diferentes concentraciones y la agitación del medio de cultivo sobre la fijación de carbono de la microalga *Phaeodactylum tricornutum*. La microalga *Phaeodactylum tricornutum* fue sometida a altas inyecciones de CO₂ puro a diferentes concentraciones (8%, 25% y 50% (v/v)) y una agitación del cultivo constante (6 h/d) durante siete días. El estudio se realizó a condiciones de laboratorio con un volumen de 475 ml en un sistema cerrado. Se analizó la curva de crecimiento de la microalga, sometida a diferentes concentraciones de CO₂ y los efectos de la agitación sobre la fijación del carbono.

La microalga *Phaeodactylum tricornutum* tuvo un aumento de su densidad celular a las diferentes concentraciones de CO₂ sometida y agitación del cultivo en simultáneo, sin embargo presentó un descenso a las mismas concentraciones de CO₂ cuando no se realizó una agitación constante al cultivo. La densidad celular máxima obtenido por la microalga fue de 1.67×10^6 cel/ml a una concentración del 25% de CO₂ v/v y agitación del cultivo sometida al mismo tiempo.

Palabras clave: Microalga, agitación, densidad celular, fijación de carbono.

ABSTRACT

In search of alternatives for the capture of CO₂ emitted by the combustion gases, the use of microalgae as mitigation agents is proposed, surpassing the superior plants in the capacity to fix carbon biologically, in addition to its great commercial value for the industry through the obtaining of biomass as raw material for the generation of other products. The objective of the present study was to evaluate the effect of carbon dioxide at different concentrations and the agitation of the culture medium on the carbon fixation of the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. The microalgae *Phaeodactylum tricornutum* was subjected to high injections of pure CO₂ at different concentrations (8%, 25% and 50% (v / v)) and a constant culture agitation (6 h/d) for seven days. The study was conducted under laboratory conditions with a volume of 475 ml in a closed system. The growth curve of the microalga was analyzed, subjected to different concentrations of CO₂ and the effects of the agitation on the carbon fixation.

The microalgae *Phaeodactylum tricornutum* had an increase in its cell density at the different concentrations of CO₂ submitted and simultaneous agitation of the culture, however it showed a decrease to the same concentrations of CO₂ when there was no constant agitation to the crop. The maximum cell density obtained by the microalga was 1.67×10^6 cel / ml at a concentration of 25% CO₂ v / v and agitation of the culture submitted at the same time.

Key words: Microalgae, agitation, cell density, carbon fixation.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Realidad problemática

El uso y dependencia de los combustibles fósiles desde la revolución industrial hasta la actualidad, han significado un incremento de las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) y un desequilibrio atmosférico. Los GEI contribuyen con el calentamiento global y por consiguiente son la principal causa del cambio climático. Es así que la aplicación de tecnologías alternativas y sostenibles para reducir o potenciar los sumideros de los principales GEI son estrategias que permitirán contribuir a la mitigación del cambio climático.

El dióxido de carbono (CO_2) es el gas de efecto invernadero con mayor porcentaje de emisión a nivel mundial, registrándose emisiones de 32.381 millones de toneladas y 4.97 toneladas métricas per cápita en el año 2014. Siendo la principal fuente de CO_2 la combustión de combustibles fósiles para la generación de energía.

El Perú en el Inventario Nacional de Gases de efecto invernadero en el año 2012 ha registrado 130871.39 gigagramos de CO_2 producido por los sectores energía, procesos Industriales y uso, cambio de uso de suelo y silvicultura. Tras ratificar el Acuerdo de Paris se ha comprometido a reducir el 20% de sus emisiones de gases de efecto invernadero gracias a iniciativas públicas y privadas; y un 10% adicional condicionado a obtener financiamiento internacional para el año 2030 (Minam, 2017), como medida de mitigación del cambio climático.

Una alternativa que se propone para alcanzar las metas propuestas es la aplicación de la biotecnología ambiental en los procesos industriales, además del crecimiento de esta especialidad poco desarrollada en el país (Concytec, 2015). Es así que González, Acién, Fernández y Molina (2011), nos dicen que entre los más importantes microorganismos fotosintéticos para la biofijación de CO_2 se encuentra las microalgas, los cuales son los mayores fijadores naturales de CO_2 del planeta. Es decir, las microalgas se ubican en la parte superior de las opciones por su eficiencia

excepcionalmente alta en conversión de energía, eliminación de CO₂ y el tamaño y utilidad de otros subproductos (Salih, 2011), es decir, las microalgas son superiores en la biofijación de CO₂ que las plantas.

Sin embargo para que este sistema funcione adecuadamente hay que elegir primero un microorganismo con elevada velocidad de crecimiento y robustez, segundo optimizar los sistemas y las condiciones de cultivo para conseguir la mayor fijación de CO₂ posible y finalmente definir las vías de utilización de la biomasa generada (González et al., 2011).

La especie ideal debe tener además alta tolerancia a la concentración de CO₂, concentraciones de contaminantes tóxicos, temperatura, limitación de nutrientes y efecto del pH (Cheah et al., 2014), de tenerse como objetivo la captura de gases de combustión que contienen CO₂ en concentraciones que van del 5 al 15% (v / v).

1.2. Trabajos previos

Jun, et al. (2016) en el artículo titulado “Mejora de la fijación de CO₂ con microalgas mediante rotura de burbujas en estanques de canalización con deflectores de tobogán arriba-abajo” tuvieron como objetivo principal de estudio optimizar la fijación de CO₂ con microalgas. Como método utilizaron gas de aireación que rompió las burbujas en unas más pequeñas para optimizar la fijación de CO₂ en estanques de canalización con deflectores de tobogán ascendente. Además se usó un sistema de fotografía de alta velocidad y sondas de pH precisas en línea para medir la generación de burbujas y los tiempos de permanencia, que se vieron afectados por la velocidad de la rueda de paletas, el diámetro del orificio del aireador, el caudal de gas y la profundidad de la solución. Obteniendo que el menor tiempo de generación y el mayor tiempo de permanencia de las burbujas de aireación promovieron un rendimiento de biomasa del 29%.

Acuña (2016) en su tesis para obtener su master en ingeniería ambiental, titulada “Pre diseño de un sistema para la eliminación biológica de CO₂” tuvo como objetivo hacer el diseño y la construcción de un fotobiorreactor tubular para producir microalgas *Chlorella* usando gases de combustión de una caldera de fuel-oil y eliminar biológicamente el CO₂. Como parte de su metodología se realizó un pretratamiento en un depurador para minimizar los dióxidos de nitrógeno presentados en los gases de combustión e ingresar un flujo de gas de 1,5 m³/s para el tratamiento, finalmente obtuvo una concentración máxima de biomasa de 0.9 g/L.

Oscanoa, et al. (2015) en el artículo titulado “Impacto del CO₂ sobre la densidad celular en seis cepas de microalgas marinas” tuvieron como objetivo general evaluar los tiempos de inyección de CO₂ durante la producción de biomasa que conlleve a una mayor densidad celular. Finalmente los resultados permiten establecer tiempos adecuados de inyección del CO₂, los cuales mejoraron la fase de crecimiento exponencial aumentando la densidad poblacional en un 30% sobre lo establecido en esta fase.

Bingtao, et al. (2015) en el artículo titulado “Fijación de dióxido de carbono y producción de biomasa a partir de gases de combustión utilizando microalgas energéticas” tuvieron como objetivo de estudio fijar el CO₂ de los gases de combustión y cosechar la biomasa de algas para la conversión de energía. Primero se seleccionaron tres microalgas (*Chlorella sp.*, *Isochrysis sp.* y *Amphidinium carterae*) cultivadas a las mismas condiciones en un fotobiorreactor de 1L con una aireación de 15% de CO₂. Finalmente *Chlorella sp.* fue superior a las otras especies, con una tasa de crecimiento específico de 0.328 d⁻¹, una tasa de producción de biomasa de 0.192 g/L.d y una tasa de fijación de CO₂ de 0.353 g/L.d.

Velásquez y Ulate (2015) en el artículo titulado “Diseño, construcción y puesta en marcha de un fotobiorreactor tubular para producir la microalga *chlorella sp.*” tuvieron como objetivo principal diseñar y construir un fotobiorreactor para producir microalgas a partir del aprovechamiento de gases de combustión de una caldera, diseñándose para tratar un flujo de gas

de 50 L min^{-1} y obtener el aprovechamiento máximo de luz solar, incluyendo un pretratamiento para acondicionar los gases de manera que se minimizara el efecto de óxidos de azufre presentes en los gases de combustión. Para finalmente alcanzar una producción de biomasa de 0,574 gramos por litro.

García (2014) en su tesis para obtener el grado de doctor, titulada “Producción de biomasa de microalgas rica en carbohidratos acoplada a la eliminación fotosintética de CO_2 ” tuvo como objetivo evaluar la viabilidad de los sistemas de cianobacterias y/o microalgas para la producción de materia orgánica rica en carbohidratos, incluyendo la eliminación del CO_2 procedente de las emisiones industriales. Para desarrollar su objetivo se caracterizó y seleccionó a dos especies, *Scenedesmus vacuolatus* y *Chlorella vulgaris*, las de mayor potencial para producir biomasa a base del consumo de CO_2 . Se concluyó que ambas son adecuadas para la eliminación de CO_2 y producción de biomasa, sin embargo *Chlorella vulgaris* presentó características de flexibilidad en relación a las condiciones de cultivo a la intemperie.

De Godos, et al. (2014) en su investigación titulada “Evaluación de la transferencia de masa de dióxido de carbono en reactores de canalización para cultivo de microalgas utilizando gases de combustión” tuvieron como objetivo principal evaluar la transferencia de CO_2 en reactores con y sin deflectores. La transferencia de masa de CO_2 del gas de combustión se cuantificó en una pista de 100 m^2 y el sumidero de carbonatación se hizo funcionar con y sin un deflector a diferentes relaciones líquido-gas. Obteniéndose una tasa de transferencia de carbono de 10 gC/min , una productividad de $17 \text{ g/m}^2 \cdot \text{día}$ con solo un 4% de pérdida directa de CO_2 . Finalmente se concluyó que el uso de un deflector de sumidero requiere de una potencia adicional sin mejorar significativamente la transferencia de masa de carbono.

Sankar, Daniel y Krastanov (2014) en su investigación titulada “Fijación de bióxido de carbono por cultivos discontinuos de *Chlorella Minutissima* en un biorreactor de tanque agitado” tuvieron como objetivo realizar un estudio comparativo del crecimiento de tres cepas de microalgas (*Calothrix sp.*,

Spirulina platensis y *Chlorella minutissima*) en relación a los parámetros cinéticos, posibles subproductos, tolerancia al CO₂ y seleccionar la mejor cepa para estudios de pH óptimo, fotoperiodo, concentración de nitrato e intensidad luminosa. El cultivo de microalgas se realizó con agitadores, con diferentes tasas de aireación. Finalmente se obtuvo que de las tres cepas estudiadas, *C. minutissima* era la mejor cepa para seguir trabajando con una productividad máxima de biomasa a pH 6, fotoperíodo 14:10 (luz:oscuro), 5 g/L de nitrato e intensidad de luz de 6000 Lux. Además, el agitador presentó mejores rendimientos de biomasa comparando con el cultivo sin agitador.

Anjos, et al. (2013) en el artículo titulado “Optimización de la bio-mitigación de CO₂ por *Chlorella vulgaris*” tuvo el objetivo principal de maximizar la tasa de fijación de CO₂ por la microalga verde *Chlorella vulgaris* cultivada fotoautótroficamente en fotobiorreactores de columna de burbujas bajo diferentes concentraciones de CO₂ (entre 2% y 10%) y tasas de aireación (desde 0.1 a 0.7 vvm). Los resultados mostraron que la tasa de fijación máxima de CO₂ fue de 2.22 g /L.d usando 6.5% de CO₂ y 0.5 vvm después de 7 días de cultivo demostrando que la optimización de las condiciones de cultivo de microalgas se puede considerar una estrategia útil para maximizar la bio-mitigación de CO₂ por *C. vulgaris*.

Giraldo (2013) en su tesis presentada para obtener el título de Magister “Evaluación de cepas de microalgas para captura de CO₂” tuvo como objetivo general evaluar la producción de biomasa y la productividad a partir de la variación del medio de cultivo y su concentración de NaNO₃ y K₂HPO₄, para cuatro cepas de microalgas seleccionadas experimentalmente en estudios con aire y aire enriquecido con CO₂, obteniendo una diferencia no significativa de la concentración celular de las cepas solo con aire y cepas sometidas a CO₂ (2%), sin embargo *Chlorella* sp. presentó una reducción de 0,24 (g/L) en su concentración celular.

Shuwen, Shengjun y Rongbo (2013) en el artículo titulado “Eficiencia de la fijación de CO₂ por microalgas en un estanque cerrado” tuvieron como objetivo conocer la transferencia de masa de gas-líquido de CO₂ y la eficiencia de fijación de CO₂ por microalgas. Se construyó un estanque de

canal cerrado cubriendo un estanque de canal abierto con una cubierta transparente especialmente diseñada, que tocó directamente la superficie de los medios de cultivo de microalgas. Está cubierta evitó que el CO₂ suministrado escapara a la atmósfera y por lo tanto incrementó el tiempo de retención de CO₂. Finalmente se obtuvo el aumento de la eficiencia de la fijación de CO₂ al 95% bajo burbujeo de gas discontinuo.

Deza (2012) en su tesis titulada “Diseño, construcción y funcionamiento de un sistema fotobioreaccionante para el consumo de CO₂ con *Scenedesmus quadricauda* como agente biodepurante” para obtener su título profesional, tuvo como objetivo diseñar, construir y acondicionar a escala de laboratorio un sistema fotobiorreactor capaz de consumir CO₂ a partir de un balón de gas de CO₂ como fuente originaria y así multiplicar la especie microalgal *Scenedesmus quadricauda* a 0,027 moles CO₂/L y en constante crecimiento en comparación con la ausencia del mismo con apenas 0,014 moles CO₂/L en su pico máximo.

Seijas (2012) en su tesis para obtener el grado de doctor “Biosecuestro de dióxido de carbono, procedente de gases de combustión, por *Arthrospira jenneri* “espirulina” y su influencia en la producción de biomasa microalgal en fotobiorreactor solar” teniendo como objetivo evaluar la biofijación de CO₂ por “espirulina” a través de la determinación de la bioconversión en biomasa microalgal y concentración de O₂ en los gases de salida así como determinar la influencia de CO₂ en la producción de biomasa microalgal en un fotobiorreactor solar concluyendo que *Arthrospira jenneri* “espirulina” tiene la capacidad de emplear el dióxido de carbono secuestrado procedente de gases de combustión para producir biomasa microalgal en un fotobioreactor solar.

Ravelonandro, et. al. (2011) en su investigación titulada “Mejora del crecimiento de *Arthrospira (Spirulina) platensis* de Toliara (Madagascar): Efecto de la agitación, la salinidad y la adición de CO₂” tuvieron como objetivo examinar la influencia de la agitación del cultivo, la salinidad media y la adición de CO₂ (que oscila entre 0 y 2%, v / v) sobre el crecimiento y el contenido de proteína. Las microalgas crecieron en columnas de burbujas a

escala de laboratorio. Finalmente se obtuvo un mejor crecimiento sin una agitación adicional, debido a que las células *Arthrospira (Spirulina) platensis* son frágiles. Además esta especie mostró una mayor tasa de crecimiento específico (máximo) y contenido de proteína para una menor salinidad. Y una mejora de la productividad en casi 60% con una adición de 1% de CO₂.

Martínez (2009) en su tesis presentada para obtener el grado de doctor “Eliminación de CO₂ con microalgas autóctonas” busca determinar la especie microalgal con mayor capacidad de fijar CO₂ y maximizar sus características fotosintéticas en un fotobiorreactor a escala piloto, es por ello que a través del aislamiento de especies autóctonas y sometiendo a altas inyecciones de CO₂ a cada una, identifica como la de mayor potencial a *Synechocystis sp.*, alcanzando fijaciones de CO₂ a escala piloto de 0,84±0,3 g//d.

Fan (2008) en este estudio titulado “Evaluación de un fotobiorreactor tubular helicoidal con membrana de burbujeo para biofijación de dióxido de carbono por *Chlorella vulgaris*” se diseñó un fotobiorreactor tubular helicoidal con membrana (MSTR) con un volumen de cultivo de 800 ml bajo diferentes gases, con el objetivo de comparar el fotobiorreactor MSTR con otros dos fotobiorreactores (BCTR y MCTR) para establecer si la limitación de la eliminación de CO₂ mejoró en MSTR relacionando el pH, oxígeno disuelto, daño y crecimiento celular. Obteniendo como resultado una tasa de crecimiento neto de aproximadamente 0.75-0.95 g/L en su fase estacionaria, además de determinar que el fotobiorreactor MSTR obtuvo los ciclos más cortos.

Sobczuk et. al. (2006) en la investigación titulada “Efectos de la agitación en las microalgas *Phaeodactylum tricornutum* y *Porphyridium*” tuvieron como objetivo determinar los efectos causados por la agitación sobre la microalgas *Phaeodactylum tricornutum* y *Porphyridium*. Se investigó en cultivos aireados continuos y se cuantificó el daño a las células a través de una disminución en la concentración en estado estacionario de la biomasa en el fotobiorreactor. Dando como resultado para una tasa de aireación dada, la concentración de biomasa en estado estacionario aumentó con una velocidad creciente de agitación mecánica hasta que se alcanzó un límite

superior en la velocidad de agitación. Esta velocidad de agitación máxima tolerable varió por cada especie de microalgas. Además un aumento adicional de la velocidad de agitación causó una disminución en la concentración de la biomasa en estado estacionario.

García et. al. (2000) en la investigación titulada “Efectos del estrés mecánico e hidrodinámico en cultivos agitados y espolvoreados de *Porphyridium cruentum*” tuvieron como objetivo evaluar los efectos de las fuerzas mecánicas e hidrodinámicas sobre las células de la microalga *Porphyridium cruentum* en cultivos aireados en recipientes con agitación. Se obtuvo una tasa específica de muerte celular la cual varió linealmente con el área interfacial específica, lo que sugiere la importancia del contacto entre células de burbujas en el proceso dañino. A bajas tasas de agitación mecánica, la ruptura de burbujas en la superficie de cultivo fue la causa predominante de daño. Por el contrario, a mayores intensidades de agitación, el daño celular fue causado predominantemente por el estrés hidrodinámico en el flujo turbulento en masa.

1.3. Teorías relacionadas al tema

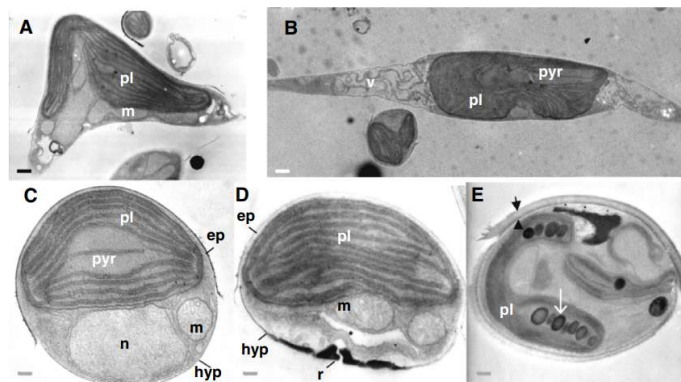
1.3.1. Microalgas

Las microalgas son algas microscópicas, que se caracterizan por encontrarse en sistemas marinos y de agua dulce, capaces de realizar fotosíntesis y con gran importancia para el desarrollo de la vida en la tierra al ser las productoras de la mitad del oxígeno atmosférico y al mismo tiempo usar el CO₂ para crecer fotoautótroficamente. La variedad de las microalgas es muy grande y casi sin explotar (Johansen, 2012).

Asimismo, estos organismos requieren de nutrientes para ser cultivados y de cierta manera adaptarse aún medio acuático artificial. Los requerimientos nutritivos que necesitan son las sales inorgánicas y CO₂, además de principales elementos inorgánicos esenciales como el nitrógeno y el fósforo. Las diatomeas requieren el silicio entre otros nutrientes y vitaminas (Bajpai, Prokop y Zappi, 2014).

1.3.1.1. *Phaeodactylum tricornutum*

Unicelular y normalmente con un cromatóforo marrón parietal en la región central. Tres formas típicas de células: Ovalada de 8 μ de largo x 3 μ de ancho y una válvula de sílice por celda. Las células pueden ser lentamente móviles, o inmóviles en grupos mucilaginosos. Fusiforme de hasta 25-35 μ de largo, con dos brazos, ligeramente doblados y pared de sílice ausente, y de forma trirradiada. Sólo el morfotipo oval presenta estructuras silíceas en su pared celular. En cultivos en medio líquido y con cierta agitación como, son los morfotipos trirradiado y fusiforme los dominantes (Bartual, Villazán y Brun, 2011).



Fuente: De Martino et al. (2011)

Figura N° 01: Formas típicas de células de la microalga *Phaeodactulum tricornutum*. A: forma rirradiada. B: forma fusiforme. C, D y E: formas ovaladas.

La designación taxonómica oficial:

Filo: Chrysophyta

Clase: Bacillariophyceae

Orden: Bacillariales (Hendey, 1937)

Suborden: Phaeodactylinae.

Familia: Phaeodactylaceae

La única familia del suborden.

Género: Phaeodactylum (Bohlin, 1897).

Especie: P. tricornutum. La única especie conocida.

Además se conoce que las diatomeas son más eficaces reteniendo CO₂ que las microalgas de agua dulce porque estas últimas forman un esqueleto carbonatado, lo que provoca que parte de este CO₂ sea devuelto al aire.

Como se observa en la tabla N°01 las especies marinas hasta el momento han sido las más investigadas ya que presentan mayor potencial.

Tabla N°01: Descripción de especies marinas y su aplicación a gran escala.

Especies	Descripción	Composición nutritiva	Sustentabilidad de ser ampliado	Propósito a gran escala
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Del tipo diatomeas. Existen en diferentes formas y morfología.	Se producen altas cantidades de ácidos grasos del tipo C16.	Difícil ya que actualmente no se realizan investigaciones para ampliar este tipo.	Productos nutricionales y producción de biocombustible
<i>Tetraselmis suecica</i>	Clorofita simple y móvil con alto contenido de lípidos.	Altas cantidades de ácidos grasos pueden encontrarse.	Muy adecuado y actualmente utilizado para la acuicultura.	Acuicultura y producción de biocombustible
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	Diatomea pequeña y de rápido crecimiento.	Similar a las 2 anteriores.	Inadecuado ya que los cultivos tienen tendencia a fallar.	-
<i>Isochrysis galbana</i>	Pequeñas algas verdes ovaladas.	Altas cantidades de carbohidratos presentes.	Inadecuado ya que los cultivos tienen tendencia a fallar.	Utilizado en acuicultura para alimentación.

Especies	Descripción	Composición nutritiva	Sustentabilidad de ser ampliado	Propósito a gran escala
<i>Nannochloropsis oculata</i>	Algas flotantes unicelulares, con cloroplasto amarillo-verde.	Altas cantidades de Omega 3.	Se pueden lograr altas tasas de crecimiento por lo que es adecuado para ser ampliado.	Utilizado como productos nutricionales, para la producción de acuicultura y biocombustible

Fuente: Chew et al. (2018)

1.3.1.2. Fotosíntesis en microalgas

La fotosíntesis es un proceso único de conversión de energía solar. En el cual los compuestos inorgánicos y la energía de la luz se convierten en materia orgánica mediante organismos fotoautótrofos productores de oxígeno (cianobacterias procariontas y algas eucarióticas).

La fotosíntesis oxigénica realizada por las microalgas se puede expresar como una reacción rédox desarrollada por la energía de la luz (capturada por moléculas de clorofila), en la que el CO₂ se convierte en carbohidratos y oxígeno. La conversión se divide en dos procesos, las reacciones generadas durante la luz y las reacciones oscuras. En las reacciones de luz, que están unidas a las membranas fotosintéticas, la energía de la luz se convierte en energía química, proporcionando un NADPH₂ reductor bioquímico y un compuesto ATP de alta energía. En las reacciones oscuras, que se producen en el estroma, el NADPH₂ y ATP se utilizan en la reducción bioquímica secuencial del CO₂ a los carbohidratos (Richmond, 2004).

1.3.1.3. El carbono en las microalgas

El carbono en las microalgas es el elemento más abundante, contribuyendo casi el 50% del peso de la biomasa microalgal, además se conoce que al complementar carbono en el cultivo de microalgas aumentará significativamente su productividad. Lo que significa que se necesita un total

de 1,83 toneladas de CO_2 para producir 1 tonelada de microalgas (Shuwen, Shengjun y Rongbo, 2013).

Cuando el carbono está disuelto en agua, existen tres formas químicas principales interconvertibles de carbono inorgánico disuelto CO_2 (aq), HCO_3^- y CO_3^{2-} cuyas concentraciones varían en función del pH del medio acuoso. Aunque el HCO_3^- es fácilmente absorbido por las células de las microalgas, se conoce que el CO_2 es la fuente más preferida de carbono inorgánico. Sin embargo, a $\text{pH} > 10.3$ domina la forma CO_3^{2-} , que por lo general es una forma inutilizable y no disponible para la absorción de las microalgas (Bajpai, 2014). Esto indica que la medición del pH antes y después de ingresar CO_2 como fuente de carbono inorgánico sería un indicador indirecto de que la microalga está absorbiendo el CO_2 .

1.3.1.4. Crecimiento microalgal

El crecimiento microalgal o biomasa se puede expresar en función del incremento de la masa del cultivo o el incremento del número de células (Gamazo, 2013).

Este crecimiento puede ser calculado por diferentes métodos, como el conteo celular a través del microscopio, el cual es uno de los más utilizados en los laboratorios (Arredondo y Voltolina, 2007).

Entre los factores que influyen el crecimiento de las microalgas está el pH, temperatura, agitación, aireación, CO_2 e iluminación (Niño, 2017). Siendo el consumo de CO_2 fuente de carbono para el crecimiento celular (Chen et al., 2010). Además de conocerse que 1 kg de biomasa de microalgas puede secuestrar 1,83 kg de dióxido de carbono (Jiang et al., 2013).

1.3.1.5. Parámetros que influyen en el crecimiento de las microalgas

A. Luz

La fuente de energía más común para las microalgas es la luz solar. Aunque los requerimientos de intensidad de luz de las microalgas típicas son relativamente bajas en comparación con los de las plantas, las microalgas por lo general aumentan (Kumar et al., 2010).

B. Agitación del medio de cultivo

La agitación del medio de cultivo tiene una influencia directa sobre la transferencia de masa, siendo la transferencia de masa importante para la difusión e ingreso del CO_2 a la célula (Rubio y Moreno, 2017).

C. pH

Por lo general las microalgas presentan un pH neutro, aunque existen especies que son capaces de tolerar pH superiores o inferiores al neutro. Se conoce la existencia de una relación compleja entre la concentración de CO_2 y el pH en los sistemas de fotobiorreactores de microalgas, debido a los equilibrios químicos entre especies químicas como el CO_2 , H_2CO_3 , HCO_3^- y CO_3^{2-} . Las concentraciones de CO_2 al aumentar puede generar una mayor productividad de biomasa, pero el pH disminuirá y quizás tener un efecto negativo sobre la fisiología de las microalgas. Sin embargo, se ha demostrado que las microalgas causan un aumento en el pH generando un beneficio al inactivar a los agentes patógenos (Kumar et al., 2010).

D. Nutrientes

Las microalgas pueden vivir a altas concentraciones de dióxido de carbono, gases de invernadero y dióxido de nitrógeno pudiendo ser nutrientes suficientes para las microalgas (Van Beilen, 2010) Además de que casi el 50 % de la biomasa de las microalgas se compone de carbono (Becker, 1994), obtener este elemento es importante para el crecimiento celular.

1.3.2. Sistemas de cultivo

1.3.2.1. Abiertos

Los sistemas de cultivos abiertos son vulnerables a los cambios de temperatura e iluminación debido a las condiciones climáticas, lo que dificulta mantener condiciones óptimas de crecimiento. Es así que normalmente se obtienen densidades de células bajas (Bux, 2013).

1.3.2.2. Cerrados

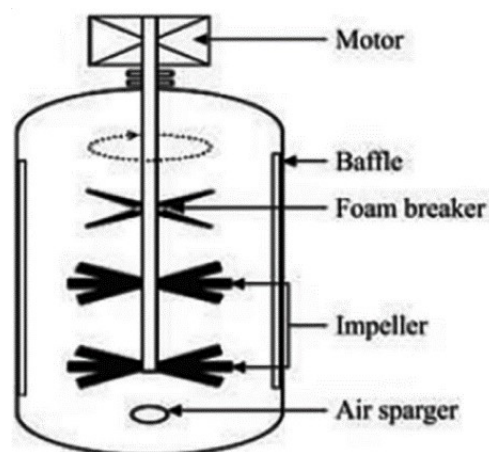
Los fotobiorreactores empleados para cultivar microalgas incluyen reactores tubulares horizontales, tubulares verticales, tubulares helicoidales, tipo fermentador, reactores de membrana de fibra hueca, etc. Los fotobiorreactores pueden ofrecer tasas de producción mayores, siempre que se introduzcan mejoras con respecto a la luz, utilización del CO₂, transferencia y mezcla de gases y cosecha. Sin embargo, ningún fotobiorreactor aún es capaz de controlar efectivamente todos los parámetros del proceso que se requieren para un máximo crecimiento de las microalgas y sus tasas metabólicas (Kumar, 2010).

Fotobiorreactor de tanque agitado

El tanque agitado deriva del diseño del tanque de fermentación, teniendo como única diferencia la adición de iluminación externa.

Se ha registrado que el tanque agitado presenta un alto rendimiento, al proporcionar una buena mezcla y transferencia en el cultivo, donde la adición de aireación incluso podría mejorar la solubilidad del gas (Ting et al., 2017).

El desarrollo del reactor de tanque agitado (Figura N° 02) para incrementar la concentración de biomasa podría conducir a un diseño a gran escala más prometedor (Chew, 2018).



Fuente: Ting et al. (2017)

Figura N° 02: Modelo de Fotobiorreactor con agitador.

1.3.3. Las microalgas como alternativa de captura de CO₂

1.3.3.1. Potencial de las microalgas para capturar CO₂

Las microalgas son 10 veces más eficientes utilizando la luz que las plantas terrestres; mayor eficiencia para dirigir la energía hacia el crecimiento, tasas de crecimiento más rápidas, mayor índice de fijación de CO₂, fácil cultivo y cosecha de productos de valor agregado en comparación con otras plantas (Xie et al., 2014). Sin embargo a pesar de ser viables por sus capacidades, la viabilidad económica aún está en proceso de investigación. Es por eso que las investigaciones de optimización de los procesos de cultivos son de gran relevancia para el desarrollo de las microalgas a gran escala.

1.3.3.2. Fijación de carbono en las microalgas

La fijación de carbono se representa con el ciclo Calvin-Benson-Bassham, mecanismo de fijación de CO₂ cuantitativamente más importante en la naturaleza. Se encuentra en la mayoría de los organismos aeróbicos autótrofos, desde diversas bacterias fotosintéticas y quimiolitotróficas hasta cloroplastos de algas eucariotas y plantas superiores. Se centra en los carbohidratos, siendo el 1,5-bisfosfato de ribulosa el aceptor de CO₂ (Aresta, 2010).

Las microalgas convierten la energía de la luz en energía química y simultáneamente el CO₂ se fija y se transfiere a compuestos que contienen carbono, como carbohidratos, lípidos y proteínas. Por lo tanto, la capacidad de fijación de CO₂ se refleja en la concentración celular de las microalgas (Zeng et al., 2010).

Una alta concentración de CO₂ como suplemento podría estimular que las microalgas crezcan más rápido en comparación con el aire atmosférico (Lam, Lee y Mohamed 2012).

La biofijación del CO₂ puede ser realizado por las plantas superiores, aunque las microalgas poseen una mayor capacidad para fijar el CO₂. La capacidad de biofijación o tolerancia de varias especies de microalgas a la

concentración de CO₂ varia (Kumar, 2010). En la Tabla N° 02, se muestra las tasas de fijación de CO₂ de diferentes especies.

Tabla N° 02: Comparación de la tasa óptima de fijación de CO₂ y el rendimiento de biomasa de diferentes cepas de microalgas.

Microalga	Tolerancia a la concentración de CO ₂ (%)	Tasa de fijación de CO ₂ (g/L/d) o porcentaje de eliminación (%)	Rendimiento de biomasa (g/L)	Sistema de cultivo
<i>Anabaena sp.</i>	10	1.01	-	Fotobiorreactor de burbujas
<i>Botryococcus braunii</i>	10	0.5	3.11	Fermentador
<i>Botryococcus braunii</i>	10	-	3.05	-
<i>Chlorella</i>	10	-	5.77	Fotobiorreactor de burbujas
<i>Chlorella</i>	15	0.46	1.88	Reactor de vidrio cilíndrico con extremos cónicos
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	10	0.26	1.55	matraz erlenmeyer
<i>Chlorella sp.</i>	5	35%	3.46	Tubo céntrico poroso
<i>Chlorella sp.</i>	5	24%	2.37	Columna de burbuja
<i>Chlorella sp.</i>	15	-	1.66	Biorreactor
<i>Chlorella sp.</i>	-	1.38	5.41	Fotobiorreactor de burbuja

Microalga	Tolerancia a la concentración de CO ₂ (%)	Tasa de fijación de CO ₂ (g/L/d) o porcentaje de eliminación (%)	Rendimiento de biomasa (g/L)	Sistema de cultivo
<i>Chlorella sp.</i>	5	0.7	2.02	Fotobiorreactor tubular vertical
<i>Chlorella vulgaris</i>	10	0.25	1.94	Fermentador
<i>Chlorella vulgaris</i>	0.093	3.55	0.9	Membrana helicoidal
<i>Chlorella vulgaris</i>	1	6.24	-	Fotobiorreactor de membrana
<i>Chlorella vulgaris</i>	2	0.43	2.03	Fotobiorreactor tubular vertical
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	10	0.27	2.15	Fermentador
<i>Scenedesmus</i>	15	0.61	2.73	Reactor de vidrio cilíndrico con extremos cónicos
<i>Scenedesmus obliquus</i>	20	61.8%	0.948	Fotobiorreactor de elevación de aire
<i>Scenedesmus obliquus</i>	10	0.29	1.84	matraz erlenmeyer

Fuente: Lam (2012)

1.3.4. Dióxido de Carbono

Considerado el principal gas causante del cambio climático debido a sus propiedades de invernadero y a la acumulación continua en la atmósfera (0.0387% v/v). Se encuentra principalmente en un conjunto de gases producidos por la actividad humana, como los procesos industriales donde se genera gases de combustión por quema de combustibles fósiles sólidos

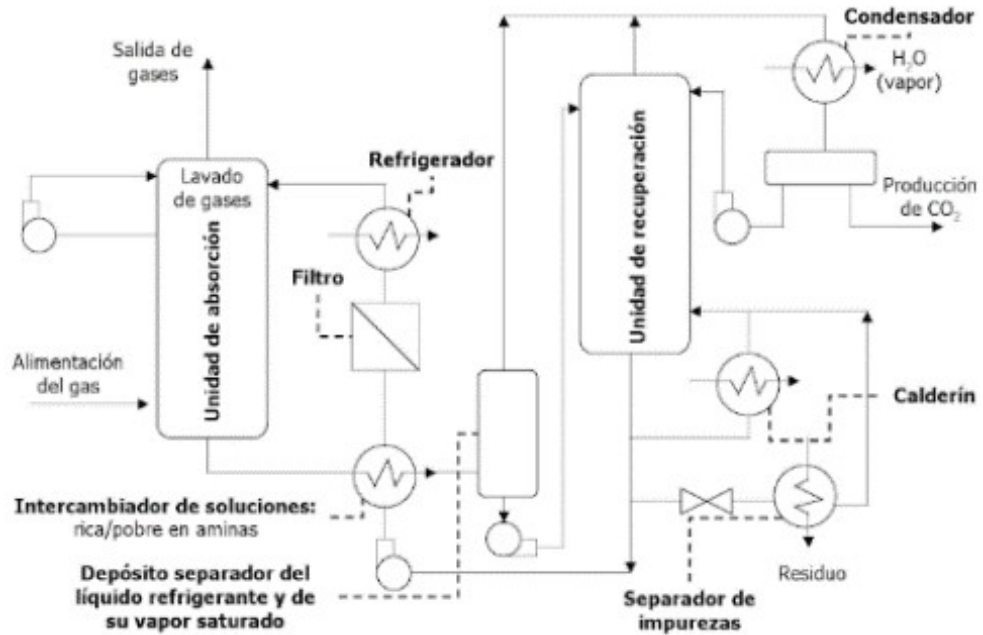
y líquidos, los cuales incrementan la capacidad de la atmósfera para retener el calor (Appenzeller, 2004). En la naturaleza, el ciclo del carbono tiene la capacidad de reciclar unas 203 gigatoneladas (Gt) de dióxido de carbono (CO_2) por año. Sin embargo, el dióxido de carbono antropogénico llega a 7 Gt por año, una cantidad relativamente pequeña, no pudiendo ser reciclado por el ciclo natural del carbono (Aresta, 2010). Como resultado del exceso de CO_2 y acumulación en la atmósfera se conduce a la expansión del efecto invernadero.

1.3.4.1. Tecnologías actuales de captura de CO_2 y sus limitaciones

A. Absorción química

El sistema consta en un líquido con alta capacidad de reacción química con el CO_2 . Los productos utilizados comúnmente con las aminas como ejemplo están los monoetanolamina, dietanolamina, metildietanolamina. La facilidad para enlazarse con el CO_2 se debe a los tres radicales libres del grupo nitro que tiene la amina (Llamas, 2009). Sin embargo, la principal limitación en este proceso (Figura N° 02) es la energía intensiva requerida durante la regeneración de la solución de monoetanolamina (aprox. 3.7 GJ por tonelada de CO_2 emitiendo alrededor de 352 kg de CO_2 para absorber 1 tonelada de CO_2 por la solución monoetanolamina. Otro problema presente en el proceso de absorción-desorción de las aminas es que la solución puede reaccionar fácilmente con SO_2 . Incluso, puede reaccionar con el oxígeno en los gases de combustión, produciendo productos de degradación corrosivos y causando la corrosión de los equipos (Lam, 2012).

Sistema de recuperación de CO₂ basado en aminas.
Err-McGee/Lummus Crest MEA.



Fuente: Llamas (2009)

Figura N° 03: Esquema de captura de CO₂ mediante absorción química.

B. Adsorbentes sólidos

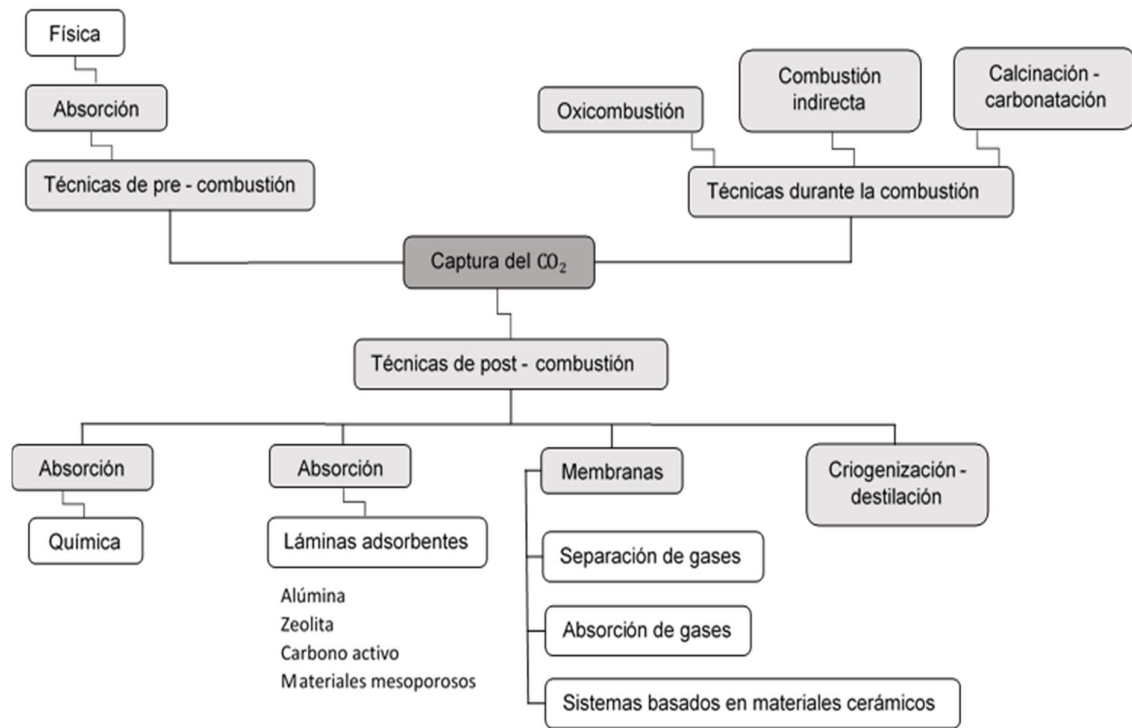
Entre los adsorbentes de CO₂ están el carbón activado, zeolita, CaO, etc. Sin embargo la principal desventaja de usar adsorbente sólido para capturar CO₂ es realizar un pre tratamiento al gas de combustión antes de canalizar al adsorbedor. Esto se debe a que el alto contenido de humedad en el gas de combustión puede contaminar los adsorbentes y, por lo tanto, se requiere la regeneración frecuente de adsorbentes. Otros problemas que se presentan en este proceso es la baja capacidad de adsorción de adsorbentes, requisito para crear alta presión o alta temperatura dependiendo de la configuración del adsorbedor y la vida útil de los adsorbentes (Lam, 2012).

C. Tecnología de membrana

La tecnología de membrana se presenta por la interacción física o química que tienen los gases y las membranas utilizadas, haciendo que el gas se transfiera más rápido a través de la membrana, actuando como un filtro (Llamas, 2009).

A diferencia del proceso de absorción química el consumo de energía para separar el CO₂ de los gases de combustión es mucho menor. Sin embargo, el rendimiento de las membranas siempre se ve afectado por la temperatura de funcionamiento y, por lo tanto, el enfriamiento de los gases de combustión calientes es esencial para mantener la eficiencia óptima del proceso de separación. Además, del alto contenido de humedad en los gases de combustión también influye en la permeabilidad y plastificación de la membrana. Existen también limitaciones por los altos costos de fabricación de la membrana, ya que requiere un efecto de incrustación y un área de superficie alta para acomodar la alta velocidad de flujo de los gases de combustión industriales (Lam, 2012).

Actualmente estas tecnologías se aplican antes, durante y después la combustión como se detalla en la Figura N° 04.



Fuente: Llamas (2009)

Figura N° 04: Tecnología de captura CO₂ de antes, durante y después de la combustión.

1.4. Formulación del problema

1.4.1. Problema General

- ¿Cuál es el efecto de la concentración de dióxido de carbono y la agitación al medio de cultivo sobre la fijación de carbono por la microalga *Phaeodactylum tricornutum*?

1.4.2. Problemas Específicos

- ¿Cuál es la concentración de dióxido de carbono que incrementa la densidad celular de la microalga *Phaeodactylum tricornutum*?
- ¿La agitación del medio de cultivo incrementa la densidad celular de la microalga *Phaeodactylum tricornutum*?

1.5. Justificación del estudio

La presente investigación se justifica a nivel técnico porque pretende llenar algunos vacíos sobre el uso y cultivo de microalgas, el cual está tomando relevancia a nivel mundial debido a su capacidad de absorción de contaminantes, producción de biomasa con fines comerciales y fijación del CO₂. Dependiendo estos objetivos directamente del sistema de cultivo, de la o las especies cultivadas y los factores ambientales (Hernández & Labbé, 2014).

Asimismo, presenta también una utilidad de uso práctico, al permitir reducir las emisiones y potenciar los sumideros de CO₂ emitido por los gases de combustión producido por actividades antropogénicas.

Por otro lado la investigación metodológicamente se justifica porque servirá como referencia para la mejora en la aplicación y experimentación del uso y cultivo de microalgas, teniendo como objetivo, incrementar la productividad del cultivo de microalgas para fijar biológicamente el carbono, además de su gran valor comercial para la industria a través de la obtención de biomasa como materia prima para la generación de otros productos.

Finalmente presenta una importancia social, ya que al mejorar las condiciones del sistema de cultivo de las microalgas se está contribuyendo con una alternativa más viable para la mitigación del cambio climático.

1.6. Hipótesis

1.6.1. Hipótesis General

- El efecto de la concentración de dióxido de carbono y la agitación al medio de cultivo sobre la fijación de carbono por microalga *Phaeodactylum tricornutum* es significativo.

1.6.2. Hipótesis Específicas

- La concentración de dióxido de carbono que incrementa la densidad celular de la microalga *Phaeodactylum tricornutum* es 25%.
- La agitación del cultivo incrementa la densidad celular de la microalga *Phaeodactylum tricornutum*.

1.7. Objetivo

1.7.1. Objetivo general

- Evaluar el efecto de la concentración de dióxido de carbono y la agitación al medio de cultivo sobre la fijación de carbono por la microalga *Phaeodactylum tricornutum*.

1.7.2. Objetivos Específicos

- Determinar la concentración de dióxido de carbono que incrementa la densidad celular de la microalga *Phaeodactylum tricornutum*.
- Determinar si la agitación del cultivo incrementa la densidad celular de la microalga *Phaeodactylum tricornutum*.

II. MÉTODO

2.1. Diseño de investigación

Según la clasificación dada por Hernández (2014), el diseño de investigación es:

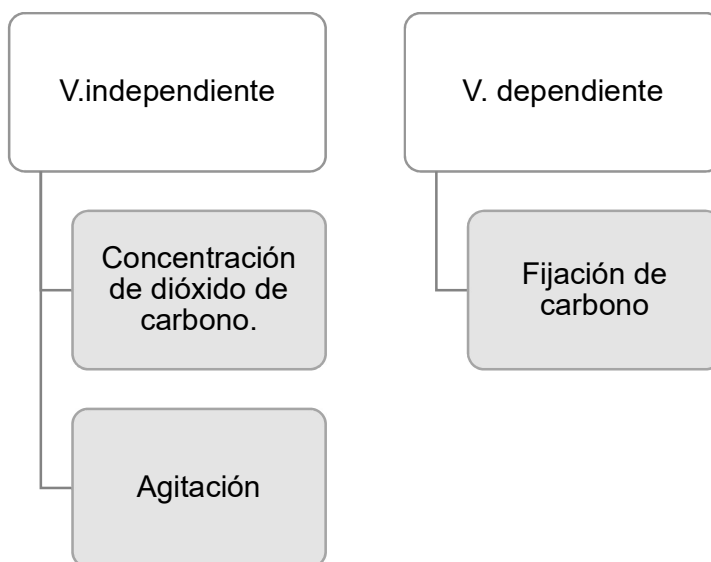
Experimental

La presente investigación es de tipo experimental ya que se desea comprobar los efectos de una intervención específica, ya que el investigador influye de manera activa en la investigación, pues lleva a cabo una intervención (Behar, 2008), además de cumplir el requisito de toda investigación experimental; la manipulación intencional de una o más variables independientes (Hernández-Sampieri, 2014).

Diseño factorial

Los diseños factoriales manipulan dos o más variables independientes e incluyen dos o más niveles o modalidades de presencia en cada una de las variables independientes (Hernández-Sampieri, 2014). El diseño propuesto en la investigación se observa en la Tabla N° 03.

Esquema de experimento y variables:



Simbolización:

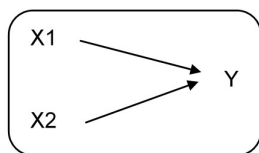


Tabla N° 03: Diseño experimental propuesto.

Tratamientos	Sistemas		Repeticiones	
	Con agitación (A)	Sin agitación (B)	Con agitación (A)	Sin agitación (B)
T0 (control)	T0-A	T0-B	T0-A1	T0-B1
			T0-A2	T0-B2
T1 (8% de CO ₂)	T1-A	T1-B	T1-A1	T1-B1
			T1-A2	T1-B2
T2 (25% de CO ₂)	T2-A	T2-B	T2-A1	T2-B1
			T2-A2	T2-B2
T3 (50% de CO ₂)	T3-A	T2-B	T3-A1	T3-B1
			T3-A2	T3-B2

Fuente: Elaboración propia.

2.2. Variables, operacionalización

Se describe la variable y dimensiones que serán utilizadas para la determinación de los objetivos.

2.2.1. Variable independiente

Cuantitativa

- Concentración de dióxido de carbono
- Agitación

2.2.2. Variable dependiente

Cuantitativa

- Fijación de carbono

En la Tabla N° 04, se describe la operacionalización de las variables y sus dimensiones.

Tabla N° 04: Matriz de operacionalización.

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Indicadores
Fijación de carbono	El CO ₂ se fija en las células microalgales y se transfiere a compuestos que contienen carbono, como carbohidrato, lípidos y proteínas. Por lo tanto, la capacidad de fijación de CO ₂ se refleja en la concentración celular de las microalgas (Zeng et al., 2010).	Se determinará la fijación de carbono calculando la densidad celular de la microalga <i>Phaeodactylum tricornutum</i> .	Densidad celular	Cel/ml
Concentración de dióxido de carbono	Gas de efecto invernadero, principalmente producido por la actividad humana, como la quema de combustibles fósiles sólidos y líquidos, los cuales incrementan la capacidad de la atmósfera para retener el calor (Appenzeller, 2004).	Se determinará las tres concentraciones de CO ₂ diferentes más un control (0%, 8%, 25%, 50% CO ₂ v/v) midiendo el volumen que ingresa al cultivo sobre el volumen total y la medición de los parámetro de cultivos.	Dosis	v/v
			Parámetros de cultivo	pH
				μS/cm
				°C
Agitación	Influencia directa sobre la transferencia de masa, siendo la transferencia de masa importante para la difusión e ingreso del CO ₂ a la célula (Rubio y Moreno, 2017).	Se determinará la agitación calculando las revoluciones por minuto y el tiempo de aplicación de las paletas utilizadas para la agitación.	Tiempo de agitación	Horas
			Velocidad de agitación	rpm

Fuente: Elaboración propia

2.3. Población y muestra

Población

La población de este estudio fue de 475 ml de cultivo de la microalga *Phaeodactylum tricornutum*.

Unidad de análisis

La unidad de análisis fue la microalga *Phaeodactylum tricornutum*, obtenida del laboratorio de la Escuela de Ingeniería en Acuicultura de la Universidad Nacional Federico Villarreal.

Muestra

Para el proceso cuantitativo, la muestra es un subgrupo de la población de interés sobre el cual se recolectarán datos (Hernández-Sampieri, 2014). Es por eso que la muestra de esta investigación estuvo representada por un 1ml de cultivo de la microalga *Phaeodactylum tricornutum*.

2.4. Técnicas e instrumentos de datos, validez y confiabilidad

2.4.1. Técnicas e instrumentos

Las técnicas e instrumentos utilizados se detallan en la tabla N°05.

Tabla N 05: Técnicas e instrumentos

Objetivo Específico	Técnica	Herramienta
Determinar la concentración de dióxido de carbono que incrementa la densidad celular de la microalga <i>Phaeodactylum tricornutum</i> .	Observación experimental y medición directa	Hoja de registro

Objetivo Específico	Técnica	Herramienta
Determinar si la agitación del cultivo incrementa la densidad celular de la microalga <i>Phaeodactylum tricorutum</i> .	Observación experimental y medición directa	Hoja de registro

Fuente: Elaboración propia

2.4.2. Validez y confiabilidad

Validez

La validez se refiere al grado en que un instrumento mide realmente la variable que pretende medir (Hernández-Sampieri, 2014).

Para determinar la validez de los instrumentos se sometió las fichas de recolección de datos al juicio de tres expertos.

Confiabilidad

La confiabilidad de un instrumento de medición se define como el grado en que su aplicación repetida al mismo individuo u objeto produce resultados iguales (Hernández-Sampieri, 2014).

2.5. Métodos de análisis de datos

Los resultados de los tratamientos realizados serán analizados mediante el diseño factorial completo de múltiples niveles (4×2), a un nivel de significación del 95% ($p=0,05$). Para el análisis descriptivo se empleó el software Excel y para el análisis inferencial Minitab 18.

III. RESULTADOS

3.1. Procedimiento

3.1.1. Pre-cultivo de la microalga *Phaeodactylum tricornutum*

La cepa de la microalga *Phaeodactylum tricornutum* (Figura N° 04) fue obtenida de la colección de cepas del laboratorio de cultivos menores de la Escuela de Ingeniería en Acuicultura de la Universidad Nacional Federico Villarreal.

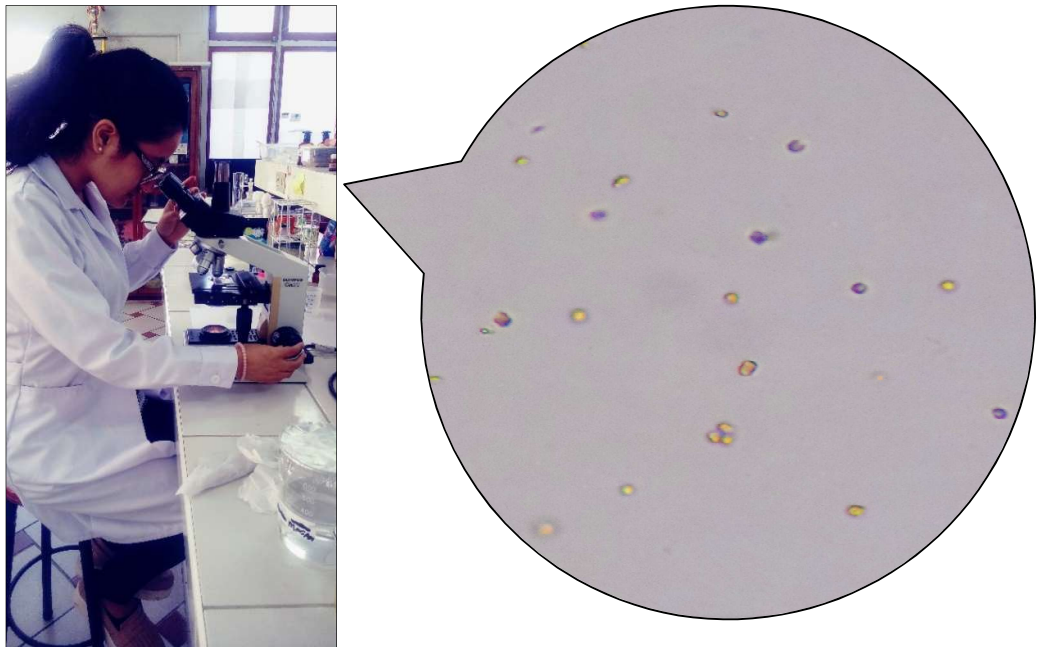


Figura N° 05: Reconocimiento de la cepa de la microalga *Phaeodactylum tricornutum*.

Se realizó un cultivo por escalamiento iniciándose con matraces Erlenmeyer de 250 ml (110 ml de cultivo) utilizando agua de mar envejecida (24 horas en reposo como mínimo), filtrada y autoclavada a 121°C por 25 minutos. Posteriormente se enriqueció el agua de mar ya esterilizada dentro de una campana de bioseguridad con medio Guillard (f/2) con la ayuda de pipetas estériles de 1 ml cada nutriente (Nitratos, fosfatos, trazas metales, vitaminas y silicatos). Se inoculó al 10% utilizándose la campana de bioseguridad con la ayuda de un mechero para tener un ambiente aséptico. Los volúmenes de

matraces utilizados en los cultivos fueron 250 ml, 500 ml (250 ml de cultivo) y 1 L (400 ml de cultivo). Para pasar de un volumen inferior a uno superior se realizó un conteo celular en la cámara Neubauer.

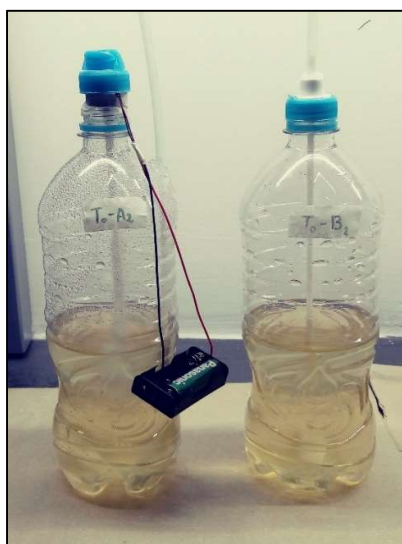
3.1.2. Instalación del Sistema con agitación

Se utilizaron botellas plásticas y transparentes de un litro (botellas de primer uso) para la instalación tanto del sistema con y sin agitación (Figura N° 06). A los fotobiorreactores con agitación se le instaló motores a pilas que impulsaron el movimiento circular de una paleta (Figura N° 07) con una velocidad de agitación de 60 rpm y durante un tiempo de aplicación de seis horas al día (10:00 am – 16:00 pm).



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 06: Sistema de cultivo con agitación.



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 07: Sistemas con y sin agitación.

3.1.3. Inoculación en los sistemas con y sin agitación

Se inoculó la cepa *Phaeidactylum tricornutum* con una concentración de 2.3×10^6 cel/ml y un volumen de 5% (25 ml) respecto al volumen del medio que fue de 450 ml por reactor y siguiéndose los mismos procedimientos utilizados en el pre-cultivo (Figuras N° 08 y 09). En la Tabla N°06 se detalla las condiciones iniciales del cultivo.

Tabla N°06: Condiciones iniciales de cultivo.

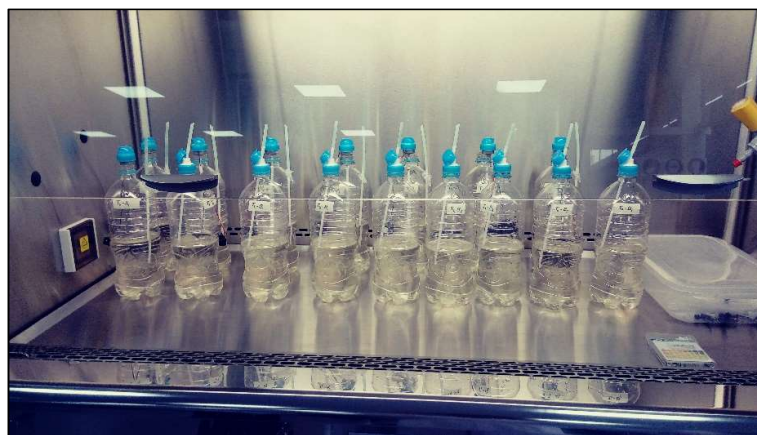
Parámetros abióticos	Condiciones iniciales de cultivo	Concentración celular inicial
pH	7	2x10 ⁶ cel/ml
CE	46 μS/cm	
Temperatura	24 ± 1°C	
Intensidad luminosa	1500 Lux	
Fotoperiodo	12:12 (Luz:noche)	

Fuente: Elaboración propia.



Fuente: Elaboración propia.

Figura N° 08: Inoculación de la microalga *Phaeodactylum tricornutum* en los sistemas con y sin agitación.



Fuente: Elaboración propia.

Figura N° 09: Interior de la cámara de bioseguridad.

3.1.4. Inyección de dióxido de carbono

Se inyectó dióxido de carbono desde un tanque de gas puro con un flujo de 1 L/min. Las tres concentraciones diferentes que se inyectaron fueron de 8, 25 y 50% de CO₂ v/v más el tratamiento control donde no se inyectó CO₂.

Después de inyectar el CO_2 se cerraba por completo el sistema durante una hora, aumentando el tiempo de retención del gas suministrado hasta completarse la transferencia de masa de gas a líquido y obtener la mayor eficiencia de disolución de CO_2 . Este procedimiento se realizó durante 7 días (el día 1 inició después de un día de inoculación, la cual se denominó día 0) (Figura N° 09). Las concentraciones de dióxido de carbono se detallan en la Tabla N°07.

Tabla N°07: Concentraciones de CO_2 aplicados al medio de cultivo.

Tratamientos	Volumen (ml)	Concentración (v/v)
T0 (control)	0	0.0387% aprox. (valor teórico)
T1	38	8%
T2	118.75	25%
T3	237.5	50%

Fuente: Elaboración propia.



Fuente: Elaboración propia.

Figura N° 10: Tanque de CO_2 y flujometro.

3.1.5. Medición de pH

Se midió el pH para controlar el CO₂ disuelto en el medio de cultivo. Se midió en dos horarios (9:00 am y 14:00pm).

Se utilizó un test de pH (Figura N° 11) para su medición y evitar así cualquier tipo de contaminación que afectara la densidad celular de la microalga.



Fuente: Elaboración propia.

Figura N° 11: Medición de pH.

El pH durante los días de estudio no tuvo una variación, ya que diariamente se realizaba el mismo procedimiento.

El pH tomado en las mañanas muestra como las microalgas lograron regularizar el pH que se redujo un día antes al adicionarse el CO₂ al medio de cultivo, como se muestra en la Tabla N° 08 el pH medido en la tarde después de adicionar CO₂ a cada muestra se redujo.

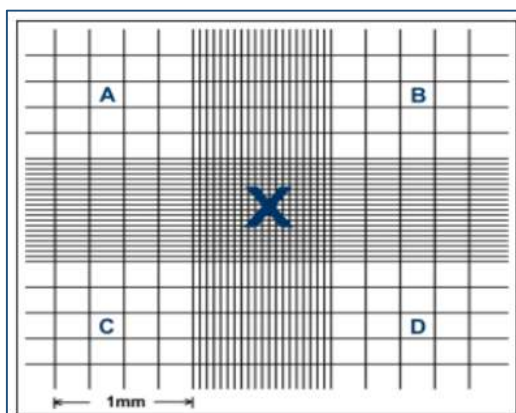
Tabla N° 08: Resultados de pH el día 6 en la tarde y día 7 en la mañana.

Concentración de CO ₂ (% v/v)	pH			
	Con agitación		Sin agitación	
	14:00 pm	9:00 am	14:00 pm	9:00 am
0	7	7	7	7
0	7	7	7	7
8	6	7	6	7
8	6	7	6	7
25	6	7	6	6
25	6	7	6	6
50	6	7	6	6
50	6	7	6	6

Fuente: Elaboración propia

3.1.6. Determinación de la densidad celular

Se realizó el conteo de todas las células observadas a través del microscopio trinocular clínico (marca:Olympus) en los cuatro cuadros externos de la cámara Neubauer marcados como A, B, C y D como se observa en la Figura N° 12.



Fuente: Arredondo y Voltolina (2007)

Figura N° 12: Rejilla de cámara Neubauer.

Para obtener la densidad celular se aplica la fórmula:

$$C = N/4 \cdot 10000 \quad (1)$$

En donde:

C = cél/mL

N = sumatoria de células presentes en los cuatro cuadrantes de 1 mm² (0.1 µL) (A,B;C;D).

Diariamente se tomó 2 muestras de cultivo (aproximadamente 1ml) por cada fotobiorreactor, es decir que se realizaron 32 conteos en la cámara Neubauer que se observa en la Figura N° 12.



Fuente: Elaboración propia.

Figura N° 13: Cámara Neubauer.

Los resultados obtenidos de la densidad celular el último día de cultivo se muestran en la Tabla N° 09, donde el 25% de CO₂ v/v y agitación en simultáneo fue el de mayor crecimiento celular.

Tabla N° 09: Resultados de la densidad celular el último día de cultivo.

Concentración de CO ₂ (% v/v)	Con agitación	Sin agitación
	Densidad celular (Cel/ml)	
0	1417500	1610000
0	1412500	1550000
8	1312500	1177500
8	1395000	885000
25	1390000	382500

Concentración de CO ₂ (% v/v)	Con agitación	Sin agitación
	Densidad celular (Cel/ml)	
25	1672500	282500
50	1232500	120000
50	965000	112500

Fuente: Elaboración propia.

Estos resultados muestran diferencias significativas de densidad celular entre los sistemas con y sin agitación a partir de la adición de CO₂ al 25% v/v.

3.1.7. Estimación del peso de biomasa

Se midió la densidad del medio de cultivo líquido utilizando un hidrómetro. Se calculó el peso de la biomasa por diferencia de densidades medida el día 1 de cultivo y el día 7 al cultivo que obtuvo la mayor densidad celular en células por mililitros.



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 14: Medición de la densidad final utilizando el hidrómetro.

Para obtener el peso de la biomasa se aplica la fórmula:

$$M=V.(d_i-d_f) \quad (2)$$

En donde:

M= peso de biomasa (gramos)

V= volumen (mililitros)

d_i= densidad inicial (gramos/mililitros)

d_f= densidad final (gramos/mililitros)

A continuación en la Tabla N° 10 se observa los resultados de la biomasa final obtenidos a partir de la diferencia de la densidad final e inicial del medio de cultivo de la muestra que resultó con densidad celular superior a los otros.

Tabla N° 10: Resultados del peso de biomasa.

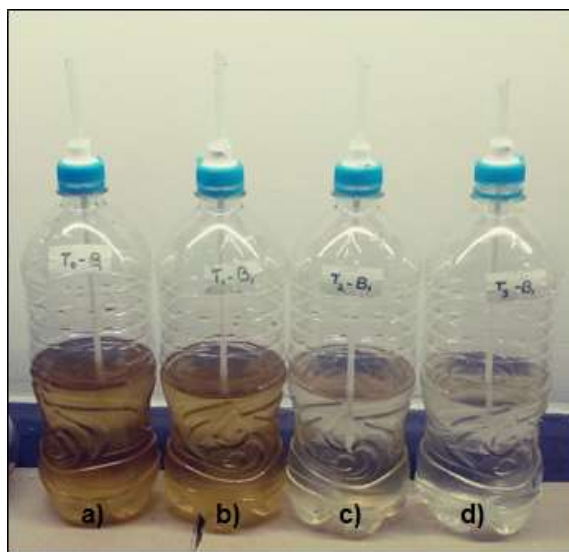
Concentración de CO ₂ (% v/v)	Concentración de CO ₂ (g)	Diferencia Densidad del medio de cultivo (g/ml)	Densidad celular (Cel/ml)	Peso de biomasa (g)
25	121.13	0.01	1672500	4.75

Fuente: Elaboración propia.

3.1.8. Análisis del crecimiento celular por observación

El enriquecimiento de carbono obtenido del CO₂ inyectado genera un incremento celular que se evidencia visualmente por el color del cultivo. En las Figuras N° 15, 16, 17, 18 y 19, se muestran registros fotográficos durante los días que se realizó la investigación.

Además en la Figura N° 15, se observa como el color pardo característico de la microalga *Phaeodactylum tricornutum* se redujo a medida que la concentración de CO₂ se aumentó en los sistemas sin agitación.



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 15: Comparación del contenido celular a diferentes concentraciones de CO₂ y sin agitación el último día de estudio. a) T0 (control), b) T1 (8% CO₂), c) T2 (25% CO₂) y d) T3 (50% CO₂).



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 16: Comparación del contenido celular del a) T0 (control) con agitación y b) T0 (control) sin agitación el último día de estudio.



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 17: Comparación del contenido celular del a) T1 (8% CO₂), con agitación y b) T1 (8% CO₂), sin agitación el último día de estudio.



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 18: Comparación del contenido celular del a) T2 (25% CO₂), con agitación y b) T2 (25% CO₂), sin agitación el último día de estudio.

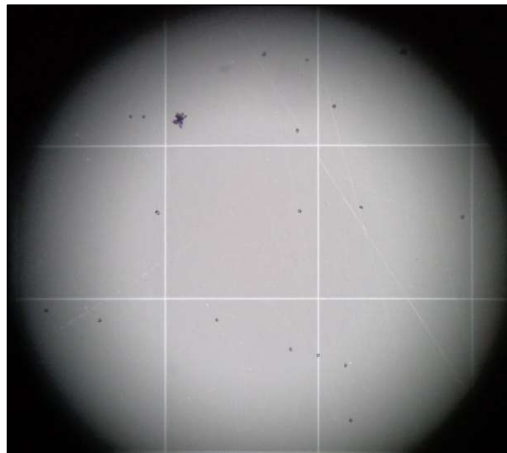


Fuente: Elaboración propia

Figura N° 19: Comparación del contenido celular del a) T3 (50% CO₂), con agitación y b) T3 (50% CO₂), sin agitación el último día de estudio.

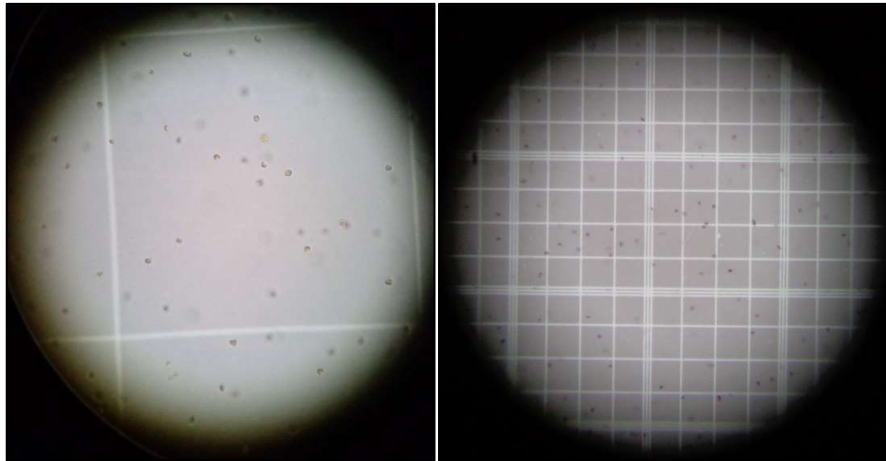
3.1.9. Condiciones del desarrollo de *Phaeodactylum tricornutum*

El cultivo de la microalga *Phaeodactylum tricornutum* se inició con un inóculo de 2.3×10^6 cel/ml por 25 ml en un volumen de 450 ml.



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 20: Observación en el microscopio de la microalga *Phaeodactylum tricornutum* el día 0 o de inoculación.

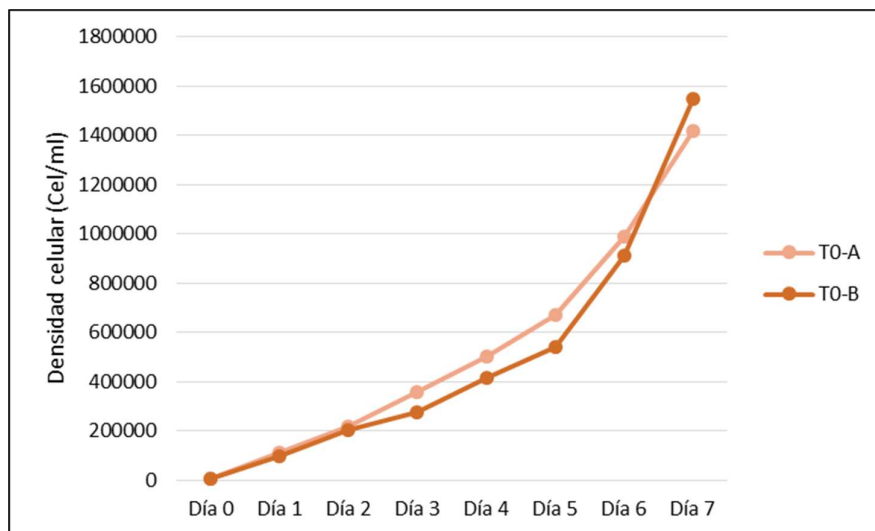


Fuente: Elaboración propia

Figura N° 21: Observación en el microscopio de la microalga *Phaeodactylum tricornutum* el día 4 de la muestra control.

3.2. Análisis estadístico

3.2.1. Curva de crecimiento del T0 (control) en los sistemas con y sin agitación.

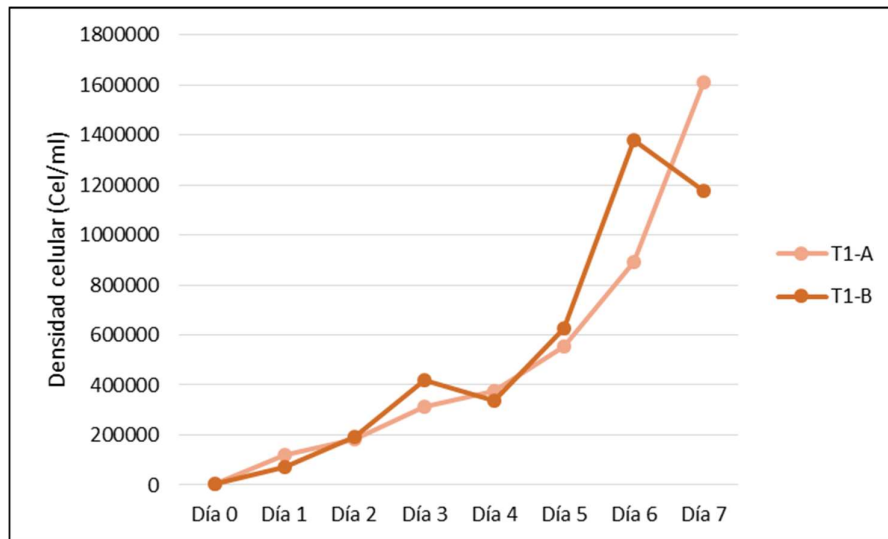


Fuente: Elaboración propia

Gráfico N°01: Crecimiento celular de la microalga *Phaeodactylum tricornutum* con el tratamiento control (CO_2 atmosférico) en los sistemas con y sin agitación.

La muestra T0 (control) a una concentración de CO₂ atmosférico (aprox. 0.0387% v/v) tuvo cambios en el crecimiento microalgal entre el día 3 y 6 de cultivo. Estas variaciones fueron a favor de la muestra con un sistema de agitación al cultivo.

3.2.2. Curva de crecimiento del T1 (8% de CO₂ v/v) en los sistemas con y sin agitación.

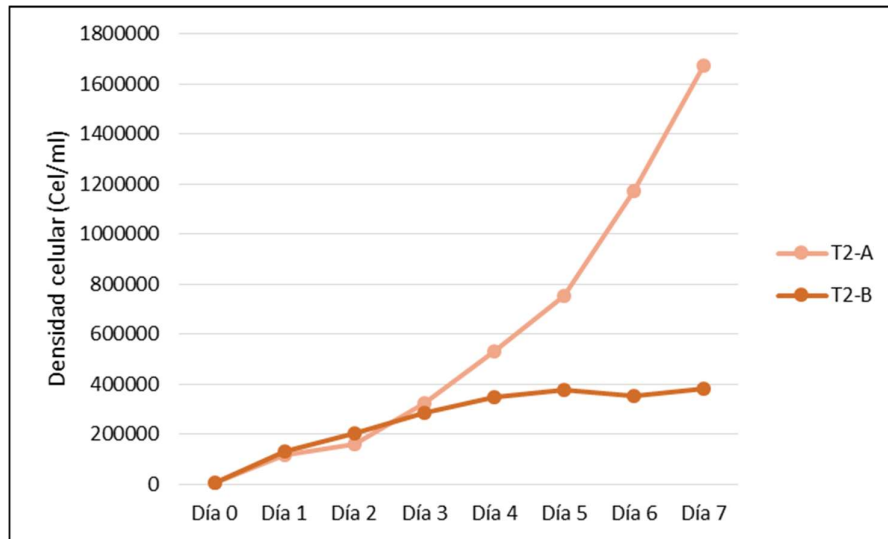


Fuente: Elaboración propia.

Gráfico N°02: Crecimiento celular de la microalga *Phaeodactylum tricornutum* con el tratamiento uno (8% de CO₂ v/v) en los sistemas con y sin agitación.

En la muestra T1 (8% de CO₂ v/v) se evidencia un cambio significativo el día 7 de cultivo donde la muestra sin agitación inició su descenso mientras que el cultivo con agitación tuvo una tendencia a seguir aumentando.

3.2.3. Curva de crecimiento del T2 (25% de CO₂ v/v) en los sistemas con y sin agitación.

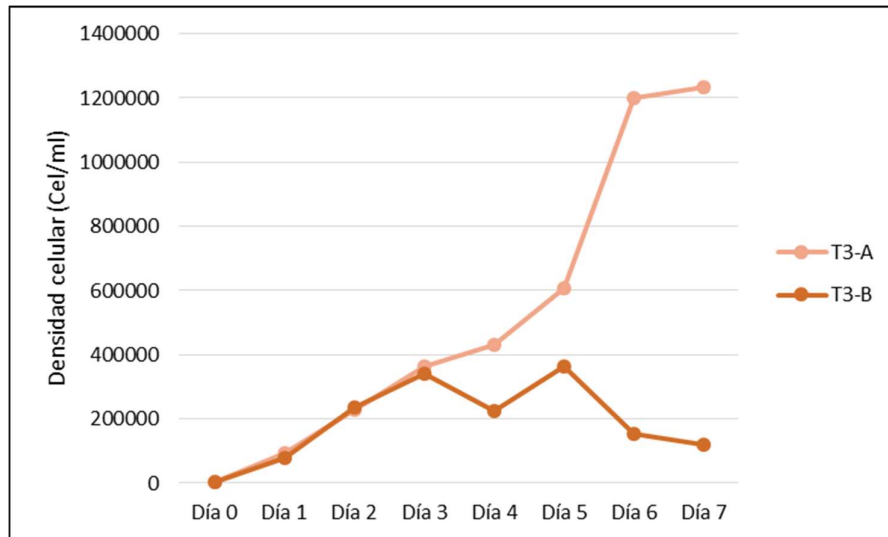


Fuente: Elaboración propia

Gráfico N° 03: Crecimiento celular de la microalga *Phaeodactylum tricornutum* con el tratamiento uno (25% de CO₂ v/v) en los sistemas con y sin agitación.

Las muestra T2 (25% de CO₂ v/v) a las mismas concentraciones y diferentes condiciones de agitación se comparan y evidencian una diferencia significativa a partir del día 4 de cultivo en adelante, incrementándose la densidad celular (cel/ml).

3.2.4. Curva de crecimiento del T3 (50% de CO₂ v/v) en los sistemas con y sin agitación.



Fuente: Elaboración propia

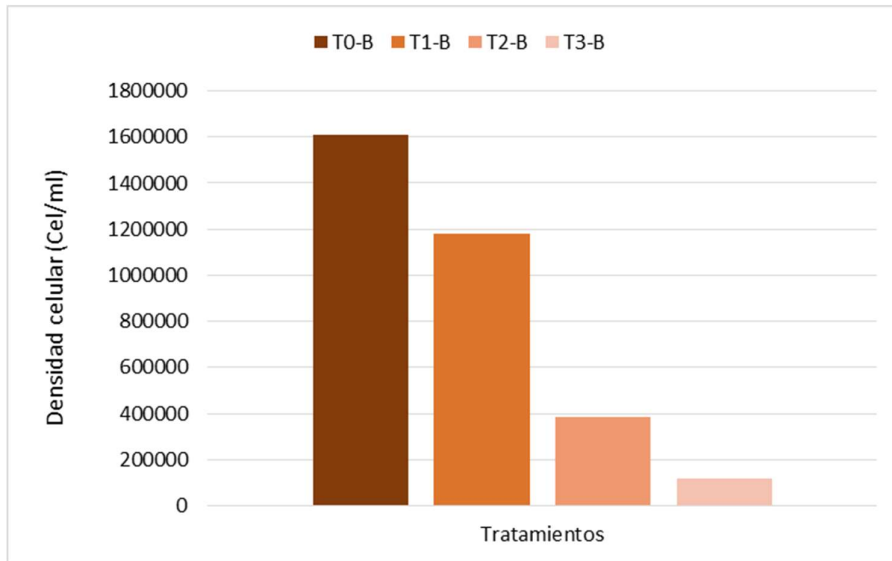
Gráfico N° 04: Crecimiento celular de la microalga *Phaeodactylum tricornutum* con el tratamiento uno (50% de CO₂ v/v) en los sistemas con y sin agitación.

La curva de crecimiento de la muestra T3 (25% de CO₂ v/v) muestra un incremento con el sistema con agitación a partir del día 4, mientras que el cultivo sin agitación va descendiendo.

3.2.5. Efecto de las diferentes concentraciones de CO₂ sobre el crecimiento microalgal.

En el Gráfico N° 05 se observa como va en descenso el crecimiento de la microalga a medida que aumenta la concentración de CO₂ y sin una agitación constante.

Sin embargo en el Gráfico N° 06 la agitación genera un efecto positivo sobre el crecimiento de la microalga a concentraciones elevadas de CO₂.



Fuente: Elaboración propia

Gráfico N° 05: Comparación del crecimiento microalgal a diferentes concentraciones de CO₂ y en un sistema sin agitación.

A partir de la inyección de 8% de CO₂ y sin una agitación constante (6 horas) se inició un daño celular que generó la inhibición del crecimiento celular.



Fuente: Elaboración propia

Gráfico N° 06: Comparación del crecimiento microalgal a diferentes concentraciones de CO₂ y en un sistema con agitación.

La inyección de CO₂ en los sistemas con agitación constante tuvieron una respuesta diferente a los cultivos sin agitación, ya que las altas concentraciones de CO₂ no provocaron una inhibición del crecimiento de la microalga tan alta como la anterior. La inyección del 25% de CO₂ se incrementó comparado con la muestra control y la muestra sin agitación y a las mismas condiciones de adición de CO₂.

3.2.6. Diseño factorial de múltiples niveles

Se evaluó el efecto de las dos variables independientes sobre nuestra única variable dependiente.

La hipótesis nula: el modelo no explica ninguna variación en la respuesta.

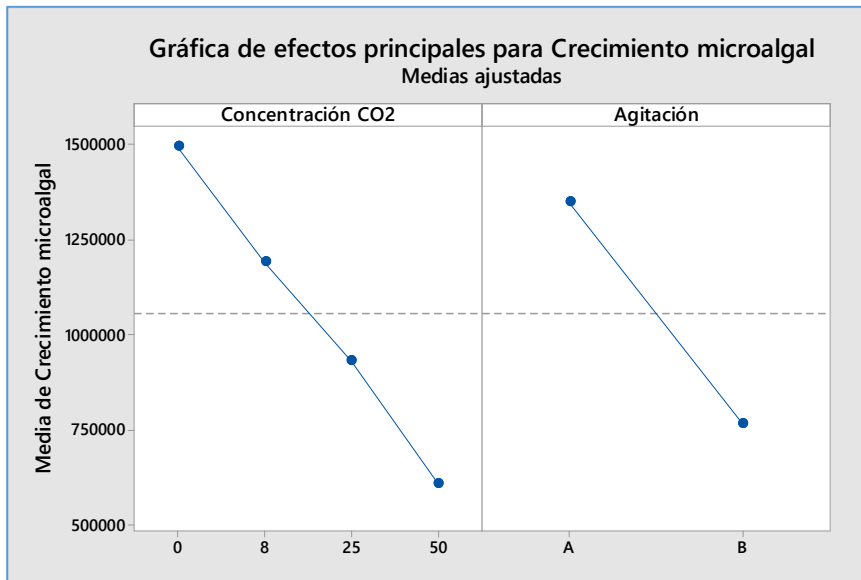
En la Tabla N° 08 podemos visualizar los valores de p para la concentración de CO₂, la agitación y su interacción. Para los tres términos el p valor por ser menor a 0.05 indica que son significativamente diferentes, rechazando la hipótesis nula.

Tabla N° 11: Análisis de varianza de los factores y su interacción.

Análisis de Varianza					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	7	4.25397E+12	6.07709E+11	37.77	0.000
Lineal	4	3.08786E+12	7.71966E+11	47.98	0.000
Concentración CO2	3	1.72043E+12	5.73475E+11	35.65	0.000
Agitación	1	1.36744E+12	1.36744E+12	85.00	0.000
Interacciones de 2 términos	3	1.16610E+12	3.88700E+11	24.16	0.000
Concentración CO2*Agitación	3	1.16610E+12	3.88700E+11	24.16	0.000
Error	8	1.28703E+11	16087890625		
Total	15	4.38267E+12			

Fuente: Minitab (2018)

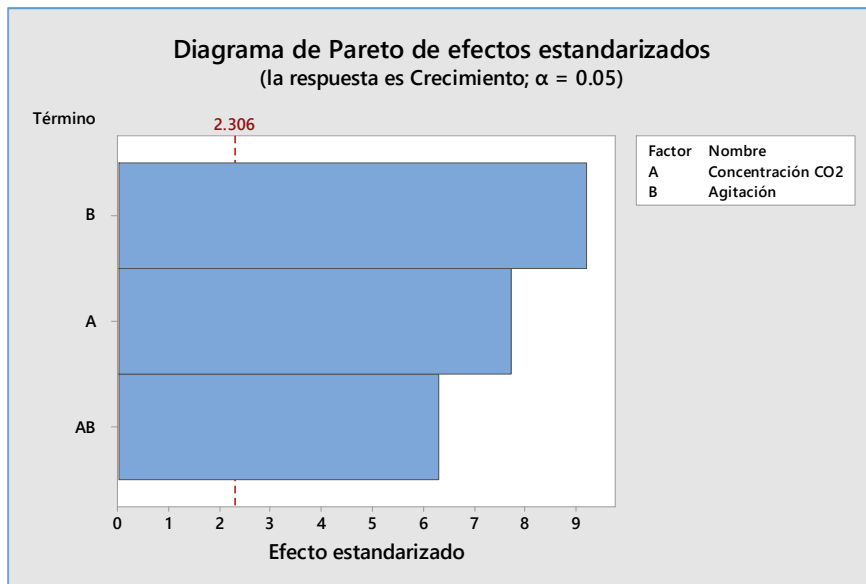
Representación de los efectos de las medias ajustadas de la concentración de CO₂ y agitación sobre la media de crecimiento microalgal.



Fuente: Minitab (2018)

Gráfico N° 07: Gráfico de efectos principales.

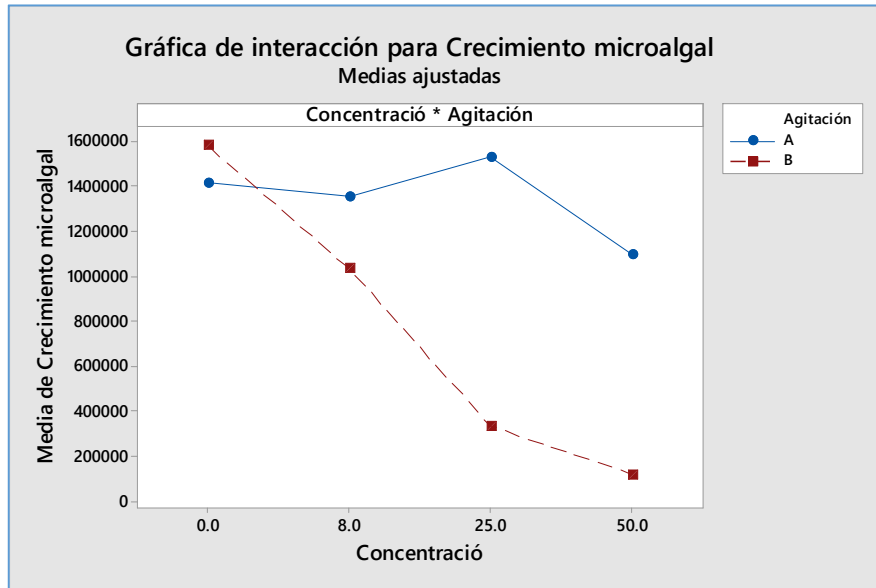
Representación de los efectos estandarizados de la concentración de CO₂ y agitación y su interacción sobre el crecimiento microalgal. Donde la agitación representa el mayor efecto.



Fuente: Minitab (2018)

Gráfico N° 08: Efectos estandarizados.

La representación de la interacción de los factores sobre la variable respuesta. Identificando la concentración de CO₂ al 25 % v/v y agitación como la interacción más favorable.



Fuente: Minitab (2018)

Gráfico N° 09: Gráfica de interacciones.

3. DISCUSIÓN

Entre los factores que influyen el crecimiento de las microalgas está el pH, temperatura, agitación, aireación, CO_2 e iluminación (Niño, 2017). Esta teoría se comprueba en el presente estudio demostrándose un incremento del crecimiento de células por mililitros entre el tercer y último día de cultivo. Además se puede inferir que la microalga *Phaeodactylum tricornutum* a mayor concentración de CO_2 requiere de mayor tiempo de agitación.

Li et al. (2017) encontraron que *Phaeodactylum tricornutum* después de crecer bajo CO_2 elevado (1000 μ atm) presenta diferencias significativas en la fotosíntesis y el crecimiento con la población mantenida a CO_2 ambiente. Esto se puede observar en los resultados obtenidos a concentraciones de CO_2 (8%, 25% y 50% v/v) y sin agitación constante que el crecimiento celular disminuye con respecto a la muestra que consume solo CO_2 atmosférico (0.0387% v/v aprox). Se puede concluir que la microalga si es capaz de tolerar elevadas concentraciones de CO_2 pero requiriendo de una mezcla adicional por agitación.

Ravelonandro et al. (2010) examinaron la influencia de la agitación del cultivo, la salinidad media y la adición de CO_2 (que oscila entre 0 y 2% v / v) sobre el crecimiento y el contenido de proteína de *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. Resultando un mejor crecimiento de la microalga en una columna de burbujas sin mezcla adicional debido a que las células de *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* son frágiles. En cambio la microalga *Phaeodactylum tricornutum* según los resultados de esta investigación obtuvo un mejor crecimiento con una mezcla adicional. Esto demuestra que el crecimiento es diferente según la especie y condiciones ambientales asignadas, pues las células de *Phaeodactylum tricornutum* pueden ser lentamente móviles debido a que no tienen flagelos.

Sankar, Daniel y Krastanov (2014) en su investigación realizaron un estudio comparativo del crecimiento de tres cepas de microalgas (*Calothrix* sp., *Spirulina platensis* y *Chlorella minutissima*) en relación a los parámetros cinéticos, tolerancia al CO_2 , etc. Además, se llevaron a cabo estudios con agitadores, con diferentes tasas de aireación. Finalmente se obtuvo que el agitador presentó mejores

rendimientos de biomasa en ambas operaciones, es decir, con y sin CO₂. De la misma manera que la presente investigación.

Anjos, *et al* (2013) buscaron maximizar la tasa de fijación de CO₂ por la microalga verde *Chlorella vulgaris* cultivada fotoautótroficamente en fotobiorreactores de columna de burbujas bajo diferentes concentraciones de CO₂ (entre 2% y 10%) y tasas de aireación (desde 0.1 a 0.7 vvm). Los resultados mostraron que la tasa de fijación máxima se obtuvo usando 6.5% de CO₂ y 0.5 vvm después de 7 días de cultivo demostrando que la optimización de las condiciones de cultivo de microalgas se puede considerar una estrategia útil para maximizar la bio-mitigación de CO₂ por *C. vulgaris*. De la misma manera el presente estudio obtuvo un incremento del crecimiento celular de la microalga *Phaeodactylum tricornutum* usando 25% de CO₂ y agitación en simultáneo, confirmando que la optimización de las condiciones de cultivo se puede considerar una estrategia útil para maximizar el cultivo de microalgas.

El aumento del crecimiento de algunas especies de microalgas cuando se incrementa la turbulencia, es debida a la mejora del suministro de luz y CO₂. Sin embargo, a niveles mayores de turbulencia, el crecimiento se ve disminuido drásticamente, aumentando simultáneamente la velocidad superficial del gas causando un posible daño celular (Contreras et al., 2003). Esta teoría afirma los resultados obtenidos, es decir, las diferentes concentraciones de CO₂ y la adición de turbulencia por agitación aumenta el crecimiento de la microalga marina *Phaeodactylum tricornutum*, sin embargo, cuando se aplica las mismas concentraciones de CO₂ pero sin agitar en cultivo obtenemos una disminución de las células y se presenta drástica a una concentración del 50% de CO₂.

García et al. (2000) concluye que las bajas tasas de agitación mecánica por la ruptura de burbujas en la superficie de cultivo fue la causa predominante de daño celular en la microalga *Porphyridium cruentum*. Afirmando los resultados que se presentaron en los cultivos sin agitación y elevadas concentraciones de CO₂.

4. CONCLUSIONES

- Se pudo comprobar que el efecto de la concentración de dióxido de carbono y la agitación del cultivo de la microalga *Phaeodactylum tricornutum* sobre la fijación de carbono es significativo, ya que a mayor concentración de dióxido de carbono y agitación en simultáneo hubo un aumento de la densidad celular en 1.29×10^6 cel/ml.
- Una estimación del peso de biomasa máximo fue 4.75 g con una concentración de CO₂ de 25% v/v y agitación del cultivo. Concluyendo que para producir este peso se requiere de 121.13 g de CO₂.
- La densidad celular máxima obtenido por la microalga *Phaeodactylum tricornutum* fue de 1.67×10^6 cel/ml sometida a una concentración de CO₂ y agitación del cultivo al mismo tiempo. Corroborándose que la concentración de dióxido de carbono que incrementó el crecimiento de la microalga *Phaeodactylum tricornutum* fue el 25% v/v.
- La densidad celular de la microalga *Phaeodactylum tricornutum* en los tratamientos T1 (8% de CO₂ v/v), T2 (25% de CO₂ v/v) y T3 (50% de CO₂ v/v) fueron 1.395×10^6 , 1.673×10^6 y 1.233×10^6 cel/ml respectivamente, incrementándose con la agitación del cultivo comparados con los cultivos sin agitación.
- Se comprobó que a mayor concentración de CO₂ requiere de una mayor agitación del cultivo para generar una mayor eficiencia de la transferencia de masa de gas-líquido ya que se genera mayor cantidad de burbujas al ingresar el gas.

5. RECOMENDACIONES

- Se sugiere continuar con investigaciones que optimicen la fijación de CO₂ variando otros factores que afecten directamente el crecimiento de la microalga como la temperatura, nutrientes, tiempo de inyección y otros tiempos de agitación.
- Se podría analizar si las altas concentraciones de CO₂ afectaron el alto contenido de ácidos grasos que se conoce que tiene la especie estudiada.
- Es importante completar el estudio realizando el análisis elemental de carbono a la biomasa obtenida para determinar la tasa de fijación de CO₂.
- Es recomendable realizar cultivos con volúmenes a partir de 5 litros si se desea analizar el porcentaje de carbono ya que en el Perú la única institución que puede realizarlo pide como mínimo 5 gramos de biomasa en seco.
- Se recomienda realizar un estudio integral de los potenciales de la especie como fijadora de CO₂, para el tratamiento de aguas residuales y obtención de un producto final.
- Se recomienda experimentar con la fijación de CO₂ con gases de combustión real y los efectos del resto de gases de combustión sobre su crecimiento.

6. REFERENCIAS

1. ACUÑA, Domínguez, Julio. Pre-diseño de un sistema para la eliminación biológica de CO₂. Tesis (Magister en Ingeniería Ambiental). Barcelona, España: Universidad de Barcelona, Departamento de Ingeniería Química, 2016. 34 p.
2. ANJOS, Mariana [et al]. Optimization of CO₂ bio-mitigation by *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology* [en línea]. Julio 2013, Vol. 139, p. 149-154. [fecha de consulta: 25 Marzo 2018].
Disponibile en: en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852413006366>
ISSN: 0960-8524
3. APPENZELLER, Tim. The Case of the Missing Carbon. National Geographic, Febrero 2004, vol. 205, no 2, p. 88-117. [fecha de consulta: 16 Mayo 2018].
Disponibile en:
<http://faculty.bennington.edu/~bullock/energy/missingcarbon.pdf>
4. ARESTA, Michele. Carbon Dioxide as Chemical Feedstock. 1a. ed. Bari, Italia: Universidad de Bari, 2010. 393 p.
ISBN: 978-3-527-32475-0
5. ARREDONDO Vega, Bertha y VOLTOLINA, Doménico. Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Publisher: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, B.C.S., México, 2007.
ISBN 978-607-7634-21-8
6. BAJPAI, Rakesh, PROKOP, Ales y ZAPPI, Mark. Algal Biorefineries Volume 1: Cultivation of Cells and Products. 1a. ed. Springer Países Bajos, 2013. 323 p.
ISBN: 978-94-007-7493-3
7. BARTUAL, A, VILLAZÁN, B y BRUN, FG. Monitoring the long-term stability of pelagic morphotypes in the model diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Diatom research*. 2011. Vol. 26, N° 2, p. 243-253.
8. BECKER, EW. Microalgae: Biotechnology and Microbiology. 1a. ed. New York: Cambridge University Press, 1994. 291 p.

ISBN: 0-521-35020-4

9. BINGTAO, Zhao, [et al]. Carbon dioxide fixation and biomass production from combustion flue gas using energy microalgae. *Energy* [en línea]. Setiembre 2015, Vol. 89, p.347-357. [fecha de consulta: 09 Agosto 2018].
Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360544215007458>
ISSN: 0360-5442
10. BUX, Faizal. Biotechnological applications of microalgae: biodiesel and value-added products. 1a. ed. CRC Press, 2013. 255 p.
11. CONCYTEC. Programa nacional transversal de biotecnología. [en línea]. 1a ed. Lima, 2016. 42 p. [fecha de consulta: 25 Marzo 2018].
Disponible en:
http://portal.concytec.gob.pe/images/publicaciones/libro_biotecnologia_oct.pdf
12. CONTRERAS Flores, Coral [et al]. Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. *Asociación Interciencia*. Agosto 2003, Vol. 28, N°. 8, p. 450-456. [fecha de consulta: 25 Abril 2018].
Disponible en:
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33908304>
ISSN: 0378-1844
13. CHEAH, W.Y. [et al]. Biosequestration of atmospheric CO₂ and flue gas-containing CO₂ by microalgae. *Bioresource Technology* [en línea]. Mayo 2015, Vol. 184, p. 190-201. [fecha de consulta: 25 Abril 2018].
Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852414016289?via%3Dihub>
ISSN: 0960-8524
14. CHEN, Chun- Yen [et al]. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. *Bioresource Technology* [en línea]. Enero 2011, Vol 102, p. 71-81. [fecha de consulta: 25 Abril 2018].
Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852410011648>

15. CHEW, Kit Wayne [et al]. Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: A review. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* [en línea]. Junio 2018. [fecha de consulta: 1 julio 2018].
Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876107018303134>
ISSN: 1876-1070
16. DE GODOS, I. [et al]. Evaluation of carbon dioxide mass transfer in raceway reactors for microalgae culture using flue gases. *Bioresource Technology* [en línea]. Febrero 2014, Vol. 153, p. 307-314. [fecha de consulta: 09 Agosto 2018].
Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852413018130>
ISSN: 0960-8524
17. DEZA, Dávalos, Adrian. Diseño, construcción y funcionamiento de un sistema fotobioreaccionante para el consumo de CO₂ con *Scenedesmus quadricauda* como agente biodepurante. Tesis (Título profesional en Ingeniería Biotecnológica). Arequipa, Perú: Universidad Católica Santa María, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, 2012.
18. DE MARTINO, Alessandra [et al]. Physiological and Molecular Evidence that Environmental Changes Elicit Morphological Interconversion in the Model Diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Protist* [en línea]. Julio 2011, Vol. 162, N° 03, p. 462-481. [fecha de consulta: 25 junio 2018]
Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S143446101100006>
ISSN 1434-4610
19. FAN, Li-Hai [et al]. Evaluation of a membrane-sparged helical tubular photobioreactor for carbon dioxide biofixation by *Chlorella vulgaris* [en línea]. Noviembre 2008, Vol. 325, p. 336-345. [fecha de consulta: 25 Abril 2018]
Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037673880800731X>

20. GARCÍA Cubero, R. Producción de biomasa de microalgas rica en carbohidratos acoplada a la eliminación fotosintética de CO_2 . Tesis (Doctor en Biología). Sevilla, España: Universidad de Sevilla, Instituto de bioquímica vegetal y fotosíntesis, 2014. 197 p.
21. GARCÍA Camacho, F. [et al]. Effects of mechanical and hydrodynamic stress in agitated, sparged cultures of *Porphyridium cruentum*. *Process Biochemistry* [en línea]. Mayo 2000, Vol 35, p. 1045-1050.
Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032959200001382>
ISSN: 1359-5113
22. GAMAZO, Carlos, GÓMEZ, Susana y PEIRO, Ana Isabel. Microbiología basada en la experimentación. 1a. ed. Student consult en español. Elsevier Health Sciences, 2013. 215 p.
ISBN: 978-84-9022-085-6
23. GIRALDO, Alejandra. Evaluación de cepas de microalgas para captura de CO_2 . Tesis (Magister en Ingeniería). Medellín, Colombia: Universidad EAFIT, Escuela de Ingeniería, 2013.
24. GONZALES, Cynthia [et al]. Uso de microalgas como alternativa a las tecnologías disponibles de mitigación de emisiones antropogénicas de CO_2 . *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal* [en línea]. 2011, p. 93-106. [fecha de consulta: 25 Abril 2018]
Disponible en:
https://www.researchgate.net/profile/lvet_Ferrer/publication/236841330_Treatment_of_piggery_wastewater_in_experimental_high_rate_algal_ponds/links/54eca7570cf27fbfd771380e.pdf#page=42
25. HERNÁNDEZ, Alexis y LABBÉ, José. Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* [en línea]. Agosto 2014, Vol. 49, N° 2, p. 157-173. [fecha de consulta: 25 Abril 2018]
Disponible en:
<https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v49n2/art01.pdf>

26. HERNÁNDEZ Sampieri, Roberto. Metodología de la Investigación. 6a. ed. McGRAW-HILL, Mexico D.F., 2014. 632 p.
ISBN: 978-1-4562-2396-0
27. JIANG, Y.L [et. al]. Utilization of simulated flue gas for cultivation of *Scenedesmus dimorphus*. *Bioresour. Technology* [en línea]. Enero 2013, Vol. 128, p. 359–364. [fecha de consulta: 25 Abril 2018]
Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852412016288>
ISSN: 0960-8524
28. JOHANSEN, MN. Microalgae: Biotechnology, Microbiology and Energy. Hauppauge, N.Y. : Nova Science Publishers, Inc, 2012. (Marine Biology). 475 p.
ISBN: 9781613246252.
29. JUN, Cheng [et al]. Improving CO₂ fixation with microalgae by bubble breakage in raceway ponds with up–down chute baffles. *Bioresource Technology* [en línea]. Febrero 2016, Vol. 201, p. 174-181. [fecha de consulta: 09 Agosto 2018]
Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852415015709>
ISSN: 0960-8524
30. KUMAR, Amit. Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. *Trends in Biotechnology* [en línea]. Julio 2010, Vol. 28, p. 371-380. [fecha de consulta: 25 Abril 2018]
Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167779910000715>
ISSN 0167-7799
31. LAM, Man Kee. LEE, Keat Teong y MOHAMED, Abdul Rahman. Current status and challenges on microalgae-based carbon capture. *International Journal of Greenhouse Gas Control* [en línea]. Setiembre 2012, Vol. 10, p. 456-469. [fecha de consulta: 25 Abril 2018]
Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1750583612001673>
ISSN 1750-5836

32. LLAMAS Moya, Bernardo. Captura y almacenamiento de CO_2 : criterios y metodología para evaluar la idoneidad de una estructura geológica como almacén de CO_2 . 1a. ed. Huelva, España: Universidad de Huelva, 2009. 275 p.
ISBN: 978-84-92679-12-6
33. LEWIN, Joyce C. The taxonomic position of *Phaeodactylum tricornutum*. *Microbiology* [en línea]. 1958, vol. 18, N° 2, p. 427-432. . [fecha de consulta: 25 Abril 2018]
Disponible en:
<http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/micro/18/2/mic-18-2-427.pdf?expires=1531851555&id=id&accname=guest&checksum=CDDA66C448D16948C0195A5C6D2D8B4D>
34. LI, Futian [et al]. Decreased photosynthesis and growth with reduced respiration in the model diatom *Phaeodactylum tricornutum* grown under elevated CO_2 over 1800 generations. *Global Change Biology*. Enero 2017, Vol. 23, p. 127-137.
35. MARTÍNEZ García, Lorena. Eliminación de CO_2 con microalgas autóctonas. Tesis Doctoral. León, España. Universidad de León, Instituto de recursos naturales, Área de ingeniería química, 2009, 226 p.
36. NIÑO Castillo, Clara [et al]. Evaluación de las condiciones de crecimiento celular para la producción de astaxantina a partir de la microalga *Haematococcus pluvialis*. [fecha de consulta: 25 Marzo 2018].
Disponible en:
<http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v15n28/1794-2470-nova-15-28-00019.pdf>
37. PERÚ. Ministerio del Ambiente. 15 de Noviembre 2017
<<http://www.minam.gob.pe/cambioclimatico/2017/11/15/cop23-gobierno-peruano-comprometido-con-la-accion-climatica/>>
38. PERÚ. Ministerio del Ambiente. Inventario Nacional de Gases de Efecto Invernadero [en línea]. Lima, 2012. 321 p. [fecha de consulta: 25 Marzo 2018].
Disponible en:
<http://infocarbono.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2016/03/2012.pdf>

39. RAVELONANDRO, Pierre H. [et. al]. Improvement of the growth of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* from Toliara (Madagascar): Effect of agitation, salinity and CO₂ addition. *Food and Bioproducts Processing* [en línea]. Julio 2011, Vol. 89, N° 03, p. 209-216. [fecha de consulta: 25 Junio 2018].
Disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960308510000532>
ISSN 0960-3085
40. RICHMOND, Amos. Manual de cultivo de microalgas: biotecnología y phycology aplicado. 1ra ed. Blackwell Science, USA, 2004. 413 p.
ISBN: 0-632-05953-2
41. RUBIO Fernández, Diego y MORENO Saboya Heidy. Agitación y transferencia de masa de CO₂ en fotobiorreactores tipo airlift. *Revista del Investigación: Fundación Universidad de América* [en línea]. Agosto 2017, Vol.10, N° 2, p. 49-61 [fecha de consulta: 25 Abril 2018].
Disponible en:
<https://revistas.uamerica.edu.co/index.php/rinv/article/view/81/75>
ISSN: 2011-639X
42. SALIH, Fadhil M. Microalgae Tolerance to High Concentrations of Carbon Dioxide: A Review. *Journal of Environmental Protection* [en línea]. Julio 2011, vol. 2, p. 648-654. [fecha de consulta: 25 Abril 2018]
Disponible en:
https://file.scirp.org/pdf/JEP20110500012_87016741.pdf
ISSN: 2152-2219
43. SEIJAS Bernabé, Priscilla. Biosecuestro de dióxido de carbono, procedente de gases de combustión, por *arthrospira jenneri* “espirulina” y su influencia en la producción de biomasa microalgal en fotobiorreactor solar. Tesis (Doctor en Ciencias Ambientales). Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo, Escuela de Programa, 2012. 95 p.
44. SHUWEN, Li, SHENGJUN, Luo y RONGBO Guo. Efficiency of CO₂ fixation by microalgae in a closed raceway pond. *Bioresource Technology* [en línea]. Mayo 2013, Vol. 136, p. 267-272. . [fecha de consulta: 09 Agosto 2018]
Disponible en:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852413003817>

ISSN 0960-8524

45. SOBCZUK, T. [et al]. Efectos de la agitación en las microalgas *Phaeodactylum tricornutum* y *Porphyridium cruentum*. *Bioprocesos e Ingeniería de Biosistemas*. Marzo 2006, Vol. 28, N° 4, p. 243-250. [fecha de consulta: 01 Abril 2018]
ISSN: 16157591.
46. TING, Han [et al]. Process in microalgae cultivation photobioreactors and applications in wastewater treatment: a review. *Int J Agric Biol Eng* [en línea]. 2017, Vol. 10 N° 1, p. 1–26 [fecha de consulta: 25 Junio 2018].
Disponible en:
<http://www.ijabe.org/index.php/ijabe/article/view/2705>
47. UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME. The Emissions Gap Report [en línea]. 1a ed. Nairobi, 2017. 116 p. [fecha de consulta: 25 Marzo 2018].
Disponible en:
https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/22070/EGR_2017.pdf
ISBN: 978-92-807-3673-1
48. VAN BEILEN, Jan. Why microalgae won't save the internal combustion machine. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* [en línea]. Enero 2010, Vol. 4, p. 41 - 52. [fecha de consulta: 25 Marzo 2018].
Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/227545646_Why_microalgae_won't_save_the_internal_combustion_machine
49. VELÁSQUEZ Vásquez, Sergio y ULATE Brenes, Adolfo. Diseño, construcción y puesta en marcha de un fotobiorreactor tubular para producir la microalga *Chlorella sp.* *Ciencia y Tecnología* [en línea]. 2015, Vol. 30, N° 1, p. 28-49. [fecha de consulta: 25 Abril 2018].
Disponible en:
<https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/cienciaytecnologia/article/view/19667/19748>
ISSN: 0378-0524

50. Xie, Y.P [et. al]. Simultaneous enhancement of CO₂ fixation and lutein production with thermo tolerant *Desmodesmus* sp. F51 using repeated fed batch cultivation strategy. *Biochemical Engineering Journal* [en línea]. Mayo 2014, Vol. 86, p. 33–40.

Disponibile en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369703X14000485>

ISSN: 1369-703X

51. ZENG, Xianhai. Microalgae bioengineering: From CO₂ fixation to biofuel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* [en línea]. Agosto 2011, Vol 15, p. 3252-3260, [fecha de consulta: 25 Abril 2018]

Disponibile en:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032111001511>

ISSN: 1364-03

ANEXOS

Anexo N°01: Fichas de toma de datos.

		Densidad celular (cel/ml)							
Tratamientos	Réplicas	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
T0	T0-A1								
	T0-A2								
	T0-B1								
	T0-B2								
T1	T1-A1								
	T1-A2								
	T1-B1								
	T1-B2								
T2	T2-A1								
	T2-A2								
	T2-B1								
	T2-B2								
T3	T3-A1								
	T3-A2								
	T3-B1								
	T3-B2								

Fuente: Elaboración propia

pH		
Dia	Hora	
	9:00 a.m.	2:00 p.m.
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		

Fuente: Elaboración propia

Anexo N°02: Diseño factorial de múltiples niveles, Minitab 18

Resumen del diseño

Factores:	2	Réplicas:	2
Corridas base:	8	Total de corridas:	16
Bloques base:	1	Total de bloques:	1

Fuente: Minitab (2018)

Tabla de diseño

Corrida	Blq	A	B
1	1	1	1
2	1	1	2
3	1	2	1
4	1	2	2
5	1	3	1
6	1	3	2
7	1	4	1
8	1	4	2
9	1	1	1
10	1	1	2
11	1	2	1
12	1	2	2
13	1	3	1
14	1	3	2
15	1	4	1
16	1	4	2

Fuente: Minitab (2018)

Anexo N°03: Regresión factorial general.

Ecuación de regresión

$$\begin{aligned} \text{Crecimiento} = & 1057344 + 440156 \text{ Concentración CO}_2\text{_0} + 135156 \text{ Concentración CO}_2\text{_8} \\ & - 125469 \text{ Concentración CO}_2\text{_25} - 449844 \text{ Concentración CO}_2\text{_50} \\ & + 292344 \text{ Agitación_A} - 292344 \text{ Agitación_B} \\ & - 374844 \text{ Concentración CO}_2\text{*Agitación_0 A} + 374844 \text{ Concentración CO}_2\text{*Agitación_0} \\ & \text{B} - 131094 \text{ Concentración CO}_2\text{*Agitación_8 A} \\ & + 131094 \text{ Concentración CO}_2\text{*Agitación_8 B} \\ & + 307031 \text{ Concentración CO}_2\text{*Agitación_25 A} \\ & - 307031 \text{ Concentración CO}_2\text{*Agitación_25 B} \\ & + 198906 \text{ Concentración CO}_2\text{*Agitación_50 A} \\ & - 198906 \text{ Concentración CO}_2\text{*Agitación_50 B} \end{aligned}$$

Fuente: Minitab (2018)

Anexo N°04: Validación de instrumentos.



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

INFORME DE OPINION DE EXPERTOS DE INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN

I. DATOS GENERALES

- 1.1. Apellidos y Nombres del validador Dr. / Mg. Cecilia CERMEÑO Castromonte
 1.2. Cargo e institución donde labora: Docente UCV
 1.3. Especialidad del validador:.....
 1.4. Nombre del instrumento.....
 1.5. Título de la Investigación.....
 1.6. Autor del instrumento: Nathaly Teji Garcia

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE					MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE				
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.											/		
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.											/		
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.											/		
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.											/		
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales											/		
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.											/		
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.											/		
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.											/		
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.											/		
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.											/		
PROMEDIO DE VALIDACIÓN												/		

PERTINENCIA DE LOS ITEMS O RECATIVOS DEL INSTRUMENTO

INSTRUMENTO	SUFICIENTE	MEDIANAMENTE SUFICIENTE	INSUFICIENTE

- III. PROMEDIO DE VALORACIÓN... IV. OPINION DE APLICABILIDAD
 () El instrumento puede ser aplicada tal como está elaborado
 () El instrumento debe ser mejorado antes de ser aplicado

Lugar y Fecha:

DNI. N°

44071428

Firma del experto informante

Teléfono



INFORME DE OPINION DE EXPERTOS DE INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN

I. DATOS GENERALES

- 1.1. Apellidos y Nombres del validador Dr. / Mg. JAVE NAKAYO JORGE LEONARDO
 1.2. Cargo e institución donde labora: DOCENTE U.C.U.
 1.3. Especialidad del validador:.....
 1.4. Nombre del instrumento.....
 1.5. Título de la Investigación.....
 1.6. Autor del instrumento Nathaly Teri Garcia

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE					MINIMAMENTE ACEPTABLE			ACEPTABLE				
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.											✓		
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.											✓		
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.											✓		
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.											✓		
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales											✓		
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.											✓		
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.											✓		
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.											✓		
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.											✓		
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.											✓		
PROMEDIO DE VALIDACIÓN												✓		

PERTINENCIA DE LOS ITEMS O RECATIVOS DEL INSTRUMENTO

INSTRUMENTO	SUFICIENTE	MEDIANAMENTE SUFICIENTE	INSUFICIENTE

III. PROMEDIO DE VALORACIÓN..... IV. OPINION DE APLICABILIDAD

- () El instrumento puede ser aplicada tal como está elaborado
 () El instrumento debe ser mejorado antes de ser aplicado

Lugar y Fecha:

DNI. N° 01060053

Firma del experto informante

Teléfono 992605015

[Handwritten Signature]
992605015

INFORME DE OPINION DE EXPERTOS DE INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN
I. DATOS GENERALES

- 1.1. Apellidos y Nombres del validador Dr. / Mg. Dr. César Eduardo Jiménez Calderón
- 1.2. Cargo e institución donde labora: Docente UCV
- 1.3. Especialidad del validador:.....
- 1.4. Nombre del instrumento.....
- 1.5. Título de la Investigación.....
- 1.6. Autor del instrumento Nathaly Teri Garcia

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

CRITERIOS	INDICADORES	INACEPTABLE						MINIMAMENTE ACEPTABLE				ACEPTABLE			
		40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	
1. CLARIDAD	Esta formulado con lenguaje comprensible.												✓		
2. OBJETIVIDAD	Esta adecuado a las leyes y principios científicos.													✓	
3. ACTUALIDAD	Esta adecuado a los objetivos y las necesidades reales de la investigación.												✓		
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.												✓		
5. SUFICIENCIA	Toma en cuenta los aspectos metodológicos esenciales												✓		
6. INTENCIONALIDAD	Esta adecuado para valorar las variables de la Hipótesis.										✓				
7. CONSISTENCIA	Se respalda en fundamentos técnicos y/o científicos.												✓		
8. COHERENCIA	Existe coherencia entre los problemas objetivos, hipótesis, variables e indicadores.												✓		
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde una metodología y diseño aplicados para lograr probar las hipótesis.												✓		
10. PERTINENCIA	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al Método Científico.												✓		
PROMEDIO DE VALIDACIÓN													✓		

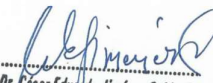
PERTINENCIA DE LOS ITEMS O RECATIVOS DEL INSTRUMENTO

INSTRUMENTO	SUFICIENTE	MEDIANAMENTE SUFICIENTE	INSUFICIENTE

III. PROMEDIO DE VALORACIÓN..... IV. OPINION DE APLICABILIDAD

- () El instrumento puede ser aplicada tal como está elaborado
- () El instrumento debe ser mejorado antes de ser aplicado

Lugar y Fecha:



Dr. César Eduardo Jiménez Calderón
Firma del experto validante

DNI. N° _____

Teléfono _____

Anexo N°05: Matriz de consistencia.


Tipo	Problemas	Objetivos	Hipótesis	Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Indicadores
General	¿Cuál es el efecto de la concentración de dióxido de carbono y la agitación al medio de cultivo sobre la fijación de carbono por la microalga <i>Phaeodactylum tricorutum</i> ?	Evaluar el efecto de la concentración de dióxido de carbono y la agitación al medio de cultivo sobre la fijación de carbono por la microalga <i>Phaeodactylum tricorutum</i> .	El efecto de la concentración de dióxido de carbono y la agitación al medio de cultivo sobre la fijación de carbono por microalga <i>Phaeodactylum tricorutum</i> es significativo.	Fijación de carbono	El CO ₂ se fija en las células microalgales y se transfiere a compuestos que contienen carbono, como carbohidrato, lípidos y proteínas. Por lo tanto, la capacidad de fijación de CO ₂ se refleja en la concentración celular de las microalgas (Zeng et al., 2010).	Se determinará la fijación de carbono calculando la densidad celular de la microalga <i>Phaeodactylum tricorutum</i> .	Densidad celular	Cel/ml
Específicos	¿Cuál es la concentración de dióxido de carbono que incrementa el crecimiento de la microalga <i>Phaeodactylum tricorutum</i> ? Problemas	Determinar la concentración de dióxido de carbono que incrementa el crecimiento de la microalga <i>Phaeodactylum tricorutum</i> .	La concentración de dióxido de carbono que incrementa el crecimiento de la microalga <i>Phaeodactylum tricorutum</i> es 25%.	Concentración de dióxido de carbono	Gas de efecto invernadero, principalmente producido por la actividad humana, como la quema de combustibles fósiles sólidos y líquidos, los cuales incrementan la capacidad de la atmósfera para retener el calor (Appenzeller, 2004).	Se determinará las tres concentraciones de CO ₂ diferentes más un control (0%, 8%, 25%, 50% CO ₂ v/v) midiendo el volumen que ingresa al cultivo sobre el volumen total y la medición de los parámetro de cultivos.	Dosis Parámetros de cultivo	v/v pH μS/cm °C Lux

Tipo	Problemas	Objetivos	Hipótesis	Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Indicadores
	¿La agitación del cultivo incrementa el crecimiento celular de la microalga <i>Phaeodactylum tricorutum</i> ?	Determinar si la agitación del cultivo incrementa el crecimiento celular de la microalga <i>Phaeodactylum tricorutum</i> .	La agitación del cultivo incrementa el crecimiento celular de la microalga <i>Phaeodactylum tricorutum</i> .	Agitación	Influencia directa sobre la transferencia de masa, siendo la transferencia de masa importante para la difusión e ingreso del CO ₂ a la célula (Rubio y Moreno, 2017).	Se determinará la agitación calculando las revoluciones por minuto y el tiempo de aplicación de las paletas utilizadas para la agitación.	Tiempo de agitación	Horas
							Velocidad de agitación	rpm

Anexo N° 06: Informe de similitud.

Feedback Studio - Google Chrome
Es seguro | https://ev.turnitin.com/app/carta/es/?s=&u=1064138409&o=992218093&student_user=1&lang=es

feedback studio Nathaly Jeri | Efecto de la concentración de dióxido de carbono y agitación del cultivo sobre la fijación de carbono por la microalga *Phaeodactylum tricornutum*, 2018

**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Efecto de la concentración de dióxido de carbono y agitación del cultivo sobre la fijación de carbono por la microalga *Phaeodactylum tricornutum*, 2018”

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERA AMBIENTAL

AUTORA:
JERÍ GARCIA, NATHALY JAZMÍN

Resumen de coincidencias
10 %

1	repositorio.ucv.edu.pe Fuente de Internet	4 %
2	www.posgradoeinvesti... Fuente de Internet	1 %
3	dspace.concytec.gob.pe Fuente de Internet	1 %
4	repvie.uis.edu.co Fuente de Internet	1 %
5	repositorio.ucr.ac.cr Fuente de Internet	1 %
6	idus.us.es Fuente de Internet	<1 %
7	www.uca.ac.cr Fuente de Internet	<1 %

Página: 1 de 84. Número de palabras: 13404. Text-only Report | High Resolution. Activado

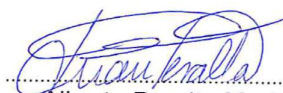
 UCV UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO	ACTA DE APROBACIÓN DE ORIGINALIDAD DE TESIS	Código : F06-PP-PR-02.02 Versión : 09 Fecha : 11-06-2018 Página : 1 de 1
--	---	---

Yo, Juan Alberto Peralta Medina, docente de la Facultad de Ingeniería y Escuela Profesional de Ingeniería de la Universidad César Vallejo – Lima Norte, revisor (a) de la tesis titulada:

“Efecto de la concentración de dióxido de carbono y agitación del cultivo sobre la fijación de carbono por la microalga *Phaeodactylum tricornutum*, 2018”, del (de la) estudiante **Nathaly Jazmín Jerí Garcia**, constato que la investigación tiene un índice de similitud de 10% verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin.

El/la suscrito (a) analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

Los Olivos, 03 de setiembre de 2018



Juan Alberto Peralta Medina
 DNI: 09127909

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Representante de la Dirección / Vicerrectorado de Investigación y Calidad	Aprobó	Rectorado
---------	----------------------------	--------	---	--------	-----------



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FORMATO DE SOLICITUD

SOLICITA:

Digitación de Tesis

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Nathaly Jazmin Teri Garcia con DNI N° 48045673 domiciliado (a) en Calle Cajamarca Mz M/HI, Urb. Alvarez - Ate ante Ud. Con el debido respeto, expongo lo siguiente:

Que en mi condición de alumno de la promoción 2018-I del programa ...INGENIERÍA AMBIENTAL... Identificado con el código de matrícula N° 7.000.682830 de la Escuela de Ingeniería Ambiental, recorro a su honorable despacho para solicitar lo siguiente:

la digitalización de mi tesis titulada "Efecto de la concentración de dióxido de carbono y agitación del cultivo sobre la fijación de carbono por la microalga Pheodactylum tricornutum, 2018"

Por lo expuesto, agradeceré ordenar a quien corresponde se me atienda mi petición por ser de justicia.

Lima, de de 2018

Handwritten signature and stamp of the school



Handwritten signature



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación (CRAI)
"César Acuña Peralta"

FORMULARIO DE AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DE LAS TESIS

1. DATOS PERSONALES

Apellidos y Nombres: (solo los datos del que autoriza)

Teri Garcia Nathaly Jazmin
D.N.I. : 48045673
Domicilio : Calle Cajamarca Mz M Lt 1, Urb. Alvarez Ate.
Teléfono : Fijo : Móvil : 9.63456251
E-mail : nathaly.jergarcia@gmail.com

2. IDENTIFICACIÓN DE LA TESIS

Modalidad:

Tesis de Pregrado

Facultad : Ingeniería
Escuela : Ingeniería Ambiental
Carrera : Ingeniería Ambiental
Título : Ingeniería Ambiental

Tesis de Post Grado

Maestría

Doctorado

Grado :
Mención :

3. DATOS DE LA TESIS

Autor (es) Apellidos y Nombres:

Teri Garcia Nathaly Jazmin

Título de la tesis:

Efecto de la concentración de dióxido de carbono y
agitación del cultivo sobre la fijación de carbono por la
microalga *Phaeodactylum tricornutum*, 2018

Año de publicación :

4. AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN VERSIÓN ELECTRÓNICA:

A través del presente documento,

Si autorizo a publicar en texto completo mi tesis.



No autorizo a publicar en texto completo mi tesis.



Firma : 

Fecha :