

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería



Evaluación del efecto de las condiciones de cultivo  
en el potencial energético de biomasa obtenida de  
microalgas

Trabajo de graduación presentado por  
Sebastian Sanchez Munduate para optar al grado académico  
de Licenciado en Ingeniería en Biotecnología Industrial

Guatemala  
2023



UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería



Evaluación del efecto de las condiciones de cultivo  
en el potencial energético de biomasa obtenida de  
microalgas

Trabajo de graduación presentado por  
Sebastian Sanchez Munduate para optar al grado académico  
de Licenciado en Ingeniería en Biotecnología Industrial

Guatemala

2023

Vo. Bo.

(f) \_\_\_\_\_



Lic. Carlo Roberto Martínez Joachin

Terna examinadora

(f) \_\_\_\_\_

Ing. Gamaliel Giovanni Zambrano Ruano. Msc

(f) \_\_\_\_\_



Lic. Carlo Roberto Martínez Joachin

(f) \_\_\_\_\_



Ing. Carmen Alicia Ortiz Pineda. MA

Fecha de aprobación: Guatemala, 26 de octubre de 2023

## **Prefacio**

La creación de este proyecto de graduación se origina en el interés que desarrollé previo y durante mi trayectoria en la carrera de Ingeniería en Biotecnología Industrial acerca de la sostenibilidad y el desarrollo de nuevas tecnologías alrededor de un enfoque verde. En particular, en todo lo vinculado con la generación de energías renovables y, más específicamente, en la fabricación de biocombustibles. Las microalgas y dar cuenta de su potencial durante los últimos años de la carrera como materia prima alternativa a combustibles fósiles, me impulsó a enfocar mi trabajo en la implementación de un reactor para su cultivo y recolección. Con la esperanza de propiciar a investigaciones futuras una base sobre cultivo de estos microorganismos, para la obtención de biomasa útil alterando las condiciones de cultivo a distintos niveles de estrés.

Agradezco a mi asesor, Lic. Carlo Roberto Martínez Joachin, por sus enseñanzas, sugerencias, orientación y apoyo a lo largo de este trabajo. Por motivarme a seguir a realizar un trabajo de calidad y cuestionándome en las cosas que afectaban la claridad de mi trabajo. Agradezco también a los otros integrantes de mi terna examinadora, Ing. Gamaliel Giovanni Zambrano Ruano, M. Sc e Ing. Carmen Alicia Ortiz Pineda, M.A, por sus comentarios, sugerencias y observaciones cuales contribuyeron con mi proceso de aprendizaje durante la finalización de este trabajo.

Agradezco a mi familia por su amor, apoyo y consideración, especialmente a mis padres Edwin y Claudia, quienes me han enseñado que la dedicación, esfuerzo y voluntad son indispensables para completar las metas que uno se traza en la vida. Adicionalmente, agradezco a Cat. Patricia Palomo y PhD. Dalia Lau Bonilla por su disponibilidad en aspectos específicos del proyecto. Finalmente, agradezco a mis amigos y colegas, por creer en mis capacidades, levantar mis ánimos y llenar de felicidad, determinación y gratitud esta experiencia.

## Tabla de contenido

I.	Introducción.....	1
II.	Justificación.....	3
III.	Objetivos.....	5
A.	Objetivo general .....	5
B.	Objetivos específicos .....	5
IV.	Marco teórico .....	6
A.	Microalgas.....	6
	<i>Fotosíntesis en microalgas.....</i>	6
	<i>Microalgas: Nannochloropsis sp. ....</i>	7
B.	Sistemas de cultivación para microorganismos .....	8
	<i>Biorreactor y sus tipos .....</i>	8
	<i>Parámetros de crecimiento de microalgas (estrés de cultivación) .....</i>	10
C.	Biocombustibles .....	14
	<i>Proceso industrial de biocombustibles .....</i>	14
	<i>Producción de biocombustibles a partir de microalgas .....</i>	15
D.	Aguas residuales.....	16
	<i>Aplicación de microalgas para aguas residuales.....</i>	16
E.	Análisis de combustible (biomasa).....	17
F.	Antecedentes .....	18
V.	Metodología.....	21
VI.	Resultados .....	31
VII.	Análisis de resultados (Discusión).....	40
VIII.	Conclusiones .....	46
IX.	Recomendaciones .....	47
X.	Bibliografía.....	48
XI.	Anexos.....	53
A.	Datos originales .....	53
B.	Datos calculados.....	71
C.	Cálculos de muestra.....	80
D.	Glosario .....	86
E.	Fotografías .....	88

## Tabla de cuadros

Cuadro 1. Promedios de la propagación de la especie <i>Nannochloropsis oculata</i> para evidenciar el uso de los tanques laguna abierta sin agitación construidos.....	32
Cuadro 2. Promedios de él poder calorífico superior, la energía total, energía útil y eficiencia de las muestras de biomasa de <i>Nannochloropsis oculata</i> en distintas corridas. ....	33
Cuadro 3. Caracterización analítica promedia de la biomasa seca al combustionar para él PCS de muestras de biomasa de <i>Nannochloropsis oculata</i> en distintas corridas. ....	33
Cuadro 4. Especificaciones cuantitativas del sistema de cultivo de <i>Nannochloropsis oculata</i> obtenido para el diseño de los tanques de operación. ....	34
Cuadro 5. Datos de los tanques de operación con el sistema abierto sin agitación. ....	53
Cuadro 6. Operación de la inyección de aire medida para cada uno de los tanques. ....	53
Cuadro 7. Datos de las operaciones de centrifugación con el equipo SORVALL RT7.....	54
Cuadro 8. Datos de las operaciones de deshidratación con el equipo Hamilton Beach. ...	54
Cuadro 9. Datos de las operaciones de análisis de humedad con el equipo MB120 Analizador de Humedad (Método creado para microalgas).....	54
Cuadro 10. Fórmula para preparar 75 L (25 L x 3 tanques) del medio de cultivo f/2 Guillard.....	54
Cuadro 11. Datos de los reactivos dentro del medio f/2 Guillard. ....	55
Cuadro 12. Composición de solución trazas de metal del laboratorio de ingeniería Química.....	55
Cuadro 13. Composición de solución de vitaminas del laboratorio de ingeniería Química. ....	56
Cuadro 14. Composición de solución de agua residual gris sintética elaborada en el laboratorio de operaciones unitarias. ....	56
Cuadro 15. Datos de las condiciones dentro del tanque de laguna abierta durante la corrida 1 (condiciones de variación periódica de salinidad). ....	56
Cuadro 16. Datos de las condiciones dentro del tanque de laguna abierta durante la corrida 2 (condiciones de variación periódica de nutrientes).....	58
Cuadro 17. Datos de las condiciones dentro del tanque de laguna abierta durante la corrida 3 (condiciones de agua residual). ....	60
Cuadro 18. Datos de células y células viables dentro de las muestras 1ml de las 3 corridas experimentales por medio del MUSE. ....	62
Cuadro 19. Datos de las operaciones de la deshidratación de la corrida 1 (variación de salinidad) por 9 horas de operación.....	63
Cuadro 20. Datos de las operaciones de la deshidratación de la corrida 2 (variación de nutrientes y minerales) por 9 horas de operación. ....	64
Cuadro 21. Datos de las operaciones de la deshidratación de la corrida 3 (variación de agua residual) por 9 horas de operación. ....	64

Cuadro 22. Datos de las operaciones en la centrifugación de las distintas muestras recolectadas de los reactores abiertos sin agitación de operación de crecimiento. ....	66
Cuadro 23. Datos de recuperación de biomasa de <i>N. oculata</i> por centrifugación a 3000 rev/min de la corrida 1 (condiciones de variación periódica de salinidad). ....	66
Cuadro 24. Datos de recuperación de biomasa de <i>N. oculata</i> por centrifugación a 3000 rev/min de la corrida 2 (condiciones de variación periódica de nutrientes). ....	67
Cuadro 25. Datos de recuperación de biomasa de <i>N. oculata</i> por centrifugación a 3000 rev/min de la corrida 3 (condiciones de agua residual). ....	67
Cuadro 26. Datos de los tanques de operación del sistema abierto sin agitación. ....	68
Cuadro 27. Datos de los tanques de operación del sistema abierto sin agitación. ....	68
Cuadro 28. Caracterización analítica de la biomasa seca al combustionar para él poder calorífico superior de muestras de biomasa de microalgas <i>Nannochloropsis oculata</i> en distintas corridas. ....	69
Cuadro 29. Parámetros de operación de los tanques de operación del sistema abierto sin agitación y la experimentación del estudio (usos de balance y otros cálculos). ....	70
Cuadro 30. Costos de la construcción de los tanques de operación del sistema abierto sin agitación (total para 1 tanque). ....	71
Cuadro 31. Datos de valores utilizados en la elaboración de 2 galones de agua residual gris sintética para usar en la tercera corrida. ....	71
Cuadro 32. Datos de las operaciones para la estimación de la velocidad de la salida total por los agujeros del sistema aireación. ....	72
Cuadro 33. Datos calculados para las células totales (y viables) en el volumen de los tanques de operación para cada corrida. ....	73
Cuadro 34. Datos calculados de recuperación de biomasa de <i>N. oculata</i> por centrifugación a 3000 rev/min de las 3 corridas. ....	74
Cuadro 35. Datos calculados de recuperación de biomasa de <i>N. oculata</i> por deshidratación de las 3 corridas. ....	75
Cuadro 36. Valores calculados para él poder calorífico superior, energía total, energía útil y eficiencia de muestras de biomasa de <i>N. oculata</i> en distintas corridas. ....	75
Cuadro 37. Caracterización analítica promedia de la biomasa seca al combustionar para él PCS de muestras de biomasa de <i>N. oculata</i> en distintas corridas. ....	76
Cuadro 38. Estadística para el poder calorífico superior obtenido en las 3 corridas trabajadas. ....	77
Cuadro 39. Análisis de la Varianza para el poder calorífico superior obtenido en las 3 corridas trabajadas. ....	77
Cuadro 40. Estadística para el poder calorífico superior obtenido en las 3 corridas trabajadas. ....	77
Cuadro 41. Análisis de la Varianza para el poder calorífico superior obtenido en las 3 corridas trabajadas. ....	77

## Tabla de figuras

Figura 1. Captura a escala de microscopio de la especie <i>Nannochloropsis oculata</i> .....	7
Figura 2. Diferentes tipos de reactores de laguna abierta a escala industrial para la cultivación de microalgas.....	9
Figura 3. Valores caloríficos de varias muestras de combustibles.....	18
Figura 4. Proceso de extracción y secado simplificado usado en <i>Nannochloropsis oceanica</i> .....	19
Figura 5. Comportamiento del parámetro fisicoquímico de la temperatura del medio del medio de cultivo durante las distintas corridas elaboradas.....	31
Figura 6. Comportamiento del parámetro fisicoquímico del potencial de hidrogeno (pH) del medio del medio de cultivo durante las distintas corridas elaboradas.....	31
Figura 7. Comportamiento del parámetro fisicoquímico de la salinidad del medio del medio de cultivo durante las distintas corridas elaboradas.....	32
Figura 8. Vista de planta del reactor tanque abierto sin agitación versión sistema de aireación 1 con sus medidas correspondientes.....	35
Figura 9. Vista lateral del reactor tanque abierto sin agitación versión sistema de aireación 1 con sus medidas correspondientes.....	36
Figura 10. Vista de frontal del reactor tanque abierto sin agitación versión sistema de aireación 1 con sus medidas correspondientes.....	37
Figura 11. Vista de planta sistema de aireación 3 con sus medidas correspondientes....	38
Figura 12. Vista de planta sistema de aireación 2 con sus medidas correspondientes.....	39
Figura 13. Curvas de humedad de las 3 corridas de variación del proceso de obtención de biomasa por medio del deshidratador Hamilton Beach a 54.44 °C.....	65
Figura 14. Balance de masa para el proceso de propagación realizado en la experimentación.....	78
Figura 15. Balance de masa y energía para el proceso de centrifugación realizado en la experimentación.....	78
Figura 16. Balance de masa y energía para el proceso de deshidratación realizado en la experimentación.....	79
Figura 17. Balance de masa y energía para el proceso de propagación realizado en la experimentación.....	79
Figura 18. Válvula de entrada de aire proporcionada por el laboratorio de operaciones unitarias.....	88
Figura 19. Cabeza de latón ½ pulgada reforzada con teflón de adaptador de manguera utilizada en el sistema de aireación.....	88
Figura 20. Caja de plástico “56 Lt” Guateplast utilizada como el tanque del reactor abierto sin agitación.....	89
Figura 21. Caja de plástico “56 Lt” Guateplast utilizada como el tanque del reactor abierto sin agitación.....	89

Figura 22. Lamina transparente de plástico instalada en el área de operación exterior de los cultivos de microalgas. ....	90
Figura 23. Cortina de paja utilizada para mitigar el efecto de la intensidad lumínica en los cultivos de microalgas. ....	90
Figura 24. Inoculo inicial de <i>Nannochloropsis oculata</i> cultiva en medio f/2 Guillard en un tanque tubular cerrado de 5 Litros. ....	91
Figura 25. Solución de vitaminas (izquierda) y trazas de metal (derecha) para la preparación del medio f/2 Guillard proporcionado por laboratorio del departamento de ingeniería química. ....	91
Figura 26. Garrafón de agua pura salvavidas esterilizado para utilizar como contenedor de medio nutritivo f/2 Guillard. ....	92
Figura 27. Galones utilizados para el almacenamiento de <i>Nannochloropsis oculata</i> dentro del cuarto frio. ....	92
Figura 28. Roca utilizada como contrapeso en los reactores de laguna abierta. ....	93
Figura 29. Sección cruz de redirección de los gases en el sistema de aireación externo. ....	93
Figura 30. Prototipo versión 0 del reactor abierto de 25 litros con método de protección temporal durante un día con clima lluvioso [20 de junio 2022]. ....	94
Figura 31. Acercamiento al burbujeo del sistema de aireación debido a la inyección de aire. ....	94
Figura 32. Prototipo versión 0 del reactor abierto de 25 litros vista superior. ....	95
Figura 33. Prototipo versión 0 del reactor abierto de 25 litros vista lateral. ....	95
Figura 34. Medidor de luz EXTECH EA30. ....	96
Figura 35. Medidor de salinidad portátil ATAGO. ....	96
Figura 36. Medidor de pH Ohaus st20. ....	97
Figura 37. Termo anemómetro AMPROBE TMA5. ....	97
Figura 38. Centrifugadora SORVALL RTZ. ....	98
Figura 39. Balanza analítica Kern con muestra de secado corrida 1 hora 1. ....	98
Figura 40. Deshidratador de alimentos Hamilton Beach con 5 bandejas y 1 tapa. ....	99
Figura 41. Bomba calorimétrica IKA C200. ....	99
Figura 42. Mufla THERMOLYNE para ciertas pruebas de combustión. ....	100
Figura 43. Balanza de humedad OHAUS MB120. ....	100
Figura 44. Analizador de gases testo 310 junto a la sonda de gases de combustión. ....	101
Figura 45. Sistema casero de imitación a una chimenea a nivel pequeña para la medición de gases de combustión a. ....	101
Figura 46. Muestras recolectadas de biomasa dentro de los reactores laguna abierta sin agitación con un colador de cocina. ....	102
Figura 47. Muestras tomadas en tubos de ensayo para mediciones de pH, salinidad y conteo celular de las distintas corridas evaluadas. ....	102

Figura 48. Envases de 250 ml anexados a la centrifugadora RTZ con las muestras luego de la centrifugación (precipitado biomasa y sobrenadante agua).....	103
Figura 49. Muestra de biomasa luego de la centrifugación T1 C2 (recolección 1 envase 2). .....	103
Figura 50. Muestra de biomasa luego de la deshidratación T2 C3 (N3) previo a su pulverizada para las pruebas de poder calorífico superior. ....	104
Figura 51. Muestra de biomasa luego de la prueba de ceniza dentro de una mufla0. ....	104
Figura 52. Indicios para suspender la corrida en forma de estrés por “Proliferación de algas” dentro del tanque 2 en los últimos días de la corrida 2. ....	105
Figura 53. Acercamiento al tanque 3 con el sistema de aireación 3 y la biomasa de microalga pegada en ambas durante la recolección de la corrida 3 el 4/7/2023. ....	105
Figura 54. Corrida 1 variación de salinidad fluctuante en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [26 de enero del 2023].....	106
Figura 55. Corrida 1 variación de salinidad fluctuante en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [31 de enero del 2023].....	107
Figura 56. Corrida 1 variación de salinidad fluctuante en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [2 febrero del 2023]. ....	108
Figura 57. Corrida 1 variación de salinidad fluctuante en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [15 de febrero del 2023]. ....	109
Figura 58. Corrida 1 variación de salinidad fluctuante en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [20 de febrero del 2023]. ....	110
Figura 59. Corrida 1 variación de salinidad fluctuante en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [1 de marzo del 2023]. ....	111
Figura 60. Corrida 1 variación de salinidad fluctuante en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [9 de marzo del 2023]. ....	112
Figura 61. Corrida 1 variación de salinidad fluctuante en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [10 de marzo del 2023].....	113
Figura 62. Corrida 2 variación de nutrientes y minerales (medio f/2) periódico en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [18 de marzo del 2023].....	114
Figura 63. Corrida 2 variación de nutrientes y minerales (medio f/2) periódico en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [22 de marzo del 2023].....	115
Figura 64. Corrida 2 variación de nutrientes y minerales (medio f/2) periódico en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [25 de marzo del 2023].....	116
Figura 65. Corrida 2 variación de nutrientes y minerales (medio f/2) periódico en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [29 de marzo del 2023].....	117
Figura 66. Corrida 2 variación de nutrientes y minerales (medio f/2) periódico en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [12 de abril del 2023]. ....	118
Figura 67. Corrida 2 variación de nutrientes y minerales (medio f/2) periódico en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [17 de abril del 2023]. ....	119

Figura 68. Corrida 2 variación de nutrientes y minerales (medio f/2) periódico en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [26 de abril del 2023].	120
Figura 69. Corrida 2 variación de nutrientes y minerales (medio f/2) periódico en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [4 de mayo del 2023].	121
Figura 70. Corrida 3 variación de agua suavizada a agua residual gris en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [19 de mayo del 2023].	122
Figura 71. Corrida 3 variación de agua suavizada a agua residual gris en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [21 de mayo del 2023].	123
Figura 72. Corrida 3 variación de agua suavizada a agua residual gris en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [26 de mayo del 2023].	124
Figura 73. Corrida 3 variación de agua suavizada a agua residual gris en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [8 de junio del 2023].	125
Figura 74. Corrida 3 variación de agua suavizada a agua residual gris en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [19 de junio del 2023].	126
Figura 75. Corrida 3 variación de agua suavizada a agua residual gris en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [23 de junio del 2023].	127
Figura 76. Corrida 3 variación de agua suavizada a agua residual gris en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [30 de junio del 2023].	128
Figura 77. Corrida 3 variación de agua suavizada a agua residual gris en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [4 de julio del 2023].	129
Figura 78. Muestra del cultivo <i>Nannochloropsis oculata</i> de la segunda corrida 13/04/2023 bajo microscopio de laboratorio a objetivo x20.	130

## Tabla de ecuaciones

Ecuación 1. Expresión general de la fotosíntesis.....	7
Ecuación 2. Precio para los elementos usados para la elaboración de un tanque de agitación abierto. ....	80
Ecuación 3. Área de salida del aire a través de los agujeros de la manguera para el sistema de aireación de los cultivos en un tanque abierto sin agitación.....	80
Ecuación 4. Flujo volumétrico de aire previo a las salidas por agujero del sistema de aireación de los cultivos en un tanque abierto sin agitación.....	80
Ecuación 5. Velocidad del aire para el sistema de aireación de los cultivos en un tanque abierto sin agitación. ....	80
Ecuación 6. Relación nitrógeno: fósforo dentro del medio de cultivo f/2 Guillard al ser alimentado al sistema. ....	81
Ecuación 7. Cantidad de células totales (y viables) dentro del volumen del tanque laguna abierta sin agitación. ....	81
Ecuación 8. Masa final obtenida de las muestras de centrifugación. ....	81
Ecuación 9. Masa final obtenida de las muestras de secado (deshidratación). ....	81
Ecuación 10. Determinación del poder calorífico superior (PCS) experimental de las muestras de biomasa seca de distintas corridas. ....	82
Ecuación 11. Determinación de la energía total por cada fuente de biomasa seca de distintas corridas. ....	82
Ecuación 12. Determinación de la energía útil por cada fuente de biomasa seca de distintas corridas. ....	82
Ecuación 13. Determinación del porcentaje de ceniza para muestras de biomasa de microalgas.....	82
Ecuación 14. Determinación de la biomasa combustionada experimental de distintas corridas.....	83
Ecuación 15. Determinación de la eficiencia con que se utiliza la energía de las muestras de biomasa seca de distintas corridas.....	83
Ecuación 16. Determinación del flujo volumétrico necesario del oxígeno utilizado en la combustión para el balance de masa.....	83
Ecuación 17. Determinación de flujo masico de entrada de oxígeno corregido a la combustión.....	83
Ecuación 18. Perdidas máxicas por evaporación durante la etapa de propagación. ....	83
Ecuación 19. Balance de masa para la experimentación.....	84
Ecuación 20. Balance de energía para la experimentación (usando los datos técnicos de los equipos).....	84
Ecuación 21. Determinación del volumen de operación del cultivo a partir de la profundidad recomendada para un tanque sin agitación.....	84

Ecuación 22. Determinación de la velocidad del aire para el sistema de aireación del reactor sin agitación implementado.....	84
Ecuación 23. Promedio obtenido de los resultados. ....	85
Ecuación 25. Coeficiente de variación obtenido de los resultados. ....	85
Ecuación 26. Propagación de error (incertidumbre).....	85

## Resumen

Las microalgas en recientes tiempos se han ejercitado como una alternativa prometedora para la obtención de productos con potencial energético como los biocombustibles. A diferencia de los cultivos destinados a la producción de energía, como madera, carbón y otros combustibles, estas poseen una alta eficiencia de producción, tienen un menor impacto ambiental y tienen la capacidad de usarse para el tratamiento de aguas residuales. El cultivo de microalgas comprende la etapa del proceso de producción de bioproductos (como los aceites) y la obtención de la biomasa, y está directamente relacionada con las condiciones de propagación de las microalgas. El cuidado y mantenimiento de los cultivos microalgas independiente de la escala a la que se desea trabajar, se logra a través de la observación de los parámetros fisicoquímicos del medio de crecimiento. La biomasa obtenida puede ser procesada y evaluada para determinar su potencial energético y en un futuro emplearse biocombustible, esto se realiza por medio de diferentes cuantificaciones durante la combustión directa. En el presente trabajo se propuso la implementación de un reactor abierto tipo laguna sin agitación a escala laboratorio para el cultivo de microalgas con el propósito de obtener biomasa y evaluar su potencial energético. Como resultado se determinó que, de las tres variaciones establecidas la corrida 3, donde se indujo el cultivo a un tipo sintético de agua residual gris, alcanzó los valores más altos de poder calorífico ( $14157.57 \pm 56.11$  J/g), energía total ( $160.89 \pm 0.51$  kJ) y energía útil ( $104.35 \pm 0.31$  kJ). En futuras experimentaciones se recomienda explorar la viabilidad de utilizar otras fuentes de agua residual, como aguas residuales con presencia de coliformes, evaluar el efecto en el potencial energético de las microalgas.

# I. Introducción

Las microalgas son microorganismos acuáticos capaces de realizar la fotosíntesis, siendo eficientes en su aprovechamiento solar y fijación de dióxido de carbono, sin embargo, no son clasificadas como plantas. Adicionalmente, en varias áreas de innovación han mostrado un gran atractivo en usarlas, debido a su producción de proteínas, sacáridos, aceites; volviéndolas candidatas de interés como materia prima en el desarrollo de productos para solucionar problemáticas actuales (Umen, 2014). Los biocombustibles, son combustibles derivados de materia orgánica utilizable como fuente de energía, que han crecido en popularidad debido a su enfoque ecológico en su producción, y a su vez el rapido agotamiento de los combustibles fósiles en el mundo. Varios investigadores han experimentado con distintas fuentes de biomasa para su producción, y una de las más destacadas son las microalgas debido a su alto contenido energético dado su poco costo de cultivación. En general, la situación de los biocombustibles en el mundo está en constante evolución y depende de los marcos regulatorios, la disponibilidad de recursos y la aceptación social.

Actualmente, compañías como TESLA y BAIC construyen motores eléctricos como una alternativa eficiente a los combustibles fósiles, sin embargo, inconvenientes en su diseño no los convierte en la alternativa esperada. Por ejemplo, su producción y enfoque ambiental no los hacen la mejor alternativa al cambio de combustibles fósiles si se busca tener una visión verde al usar un combustible. En contraste, los biocombustibles no tienen los mismos inconvenientes, ya que, al venir de fuentes renovables relativamente fáciles de conseguir a costos bajos de cultivación, los vuelve una buena fuente de materia para trabajar en distintas tareas industriales (Saquicela y Pico, 2018). Los biocombustibles obtienen su “fuente de energía” gran parte del tiempo de materia orgánica originaria de procesos biológicos industriales (como residuos) conocida como biomasa. No obstante, avances en el campo de desarrollo de combustibles han adaptado distintas fuentes de para la producción de dicha biomasa, desde los habituales como derivados agrícolas, hasta microalgas siendo fuentes más recientes (Moheimani et al., 2015).

Investigaciones han justificado el potencial de las microalgas para producir combustibles, dada su alta eficiencia en producir biomasa, sin tener una gran cantidad de limitaciones económicas y ambientales. Por lo que son biocombustibles de tercera generación; dado sus capacidades de producir aceites y azúcares en eficientes cantidades dado un espacio mínimo, superior a la biomasa lignocelulósica de segunda generación, pero sin el costo excesivo de organismos genéticamente modificados de la cuarta generación (Moheimani et al., 2014). Algunas especies de microalgas como Cyanophyceae y Chlorophyceae, logran producir aceites vegetales con un gran potencial de combustión desde sistemas de cultivo que ocupan la mitad de espacio que otras fuentes. Ciertos estudios, han realizado experimentaciones comparativas entre distintas especies, concluyendo que la eficiencia de algas maricas con algas de agua dulce posee diferentes resultados. Adicionalmente, se ha encontrado que la digestión anaerobia de las microalgas produce la limpieza de dióxido de carbono y ácido sulfhídrico del gas resultante, abriendo más posibilidades para su uso (Kao et al., 2012).

Para Guatemala, una de las mayores fuentes renovables de energía son las hidroeléctricas, debido a ser un país rico en recursos hídricos (ríos, lagos), donde se estima que 30% de la energía que se consumió en el 2016 fue por hidroeléctricas. Sin embargo, la

construcción de hidroeléctricas genera varias consecuencias no aparentes al medio ambiente, principalmente la destrucción de ecosistemas alrededor de la construcción de dicha hidroeléctricas (AGER, 2016). En zonas costeras como Izabal y Escuintla, el suministro eléctrico es escaso dado la red de distribución está limitada a pequeñas áreas, por lo que la compra de generadores se ha vuelto indispensable en estas zonas. A pesar de la opción de generadores, el costo es mínimo Q1700 de un generador Yamaha, siendo irrazonable para familias cuales no poseen ingresos que puedan cubrir estos costos.

La bioingeniería de biomasa de fuentes como microalgas u otras fuentes sigue expandiéndose como una de las mayores fuentes renovables en el mundo, debido a que no poseen efectos negativos al ambiente. La biomasa se ha establecido como una fuente útil tanto en la generación de biocombustibles como su conversión en electricidad pura, donde estudios mencionan que la mayoría de las biomasa son 30-80% más eficientes convirtiéndose en electricidad y biodiesel que cualquier otro biocombustible. La situación actual de la biomasa seca como biocombustible, ha experimentado un crecimiento significativo en los últimos años debido a su carácter renovable y su potencial para reducir las emisiones de gases de efecto invernadero. Además, se están realizando investigaciones y desarrollos tecnológicos para mejorar la eficiencia de la conversión de biomasa en energía y para explorar nuevas aplicaciones y formas de utilizarla como biocombustible. Sin embargo, es importante tener en cuenta que el uso de biomasa como biocombustible también plantea desafíos, como la disponibilidad y la sostenibilidad de los recursos, la competencia con la producción de alimentos y la emisión de contaminantes atmosféricos durante la combustión (Hamilton, 2020; Huang y Zhang, 2011).

El presente trabajo se plantea la implementación de varios cambios al sistema de cultivo de microalgas en un medio de crecimiento dentro de un biorreactor de laguna abierta, para obtener la cantidad de biomasa necesaria para analizar energéticamente por medio de pruebas de bomba calorimétrica. Se analizará su potencial energético como combustible, para proponerlo como una alternativa a otras fuentes, buscando que, al cambiar la distribución de salinidad, nutrientes y minerales, y cambio de agua a agua residual se produzca un valor atractivo en sus atributos como combustible. En síntesis, mostrando el efecto de las condiciones de cultivo sobre el potencial energético dado los efectos de cambios.

## II. Justificación

La contaminación está destinada a ser de las mayores amenazas tanto para la supervivencia del ser humano y el medio ambiente, donde los niveles de emisiones han sido los más altas en los últimos siglos, los medios de agua potable se van reduciendo y la cantidad de desperdicios votados en ecosistemas solo va aumentando. Estimando que la población mundial alcance los 9,800 millones para el año 2050, lo cual va a requerir de una gran cantidad de recursos para poder sustentar a la población, en especial en casos de energía (IRENA, 2020). Países como Guatemala pueden llegar sufrir los mayores efectos, debido a darse un aumento en el crecimiento económico se necesitará de abastecer las nuevas necesidades de dicho incremento resultando en un mayor consumo energético. Vemos también, que por parte del Environmental Protection Agency (EPA), en el 2017 unos 50 mil millones toneladas de gases de efecto invernadero fueron generado al año (14% por transporte) debido a la crisis climática. Por consiguiente, a esta situación varios investigadores han empezado a explorar soluciones energéticas sostenibles, para poder mitigar la explotación del medio ambiente por necesidad de satisfacer la demanda de recursos.

Al consumo actual se espera que para el 2060 se agoten la presente cantidad de combustibles fósiles, por lo que distintos países están observando el potencial de los biocombustibles como un candidato ecoeficiente para sustituir los combustibles fósiles y para satisfacer la nueva demanda energética. De hecho, el cambio para una postura verde en los combustibles ya ha empezado, países como Brasil el 32% de su energía total consumida provienen de fuentes renovables como bioetanol y biodiesel, y en el 2050 se estima un 48% de la energía utilizada en el mundo vendrá de fuentes renovables (IRENA, 2020).

En Guatemala el consumo eléctrico ha aumentado un 8% del año 2020 al 2021, aportado por hidroeléctricas y depósitos de carbón, debido al rebote económico generado por la pandemia (Bolaños, 2021). Las tarifas de energía eléctrica del 1 de febrero al 30 de abril de 2022, para clientes del grupo EEGSA, son de Q 1.28/kWh para la tarifa social y Q 1.36/kWh para la tarifa no social (EEGSA, 2022). Generando el uso de fuentes como leña, periódicos, gasolina; cuales causan problemas hacia la capa de ozono al ser quemadas para calor, iluminación entre otras actividades. Sino que pueden llegar a provocar asma, ataques cardíacos, cáncer de pulmón dado los componentes dentro del humo que desprenden como emisiones de dióxido de carbono, monóxidos de azufre entre otras condiciones según la Organización mundial de la salud (OMS) y el Instituto Nacional de Ciencias de la Salud Ambiental de los Estados Unidos en el EHP.

Según la información del INAB en la estrategia nacional de producción sostenible y uso eficiente de leña 2013-2024 establece que la leña es la principal fuente de cocción de alimentos y como combustible para calentar viviendas a nivel nacional sobre todos los recursos energéticos lo cual no es sostenible. La oferta anual de leña es de 17.96 millones de metros cúbicos, proveniente de bosques naturales (85%), plantaciones forestales (14%) y residuos de la industria (1%). La demanda anual se estima en 27.98 millones de metros cúbicos y proviene de la demanda doméstica rural (85%), demanda doméstica urbana (13%) y demanda industrial (2%). Actualmente, el 64% de la población depende de la leña como fuente de energía, el 67% de ella se encuentra en el área rural y el 33% en el área urbana.

En la actualidad, las microalgas son beneficiosas como fuente de materia prima para la industria y los laboratorios debido a varias razones. Primero, poseen alta productividad y crecimiento rápido, una composición rica en nutrientes y compuestos bioquímicos valiosos, sostenibilidad y bajo impacto ambiental, para una diversidad de aplicaciones. Esta versatilidad las hace atractivas como fuente de materia prima en diversas áreas, caracterizándolas para innovación y avances tecnológicos. Su potencial como recurso renovable y su capacidad para abordar desafíos ambientales y de salud hacen de las microalgas una opción atractiva para la industria y los laboratorios en busca de soluciones innovadoras y sostenibles. Las microalgas pueden generar combustible a través de un proceso de cultivo controlado, donde durante su crecimiento, acumulan lípidos ricos en energía. Luego, se cosechan y se extraen los lípidos, que se convierten en biodiesel mediante transesterificación. Incluso hay situaciones en que la biomasa sin hacerle una transformación se utiliza como biocombustible, pero ambas situaciones enfrentan desafíos económicos y técnicos.

Entonces el uso de leña como fuente de energía en muchas comunidades rurales de Guatemala ha generado problemas ambientales y de salud debido a la deforestación y la contaminación del aire. Además, el tratamiento inadecuado de las aguas residuales agrava la degradación del entorno y la escasez de recursos hídricos. En este contexto, las microalgas tienen un claro potencial energético al ofrecer una alternativa sostenible a fuentes convencionales energéticas, y emplear variaciones para suministrar cambios con el beneficio de poder conseguir un óptimo prototipo de biomasa. La producción local de biocombustibles a partir de microalgas podría reducir la dependencia de la leña y ayudar a resolver problemas ambientales y de salud pública, al tiempo que contribuye a la seguridad energética del país.

A partir de esta información, se planteó un trabajo de graduación con el propósito de recolectar la biomasa producida de un grupo microalgas *Nannochloropsis oculata*., para evaluar su potencial energético. Por lo que se analizó el potencial energético de 3 biomásas diferentes de *Nannochloropsis oculata* con variaciones de las condiciones de cultivo, y observar sus efectos en el poder calorífico y otras mediciones.

### **III. Objetivos**

#### **A. Objetivo general**

Evaluar el efecto de las condiciones de cultivo en el potencial energético de biomasa obtenida de microalgas *Nannochloropsis oculata* para presentarla como una fuente alternativa de combustible en el mercado.

#### **B. Objetivos específicos**

- Adaptar y construir un tanque laguna abierta sin agitación a base del diseño de un biorreactor abierto de paletas para ejecutar la variación de las condiciones fisicoquímicas y nutrientes del cultivo en el medio de crecimiento para la propagación de *Nannochloropsis oculata*.
- Propagar el cultivo *Nannochloropsis oculata* en un reactor de laguna abierta plantas piloto a fin de obtener la biomasa necesaria para la generación de distintos prototipos de combustible y evaluarlos energéticamente.
- Emplear los procesos de combustión por bomba calorimétrica a las biomasas obtenidas para la determinación del “potencial energético”.
- Analizar la cuantificación de dióxido de carbono, duración de combustión, porcentaje de humedad y ceniza producida por las biomasas como medidas adicionales a su efectividad como combustible.

## IV. Marco teórico

### A. Microalgas

Las microalgas son organismos eucariotas y procariotas, abundantes en varios ecosistemas acuáticos, con más de 30,000 especies conocidas, donde la mayoría contienen cloroplastos primarios en su cuerpo (tal como las plantas). Donde, distintas bases de datos agrupan a las microalgas al reino vegetal, debido a su similitud como organismo poseyente de clorofila. En lo cual investigadores han presentado cláusulas de clasificación únicas para las microalgas; dependiendo de criterios como; tipo de pigmentos, naturaleza química de los productos de almacenamiento dentro de la célula y la composición de la pared celular (ADL et al., 2005; Umen, 2014). Las microalgas además de poseer cloroplastos poseen una pared celular compuesta de complejos de carbohidratos, un núcleo encubierto, sacos lípidos y entre otras partes dependiendo de especie en especie (Audesirk et al., 2012).

Las microalgas se caracterizan por una característica importante que la vuelve una fuente de materia prima de alto valor es su rápido crecimiento/tiempo de duplicación entre 2 a 10 días, adicional a su alto contenido lipídico, bajo requerimiento de superficie para su crecimiento, y una alta eficiencia en aprovechamiento solar y fijación de dióxido de carbono. Resultando que, las microalgas poseen un gran valor debido a las características anteriores en el mercado industrial/desarrollo, en proyectos que requieran la obtención de biocombustibles y aceites esenciales (Hernandez y Labbe, 2014).

Entre el uso de las microalgas se encuentra sustentar ganado, aplicación como fertilizante, alimento en varias dietas del mundo, usos cosméticos, farmacéuticos y como materia prima en varios procesos industriales de biocombustibles. La gran variedad de usos se ve reflejado porque las microalgas poseen distintos compuestos útiles como los cloroplastos que contienen clorofila a y b, pigmentos accesorios betacaroteno (rojo anaranjado) y xantofilas (amarillo) en tilacoides para mencionar algunas (Barsanti y Gualtieri, 2014; Park et al., 2011). También, las paredes celulares contienen celulosa y almacenan carbohidratos en forma de almidón, por lo que en laboratorios resulta más fácil obtener estos componentes de microalgas a comparación de hongos o plantas, volviéndolas más eficientes que estos en términos de crecimiento y cantidad (Starr, Evers y Starr, 2018).

Recientemente el enfoque de las microalgas como materia prima en la producción de biocombustibles ha generado bastante interés en varias comunidades científicas, debido a sus altas tasas de crecimiento a costos eficientes. Estudios han demostrado que su perfección en la utilización de energía de la luz solar a través de la fotosíntesis y sus capacidades de crecer en condiciones de estrés, generan producciones efectivas de aceites vegetales y otros recursos, beneficiando la producción de biodiesel (Flores, 2020).

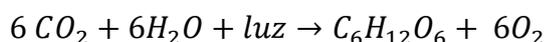
#### *Fotosíntesis en microalgas*

Las microalgas realizan la fotosíntesis, un proceso mediante el cual plantas, algas y ciertos organismos fotosintéticos convierten el dióxido de carbono y el agua en azúcares y oxígeno, estos azúcares formados permiten disponer de energía química y de carbono orgánico a las microalgas. La fotosíntesis generalmente se expresa como en la ecuación 1, pero

detalladamente se da por medio de reacciones dependientes e independientes de la luz, como el ciclo de Calvin; que consta de diferentes etapas.

Iniciando con la fijación del carbono (la combinación de una molécula de  $\text{CO}_2$  de la atmósfera, con un azúcar llamado difosfato de ribulosa resultando en la producción de una molécula inestable 6 carbonos cual se divide para formar 2 moléculas de ácido 3-fosfoglicérico (3-PGA), siendo catalizada por la enzima RuBP carboxilasa/oxigenasa. Siguiendo inicia la reducción de las moléculas de 3-PGA, convirtiéndose en gliceraldehído-3-fosfato (G3P), que son moléculas de azúcar, por la acción del ATP y del NADPH provenientes de las reacciones dependientes de la luz. Inicialmente el ATP dona un grupo fosfato a cada molécula de 3-PGA, convirtiéndolas en 1,3-bisfosfoglicerato y se obtiene como subproducto ADP (Audesirk et al., 2012). A continuación, cada una de las moléculas de 1,3-bisfosfoglicerato se reducen al ganar 2 electrones provenientes del NADPH, con lo cual se convierten en G3P. Se obtienen  $\text{NADP}^+$  y fosfato como subproductos. Finalmente se llega a la etapa de regeneración: una de las moléculas formadas de G3P sale del ciclo y se utiliza para la formación de glucosa. El resto se regeneran en moléculas RuBP que intervienen de nuevo en el ciclo de Calvin (Audesirk et al., 2012; Hernandez y Labbe, 2014; Barsanti y Gualtieri, 2014).

Ecuación 1. Expresión general de la fotosíntesis



*Microalgas: Nannochloropsis sp.*

Microalgas unicelulares que pertenecen al género *Nannochloropsis* que poseen forma subsférica o cilíndrica, con variedad de tamaños (2-4  $\mu\text{m}$ ), cual al igual que todas microalgas contienen cloroplastos encontrados tanto en ecosistemas marinos como de agua dulce. Usualmente se cultivan en criaderos de peces ya sea para ser usados como alimento, para el enriquecimiento de rotíferos o para crear el efecto de agua verde en los tanques de cultivo. Estas microalgas además de contener clorofila (de tipo a dado que carecen de clorofila tipo b y c) contienen otros pigmentos como astaxantina, zeaxantina y canthaxantina. Son el género con mayor contenido de ácidos grasos poliinsaturados, especialmente el ácido eicosapentaenoico que es de gran importancia en la nutrición de animales marinos, al igual que la especie rotífero *Brachionus plicatilis* (Sánchez et al., 2008).

Figura 1. Captura a escala de microscopio de la especie *Nannochloropsis oculata*.



Foto obtenida de Zanella y Vianello, 2020.

## **B. Sistemas de cultivación para microorganismos**

Un sistema de cultivo para microalgas es un entorno controlado diseñado para promover el crecimiento y la reproducción de distintos microorganismos según sus condiciones naturales. Estos sistemas se utilizan comúnmente en la producción comercial del microorganismo seleccionado para aplicaciones industriales, como la producción de biocombustibles, alimentos para acuicultura, cultivaciones biotecnológicas, productos químicos y productos farmacéuticos.

Existen distintos sistemas de cultivo dependiendo si se desea asegurar un aumento en la cantidad y/o calidad de la biomasa producida, por la cultivación de los microorganismos. Estos sistemas se pueden clasificar según el flujo de entrada de la materia; sea un sistema por lotes, semi continuo o completamente continuo, y también en caso del método de cultivo utilizado; foto tróficos, mixotróficos, heterotróficos y fotoheterotróficos. Mayoritariamente estos sistemas de cultivación están dominados por los biorreactores.

### *Biorreactor y sus tipos*

Un biorreactor es un dispositivo diseñado para cultivar y controlar de forma óptima la multiplicación de microorganismos o células vivas en un entorno controlado. Estos dispositivos proporcionan las condiciones necesarias, como temperatura, pH, oxigenación y nutrientes, para promover el crecimiento y la actividad celular.

El diseño y la operación de un biorreactor son fundamentales para optimizar la producción de la biomasa y/o el producto deseado. Esto implica el control de parámetros físicos y químicos, la monitorización del crecimiento celular, la alimentación de nutrientes y en ciertos casos la eliminación de productos de desecho. Además, la esterilidad y la prevención de la contaminación son aspectos cruciales para asegurar la calidad y pureza del cultivo. Por lo tanto, estos equipos desempeñan un papel crucial en la biotecnología y tienen aplicaciones diversas en la producción de alimentos, productos farmacéuticos y químicos.

Existen diferentes tipos de biorreactores, como los biorreactores agitados, de membrana, de lecho fijo y de columna. Los biorreactores agitados son los más comunes y consisten en un recipiente agitado donde se mezcla el medio de cultivo y se mantiene una adecuada homogeneidad. Los biorreactores de membrana utilizan membranas para separar y concentrar los productos celulares. En cambio, los biorreactores de lecho fijo se basan en el uso de un soporte inerte donde las células se adhieren y crecen. Los biorreactores de columna se utilizan principalmente en aplicaciones de cromatografía y purificación (Sreekumar et al., 2016).

### *Biorreactor de laguna abierta*

Pertenecen al grupo de sistemas de cultivo foto tróficos los cuales se caracterizan por su acción “fotosintética” más natural. Por lo que el dióxido de carbono requerido por las células es capturado directamente de la atmósfera.

Son reactores comúnmente utilizados para el cultivo de microalgas a gran escala, donde el 98% de algas producidas a nivel comercial son cultivadas por medio de este tipo de sistemas. Existen diferentes tipos de reactores de laguna abierta, que se diferencian en función de su tamaño, forma, material de construcción, tipo de agitación e inclinación. Entre los más comunes

se encuentran los agitados con paletas, estanques poco profundos sin mezclar, estanques circulares mezclados con un brazo giratorio y sistemas de cascada de capas delgadas en pendiente (Sreekumar et al., 2016).

Figura 2. Diferentes tipos de reactores de laguna abierta a escala industrial para la cultivación de microalgas

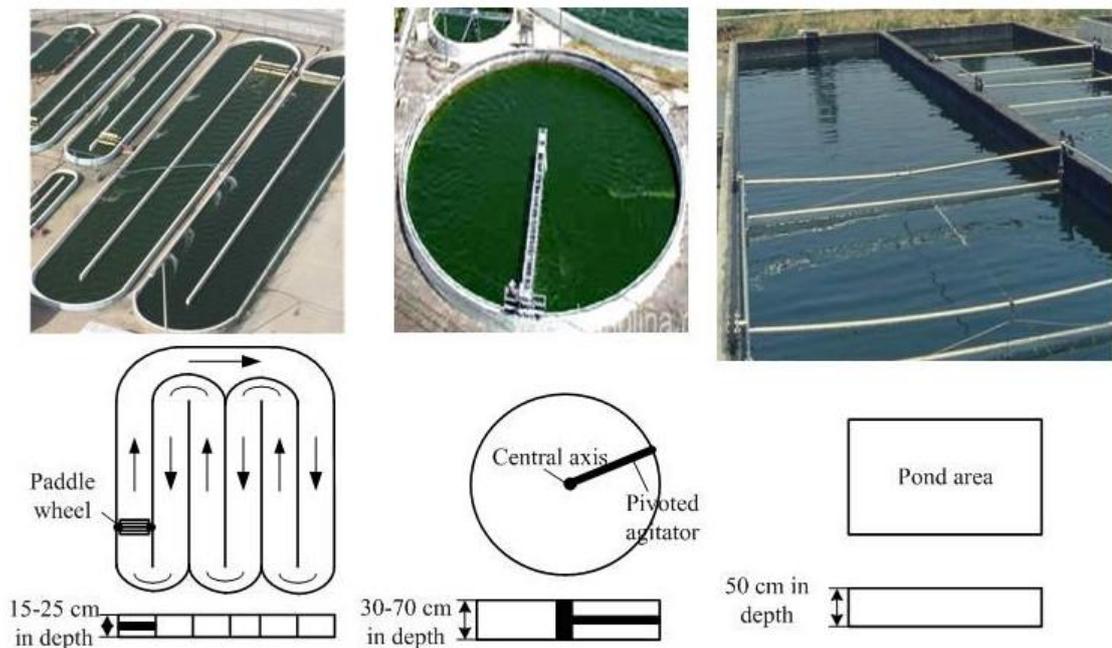


Foto obtenida de Sreekumar y asociados, 2016.

Los reactores de laguna abierta son los sistemas de cultivo foto tróficos con menores costos a considerar, con costos de instalación moderados según el área, y con costos asociados a su mantenimiento y limpieza relativamente bajos (Harun, 2010; Muñoz et al., 2011). En la implementación de un reactor, para determinar el tipo de reactor de laguna abierta a utilizar se toma en cuenta la posición de la iluminación del sol para que la cepa de microalgas la luz suministrada durante el proceso de fotosíntesis sea monitoreado sin mayor variedad.

Los reactores de laguna abierta poseen diseños sin mayor complejidad a comparación de un fotobiorreactor cerrado, por lo que se espera cierto grado de variabilidad en la estabilidad, resultando en el uso de ciertas cepas de microalgas que crecen en condiciones específicas difíciles de cultivar utilizando este tipo de sistemas. Algunas especies como *Dunaliella* son para medios con alta salinidad, en cambio *Spirulina* prefieren medios con alta alcalinidad o *Chlorella* que requieren de una alta concentración de nutrientes en su medio. En resumen, para reducir los efectos de la contaminación en la cultivación de estos sistemas, se prefieren cultivos donde los organismos crezcan bajo condiciones específicas como alta alcalinidad o salinidad (Harun, 2010). En proyectos con enfoque sostenible se toma mediciones para mantener bajos costos de construcción y operación, en general la elección del tipo de sistema de cultivo requiere de varias decisiones, ya que los investigadores al tomar la decisión incorrecta no podrán determinar la cantidad y valor del producto final luego de la cultivación a partir de cualquier tipo de cultivo. Observando los factores distintivos para la elección de tanques de lagunas abiertas fotobiorreactores dependerá de las especies, control (difícil o fácil), eficiencia del uso de luz

(pobre o excelente), eficiencia de la cosecha (baja o alta), costos de operación y mantenimiento (bajos o altos), etc. (Harun, 2010; Martínez 2008).

La principal desventaja de un sistema abierto es que las muestras están expuestas a las variaciones en las condiciones ambientales, a diferencia de los sistemas cerrados que tienen poco o ningún contacto con exterior. Los sistemas abiertos la duplicación o crecimiento de las especies de microalgas están parcialmente condicionados por factores abióticos como temperatura, intensidad luminosa, pH, concentración de oxígeno disuelto y contaminación del ambiente. Estos parámetros de cultivación de las microalgas se adaptan/configuran para diseñar un sistema de cultivo específico con constantes cambios de temperatura, humedad y exposición a luz (Hernandez y Labbe, 2014).

Para los cultivos más utilizados, como los del género *Chlorella* tienen como enfoque utilizar sistemas que más simulen al exterior, haciendo que los investigadores no tengan analizar todas las condiciones en las que se quiere evaluar la llegada del producto final. El diseño común de tanques microalgas puede ser de tipo carrusel, fotobiorreactor por paneles, fotobiorreactores tubulares y los más simples por ensayo de envasado, en caso se requiere de un análisis detallado. Este último es el utilizado para la mayor cantidad de experimentaciones de laboratorio, pruebas a partir de estos sistemas resultados satisfactorios ya que permiten la constante monitoreo y administración de nutrientes, sin la complejidad de otros sistemas (Muñoz et al., 2011).

#### *Parámetros de crecimiento de microalgas (estrés de cultivación)*

El crecimiento de las microalgas está intrincado con varios parámetros fisicoquímicos, por lo que para procesos industriales/laboratorio se deben administrar las mejores condiciones de crecimiento/reproducción para las microalgas. Estos parámetros se disponen por la elección de la(s) especie(s) a cultivar y la finalidad del producto resultante esperado en obtener. En resumen, la deliberación y control de los parámetros resultara de las distintas características de las microalgas cultivadas. Pero, en general las características de los parámetros para las especies cultivada se esperan que resulten en; una tasa de crecimiento normal o arriba de la norma. También una tolerancia elevada (en especial para sistemas abiertos) y una eficiente capacidad para formar agregados para una cosecha por simple gravedad (Hernandez y Labbe, 2014).

Durante la cultivación de cualquier organismo el aumento de la tensión de ciertos parámetros de crecimiento puede generar un estado de estrés en el cultivo. La irradiación, la alta salinidad y las altas temperaturas son algunos factores de estrés ambiental que limitan al cultivo. Sin embargo, otros estudios proponen los beneficios de estrés inducido a los cultivos, por ejemplo; en plantas sometidas a sequía tenían menos probabilidades de favorecer el crecimiento de salmonella que las plantas regadas normalmente. También descubrió que las plantas estresadas contenían niveles más altos de ciertos compuestos saludables como antioxidantes (Han et al., 2020). En microalgas, el agotamiento o estrés de nutrientes ha sido estudiado para estimular la producción de lípidos de las microalgas, como el agotamiento de nitrógeno, la falta de fosfato, el estrés por salinidad y los metales por estrés (hierro, magnesio, etc.). Estos porque las microalgas como tal pueden sobrevivir en ambientes relativamente extremos, por lo cual necesitan acumular lípidos para sobrevivir (Song et al., 2022).

## Luz

Entre los parámetros más importantes para el crecimiento, la intensidad lumínica (luz) y su ausencia juegan un importante papel en varios procesos bioquímicos de las microalgas. La luz puede ser una limitante para los nutrientes debido a la relación en la cual la fotosíntesis se aumenta dado la intensidad lumínica, hasta alcanzar la máxima tasa de crecimiento específicas (Park et al. 2011). Es importante debido a que los productos resultantes de la fotosíntesis, la glucosa y otros azúcares formados permiten a los organismos disponer de energía química y de carbono orgánico (Audesirk et al., 2012).

Sin embargo, existen problemas con un inadecuado manejo de luz en los biorreactores, por ejemplo, la fotoinhibición, es un problema que afecta la duplicación de la especie de microorganismos debido a que reduce la actividad fotosintética del cultivo por altas intensidades creando un desequilibrio y daños al organismo. También, la densidad celular alta en ciertos casos en reactores abiertos la luz no llega uniformemente a todas las células; por lo que en ciertos casos se requiere tener una profundidad mínima de 12 cm para un tanque sin agitación (Hernandez y Labbe, 2014).

En sistemas abiertos se puede solucionar con operaciones de “auto sombreado”, haciendo que el acceso periódico de luz se de a todas las células. Adicionalmente, una constante agitación o aireación dado que la intensidad lumínica se puede decrecer con el aumento de la turbidez. En conclusión, la negligencia de estos problemas puede resultar en la muerte del proceso, pero con una correcta regulación durante el lapso del tiempo, no causaría mayor dificultad en los resultados obtenidos (Hernandez y Labbe, 2014; Gomez y Rodriguez, 2019).

## Temperatura

En los sistemas de cultivo, la temperatura tiene una relación recíproca con otros factores para lograr la máxima reproducción de las microalgas. Por lo tanto, monitorear y controlar la temperatura en el sistema permite que la producción o duplicación de las microalgas aumente proporcionalmente, hasta alcanzar su temperatura óptima específica para cada especie. La temperatura óptima varía de especie a especie de microalgas, pero en general está entre un rango de 28° y 38°C, dado que las microalgas están sujetas a ciclos diurnos, pueden soportar la temperatura se encuentra entre 15-20°C durante el día, alcanza los 35-38°C durante el mediodía y desciende a 18-20°C durante la noche (Park et al., 2011; Starr, Evers y Starr, 2018).

La temperatura también se ve afectada si el sistema de cultivo es a condiciones abiertas o cerradas, por ejemplo; a condiciones abiertas como un reactor de laguna abierta se tiene dificultada para mantener un control de temperatura constante, y en casos de escala industrial resulta un costo innecesario para mantener un sistema abierto de 40 m<sup>2</sup> a su temperatura óptima. En la mayoría de los casos, los sistemas estarán más dependientes a la intensidad de luz con plásticos transparentes, lo cual reaccionaría a un efecto del suministro de luz cual es más fácil de controlar (Hernandez y Labbe, 2014).

La temperatura óptima de refrigeración para microalgas puede variar dependiendo de la especie específica de microalga que estás tratando. Sin embargo, en general, la mayoría de las microalgas se pueden refrigerar de manera efectiva a temperaturas entre 2°C y 8°C. La refrigeración de las microalgas a temperaturas bajas ayuda a ralentizar el metabolismo y la actividad celular, lo que puede prolongar la viabilidad y la estabilidad de las microalgas durante

un período de tiempo más largo. Al mantener las microalgas en un entorno refrigerado, se pueden minimizar los cambios y la degradación de las propiedades biológicas, como la tasa de crecimiento y la composición bioquímica (Hernandez y Labbe, 2014).

## Salinidad

La salinidad en un medio de crecimiento de microalgas se refiere a la concentración de sales disueltas en el agua en la que se cultivan las microalgas, es un parámetro importante, ya que influye en el crecimiento, desarrollo y metabolismo de las microalgas. Un medio de cultivo de microalgas puede tener una salinidad que varía desde agua dulce (salinidad baja) hasta agua de mar (salinidad alta), lo cual depende del tipo de especie de microalga y que tanto pueda tolerar una amplia escala de salinidades. Por lo general se estima que el rango es entre 2-5%, donde para especies como *Nannochloropsis sp.*, se prefieren trabajar entre un rango de 1-2% (Hernandez y Labbe, 2014; Abu-Rezq, 1999).

La importancia de tener control constante sobre la salinidad permite influenciar directamente la fisiología y el crecimiento de las microalgas. El control de la salinidad en un tanque de microalgas implica ajustar y mantener el nivel adecuado para el crecimiento óptimo de las algas. En tanques abiertos se puede lograr mediante con una adición de sales según las necesidades de las microalgas en cultivo y en el ambiente que se encuentran. Es importante realizar mediciones regulares de la salinidad para asegurarse de que se mantenga dentro del rango adecuado y realizar los ajustes necesarios. Adicionalmente, un buen control de salinidad funciona como un protector contra la contaminación y competencia de microorganismos indeseables o competidores que puedan afectar negativamente el cultivo de microalgas. Y en casos intensos se llega a formar un balance osmótico irregular, donde la salinidad en el equilibrio osmótico influye a un estrés osmótico y afecta la función celular (Gómez y Rodríguez, 2019).

La salinidad se puede medir utilizando un conductímetro o un refractómetro. Con el conductímetro se mide la conductividad eléctrica del agua, que está directamente relacionada con la concentración de sales disueltas. En cambio, con el refractómetro mide la refracción de la luz a través de una muestra de agua, proporcionando una lectura de la salinidad en forma de porcentaje o en unidades de PSU (Unidad Práctica de Salinidad).

## Potencial de hidrógeno (pH)

El potencial de hidrógeno es importante de monitorear, porque influencia factores como la productividad algal, la respiración, la alcalinidad y composición iónica del medio de cultivo, y la eficiencia del sistema de adición de CO<sub>2</sub> (Park et al., 2011). Al igual que la temperatura, cada especie de microalgas necesita un rango determinado de pH que permita un crecimiento óptimo, el pH 8 resulta ser el más indicado para la mayoría de las especies. Valores radicales superiores o inferiores a un valor estable causa un descenso en el crecimiento algal y la capacidad de remover el nitrógeno en sistemas de tratamientos de aguas, convirtiéndose en un sistema afectado por eutrofización (Martínez, 2008).

La mejor manera de controlar el pH en sistema de cultivación es por un sistema automatizado de inyección de CO<sub>2</sub>, cual a su vez debe estar en valores bajos, ya que valores elevados para varios proyectos involucran riesgos incensarios nocivos para las microalgas. Entonces, las necesidades de inyectar CO<sub>2</sub> al sistema deben ser consideradas, sin embargo entre

mayor sea la escala de cultivación mayor serán los gastos de inyección (para sistemas abiertos no es recomendable), por lo que se deben buscar alternativas económicas que puedan mitigar estos costos (Martínez, 2008).

## Nutrientes

Nutrientes y minerales como los nitratos, sulfatos, fosfatos y carbono son importantes para las microalgas debido a que permiten maximizar la producción de biomasa y producción por las acciones fotosintéticas., mantener la disponibilidad de nutrientes mediante la adición periódica podría resultar en mayores rendimientos. Existen diferentes formas de gestionar la adición de los nutrientes, pueden manejarse de una forma periódica o una supervisión y control constante, o si no se quiere manejar una complejidad operativa se puede añadir a una corrida de lote. Varios aspectos en el manejo de nutrientes son importantes en el contexto del cultivo de *N. oculata* para evitar desequilibrios o estrés que afecten a su crecimiento. Pero una de las más importantes a considerar, es el desequilibrio de nitrógeno y fósforo, dado que una cantidad excesiva de nitrógeno en relación con el fósforo (una relación N:P elevada) puede provocar una acumulación deficiente de lípidos y reducir la calidad de la biomasa (Smith, 1982; Sanchez et al., 2008).

Un medio con nutrientes como nitrato o como amonio ciertas especies pueden utilizar nitrógeno orgánico en forma de ácido úrico, urea y aminoácidos. El nitrógeno también constituye un factor importante en cuanto a la acumulación de lípidos en las algas. En cambio, con fuentes de fósforo permiten la formación de ácidos nucleicos y transferencia de energía. Pero, su deficiencia en el medio es una de las mayores limitaciones del crecimiento microalga (Park et al., 2011).

## Oxígeno disuelto, dióxido de carbono

La concentración de oxígeno disuelto (OD) en el medio se debe a la actividad fotosintética de las microalgas que, durante el transcurso del día, al aprovechar las horas con mayor radiación solar la fotosíntesis generada resulta en un aumento en los niveles de OD. Este incremento puede llegar a ser de un 200%, sin embargo, esto posee efectos negativos en la productividad de producción de la biomasa (Park et al., 2011).

Varios estudios demuestran que el estrés debido a la sobresaturación de oxígeno, donde el O<sub>2</sub> puede competir con el CO<sub>2</sub> por varias enzimas claves en el ciclo de Calvin, siendo un efecto a la tasa de crecimiento a largo plazo (López y Bernard, 2021; Park et al., 2011). Estudios sobre las capacidades de diferentes microalgas para la fijación de CO<sub>2</sub> desde diversas fuentes gaseosas, provocando que se obtengan un producto altamente efectivo con un crecimiento acelerado, cual no afecta su composición al momento de obtener aceites vegetales (Ho et al. 2012).

## Agua (calidad del agua)

Finalmente, la calidad de agua específicamente afecta directamente varios números de factores cruciales para el crecimiento y la supervivencia de las microalgas siendo un medio soporte físico a las células de microalgas, permitiéndoles flotar y una mala calidad del agua, con exceso de contaminantes, puede dificultar una suspensión adecuada, provocando la

sedimentación y reduciendo la exposición a la luz (Del Pino et al., 2015; Hernandez y Labbe, 2014).

Mantener una calidad óptima del agua es esencial para crear un entorno propicio a su desarrollo saludable y a la producción eficiente de biocombustible y otros productos de interés. Sin embargo, existen especies más tolerantes que pueden sobrevivir e incluso propagarse en condiciones poco ideales como en aguas contaminadas. Por lo que se han trabajado con microalgas como un segundo e incluso primer tratamiento sobre aguas residuales y tratar la toxicidad (Gómez y Rodríguez, 2019).

La calidad del agua es esencial para la disponibilidad de nutrientes como nitrógeno, fósforo y oligoelementos en donde contaminaciones muy altas puede limitar la absorción de nutrientes y dificultar el crecimiento de las microalgas. En sistemas abiertos en especial se tiene que monitorear el equilibrio del pH por una mala calidad del agua que puede provocar fluctuaciones del pH. También el nivel de salinidad puede ser afectado/inhibido por cambios drásticos de en la calidad del agua expresados por contaminación.

## **C. Biocombustibles**

Un biocombustible es un tipo de combustible producido de materia orgánica renovable, como cultivos energéticos, residuos agrícolas, algas o desechos orgánicos. Estos combustibles tienen como fin ser una alternativa a los combustibles fósiles tradicionales, como el petróleo o el carbón, para reducir las emisiones de gases de efecto invernadero y disminuir la dependencia de los recursos no renovables. Los biocombustibles se originaron como una respuesta a la creciente preocupación por el cambio climático y la necesidad de diversificar las fuentes de energía. Su desarrollo y producción han experimentado avances significativos en las últimas décadas, impulsados por avances en tecnología y políticas gubernamentales de promoción de energías renovables.

En países, como Brasil y Estados Unidos, se han implementado programas exitosos de producción y uso de biocombustibles, especialmente etanol y biodiesel, como mezclas con los combustibles convencionales. Estos programas han contribuido a reducir las emisiones de gases de efecto invernadero y a promover el desarrollo económico en las áreas rurales. Sin embargo, se tienen algunas críticas hacia los biocombustibles que señalan que la producción masiva de cultivos energéticos puede competir con la producción de alimentos, provocar deforestación o afectar la disponibilidad de agua y otros recursos naturales. Además, la eficiencia energética y el balance ambiental de los biocombustibles pueden variar según la materia prima utilizada y las prácticas agrícolas asociadas (Pinzi et al., 2009; Torres, 2013).

### *Proceso industrial de biocombustibles*

La producción de los biocombustibles siempre inicia con qué tipo de biomasa se va a utilizar, por ejemplo; aceites vegetales y grasas animales se utilizan para la producción de biodiésel, azúcares y fermentos para la producción de bioetanol, y desechos orgánicos para la producción de biogás. La metodología de proceso de elaboración de cada uno puede variar, pero todas tienen en común que la entrada y salida del proceso nunca cambian, siendo un proceso circular, ya que se pueden reutilizar los residuos, convirtiéndolos en biomasa residual (Alizadeh et al., 2020).

El biodiésel es el proceso más común de los tres, debido a que usualmente es un proceso de transesterificación a partir de la muestra de aceite o grasa, produciendo ésteres alquílicos. A partir de una materia prima vegetal se le extrae el aceite vegetal para usar, se le añade un alcohol (metanol, etanol) y un catalizador (KOH, NaOH) para poder iniciar la transesterificación, y se proporciona calor y agitación continuo (Luque et al., 2016). Los productos que se esperan biodiésel y glicerina, la cual se generan luego de un proceso de depuración y secado por agua y ácido sulfúrico, ambos productos se les puede colocar en un proceso de refinamiento para mejorar su calidad al momento de evaluarlo (Elias, 2012). Las ventajas de este proceso, es que la biomasa residual generada es de alta calidad, lo que se puede utilizar como un combustible para proporcionar energía térmica sin generar varias emisiones peligrosas a la atmósfera. Los métodos más recientes para medir la calidad de un biocombustible son a partir del uso de espectroscopia, ya que mostrara si las muestras están contaminadas de glicerina u otra sustancia (Pinzi et al., 2009; Poncio et al., 2020).

### *Producción de biocombustibles a partir de microalgas*

Biocombustibles producidos a partir de materia prima provenientes de microalgas, se les conocen como de tercera generación. Porque son libres de las inconveniencias de los biocombustibles de primera y segunda generación; que posee limitaciones económicas y ambientales a comparación de usar algas. Algunas especies de microalgas contienen un contenido lipídico que puede alcanzar hasta el 29.7% de su peso seco, y su productividad lipídica puede llegar a ser de 84 a 142 mg/Ld. Generalmente se observan más las ventajas de producción por espacio, cantidad producida y aplicación de residuos ha vuelto popular en varias empresas de biocombustibles, por ejemplo, ALGENOL fuel y Seabiotic. Por eso la utilización de microalgas para la producción de biodiésel se ha vuelto tan popular, no obstante, se deben considerar diversos parámetros y condiciones para su cultivación y producción (Yadav et al., 2020; Moheimani et al., 2014).

Un estudio de manejo de nutrientes, a cuál se le puede comparar con condiciones de eutrofización, realizo un análisis experimental de la dependencia de nitrógeno y fosforo en las microalgas, viendo cómo afecta en la biomasa que se genera. Este análisis en cual se midió las concentraciones de clorofila, fósforo y nitrógeno totales, durante la temporada de crecimiento en 228 lagos del Norte de Estados Unidos. Mostrando de que el rendimiento de clorofila depende tanto de la concentración de fósforo y nitrógeno, mostrando que se afecta su ciclo de energía, cual fue probado por medio de un modelo de regresión múltiple para reducir el error de predicción de la clorofila en los lagos (Smith, 1982). Pero, las microalgas han sido utilizados en la depuración de biogás a partir de digestión anaerobia, limpiando el gas resultante de dióxido de carbono y elevando su capacidad calorífica. Sin embargo, se necesita un mayor desarrollo en esta área, ya que existen muy pocos ensayos sobre las condiciones específicas requeridas (Kao et al., 2012).

Un estudio similar se realizó para el incremento de la producción de biomasa por microorganismos se han realizado en África y se están relacionados al aumento del calentamiento climático. Las muestras analizadas de fitoplancton fueron tomadas del lago Kariba en Zambia, encontrando especies de Cyanophyceae, Chlorophyceae, Bacillariophyceae. En alrededor de un año, se observó por una gradiente de biomasa que la biomasa total obtenida de fitoplancton en el lago Kariba han disminuido en aproximadamente un 95%, desde la década de 1980 (Regina et al., 2012). Lo cual especifica que organismos obtenidos en el campo, no son fuentes

congruentes de materia prima para la producción de biocombustibles, dado que hay muchos más factores que analizar que muestras crecidas en un laboratorio.

## **D. Aguas residuales**

Las aguas residuales se refiere a toda agua que ha sido utilizada en diferentes procesos y actividades humanas, como el consumo doméstico, la industria y la agricultura, y que posteriormente se descarga como efluente. Estas aguas contienen una variedad de sustancias y contaminantes, como materia orgánica, nutrientes, productos químicos, patógenos y metales pesados. Las aguas residuales tienen un impacto negativo en los cuerpos de agua receptores y en la salud humana si no se tratan adecuadamente. Por lo tanto, el tratamiento de las aguas residuales es fundamental para reducir/neutralizar estos contaminantes, y garantizar la protección tanto del medio ambiente y la salud pública (Del Pino et al., 2015).

Existen diferentes tipos de aguas residuales dependiendo de su origen y composición, necesitan de distintas tecnologías y métodos de tratamiento para su purificación y eliminación segura, así garantizando la salud pública y del medio ambiente. El agua residual pluvial o escorrentía, cual se recoge después de las precipitaciones, se tiene que tratar para prevenir inundaciones. En cambio, el agua residual industrial cual proviene de los procesos industriales y su composición depende del sector industrial, puede contener sustancias tóxicas, compuestos orgánicos e inorgánicos, metales pesados, y otros contaminantes químicos. Al no ser tratada el agua residual industrial es altamente peligrosa para los organismos vivos, incluyendo plantas, animales y seres humanos (Cirujeda, 2019; Tchobanoglous et al., 2003).

Mundialmente las aguas más comunes, son las aguas residuales domésticas, cual proviene de los hogares, edificios comerciales e institucionales. Generalmente, el agua residual doméstica contiene materia orgánica biodegradable, nutrientes, detergentes y productos químicos usados en el hogar. Junto a las aguas industriales son las que más estudio para su tratamiento se investiga, y en ambas se pueden dividir entre agua residual negra o gris, donde la primera posee contaminación por materia fecal y otros desechos orgánicos humanos, la cual la hace la más peligrosa de las dos. En Guatemala, se posee el reglamento de las descargas y reusó de aguas residuales y de la disposición de lodos, con el fin de establecer los criterios y requisitos que deben cumplirse para la descarga y reusó de aguas residuales, así como para la disposición de lodos. Por lo tanto, es buen lineamiento para determinar el tipo de agua residual con que se está trabajando, por medio de distintos parámetros de químicos y biológicos (Guatemala, 2006).

### *Aplicación de microalgas para aguas residuales*

Recientemente, las microalgas han incrementado su uso para el tratamiento de aguas residuales debido a sus capacidades únicas para eliminar contaminantes y nutrientes no deseados. El proceso de tratamiento de aguas residuales con microalgas se conoce como "fitorremediación". Las microalgas su tratamiento de aguas residuales se basa en la capacidad de las microalgas para absorber y metabolizar nutrientes, como nitrógeno y fósforo, presentes en las aguas residuales. Estos nutrientes suelen ser responsables de la eutrofización de los cuerpos de agua, lo que causa problemas ambientales como la proliferación de algas nocivas y la reducción de los niveles de oxígeno (Abdel et al., 2012).

Cuando las microalgas se cultivan en un sistema de tratamiento de aguas residuales, se les suministran los nutrientes necesarios para su crecimiento, lo que estimula su reproducción y metabolismo. A medida que las microalgas crecen, son capaces de consumir los nutrientes presentes en las aguas residuales, ayudando a purificar el agua al mismo tiempo que generan biomasa. Por lo que existen diferentes configuraciones para el cultivo de microalgas en el tratamiento de aguas residuales y una de las más comunes es el uso de estanques o reactores al aire libre, donde las microalgas crecen en condiciones favorables de luz solar y temperatura. En estos sistemas, las microalgas pueden eliminar eficientemente los nutrientes y otros contaminantes del agua. Adicionalmente, existen estudios que las microalgas utilizadas para el tratamiento de aguas residuales, y recolectar subproductos debido por el tratamiento, como un exceso de lípidos y otros componentes en su composición, dando una mejor producción de glicerina y biodiesel (Gomez y Rodriguez, 2019).

Algunas especies de microalgas tienen la capacidad de acumular estos contaminantes en su biomasa, lo que permite su recuperación y eliminación posterior. El uso de microalgas en el tratamiento de aguas residuales ofrece varias ventajas en comparación con los métodos convencionales (Tchobanoglous et al., 2003). Por ejemplo, las microalgas pueden eliminar eficientemente los nutrientes y otros contaminantes, reduciendo la necesidad de productos químicos y equipos costosos. Por ejemplo, las microalgas son capaces de descomponer sustancias como el aceite cocina o aceites en general como fuente de nutrientes, descomponiéndolas a fuentes de carbonos. También los aceites son ricos en lípidos, compuestos de ácidos grasos, y algunas microalgas son conocidas por su capacidad para metabolizar y acumular lípidos. En cambio, con compuestos como jabón muy pocos microorganismos, incluidas algunas bacterias y enzimas, pueden descomponer las moléculas de jabón con el tiempo. Por lo que se usa en combinación de otras técnicas en las plantas para tratarlas, en especial porque el jabón tiene la capacidad de agrupaciones de micelas, donde el jabón llega a emulsionar y separar sustancias (como grasas) de las superficies (Radice et al., 2023; Tang et al., 2010).

## **E. Análisis de combustible (biomasa)**

La biomasa es una de las fuentes de energía renovable utilizada para mitigar el uso de energías fósiles que son dañinas para nuestro planeta. La biomasa seca, en particular, es de las fuentes más adecuada para su uso como biocombustible, ya que su mayor contenido energético facilita su procesamiento y almacenamiento. Esta se puede utilizar como biocombustible en diferentes formas: puede ser usada en combustión directa, donde la biomasa seca se quema para generar calor y/o electricidad en sistemas de calefacción, calderas industriales o centrales eléctricas. En este proceso, la biomasa se quema en presencia de oxígeno, liberando energía en forma de calor. También, se puede utilizar en procesos de gasificación para convertirse en un gas conocido como gas de síntesis usado para generar electricidad o como combustible en motores de combustión interna. De igual forma se puede usar en pirólisis como materia prima en la producción de otros productos químicos (Alizadeh, ET AL., 2020; IRENA, 2020).

Esta energía proveniente de biomasa o bioenergía se puede evaluar dentro las categorías sociales, económicas, tecnologías y medio ambientales. Este tipo de análisis sostenible es una forma de cálculo de eficiencia de utilización de cada fuente expresándose en términos de energía útil, cuales pueden estar basados en su poder calorífico. Generalmente combustibles y biocombustibles en el panorama energético actual, una amplia gama de fuentes como biomasa

están disponible para tratar de satisfacer las demandas de energía. La elección y evaluación de la fuente de combustible adecuada adquieren una importancia crucial en la búsqueda de soluciones energéticas eficientes y ambientalmente responsables. Un aspecto fundamental en esta evaluación es el concepto de poder calorífico, que refleja la cantidad de energía liberada durante la combustión de una unidad de masa de un combustible.

El poder calorífico indica la capacidad energética intrínseca de una fuente de combustible, sino permite a los planificadores y gestores de energía identificar cuáles fuentes son más eficientes y adecuadas para satisfacer las necesidades energéticas específicas, minimizando al mismo tiempo las emisiones de gases de efecto invernadero. Por ejemplo, en la Figura 3 es una tabla con los valores de poder calorífico de diversas fuentes de combustible y sirve como recurso esencial, permitiendo una evaluación comparativa rápida y precisa de las opciones disponibles.

Figura 3. Valores caloríficos de varias muestras de combustibles.

S. No.	Combustible	Valor calorífico (kJ/kg)
1	Madera (seca)	14400-17400 [12]
2	Pastel de estiércol de vaca	13800-14500 [13]
3	Biogás	17986 [14]
4	Carbón vegetal	29600 [12]
5	Carbón	15000-27000 [12]
6	Queroseno	41000 [15]
7	Gas licuado de petróleo	45750 [15]
8	Aceite vegetal	39000-48000 [12]

1 kJ/kg = 0.4299 BTU/lbm = 0.23884 kcal/kg [12]

1 BTU/lbm = 2.326 kJ/kg = 1.8 kcal/kg [12]

Foto traducida de Rajasekar y asociados, 2008.

Mayoritariamente la elaboración de análisis de combustibles de biomásas en proceso de combustión, por ejemplo, recientes normas establecen los requisitos de calidad para biocombustibles sólidos su combustión. Definiendo categorías en función de su contenido de humedad, contenido de cenizas y poder calorífico, según se detalla en la Tabla 1. La tabla muestra los valores de humedad, cenizas y poder calorífico neto según las normas europeas EN 14961-4 y EN 14961-2 como lineamientos (Vega et al., 2015).

## F. Antecedentes

En 1999 en el estado de Kuwait se realizó una investigación con la variación de las condiciones de distintas especies de microalgas con el objetivo de mejorar la tasa de crecimiento. Utilizando distintas condiciones óptimas de cultivo, como: salinidades,

temperaturas y niveles de pH para tres especies de *Nannochloropsis*, *Tetraselmis* e *Isochrysis*. Se encontró que para las especies de *Nannochloropsis*, los investigadores determinaron que con una salinidad de 1-4%, temperaturas de 19-21°C e inyección de aire, sin enriquecimiento con CO<sub>2</sub>, y un balance de nutrientes donde la relación nitrógeno: fósforo de 20:1 dentro del medio para el cuidado de la producción de biomasa. La experimentación del estudio se realizó por un sistema de lotes cerrado en envases con capacidad de 250 ml esterilizados, donde el agua y los nutrientes del medio fueron también esterilizados a temperaturas de 121 °C (Abu-Rezq, 1999).

En Cuba 2018 se realizó una evaluación preliminar del potencial energético de diferentes biomásas, usando una metodología de cálculo en la determinación de energía total, energía útil y sus características de emisiones desde un punto de vista del desarrollo sostenible. Usando biomásas de cañera, cafetalera, arroceras, residuos aserraderos, mediante informaciones aportadas por las principales empresas productoras de la provincia de Cienfuegos, se pudo determinar la energía total y la cantidad de dióxido de carbono emitido a la atmósfera. Resultando, para el bagazo de caña la energía total fue de  $4409 \cdot 10^8$  MJ, dejándose de emitir a la atmósfera 137652.9 ton de CO<sub>2</sub>, para la cachaza a su vez fue de  $7093 \cdot 10^8$  MJ, dejándose de emitir 221423.9 ton de CO<sub>2</sub>. En los residuos del café y arroz estos valores fueron de  $4808 \cdot 10^5$  MJ (184 ton de CO<sub>2</sub>) y  $6.34 \cdot 10^7$  MJ (19868.87 ton de CO<sub>2</sub>). Por último, la energía total para los residuos de aserraderos fue de  $4108 \cdot 10^7$  MJ para un total de 2346.72 ton de CO<sub>2</sub> (Jiménez et al., 2018).

En Malasia varios investigadores realizaron pruebas de influencia del nitrógeno y fósforo en varios de los bioproductos producidos por microalgas, donde la composición de nutrientes desempeña un papel importante en el cultivo de microalgas, y el agotamiento y las fuentes excesivas de este nutriente podrían afectar a la calidad de la biomasa. Se ha investigado el papel del nitrógeno y el fósforo, que son cruciales para el crecimiento de las algas. Sin embargo, existen desafíos para mejorar la utilización de nutrientes de manera eficiente para el cultivo de microalgas a gran escala. Por lo tanto, el estudio busca poner de relieve el nivel de nitrógeno y fósforo necesario para el cultivo de microalgas y mostrando una metodología de extracción y secado para obtener biomasa visto en la Figura 4.

Figura 4. Proceso de extracción y secado simplificado usado en *Nannochloropsis oceanica*.

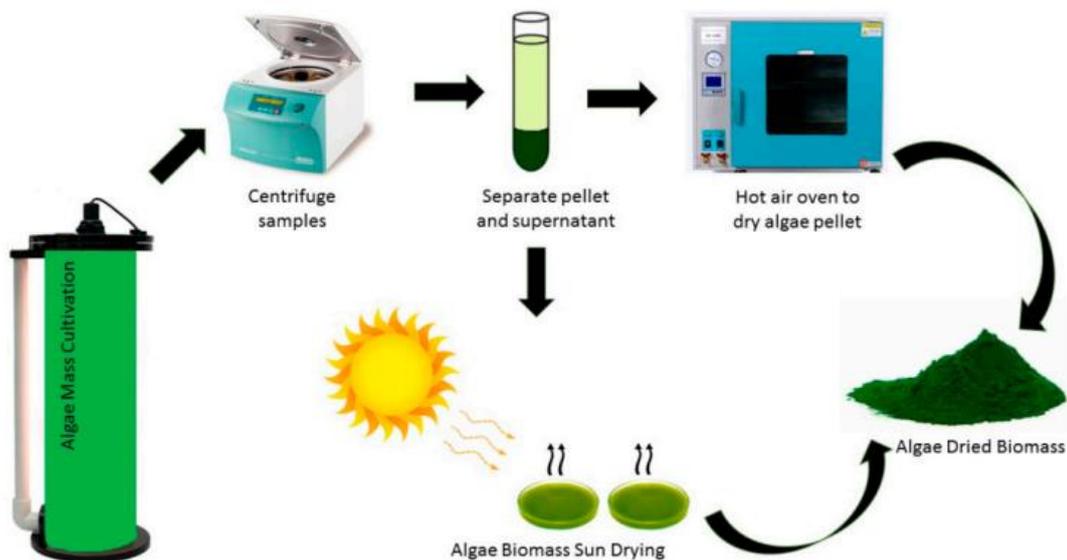


Foto obtenida de Yaakob y asociados, 2021.

En 2021 en la universidad del Valle de Guatemala se realizó la investigación en cual se propuso la implementación de un reactor abierto tipo “raceway” a escala laboratorio para la producción de aceite, proponiendo sistemas auxiliares necesarios que conserven las condiciones de reacción con las que se obtiene el mayor rendimiento de producción de biomasa. Cual obtuvo que a las condiciones de un ciclo de exposición solar mixto en el cual las microalgas fueron expuestas a  $(1.0 \cdot 10^{13-24})$  lux, una velocidad de aireación de 0.08 m/Ls y una salinidad en el medio de 2% (m/v), fue posible alcanzar los mejores rendimientos de biomasa y de aceite respecto al consumo del sustrato limitante (nitrógeno) con valores de  $2.78 \cdot 10^{13}$  células/mol  $\text{NaNO}_3$  y  $1.40 \cdot 10^3$  g aceite/mol  $\text{NaNO}_3$  (Aguilera, 2021).

## V. Metodología

### Etapa de preparación de reactor y su espacio

#### Materiales y equipo

- 3 cajas plásticas de “56 L” Guateplast de polipropileno
- 5 metros de tubos PVC 1 - ½ pulgada
- Barreno
- Sierra
- Pegamento Tangit para PVC
- Rollo de teflón
- 3 metros de manguera de vinilo 1 pulgada
- 8 adaptadores de manguera latón (masculinos)
- 3 adaptadores PVC (masculinos)
- Piezas auxiliares de PVC (codos 45 (x10), tapones (x4) y piezas T (x1))
- 4 llaves de globo acero inoxidable (1/2 pulg)
- 1 pieza cruz de acero inoxidable (1/2 pulg)
- Mechero (fuente para calentar un tornillo de menos ¼ pulg)

#### Procedimiento

1. Observando las múltiples opciones existentes de sistemas de crecimiento para las microalgas, esta investigación busco abordar la construcción de un diseño de tanque de laguna abierta sin agitación conociendo sus beneficios y el juicio de sus riesgos (marco teórico sección B). Debido a que se busca en un futuro presentarlo a comunidades con dificultades de conseguir recursos de una forma continua y abundante, la construcción de los reactores se añadió hacia la dedición del diseño del tanque.
2. A base de un contenedor de 56 L “GUATEPLAST” de polipropileno (PP) se utilizó como coraza del reactor, debido a las características del material como su durabilidad, resistencia a la humedad y, por lo general, no filtra sustancias químicas nocivas al agua a un bajo precio de material/construcción a comparación de otros materiales como acrílico.
3. La posición del sistema de reactor de laguna abierta sin agitación fue asesorada para obtener disponibilidad al exterior y acceso a la corriente de aire del laboratorio de operaciones unitarias, construyendo una sección de anexo con una pieza llave y dos adaptadores de manguera.
4. El espacio utilizado fue afuera del laboratorio de operaciones unitarias de la universidad del valle de Guatemala, donde se dejó un espacio libre de 2x2.5 m aproximado. Dado que, por proyectos recurrentes y anteriores de microalgas, presente el espacio ideal para la colocación de un tanque abierto en cual se logra la captación de luz solar.
5. Utilizando tubos PVC de 1.5 pulgadas (3.8 cm) de diámetro para armar el sistema (con diseños variados) se cortaron diversos tamaños del tubo, y se unieron con pegamento PVC y accesorios adiciones (codos de 45°, piezas t y tapones).
6. Se perforó cada sistema de aireación PVC usando con un tornillo calentado (para proporcionar un menor diámetro) para formar orificios de aproximadamente 5 mm de diámetro, separados por 2-5 cm cada uno alrededor del sistema de aireación viendo hacia arriba (según Aguilera, 2021 en antecedentes). No se utilizó piedras difusoras,

debido a la escasez de opciones para piedras difusoras de tamaños grandes a costos ideales que recubrieran un área completa del tanque.

7. Se conectó un adaptador de latón de manguera y una llave de globo al sistema de aireación, y se construyó un sistema de control por medio de la pieza cruz y 4 adaptadores de manguera. Estas piezas se reforzaron/protegieron con teflón.
8. Se implementó piezas de la manguera de vinilo (50 cm c/u) de una pulgada de diámetro que unieran los 3 reactores con las piezas cruz y la pieza cruz con el sistema de aireación.

## Etapas de preparación de medio f/2 Guillard

### Materiales y equipo

- 5 Erlenmeyer de 500 ml
- Probeta de 100 ml
- Pipeta graduada 10 ml (dispensador)
- 2 balones aforados de 1 L
- Mechero
- Envases de gran capacidad (2 garrafones de agua)
- Papel aluminio
- Solución de vitaminas
- Solución de trazas de metal
- Solución  $K_2HPO_4$
- Solución  $NaNO_3$
- Agua desmineralizada (17 L)
- Etanol
- Cloro
- Autoclave

### Procedimiento

1. Se esterilizó la cristalería utilizada de un equipo de autoclave por 2 horas (envueltas en aluminio), luego situó en un área desinfectada y se esperó a que enfriaran.
2. Se desinfectó un garrafón de plástico "Agua pura salvavidas" por medio de lavados de agua, etanol, cloro y agua con jabón en ese orden y se dejó secar boca abajo en papel.
3. Dentro del garrafón de plástico se agregó 262.5 ml de  $NaNO_3$ , 73.9 ml de  $K_2HPO_4$ , 75 ml de solución de trazas de metal y 37.5 ml de solución de vitaminas por medio de una probeta 100 ml y los Erlenmeyer de 500 ml.
4. Por eso se midió la relación N:P para asegurar uno de los aspectos esenciales de la propagación de las microalgas. El valor de N:P dio 24.36 para el medio (ver calculo).
5. Se selló con la tapadera y un recubrimiento con papel aluminio, y se agitó manualmente (recomendado solo si se tiene una buena constitución) meneándolo de lado a lado por 1 minuto. Este y los pasos anteriores se repitieron para un segundo garrafón lleno de medio f/2 Guillard.
6. Cada garrafón se enfrió dentro de un cuarto frío a 5 °C para preservarlo durante varias semanas, y solo sacaron previo su adicción a los reactores. Nota: que cada vez que se usó se agitó antes como en el paso anterior, para evitar la posibilidad de estancamiento de minerales en el fondo.

## Etapa de cultivación de *Nannochloropsis oculata* como inoculo inicial a tanque abierto (Corrida 0) y construcción de área de operación

### Materiales y equipo

- Especie *Nannochloropsis oculata* cultivada en reactor cerrado 2 L
- Pipeta de plástico ml
- 1 de los rectores construidos
- Rocas (tamaño y peso mediano ~25 cm y máximo)
- Probeta de plástico 2 L a
- Cubeta de plástico capacidad 10 L
- Etanol
- Jabón
- Agua suavizada 20.5 L
- Medio f/2 Guillard 2.5 L
- Sal no yodada
- Lámina de plástico (2.5 x 1.4 m)
- Cortina de paja
- 6 tornillos herméticos de punta de broca
- Barreno inalámbrico

### Procedimiento

1. Se esterilizó el tanque y el sistema de aireación usando agua, jabón y etanol previo al arranque de la corrida.
2. Al reactor con el sistema de PVC de aireación se le introdujo 2 L de especie *N. oculata* cultivada en reactor cerrado tubular L, luego 2.5 litros de medio f/2 Guillard, 355.7 gramos de sal no yodada y 19.5 litros de agua suavizada por medio de una probeta de 2 litros y una cubeta de plástico de 10 litros.
3. Se utilizaron rocas de tamaños y pesos similares como contrapesos para evitar un desbalance durante algún día de la corrida, y se abrió la llave de entrada de aire para arrancar el sistema.
4. El sistema se mantuvo en parámetros controlables dentro del tanque abierto, el pH se mantuvo entre los niveles de 7-9, el nivel de salinidad entre 0.55-2% la velocidad de entrada de aire 1.7,1.5,1.5 (respectiva para tanques 1,2,3) y una temperatura de  $25.1 \pm 10$  °C.
5. Presente alguna disminución de volumen, se observó el volumen faltante y se le añadía los valores correspondientes de agua, sal y medio f/2 a reponer.
6. Luego de 40 días de que se observarán los cambios, se recolectó la biomasa que creció a condiciones abiertas y se refrigeró a 5 °C dentro de un cuarto frío hasta su uso en las corridas modificadas como la concentración inicial de especie.
7. Siendo una de las razones que se empleó un tiempo de operación promedio de 45 días por corrida, lo cual para un sistema acuático es corto plazo. Con el cual se obtuvo éxito como un reactor en su periodo corto de operación, sin embargo, se tuvieron que realizar ciertas adiciones adicionales.
8. Debido a las mediciones de los reactores, se sabe que la profundidad mínima viable para la *N. oculata* es de 12 cm, cual está marcado en el exterior de la caja, a fin de prevenir agotamiento. Se observa en esta corrida, variaciones climáticas, en la zona de

trabajo. Por lo que se realizaron 2 adicciones como solución provisional para la protección de lluvia, intensidad de la radiación solar y otros elementos particulados afecten el tanque debido a su poco volumen

9. Se añadió una lámina de plástico a 2.85 metros de altura del suelo para utilizar como un techo protector contra lluvia y otros elementos ambientales que puedan afectar al tanque, asegurándolo por medio de los tornillos herméticos y un barreno.
10. Para apoyar a controlar el exceso de la luz solar y proteger contra otros objetos (como semillas y hojas) se utilizó una colgadura de paja cual también fue fijada con los tornillos herméticos de punta de broca.

## Etapa aplicación de distintos cambios a las corridas de operación

### Materiales y equipo

- Especie *Nannochloropsis oculata* cultivada en reactor cerrado 2 L
- Pipeta de plástico ml
- 3 de los rectores construidos
- Rocas (tamaño y peso mediano ~25 cm y máximo)
- Probeta de plástico 2 L a
- Cubeta de plástico capacidad 10 L
- Etanol
- Jabón
- Agua suavizada 20.5 L
- Medio f/2 Guillard 2.5 L
- Sal no yodada para uso de acuarios
- Solución agua residual preparada
- Cucharón grande de madera
- 105 tubos de ensayo

### Procedimiento

- Corrida 1: Cambios a la adicción de sal no yodada al sistema por variación periódica
  1. Se esterilizó el tanque y el sistema de aireación usando agua, jabón y etanol previo al arranque de la corrida.
  2. Dentro del reactor se introdujo 2 L de especie *N. oculata* cultivada en reactor cerrado tubular L, luego 2.5 litros de medio f/2 Guillard, 250 gramos de sal yodada y 19.5 litros de agua suavizada por medio de una probeta de 2 L y una cubeta de plástico de 10 L.
  3. Se utilizaron rocas de tamaños y pesos similares como y se abrió la llave de entrada de aire para arrancar el sistema.
  4. El sistema se operó por 42 días, cual se le realizó el cambio de añadir periódicamente 50 gramos de la sal no yodada los lunes y jueves de cada semana.
  5. El sistema se mantuvo en parámetros controlables esperados como en la corrida 0 y se fueron anotando.
  6. Presente alguna disminución de volumen, se observó el volumen faltante y se le añadía los valores correspondientes de agua y medio f/2 a reponer. Tratando de mezclar por medio del uso de un cucharón.

7. Se realizó una recolección de muestras al menos 2 veces cada semana, por medio de la pipeta de plástico y almacenándolos en los tubos de ensayo (marcados con nombre, fecha y tanque/corrída). A las muestras se realizaron mediciones para observar los parámetros fisicoquímicos y como cambiaron durante la corrida.
  8. Al terminar el tiempo de operación se recolectó la biomasa que creció a las condiciones específicas de la corrida, se limpió los tanques y el sistema de aireación con agua y jabón.
- Corrida 2: Cambios a la adicción de nutrientes y minerales (medio f/2 Guillard) al sistema por variación periódica
    1. Se esterilizó el tanque y el sistema de aireación usando agua, jabón y etanol previo al arranque de la corrida.
    2. Dentro del reactor se introdujo 2 L de especie *N. oculata* cultivada en reactor cerrado tubular L, luego 2.5 litros de medio f/2 Guillard, 355.7 gramos de sal yodada y 19.5 litros de agua suavizada por medio de una probeta de 2 L y una cubeta de plástico de 10 L.
    3. Se utilizaron rocas de tamaños y pesos similares como y se abrió la llave de entrada de aire para arrancar el sistema.
    4. El sistema se operó por 47 días, al cual se le realizó el cambio de añadir periódicamente 2 litros de medio f/2 Guillard los lunes y jueves de cada semana por medio de la probeta de 2 litros.
    5. El sistema se mantuvo en parámetros controlables esperados como en la corrida 0 y se fueron anotando.
    6. Presente alguna disminución de volumen, se observó el volumen faltante y se le añadía los valores correspondientes de agua y sal a reponer. Tratando de mezclar por medio del uso de un cucharón.
    7. Se realizó una recolección de muestras al menos 2 veces cada semana, por medio de la pipeta de plástico y almacenándolos en los tubos de ensayo (marcados con nombre, fecha y tanque/corrída). A las muestras se les hizo mediciones para observar los parámetros fisicoquímicos y como cambiaron durante la corrida.
    8. Al terminar el tiempo de operación se recolectó la biomasa que creció a las condiciones específicas de la corrida, se limpió los tanques y el sistema de aireación con agua y jabón.
  - Corrida 3: Variación periódica a condiciones de agua residual
    1. Se esterilizó el tanque y el sistema de aireación usando agua, jabón y etanol previo al arranque de la corrida.
    2. Se preparó dos soluciones de agua residual gris sintética casera.
    3. Dentro del reactor se introdujo 2 L de especie *N. oculata* cultivada en reactor cerrado tubular L, luego 2.5 litros de medio f/2 Guillard, 355.7 gramos de sal yodada.
    4. Adicionalmente se añadió 19.5 litros de agua suavizada por medio de una probeta de 2 L y una cubeta de plástico de 10 L. Cual luego por medio de composición periódica se cambió con agua residual hasta llegar un 30% agua suavizada y 70% agua residual cada 3 litros adicionales por semana.
    5. Se utilizaron rocas de tamaños/pesos similares y se abrió la llave de entrada de aire para arrancar el sistema.

6. El sistema se operó por 46 días, tomando muestras a lo máximo cada 4 días, luego de 11 días se empezó a añadir el agua residual a composiciones crecientes con agua suavizada.
7. Cada lunes se añadió la combinación de agua residual y agua suavizada; la primera semana 5/95, la segunda semana 10/90, la tercera semana 30/70, la cuarta 50/50 y la última semana 70/30 para poder adaptar a las microalgas de una condición poco volátil.
8. Se realizó una recolección de muestras al menos 2 veces cada semana, por medio de la pipeta de plástico y almacenándolos en los tubos de ensayo (marcados con nombre, fecha y tanque/corrida). A las muestras se realizaron mediciones para observar los parámetros fisicoquímicos y como cambiaron durante la corrida.
9. Al terminar el tiempo de operación se recolectó la biomasa que creció a las condiciones específicas de la corrida, se limpió los tanques y el sistema de aireación con agua y jabón.

## Etapa de almacenamiento de muestras de crecimiento y biomasa

### Materiales y equipo

- 105 tubos de ensayo con muestra
- Pipeta de plástico 3.5 ml
- 18 contenedores de plástico (galón de PE-LD)
- Embudo de plástico
- Colador de acero inoxidable
- Probeta de plástico 2 L
- Olla de acero inoxidable o plástico

### Procedimiento

- Los tubos de ensayo con muestra luego se guardaron dentro de un cuarto frío a temperaturas de 5-7 °C, asegurada dentro de una caja plástica para soporte.
- Al finalizar cada corrida, se recolectó el cultivo final dentro de envases de plástico (galones), donde se colocó un embudo de plástico en la boquilla de uno de los galones, y por medio del colador, una olla y probeta se recolectaron las muestras notables de biomasa primero (agrupaciones visibles) y luego el resto de la muestra hasta llegar 3.5 litros por envase de galón.
- Cada galón con muestra también fue refrigerado a 7 °C para su preservación.
- Los contenedores de plástico se lavaron con agua y jabón, y se dejaron secar previo a cada corrida dispuesta.

## Etapa de extracción por centrifugación

### Materiales y equipo

- Muestras de crecimiento y almacenamiento
- Centrifugadora RTZ
- 4 envases de 250 ml de la centrifugadora RTZ
- Espátula analítica

- Contenedores de plástico Ziploc
- Balanza de laboratorio
- Masking tape
- Papel encerado

### Procedimiento

1. Las muestras obtenidas del almacenamiento de la biomasa fueron sacadas temperatura ambiente previo a su introducción a la centrifugadora, se eliminó la mayor cantidad de agua posible que no presentaba pérdidas significativas de biomasa (cual sedimentada).
2. Se introdujo las muestras recolectadas a 4 envases cilíndricos de 250 ml de la centrifugadora (total aproximado 1 L por corrida), separando la biomasa formada como precipitado del sobrenadante (agua, minerales, etc.).
3. Previo a introducir a la centrifugadora se balancearon los pesos de los envases con las muestras (diferencias de menos de 0.1 g) para evitar accidentes en el eje del rotor por un desequilibrio dentro de alguno de sus brazos.
4. Se realizó corridas a 3000 rpm en 10 minutos a aproximadamente 20°C para la separación de la biomasa y el agua. Si se observa aun biomasa flotante dentro del medio se realizó una segunda corrida a 1200 rpm en 15 minutos.
5. El precipitado se recuperó por medio de una espátula analítica y se colocó en papel encerado, cual luego se pesó y se anotó su valor.
6. Este se metió en una bolsa ziploc identificadas, y luego se dejó dentro de una refrigeradora a 7°C previo a su secado estas cerradas.

### Etaapa de deshidratación por convección

#### Materiales y equipo

- Muestras de centrifugación
- Espátula analítica
- Balanza analítica
- Balanza de humedad Ohaus
- Deshidratadora de alimentos Hamilton Beach
- Manteles antiadherentes
- Papel encerado
- Motero y pistilo

### Procedimiento

1. Las muestras centrifugadas se colocaron encima de manteles antiadherentes, con distribución espaciada, para luego se colocaron en las bandejas del deshidratador de alimentos Hamilton Beach.
2. Siguiendo se colocaron las bandejas dentro del deshidratador (5 bandejas en total), se colocó la tapa y se inició la corrida colocando en el panel de control la temperatura a 130°F (54.44°C) en un tiempo de 9 horas.
3. La deshidratación se realizó alrededor de 2 días, el primer día se secó la corrida 1 y la mitad de la corrida 2, y en el segundo día la otra mitad de la corrida 2 y la corrida 3.

4. Las masas colocadas en las diferentes bandejas de la deshidratadora se establecieron por medio de 2 espacios por bandeja (N1 y N2), y otra bandeja (N3 y N4). NH es la biomasa para la prueba individual en la balanza de humedad que se extrajeron de la prueba primaria (datos originales).
5. Se midió el porcentaje de humedad de las muestras durante cada hora de la deshidratación, recolectando pesos similares cada vez que se realizaba la medición de humedad.
6. Se colocó una tira de papel encerado dentro de la balanza de humedad en la cámara de muestra para evitar derrames y problemas de pegado dentro del equipo.
7. En la balanza de humedad se colocó la muestra, asegurándose de que se distribuya uniformemente para garantizar resultados precisos, luego se cerró la tapa para iniciar el programa específico para la deshidratación de microalgas.
8. El programa nombrado "MICROALGS" se configuró con los parámetros de prueba; con criterio de apagado de A60 (1mg/60s), a temperatura de 101 °C y con un perfil de secado estándar.
9. El análisis se detendrá automáticamente y se anotó el porcentaje de contenido de humedad final presentado en la pantalla del equipo. Se recolectó la muestra y se almacenado en una bolsa ziploc anotando la información para su identificación, luego se limpió y preparo para la siguiente muestra.
10. Al terminar las 9 horas, se recolectó las muestras dentro del deshidratador de alimentos y luego se trituraron hasta llegar a un polvo fino con el motero y pistilo. Donde se guardaron dentro nuevas bolsas ziploc y pesaron una balanza.
11. Estas bolsas fueron almacenadas en envases de plástico y se guardaron en un área con buena ventilación y a temperatura ambiente (23 °C).

## Etapa de análisis poder calorífico superior

### Materiales y equipo

- Muestras de secado
- Bomba calorimétrica IKA C200
- Balanza analítica
- Espátula analítica
- Ácido benzoico
- Erlenmeyer de 500 ml
- Pipeta con jeringa de 10 ml
- 2 pinzas medicas
- Pichel de plástico 2 litros
- 18 hilos de ignición
- Crisol de vidrio
- 3 crisoles cerámicos con tapadera
- Tanque de oxígeno
- Mufla Thermolyne thermo scientific f6038
- Guantes de protección térmica
- Tabla de asbesto
- Pinzas para manipular crisoles
- Analizador de gases testo 310

- Prototipo chimenea (lata de aluminio y pajilla de acero inoxidable)
- Soporte universal

#### Procedimiento

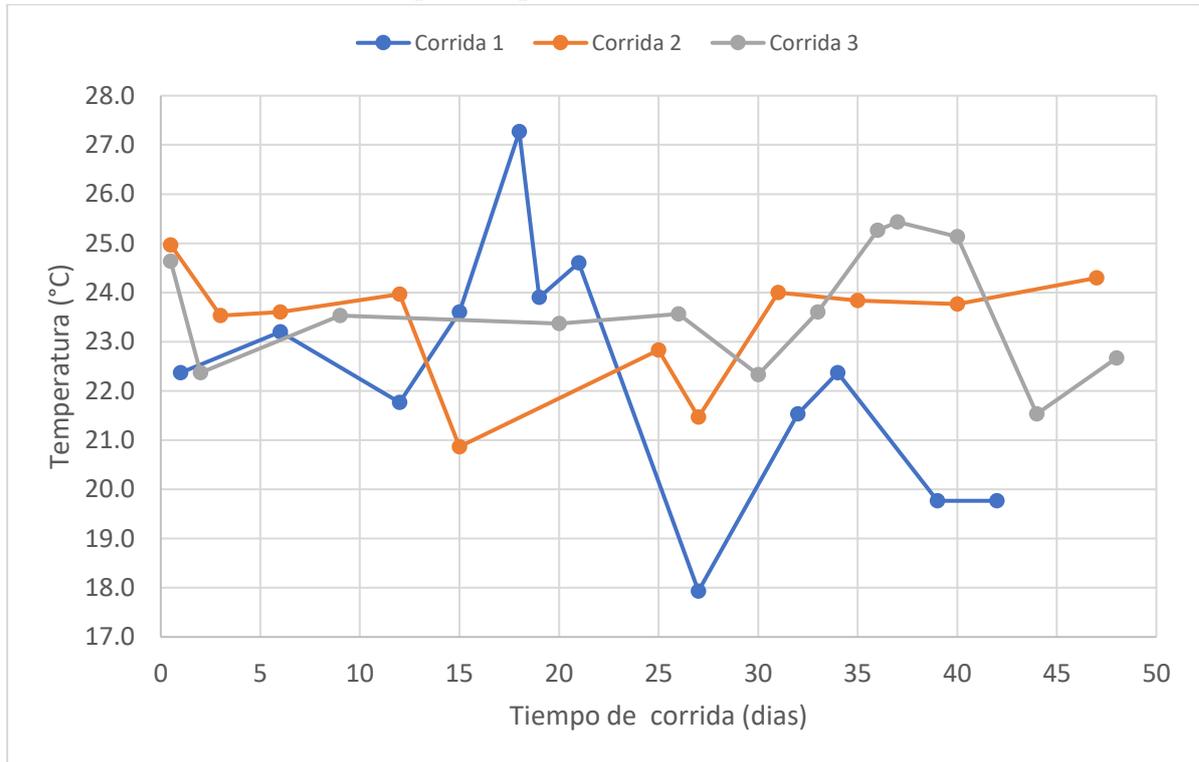
1. Se realizaron las pruebas de poder calorífico superior introduciendo las muestras de biomasa seca obtenidas del proceso anterior a una bomba calorimétrica IKA C200 calibrada.
2. Se pesó alrededor de 0.0500 g de muestra y 0.0500 g de ácido benzoico (para ayudar a la ignición del experimento) en una balanza analítica y colocándose dentro de un crisol de vidrio previamente tarado.
3. La muestra se colocó en el soporte interno de la bomba, amarando un hilo de ignición alrededor de su resistencia de ignición usando las pinzas medicas en lugar de las manos para evitar huellas dactilares afecten los resultados.
4. Se introdujo 1 ml de agua destilada en el fondo de la bomba calorimétrica por medio de una pipeta de 10 ml.
5. Luego la bomba se cerró con su tuerca de racor y se le inyectó oxígeno a través del sistema llenado de oxígeno incluido con el equipo, y se colocó el adaptador de encendido.
6. El sistema se le levanto la tapa principal del equipo cuidadosamente, y colocándose en su posición para ingresar la muestra.
7. Se llenó el depósito de agua hasta la marca indicada con agua de grifo y se colocó el tamaño de muestra medido para iniciar la corrida.
8. Se introdujo la bomba al equipo dentro de los pernos de alojamiento, y se cerró la tapa observando que los conectores de la tapa estén en contacto con los del adaptador de la bomba para iniciar la prueba.
9. Al finalizar, se anotó el valor obtenido y se siguió el procedimiento de limpieza para iniciar la siguiente prueba repitiendo todos los pasos anteriores.
10. Se realizó una prueba de análisis de ceniza, por medio de una mufla Thermolyne a 500 °C por 2.5 horas y un periodo de enfriamiento entre medición de 30 minutos.
11. Previo a estas corridas, se midió el peso de muestra a 1.0000 g por crisol (x3 dado el triplicado de los tanques) dentro de una balanza analítica y por medio de pinzas especiales se manipularon las tapas y los crisoles para introducirlos a la mufla.
12. Se encendió la mufla y se tardó en promedio para llegar a la temperatura deseada de 500 °C a 75 minutos.
13. Al terminar las 2.5 horas de calentamiento, se sacó los crisoles con las pinzas especiales (teniendo los guantes de protección puestos) y se colocaron dentro de la pancha de asbesto hasta que se enfriaran.
14. Se transportó hacia la balanza analítica donde se volvió a pesar las cenizas obtenidas y se obtuvo el valor del porcentaje de ceniza:  $\%Ceniza = \frac{masa\ de\ la\ ceniza}{masa\ de\ la\ muestra} * 100\%$ .
15. En la sección superior de la mufla, se midió el escape de los gases con el analizador de gases testo 310 a la configuración de leña establecido por el equipo durante el proceso de calentamiento.
16. Se dejó medir con respecto a las indicaciones del equipo hasta la captación de O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y CO (en caso de prueba adicional se realizó las pruebas junto a un prototipo de chimenea usando una lata de aluminio y pajilla de acero inoxidable, realizando la misma

medición de gases previo a una combustión en un soporte universal con 1 gr de muestra dentro).

17. Luego, se limpió el analizador en un entorno abierto por 5 minutos y se preparó para la siguiente corrida.
18. Al terminar de pesar, se limpió los crisoles con papel y espátula para raspar lo más posible de las muestras y se repitió para cada corrida de cultivación de biomasa.

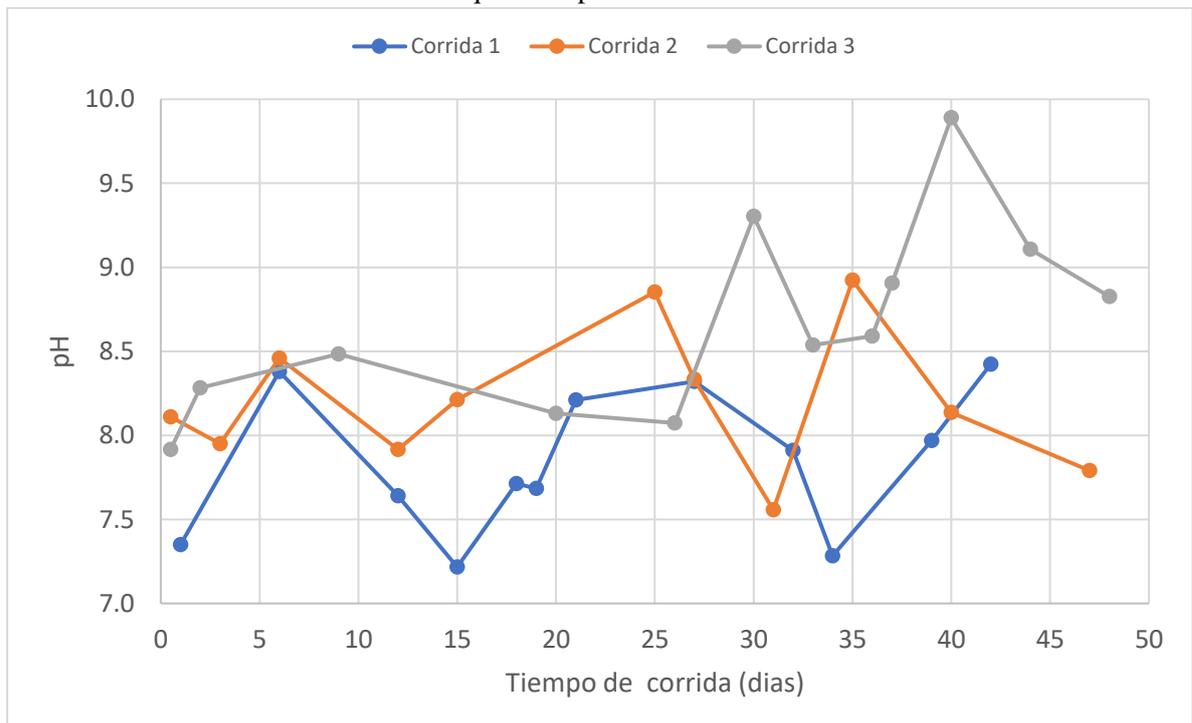
## VI. Resultados

Figura 5. Comportamiento del parámetro fisicoquímico de la temperatura del medio de cultivo dentro de los tanques de operación durante las distintas corridas elaboradas.



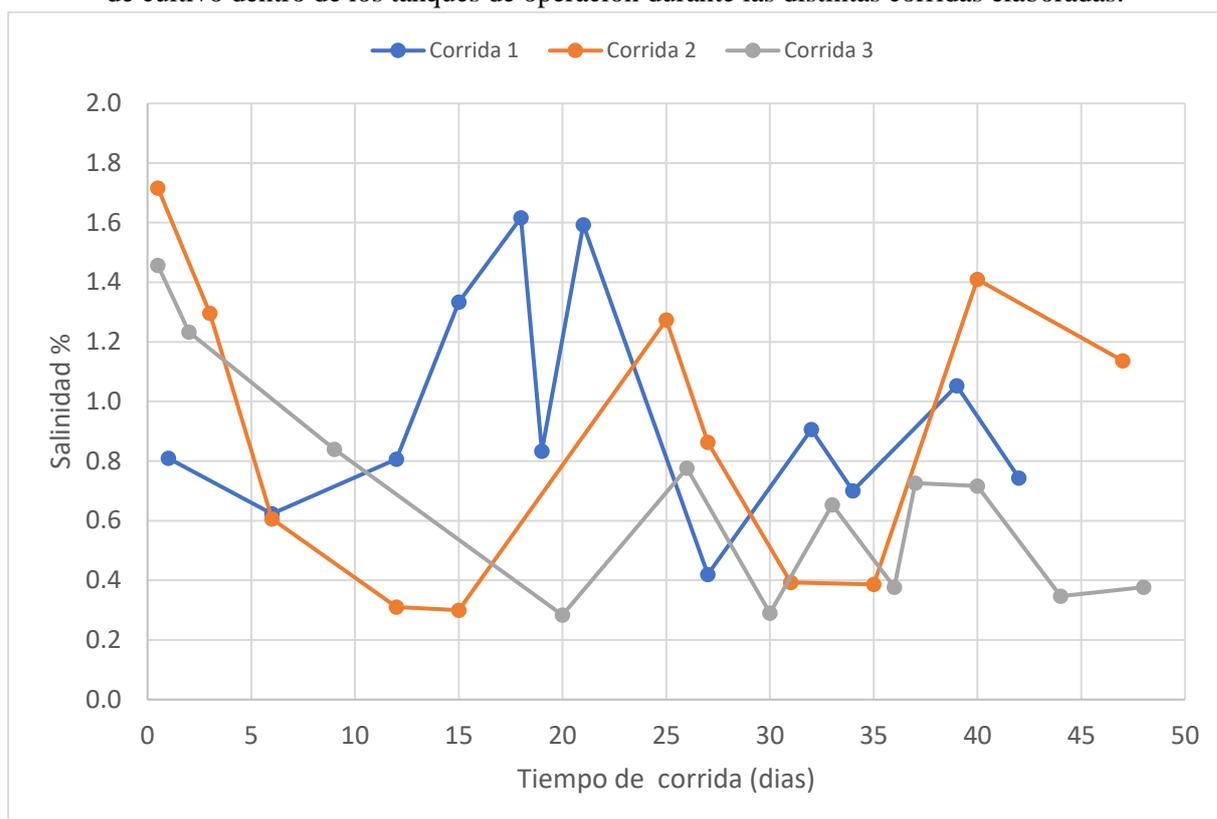
\*Los valores utilizados para construir esta grafica están en los cuadros 14,15 y 16.

Figura 6. Comportamiento del parámetro fisicoquímico del potencial de hidrogeno (pH) del medio de cultivo dentro de los tanques de operación durante las distintas corridas elaboradas.



\*Los valores utilizados para construir esta grafica están en los cuadros 14,15 y 16.

Figura 7. Comportamiento del parámetro fisicoquímico de la salinidad del medio del medio de cultivo dentro de los tanques de operación durante las distintas corridas elaboradas.



\*Los valores utilizados para construir esta grafica están en los cuadros 14,15 y 16. El grafico está representado de 0 a 2% dado que el límite de salinidad para el tanque de operación.

Cuadro 1. Promedios de la propagación de la especie *Nannochloropsis oculata* para evidenciar el uso de los tanques laguna abierta sin agitación construidos.

Corrida	Etapa de medición (día)	Células viables (cells/mL)	células viables en el medio (cells)
1	1	$5.28 \cdot 10^4$	$1.29 \cdot 10^9$
	18	$1.50 \cdot 10^5$	$3.67 \cdot 10^9$
	38	$6.47 \cdot 10^5$	$1.59 \cdot 10^{10}$
2	1	$6.62 \cdot 10^4$	$1.62 \cdot 10^9$
	27	$1.53 \cdot 10^5$	$3.75 \cdot 10^9$
	46	$7.48 \cdot 10^5$	$1.83 \cdot 10^{10}$

Corrida	Etapa de medición (día)	Células viables (cells/mL)	células viables en el medio (cells)
	1	7.87*10 <sup>4</sup>	1.93*10 <sup>9</sup>
3	27	1.57*10 <sup>5</sup>	3.85*10 <sup>9</sup>
	45	3.68*10 <sup>5</sup>	9.01*10 <sup>9</sup>

\*Observando que seguridad adicional del crecimiento de las microalgas, se puede ver las fotos en anexos para ver el progreso durante distintos días de la corrida. Este cuadro es continuación del que está en la página anterior. Estos resultados se obtuvieron con calculo 6.

Cuadro 2. Promedios del poder calorífico superior, la energía total, energía útil y eficiencia de las muestras de biomasa de *Nannochloropsis oculata* en distintas corridas.

Muestra promedio	PCS muestra (± 56.11 J/g)	Energía Total (± 0.51 kJ)	Energía Útil (± 0.31 kJ)
Corrida 1	<b>12880.94</b>	<b>110.79</b>	<b>66.45</b>
Corrida 2	<b>13601.13</b>	<b>162.34</b>	<b>98.23</b>
Corrida 3	<b>14157.57</b>	<b>160.89</b>	<b>104.35</b>

Cuadro 3. Caracterización analítica promedio de la biomasa seca al combustionar para el PCS de muestras de biomasa de *Nannochloropsis oculata* en distintas corridas.

Muestra promedio	Humedad (± 0.6%)	Ceniza (± 0.01%)	Tiempo combustión (± 0.01 seg)	CO (± 20 ppm)	CO <sub>2</sub> (± 0.2 %)
Corrida 1	5.86	40.04	6.50	238.67	0.7
Corrida 2	5.73	39.16	5.57	278.67	1.1
Corrida 3	6.38	34.97	4.13	435.33	0

Cuadro 4. Especificaciones cuantitativas del sistema de cultivo de *Nannochloropsis oculata* obtenido para el diseño de los tanques de operación.

Parámetro	Valor
Volumen requerido dentro de los tanques de operación sin agitación	$0.02472 \pm 3 \cdot 10^{-4} \text{ m}^3$
Velocidad de entrada del flujo de aire a los tanques de operación sin agitación	$2.1754 \pm 0.17 \text{ m/s}$
Diámetro de agujeros al tanque	$0.00635 \pm 1 \cdot 10^{-4} \text{ m}$
Numero de agujeros a través de los sistemas de aireación	30

\*Los valores utilizados se encuentran utilizando los cálculos y utilizando los principios y teoría de la operación de un tanque sin agitación para el crecimiento de microalgas, adicionales a las especificaciones aplicadas en la metodología.

Figura 8. Vista de planta del reactor tanque abierto sin agitación versión sistema de aireación 1 con sus medidas correspondientes.

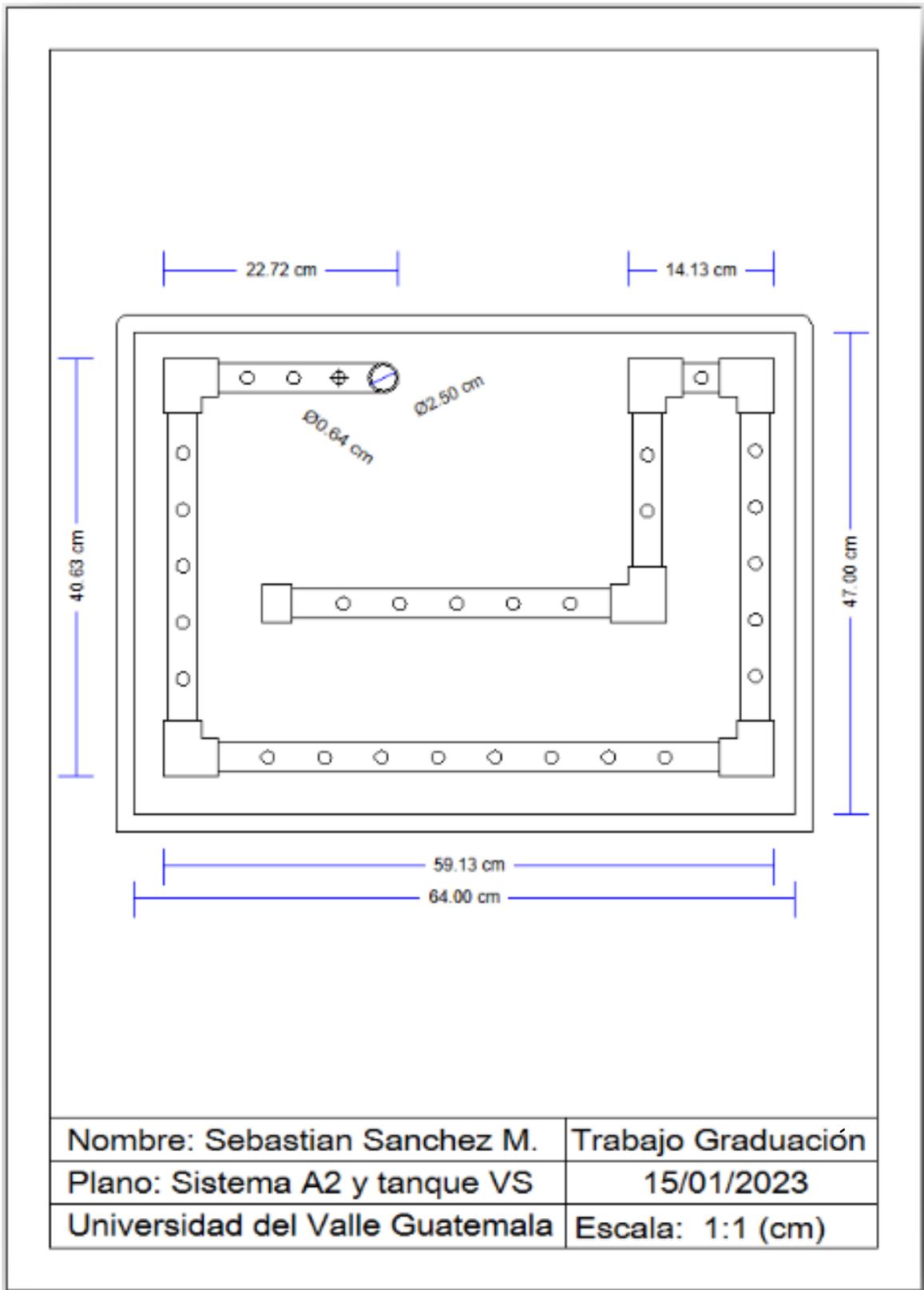


Figura 9. Vista lateral del reactor tanque abierto sin agitación versión sistema de aireación 1 con sus medidas correspondientes.

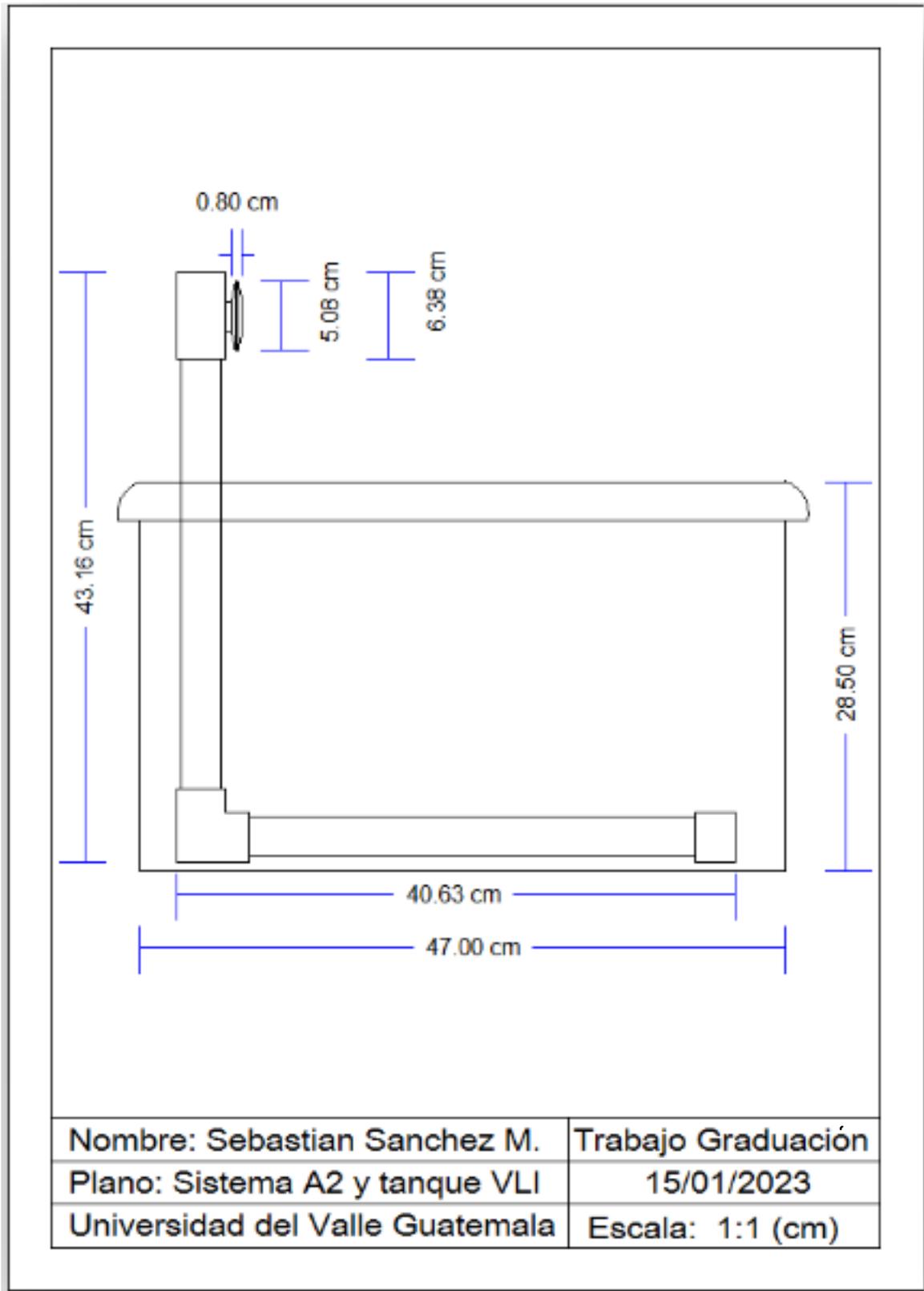


Figura 10. Vista de frontal del reactor tanque abierto sin agitación versión sistema de aireación 1 con sus medidas correspondientes.

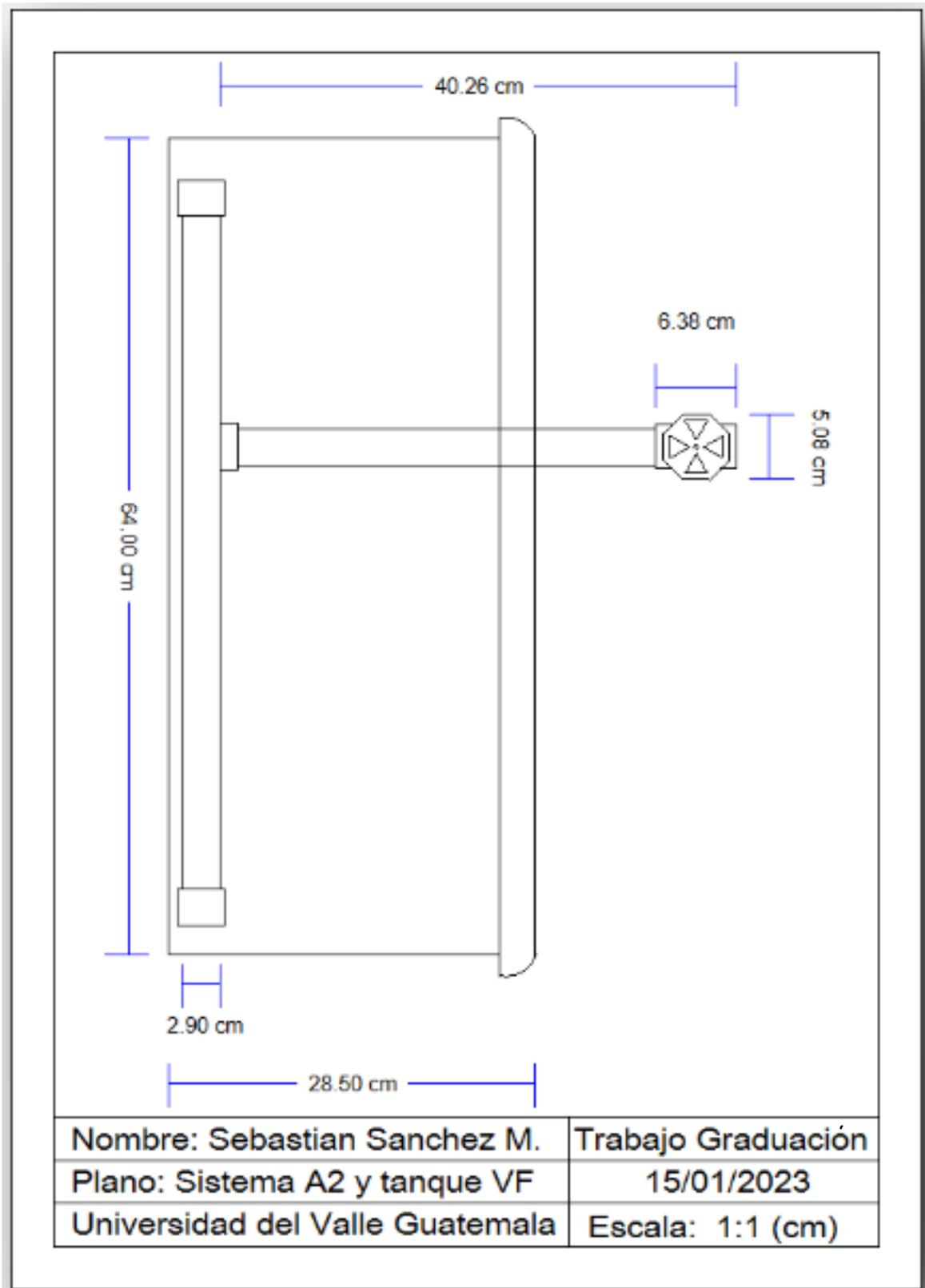


Figura 11. Vista de planta sistema de aireación 3 con sus medidas correspondientes.

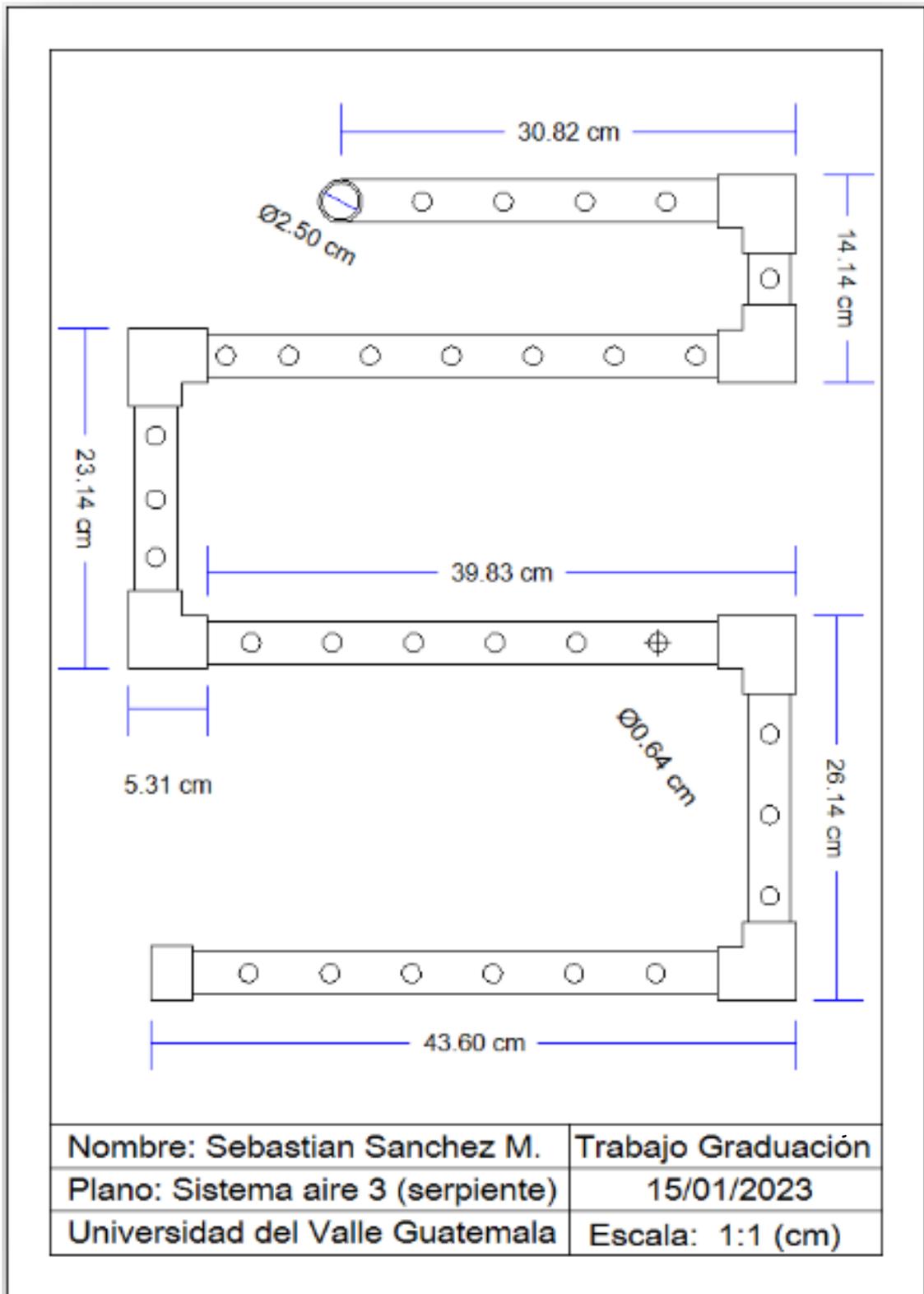
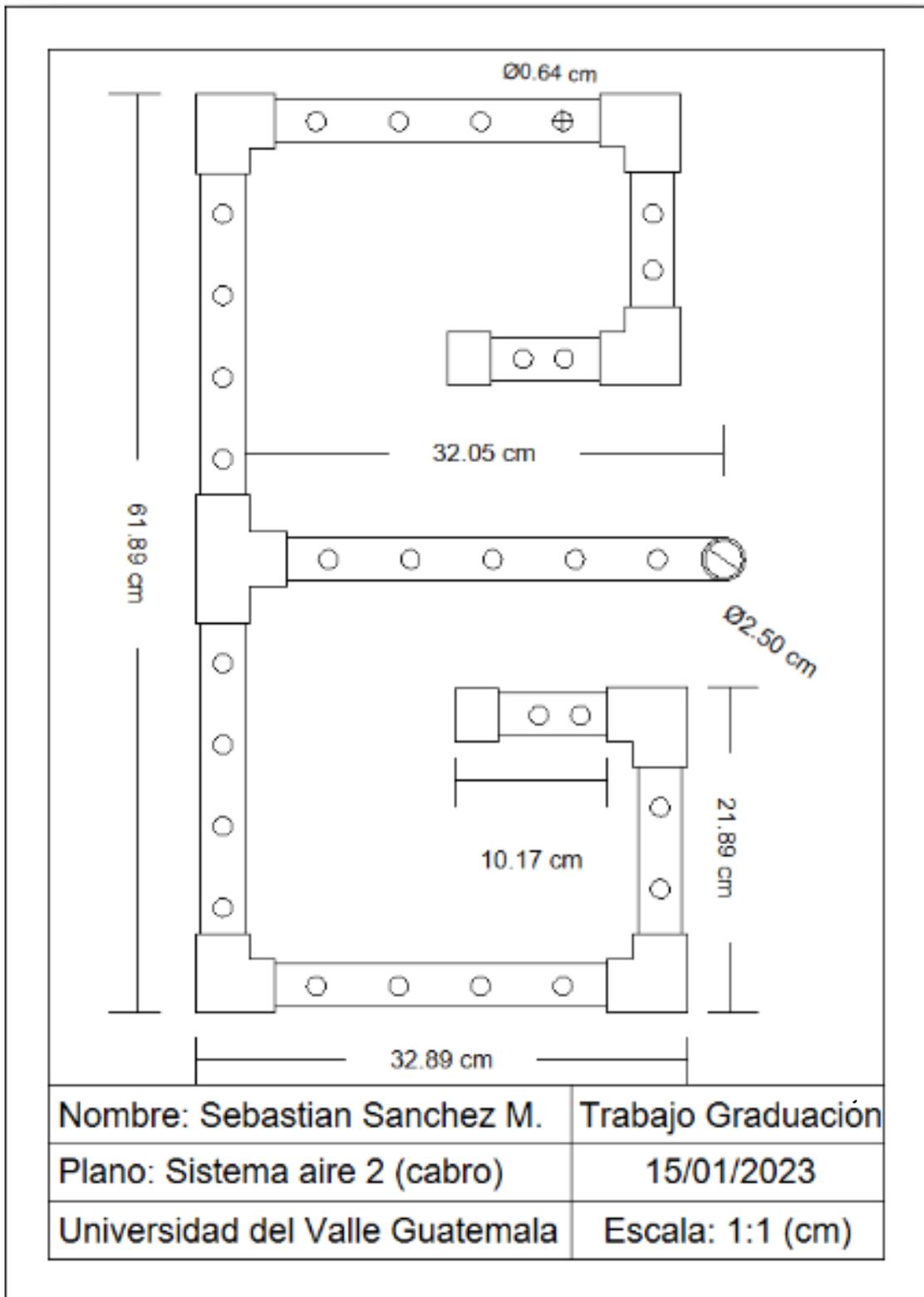


Figura 12. Vista de planta sistema de aireación 2 con sus medidas correspondientes.



## VII. Análisis de resultados (Discusión)

Con el propósito de evaluar la variación de las condiciones para alcanzar el potencial energético óptimo de la biomasa obtenida de la microalga *N. oculata*, se eligieron tres parámetros para ser investigados: la naturaleza del agua, la concentración de componentes químicos de crecimiento (nutrientes y minerales), y la salinidad del medio de cultivo. Estas condiciones fueron seleccionadas por su influencia en el estrés de cultivos (marco teórico sección B), cuales tienen un efecto en la producción de lípidos, lo cual resultara en cambios al potencial energético de cada muestra de biomasa obtenida de las corridas. Para simular el estrés, fueron constantemente retocadas en intervalos regulares durante del periodo de la corrida, lo que permitió la identificación más favorable en cuanto al poder calorífico experimental y, consecuentemente, para el potencial energético obtenido en cada caso. Cabe mencionar que durante el cultivo de microalgas es posible variar otras condiciones distintas a las estudiadas para simular estrés, como la concentración de nitratos o sulfatos específico. No obstante, se decidió variar únicamente las tres condiciones seleccionadas ya que cada una de ellas tiene una incidencia significativa en el crecimiento microalgas y como factores abióticos poseen los efectos más fáciles de controlar en el metabolismo de las microalgas. Por lo que dentro de un tanque de laguna abierta tienen un menor riesgo de ser afectadas por variaciones externas de acuerdo con la literatura consultada (sección B y antecedentes). Las primeras dos corridas siendo factores de estrés abióticos comunes, y la tercera corrida siendo un factor de estrés por contaminantes aumentando su concentración durante el periodo de crecimiento.

La construcción de los sistemas de cultivo de microalgas se ha convertido en una exploración crucial debido a su potencial en diversos campos, incluyendo la producción de biocombustibles, generación de biomasa y tratamiento de aguas. En este contexto, durante la realización de la tesis la adaptación y construcción de un tanque laguna abierta sin agitación, con la finalidad de observar la variación de las condiciones fisicoquímicas en el medio de crecimiento de *N. oculata* por las distintas corridas. Las microalgas son microorganismos fotosintéticos y algunos grupos exhiben mayor resistencia a la variación de ciertos parámetros sin comprometer su desarrollo, crecimiento y supervivencia. Por esta razón se decidió variar condiciones más amplias como las mencionadas en el primer párrafo, y observando su efecto en los parámetros fisicoquímicos (temperatura, pH y grado de salinidad).

El diseño del tanque de operación como uno de laguna abierta sin agitación sobre uno con agitación se basa en los principios mencionados en el marco teórico y antecedentes (costos, mantenimiento, etc.). En específico el uso de la caja Jumbo de polipropileno que posee cualidades anticontaminantes hacia el agua, resistencia contra humedad y sustentable para uso de corto tiempo en acuarios. El sistema se trabajó con aireación para fomentar el intercambio de gases con una inyección del aire a los tanques. Cual fue posible trabajar anexado a un sistema de aireación cercano (compresor de aire), que contaba con la potencia suficiente trabajar los tres tanques (2 HP). En cuanto al uso de válvulas de globo en el sistema de aireación de los tanques, estas válvulas ofrecen una capacidad de control de flujo precisa, lo que es esencial para garantizar la adecuada oxigenación de las microalgas. Al adaptar el diseño de Aguilera 2021, en cual agito 20 L de cultivo a 9 rpm es necesario utilizar un impulsor de 20 W, el cual puede subir debido a factores diferentes como la altura (respecto al impulsor) y la variación de las condiciones fisicoquímicas del medio. Debido a la decisión de trabajar con tres tanques de características similares, podría pensarse que se requerirían de motores de agitación para cada

uno; sin embargo, como la agitación no es un factor que afecte la eficiencia de producción de biomasa a largo plazo, se adaptó para trabajar sin agitación motorizada.

El sistema de aireación de los tanques se fundó en los valores óptimos de diámetro de agujero (0.00635 m) y cantidad de agujeros (30) según lo reportado por Aguilera, 2021 para la distribución de aire en los tanques. Adicionalmente, se obtuvo una velocidad experimental para un tanque de operación de 2.1754 m/s, donde cumplen a base de los valores obtenidos por Aguilera, y cual debido a la naturaleza del sistema para los tres tanques de operación y la anexión al sistema adicional se acercaron a los valores vistos en el cuadro 6. Sumando a esto, las cajas (tanques) de operación seleccionadas para mantener el cultivo poseen una capacidad máxima de 56 L y una altura superior a los 15 cm de profundidad necesarios según la literatura. Para la operación de estos equipos se obtuvieron los valores para la utilización de los tanques vistos en el Cuadro 4, vemos que el volumen mínimo por cual se pueden operar es de 0.02472 m<sup>3</sup> (24.72 L). El volumen determinado se estableció con la profundidad mínima de operación para un tanque abierto sin agitación, expresado a argumentos de la profundidad, y las dimensiones de área de la caja. Este volumen toma en cuenta, la elevación causada por los sistemas adicionales (sistema aireación de PVC) y los contrapesos dentro del tanque. Es posible trabajar con un mayor volumen, sin embargo la tensión sobre la base causada por el peso del cultivo entre otro género conflicto, a base de lo observado en la corrida 0. Aspectos adicionales en la construcción de los tanques ocurrieron de las observaciones obtenidas de la corrida 0 de práctica (mencionados en la metodología).

Por último, respecto a la circulación de aire los diferentes diseños se basan en el principio de contacto de oxígeno, el cual su único estándar es cubrir la mayor área posible del tanque de operación, lo cual se ve en las figuras 8 a la 12 para las tuberías empleadas del sistema de aireación que ocupan el espacio necesario para el tanque.

Observando las figuras 5, 6 y 7 donde están las variaciones de los cambios elaborados para las corridas y sus efectos en los parámetros fisicoquímicos de cultivo. Como se muestra en la Figura 5, la temperatura mostro una mayor variación en la corrida 1 que en la corrida 3 y 2. Este comportamiento de temperatura, mostro un valor medio aproximado de 27.3 °C en lo más alto y 17.9 °C en lo más bajo, en cambio los valores de temperatura para la corrida 3 están entre 25.4 y 21.5 °C, y para la corrida 2 entre 25 y 21 °C. Las mejores temperaturas que ayudan a la propagación son entre 18 a 21°C, he incluso la mayoría de las microalgas puede llegar a vivir en temperaturas de 28 °C (Aguilera, 2021). Por lo tanto, los tanques construidos lograron mantener temperaturas manejables para las microalgas en las 3 corridas. Sin embargo, la adicción de los nutrientes orgánicos e/o inorgánicos, grasas y otros químicos para suplementar a la microalga puede que no tenga un efecto en el comportamiento menos volátil de temperatura para la corrida 2 y 3.

Para salinidad, en la Figura 7, siendo un parámetro a la vez variado/medido por una de las corridas, corrida 1, vemos una mayor diferenciación a comparación de las otras dos corridas, manteniendo valores arriba del 1% (ver el marco teórico sección B) más veces. Debido a que, los picos superiores representan la adicción representativa de sal no yodada para estos tanques, por ende, para la corrida 3 donde los picos no se elevan después del día 20 a los mismos valores que las otras corridas. Esto es el resultado por los contaminantes del agua residual bajando su grado de salinidad y nunca pasando del 0.8% luego etapa inicial. Para las tres corridas de variación, en contraste de parámetros como el pH o la temperatura, la disminución de los valores

de salinidad es porque los iones de sal dentro del agua se pierden durante la evaporación de agua como en el balance de masa. Por lo tanto, la corrida 3 tuvo los valores más bajos de las tres corridas por el agua residual generando un límite que no superará el 0.8% y la pérdida por evaporación que se tuvo en las tres corridas, resultado en condiciones no recomendables para el medio que las otras dos corridas. Esto genera irregularidades como consecuencia para el crecimiento y balance osmótico del medio, disminuyendo su concentración de células viables a comparación de las otras dos corridas, como se ve en el Cuadro 1.

En cambio, para el pH, un parámetro al cuál los efectos del ambiente son insignificantes en su cambio durante las etapas medias y finales, que se observan en la Figura 6, de las corridas hubo una mayor elevación para la corrida 2 y 3. La variación del pH en un medio (especial uno constituido por agua en mayoría) ciertos minerales, aceites y en general contaminantes pueden presentar un desbalance en el pH esperado en el medio. La corrida 3, donde se utilizó una variación a agua residual se observa un mayor crecimiento de pH durante la transición de etapa media a final debido a la adición periódica AGRS obteniendo sus mayores valores cuando la composición de agua que se añadía era 30/70 (agua/agua residual sintética). Otra observación es que para la corrida 2 también se encontraron valores altos de pH, debido a la adición diferente de medio f/2 específico a la corrida, donde los picos son los puntos de horas siguientes en que se agregó el medio. Una preocupación por esperarse es dado que los rangos del pH son más elevados a los pH ideales para la propagación de microalgas (ver pH sección B marco teórico) en las etapas finales, resultando en la parada de la propagación. No obstante, observando el cuadro de resultados vemos que ocurrió lo opuesto dado que sí se siguió manteniendo una propagación solo a un grado menor que las dos corridas. Por lo tanto, la gradualidad en que se añadió la solución de AGRS fue la acción correcta permitiendo a las microalgas adaptarse y tratar los nutrientes inorgánicos encontradas en la solución.

Como se muestra en el Cuadro 1, se obtuvo la concentración de celular de las muestras de microalgas y el aproximado a las células viables totales esperadas dentro de los tanques de operación con el fin de verificar su propagación. Y tal cual se discutió como en los párrafos anteriores, la menor concentración y cantidad celulares total fue presenciado en la corrida 3, siendo  $3.68 \cdot 10^5$  cells/mL y  $9.01 \cdot 10^9$  cells respectivamente. Luego la corrida 2 tuvo la mayor concentración, con los valores de  $7.48 \cdot 10^5$  cells/ml y  $1.83 \cdot 10^{10}$  cells, y en medio de ambas la corrida 1 con  $6.47 \cdot 10^5$  cells/ml y  $1.59 \cdot 10^{10}$  cells. Adicionalmente, el desarrollo de la propagación también se comprueba por medio de fotografías observadas en los anexos desde la Figura 51 hasta 77. Alrededor de los 40 (y más) días en los tanques de propagación, se empezó a observar una proliferación de microalgas en la superficie del agua cuales indican indicios de muerte en el cultivo, como en la Figura 74. Importante, que para la corrida 3 se logró obtener valores positivos a lo esperado con el uso de agua residual sintética en lugar de agua residual de un depósito. Debido a que la razón por lo que se optó a esta agua residual, es por la posible competencia generada por otros microorganismos presentes (por ejemplo; coliformes) en un agua residual negra, causando una disminución de nutrientes hacia los microorganismos y una potencial disminución de biomasa generada reportada por otros estudios en la literatura.

En las tres corridas, se observó una propagación celular menor en comparación con otros estudios. Por ejemplo, en un estudio se registró un inicio de concentración de  $2.9 \cdot 10^6$  cells/ml, mientras que al final de la corrida se obtuvo aproximadamente  $1.29 \cdot 10^7$  cells/ml. Esta experimentación duró una semana, con el fin de maximizar la biomasa y empleado en un menor tiempo dentro de un tanque con un mayor volumen para la obtención de biomasa (Sukarni et

al.,2014; Yaakob, 2021). Contiguo a la información de los cuadros 17 y 30, el paralelo de las células viables demuestra que llegando a la etapa final (aproximadamente los últimos 15 días de las corridas) se iba perdiendo una fracción de la muestra (células totales). No obstante, se cumplió con el objetivo de propagar las muestras de *N. oculata* en distintas corridas para obtener la biomasa necesaria para evaluarlos energéticamente como prototipos de combustible. Los resultados demuestran la propagación celular de las corridas (número de células en la etapa final>inicial). Por lo tanto, la biomasa recolectada de las 3 corridas se les aplicó un proceso de centrifugación y deshidratación para prepararla a las pruebas caloríficas, la cantidad obtenida se observa en los cuadros 33 y 34.

Como se puede observar en el Cuadro 2 de resultados el poder calorífico superior (PCS) se ve que la corrida 1 presente un valor promedio de 12880.94 J/g, la corrida 2 un valor de 13601.13 J/g, y la corrida 3 un valor de 14157.57 J/g por medio de la operación de combustión dentro de una bomba calorimétrica. Para las tres corridas, las muestras utilizadas fueron mezcladas con ácido benzoico (Cuadro 26) para facilitar la ignición y por lo tanto se hizo la corrección del poder calorífico del ácido benzoico al poder calorífico total para obtener los resultados anteriores (Cuadro 35). Por lo tanto, al observar la Figura 3 vemos valores de poderes caloríficos de distintas muestras, y al compararlas con las de nuestra biomasa obtenida vemos que entran en el rango de valores para madera seca 14400-17400 J/g (Rajasekar, 2008). Debido a que ambas muestras, la madera y las microalgas que son biomásas secas poseen parecidos en sus estructuras biológicas. En el caso de las microalgas estas poseen lípidos y otros componentes bioquímicos (carbohidratos, etc.) que actúan como combustible para la reacción, en cambio para la madera es la celulosa principalmente (Audesirk et al., 2012). Mostrando que, en Guatemala, que posee una dependencia a la madera (arriba 60% de la población la utiliza), es una alternativa que puede sustituir el uso de madera en las comunidades en cual posee beneficios adicionales como ser un producto nulo en la producción de gases de efecto invernadero.

De modo que, el mayor valor para el poder calorífico se exhibo en la corrida 3, variación por agua residual, y cual se pudo haber dado por dos razones. Primero, los nutrientes inorgánicos en el medio por la adición de agua residual pueden ser consumidos por las microalgas. Las microalgas son capaces de descomponer ciertos compuestos hasta sus partes esenciales, en el medio sintetizado utilizados algunos que se identifican son el NH<sub>4</sub>-Cl (cloruro de amonio) y PO<sub>4</sub>-3 (difosfato de sodio), por lo tanto, aportan al desarrollo de la biomasa y por ende no tiene efectos deterioritos en la propagación. Segundo, en los componentes más complejos (Shampoo, aceite usado), que son difíciles de procesar por las microalgas, pudo resultar en un escenario de emulsión con microalgas pegadas en su exterior. Estas situaciones ocurren en los tratamientos de aguas residuales por microalgas en casos de ausencia de pretratamiento (marco teórico sección D). Para las 2 corridas restantes, el valor del poder calorífico fue mayor en la corrida 2 que en la 1, debido a que la salinidad es un medio para crear un balance para la propagación (ver marco teórico sección B) sin añadir ningún aumento al combustible de las microalgas. En cambio, la adición variada de los nutrientes al medio como la corrida 2 puede promover un rápido crecimiento celular y afectar las vías metabólicas dando mayor producción de metabolitos secundarios u otros compuestos valiosos como lípidos que puedan aportar al poder calorífico. Para comprobar el estudio se realizó un ANOVA, en cual se determinó que el valor del f estadístico es mayor al f crítico, haciendo el estudio significativo y con una probabilidad 0.04504 resultando en la evidencia de que hay una diferencia entre las 3 corridas (Cuadro 38). Otros estudios, comprobaron que para la especie *Nannochloropsis oculata* se obtiene un poder calorífico de 15.86-16.80 MJ/kg (15860 o 16800 J/g), esto es por el tamaño de producción más

grande en conjunto a métodos optimizados para la obtención de la biomasa a comparación de esta experimentación (Kosowska et al., 2017; Sukarni et al., 2014; Gomez, J. y Rodríguez, L., 2019).

La determinación del potencial energético se apoyó del estudio de la evaluación preliminar del potencial energético de diferentes biomásas por Jiménez en el 2018 determinando así la energía total, útil y su eficiencia como combustible que se encuentran en el Cuadro 2. Junto al poder calorífico de los prototipos de combustible y la biomasa recuperada en el Cuadro 34 se obtuvo para la primera corrida una energía total de 110.79 KJ, energía útil de 66.45 KJ, y una eficiencia de 0.60. En la segunda corrida, se calculó una energía total más elevada de 162.34 KJ y 98.23 KJ para la energía útil, y la eficiencia es relativamente similar en 0.61. La tercera corrida en una energía total de 160.89 KJ y una energía útil de 104.35 KJ, con la mayor eficiencia de las 3 corridas 0.65. Entre las tres corridas los mayores valores se presenciaron en la corrida 3, en la cual añadió agua residual, donde observamos que adicionalmente poseen los mayores valores de poder calorífico y biomasa recuperada, observando los cuadros 33 y 32. Aunque la corrida 3 proporcionara la mayor cantidad de biomasa seca al final de su tratamiento, a comparación de otros estudios resulta menor su energía total la cantidad de biomasa producida (Jiménez et al., 2018). Al igual que el poder calorífico se realizó un análisis de varianza, cual mostró un valor  $f$  estadístico mayor que el crítico, y un valor  $p$  arriba del 0.05. Sin embargo, al observar el coeficiente de varianza de las tres corridas, se obtuvieron valores más altos a comparación del poder calórico. Estos valores se observan en el cuadro 39, pero según evaluaciones para el grado de precisión del coeficiente de variación, valores entre el rango 10-20% son aceptables, y entre luego del 30% son inconfiables. Por lo que, la obtención de la energía total que proviene de los valores de PCS y biomasa producida, el efecto de la biomasa sobre la variación posee cierto efecto en la dispersión de resultados (Levin, 2010). Para estudios futuros se podrían emplear diferentes sistemáticas para comparar la producción de la biomasa con los resultados obtenidos en esta investigación para ver el impacto de la cantidad biomasa como una variable.

Observando el Cuadro 3 se tiene las mediciones adicionales para evaluar como combustible la biomasa de microalgas con la cuantificación de dióxido de carbono, duración de combustión, porcentaje de humedad y ceniza producida por las muestras de biomasa. En vista de los valores de masa (cuadros 33 y 34) recolectados vemos la pérdida de una gran proporción de masa, cual fue agua acumulada. Durante el proceso de deshidratación (Figura 13) se llegaron a valores de porcentaje de humedad de 5.86, 5.73 y 6.38% para cada corrida. Enlazando con los resultados de energía útil en el previo párrafo, se determinó la cantidad de ceniza como el valor de biomasa que no combustiono durante el proceso, como los valores 40.04%, 39.16% y 34.97% respectivamente para las corridas 1, 2 y 3. En otros estudios se llegan a valores cercanos a 20% para la especie *N. oculata*, la diferencia a esta investigación es debido a que hay aun muestras de materiales volátiles en las muestras de biomasa (Sukirni, 2014). Debido que el valor anterior se logró llegar hasta que se trabajó a 1000 °C, cual no se poseía en los equipos utilizados en esta operación. El valor de la corrida 3, siendo el menor se puede a la hipótesis de las agrupaciones de grasas recubiertas de microalgas (micelas ver marco teórico sección D) se eliminaron durante la combustión dando un porcentaje bajo de ceniza a comparación de las otras 2 corridas.

Las medidas adicionales de análisis se establecieron con los criterios de evaluación de biomasa y estándares de combustible sólido vistos en la sección E del marco teórico. Con el tiempo de combustión, se midió valores menores a 7 segundos, por la cantidad 1.5 gramos de

combustible (biomasa) proporcionado junto al encendedor. Por consiguiente, las pruebas con estas biomasa necesitaran de una localización con más oxígeno o cantidades más grandes de biomasa debido a la caracterización actual de los prototipos. Se identificaron ciertos gases de combustión por medio del analizador de las pruebas, obteniendo los valores de O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y CO, con el testo 340 viendo en el Cuadro 3 para cada corrida. Para las 3 corridas observamos, bajos niveles de CO<sub>2</sub> según combustibles similares como la madera. Esto es debido a la presencia de CO en las muestras, cual indica una combustión incompleta dentro de la experimentación. Observando los valores leídos para el CO poseen un riesgo moderadamente alto, de acuerdo con las normas UL 2034, en cual indica que mareos por 2 a 3 horas, y en caso de la corrida 3 puede ser mortal luego de 3 horas respirándolo en un lugar sin aire. Por otra parte, para CO<sub>2</sub> se obtuvo para la corrida 1 de 0.7%, la corrida 2 uno de 1.1% y para la corrida 3 de 0%, por lo cual los valores en la concentración de aire son muy pequeños para medirse o incluso captarse. Por ende, no se pudo evaluar los valores de CO<sub>2</sub>% para una combustión perfecta, y por ende estos valores son insuficientes para establecer una medida adicional de evaluación de combustible.

## VIII. Conclusiones

- En conclusión, los hallazgos encontrados respaldan que las diferentes condiciones en el cultivo pueden influir en la aptitud energética de la biomasa recuperada. Y con los procesos de combustión por bomba calorimétrica realizados se determinó el potencial energético más alto en la corrida 3; una energía total de 160.89 KJ y una energía útil de 104.35 KJ.
- Se adaptó y construyó a base de los principios y cálculos instituidos un tanque tipo laguna abierta doméstico sin agitación, a base de la profundidad necesaria de 15 cm se desarrolló volumen potencial 0.02472 m<sup>3</sup> de operación dentro de los tanques, una cantidad de agujeros 30 con diámetro de 0.00635 m, y la determinación de la velocidad de 2.1754 m/s. Obteniendo los tamaños del sistema para ocupar la mayor área posible fueron 40.63, 59.13, 22.72 y 14.13 cm (Figura 8); 43.60, 23.14, 26.14, 14.14 cm (Figura 11), 10.17, 21.89, 32.89, 61.89 cm (Figura 12).
- La corrida 3 mostro lo mayores valores energéticos por la carga de nutrientes inorgánicos que asisten al crecimiento de microalgas y los aceites/grasas que no se descompusieron se convirtieron en una emulsión de componentes aceitosos adheridos a las microalgas.
- Se concluye que el estudio es significativo, debido a la evaluación estadística ANOVA realizada en los valores obtenidos de poder calorífico de las distintas corridas.
- Se concluye que el tanque laguna abierta doméstico ha permitido establecer un entorno de cultivo eficiente con la evidencia de la variación de las condiciones fisicoquímicas para *Nannochloropsis oculata* en distintas corridas, con la viabilidad de facilitar la propagación de la especie dado el Cuadro 2 de resultados.
- Dentro del reactor de laguna abierta se logró suministrar la biomasa adecuada para avanzar en la producción de prototipos de combustible de biomasa seca a partir de *Nannochloropsis oculata*.
- Los valores de evaluación adicional demostraron que para cada corrida mostraban altas cantidades de ceniza y manejaban con tiempos de combustión bajos (viendo el Cuadro 3 de resultados). Sin embargo, la presencia de CO en las emisiones indica una combustión imperfecta, ocasionando que la cuantificación de CO<sub>2</sub> no sea adecuada para la evaluación de combustible de los prototipos.

## IX. Recomendaciones

- Evaluar el efecto sobre el potencial energético al sustituir los equipos de laboratorio usados por equipos de menor requerimiento energético, por ejemplo; un secador de convección solar para sustituir la deshidratadora de alimentos utilizada.
- Continuar explorando con otras variaciones hacia las condiciones fisicoquímicas en el cultivo de *Nannochloropsis oculata*, en la dirección de utilizar distintos sistemas de crecimiento y otros cambios al medio de cultivo sobre el potencial energético.
- Evaluar el efecto del tratamiento de contaminantes que el proceso tuvo en las características del agua, por medio de la medición diaria de los parámetros específicos de la calidad del agua (por ejemplo, DBO y DQO). Para que en un futuro se puedan implementar un sistema preciso de tratamiento de aguas residuales en el laboratorio de operaciones unitarias.
- Explorar la viabilidad técnica y económica de utilizar otras fuentes de agua residual, componentes químicos de crecimiento o utilizar aguas residuales con presencia de coliformes para observar su efecto en el potencial energético de las microalgas.
- Investigar la posibilidad de extender el tiempo de combustión en la mufla para asegurar una combustión más completa.
- Se recomienda proponer el escalamiento del reactor a una escala de planta piloto como paso siguiente a la investigación realizada, utilizando la corrida 3. Identificando y elaborando un modelo para la presente corrida con el fin de maximizar cantidad de biomasa.
- Finalmente se recomienda continuar con el estudio en dirección de trabajar con genotipos de algas productoras de aceite, con el propósito de maximizar los rendimientos de producción de aceite con modificaciones genéticas. De manera que las condiciones ambientales no sean la única limitante para alcanzar altos rendimientos de producto.

## X. Bibliografía

- Abdel, N., Homaidan, A. y Ibraheem, I. (2012).** *Microalgae and wastewater treatment*. Saudi Journal of Biological Sciences 19: 257-275.
- Abu-Rezq, Tawfiq. (1999).** *Optimum production conditions for different high-quality marine algae*. Hydrobiologia. 40 (403): 97-107.
- ADL, S., SIMPSON, A., FARMER, M., ANDERSEN, R., ANDERSON, O., BARTA, J., BOWSER, S., BRUGEROLLE, G., FENSOME, R., FREDERICQ, S., JAMES, T., KARPOV, S., KUGRENS, P., KRUG, J., LANE, C., et al. (2005).** *The New Higher-Level Classification of Eukaryotes with Emphasis on the Taxonomy of Protists*. The Journal of Eukaryotic Microbiology, 52(5), 399–451. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2005.00053.x>
- AGER Guatemala. (2016, 25 octubre).** *Las energías renovables y su impacto en el desarrollo de Guatemala*. AGER. Obtenido de <https://ager.org.gt/las-energias-renovables-y-su-impacto-en-el-desarrollo-de-guatemala/#:%7E:text=Entre%20las%20principales%20tecnolog%C3%ADas%20renovables,peque%C3%B1as%20y%20medianas%20centrales%20hidroel%C3%A9ctricas>.
- Aguilera, C. (2021).** *Evaluación de la cinética de un cultivo de microalgas productoras de aceite e implementación de un reactor a escala laboratorio*. Ingeniería Química. Universidad del valle de Guatemala.: Guatemala.
- Alizadeh, R., Lund, P. y Soltanisehat, L. (2020).** *Outlook on biofuels in future studies: A systematic literature review*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 134, 110326. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110326>
- Audesirk, et al. (2012).** *BIOLOGÍA: La Vida en la Tierra con Fisiología*. 9ena ed. México.: Pearson.
- Barsanti, L. y Gualtieri, P. (2014).** *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology, Second Edition*. Boca Raton.: CRC Press.
- Bolaños, R. (2021, 21 septiembre).** *Guatemala saldrá del Mercado Eléctrico Regional y el consumidor debe seguir pagando los costos*. Prensa Libre. Obtenido de <https://www.prensalibre.com/economia/guatemala-saldra-del-mercado-electrico-regional-y-el-consumidor-debe-seguir-pagando-los-costos/>
- Cirujeda, J. (2019).** *Agua residual urbana*. Editorial Elearning, S.L.
- Del Pino, S., Calderón, S. y De Las Huertas Martínez, M. (2015).** *UF1668 – Análisis de agua potable y residual*. Editorial Elearning, S.L.
- EEGSA. (2022).** *EEGSA anuncia las tarifas autorizadas para el siguiente trimestre – EEGSA*. Obtenido de <https://eegsa.com/boletin-de-prensa/eegsa-anuncia-las-tarifas-autorizadas-para-el-siguiente->

trimestre/#:%7E:text=Para%20los%20m%C3%A1s%20de%201,para%20la%20Tarifa%20No%20Social.

- Elias, X. (2012).** *Reciclaje de residuos industriales: Residuos sólidos urbanos y fangos de depuradora.* Madrid.: Editorial Díaz de Santos, S.A.
- Flores, A. (2020).** *Propiedades y beneficios del uso de las microalgas para la producción de biodiesel.* Universidad 49 ientífica del Sur, facultad de ciencias ambientales. Obtenido de <https://repositorio.cientifica.edu.pe/handle/20.500.12805/1166>
- Gomez, J. y Rodríguez, L. (2019).** *Obtención de biomasa de microalgas en aguas residuales para la producción de biocombustibles.* Renovat: Revista De Estudios Interdisciplinarios En Ciencias Sociales, Tecnología E Innovación, 3(2), 21–36. Obtenido de <http://revistas.sena.edu.co/index.php/rnt/article/view/3470>
- Guatemala, ACUERDO GUBERNATIVO No. 236-2006. (2006).** *Reglamento de las descargas y reusó de aguas residuales y de la disposición de lodos.* Obtenido de <https://www.ecosistemas.com.gt/wp-content/uploads/2015/07/07-Acuerdo-gubernativo-236-2006-Reglamento-descargas-y-reuso.pdf>
- Guillard, R. (1975).** *Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates.* Pp 26-60. In Smith W.L. and Chanley M.H (Eds.) *Culture of Marine Invertebrate Animals.* Plenum Press, New York, USA.
- Hamilton, T. (2020).** *Biofuels vs. Biomass Electricity.* MIT Technology Review. Obtenido de <https://www.technologyreview.com/2009/05/08/213260/biofuels-vs-biomass-electricity/>
- Han, S., Ferelli, A., Lin, S., y Micallef, S. (2020).** *Stress response, amino acid biosynthesis and pathogenesis genes expressed in Salmonella enterica colonizing tomato shoot and root surfaces.* Heliyon, 6(9), e04952. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04952>
- Harun, R. (2010).** *Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products.* Renewable and Sustainable Energy Reviews. 20 (14):1037-1047.
- Hernandez, A., y Labbé, J. (2014).** *Microalgas, cultivo y beneficios.* Revista de biología marina y oceanografía, 49(2), 157–173. <https://doi.org/10.4067/s0718-19572014000200001>
- Ho, S., Chen, C. y Chang, J. (2012).** *Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO2 fixation and lipid/ carbohydrate production of an indigenous microalga Scenedesmus obliquus CNW-N.* Bioresource Technology, 113: 244-252.
- Huang, W. y Zhang, Y. (2011).** *Energy efficiency analysis: biomass-to-wheel efficiency related with biofuels production, fuel distribution, and powertrain systems.* PloS one, 6(7), e22113. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022113>
- IRENA. (2020, abril).** *Global Renewables Outlook: Energy transformation 2050 (N.o 978–92-9260-238-3).* Obtenido de <https://www.irena.org/>

- Jiménez, R., López, E., González, F. y Curbelo, J. (2018).** *Evaluación preliminar del potencial energético de diferentes biomásas en la provincia de Cienfuegos*. Centro Azúcar, 45(2), 25-32. Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2223-48612018000200003&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2223-48612018000200003&lng=es&tlng=es).
- Kao, C., Chiu, S., Huang, T., Dai, L., Hsu, L. y Lin, C. (2012).** *Ability of a mutant strain of the microalga Chlorella sp. To capture carbon dioxide for biogas upgrading*. Applied Energy, 93: 176-183.
- Kosowska, M., Musiał, T., Urbaniak, D. y Otwinowski, H. (2017).** *Analysis of microalgae pellets combustion in a circulating fluidized-bed*. E3S Web of Conferences, 14, 02035. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/20171402035>
- Levin, R. I. (2010).** *Estadística para administración y economía (7. Edición)*. Ciudad de México.: Pearson.
- López Muñoz, I., & Bernard, O. (2021).** *Modeling the Influence of Temperature, Light Intensity and Oxygen Concentration on Microalgal Growth Rate*. Processes, 9(3), 496. <https://doi.org/10.3390/pr9030496>
- Luque, R., Lin, C., Wilson, K., y Clark, J. (2016).** *Handbook of biofuels production: Processes and technologies*. Boston.: WP Woodhead Publishing.
- Martínez, L. (2008).** *Eliminación de CO2 con microalgas autóctonas*. Tesis Doctoral, Instituto de Recursos Naturales, Universidad de León, León, 226 pp.
- Meincken M. y Tyhoda L. (2014).** *Biomass Quality*. In: Seifert T. (eds) *Bioenergy from Wood. Managing Forest Ecosystems*, vol 26. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-7448-3\\_8](https://doi.org/10.1007/978-94-007-7448-3_8)
- Moheimani, N., McHenry, M., Boer, K. y Bahri, P. (2015).** *Biomass and biofuels from microalgae: Advances in engineering and biology*. Charm.: Springer.
- Muñoz, M., Ramírez, J., Otero, A., Medina, V., Cruz, P. y Velasco, Y. (2012).** *Efecto del medio de cultivo sobre el crecimiento y el contenido proteico de Chlorella vulgaris*. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 25(3),438-449. ISSN: 0120-0690. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=295024923012>
- Park, J., Craggs, R. y Shilton, A. (2011).** *Recycling algae to improve species control and harvest efficiency from a high-rate algal pond*. Water Research 45: 6637-6649.
- Pinzi, S., Priego, F., Ruiz, J., Dorado, M. y Luque De Castro, M. (2009).** *Flow injection analysis-based methodology for automatic on-line monitoring and quality control for biodiesel production*. Bioresource Technology, 100(1), 421-427. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.05.034>

- Poncio, C., Falcon, H., Renzini, M. y Alonso, J. (2020).** *Aprovechamiento energético de la biomasa del sorgo y valorización de subproductos.* AJEA, 5. <https://doi.org/10.33414/ajea.5.781.2020>
- Radice, R., De Fabrizio, V., Donadoni, A., Scopa, A., y Martelli, G. (2023).** *Crude oil bioremediation: From bacteria to microalgae.* Processes, 11(2), 442. <https://doi.org/10.3390/pr11020442>.
- Rajasekar, N., Karthikeyan, N., Agarwaal, A., y Iyer, S. (2008).** *Use of vegetable oil as fuel to improve the efficiency of cooking stove.* Renewable Energy, 33(11), 2423–2427. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2008.01.022>
- Regina, N., Frank, M. y Miles, R. (2012).** *Phytoplankton biomass and primary production dynamics in Lake Kariba.* Lakes & Reservoirs: Research & Management, 17(4), 275–289. <https://doi.org/10.1111/lre.12005>
- Sánchez, H., Juscamaita, J., Vargas, J., y Oliveros Ramos, R. (2008).** *PRODUCCIÓN DE LA MICROALGA Nannochloropsis oculata (Droop) Hibberd EN MEDIOS ENRIQUECIDOS CON ENSILADO BIOLÓGICO DE PESCADO.* Ecología Aplicada, 7(1-2), 149. <https://doi.org/10.21704/rea.v7i1-2.370>
- Saquicela, J. y Pico, P. (2018).** *Revisión bibliográfica de sistemas de control para gestión de micro-redes de energía.* Maskay, 8(2), 60-66. <https://doi.org/10.24133/maskay.v8i2.971>
- Sierra, C. (2011).** *Calidad del agua: Evaluación y diagnóstico.* Medellín Colombia: Ediciones de la U, Universidad de Medellín.
- Smith, V. (1982).** *The nitrogen and phosphorus dependence of algal biomass in lakes: An empirical and theoretical analysis.* Limnology and Oceanography, 27(6), 1101–1111. <https://doi.org/10.4319/lo.1982.27.6.1101>
- Song, X., Liu, B., Kong, F., Ren, N., y Ren, H. (2022).** *Overview on stress-induced strategies for enhanced microalgae lipid production: Application, mechanisms and challenges.* Resources, Conservation and Recycling, 183, 106355. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2022.106355>
- Sreekumar, N., Nandagopal, M., Vasudevan, A., Antony, R., y Selvaraju, N. (2016).** *Marine microalgal culturing in open pond systems for biodiesel production—Critical parameters.* Journal of Renewable and Sustainable Energy, 8(2), 023105. <https://doi.org/10.1063/1.4945574>
- Starr, C., Evers, C. y Starr, L. (2018).** *Biology: concepts & applications.* <http://www.vlebooks.com/vleweb/product/openreader?id=none&isbn=9781337514361>.
- Sukarni, S., Sudjito, Hamidi, N., Yanuhar, U. y Wardana, I. (2014).** *Potential and properties of marine microalgae Nannochloropsis oculata as biomass fuel feedstock.* International Journal of Energy and Environmental Engineering, 5(4), 279–290. <https://doi.org/10.1007/s40095-014-0138-9>

- Tang, X., He, L., Tao, X., Dang, Z., Guo, C., Lu, G., y Yi, X. (2010).** *Construction of an artificial microalgal-bacterial consortium that efficiently degrades crude oil.* Journal of Hazardous Materials, 181(1–3), 1158–1162. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.05.033>
- Tchobanoglous, G., Burton, F., Stensel, H., y Eddy, M. (2003).** *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse.* Boston.: McGraw-Hill Companies.
- Torres, L. (2013).** *ANÁLISIS DE TENDENCIAS EN BIOCOMBUSTIBLES PARA LA DEFINICIÓN DE LINEAS ESTRATÉGICAS DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN COLOMBIA.* Pontifica universidad Javeriana, facultad de estudios ambientales y rurales.
- Umen, J. (2014).** *Las algas verdes y los orígenes de la multicelularidad en el reino vegetal.* Perspectivas de Cold Spring Harbor en biología, 6 (11), a016170. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016170>
- Vega, D., Fernández, M., Ortiz, L. y Corral, J. (2015).** *Caracterización Bioenergética de los Residuos de Cosecha de las Principales Especies Forestales del Noroeste de España.* Información tecnológica, 26(4), 03-12. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642015000400002>
- Yaakob, M., Mohamed, R., Gokare, R. y Ambati, R. (2021).** *Influence of nitrogen and phosphorus on microalgal growth, biomass, lipid, and fatty acid production: an overview.* Cells, 10(2), 393. <https://doi.org/10.3390/cells10020393>
- Yadav, A., Rastegari, A., Yadav, N. y Gaur, R. (2020).** *Biofuel's production – sustainability and advances in microbial bioresources.* Charm.: Springer.
- Zanella, L., y Vianello, F. (2020).** *Microalgae of the genus Nannochloropsis: Chemical composition and functional implications for human nutrition.* Journal of Functional Foods, 68, 103919. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103919>

## XI. Anexos

### A. Datos originales

Cuadro 5. Datos de los tanques de operación con el sistema abierto sin agitación.

Parámetros	Valor
Altura del tanque	$0.284 \pm 0.0001$ m
Ancho del tanque	$0.640 \pm 0.0001$ m
Largo del tanque	$0.470 \pm 0.0001$ m
Velocidad de inyección de aire primario	$4.2 \pm 0.01$ m/s
Masa del reactor (tanque [con el medio] + sistema PVC + 2 rocas como contrapesos)	$41.20 \pm 0.001$ kg
Densidad del cultivo a 25°C	$1000$ kg/m <sup>3</sup>
Potencia de la bomba de aire de la inyección de aire	5-15 HP

\*Los valores interiores que excluyen el grosor son 0.0075 m incluidos para la altura, ancho y largo del tanque de operación.

Cuadro 6. Operación de la inyección de aire medida para cada uno de los tanques.

Corrida	Tanque	Va ( $\pm 0.1$ m/s)	Agujeros funcionales por la duración de la corrida
Variación de salinidad (1)	1	2.0	21
	2	2.2	24
	3	1.9	23
Variación de nutrientes y minerales (2)	1	1.8	17
	2	1.9	19
	3	1.8	15
Variación agua residual (3)	1	2.0	18
	2	2.1	20
	3	1.7	14

Cuadro 7. Datos de las operaciones de centrifugación con el equipo SORVALL RT7.

Parámetro	Valor
Velocidad	3000 ± 100 rpm
Temperatura	21.5 ± 2.0 °C

Cuadro 8. Datos de las operaciones de deshidratación con el equipo Hamilton Beach.

Parámetro	Valor
Temperatura	54.4 ± 1.0 °C

Cuadro 9. Datos de las operaciones de análisis de humedad con el equipo MB120 Analizador de Humedad (Método creado para microalgas).

Parámetro	Valor
Perfil de secado	Estándar
Criterio de apagado	A60 (1mg/60s)
Temperatura	101 ± 1.0 °C

Cuadro 10. Fórmula para preparar 75 L (25 L x 3 tanques) del medio de cultivo f/2 Guillard.

Componente	Solución stock (g/L)	Molaridad solución stock (M)	Volumen X (± 0.1 ml)	Volumen Y (± 0.5 ml)
NaNO <sub>3</sub>	75	0.8825	3.50	262.50
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5	0.0367	0.99	73.90
Solución trazas	ver cuadro 12	ver cuadro 12	1.00	75.00
Solución vitaminas	ver cuadro 13	ver cuadro 13	0.50	37.50

\*La columna X es la cantidad requerida para el volumen final de 1 litro, en cambio la columna Y es la cantidad requerida para un volumen final de 75 litros.

Cuadro 11. Datos de los reactivos dentro del medio f/2 Guillard.

Reactivos	Peso molecular (g/mol)	Concentración ( $\pm 0.0400$ mol/L)
FeCl <sub>3</sub>	162.22	$4.68 \cdot 10^{-7}$
Na <sub>2</sub> EDTA	336.21	$4.68 \cdot 10^{-7}$
CuSO <sub>4</sub>	159.61	$1.57 \cdot 10^{-9}$
ZnSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O	287.54	$3.06 \cdot 10^{-9}$
CoCl <sub>2</sub> * 6 H <sub>2</sub> O	237.93	$1.68 \cdot 10^{-9}$
MnCl <sub>2</sub> * 4 H <sub>2</sub> O	197.91	$3.64 \cdot 10^{-8}$
NaNO <sub>3</sub>	84.99	$3.53 \cdot 10^{-5}$
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	136.09	$1.45 \cdot 10^{-6}$
Tiamina HCl BP	337.30	$1.18 \cdot 10^{-8}$
Biotinax	244.31	$8.20 \cdot 10^{-11}$

\*Todos los reactivos utilizados poseen un 99% de pureza y fueron proporcionados por el departamento de ingeniería Química.

Cuadro 12. Composición de solución trazas de metal del laboratorio de ingeniería Química.

Componente	Solución stock (g/L)	Molaridad solución stock (M)	Solución stock pequeña	Cantidad ( $\pm 0.1$ mL)	Concentración molar en el medio final (M)
FeCl <sub>3</sub>	-	-	-	1.90 g	$4.68 \cdot 10^{-7}$
Na <sub>2</sub> EDTA	-	-	-	3.93 g	$4.67 \cdot 10^{-7}$
CuSO <sub>4</sub>	6.28	0.0393	0.502 g/80 mL	1	$1.57 \cdot 10^{-9}$
ZnSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O	22.00	0.0765	1.76 g/80 mL	1	$3.06 \cdot 10^{-9}$
CoCl <sub>2</sub> * 6 H <sub>2</sub> O	10.00	0.0420	0.8 g/80 mL	1	$1.68 \cdot 10^{-9}$
MnCl <sub>2</sub> * 4 H <sub>2</sub> O	180.00	0.9095	14.4 g/80 mL	1	$3.64 \cdot 10^{-9}$

Cuadro 13. Composición de solución de vitaminas del laboratorio de ingeniería Química.

Componente	Solución stock (g/L)	Molaridad solución stock (M)	Cantidad ( $\pm 0.1$ mL)	Concentración molar en el medio final (M)
Tiamina HCl	-	-	0.20 g	$1.18 \cdot 10^{-8}$
Biotina	1.00	0.0041	1.00	$8.20 \cdot 10^{-11}$

Cuadro 14. Composición de solución de agua residual gris sintética elaborada en el laboratorio de operaciones unitarias.

Reactivos	Formula química	Concentración (g/L)	Cantidad para 3.66 L ( $\pm 0.001$ g)
Cloruro de amonio	$\text{NH}_4\text{Cl}$	0.0750	0.2745
Extracto de levadura	N-A	0.0700	0.2562
Almidón (soluble)	$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_{11}$	0.7500	2.7450
Carbonato de sodio	$\text{Na}_2\text{CO}_3$	0.0550	0.2013
Aceite usado	N-A	0.5000 ml/L	1.8300 mL
Sulfato de potasio	$\text{K}_2\text{SO}_4$	0.0085	0.0311
Fosfato de dihidrógeno de sodio	$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	0.0095	0.0348
Shampoo abierto	N-A	3.2787 ml/L	12.0000 mL

Cuadro 15. Datos de las condiciones dentro del tanque de laguna abierta durante la corrida 1 (condiciones de variación periódica de salinidad).

Fecha	Tanque	Temperatura ( $\pm 0.1^\circ\text{C}$ )	pH ( $\pm 0.05$ )	Salinidad ( $\pm 0.05\%$ )
	1	24.0	7.57	0.86
27/1/2023	2	22.1	7.31	0.82
	3	21.0	7.17	0.75

Fecha	Tanque	Temperatura ( $\pm$ 0.1°C)	pH ( $\pm$ 0.05)	Salinidad ( $\pm$ 0.05%)
1/2/2023	1	24.7	8.32	0.65
	2	22.5	8.78	0.63
	3	22.4	8.04	0.59
7/2/2023	1	22.8	7.92	0.81
	2	21.8	7.35	0.86
	3	20.7	7.65	0.75
10/2/2023	1	24.4	7.15	1.2
	2	23.6	7.10	1.46
	3	22.8	7.40	1.34
13/2/2023	1	26.6	7.87	1.61
	2	28.4	7.77	1.52
	3	26.8	7.50	1.72
14/2/2023	1	23.5	8.05	0.87
	2	24.6	7.50	0.75
	3	23.6	7.50	0.88
16/2/2023	1	25.2	8.68	1.57
	2	24.4	8.11	1.69
	3	24.2	7.84	1.52
22/2/2023	1	17.4	8.42	0.41
	2	18.7	8.00	0.49
	3	17.7	8.54	0.36
27/2/2023	1	22	7.50	0.97
	2	21.5	7.99	0.98
	3	21.1	8.24	0.77

Fecha	Tanque	Temperatura ( $\pm$ 0.1°C)	pH ( $\pm$ 0.05)	Salinidad ( $\pm$ 0.05%)
1/3/2023	1	22.4	7.00	0.73
	2	22.1	7.35	0.72
	3	22.6	7.50	0.65
6/3/2023	1	19.4	8.43	1.08
	2	19.8	8.14	0.93
	3	20.1	7.34	1.15
10/3/2023	1	19.4	8.55	0.85
	2	19.8	8.56	0.77
	3	20.1	8.16	0.61

\* Este cuadro es continuación del que está en la página anterior.

Cuadro 16. Datos de las condiciones dentro del tanque de laguna abierta durante la corrida 2 (condiciones de variación periódica de nutrientes).

Fecha	Tanque	Temperatura ( $\pm$ 0.1°C)	pH ( $\pm$ 0.05)	Salinidad ( $\pm$ 0.05%)
17/03/2023	1	25.10	8.21	1.75
	2	25.60	8.18	1.68
	3	24.20	7.94	1.72
20/03/2023	1	22.00	7.81	1.37
	2	24.10	8.01	1.17
	3	24.50	8.03	1.35
23/3/2023	1	23.90	8.38	0.63
	2	23.70	8.48	0.59
	3	23.20	8.52	0.60

Fecha	Tanque	Temperatura ( $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ )	pH ( $\pm 0.05$ )	Salinidad ( $\pm 0.05\%$ )
29/3/2023	1	23.40	7.91	0.23
	2	24.60	7.65	0.35
	3	23.90	8.19	0.35
1/4/2023	1	20.10	8.36	0.37
	2	22.40	8.17	0.17
	3	20.10	8.11	0.36
11/4/2023	1	22.60	8.79	1.42
	2	23.00	8.77	1.21
	3	22.90	9.00	1.19
13/4/2023	1	20.70	8.37	0.93
	2	21.90	8.32	0.81
	3	21.80	8.31	0.85
17/4/2023	1	24.60	7.55	0.41
	2	23.50	7.56	0.29
	3	23.90	7.56	0.48
21/4/2023	1	25.10	8.85	0.45
	2	22.20	8.97	0.33
	3	24.20	8.95	0.38
26/4/2023	1	25.10	8.05	1.30
	2	24.90	8.26	1.45
	3	21.30	8.10	1.48

Fecha	Tanque	Temperatura ( $\pm$ 0.1°C)	pH ( $\pm$ 0.05)	Salinidad ( $\pm$ 0.05%)
	1	25.40	7.76	1.03
3/5/2023	2	24.40	7.84	1.15
	3	23.10	7.77	1.23

\* Este cuadro es continuación del que está en la página anterior.

Cuadro 17. Datos de las condiciones dentro del tanque de laguna abierta durante la corrida 3 (condiciones de agua residual).

Fecha	Tanque	Temperatura ( $\pm$ 0.1°C)	pH ( $\pm$ 0.05)	Salinidad ( $\pm$ 0.05%)
	1	24.6	7.95	1.5
17/5/2023	2	24.5	7.88	1.46
	3	24.8	7.92	1.41
	1	22.6	7.95	1.15
19/5/2023	2	22.2	8.24	1.43
	3	22.3	8.66	1.12
	1	22	8.46	0.84
26/5/2023	2	24.6	8.41	0.81
	3	24	8.58	0.87
	1	24.9	8.13	0.4
6/6/2023	2	25.1	8.42	0.23
	3	20.1	7.84	0.22
	1	21.4	7.87	0.77
12/6/2023	2	24.2	8.06	0.67
	3	25.1	8.29	0.89

Fecha	Tanque	Temperatura ( $\pm$ 0.1°C)	pH ( $\pm$ 0.05)	Salinidad ( $\pm$ 0.05%)
16/6/2023	1	22.3	9.36	0.33
	2	20.9	9.27	0.28
	3	23.8	9.28	0.26
19/6/2023	1	23.2	8.6	0.71
	2	23.9	8.47	0.63
	3	23.7	8.54	0.62
22/6/2023	1	25.1	8.32	0.47
	2	25.3	8.86	0.27
	3	25.4	8.59	0.39
23/6/2023	1	25.7	8.98	0.73
	2	25.3	8.87	0.71
	3	25.3	8.87	0.74
26/6/2023	1	25	9.97	0.71
	2	25.3	10.02	0.71
	3	25.1	9.68	0.73
30/6/2023	1	21.1	8.88	0.39
	2	21.9	9.01	0.33
	3	21.6	9.43	0.32
4/7/2023	1	23.7	8.76	0.38
	2	22.1	8.87	0.37
	3	22.2	8.85	0.38

\* Este cuadro es continuación del que está en la página anterior.

Cuadro 18. Datos de células y células viables dentro de las muestras 1ml de las 3 corridas experimentales por medio del MUSE.

Corrida	Fecha	Muestra (#Tanque)	células (cells/ml)	células viables (cells/ml)
1	27/1/2023	1	$3.85 \cdot 10^4$	$3.84 \cdot 10^4$
		2	$4.94 \cdot 10^4$	$4.94 \cdot 10^4$
		3	$7.05 \cdot 10^4$	$7.05 \cdot 10^4$
	14/2/2023	1	$1.69 \cdot 10^5$	$1.68 \cdot 10^5$
		2	$1.03 \cdot 10^5$	$1.02 \cdot 10^5$
		3	$1.79 \cdot 10^5$	$1.79 \cdot 10^5$
	6/3/2023	1	$8.34 \cdot 10^5$	$8.34 \cdot 10^5$
		2	$9.20 \cdot 10^5$	$9.15 \cdot 10^5$
		3	$1.96 \cdot 10^5$	$1.93 \cdot 10^5$
2	17/3/2023	1	$8.04 \cdot 10^4$	$8.04 \cdot 10^4$
		2	$5.48 \cdot 10^4$	$5.48 \cdot 10^4$
		3	$6.33 \cdot 10^4$	$6.33 \cdot 10^4$
	13/4/2023	1	$1.73 \cdot 10^5$	$1.72 \cdot 10^5$
		2	$1.27 \cdot 10^5$	$1.26 \cdot 10^5$
		3	$1.61 \cdot 10^5$	$1.61 \cdot 10^5$
	2/5/2023	1	$7.88 \cdot 10^5$	$7.73 \cdot 10^5$
		2	$5.95 \cdot 10^5$	$5.90 \cdot 10^5$
		3	$8.82 \cdot 10^5$	$8.82 \cdot 10^5$

Corrida	Fecha	Muestra (#Tanque)	células (cells/ml)	células viables (cells/ml)
		1	8.38*10 <sup>4</sup>	8.38*10 <sup>4</sup>
	17/5/2023	2	7.79*10 <sup>4</sup>	7.79*10 <sup>4</sup>
		3	7.45*10 <sup>4</sup>	7.45*10 <sup>4</sup>
		1	1.61*10 <sup>5</sup>	1.61*10 <sup>5</sup>
3	15/6/2023	2	1.39*10 <sup>5</sup>	1.39*10 <sup>5</sup>
		3	1.72*10 <sup>5</sup>	1.72*10 <sup>5</sup>
		1	4.71*10 <sup>5</sup>	4.65*10 <sup>5</sup>
	1/7/2023	2	2.60*10 <sup>5</sup>	2.58*10 <sup>5</sup>
		3	3.88*10 <sup>5</sup>	3.80*10 <sup>5</sup>

\* Este cuadro es continuación del que está en la página anterior.

Cuadro 19. Datos de las operaciones de la deshidratación de la corrida 1 (variación de salinidad) por 9 horas de operación.

Hora	Tiempo (min)	Humedad ( $\pm 0.6\%$ )	Masa ( $\pm 0.001\text{g}$ )	Duración de secado (min)
0	0	88.77	2.462	88.28
1	59	77.19	2.320	89.00
2	121	72.19	2.526	73.25
3	181	55.39	2.087	44.07
4	239	46.17	2.820	53.04
5	299	27.66	2.440	25.18
6	364	19.22	1.201	29.41
7	417	9.55	1.088	12.13
8	479	9.6	1.202	11.12

Hora	Tiempo (min)	Humedad ( $\pm 0.6\%$ )	Masa ( $\pm 0.001\text{g}$ )	Duración de secado (min)
9	529	5.24	0.899	6.20
9.5	559	7.3	-	-

\* Este cuadro es continuación del que está en la página anterior.

Cuadro 20. Datos de las operaciones de la deshidratación de la corrida 2 (variación de nutrientes y minerales) por 9 horas de operación.

Hora	Tiempo (min)	Humedad ( $\pm 0.6\%$ )	Masa ( $\pm 0.001\text{g}$ )	Duración de secado (min)
0	0	85.23	1.201	75.42
1	62	75.39	1.157	72.05
2	120	73.12	1.206	50.37
3	173	68.28	1.201	43.52
4	240	54.57	1.213	25.26
5	299	39.74	1.227	23.16
6	359	21.04	1.136	16.3
7	417	10.14	1.029	7.44
8	475	8.53	0.947	7.18
9	536	4.74	1.103	8.52
9.3	554	5.73	-	-

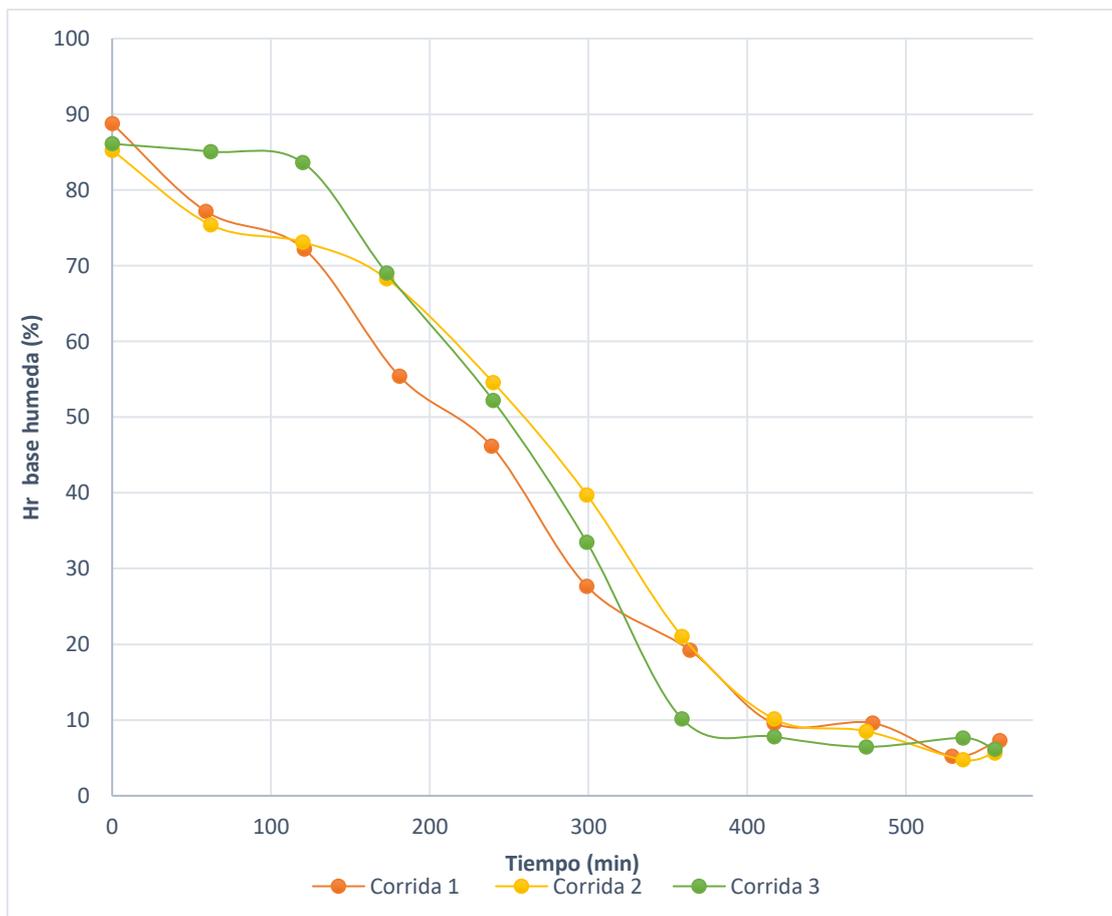
Cuadro 21. Datos de las operaciones de la deshidratación de la corrida 3 (variación de agua residual) por 9 horas de operación.

Hora	Tiempo (min)	Humedad ( $\pm 0.6\%$ )	Masa ( $\pm 0.001\text{g}$ )	Duración de secado (min)
0	0	86.1	1.281	77.3
1	62	85.07	1.285	70.12
2	120	83.62	1.122	50.08

Hora	Tiempo (min)	Humedad ( $\pm 0.6\%$ )	Masa ( $\pm 0.001\text{g}$ )	Duración de secado (min)
3	173	69.02	1.072	27.4
4	240	52.19	1.142	35.1
5	299	33.47	1.044	18.5
6	359	10.14	1.183	14.1
7	417	7.8	1.18	7.35
8	475	6.45	1.252	8.34
9	536	7.64	1.113	7.22
9.5	566	6.15	-	-

\* Este cuadro es continuación del que está en la página anterior.

Figura 13. Curvas de humedad de las 3 corridas de variación del proceso de obtención de biomasa por medio del deshidratador Hamilton Beach a 54.44 °C.



\*Este grafico se realizó con la información proporcionada por los cuadros 19,20 y 21.

Cuadro 22. Datos de las operaciones en la centrifugación de las distintas muestras recolectadas de los reactores abiertos sin agitación de operación de crecimiento.

Corrida	Tanque	Temperatura ( $\pm 2.0$ °C)	Masa entrada ( $\pm 0.5$ g)
0	NA	21	1487.9
	1	20	2442.4
1	2	21	2268.2
	3	20	2872.7
	1	20	5106.1
2	2	20	5104.4
	3	20	3584.5
	1	22	3887.8
3	2	20	3788.7
	3	20	3074.1

\*Establecidas a una velocidad de 3000 rev/min para 2 corridas de 15 y 10 minutos.

Cuadro 23. Datos de recuperación de biomasa de *N. oculata* por centrifugación a 3000 rev/min de la corrida 1 (condiciones de variación periódica de salinidad).

Muestra	Recolección 1 ( $\pm 0.5$ g)				Recolección 2 ( $\pm 0.5$ g)			
	Envase 1	Envase 2	Envase 3	Envase 4	Envase 1.2	Envase 2.2	Envase 2.3	Envase 2.4
Tanque 1	0.8	2.2	3.3	4.2	30.9	21.5	21.8	15.6
Tanque 2	6.5	9.5	21.6	4.9	40.1	23.4	-	-

Muestra	Envase 1	Envase 2	Envase 3	Envase 4	Envase 1.2	Envase 2.2	Envase 2.3	Envase 2.4
Tanque 3	30.1	48.3	52.9	21.9	-	-	-	-

\*La masa inicial equivale al volumen recuperado de cultivo de *N. oculata* almacenado dentro del envase de galón. Este cuadro es continuación del que está en la página anterior.

Cuadro 24. Datos de recuperación de biomasa de *N. oculata* por centrifugación a 3000 rev/min de la corrida 2 (condiciones de variación periódica de nutrientes).

Muestra	Recolección 1 ( $\pm 0.5$ g)				Recolección 2 ( $\pm 0.5$ g)			
	Envase 1	Envase 2	Envase 3	Envase 4	Envase 1.2	Envase 2.2	Envase 2.3	Envase 2.4
Tanque 1	13.5	11.3	12.8	16.3	23.7	30	-	-
Tanque 2	2.2	12.8	7	18.9	23.5	57.9	-	-
Tanque 3	8.2	16.8	32.1	31.5	-	-	-	-

\*La masa inicial equivale al volumen recuperado de cultivo de *N. oculata* almacenado dentro del envase de galón.

Cuadro 25. Datos de recuperación de biomasa de *N. oculata* por centrifugación a 3000 rev/min de la corrida 3 (condiciones de agua residual).

Muestra	Recolección 1 ( $\pm 0.5$ g)				Recolección 2 ( $\pm 0.5$ g)			
	Envase 1 (g)	Envase 2 (g)	Envase 3 (g)	Envase 4 (g)	Envase 1.2 (g)	Envase 2.2 (g)	Envase 2.3 (g)	Envase 2.4 (g)
Tanque 1	14.8	10.4	15.1	20.6	12.7	8.4	14.2	14.9
Tanque 2	17.1	23.8	23.7	12.1	11.9	13.3	-	-
Tanque 3	12.7	18.8	8.7	10.2	13.6	6.2	-	-

\*La masa inicial equivale al volumen recuperado de cultivo de *N. oculata* almacenado dentro del envase de galón.

Cuadro 26. Datos de los tanques de operación del sistema abierto sin agitación.

Muestra	Masa colocada ( $\pm 0.001$ g)				
	N1	N2	N3	N4	NH
C0	0.924	-	-	-	0.585
C1 T1	3.847	4.042	1.227	-	6.348
C1 T2	2.705	3.784	1.994	-	6.350
C1 T3	1.224	5.273	1.705	-	6.347
C2 T1	7.263	4.994	-	-	3.807
C2 T2	8.617	4.151	-	-	3.812
C2 T3	3.761	5.601	1.301	-	3.801
C3 T1	3.990	3.594	1.555	3.056	3.811
C3 T2	5.187	2.033	2.923	1.556	3.812
C3 T3	3.768	2.789	2.065	1.555	3.803

\*Las masas colocadas en las diferentes bandejas de la deshidratadora se establecieron por medio de la metodología.

Cuadro 27. Datos de los tanques de operación del sistema abierto sin agitación.

Muestra	T ( $^{\circ}$ C)	M. Ácido B. ( $\pm 0.0001$ g)	M. muestra ( $\pm 0.0001$ g)	Masa total ( $\pm$ 0.0001 g)	PCS total (J/g)
corrida 0	23.7771	0.0493	0.0445	0.0938	20043
Corrida 1 T1	23.9804	0.0457	0.0518	0.0975	19306

Muestra	T (°C)	M. Ácido B. (± 0.0001 g)	M. muestra (± 0.0001 g)	Masa total (± 0.0001 g)	PCS total (J/g)
Corrida 1 T3	23.4475	0.0447	0.0504	0.0951	19112
Corrida 1 T2	23.7577	0.0438	0.0540	0.0978	19049
Corrida 2 T1	23.4383	0.0464	0.0496	0.096	19958
Corrida 2 T2	23.5017	0.0450	0.0517	0.0967	19885
Corrida 2 T3	23.1411	0.0484	0.0464	0.0948	19749
Corrida 3 T1	24.6214	0.0452	0.0481	0.0933	20072
Corrida 3 T2	23.7057	0.0413	0.0584	0.0997	19415
Corrida 3 T3	23.5444	0.0438	0.0498	0.0936	19807

\*Este cuadro es continuación del que está en la página anterior.

Cuadro 28. Caracterización analítica de la biomasa seca al combustionar para el poder calorífico superior de muestras de biomasa de microalgas *Nannochloropsis oculata* en distintas corridas.

Muestra	Masa muestra (± 0.0001 g)	Masa ceniza (± 0.0001 g)	T. salida emisión (±1 °C)	CO (± 20 ppm)	O <sub>2</sub> (± 0.2 %)
Corrida 1 T1	1.0471	0.4150	62.2	246	19.7%
Corrida 1 T3	1.0232	0.4231	55.2	221	20.6%
Corrida 1 T2	1.0135	0.3966	61.9	249	19.3%
Corrida 2 T1	1.0213	0.4247	78.1	301	20.2%

Muestra	Masa muestra ( $\pm 0.0001$ g)	Masa ceniza ( $\pm 0.0001$ g)	T. salida emisión ( $\pm 1$ $^{\circ}\text{C}$ )	CO ( $\pm 20$ ppm)	O <sub>2</sub> ( $\pm 0.2$ %)
Corrida 2 T2	1.0193	0.4166	67.1	283	19.8%
Corrida 2 T3	1.0764	0.3771	65.6	252	19.0%
Corrida 3 T1	1.0602	0.4016	51.3	410	20.8%
Corrida 3 T2	1.0074	0.3508	78.2	475	18.7%
Corrida 3 T3	1.0056	0.3239	66.6	421	19.1%

\*Este cuadro es continuación del que está en la página anterior.

Cuadro 29. Parámetros de operación de los tanques de operación del sistema abierto sin agitación y la experimentación del estudio (usos de balance y otros cálculos).

Parámetros	Simbología	Valor
Diámetro de agujeros aproximado	Dagujero	0.00635 m
Diámetro de salida de la inyección de aire	Dinyeccion	0.0187 m
Numero de agujeros funcionales	NAF	30
Velocidad de salida de agujero	Vta	Ver cuadro 3
Densidad del agua (25 $^{\circ}\text{C}$ )	$\rho_{\text{H}_2\text{O}}$	997 kg/m <sup>3</sup>
Poder calorífico del ácido benzoico	PCS	26454 kJ/kg
Volumen de la bomba calorimétrica	Volbc	0.29 L
Bares residuales por el tanque	Bar	10 bar
Bares de operación	Bar	14 bar
Densidad del aire (0 $^{\circ}\text{C}$ )	$\rho_{\text{O}_2}$	1.429 kg/m <sup>3</sup>
Porcentaje de CO <sub>2</sub> en aire inyectado	CO <sub>2</sub> %	0.05%
Tasa de evaporación del agua a 25 $^{\circ}\text{C}$	TE <sub>agua</sub>	2.5 mm/día

## B. Datos calculados

Cuadro 30. Costos de la construcción de los tanques de operación del sistema abierto sin agitación (total para 1 tanque).

Material	Información	Cantidad	Precio (Q)	Costo Total
Tubo PVC 1/2 pulgadas	Presión que soporta 300 psi (cantidad en metros)	1.5	3.83	5.75
Cajas de plástico GUATE/PLAX	Color azul, capacidad 51 litros (máx.)	1	110.00	110.00
Pegamento Tangit	Para PVC	1	27.00	27.00
Manguera de vinilo 1 pulgada	cantidad en metros	0.75	15.00	12.23
Rollo de teflón	-	1	2.40	2.40
Llave de globo 1/2 pulgada	Hecha de latón	1	75.00	75.00
Codo PVC 1/2 pulgada	De 90°	5	1.75	8.75
Adaptador PVC macho 1/2 pulgada	-	1	0.75	0.75
Adaptador manguera macho 1/2 pulgada	-	1	15.00	15.00
Tapon liso PVC 1/2 pulgada	-	1	1.00	1.00
Abrazadera Galvanizada	De máximo ancho 1/2	2	1.50	3.00
TOTAL				260.87

\*Este cuadro es continuación del que está en la página anterior.

Cuadro 31. Datos de valores utilizados en la elaboración de dos galones de agua residual gris sintética para usar en la tercera corrida.

Reactivos	Primer galón de envase ( $\pm$ 0.0001 g)	Segundo galón de envase ( $\pm$ 0.0001 g)
Cloruro de amonio	0.2804	0.2690
Extracto de levadura	0.2814	0.2810

Reactivos	Primer galón de envase ( $\pm$ 0.0001 g)	Segundo galón de envase ( $\pm$ 0.0001 g)
Almidón (soluble)	2.7604	2.7891
Carbonato de sodio	0.2086	0.2140
Aceite usado	1.8500 ml	2.1000 ml
Sulfato de potasio	0.0390	0.0402
Fosfato de dihidrógeno de sodio	0.0371	0.0387
Shampoo abierto	12.1000 ml	12.2700 ml

\*Este cuadro es continuación del que está en la página anterior.

Cuadro 32. Datos de las operaciones para la estimación de la velocidad de la salida total por los agujeros del sistema aireación.

Corrida	Tanque	At ( $\pm$ 0.0000032 m <sup>2</sup> )	Q ( $\pm$ 0.000016 m <sup>3</sup> /s)	Vta ( $\pm$ 0.0240 m/s)
	1	$6.65 \cdot 10^{-4}$	$2.53 \cdot 10^{-4}$	0.3810
1	2	$7.60 \cdot 10^{-4}$	$2.79 \cdot 10^{-4}$	0.3667
	3	$7.28 \cdot 10^{-4}$	$2.41 \cdot 10^{-4}$	0.3304
	1	$5.38 \cdot 10^{-4}$	$2.28 \cdot 10^{-4}$	0.4235
2	2	$6.02 \cdot 10^{-4}$	$2.41 \cdot 10^{-4}$	0.4000
	3	$4.75 \cdot 10^{-4}$	$2.28 \cdot 10^{-4}$	0.4800
	1	$5.70 \cdot 10^{-4}$	$2.53 \cdot 10^{-4}$	0.4444
3	2	$6.33 \cdot 10^{-4}$	$2.66 \cdot 10^{-4}$	0.4200
	3	$4.43 \cdot 10^{-4}$	$2.15 \cdot 10^{-4}$	0.4857

Cuadro 33. Datos calculados para las células totales (y viables) en el volumen de los tanques de operación para cada corrida.

Corrida	Fecha	Muestra (T#)	Células aproximadas en el vol. final (cells)	Células viables aproximadas en el vol. final (cells)
		1	$9.43 \cdot 10^8$	$9.41 \cdot 10^8$
	27/1/2023	2	$1.21 \cdot 10^9$	$1.21 \cdot 10^9$
		3	$1.73 \cdot 10^9$	$1.73 \cdot 10^9$
		1	$4.14 \cdot 10^9$	$4.12 \cdot 10^9$
1	14/2/2023	2	$2.52 \cdot 10^9$	$2.50 \cdot 10^9$
		3	$4.39 \cdot 10^9$	$4.39 \cdot 10^9$
		1	$2.04 \cdot 10^{10}$	$2.04 \cdot 10^{10}$
	6/3/2023	2	$2.25 \cdot 10^{10}$	$2.24 \cdot 10^{10}$
		3	$4.80 \cdot 10^9$	$4.73 \cdot 10^9$
		1	$1.97 \cdot 10^9$	$1.97 \cdot 10^9$
	17/3/2023	2	$1.34 \cdot 10^9$	$1.34 \cdot 10^9$
		3	$1.55 \cdot 10^9$	$1.55 \cdot 10^9$
		1	$4.24 \cdot 10^9$	$4.21 \cdot 10^9$
2	13/4/2023	2	$3.11 \cdot 10^9$	$3.09 \cdot 10^9$
		3	$3.94 \cdot 10^9$	$3.94 \cdot 10^9$
		1	$1.93 \cdot 10^{10}$	$1.89 \cdot 10^{10}$
	2/5/2023	2	$1.46 \cdot 10^{10}$	$1.45 \cdot 10^{10}$
		3	$2.16 \cdot 10^{10}$	$2.16 \cdot 10^{10}$

Corrida	Fecha	Muestra (T#)	Células aproximadas en el vol. final (cells)	Células viables aproximadas en el vol. final (cells)
		1	$2.05 \cdot 10^9$	$2.05 \cdot 10^9$
	17/5/2023	2	$1.91 \cdot 10^9$	$1.91 \cdot 10^9$
		3	$1.83 \cdot 10^9$	$1.83 \cdot 10^9$
		1	$3.94 \cdot 10^9$	$3.94 \cdot 10^9$
3	15/6/2023	2	$3.41 \cdot 10^9$	$3.41 \cdot 10^9$
		3	$4.21 \cdot 10^9$	$4.21 \cdot 10^9$
		1	$1.15 \cdot 10^{10}$	$1.14 \cdot 10^{10}$
	1/7/2023	2	$6.37 \cdot 10^9$	$6.32 \cdot 10^9$
		3	$9.51 \cdot 10^9$	$9.31 \cdot 10^9$

\*Las células totales provienen del uso de un volumen aproximado de 24.5 L, por lo que utiliza como un aproximado de las células dentro de los tanques. Este cuadro es continuación del que está en la página anterior

Cuadro 34. Datos calculados de recuperación de biomasa de *N. oculata* por centrifugación a 3000 rev/min de las 3 corridas.

Corrida	Tanque	Masa biomasa final ( $\pm 0.5$ g)
0	NA	10.1
	1	100.3
1	2	106
	3	153.2
	1	107.6
2	2	122.3
	3	88.6

Corrida	Tanque	Masa biomasa final ( $\pm 0.5$ g)
	1	111.1
3	2	101.9
	3	70.2

\*Este cuadro es continuación del que está en la página anterior.

Cuadro 35. Datos calculados de recuperación de biomasa de *N. oculata* por deshidratación de las tres corridas.

Corrida	Tanque	Masa biomasa seca final ( $\pm 0.001$ g)
0	NA	0.924
	1	9.116
1	2	8.483
	3	8.202
	1	12.257
2	2	12.768
	3	10.663
	1	12.197
3	2	11.700
	3	10.177

Cuadro 36. Valores calculados para el poder calorífico superior, energía total, energía útil y eficiencia de muestras de biomasa de *N. oculata* en distintas corridas.

Muestra	PCS muestra (J/g)	Energía Total (kJ)	Energía Útil (kJ)	Eficiencia
Corrida 1 T1	<b>12999.75</b>	118.5057	71.5380	0.6037
Corrida 1 T3	<b>12600.35</b>	106.8887	62.6895	0.5865
Corrida 1 T2	<b>13042.72</b>	106.9764	65.1147	0.6087

Muestra	PCS muestra (J/g)	Energía Total (kJ)	Energía Útil (kJ)	Eficiencia
Corrida 2 T1	<b>13881.10</b>	170.1378	99.3873	0.5842
Corrida 2 T2	<b>14167.30</b>	180.8881	106.9570	0.5913
Corrida 2 T3	<b>12754.99</b>	136.0001	88.3546	0.6497
Corrida 3 T1	<b>14074.78</b>	171.6701	106.6420512	0.6212
Corrida 3 T2	<b>14437.08</b>	168.9095	110.0912828	0.6518
Corrida 3 T3	<b>13960.84</b>	142.0823	96.31811916	0.6779

\* Este cuadro es continuación del que está en la página anterior.

Cuadro 37. Caracterización analítica promedia de la biomasa seca al combustionar para él PCS de muestras de biomasa de *N. oculata* en distintas corridas.

Muestra	Humedad ( $\pm$ 0.6%)	Ceniza ( $\pm$ 0.01%)	Tiempo ignición ( $\pm$ 0.01 seg)	CO <sub>2</sub> ( $\pm$ 0.2 %)
Corrida 1 T1	5.52	39.63	5.96	1.11
Corrida 1 T3	6.07	41.35	8.93	0.85
Corrida 1 T2	5.99	39.13	4.62	0.00
Corrida 2 T1	3.96	41.58	4.95	0.52
Corrida 2 T2	5.66	40.87	5.14	1.04
Corrida 2 T3	5.72	35.03	6.61	1.62
Corrida 3 T1	6.15	37.88	4.41	0.00
Corrida 3 T2	6.53	34.82	3.15	0.00
Corrida 3 T3	6.45	32.21	4.82	0.00

Cuadro 38. Estadística para el poder calorífico superior obtenido en las tres corridas trabajadas.

Grupos	Promedio	Varianza	Desv. Estándar	Coef. De variación
Corrida 1	12880.94012	59511.706	243.9502122	1.89%
Corrida 2	13601.12996	557441.2	746.6198498	5.49%
Corrida 3	14157.56599	61840.0748	248.676647	1.76%

Cuadro 39. Análisis de la Varianza para el poder calorífico superior obtenido en las tres corridas trabajadas.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Proba.	Valor crítico para F
Entre grupos	2458068.09	2	1229034.04	5.4318507	0.04503965	5.14325285
Dentro de los grupos	1357585.96	6	226264.327			
Total	3815654.05	8				

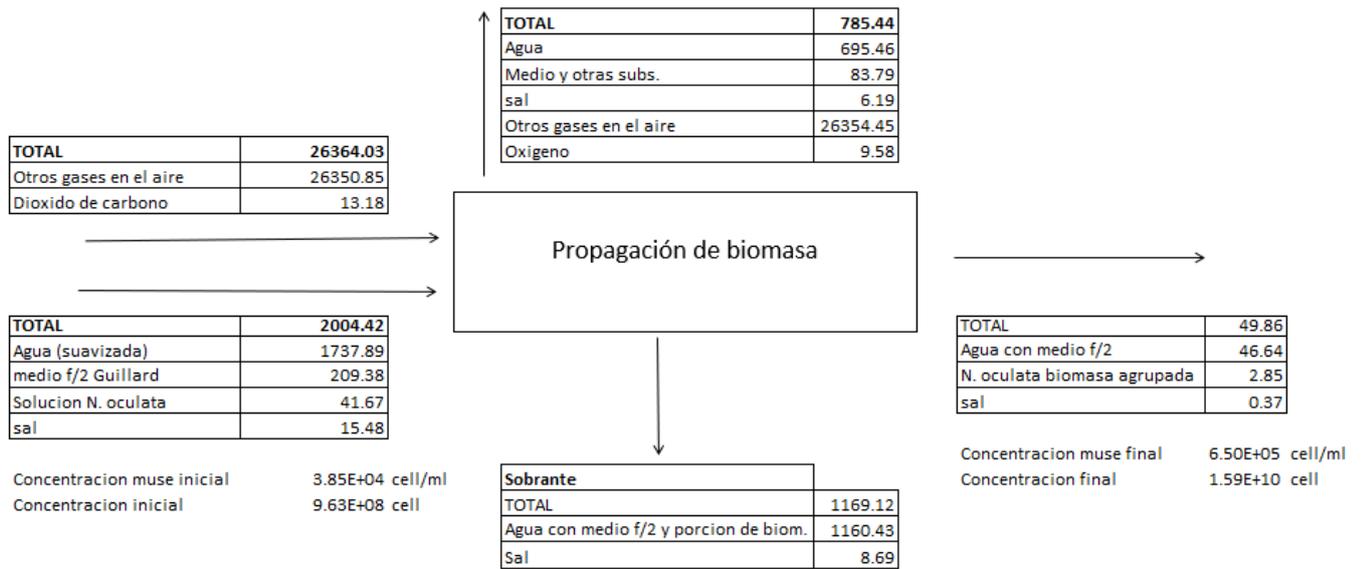
Cuadro 40. Estadística para el potencial energético (energía total) obtenido en las tres corridas trabajadas.

Grupos	Promedio	Varianza	Desv. Estandar	Coef. De variación
Corrida 1	110.7902946	44.6480811	6.681921963	6.03%
Corrida 2	162.3420104	549.314496	23.43745924	14.44%
Corrida 3	160.8872758	267.125688	16.34398016	10.16%

Cuadro 41. Análisis de la Varianza para el potencial energético (energía total) obtenido en las tres corridas trabajadas.

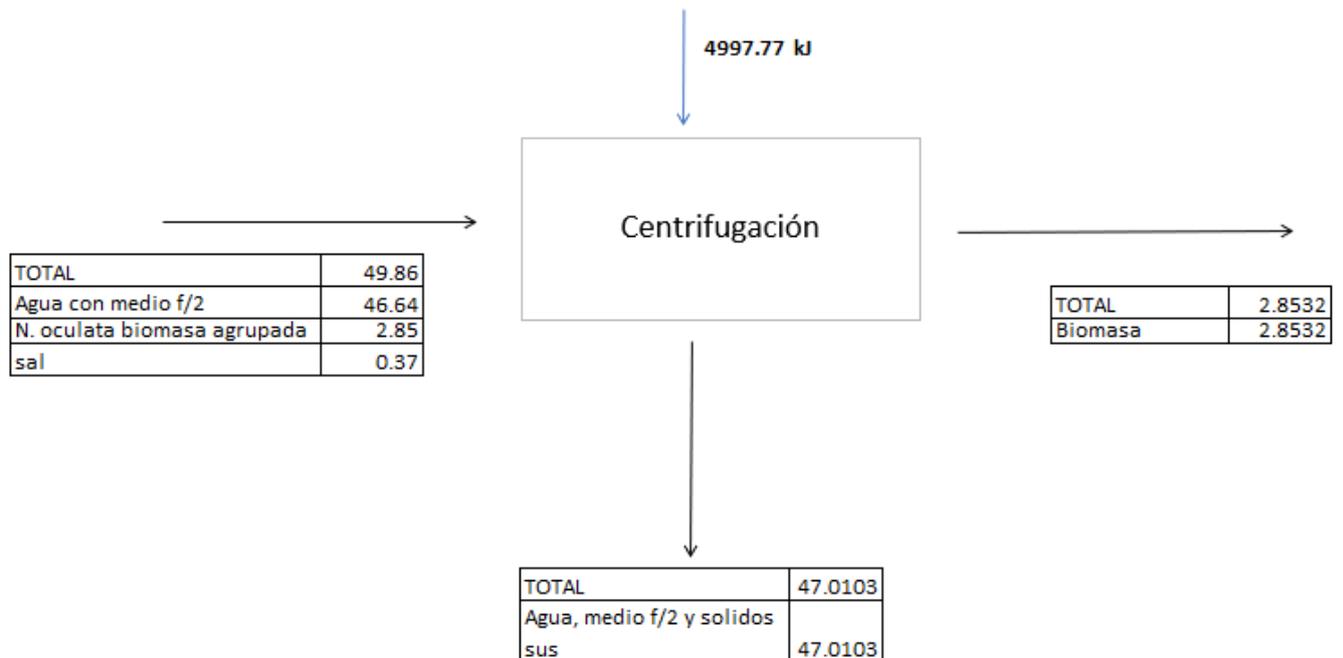
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	5169.40318	2	2584.70159	9.00500575	0.01560546	5.14325285
Dentro de los grupos	1722.17653	6	287.029421			
Total	6891.57971	8				

Figura 14. Balance de masa para el proceso de propagación realizado en la experimentación.



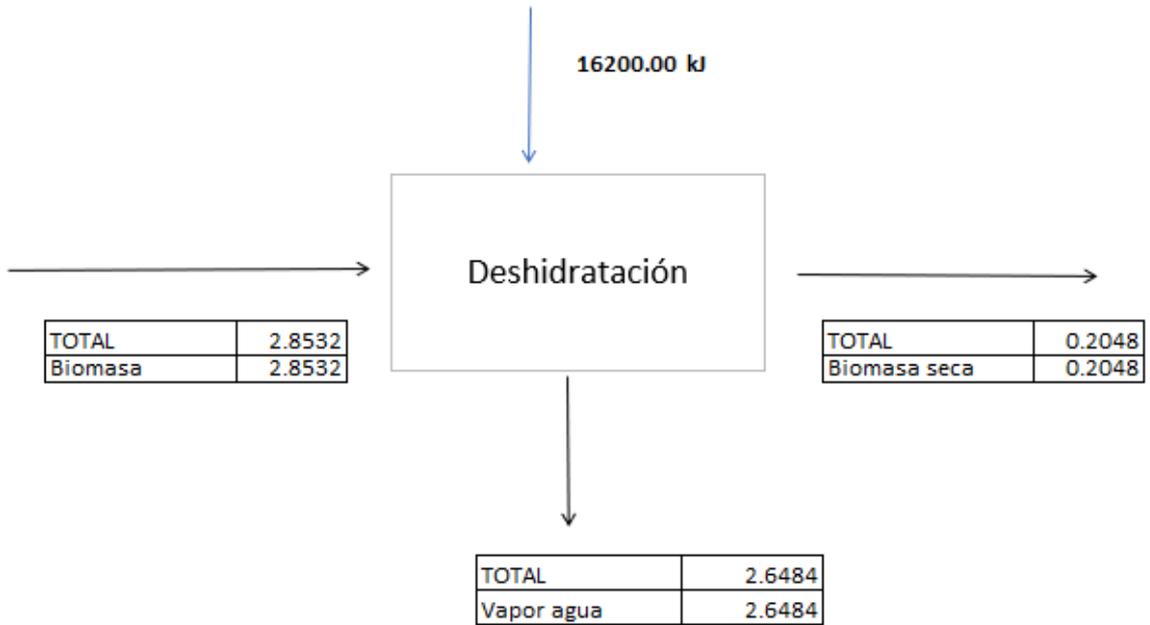
\*Los flujos están (gr/día). Este balance es una demostración para la corrida 1, pero es aplicable para las 3 corridas realizadas en esta experimentación.

Figura 15. Balance de masa y energía para el proceso de centrifugación realizado en la experimentación.



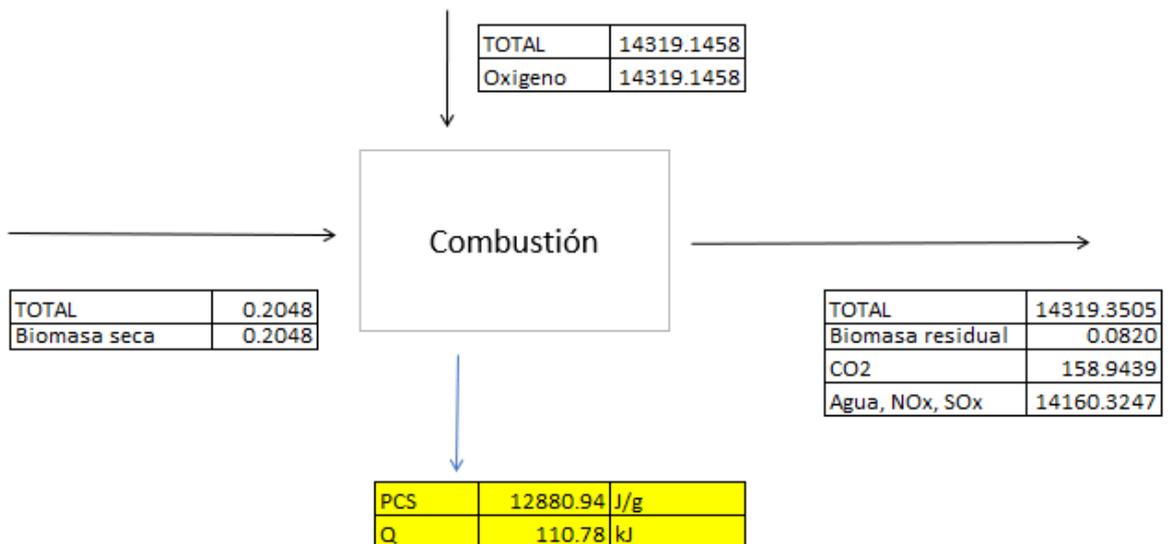
\*Los flujos están (gramos/día). Este balance es una demostración para la corrida 1, pero es aplicable para las 3 corridas realizadas en esta experimentación.

Figura 16. Balance de masa y energía para el proceso de deshidratación realizado en la experimentación.



\*Los flujos están (gramo/día). Este balance es una demostración para la corrida 1, pero es aplicable para las 3 corridas realizadas en esta experimentación.

Figura 17. Balance de masa y energía para el proceso de propagación realizado en la experimentación.



\*Los flujos están (gramo/día). Este balance es una demostración para la corrida 1, pero es aplicable para las 3 corridas realizadas en esta experimentación.

### C. Cálculos de muestra

Ecuación 2. Precio para los elementos usados para la elaboración de un tanque de agitación abierto.

$$\text{Precio total} = \sum \text{Cantidad} * \text{Costo}$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en el Cuadro 29. El costo del sistema se basó con la visión de construir un tanque costo eficiente para las personas a base de los fundamentos del marco teórico y metodología, se obtiene para un tanque:

$$\text{Precio total} = \sum \text{Cantidad} * \text{Costo} = \text{Q}260.87$$

Ecuación 3. Área de salida del aire a través de los agujeros de la manguera para el sistema de aireación de los cultivos en un tanque abierto sin agitación.

$$A_t = \frac{\pi}{4} (D_{\text{agujero}})^2 * \text{NAT}$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en los cuadros 4 y 5. Con el fin determinar la velocidad real por agujero sea posible para los tanques de operación. Para el caso de del sistema de aireación utilizado en la corrida 1 para el tanque 1 se obtiene:

$$A_t = \frac{\pi}{4} (0.00635 \text{ m})^2 * 21 = 6.65 * 10^{-4} \text{ m}^2$$

Ecuación 4. Flujo volumétrico de aire previo a las salidas por agujero del sistema de aireación de los cultivos en un tanque abierto sin agitación.

$$Q = \frac{\pi}{4} (D_{\text{inyección}})^2 * \text{número de salidas} * V$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en los cuadros 4 y 5. Con el fin determinar la velocidad real por agujero sea posible para los tanques de operación. Para el caso de del sistema de aireación utilizado en la corrida 1 para el tanque 1 se obtiene:

$$Q = \frac{\pi}{4} (0.0127 \text{ m})^2 * 1 * 2.0 \frac{\text{m}}{\text{s}} = 2.53 * 10^{-4} \frac{\text{m}^3}{\text{s}}$$

Ecuación 5. Velocidad del aire para el sistema de aireación de los cultivos en un tanque abierto sin agitación.

$$V_{\text{at}} = \frac{Q}{A_t}$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en los cuadros 4 y 5. Para el manejo de los tanques de operación. Para el caso de del sistema de aireación utilizado en la corrida 1 para el tanque 1 se obtiene:

$$V_{at} = \frac{2.53 * 10^{-4} \frac{m^3}{s}}{6.65 * 10^{-4} m^2} = 0.3810 m/s$$

Ecuación 6. Relación nitrógeno: fósforo dentro del medio de cultivo f/2 Guillard al ser alimentado al sistema.

$$N: P_{disponible} = \frac{\text{moles iniciales de N}}{\text{moles iniciales de P}}$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en el cuadro 10. Con el fin de saber el balance de nutrientes en el medio utilizado, para 1 garrafón preparado se obtiene:

$$N: P_{disponible} = \frac{3.53 * 10^{-5} \text{ moles iniciales de N}}{1.45 * 6 \text{ moles iniciales de P}} = 24.36 \frac{\text{moles de N disponibles}}{\text{mol P}}$$

Ecuación 7. Cantidad de células totales (y viables) dentro del volumen del tanque laguna abierta sin agitación.

$$Células Totales = Conc. células * Factor de dilucion * Vol. tanque$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en el Cuadro 17. Nota que la aplicación a células viables es similar, solo se utiliza la concentración de células viables. Para el caso de la corrida, tanque 1 y en su medición final (6/3/2023) se obtiene:

$$Células Totales = 8.34 * 10^5 \frac{cells}{ml} * 1 * 24500 ml = 2.04 * 10^{10} cells$$

Ecuación 8. Masa final obtenida de las muestras de centrifugación.

$$Masa_{fc} = \sum Masa_{envases}$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en los cuadros 22, 23 y 24. Nota que es la masa completa recuperada luego de la centrifugación en cada envase, la segunda recuperación es de muestras de biomasa aun presentes. Para el caso de la corrida 1 y el tanque 1 se obtiene:

$$Masa_{fc} = (0.8 + 2.2 + 3.3 + 4.2 + 30.9 + 21.5 + 21.8 + 15.6) g = 100.3 g$$

Ecuación 9. Masa final obtenida de las muestras de secado (deshidratación).

$$Masa_{fc} = N1 + N2 + N3 + N4 + NH$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en el Cuadro 25. Nota que masa en el cuadro se explica el valor de N1-4 y NH, por lo que va incluida en la masa final de la biomasa. Para el caso de la corrida 1 y el tanque 1 se obtiene:

$$Masa_{fc} = 3.847g + 4.042g + 1.227g + 0g = 9.116g$$

Ecuación 10. Determinación del poder calorífico superior (PCS) experimental de las muestras de biomasa seca de distintas corridas.

$$PCS_x = \frac{PCS_{combinado} * m_{combinada} + PCS_{a.beinzoico} * m_{a.beinzoico}}{m_x}$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en los cuadros 26 y 28. A base de los valores siguientes se determinó el poder calorífico individual para cada muestra. Para el caso de la corrida 1 y tanque 1 se obtiene:

$$PCS_x = \frac{19306 \frac{J}{g} * 0.0975g + 26454 \frac{J}{g} * 0.0457g}{0.0518g} = 12995.75 \frac{J}{g}$$

Ecuación 11. Determinación de la energía total por cada fuente de biomasa seca de distintas corridas.

$$E_{total} = PCS_x * B_{producida}$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en los cuadros 34 y 35. Para el caso de la energía total generada para la corrida 1 para el tanque 1 se obtiene:

$$E_{total} = \left(12995.75 \frac{J}{g}\right) * 9.116g * \left(\frac{1kJ}{1000J}\right) = 118.5057kJ$$

Ecuación 12. Determinación de la energía útil por cada fuente de biomasa seca de distintas corridas.

$$E_{útil} = PCS_x * B_{combustionada}$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en los 34 y el cálculo 13. Para el caso de la energía útil generada para la corrida 1 para el tanque 1 se obtiene.

$$E_{útil} = \left(12995.75 \frac{J}{g}\right) * 5.5030g * \left(\frac{1kJ}{1000J}\right) = 71.5380kJ$$

Ecuación 13. Determinación del porcentaje de ceniza para muestras de biomasa de microalgas.

$$Cenizas \% = \frac{m_{xf(550^\circ C)}}{m_{xi}} * 100\%$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en el Cuadro 27. Para el caso del porcentaje de ceniza se utilizó la norma UNE-EN 14774:2010 mediante una mufla seca a 550°C luego de 3.75 horas, donde para la corrida 1 y tanque 1 se obtiene:

$$Cenizas \% = \frac{0.4150g}{1.0471g} * 100\% = 39.63\%$$

Ecuación 14. Determinación de la biomasa combustionada experimental de distintas corridas.

$$B_{\text{combustionada}} = B_{\text{producida}} * (1 - \text{Cenizas}\%)$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en los, donde fue una ecuación interna utilizada para resolver la ecuación de energía útil. Para la biomasa combustionada de la corrida 1 para el tanque 1 se obtiene:

$$B_{\text{combustionada}} = 9.116 \text{ g} * (1 - 39.63\%) = 5.5030 \text{ g}$$

Ecuación 15. Determinación de la eficiencia con que se utiliza la energía de las muestras de biomasa seca de distintas corridas.

$$\eta = \frac{E_{\text{útil}}}{E_{\text{total}}}$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en el Cuadro 35. Para el de la corrida 1 para el tanque 1 se obtiene:

$$\eta = \frac{71.5380 \text{ kJ}}{118.5057 \text{ kJ}} = 0.6037$$

Ecuación 16. Determinación del flujo volumétrico necesario del oxígeno utilizado en la combustión para el balance de masa.

$$Q_{O_2} = \frac{Vol_{bc} * (BAR_{ad} - BAR_{re})}{Tiempo \text{ operacion}}$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en el Cuadro 28, nota que se usó el mismo parámetro para cada corrida y el oxígeno tiene un 99.5% de pureza. Para las tres corridas en general se obtiene:

$$Q_{O_2} = \frac{0.26 \text{ L} * (14 - 10)}{0.1667 \text{ min}} = 6.9586 \frac{\text{L}}{\text{min}} = 0.000116 \frac{\text{m}^3}{\text{s}}$$

Ecuación 17. Determinación de flujo masico de entrada de oxígeno corregido a la combustión.

$$Q = Q_{O_2} * \rho_{O_2}$$

Utilizando la ecuación previa y la información obtenida del cálculo 15. Utilizados para las pruebas de combustión se obtiene:

$$Q = 0.000116 \frac{\text{m}^3}{\text{s}} * 1.429 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} * \frac{1000 \text{ g}}{1 \text{ kg}} * \frac{86400 \text{ seg}}{1 \text{ dia}} = 14319 \frac{\text{g}}{\text{dia}}$$

Ecuación 18. Perdidas másicas por evaporación durante la etapa de propagación.

$$Q_{\text{agua ev.}} = A * TE_{\text{agua}} * \rho_{\text{agua}}$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en el Cuadro 28. Para la determinación de las perdidas por evaporación, tomando en cuenta un promedio para la tasa de evaporación del agua a alrededor de 25 °C, se obtuvo:

$$Q_{agua\ ev.} = (0.62 * 0.45)m^2 * 2.5 \frac{mm}{dia} * \left(\frac{1\ m}{1000\ mm}\right) * 997.07 \frac{kg}{m^3} * \left(\frac{1000\ g}{1\ kg}\right)$$

$$= 695.46 \frac{g}{day}$$

\*Nota que para la pérdida de otras sustancias como medio y sal que estaban mezcladas con el agua se realizó una proporción dado la entrada a la propagación y se aplica en la salida por evaporación.

Ecuación 19. Balance de masa para la experimentación.

$$m_{entrada} = m_{salida} + m_{sobrante}$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en los cuadros 4, 28, 32, 33, 34 y 35. Importante que esta es una emulación para el de la corrida 1 para el tanque 1 (cual aplica para las tres corridas) por lo cual se obtiene los resultados observados en las figuras 14, 15, 16 y 17.

Ecuación 20. Balance de energía para la experimentación (usando los datos técnicos de los equipos).

$$E = P * t_{operacion}$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en los cuadros 4, 28, 32, 33, 34 y 35. Importante que esta es una emulación para el de la corrida 1 para el tanque 1 (cual aplica para las tres corridas) por lo cual se obtiene los resultados observados en las figuras 14, 15, 16 y 17.

Ecuación 21. Determinación del volumen de operación del cultivo a partir de la profundidad recomendada para un tanque sin agitación.

$$V_{total} = V_{cultivo} + V_{sistema,contrapesos,etc.}$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en el Cuadro 4 y la información obtenida del marco teórico y antecedentes. Para la generalización de los volúmenes en cuales los sistemas adicionales (el sistema de aireación de PVC y los contrapesos) dentro del tanque adicionan 6.55 cm de altura a un volumen de agua:

$$V_{cultivo} = (0.15 - 0.0655)m * 0.4625m * 0.6325cm = 0.02472\ m^3$$

Ecuación 22. Determinación de la velocidad del aire para el sistema de aireación del reactor sin agitación implementado.

$$Vel = v_{optima/volumen} * volumen\ de\ operacion$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en los antecedentes y el valor del volumen de operación. Para la generalización de las velocidades para el sistema de aireación, estos valores se dejaron para el rango de operación encontrados en el cuadro de datos originales:

$$Vel = \left(0.088 \frac{m}{s * L} * 24.72\ L\right) = 2.1754 \frac{m}{s}$$

Ecuación 23. Promedio obtenido de los resultados.

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^N Xi}{N}$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en los cuadros 32, 35 y 36. Para la estadística y valoración de los resultados, donde para la corrida 1 y tanque 1 se obtiene:

$$\bar{X} = \frac{(12999.75 + 12600.35 + 13042.72) \frac{J}{g}}{3} = 12880.94 \frac{J}{g}$$

Ecuación 24. Desviación estándar obtenido de los resultados.

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (Xi - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en los cuadros 32, 35 y 36. Para la estadística y valoración de los resultados, donde para la corrida 1 y tanque 1 se obtiene:

$$S = \sqrt{\frac{((12999.75 - 12880.94)^2 + (12600.35 - 12880.94)^2 + (13042.72 - 12880.94)^2)}{3 - 1}} \\ = 243.95$$

Ecuación 25. Coeficiente de variación obtenido de los resultados.

$$CV = \frac{S}{\bar{X}}$$

Utilizando la ecuación previa y los datos contenidos en los cuadros 32, 35 y 36. Para el de la corrida 1 para el tanque 1 se obtiene:

$$CV = \frac{243.95}{12880.94} * 100\% = 1.89\%$$

Ecuación 26. Propagación de error (incertidumbre).

$$\bar{Z} = \bar{X} \pm \bar{Y} \quad ; \quad z = \sqrt{(x)^2 + (y)^2}$$

$$\bar{Z} = \bar{X} * (\div) \bar{Y} \quad ; \quad z = \bar{Z} * \sqrt{\left(\frac{x}{\bar{X}}\right)^2 + \left(\frac{y}{\bar{Y}}\right)^2}$$

$$\bar{Z}^n \quad ; \quad z^n = \bar{Z}^n * \frac{n * z}{\bar{Z}}$$

$$\sqrt[n]{\bar{Z}} = \quad ; \quad \sqrt[n]{z} = \bar{Z}^n * \frac{n * z}{\bar{Z}}$$

Utilizando las ecuaciones previas y en conjunto a varios de los datos obtenidos de datos originales para la propagación de error de datos calculados y resultados. Para la corrida 1 del Cuadro 2 de resultados se obtiene:

$$\begin{aligned}
 PCS_x \pm z &= \frac{(19306) * (0.0975 \pm 0.0001 \text{ g}) + (26454 \pm 0 \frac{J}{g}) * (0.0457 \pm 0.0001 \text{ g})}{0.0518 \text{ g} \pm 0.0001 \text{ g}} \\
 &= 12995.75 \pm 50.00 \frac{J}{g}
 \end{aligned}$$

## D. Glosario

- Agua residual: Es el agua que ha sido utilizada en diversas actividades humanas y que ahora contiene contaminantes, residuos o impurezas. Se considera residual porque ya no es adecuada para su uso directo y requiere tratamiento antes de su descarga o reutilización segura.
- Agua residual pluvial: Es el agua que se recoge después de las precipitaciones, cual puede contener sedimentos, contaminantes químicos arrastrados de superficies urbanas y naturales, como carreteras, techos y suelos. Su tratamiento es importante para evitar la contaminación de cuerpos de agua receptores y prevenir inundaciones.
- Agua residual industrial: Es el agua de los procesos industriales y puede variar ampliamente en su composición, dependiendo del sector industrial específico. Puede contener sustancias tóxicas, compuestos orgánicos e inorgánicos, metales pesados, solventes y otros contaminantes químicos (corrosivos o inflamables).
- Agua residual doméstica: Es el agua que proviene de los hogares, edificios comerciales e institucionales. Esta contiene una mezcla de aguas de baños, lavabos, cocinas y lavanderías, junto con los desechos orgánicos e inorgánicos generados en estas áreas.
- Agua residual negra: El agua residual domestica que contiene materia fecal, orina y otros desechos orgánicos. Además, puede contener productos químicos utilizados en la limpieza del inodoro.
- Agua residual gris: El agua residual domestica proveniente de los lavabos, duchas, bañeras y lavadoras. El agua residual gris suele contener menos contaminantes que el agua residual negra y generalmente carece de materia fecal y otros desechos.
- Microalgas: Las microalgas son organismos fotosintéticos unicelulares que pertenecen al reino protista, que, a diferencia de las algas macroscópicas, las microalgas son extremadamente pequeñas y solo pueden ser observadas con microscopio.
- Fotosíntesis: Es el proceso en el cual los organismos con capacidad fotosintética utilizan la energía solar para convertir el dióxido de carbono y el agua en glucosa y oxígeno. Es fundamental para el ambiente la producción de oxígeno y la captura de dióxido de carbono, y es llevada a cabo por plantas, algas y algunas bacterias.
- Fotoinhibición: Punto de exceso por radiación lumínica que afecta la producción de campo de un microorganismo, por lo que un equilibrio de iluminación obtiene resultados no perjudiciales para el cultivo de los organismos.
- Biomasa seca: La biomasa seca se refiere a la biomasa que ha sido deshidratada y contiene un bajo contenido de humedad. Esta forma de biomasa se puede usar como biocombustible por su alto contenido energético facilita, junto a su facil procesamiento y almacenamiento.
- Bomba calorimétrica: Instrumento de laboratorio que mide el calor liberado o absorbido en reacciones químicas, proporcionando datos sobre poder calorífico, entalpía y propiedades termodinámicas a cabo de una combustión en atmósfera de oxígeno.

- Poder calorífico: Cantidad de calor producido al quemar un combustible o muestra; donde se divide entre poder calorífico superior cual incluye calor latente de condensación, mientras que el inferior no lo considera.
- Combustión: Proceso químico exotérmico en el cual un combustible/muestra se combina con un oxidante, liberando calor y formando productos de combustión como dióxido de carbono, agua y otras emisiones.
- Ceniza: Residuo inorgánico que queda después de la combustión de biomasa, compuesto por minerales y elementos no combustibles presentes en los materiales originales.
- Emisiones: Gases y partículas liberados durante la quema de combustibles fósiles o biomasa, incluyendo compuestos como dióxido de carbono, óxidos de nitrógeno y partículas sólidas.
- Reactor laguna abierta: Un biorreactor de laguna abierta es un sistema de propagación, producción y tratamiento por medio de microorganismos que utiliza lagunas poco profundas expuestas al aire libre. Es una opción sostenible para depurar aguas residuales antes de su liberación ambiental.
- Fotobiorreactor: Dispositivo que emplea la luz solar (natural o artificial) para cultivar microorganismos fotosintéticos, como algas, con aplicaciones en la producción de biocombustibles y otros compuestos valiosos.
- Deshidratación: Proceso de eliminación de humedad en un material mediante la transferencia de calor y la circulación del aire. El calor aplicado aumenta la temperatura del material, lo que provoca la evaporación del agua, donde el aire caliente se mueve a través del material, llevándose consigo el vapor de agua generado
- Centrifugación: Proceso de separación que aprovecha la fuerza centrífuga para separar componentes de diferentes densidades en una mezcla, comúnmente utilizada en procesos de sedimentación, purificación y análisis.

## E. Fotografías

Figura 18. Válvula de entrada de aire proporcionada por el laboratorio de operaciones unitarias.



Figura 19. Cabeza de latón ½ pulgada reforzada con teflón de adaptador de manguera utilizada en el sistema de aireación.



Figura 20. Caja de plástico “56 Lt” Guateplast utilizada como el tanque del reactor abierto sin agitación.



Figura 21. Caja de plástico “56 Lt” Guateplast utilizada como el tanque del reactor abierto sin agitación.



Figura 22. Lámina transparente de plástico instalada en el área de operación exterior de los cultivos de microalgas.



Figura 23. Cortina de paja utilizada para mitigar el efecto de la intensidad lumínica en los cultivos de microalgas.



Figura 24. Inoculo inicial de *Nannochloropsis oculata* cultivada en medio f/2 Guillard en un tanque tubular cerrado de 5 Litros.

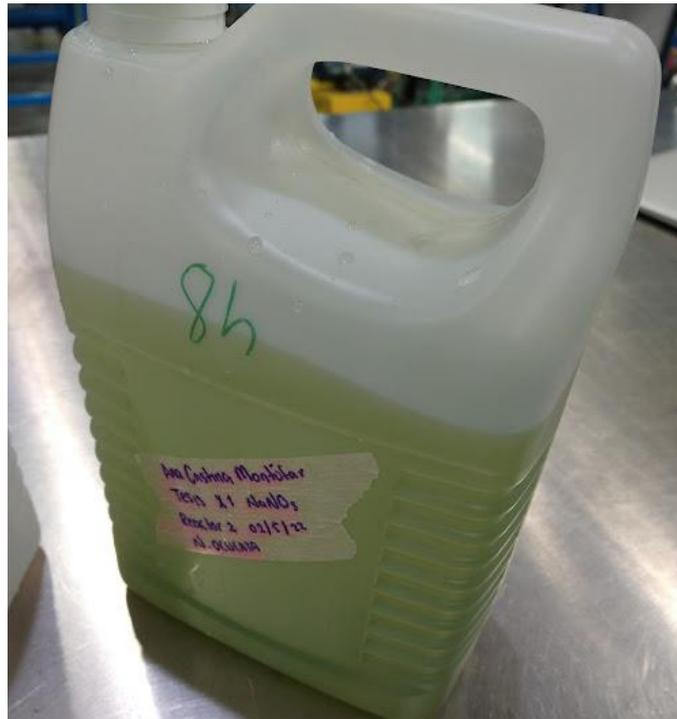


Figura 25. Solución de vitaminas (izquierda) y trazas de metal (derecha) para la preparación del medio f/2 Guillard proporcionado por laboratorio del departamento de Ingeniería Química.

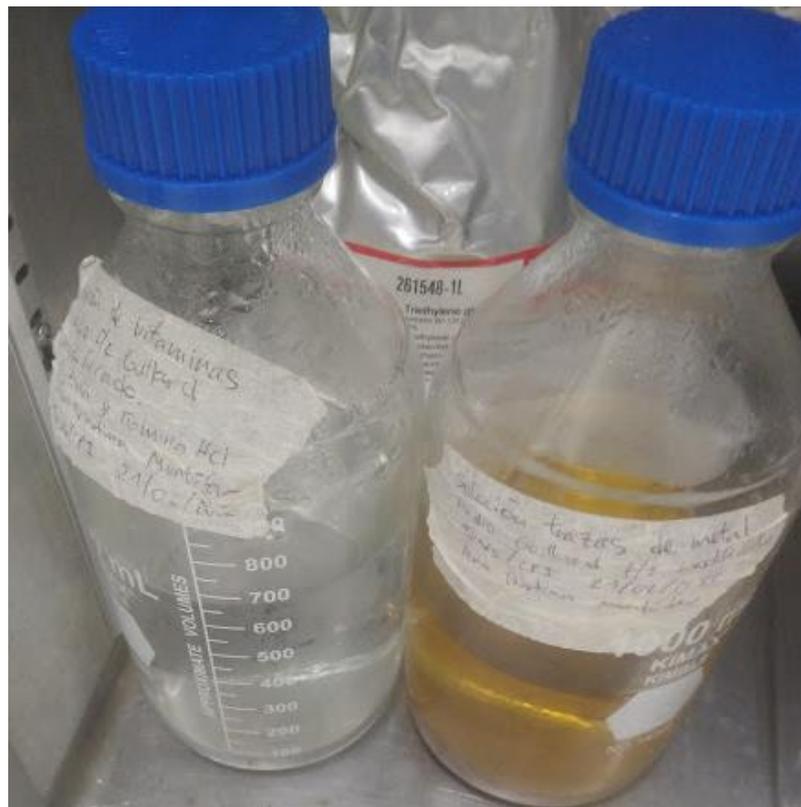


Figura 26. Garrafón de agua pura salvavidas esterilizado para utilizar como contenedor de medio nutritivo f/2 Guillard.

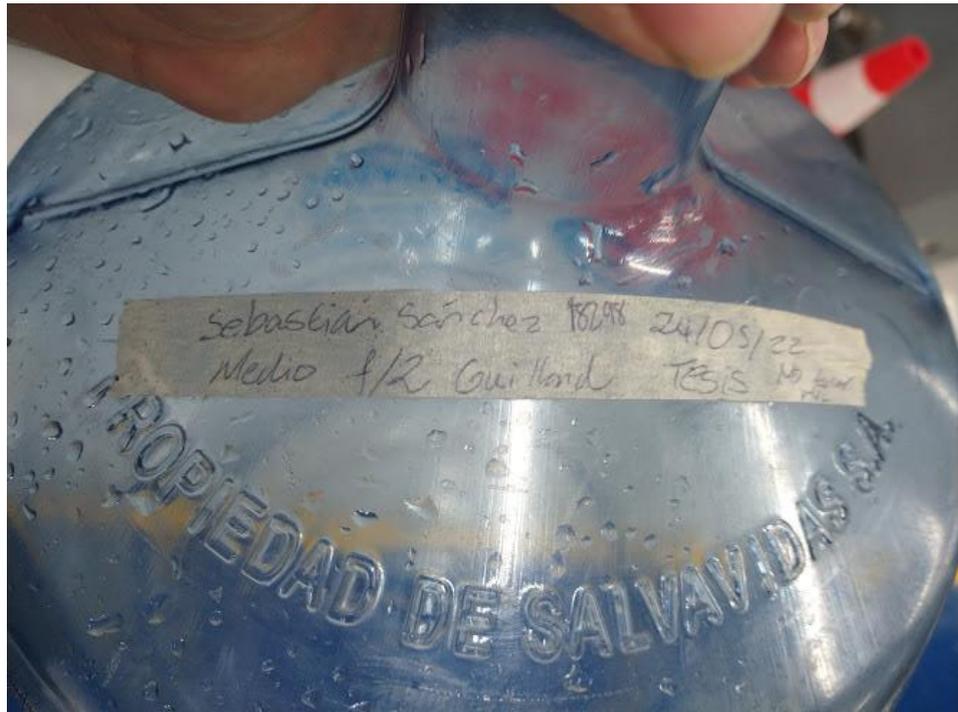


Figura 27. Galones utilizados para el almacenamiento de *Nannochloropsis oculata* dentro del cuarto frío.

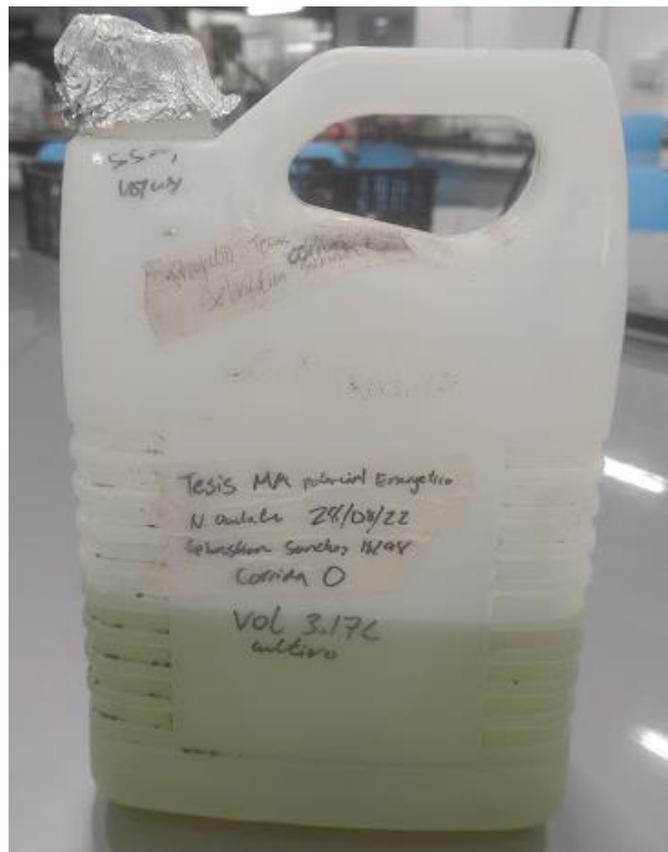


Figura 28. Roca utilizada como contrapeso en los reactores de laguna abierta.



Figura 29. Sección cruz de redirección de los gases en el sistema de aireación externo



Figura 30. Prototipo versión 0 del reactor abierto de 25 litros con método de protección temporal durante un día con clima lluvioso [20 de junio 2022].



Figura 31. Acercamiento al burbujeo del sistema de aireación debido a la inyección de aire.



Figura 32. Prototipo versión 0 del reactor abierto de 25 litros vista superior.



Figura 33. Prototipo versión 0 del reactor abierto de 25 litros vista lateral.



Figura 34. Medidor de luz EXTECH EA30.



Figura 35. Medidor de salinidad portátil ATAGO.



Figura 36. Medidor de pH Ohaus st20.



Figura 37. Termo anemómetro AMPROBE TMA5



Figura 38. Centrifugadora SORVALL RTZ



Figura 39. Balanza analítica Kern con muestra de secado corrida 1 hora 1.



Figura 40. Deshidratador de alimentos Hamilton Beach con 5 bandejas y 1 tapa.



Figura 41. Bomba calorimétrica IKA C200



Figura 42. Mufla THERMOLYNE para ciertas pruebas de combustión



Figura 43. Balanza de humedad OHAUS MB120



Figura 44. Analizador de gases testo 310 junto a la sonda de gases de combustión



Figura 45. Sistema casero de imitación a una chimenea a nivel pequeña para la medición de gases de combustión a.





Figura 48. Envases de 250 ml anexados a la centrifugadora RTZ con las muestras luego de la centrifugación (precipitado biomasa y sobrenadante agua).



Figura 49. Muestra de biomasa luego de la centrifugación T1 C2 (recolección 1 envase 2).



Figura 50. Muestra de biomasa luego de la deshidratación T2 C3 (N3) previo a su pulverizada para las pruebas de poder calorífico superior.



Figura 51. Muestra de biomasa luego de la prueba de ceniza dentro de una mufla0.



Figura 52. Indicios para suspender la corrida en forma de estrés por “Proliferación de algas” dentro del tanque 2 en los últimos días de la corrida 2.



Figura 53. Acercamiento al tanque 3 con el sistema de aireación 3 y la biomasa de microalga pegada en ambas durante la recolección de la corrida 3 el 4/7/2023.



Figura 54. Corrida 1 variación de salinidad fluctuante en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [26 de enero de 2023].



Figura 55. Corrida 1 variación de salinidad fluctuante en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [31 de enero de 2023].



Figura 56. Corrida 1 variación de salinidad fluctuante en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [2 febrero de 2023].



Figura 57. Corrida 1 variación de salinidad fluctuante en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [15 de febrero de 2023].



Figura 58. Corrida 1 variación de salinidad fluctuante en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [20 de febrero de 2023].



Figura 59. Corrida 1 variación de salinidad fluctuante en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [1 de marzo de 2023].



Figura 60. Corrida 1 variación de salinidad fluctuante en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [9 de marzo de 2023].



Figura 61. Corrida 1 variación de salinidad fluctuante en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [10 de marzo de 2023].



Figura 62. Corrida 2 variación de nutrientes y minerales (medio f/2) periódico en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [18 de marzo de 2023].



Figura 63. Corrida 2 variación de nutrientes y minerales (medio f/2) periódico en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [22 de marzo de 2023].



Figura 64. Corrida 2 variación de nutrientes y minerales (medio f/2) periódico en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [25 de marzo de 2023].



Figura 65. Corrida 2 variación de nutrientes y minerales (medio f/2) periódico en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [29 de marzo de 2023].



Figura 66. Corrida 2 variación de nutrientes y minerales (medio f/2) periódico en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [12 de abril de 2023].



Figura 67. Corrida 2 variación de nutrientes y minerales (medio f/2) periódico en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [17 de abril de 2023].



Figura 68. Corrida 2 variación de nutrientes y minerales (medio f/2) periódico en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [26 de abril de 2023].



Figura 69. Corrida 2 variación de nutrientes y minerales (medio f/2) periódico en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [4 de mayo de 2023].



Figura 70. Corrida 3 variación de agua suavizada a agua residual gris en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [19 de mayo de 2023].



Figura 71. Corrida 3 variación de agua suavizada a agua residual gris en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [21 de mayo de 2023].



Figura 72. Corrida 3 variación de agua suavizada a agua residual gris en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [26 de mayo de 2023].



Figura 73. Corrida 3 variación de agua suavizada a agua residual gris en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [8 de junio de 2023].



Figura 74. Corrida 3 variación de agua suavizada a agua residual gris en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [19 de junio de 2023].



Figura 75. Corrida 3 variación de agua suavizada a agua residual gris en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [23 de junio de 2023].



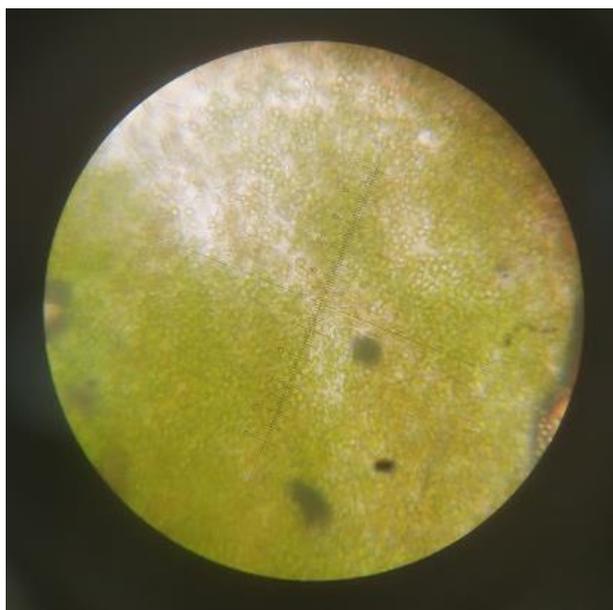
Figura 76. Corrida 3 variación de agua suavizada a agua residual gris en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [30 de junio de 2023].



Figura 77. Corrida 3 variación de agua suavizada a agua residual gris en los 3 reactores abiertos sin agitación de 25 litros [4 de julio de 2023].



Figura 78. Muestra del cultivo *Nannochloropsis oculata* de la segunda corrida 13/04/2023 bajo microscopio de laboratorio a objetivo x20.



Cuadro 42. Información adicional de clima en ciudad de Guatemala, Universidad del Valle de Guatemala zona 15.

Día	Hora	Tanque	Luz (klux)	T. ambiental (°C)	Humedad R. %	Precipitación (mm)
17/2/2023	12:47	1	6.24	23.0	63	0
		2	6.68			
		3	5.21			
1/3/2023	11:12	1	35.18	26.0	57	0
		2	26.42			
		3	25.98			
24/3/2023	11:12	1	27.46	27.1	53	0
		2	24.72			
		3	26.54			
3/5/2023	16:39	1	4.58	19.8	70	75
		2	3.88			
		3	2.02			
6/6/2023	1:39	1	1.26	22.0	75.5	120
		2	0.8			
		3	0.72			
3/7/2023	11:58	1	23.3	19.0	52	0
		2	19.86			
		3	23.28			

\*Información adicional proporcionada por un pluviómetro de FUNDEA y material meteorológico del día, datos de luz utilizados por medio del equipo de la metodología.