

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería

Diseño y construcción de un Fotobiorreactor Tubular Continuo para crecimiento de biomasa a partir de microalgas

Sergio Manuel Meléndez Mendizábal

Guatemala
2010

Diseño y construcción de un Fotobiorreactor Tubular Continuo para crecimiento de biomasa a partir de microalgas

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería


Diseño y construcción de un Fotobiorreactor Tubular Continuo para crecimiento de biomasa a partir de microalgas

Trabajo de investigación presentado por Sergio Manuel Meléndez Mendizábal para optar al grado académico de Licenciado en Ingeniería Química

Guatemala
2010

Vo. Bo. :

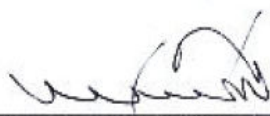
Asesor:

(f) 
Ingeniero Óscar Armando Maldonado
Colegiado 90

Tribunal Examinador:

(f) 
Ingeniero Gamaliel Zambrano Ruano
Colegiado 686

(f) 
Ingeniero Jaime Rosales Solórzano
Colegiado 320

(f) 
Ingeniero Óscar Armando Maldonado
Colegiado 90

Fecha de aprobación: Guatemala, lunes 18 de enero de 2010.

Prefacio

Este trabajo pretende brindar al lector un apoyo en la investigación y diseño de un fotobiorreactor para crecimiento de biomasa a partir de microalgas. Este tema es relativamente nuevo en Guatemala, pero de gran importancia a nivel mundial, pues hay muchas cepas interesantes con potencial de aceite para fabricación de biodiesel, propiedades curativas para fines farmacéuticos y algunas otras que pueden utilizarse como alimento tanto de peces como complemento de alimentos humanos.

Este trabajo incluye un estudio de casi dos años, que inició con muestreos para encontrar cepas con potencial interesante en aceite, seguida por la identificación y aislamiento de las mismas, seguido de los primeros contactos de una producción de biomasa a nivel laboratorio, estudios de parámetros de reproducción de la microalga, como son intensidad y cantidad de luz adecuada para cada especie, así como del medio de cultivo que ayudará de mejor forma a su crecimiento. También se hicieron estudios para encontrar las vitaminas y antibióticos adecuados para ayudar a la cepa objetivo a desarrollarse de la mejor manera. Se desarrollaron técnicas de esterilización, monitoreo por microscopio, extracción de aceite y separación de biomasa a nivel laboratorio. Terminada esta fase, y con todos estos datos obtenidos se procedió al desarrollo del presente trabajo, que representa la fase final de este estudio, la producción a gran escala de una cepa potencial en un fotobiorreactor.

Quisiera agradecer primeramente a Dios, por darme el regalo de la vida en cada uno de los días de este estudio, por darme su guía, su sabiduría y la perseverancia necesaria para poder lograr este objetivo; así como agradecer a mis padres Sergio y Gloria, a mis hermanos María José y Eddy, a mi novia Nancy y su familia porque gracias a su apoyo y palabras de aliento me dieron las fuerzas día a día para seguir adelante con este proyecto.

Quiero agradecer especialmente a mi asesor de tesis el Ingeniero Óscar Maldonado, por siempre tener fe en el proyecto y principalmente en mi persona para realizarlo, porque siempre me brindó su ayuda cuando la necesite. Quisiera agradecer enormemente a mi sub asesor de tesis el Licenciado Erick Estrada y su equipo de trabajo de la Universidad de San Carlos de Guatemala, quien colaboró en la parte de muestreo, aislamiento, purificación y estudio a nivel laboratorio de las microalgas. Sin su valiosa ayuda este proyecto no hubiera sido posible.

También quisiera agradecer también al Departamento de Ingeniería Química y en especial al Ingeniero Gamaliel Zambrano director del mismo, por brindarme su apoyo incondicional para la construcción del fotobiorreactor tubular continuo, por darme el conocimiento y herramientas necesarias para realizarlo.

Índice

| | Página: |
|--|---------|
| Prefacio..... | v |
| Índice..... | vii |
| Índice de tablas..... | ix |
| Índice de figuras..... | x |
| Índice de gráficas..... | xi |
| Índice de fotografías..... | xii |
| Resumen..... | xiii |
| Abstract..... | xiv |
| I. Introducción..... | 1 |
| II. Antecedentes..... | 4 |
| A. Cultivo en masa de microalgas..... | 4 |
| B. Medios de cultivo de microalgas de agua salada..... | 6 |
| 1. Soluciones Stock..... | 6 |
| 2. Macronutrientes..... | 7 |
| 3. Traza de metales..... | 7 |
| 4. Vitaminas..... | 8 |
| C. Esterilización..... | 8 |
| D. Métodos de purificación de microalgas..... | 9 |
| E. Método de monitoreo de crecimiento por fluorescencia..... | 9 |
| F. Uso industrial de microalgas..... | 10 |
| 1. Alimentos..... | 10 |
| 2. Fertilizantes..... | 10 |
| G. Fotobiorreactores..... | 10 |
| 1. Factores de diseño..... | 14 |
| 2. Luz..... | 14 |
| 3. Circulación..... | 15 |
| 4. Intercambio de gas..... | 15 |
| 5. Temperatura y pH..... | 16 |

| | |
|---|----|
| 6. Esterilización..... | 17 |
| III. Justificaciones..... | 18 |
| IV. Objetivos..... | 20 |
| A. Generales..... | 20 |
| B. Específicos..... | 20 |
| V. Problema a resolver..... | 21 |
| VI. Metodología..... | 22 |
| VII. Resultados..... | 24 |
| VIII. Discusión..... | 32 |
| IX. Conclusiones..... | 40 |
| X. Recomendaciones..... | 41 |
| XI. Bibliografía..... | 42 |
| XII. Apéndices..... | 44 |
| A. Apéndice A. Cálculos de diseño..... | 44 |
| B. Apéndice B. Gráficas de control de temperatura y pH..... | 49 |
| C. Apéndice C. Análisis estadístico..... | 52 |
| D. Apéndice D. Análisis económico..... | 55 |
| E. Apéndice E. Fotografías del proyecto..... | 58 |
| F. Apéndice F. Medio de cultivo..... | 65 |

Índice de tablas

| | Páginas: |
|---|----------|
| Tabla 1. Especificaciones del Fotobiorreactor Tubular continuo..... | 24 |
| Tabla 2. Análisis económico de Fotobiorreactor Tubular Continuo construido así como la simulación a las condiciones que lo hacen rentable | 31 |
| Tabla 3. Biomasa, Tasa de Crecimiento producida y tiempo de residencia de <i>Melosira sp</i> en el Fotobiorreactor Tubular Continuo | 31 |
| Tabla 4. Estadísticas descriptivas del cultivo de <i>Melosira sp.</i> en el Fotobiorreactor Tubular Continuo..... | 52 |
| Tabla 5. Resumen de estadísticas del análisis de varianza de dos factores con una sola muestra para el cultivo de <i>Melosira sp.</i> en el fotobiorreactor tubular continuo..... | 52 |
| Tabla 6. Probabilidad del análisis de varianza de dos factores con una sola muestra para el cultivo de <i>Melosira sp.</i> en el fotobiorreactor tubular continuo | 53 |
| Tabla 7. Coeficiente de correlación entre el porcentaje de transmitancia, pH y temperatura para el cultivo de <i>Melosira sp.</i> en el fotobiorreactor tubular continuo..... | 53 |
| Tabla 8. Estadísticas de regresión de la Gráfica 1, curva de calibración porcentaje de transmitancia en función de peso seco de <i>Melosira sp.</i> | 53 |
| Tabla 9. Análisis de varianza de la Gráfica 1, curva de calibración porcentaje de transmitancia en función de peso seco de <i>Melosira sp.</i> | 53 |
| Tabla 10. Límite de confianza al 95% de la Gráfica 1, curva de calibración porcentaje de transmitancia en función de peso seco de <i>Melosira sp.</i> | 54 |
| Tabla 11. Costo de Fotobiorreactor Tubular continuo | 55 |
| Tabla 12. Asunciones principales para Simulación de Flujo de Caja a 10 años de la Operación del Fotobiorreactor Tubular continuo | 55 |
| Tabla 13. Costos y ventas esperadas en la producción de biomasa a partir de microalgas en el fotobiorreactor tubular continuo..... | 55 |
| Tabla 14. Tiempo de vida y costo total de reinversión en lámparas fluorescentes de luz fría para fotobiorreactor tubular continuo..... | 55 |
| Tabla 15. Flujo de caja a 10 años de operación de fotobiorreactor tubular continuo a escala piloto..... | 56 |
| Tabla 16. Flujo de caja a 10 años de operación de fotobiorreactor tubular continuo a escala industrial... | 57 |

Índice de figuras

| | Página: |
|--|---------|
| Figura 1. Método de fluorescencia para medir la biomasa de microalga producida..... | 9 |
| Figura 2. Fotobiorreactor tubular con tubos horizontales paralelos..... | 11 |
| Figura 3. Colector solar tipo cerca..... | 11 |
| Figura 4. Fotobiorreactor tubular helicoidal..... | 12 |
| Figura 5. Comparación de fuentes de luz en fotobiorreactores..... | 15 |
| Figura 6. Vista aérea de Fotobiorreactor Tubular Continuo..... | 25 |
| Figura 7. Vista frontal de Fotobiorreactor Tubular Continuo..... | 25 |
| Figura 8. Vista lateral de Fotobiorreactor Tubular Continuo..... | 26 |
| Figura 9. Vista isométrica de Fotobiorreactor Tubular Continuo..... | 26 |
| Figura 10. Vista isométrica de estructura base del Fotobiorreactor Tubular Continuo..... | 27 |
| Figura 11. Balance de masa y energía del Fotobiorreactor Tubular Continuo..... | 28 |
| Figura 12. Medio de cultivo f/2 de Guillard..... | 65 |

Índice de gráficas

| | Página: |
|--|---------|
| Gráfica 1. Curva de calibración porcentaje de transmitancia en función del peso seco de <i>Melosira sp.</i> | 29 |
| Gráfica 2. Monitoreo de crecimiento de cultivo de <i>Melosira sp.</i> en el Fotobioreactor Tubular continuo..... | 30 |
| Gráfica 3. Control de pH y temperatura del cultivo de <i>Melosira sp.</i> en el Fotobioreactor Tubular Continuo..... | 49 |
| Gráfica 4. Histograma de distribución de pH a lo largo del tiempo..... | 50 |
| Gráfica 5. Histograma de distribución de temperatura a lo largo del tiempo..... | 51 |

Índice de fotografías

| | Páginas: |
|---|----------|
| Fotografía 1. Estructura que sostiene a Fotobiorreactor Tubular continuo..... | 58 |
| Fotografía 2. Diseño de estructura de iluminación del fotobiorreactor tubular continuo..... | 59 |
| Fotografía 3. Estructura que sostiene a la bomba peristáltica..... | 59 |
| Fotografía 4. Nutrientes que forman el medio f/2 de Guillard utilizado como medio de cultivo para la cepa <i>Melosira sp.</i> | 60 |
| Fotografía 5. Preparación del medio /2 de Guillard utilizado como medio de cultivo para la cepa <i>Melosira sp.</i> | 60 |
| Fotografía 6. Fotobiorreactor Tubular continuo..... | 61 |
| Fotografía 7. Biomasa de <i>Melosira sp</i> formada en el Fotobiorreactor tubular continuo..... | 61 |
| Fotografía 8. Saturación de CO ₂ en el tanque de alimentación..... | 62 |
| Fotografía 9. Soluciones conocidas de <i>Melosira sp.</i> para la determinación de peso seco..... | 62 |
| Fotografía 10. Centrifugación de la biomasa de las soluciones de <i>Melosira sp</i> | 63 |
| Fotografía 11. Filtración de las soluciones de <i>Melosira sp.</i> para la separación de la biomasa del medio de cultivo..... | 63 |
| Fotografía 12. Secado en horno para eliminar la humedad de las muestras de <i>Melosira sp.</i> | 64 |
| Fotografía 13. Peso seco de <i>Melosira sp.</i> | 64 |

Resumen

El objetivo del proyecto es diseñar y montar un Fotobiorreactor Tubular Continuo que aproveche la luz artificial fría y la inyección de dióxido de carbono, así como de un medio de cultivo que proporcione los nutrientes adecuados para el crecimiento de biomasa a partir de microalgas.

Se diseñó y construyó un fotobiorreactor tubular continuo, que consta de un tanque de polietileno de 10L (2.64gal), una bomba peristáltica rotatoria con motor de 0.25kW (1/3hp), dos tubos de vidrio de 0.057m (2.25pulg) de diámetro, 0.60m de largo y dos lámparas fluorescentes de luz fría de 750 lúmenes y 20W. La cepa de microalga utilizada es *Melosira sp.* y el medio de cultivo utilizado es f/2 de Guillard. El costo del fotobiorreactor es de Q3949.99.

Se logró producir 9.73 ± 1.86 g de biomasa de *Melosira sp* en 15 días de cultivo con una tasa de producción de 127.13 ± 0.13 g *Melosira sp*/m²-día. El modelo matemático para monitorear el crecimiento de biomasa por medio de porcentaje de transmitancia es $\text{Transmitancia} = -5722 \cdot (\text{Peso Seco}) + 69.56$ con un R² de 0.95 en el rango de 50% a 0% de Transmitancia.

Se recomienda guardar las condiciones de aislamiento adecuada para la cepa con el fin de evitar contaminación cruzada con otros microorganismos, así como monitorear el consumo de nutrientes en el medio de cultivo, así como llevar un control por medio de microscopio de la cepa para evitar deformaciones y como método de control de crecimiento de biomasa secundario.

Abstract

The project main objective is to design and assemble a Continuous Tubular photobioreactor that takes advantage of artificial light and carbon dioxide injection as well as a culture medium to provide adequate nutrients for growth of biomass from microalgae.

Was designed and built a continuous tubular photobioreactor, consisting of a polyethylene tank 10L (2.64gal), a rotary peristaltic pump with 0.25kW motor (1/3HP), two glass tubes of 0.057m (2.25pulg) and 0.60m long and two cold fluorescent light of 750 lumens and 20W. The strain of microalgae used is *Melosira* sp. and the culture medium used is *f / 2* Guillard. The photobioreactor cost was Q3949.99.

Biomass was achieved to produce *Melosira* sp 9.73 ± 1.86 g biomass of *Melosira* sp in 15 days of cultivation with a production rate of 127.13 ± 0.13 g / day·m². The mathematical model to monitor the growth of biomass by percentage of transmittance is $\text{Transmittance} = -5722 \cdot (\text{dry weight}) + 69.56$, with an R² of 0.95.

You should retain adequate conditions for the strain isolation to avoid cross contamination with other organisms and monitor the consumption of nutrients in the culture medium, as well as keeping control through microscope to avoid deformation strain and as a control secondary biomass growth.

I. Introducción

El objetivo del proyecto es diseñar y montar un Fotobiorreactor Tubular Continuo que aproveche la luz provista por una lámpara fluorescente y la inyección de dióxido de carbono, así como de un medio de cultivo que proporcione los nutrientes adecuados para el crecimiento de biomasa a partir de microalgas.

El término microalgas se utiliza para describir a los organismos fotosintéticos, polifiléticos, no cohesivos que evolucionaron un sistema de ensamble de oxígeno con grandes excepciones de colores, relacionados sin duda a formas de pigmentadas. Algas y plantas producen los mismos compuestos de almacenamiento, utilizan similares estrategias contra los depredadores y parásitos, además de que guardan fuerte similitud morfológicamente, por lo que las plantas pueden considerarse como una división de las algas. Existen alrededor de 10 millones de especies de algas, de las cuales la mayoría son microalgas (Barsanti, 2006: 213).

Para el crecimiento de un cultivo de microalgas se necesita de nutrientes, luz solar o artificial, dióxido de carbono, pH y temperatura adecuados. Los macronutrientes considerados generalmente son fósforo, nitrógeno y silicio, sin embargo el silicio es solamente utilizado por las diatomeas, silicoflagelatos y algunas chrysofitas (Andersen, 2005: 26).

La temperatura del cultivo debe mantenerse cercana a la temperatura a la cual el alga fue colectada, los organismos polares deben estar a una temperatura menor de 10°C y las especies tropicales a temperaturas mayores de 20°C, pero la mayoría de especies deben estar entre 16°C y 27°C, sin embargo esto también depende de la naturaleza del medio, la especie y el cultivo en cadena. Temperaturas menores a 16°C pueden reducir el crecimiento, pero temperaturas superiores a 35°C pueden ser letales para la mayoría de especies (Barsanti, 2006: 213).

La luz es el elemento más importante para el crecimiento de la microalga, debido a que conduce a las reacciones fotosintéticas en el alga de acuerdo a su intensidad, calidad espectral, y fotoperíodo requerido. A gran densidad del cultivo, la luz debe ser más intensa para que sea capaz de penetrar en el cultivo y llegar a todas las células. Una intensidad de luz muy grande puede llegar a provocar fotoinhibición. Generalmente se recomienda utilizar rangos entre 100 y 200 $\mu\text{E s}^{-1} \text{m}^2$, lo cual corresponde de 5 a 10% de la luz solar más fuerte. La luz provista por lámpara fluorescente debe ser emitida en el espectro de la luz roja o azul, ya que a esas porciones del espectro el alga requiere la luz para realizar la fotosíntesis (Barsanti, 2006: 213).

Los rangos de pH de la mayoría de las especies debe estar entre 7 y 9, el rango óptimo está entre 8.2 y 8.8, a pesar de que la mayoría de especies pueden habitar en lugares más ácidos y básicos (Barsanti, 2006: 213).

La agitación es importante para la sedimentación de las algas y para asegurar que se homogenice la exposición a la luz y los nutrientes, así como un mejor intercambio de dióxido de carbono y aire. El gas puede ser agregado por burbujeo, realizando así una especie de agitación. Pequeños tamaños de burbujas ayudan a facilitar la difusión, otra estrategia es usar el dióxido de carbono como control de pH en el cultivo (Barsanti, 2006: 213).

Un fotobiorreactor es un sistema utilizado para la producción a gran escala de biomasa a partir de microalgas, este sistema es cerrado y no permite un intercambio directo entre los gases o los contaminantes del cultivo que puede contener la atmósfera. Este dispositivo representa un ambiente protegidos para las especies del cultivo, los mantiene relativamente libres de contaminantes por otros microorganismos, además puede controlarse parámetros del cultivo como pH, concentración de oxígeno y dióxido de carbono, controlar de manera adecuada la temperatura (Barsanti, 2006: 243).

El tema de la biotecnología ha cobrado gran importancia en la actualidad, se ha desarrollado una amplia variedad de tecnologías que permiten controlar de mejor manera la naturaleza, crecimiento, inoculación, purificación y aislamiento de las cepas adecuadas para los procesos industriales. La importancia de encontrar una utilización en la industria para las microalgas radica en el hecho de que la mayoría de los cuerpos acuáticos de Guatemala se encuentran en un estado de eutrofización debido a la gran cantidad de nutrientes que el agua posee, debido a que por muchos años se ha tenido la mala práctica de depositar los residuos de fertilizantes, desechos industriales y aguas servidas de los hogares y municipales en los mismos, lo cual ha provocado que la población de microalgas crezca a tal punto que cubra grandes extensiones de los cuerpos de agua, lo cual provoca que las otras formas de vida se vean mermadas y amenazadas por falta de oxígeno y luz solar necesaria para sus actividades metabólicas vitales. Es por esto que se necesita realizar una serie de investigaciones y proyectos que le encuentren una aplicación a esta población de microalgas, ayudando a descontaminar los cuerpos de agua del país. Otra de las aplicaciones importantes de las microalgas lo representan algunos componentes que ellas poseen, que tienen importancia en la Industria farmacéutica, en la Industria alimenticia, como alimento de crianza de otros animales y como fuente de energía alternativa, ya que se han realizado estudios que demuestran que ciertas especies de microalgas tienen una cantidad importante de aceite en su biomasa, lo cual los hace candidatos fuertes para ser una materia prima para fabricación de biodiesel, especialmente debido a que no compite con alguna otra industria como a la alimenticia por ejemplo, lo cual es el problema de la mayoría de fuentes de biocombustibles.

Por todas estas razones, es importante llevar a cabo el Fotobiorreactor, para analizar la posibilidad de obtener un crecimiento de biomasa en un ritmo de tiempo adecuado, que sea económicamente factible y sea seguro para el usuario.

La realización del fotobiorreactor tubular continuo consistió en una serie de fases consecutivas, dependiente una de la otra, por lo que solamente al finalizar la primera de ellas se podrá continuar en las subsecuentes. Se hizo uso de otros proyectos relacionados al tema, en donde se tomará las especies a utilizar, así como el medio de cultivo y recomendaciones biológicas de las especies necesarias para su crecimiento. Con base a esto, se presentó el diseño de fotobiorreactor, el cual se construyó para que exista un tanque de medio cultivo en donde se insertará el alga y se sature con dióxido de carbono, de donde se accionará la succión provista por una bomba peristáltica, la cual circulará y dosificará el medio de cultivo junto con las algas, las cuáles estarán expuestas a períodos de iluminación por medio de lámparas fluorescentes 12 horas, simulando las condiciones de los cuerpos de agua donde habitan. Se monitoreó parámetros como temperatura, pH, crecimiento de biomasa por medio de espectrofotometría y peso seco. Finalmente se analizó de acuerdo a la tasa de biomasa producida a través del tiempo y los costos de la misma, la viabilidad económica del proyecto.

II. Antecedentes

A. Cultivo en masa de microalgas

La producción de biomasa de microalgas es generalmente más costosa que la de cultivos. El crecimiento fotosintético requiere luz, dióxido de carbono, agua y sales inorgánicas. La temperatura debe permanecer generalmente entre 20 y 30°C. Para minimizar los gastos, la producción de biodiesel debe contar con luz solar, a pesar de las variaciones diarias y estacionales en los niveles de luz. El medio de crecimiento debe proveer de elementos inorgánicos que constituyen a la célula del alga. Elementos esenciales incluyen nitrógeno (N), fósforo (P), hierro y en algunos casos silicio. Los requerimientos nutricionales mínimos pueden ser estimados utilizando la fórmula molecular aproximada de la biomasa de microalgas, que es $CO_{0.48}H_{1.83}N_{0.11}P_{0.01}$. Nutrientes como el fósforo deben ser suministrados en excesos significativos porque los fosfatos agregados forman complejos con iones metálicos, y por esto no todo el fósforo añadido es biodisponible. Para el crecimiento de microalgas marinas se utiliza comúnmente agua de mar suplementada con fertilizantes comerciales, con nitratos y fosfatos, y otros pocos micronutrientes. El medio para el crecimiento es generalmente bajo en costo (Chisti, 2007: 297).

La biomasa de microalgas contiene aproximadamente 50% de carbono en peso seco, el cual se deriva especialmente del dióxido de carbono. La producción de 100 t de biomasa de microalgas fija aproximadamente 183 t de dióxido de carbono. Se debe alimentar dióxido de carbono continuamente durante las horas con luz del día. La alimentación controlada en respuesta a señales de sensores de pH reduce la pérdida de dióxido de carbono y las variaciones de pH. La producción de biodiesel puede utilizar un poco del dióxido de carbono que es liberado en plantas por combustión de combustibles fósiles. Este dióxido de carbono es generalmente adquirido en bajo costo o sin costo (Chisti, 2007: 297).

Idealmente, el biodiesel de microalgas debe ser neutro de carbono, y toda la energía necesaria para la producción y procesamiento de algas debe provenir de biodiesel o de metano producido por digestión anaeróbica de residuos de biomasa que queda después de que los aceites han sido extraídos. A pesar de que el biodiesel de microalgas puede ser neutro en carbono, no causará ninguna reducción neta de dióxido de carbono que es acumulado como consecuencia de la combustión de combustibles fósiles (Chisti, 2007: 297).

La producción a gran escala de biomasa de microalgas generalmente utiliza cultivos continuos durante los períodos de luz solar diaria. En este método de operación, el medio de cultivo fresco es alimentado a una razón constante, y la misma cantidad de caldo de microalgas es retirada continuamente. La alimentación cesa durante la noche, pero el mezclado del caldo debe continuar para prevenir la sedimentación de la biomasa. Tanto como un 25% de la biomasa producida durante los períodos de luz

solar diaria puede ser perdido durante la noche debido a la respiración. La magnitud de esta pérdida depende del nivel de luz bajo el cual la biomasa ha crecido, la temperatura de crecimiento y la temperatura en la noche. Los únicos métodos de producción a gran escala de microalgas que se utilizan son el de pista de estanques y fotobiorreactores tubulares (Chisti, 2007: 297).

Trabajos pioneros para crecimiento de microalgas, especialmente *Chlorella*, en crecimiento denso a nivel laboratorio fue logrado por Heinrich Warburg (1883-1970) en 1919 en Berlín, Alemania. En el Instituto Oceanógrafo Woods Hole en los Estados Unidos, George Ketchum y Alfred Redfield en 1938 describieron un método para mantener cultivos continuos de diatomeas marina en largos suministros para análisis químicos. El procedimiento incluía cosechas de una porción arreglada, por ejemplo arriba de un kilogramo o más de material seco, a un punto crucial en una curva de crecimiento por lotes, mientras se mantenía la población continuamente replicándose y creciendo hasta la población deseada fuera alcanzada y cosechada. Con esta técnica Ketchum y su equipo también tuvieron éxito en crecer y optimizar la cosecha de células de gran número de algas unicelulares. El cultivo semicontinuo por lotes se sigue utilizando en acuicultura como un medio de producción rápida de fitoplancton para alimento de animales marinos (Andersen, 2005: 7).

En Göttingen, Alemania, R. Harder y von Witsch en 1942, también iniciaron experimentos de cultivo en masa de diatomeas para determinar si la gran producción de dichos cultivos era posible. Un gran aparato para el crecimiento de *Chlorella* en cultivo continuo fue construido por Jack Myers y Joseph Clark en 1944, en la Universidad de Texas en Austin. Ellos elaboraron el aparato para mantener el cultivo a ciertos puntos específicos de su curva de crecimiento por medio de dilución de la suspensión controlada por un sistema fotométrico. En su forma original, el recipiente de cultivo era una cámara vertical en forma de manga iluminada por lámparas tubulares verticales en las cuales el camino de la iluminación adecuada, es independiente del volumen total de la suspensión. Las células eran cultivadas manualmente a intervalos, dejando un pequeño volumen de suspensión como inóculo (Andersen, 2005: 7).

Microalgas como la *Chlorella* son sugeridas como fuente comercial para potenciales aplicaciones, como por ejemplo, producción de comida por Herman Spoehr en 1947 y Harold Milner en 1949, en el Instituto Carnegie de la División de Biología de Plantas de la Universidad de Stanford, en California. Estudios más recientes para trasladar los métodos de laboratorio a métodos ingenieriles específicos para cultivo a gran escala de *Chlorella* fueron realizados por Paul Cook en 1950 en el Instituto de Investigación de Stanford, quien construyó una pequeña planta piloto. El interés por el cultivo en masa de algas continuó por el Instituto Carnegie a través de la Corporación Arthur D. Little, de Cambridge, Massachusetts, quien construyó y hechó a andar numerosas unidades para el cultivo a nivel planta piloto en la terraza de un edificio industrial. Además a finales de 1940 y principios de 1950, un importante trabajo de producción a gran escala de *Chlorella* fue hecho en Alemania por von Witsch en 1948. F. Gummert y colaboradores

empezaron la investigación y desarrollo del programa en Essen, Alemania, para una producción a gran escala en un invernadero y el cultivo al aire libre. Casi al mismo tiempo, otra serie de estudios a nivel laboratorio y Planta Piloto para crecimiento de *Chlorella* siguieron en Japón, bajo la guía de Hiroshi Tamiya en el Instituto Tokugawa en Tokio. El mismo grupo de científicos obtuvo éxito en introducir la técnica de cultivo síncrono. Sincronización, un experimento obtenido por la coordinación de ciclos individuales de una población de células, fue un gran avance para el trabajo experimental en la fisiología de algas y fue seguido subsecuentemente por muchos otros usos modificados de técnicas y diferentes especies de algas. El resultado del primer “boom” de cultivo en masa de microalgas fue publicado en el clásico y aun fascinante reporte editado por J. Burlew en 1953 (Andersen, 2005:7).

B. Medios de cultivo de microalgas de agua salada

Gran parte de los medios de cultivo lo constituyen los reactivos químicos que se necesiten para fabricarlos, generalmente se recomienda que los mismos sea de la calidad o pureza más alta, la pureza es determinada por el proveedor. Recientemente se ha identificado que en las sales y nutrientes grado reactivo, mientras mayores niveles de trazas de metales u otros contaminantes posean, pueden inhibir a las especies oligotróficas. Para la realización del medio de cultivo se necesita de cierto equipo mínimo, como es la cristalería, recipientes plásticos, balanza analítica con sensibilidad de 1 miligramo; pH metro y agitador magnético. Generalmente también se necesita una autoclave para la esterilización, equipo de filtración para eliminar impurezas. Entre la cristalería necesitada se puede mencionar, beakers, erlenmeyers, botellas de reactivos, pipetas, frascos, tubos, ampollas, cilindros, cajas Petri, espátulas, embudos y buretas. El Agua utilizada para aforar las soluciones debe ser agua destilada, con la mínima cantidad de traza de metales posible (Andersen, 2005: 15-16).

1. Soluciones Stock. Los medios de cultivo generalmente están formados por tres compuestos principales, los macronutrientes, traza de elementos y vitaminas; generalmente estos tres componentes son preparados en soluciones stock. Las soluciones stock son preparadas en volúmenes de 100mL a 1L y son típicamente fabricadas a una concentración de nutrientes de 100 a 1000 veces la requerida. Las soluciones Stock son útiles por diversas razones, una de ellas es debido a que el pesado individual de cada reactivo consume tiempo y puede incurrir en un error de pesaje, las soluciones stock, por el contrario proveen una fuente fácil y consistente de los nutrientes. Las soluciones stock, generalmente son preparados de la siguiente manera (Andersen 2005: 16).

- Agregue de 80-90% del volumen requerido de agua destilada en un beaker.
- Disuelva la cantidad apropiada en peso de cada nutriente mientras se agita continuamente. Si múltiples componentes son incluidos entre la solución stock, se debe disolver el primer componente de la solución, antes de agregar el siguiente y así sucesivamente, hasta acabar con los componentes. La mayoría de los componentes

se disuelven mediante agitación, sin embargo en algunas ocasiones se deberá calentar o alterar el pH para disolver la sustancia rápidamente.

- Diluir hasta el volumen final con agua destilada.
- Las soluciones stock deben guardarse en los recipientes adecuados y sellados para evitar la alteración de la concentración debido a la evaporación de agua.

(Andersen 2005: 16).

2. Macronutrientes. Los macronutrientes considerados generalmente son fósforo, nitrógeno y silicio, sin embargo el silicio es solamente utilizado por las diatomeas, silicoflagelatos y algunas chrysofitas. Estos macronutrientes generalmente se necesitan en un radio de 16N; 16Si; 1P. La mayoría de los medios de cultivo no tienen un balance de las concentraciones relativas de macronutrientes necesarias para el crecimiento del alga, algunos medios de cultivo populares tienen radios de nitrógeno-fósforo mayores a 16:1, indicando que el fitoplancton puede estar limitado en fósforo en la fase senescente. Desafortunadamente, los experimentadores generalmente le prestan poca atención al nitrógeno, radios de fósforo o nitrógeno-silicio en el medio de cultivo que están usando, el cual finalmente determinara el crecimiento, la composición química y rangos fisiológicos cuando las células se vuelven senescentes. Similarmente las concentraciones de carbono y rangos carbono-nitrógeno son rara vez considerados. Según el radio de Redfield, la composición química promedio del fitoplancton es 106C; 16N; 1P ó 6.7C; 1N. Además, muchos medios de cultivo son ricos en nitrógeno, en comparación al carbono, por lo que el carbono puede convertirse en una limitante, dependiendo del rango de crecimiento del fitoplancton y dependiendo del área superficial a través de la cual el dióxido de carbono atmosférico se puede difundir. Cuando el pH del cultivo se aumenta rápidamente a 9 ó mayor, esto puede ser indicativo que hay deficiencia de carbono. Especies que pueden crecer rápidamente usando bicarbonato pueden ser factibles de crecer, por otra parte aquellas especies que son más dependientes del dióxido de carbono puede exhibir reducimientos en su rango de crecimiento o producción de células. Dependiendo del uso de agua de mar, se puede considerar el burbujeo de dióxido de carbono o agregar más bicarbonato en la fase exponencial tardía para asegurar que el carbono no sea deficiente en el crecimiento del alga. Esto es importante para aquellos experimentos fisiológicos en donde es esencial conocer que nutrientes es limitante durante la fase senescente (Andersen 2005: 26).

3. Traza de metales. Las trazas de metales y vitaminas generalmente son preparadas como soluciones stock primarias de alta concentración para permitir acumulaciones razonables de peso. Éstas son usadas como soluciones para trabajar en la solución final del medio. Debido a que las soluciones primarias o de trabajo son guardadas por grandes períodos de tiempo, la evaporación del medio puede ser un problema relevante. Generalmente las soluciones stock de trazas de metales pueden consistir de cloruros, sulfatos, sales de zinc, cobalto, manganeso, selenio y níquel, y pueden contener un agente quelante como EDTA. Las soluciones de hierro se guardan generalmente como soluciones separadas y

pueden contener ácido clorhídrico en una concentración de $10^{-2}M$ para evitar la precipitación. Puede ser agregado como cloruro de hierro, sulfato ferroso o sulfato de hierro y amonio (Andersen 2005: 27).

4. Vitaminas. Generalmente se utilizan tres vitaminas, vitamina B₁₂, tiamina y biotina, aunque muy pocas algas necesitan las 3. El orden general de necesidad de vitaminas es el siguiente, en orden de mayor necesidad a menor necesidad, vitamina B₁₂, tiamina y biotina. Si el cultivo a gran escala de una sola especie es el objetivo, se debe revisar que vitaminas son las necesitadas para la especie. Puede ser posible omitir la adición de dos de las tres vitaminas, debido a que la mayoría de las especies requiere solamente una o dos. Las vitaminas normalmente se agregan en forma aséptica después que el medio pasó por autoclave. Las vitaminas conservan su máximo potencial si ellas han sido esterilizadas por filtro (filtración de 0.2mm) antes de ingresar a la autoclave. La autoclave puede descomponer algunas vitaminas, pero es a través de esto que algunas algas son capaces de utilizar algunos de estos productos liberados. Las soluciones stock de vitaminas pueden ser refrigeradas por grandes períodos de tiempo sin presentar una degradación considerable, las soluciones stock deben ser refrigeradas nuevamente, después de utilizarlas (Andersen, 2005: 27).

C. Esterilización

La esterilización es el proceso de establecer condiciones asépticas, que consisten en remover o matar a todos los microorganismos. Esterilización es muy importante, especialmente cuando se desea mantener organismos vivos y aislados en cadenas dentro de un cultivo. El uso de técnicas de esterilización en combinación con equipo de esterilización y suministros, minimiza la contaminación, resultando en experimentos más precisos, libre de variables potenciales causantes por organismos no deseados. La esterilización no es un proceso complicado, pero deben tomarse ciertas precauciones cuando se trabaja con materiales esterilizados para evitar la contaminación. De hecho, una vez esterilizados los materiales, ellos son expuestos rápidamente a ser contaminados por el aire ambiental, el cual contiene polvo, esporas y microorganismos (Andersen, 2005: 65).

El término desinfectar, generalmente se confunde con esterilización. Desinfección es generalmente definido como la operación que mata o reduce el número de microorganismos patógenos en un ambiente o en una superficie. Por ejemplo, lavarse las manos y superficies como tablas y bancas con detergentes o etanol al 70% antes de manejar cultivos o equipo estéril, esto es un proceso de desinfección que usualmente forma parte de una técnica de esterilización (Andersen, 2005: 65).

Existen varios métodos de esterilización, los cuales pueden ser clasificados en cuatro categorías principales, esterilización por calor; esterilización por ondas electromagnéticas, esterilización usando filtración y esterilización química. La esterilización por calor es el método más comúnmente utilizado, y requiere de altas temperatura, mayores o iguales a 100°C, lo cual implica que los materiales a ser

esterilizados deben resistir altas temperaturas. Los líquidos son esterilizados por filtros cuando el líquido contiene componentes que son destruidos por las altas temperaturas. Las ondas electromagnéticas (rayos ultravioleta, rayos gamma, rayos x y microondas) se usan como una alternativa para materiales que tampoco puedan ser expuestos a altas temperaturas, por ejemplo muchos productos plásticos o líquidos con componentes lábiles (Andersen, 2005: 66).

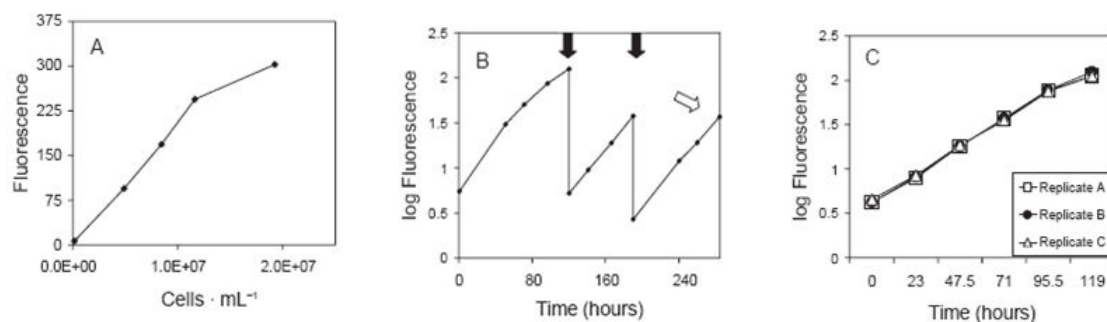
D. Métodos de purificación de microalgas

El objetivo de los métodos de purificación es obtener la viabilidad del cultivo de una única especie, libre de otras especies o contaminantes, como son eucariotas, procariotas o virus. La idea de un cultivo puro se inició al mismo tiempo de Koch y Pasteur en referencia a las bacterias. Se extendió posteriormente a los eucariotas, en donde por primera vez se acuñó el término uni-alga para un cultivo de una especie de alga, y que en el cultivo no se ha detectado contaminantes, a esto se le conoce con el nombre de *puro* o *áxeno*. El término *gnotobiótico* se usa generalmente para especies individuales grandes criadas libres de microorganismos o parásitos (Andersen, 2005: 66).

E. Método de monitoreo de crecimiento por fluorescencia

Una de las más populares medidas aproximadas para medir el número de células o biomasa es la fluorescencia, particularmente debido a que es un método de monitores de crecimiento rápido. El cual se basa en dos grandes asunciones, la más básica consiste en asumir es que la medida de fluorescencia del cultivo es directamente proporcional linealmente al crecimiento de la biomasa o número de células, y la segunda asunción consiste en considerar que la fluorescencia es detectable debido al gran rango de densidad celular generada. El método, en general, requiere que la suspensión de microorganismos sea uniforme en el cultivo, al menos en un período corto de tiempo en el cual se desea tomar la medida de fluorescencia (Andersen, 2005: 277).

(Figura 1. Método de fluorescencia para medir la biomasa de microalga producida.)



(Andersen 2005: 277).

F. Uso industrial de microalgas

1. Alimentos. Probablemente el primer uso de las algas fuera para alimentación humana. En Japón las algas bentónicas marinas componen una parte importante de la dieta. Las algas de agua dulce no son consumidas masivamente como alimento más que en algunas zonas de África o América, pero las cultivadas apenas se emplean con ese objeto. En general, su valor nutritivo es elevado, pero presentan problemas de digestibilidad debido a su pared celular de celulosa aunque el tipo de deshidratación puede favorecer la digestibilidad: así, las algas secadas en tambores calientes se digieren mejor que las secadas al sol. De todos modos, la importancia de las algas microscópicas en la dieta no debe menospreciarse: en especial, *Spirulina* se considera como una posible gran fuente de proteínas para los países hambrientos del globo. En el primer mundo *Spirulina* se consume bastante en pastillas para reducir el apetito. *Scenedesmus*, por otro lado, se ha probado con niños desnutridos a razón de 2 g diarios en la dieta sin ningún tipo de rechazo corporal y con una ganancia neta de 28 gramos de peso diarios frente a una dieta sin *Scenedesmus* (Cobelas, 1989: 43).

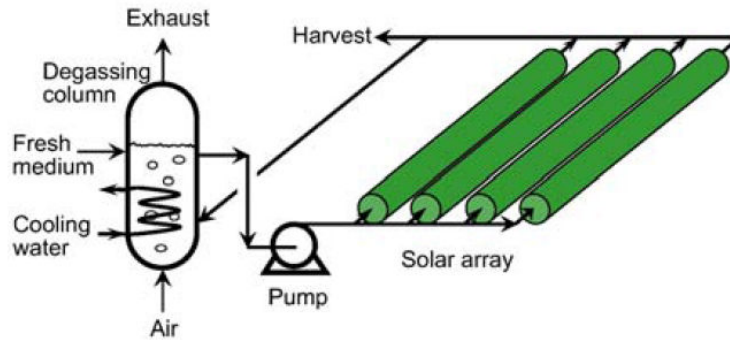
2. Fertilizantes. El uso de las algas bentónicas marinas como fertilizante es también antiguo. Aunque ya hace tiempo que se haya abandonado este uso en las agriculturas industrializadas. Las algas planetónicas no han sido excesivamente utilizadas en este sentido, pero resultan un fertilizante barato y de simple aplicación, ya que concentran en su interior nitrógeno y fósforo, además pueden administrarse a los cultivos mediante riego. La mayor parte del uso como fertilizante se ha llevado a cabo en Asia. Las experiencias se han realizado con Cianofíceas fijadoras de nitrógeno atmosférico, cultivadas masivamente e inoculadas en los campos de arroz donde siguen viviendo y añaden nitrógeno orgánico a los cultivos. En China se han obtenido incrementos del 10-20 % respecto a los campos no fertilizados de este modo. En la India se han obtenido resultados similares (Cobelas, 1989: 44).

G. Fotobiorreactores

Los fotobiorreactores permiten esencialmente el cultivo de una sola especie de microalga para duraciones prolongadas. Los fotobiorreactores han sido exitosamente utilizados para producir grandes cantidades de biomasa de microalgas (Chisti, 2007: 298).

Un fotobiorreactor tubular consiste en una serie de tubos rectos transparentes que son generalmente hechos de plástico o vidrio. Esta serie tubular, o el colector solar, es donde se captura la luz solar. Usualmente, los tubos tienen un diámetro de 0.1m o menos. El diámetro del tubo está limitado ya que la luz no penetra tan profundamente en el caldo denso de cultivo como para asegurar una productividad alta de biomasa del fotobiorreactor. El caldo de microalgas se circula desde un reservorio al colector solar y de regreso al reservorio. Se utiliza una operación de cultivo continua (Chisti, 2007: 298).

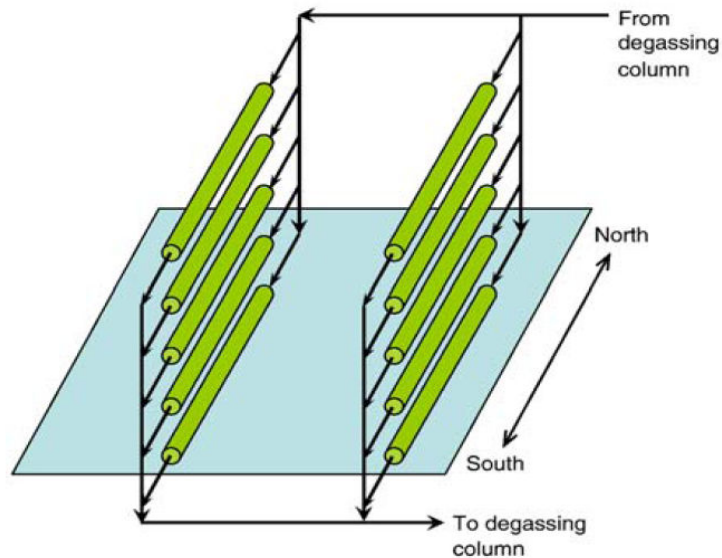
Figura 2. Fotobiorreactor tubular con tubos horizontales paralelos



(Chisti, 2007: 298)

El colector solar está orientado para maximizar la captura de luz solar. En un arreglo común, los tubos solares son colocados paralelamente uno con otro sobre el suelo. Algunas veces, tubos rectos horizontales paralelos se arreglan en forma de cerca, con el objetivo de incrementar el número de tubos que puede ser acomodado en un área dada. Los tubos siempre son orientados Norte – Sur (Figura 2). El suelo por debajo del colector solar es generalmente pintado de blanco, o cubierto con plástico blanco, para incrementar el reflejo. Un alto reflejo aumenta la luz total recibida por los tubos (Chisti, 2007: 298).

Figura 3. Colector solar tipo cerca

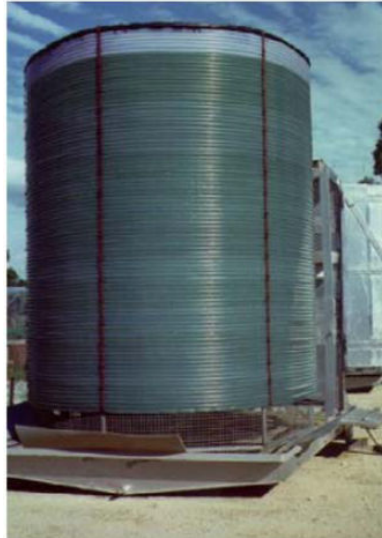


(Chisti, 2007: 298)

En vez de tener tubos horizontales sobre el suelo, los tubos pueden ser hechos de plástico flexible y enrollarse sobre un marco de soporte para formar un fotobiorreactor tubular helicoidal. Este tipo de

fotobiorreactor es potencialmente útil para el crecimiento de un volumen pequeño de caldo de microalgas (Chisti, 2007: 299).

Figura 4. Fotobiorreactor tubular helicoidal



(Chisti, 2007: 298)

Existen otras variantes de fotobiorreactores tubulares, pero no son ampliamente utilizadas (Chisti, 2007: 299)

La iluminación artificial para fotobiorreactores tubulares es técnicamente factible, pero es costosa comparada con la iluminación natural. Sin embargo, iluminación artificial ha sido utilizada en la producción de biomasa a gran escala, particularmente para productos de alto valor (Chisti, 2007: 299).

La sedimentación de biomasa en los tubos se previene manteniendo un flujo altamente turbulento. El flujo se produce utilizando una bomba mecánica o una bomba Airlift. Las bombas mecánicas pueden dañar la biomasa, pero son fáciles de diseñar, instalar y operar (Chisti, 2007: 299).

Las bombas Airlift se han utilizado exitosamente. Estas bombas son diseñadas utilizando los mismos métodos que fueron desarrollados originalmente para diseñar reactores Airlift convencionales. Son menos flexibles que las bombas mecánicas y requieren el suministro de aire para operar (Chisti, 2007: 299).

Los fotobiorreactores se deben limpiar y sanitizar periódicamente. Esto es fácil de realizar utilizando operaciones automatizadas de limpieza interior (Chisti, 2007: 299).

La fotosíntesis genera oxígeno. Bajo una alta irradiación, la velocidad máxima de generación de oxígeno en un fotobiorreactor tubular típico puede ser tan alta como $10 \text{ g O}_2 \text{ m}^{-3} \text{ min}^{-1}$. Los niveles de oxígeno disuelto que sean mucho mayores que los valores de saturación del aire inhiben la fotosíntesis. Además, una alta concentración de oxígeno disuelto en combinación con luz solar intensa produce daño fotooxidativo a las células de algas. Para prevenir la inhibición y el daño, el nivel máximo tolerable de oxígeno disuelto no debe exceder un 400% del valor de saturación del aire. El oxígeno no puede ser removido dentro del tubo del fotobiorreactor. Esto limita el largo máximo de un tubo continuo antes de que la eliminación de oxígeno sea necesaria. El cultivo debe regresar periódicamente a una zona de desgasificación, donde se suministra aire para eliminar el oxígeno acumulado. Generalmente, un tubo continuo no debe exceder los 80 m, pero el largo exacto depende de varios factores incluyendo la concentración de biomasa, la intensidad de la luz, la velocidad de flujo y la concentración de oxígeno a la entrada del tubo (Chisti, 2007: 299).

Además de remover el oxígeno disuelto acumulado, la zona de desgasificación debe eliminar todas las burbujas de gas del cultivo para que éste regrese a los tubos del colector solar libre de burbujas (Chisti, 2007: 299).

Debido a que la zona de desgasificación es generalmente más profunda comparada con los tubos del colector solar, es pobremente iluminada y, por eso, su volumen necesita mantenerse pequeño en comparación del volumen del colector solar (Chisti, 2007: 299).

Mientras el caldo se mueve a lo largo del tubo del fotobiorreactor, el pH aumenta debido al consumo de dióxido de carbono. El dióxido de carbono es alimentado en la zona de desgasificación en respuesta al controlador de pH. Puntos de inyección de dióxido de carbono adicionales pueden ser necesarios en intervalos a lo largo de los tubos para prevenir limitaciones de carbono y un aumento excesivo de pH (Chisti, 2007: 299).

Los fotobiorreactores requieren enfriamiento durante los períodos del día con luz solar. Además, el control de temperatura durante la noche también es útil. Por ejemplo, la pérdida de biomasa en la noche debido a la respiración puede ser reducida disminuyendo la temperatura en la noche. Los fotobiorreactores tubulares al aire libre son efectiva y económicamente enfriados utilizando intercambiadores de calor. Un intercambiador de calor helicoidal puede ser colocado en la columna de desgasificación. Alternativamente, el intercambiador de calor puede ser colocado en la vuelta tubular. Enfriamiento por evaporación con agua que ha sido esparcida en los tubos puede también utilizarse y ha sido exitosamente probado en climas secos (Chisti, 2007: 300).

1. Factores de diseño. Muchas configuraciones de fotobiorreactores han sido diseñadas y construidas, algunos de ellos van desde sistemas tubulares hasta sistemas cilíndricos, sistemas cónicos, sistemas de recipientes de caras planas, y estas configuraciones emplean gran variedad de fuentes de luz. Una de las consideraciones importante en el diseño de un fotobiorreactor es el método de cómo se proveerá la luz, cómo se circulará el alga, que materiales de construcción del fotobiorreactor, como proveer el dióxido de carbono y como remover el oxígeno, como controlar el pH y la temperatura. Sofisticaciones han sido conducidas para este propósito, y si la totalidad de la biomasa de alga es deseada como producto, sistemas no tan sofisticados pueden utilizarse para este propósito. Vidrio y acrílicos son ampliamente utilizados en la construcción de los fotobiorreactores, las luces son fabricadas de acrílicos y luz ultravioleta (UV), las cuales son más flexibles, fuertes y fácil de manejar (Andersen 2005: 191).

2. Luz. Es el parámetro más importante de diseño y construcción en un fotobiorreactor. A pesar de su importancia, la luz puede ser una muy difícil variable para medir y utilizar eficientemente. La luz puede ser suministrada continuamente o puede alternarse en ciclos de luz-oscuridad. Tan pronto la concentración de células cambia, los requerimientos de luz también cambian. El crecimiento del alga está limitado cuando existe muy poca luz, pero demasiada cantidad de luz puede ser perjudicial. Fotótrofos deben recibir suficiente luz, para que excedan su punto de compensación de luz para su crecimiento; crecimiento insuficiente resta un crecimiento del cultivo desde la red debido a una pérdida de respiración. Un aumento más allá del punto de compensación resulta en un incremento en el rango de crecimiento hasta que el cultivo llega al punto de saturación de luz, e intensidades mayores de luz pueden provocar fotoinhibición. La luz se refracta y se refleja cuando ésta pasa desde un medio de un índice de refracción hacia otro, excepto cuando este entra en el segundo medio a el ángulo normal (perpendicular a la superficie del segundo medio). Siempre que sea posible, la superficie del fotobiorreactor debe ser diseñado para minimizar la reflexión y refracción; los cuales son hechos con superficies curvadas cerradas parecidas a tubos que tendrán menos capacidad de luz en comparación con aquellos que poseen caras planas (Andersen 2005:191).

La clorofila posee un coeficiente de extinción muy alto, esto significa que es muy buena absorbiendo la luz. Para una concentración de células, la intensidad de la luz transmitida a través del cultivo, cae rápidamente mientras la distancia desde la fuente de luz debido a la gran absorción de luz que tiene la clorofila. A altas concentraciones de células, cerca de la luz incidente, puede ser absorbida solamente por una capa de células, y el resto de células estarán virtualmente en oscuridad. Por consecuencia, en los fotobiorreactores generalmente tienen camino de luz cortos, un agitado adecuado y circulación adecuada de la intensidad de luz, mientras se provee un intercambio eficiente de gas y buen control de pH y temperatura (Andersen 2005: 192).

Las lámparas incandescentes son inferiores a otras lámparas y rara vez se usan en fotobiorreactores. Ambas lámparas, fluorescentes y descarga de alta intensidad tienen buena eficiencia eléctrica y tiempo de vida sustancial. Las lámparas fluorescentes distribuyen la luz más o menos uniformemente a lo largo de la lámpara; la luz emana desde su punto de emisión en una lámpara de descarga de alta intensidad, requiere distancia entre la lámpara y el alga para proveer una dispersión adecuada de la luz. Sin embargo las lámparas de descarga de alta intensidad son ligeramente más eficientes que las lámparas fluorescentes (Andersen 2005:192).

Figura 5. Comparación de fuentes de luz en fotobiorreactores.

| Característica | Incandescentes | Fluorescentes | Descarga de alta intensidad |
|--------------------------------|-----------------------|----------------------|------------------------------------|
| Eficiencia Eléctrica | 11% | 23% | 24% |
| Tiempo de vida (horas) | 1,000 | 20,000 | 24,000+ |
| Distribución del diseño | Punto | Lineal | Punto |
| Lúmen/Watt | 17 | 79 | 89 |

(Andersen 2005: 192).

3. Circulación. La circulación es importante para asegurar la óptima iluminación de las algas, el adecuado intercambio de gas, y el control de pH y temperatura dentro del cultivo. Se utiliza el principio de “airlift”, el cual crea una circulación adecuada por medio de la creación de diferencias en la densidad del agua en diferentes regiones del fotobiorreactor, este principio es común en los fermentadores y fue adaptado para su uso en fotobiorreactores (Andersen 2005:193).

4. Intercambio de gas. Fotobiorreactores pueden burbujear aire, pero debido a la baja concentración de dióxido de carbono en el aire (0.033%) esto presenta usualmente un límite para el crecimiento fototrófico. Con un flujo de aire de 1 L/min, asumiendo que todo el dióxido de carbono es usado y que la biomasa producida es 50% carbono, entonces es suficiente para soportar 3.54×10^{-4} gramos de biomasa/min, lo cual representa una baja producción. La solución más simple consiste en mezclar aire con dióxido de carbono externo. Debe tenerse mucho cuidado, para asegurar que el dióxido de carbono no disminuya los niveles de pH en el cultivo, además, en un sistema abierto, la mayoría del dióxido de carbono saldrá del recipiente sin ser utilizado. Pequeños tamaños de burbujas ayudan a facilitar la difusión, otra estrategia es usar el dióxido de carbono como control de pH en el cultivo. Adicionando dióxido de carbono se acidifica el medio de cultivo, aunque el consumo de nitratos por medio del alga causa una alcalización del medio de cultivo. El sistema usa un controlador de pH, que activa una válvula solenoide para admitir dióxido de carbono al sistema en respuesta a la alcalización del medio. En la práctica, el sistema trabaja bien mientras la absorción de nitratos sea continua. Además si la alcalización se detiene, entonces no es agregado dióxido de carbono al cultivo y el dióxido de carbono puede convertirse rápidamente en una limitante del proceso (Andersen, 2005: 193).

Tan importante como es agregar dióxido de carbono al medio, lo es el remover el oxígeno presente. Excesos de oxígeno provocan daño por foto-oxidación e incrementan los rangos de foto-respiración, ambos en decremento de la producción total. Si el fotobiorreactor continúa burbujear con aire o mezcla aire/dióxido de carbono, los niveles de oxígeno se mantendrán cercanos a los valores del aire ambiental, sin embargo, el dióxido de carbono se convertirá en limitante. Un sistema sofisticado consiste en remover el oxígeno mediante períodos de purga de gas nitrógeno, esto promueve un uso más eficiente del dióxido de carbono y permite además que los niveles de oxígeno se reduzcan por debajo del aire ambiental. Esta purga de nitrógeno, puede ser periódica o controlada por un sensor de oxígeno (Andersen, 2005: 193).

5. Temperatura y pH. Después de la luz, dióxido de carbono y oxígeno, el pH y la temperatura es el siguiente parámetro más importante como medida y control. Afortunadamente, ambos son parámetros relativamente simples de controlar con toda la tecnología disponible actualmente. Los sistemas fotosintéticos siempre generaran calor debido a la ineficiencia de la fotosíntesis en convertir la energía lumínica en energía química. La conversión teórica de luz roja en energía química (NADPH) es solamente del 31%, esto quiere decir, 69% de pérdidas en calor. La cantidad de refrigeración depende de la incidencia de la intensidad de luz y de la concentración de la luz, es decir, de cuanta luz ha sido absorbida, pero a pesar de ello, la refrigeración siempre será necesaria. La refrigeración la proporciona un sistema de intercambio de calor, donde el agua enfriada circula a través de un material conductor, el cual señala el calor proveniente del fotobiorreactor (Andersen, 2005: 194).

6. Esterilización. Para muchos fotótrofos, la contaminación por bacterias y hongos no es un problema significativo debido a que son generalmente muy pocos los organismos que pueden soportar el estar libre de carbono para soportar su crecimiento. La mayor preocupación debe ser prevenir la contaminación de otros fotótrofos no deseados. Los fotobiorreactores están hechos de materiales ópticamente limpios, que no se prestan por sí solos a una esterilización por vapor. Además, el tamaño de la mayoría de los fotobiorreactores excede el espacio que posee una autoclave, por lo que no se pueden acomodar para esterilizarlo. Se han propuesto soluciones, esterilizando mediante ozono, pero estos sistemas resultan ser muy costosos y difíciles de utilizar. Una práctica más sencilla para la esterilización es utilizar soluciones desinfectantes, como por ejemplo, hipoclorito de sodio. Compresores, bombas, analizadores y equipos pueden ser protegidos de las mismas algas y de otros organismos mediante el uso de un prefiltro adecuado (Andersen 2005: 194).

III. Justificaciones

En los últimos años ha crecido la importancia de utilizar biomasa proveniente de microalgas para fines alimenticios, farmacéuticos y energéticos entre otros. La razón principal radica en la gran variedad de especies y posibles usos que puede dársele a las mismas; así como por su facilidad de obtención, debido a que la mayoría de lagos y cuerpos de agua del país se encuentra en un estado de eutrofización debido a la gran cantidad de nutrientes presentes en los mismos; además de la relativa facilidad que representa su crecimiento en estos lugares.

Un fotobiorreactor pretende simular las condiciones de crecimiento de microalgas, con el fin de aumentar el número de las mismas en períodos de tiempo relativamente cortos y en condiciones del medio controladas (temperatura, potencial de hidrógeno-pH, presión, entre otros), para ello utiliza un medio de cultivo adecuado, que proporciona los nutrientes adecuados para el crecimiento de la microalga, inyección de dióxido de carbono y la energía solar u artificial para que las microalgas puedan realizar la fotosíntesis.

El tema de la biotecnología ha cobrado gran importancia en la actualidad, se ha desarrollado una amplia variedad de tecnologías que permiten controlar de mejor manera la naturaleza, crecimiento, inoculación, purificación y aislamiento de las cepas adecuadas para los procesos industriales. Entre las aplicaciones que poseen las microalgas en función de algunos componentes que las conforman, tienen importancia en la Industria farmacéutica, en la Industria alimenticia, como alimento de crianza de otros animales y como fuente de energía alternativa, ya que se han realizado estudios que demuestran que ciertas especies de microalgas tienen una cantidad importante de aceite en su biomasa, lo cual las hace candidatas para ser una materia prima para fabricación de biodiesel, especialmente debido a que no compite con alguna otra industria como a la alimenticia por ejemplo, lo cual es el problema de la mayoría de fuentes de biocombustibles.

Los beneficios desde el punto de vista de Ingeniería Química radican en el hecho de que si el fotobiorreactor puede ser capaz de producir biomasa a un ritmo de tiempo y costo aceptable, esta biomasa puede utilizarse para futuros estudios de extracción de aceite para fabricación de biodiesel y contribuir ambientalmente de dos formas distintas, la primera de ellas sería el hecho de que el cultivo de microalgas consume dióxido de carbono para su fotosíntesis, el cual es un gas efecto invernadero; por otra parte las microalgas pueden utilizarse para combatir lagos eutrofizados del país, pues consumen los nutrientes que se desechan en los mismos limitando su concentración, reduciendo así la población de cianobacterias de los mismos, para luego formar biomasa y que posteriormente será extraída con facilidad; además promovería la reducción del uso de combustibles fósiles, por medio de la fabricación de biodiesel a partir de microalgas.

Por todas estas razones, es importante realizar el Fotobiorreactor, para analizar la posibilidad de obtener un crecimiento de biomasa en un ritmo de tiempo adecuado, que sea económicamente factible y sea seguro para el usuario.

IV. Objetivos

A. General

- Diseñar y montar un Fotobiorreactor Tubular Continuo que aproveche la luz artificial y la inyección de dióxido de carbono, así como de un medio de cultivo que proporcione los nutrientes adecuados para el crecimiento de biomasa a partir de microalgas.

B. Específico

1. Construir un sistema adecuado para la succión y recirculación de medio de cultivo hacia el tanque mediante una bomba peristáltica con capacidad de $2.1 \times 10^{-4} \text{ m}^3/\text{s}$ (3.4gal/min), motor de 0.25kW (1/3hp), para lograr el mayor tiempo de residencia posible.
2. Construir un sistema de saturación de dióxido de carbono en el tanque de alimentación y lo conduzca a través de un sistema de dos tubos de vidrio de 0.057m (2.25pulg) de diámetro.
3. Diseñar un sistema de iluminación artificial con luz fría, utilizando lámparas fluorescentes de 750 lúmenes y 20W para regular los períodos de estrés de la microalga.
4. Realizar un monitoreo diario de crecimiento de biomasa en el fotobiorreactor mediante métodos espectrofotométricos por medio de la realización de curva Calibración de Porcentaje de Transmitancia en función de concentración de microalgas, así como control de los parámetros de temperatura, pH.
5. Realizar el Balance de Masa y Energía del Fotobiorreactor Tubular continuo.
6. Diseñar un análisis económico de los costos en que se incurre al realizar el proyecto y realizar una simulación de posibles costos y ganancias del proceso, mediante el método de Valor Presente Neto, analizando la rentabilidad del proceso a escala industrial y planta piloto.

V. Problema a resolver

Debido a la gran cantidad de cuerpos de agua en estado de eutrofización en el país, y el gran potencial que representan las microalgas en porcentaje de aceite, propiedades farmacéuticas y alimenticias, es necesario realizar estudios que ayuden a desarrollar técnicas de crecimiento de biomasa a partir de microalgas por medio de fotobiorreactores, donde se obtengan cantidades importantes de biomasa en un tiempo razonable, que sea económicamente viable, y que con la biomasa producida, se pueda utilizar industrialmente como complemento alimenticio, para animales, fertilizantes, compuestos farmacéuticos y pueda extraerse su aceite para la producción de biodiesel a partir de microalgas.

VI. Metodología

El diseño y construcción del Fotobiorreactor Tubular continuo para el crecimiento de biomasa a partir de microalgas, necesitará de ocho fases para la realización del mismo, las cuales son las siguientes.

La primera fase consiste en el desarrollo de las bases de diseño, las cuales incluyen la formulación de los objetivos y justificación del proyecto, en donde se examina la importancia de la realización del proyecto, los beneficios que puede conllevar y las posibles aplicaciones. En esta parte además se define la serie de pasos y metas a conseguir en el montaje del equipo. Ésta es la fase más importante ya que representa los cimientos para las fases subsecuentes del proyecto.

La segunda fase consiste en una revisión bibliográfica tanto de las microalgas, las cuales son la fuente de biomasa, sus necesidades de crecimiento, fotosíntesis, propiedades y consideraciones importantes; así como una revisión de la teoría de fotobiorreactores, distintos diseños, aplicaciones de los distintos diseños, ventajas y desventajas de los diseños propuesto en la literatura y proyectos semejantes o relevantes al proyecto. Esta revisión bibliográfica, se realizará en libros especializados en microalgas, biotecnología, fotobiorreactores; así como la consulta de artículos científicos que hayan utilizado el cultivo y uso de alguna especie de microalga para algún proceso industrial.

La tercera fase consiste en el diseño y cálculos del fotobiorreactor tubular continuo, tomando como base los objetivos de la primera fase y las bases teóricas de la segunda fase. Aquí se diseña un sistema succión del medio de cultivo que proporcionará los nutrientes necesarios para el crecimiento de la microalga, por medio de una bomba peristáltica de motor de 0.25kW (1/3hp), que permitirá la dosificación de la mezcla medio de cultivo/microalga, por la totalidad del fotobiorreactor sin dañar a la microalga; así como el diseño de un sistema de inyección de dióxido de carbono a contracorriente, en tubos de vidrio de 0.057m (2.25pulg) de diámetro, un sistema de iluminación artificial con luz fría con lámparas fluorescentes de 750 lúmenes y 20W.

La cuarta fase consiste en el montaje del equipo, el acoplamiento del tanque de alimentación, la bomba peristáltica de succión y recirculación de la mezcla de medio de cultivo/microalgas en el sistema. Aquí se evalúan posibles fugas, caídas de presión, tiempos residencia del líquido, posible daño de la microalga. Se probarán los diseños propuestos en la fase anterior, y se realizaran las modificaciones pertinentes.

La quinta fase consiste en el montaje del sistema de inyección de dióxido de carbono al sistema de tubos de vidrio de dos pulgadas. En esta fase se evalúan las mejores opciones para dicho sistema, se

analizan posibles fugas, sobrepresión en el sistema y sistema de seguridad tanto para el fotobiorreactor como para el usuario. Se probaron los diseños propuestos en la tercera fase de diseño y se hicieron las modificaciones pertinentes.

La sexta fase consiste en la puesta en marcha del fotobiorreactor, iniciando con una especie conocida de microalgas a una concentración inicial determinada, en un medio de cultivo adecuado, bajo la inyección de dióxido de carbono a contracorriente y la exposición a la luz fría. Se analizó su crecimiento y propiedades como temperatura, potencial de hidrógeno (pH), presión y concentración. El control de crecimiento se realizó tomando muestras diarias y realizando pruebas espectrofotométricas, mediante la realización de una curva de calibración de Porcentaje de Transmitancia en función de concentración de una microalga conocida a concentraciones determinadas. La temperatura se controló por medio de termómetros, el potencial de hidrógeno (pH) por medio de potenciómetro.

La séptima fase consiste en la recolección de datos, luego de obtener la cantidad de datos suficientes provenientes de la fase anterior. En esta fase se aceptan o rechazan las hipótesis propuestas por el proyecto, además se hizo un análisis de viabilidad del proyecto, mediante el análisis económico de los costos y posibles beneficios económicos que el proyecto representó, utilizando como herramienta el Método del Valor Presente Neto, así como el desarrollo de un análisis estadístico de los datos.

La octava fase consistió en realizar el informe de resultados, mediante el acoplamiento de la información obtenida en las fases anteriores. En el informe de resultados se documentó lo descubierto por el proyecto, con la finalidad de ayudar a futuros estudios referentes al tema.

VII. Resultados

A continuación se presenta la descripción de los equipos y materiales que conforman el Fotobiorreactor Tubular Continuo, los diagramas del mismo, el diagrama de flujo con el Balance de Masa y Energía, así como los parámetros de crecimiento de la microalga.

Tabla 1
Especificaciones del Fotobiorreactor Tubular continuo

| Cantidad | Equipo | Descripción |
|----------|------------------------|---|
| 1 | Tanque | Polietileno 40 cm de altura 20 cm diámetro fondo 8 cm diámetro alimentación |
| 1 | Bomba Peristáltica | Motor 0.25kW(1/3 hp) Voltaje 115/208-230V Operación continua Frecuencia 60Hz y 1745 rpm Material Carcasa: Hierro Negro Material Rotor: Acero Inoxidable |
| 1 | Manguera de hule | 0.914 m (30 pies)de largo Diámetro interno 0.0127m (1/2 pulg) Diámetro externo 0.0190m (3/4 pulg) |
| 2 | Tubos de vidrio | 60 cm de largo Diámetro 0.057m (2.25 pulg) |
| 2 | Codos de 45° | PVC Diámetro 0.0510m (2 pulg) |
| 2 | Lámparas fluorescentes | Luz fría 750 lúmenes 20W de potencia 9000 horas de vida Filamento 610mm 0.61m (24 pulg) de largo |

Figura 6. Vista éarea de Fotobiorreactor Tubular Continuo. Modelado en AutoCad 2009.

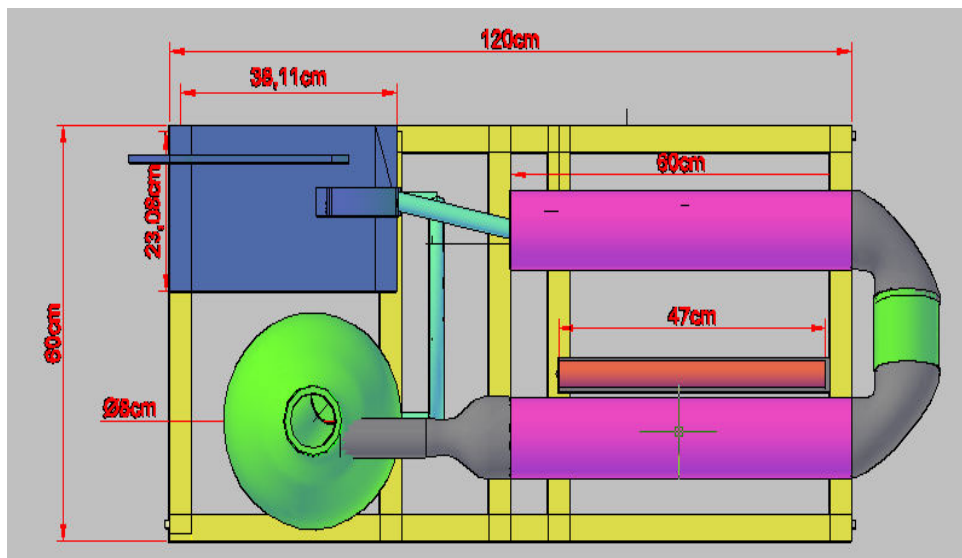


Figura 7. Vista frontal de Fotobiorreactor Tubular Continuo. Modelado en AutoCad 2009.

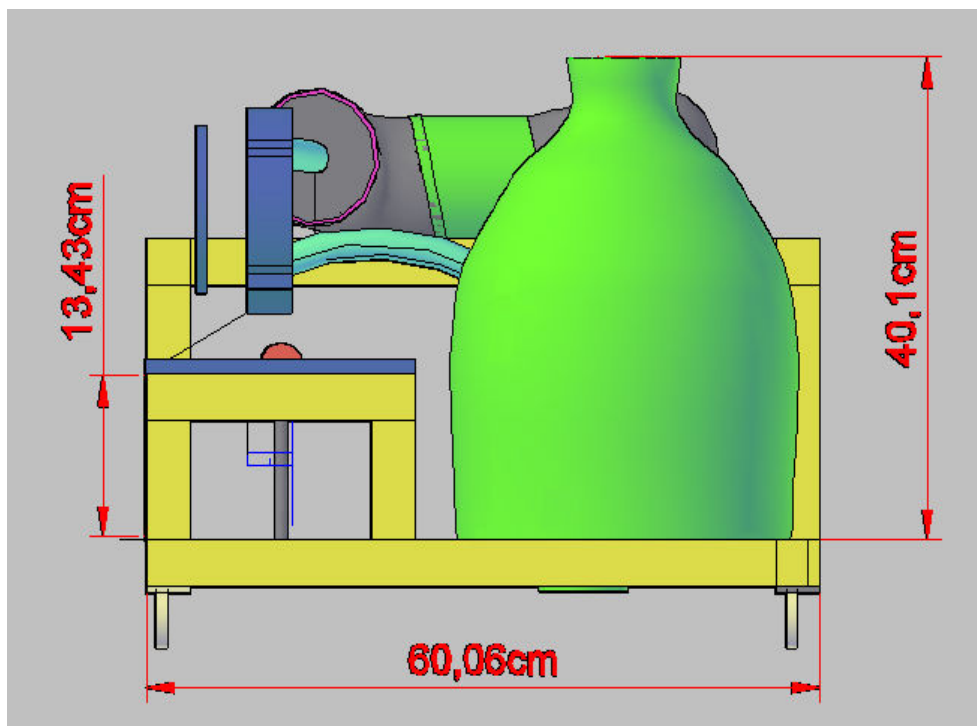


Figura 8. Vista lateral de Fotobiorreactor Tubular Continuo. Modelado en AutoCad 2009.

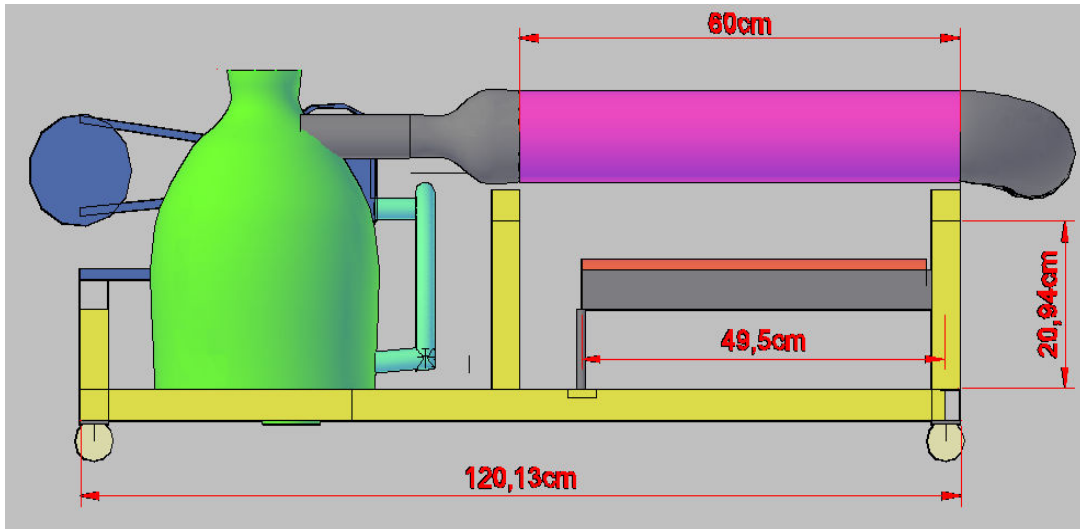


Figura 9. Vista isométrica de Fotobiorreactor Tubular Continuo. Modelado en AutoCad 2009.

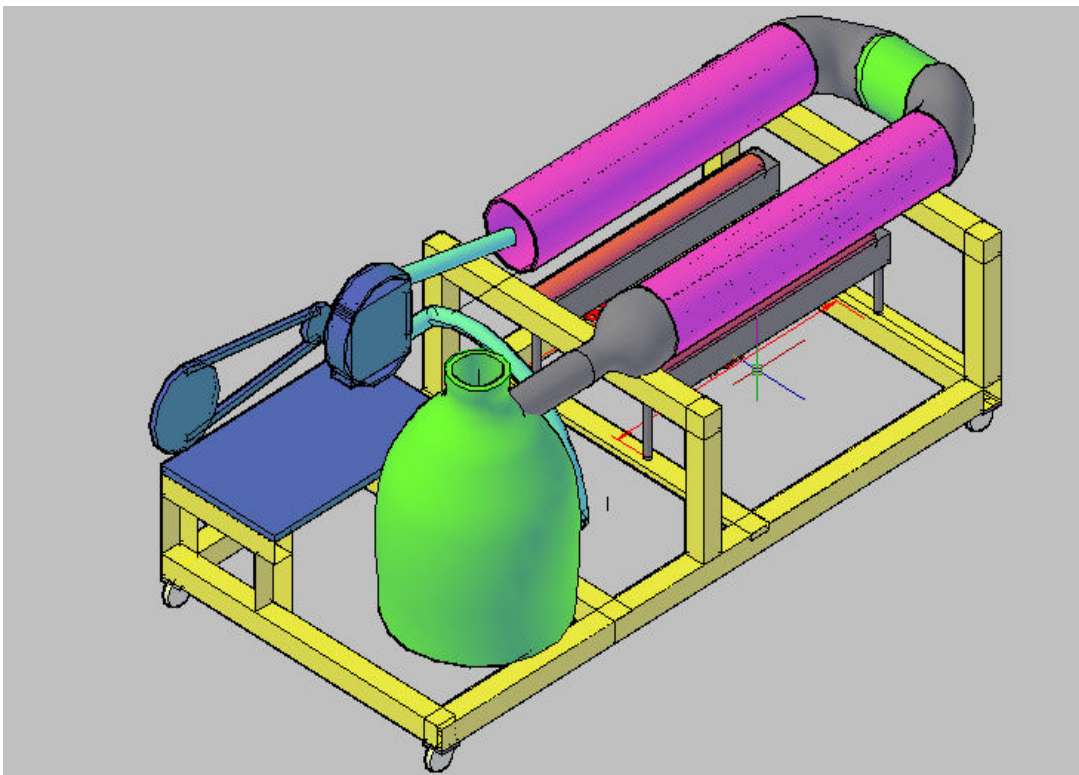


Figura 10. Vista isométrica de estructura base del Fotobiorreactor Tubular Continuo. Modelado en AutoCad 2009.

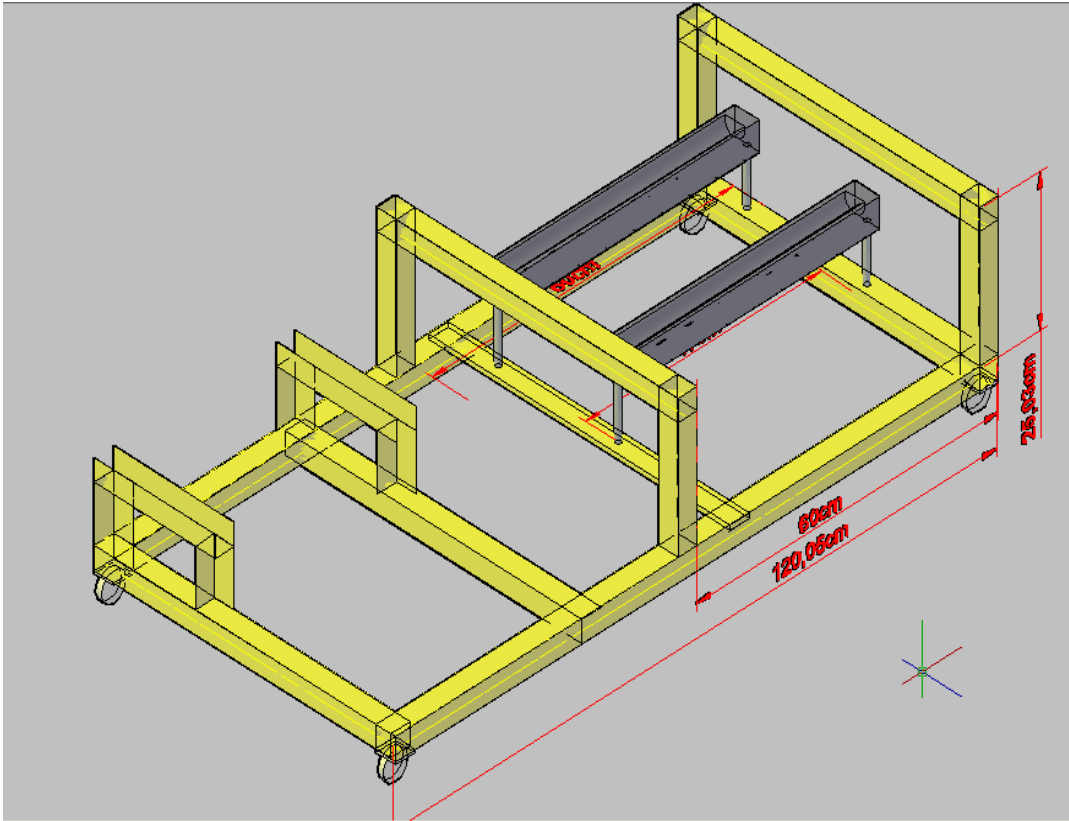
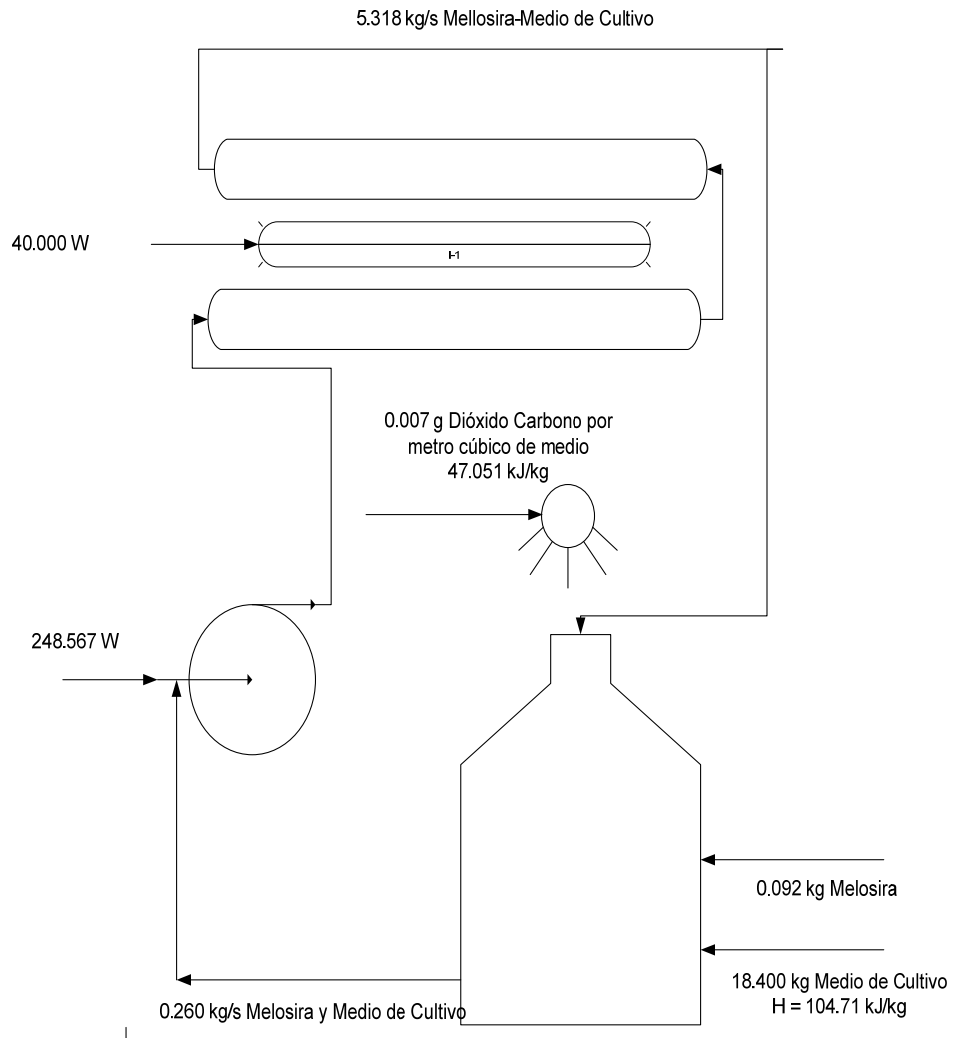
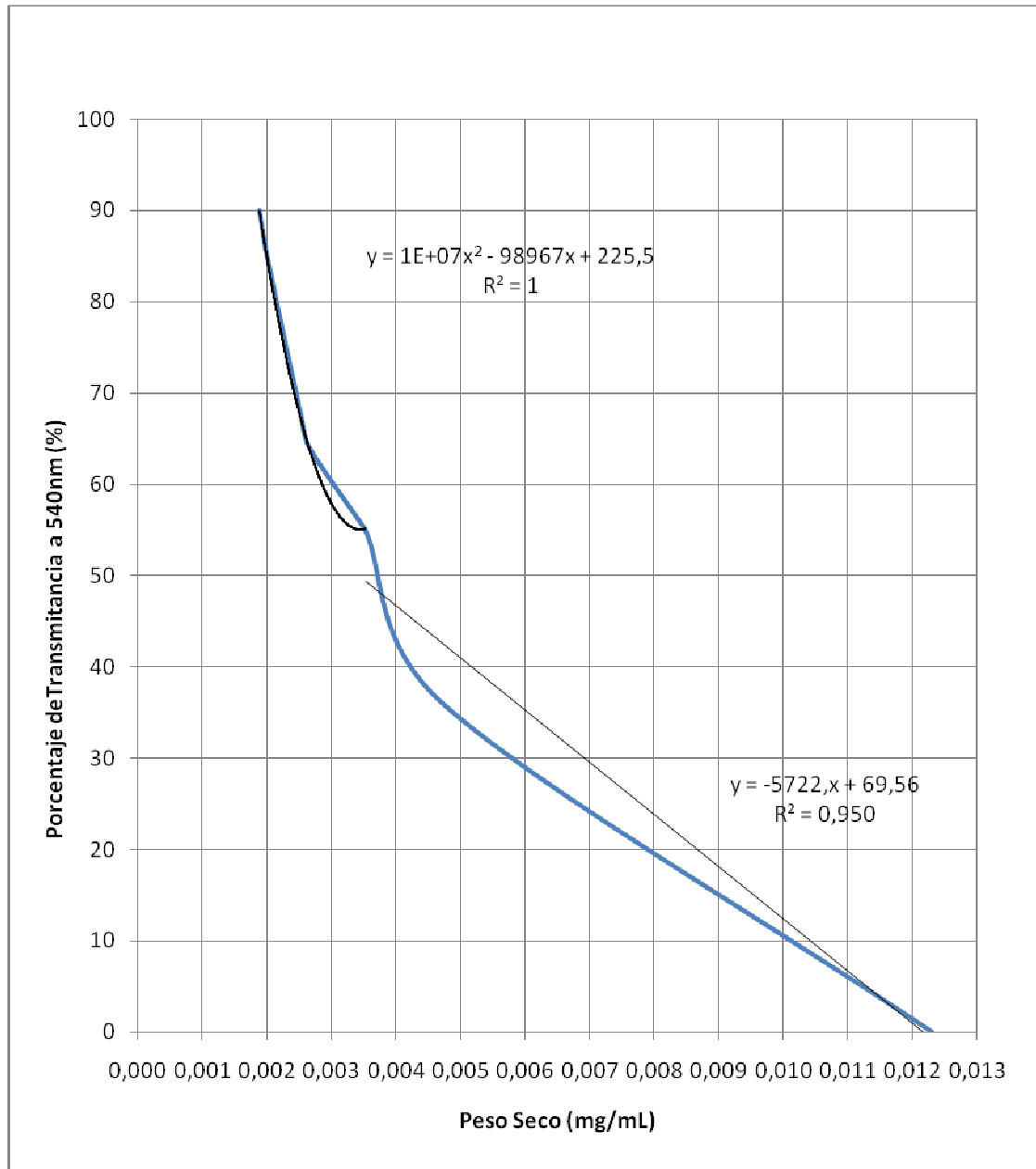


Figura 11. Diagrama de flujo y balance de masa y energía del Fotobiorreactor Tubular Continuo.



Gráfica 1

Curva de calibración porcentaje de transmitancia en función del peso seco de *Melosira sp.*



Gráfica 2

Monitoreo de crecimiento de cultivo de *Melosira sp.* en el Fotobiorreactor Tubular continuo

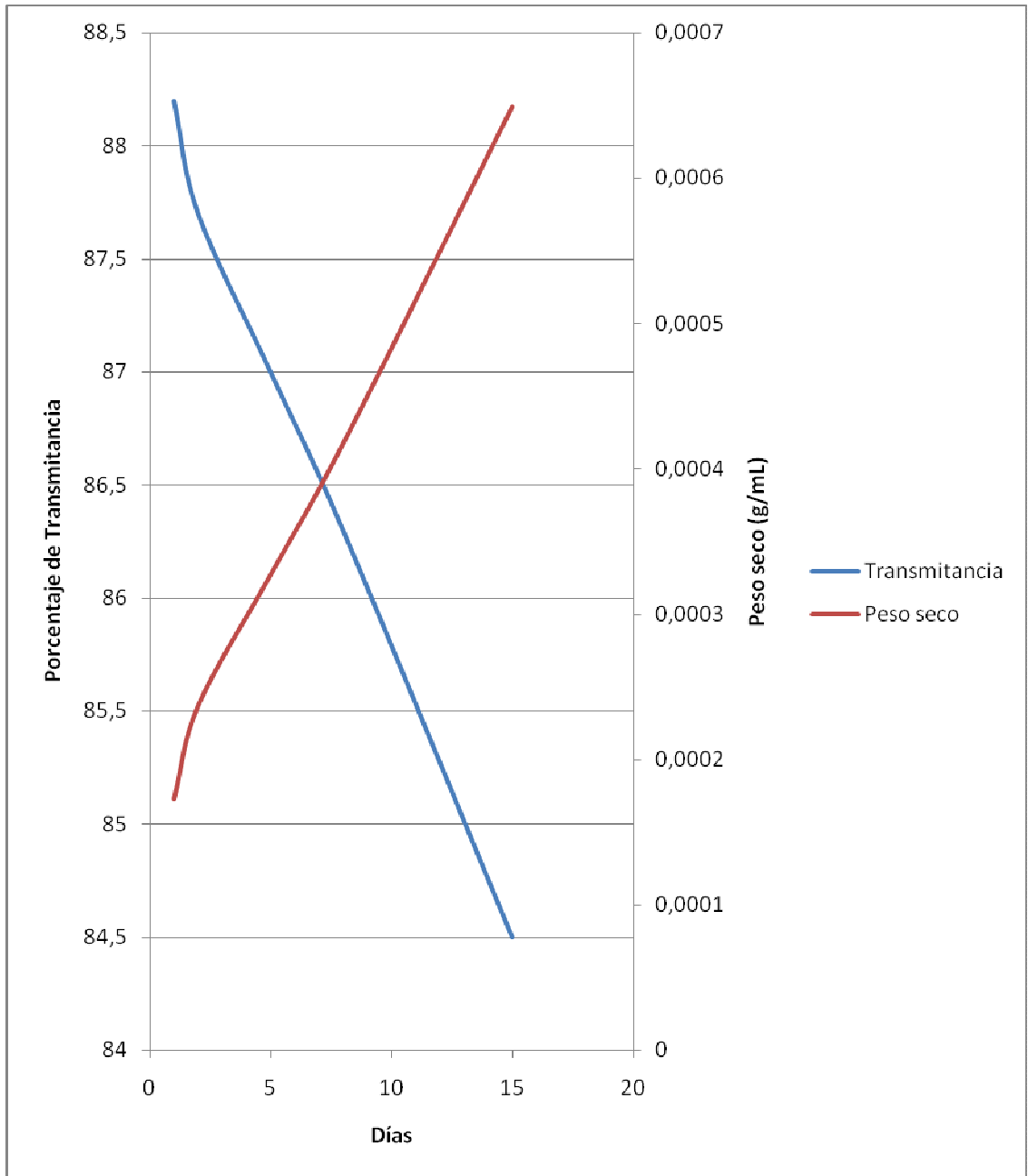


Tabla 2

Análisis económico de Fotobiorreactor Tubular Continuo construido así como la simulación a las condiciones que lo hacen rentable

| Costo de Equipo (Q) | Valor Presente Neto de la Inversión VAN Escala Planta Piloto a una producción de 11.36kg anuales (Q) | Valor Presente Neto de la Inversión VAN Escala Industrial a una producción de 150 kg anuales (Q) |
|---------------------|--|--|
| -3949.99 | -3923.92 | 2084.96 |

Tabla 3

Biomasa, tasa de crecimiento producida y tiempo de residencia de *Melosira sp* en el Fotobiorreactor Tubular Continuo

| Biomasa inicial (± 0.49 g <i>Melosira sp.</i> seca) | Biomasa producida (± 1.86 g <i>Melosira sp.</i> seca) | Tasa de crecimiento (± 0.13 g <i>Melosira sp.</i> $/m^2 \cdot \text{día}$) | Tiempo de residencia (± 0.01 min) |
|--|--|--|--|
| 2.59 | 9.73 | 127.13 | 1.16 |

VIII. Discusión

El objetivo del proyecto es diseñar y montar un Fotobiorreactor Tubular Continuo que aproveche la luz artificial y la inyección de dióxido de carbono, así como de un medio de cultivo que proporcione los nutrientes adecuados para el crecimiento de biomasa a partir de microalga.

La primera fase del proyecto es el diseño del fotobiorreactor, se decidió utilizar un Fotobiorreactor Tubular debido a que el mismo presenta las mayores tasas de crecimiento publicadas; es el fotobiorreactor con mayor información bibliográfica publicada; el flujo que se genera en los tubos es turbulento, lo cual ahorra un sistema de agitación; los tiempos de residencia de la microalga son mayores en comparación del resto de fotobiorreactores; se puede aprovechar de mayor manera la absorción de luz, debido a que los tubos del fotobiorreactor son diseñados del mismo tamaño que las lámparas fluorescentes de luz fría, por lo cual al sedimentarse la biomasa producida en los tubos, tiene contacto directo con la irradiación de luz y finalmente la facilidad de remoción de la biomasa producida y desmonte para limpieza es sencilla.

Seguidamente se debe elegir la cepa de microalga adecuada para el fotobiorreactor y el medio de cultivo. La cepa seleccionada es *Melosira sp.*, la cual es una microalga que puede sobrevivir tanto en agua salada, como en agua dulce, pertenece al género de las diatomeas, se agrupa en colonias de cadenas cilíndricas, la cual la hace adecuada para resistir el estrés del transporte por todo el fotobiorreactor y es una cepa con potencial contenido de aceite. El medio de cultivo adecuado es el f/2 de Guillard, el cual consiste en soluciones de sales de sodio, silicatos, soluciones de trazas de metales y soluciones de vitaminas (Ver Apéndice F). Se debió ajustar el medio que poseía una salinidad de 50‰ y llevarlo a una salinidad de 25‰ por medio de agua destilada.

El siguiente paso consiste en establecer las condiciones para determinar el volumen del fotobiorreactor, en donde se asume un porcentaje de crecimiento del 60%, es decir, que solamente el 60% de la cepa plantada es capaz de reproducirse, el resto es biomasa muerta o en la fase senescente de su crecimiento; además se asume que la velocidad lineal es 1.69m/s, esto es debido a que en general para agua sin ninguna partícula se manejan velocidades lineales entre 1.2m/s y 1.5m/s, sin embargo en el fotobiorreactor tubular continuo se maneja agua con microalga, que tiende a sedimentarse, por lo tanto se desea generar una velocidad lineal alta que genere un estado de flujo turbulento que evite la sedimentación; finalmente se asume una velocidad de crecimiento de 237 kg/m³·s la cual es una velocidad de crecimiento teórica esperada. Luego se realiza la integral proveniente de la ecuación de velocidad del sistema y se encuentra que el fotobiorreactor ideal posee un volumen de 0.0134m³, el cual a su vez por factores de seguridad y futuros cambios

al mismo, se toma en cuenta un factor de sobrediseño del 10%, entonces el volumen final del fotobiorreactor es de 0.0147m^3 o 15.00L. El siguiente paso consiste en seleccionar el equipo que conformará el fotobiorreactor tubular continuo, se inicia con el tanque de almacenamiento de medio de cultivo, se preparó 15.00L de Medio de cultivo para satisfacer la totalidad del volumen del fotobiorreactor, lo cual es un típico lote para un crecimiento a escala piloto como el que se tiene, está fue la base de diseño para el tanque, se desea que aproximadamente el 58.00% del medio de cultivo con microalgas se encuentre en el tanque, esto debido a que es precisamente en el tanque donde se satura de dióxido de carbono a la mezcla medio de cultivo/microalgas, entonces quiere decir que aproximadamente 8.78L del medio de cultivo debe encontrarse en el tanque, pero debido a que el medio de cultivo va a ser recirculado, se debe contemplar un espacio de diseño adecuado para el retorno de la mezcla, se decidió utilizar un 10% de sobrediseño, lo cual da como resultado un tanque de 10.00L (2.64gal), el material utilizado es polietileno debido a que posee una resistencia adecuada para el agua de mar, componente principal del medio de cultivo y el mismo es un material económicamente viable. La saturación de dióxido de carbono al medio, se realiza en el tanque como se mencionó, se realiza obteniendo el dióxido de carbono del aire, ya que el mismo contiene aproximadamente 385ppm de CO_2 en volumen, entonces el tanque tiene una capacidad de almacenar 7.0×10^{-6} g de dióxido de carbono por litro de aire, ésta es una dosis muy diluida de dióxido de carbono para el cultivo, la razón de utilizarla es debido a que se desea mantener un control del pH del medio de cultivo, esto con el fin de que la cepa de *Melosira sp.* se adapte de mejor forma al fotobiorreactor, en el momento en que la cepa se hace más fuerte y se adapta a las condiciones ofrecidas, puede iniciarse un estudio utilizando directamente dióxido de carbono, siempre que se mantenga un control del pH; la forma de alimentar el dióxido de carbono es mediante el compresor del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Universidad del Valle, utilizando un sistema de mangueras que lo transporta hacia un filtro que elimina las impurezas y humedad del aire. El siguiente equipo principal es la bomba que transporta la mezcla de medio cultivo/microalgas del tanque hacia los tubos de vidrio, la bomba ideal para este trabajo es una bomba peristáltica rotatoria, la cual es una bomba de desplazamiento positivo, que posee un rotor con dos cojinetes a sus extremos, los cuales comprimen y expanden una manguera de hule de 0.0127m (1/2 pulg) de diámetro interno, esta compresión/expansión de la manguera provoca la succión y descarga de la mezcla de medio de cultivo/microalgas, la ventaja de este tipo de bomba es que el líquido a ser manipulado nunca está en contacto con la bomba, esto es clave en el proyecto, debido a que asegura la asepsia del proceso, evita la contaminación de la microalga con algún otro microorganismo que compita con ella y evita atascar o dañar partes de la propia bomba. El caudal deseado generado por la bomba es de $2.14 \times 10^{-4} \text{m}^3/\text{s}$ (3.40 gpm) y una velocidad lineal de 1.69m/s, esto produce un Número de Reynolds de 132,787.12, lo cual es un régimen turbulento, el cual es adecuado para evitar la excesiva sedimentación de la microalga en los tubos de vidrio. La bomba peristáltica fue realizada por un taller local de mecánica, y se utilizó como base una

patente ya vencida. El siguiente componente importante son los tubos de vidrio, se utilizan dos tubos de vidrio para compartir el 42% de la mezcla medio de cultivo/microalga que no se encuentra en el tanque, se cuenta con tubos de vidrio de 0.057m (2.25pulg) de diámetro y distintos tamaños, utilizando geometría y la ecuación de continuidad se encuentra que el largo óptimo de los tubos es de 0.60m de largo, dichos tubos son asegurados por medio de abrazaderas de 0.051m (2.00 pulg), las cuales fueron forradas con un papel de textura suave para amortiguar el impacto provocado al cerrar la abrazadera y evitar posibles fracturas del vidrio. Ambos tubos se unieron mediante dos codos de 45° de 0.051m (2.00pulg) de diámetro, las cuales a su vez fueron unidas por una tubería de PVC de igual diámetro. Justamente debajo de los tubos de vidrio se encuentran dos lámparas fluorescentes de luz fría de 750 lúmenes, 20W y 9000 horas de tiempo de vida. El sistema de descarga y limpieza del sistema se encuentra al final del segundo tubo de vidrio, consta de una manguera de depurador de 0.057m (2.25 pulg) de diámetro, la cual se encuentra unida al tubo de vidrio únicamente por una abrazadera, para facilitar su retiro en caso de limpieza u obtención de biomasa producida, a este sistema también se encuentra adaptado el sistema de recirculación de la mezcla medio de cultivo/algas y el sistema de recolección de muestras. El tiempo de residencia promedio dentro del fotobiorreactor es de 1.16min Finalmente se debe diseñar una estructura que soporte los equipos antes mencionados, la estructura se presenta en la Figura 10 de la sección resultados, consiste en una estructura móvil de 1.20x0.60m, se sostienen los tubos de vidrio por dos arcos de 0.25m de alto y 0.60cm de largo, sobre los cuales se colocan las abrazaderas que soportan a los dos tubos de vidrio, justamente debajo de los tubos de vidrio, se colocan dos lámparas fluorescentes de luz fría, sostenidas por tensores de 0.0127m (1/2 pulg). La bomba se encuentra sostenida por una estructura de arcos y rieles, la cual coloca la manguera de descarga a la misma altura que la alimentación hacia los tubos de vidrio, esto para evitar pérdidas de presión y disminución del flujo.

Luego de finalizar el montaje y construcción del fotobiorreactor, se debe esterilizar el mismo, con el fin de limpiarlo y eliminar cualquier fuente de contaminación cruzada de microorganismos que puedan competir con la cepa de *Melosira sp.* Para la esterilización se realizó 10L de una solución de 9ppm en hipoclorito de sodio al 3.56%, la cual fue alimentada en el fotobiorreactor; seguido de esto se hizo varias lavadas con agua destilada con el fin de eliminar cualquier residuo de cloro en el sistema, finalmente se hicieron lavados con agua a 70°C, luego de esto, no se espera que sobreviva ningún patógeno ajeno al estudio. Después de estar estable y estéril el fotobiorreactor, se procede a esterilizar el medio de cultivo, el cual se lleva a cabo en una autoclave a 120°C por 20 minutos, esto se hace para asegurar que el medio de cultivo tampoco presente microorganismos que interfirieran con el estudio. Seguidamente se dejó estabilizar el medio de cultivo a la temperatura ambiente, debido a que la cepa de *Melosira sp* se encuentra entre 20-30°C de temperatura para que pueda realizar todas sus funciones de la mejor manera. Al

alcanzar esas condiciones en el fotobiorreactor, se procede a plantar la cepa vaciando el contenido de la misma en el tanque de saturación y se da inicio al monitoreo de crecimiento.

El cultivo se monitoreó por 15 días, los parámetros controlados fueron pH del medio de cultivo, temperatura y porcentaje de transmitancia. El porcentaje de transmitancia es el parámetro designado para medir el crecimiento de biomasa, el porcentaje de transmitancia mide la cantidad de luz que una muestra deja pasar a través de ella, así un 100% de transmitancia indica que la totalidad de la luz atraviesa la muestra y por el contrario un 0% de transmitancia indica que la luz no atraviesa la muestra. Se decidió utilizar este método indirecto de monitoreo de crecimiento de biomasa debido a la rapidez con la que se obtiene un resultado. Para validar el método propuesto se realizó una curva de calibración, tomando una solución concentrada del cultivo, y hacer diluciones de la misma, las diluciones fueron las siguientes, 1/10; 1/100; 1/1000 y 1/10000. A estas soluciones se les midió el porcentaje de transmitancia y por medio de una centrifugadora, horno y balanza analítica se determinó el peso seco de biomasa de microalgas por unidad de volumen. La Gráfica 1 representa el porcentaje de transmitancia en función del peso seco para las soluciones de *Melosira sp.* la cual tiene una tendencia variable, en el rango de 90% a 50% de transmitancia la tendencia es polinómica de orden 2, con un R^2 de 1.00, mientras que en el rango de 40% a 0% es bastante lineal como era de esperarse, posee un R^2 igual a 0.95, se puede notar que el porcentaje de transmitancia es inversamente proporcional a la biomasa de microalga producida, reflejada en el peso seco de la muestra. El objetivo principal de esta gráfica es la obtención de un modelo matemático confiable, que pueda indicar la cantidad de biomasa producida durante el período de estudio en el fotobiorreactor, por lo que el usuario solamente debe ingresar el porcentaje de transmitancia cada día y obtener inmediatamente el valor que representa en peso seco de *Melosira sp.* Es importante mencionar que esta gráfica, solamente es válida para el Fotobiorreactor Tubular Continuo construido y para la cepa de *Melosira sp.* En la Gráfica 2 se encuentra el valor de porcentaje de transmitancia y peso seco de *Melosira sp.* durante el período de 15 días de análisis del proyecto, en la cual se puede notar un crecimiento de 9.73 ± 1.86 g de biomasa seca, en esta gráfica puede notarse como se obtuvo el crecimiento de la cepa en el fotobiorreactor a lo largo de los 15 días, nuevamente se puede notar que la transmitancia disminuye al aumentar los días de estudio, ejemplificando de otra manera el crecimiento de la cepa en el fotobiorreactor. La tasa de crecimiento por área del fotobiorreactor es 127.13 ± 0.13 g *Melosira sp.*/m²·día, la cual se obtuvo dividiendo la biomasa producida entre el área de los dos tubos de vidrio y los 15 días de cultivo. En la Gráfica 3 se puede notar el control de las propiedades de pH y temperatura, respecto al pH se puede notar que el mismo creció, de 8.040 a 7.518, lo cual evidencia la absorción de dióxido de carbono por parte de la mezcla medio de cultivo/microalga, debido a la acidificación del mismo. Es importante notar que el pH se mantuvo entre 7 y 8, los cuales son los valores adecuados para la mayoría de microalgas, así como su

temperatura, la cual nunca sobrepasó los 30°C, favoreciendo también de esta forma el cultivo. Tanto la disminución del porcentaje de transmitancia, la acidificación del medio de cultivo y el aumento del peso seco de la muestra evidencia que sí existe un crecimiento de biomasa en el fotobioreactor.

Para el balance de masa y energía del sistema se tiene como entradas al tanque de alimentación 0.092kg de *Melosira* con 18.400 kg de medio de cultivo con una entalpía de 104.71kJ/kg y 0.007g de Dióxido de carbono con 47.051 kJ/kg de entalpía. La salida del tanque es una mezcla de medio de cultivo/microalgas con 0.260kg/s de flujo másico, y finalmente la recirculación de la mezcla medio de cultivo/microalgas es de 5.318 kg/s de flujo másico. Al sistema adicionalmente entra energía por parte de la bomba peristáltica de 248.567W y 40W por parte de las lámparas fluorescentes de luz fría. El balance de masa se realizó mediante la ecuación de continuidad.

Se analizaron los datos estadísticamente, básicamente se hicieron 4 análisis, en el primero de ellos se presenta las estadísticas descriptivas del monitoreo; como segundo se realizó un análisis de varianza de dos factores con una sola muestra; como tercero se llevó a cabo un análisis de correlación entre las variables de tiempo, porcentaje de transmitancia, pH y temperatura y finalmente se realizó un análisis de regresión lineal para la curva de calibración tanto de transmitancia como de peso seco.

Entre las estadísticas descriptivas más importantes se puede notar que la media para el porcentaje de transmitancia es de 86.74% con una desviación estándar de 1.44, una mediana de 87.00, un nivel de confianza al 95% de 1.79, se puede notar por medio del límite de confianza, desviación estándar y media que la distribución es bastante parecida a ser normal, ya que la totalidad de los datos se encuentran entre la media \pm Límite de Confianza, además presentan un valor de curtosis igual a 0.82, lo cual al ser bastante parecido al valor de 0.00 indica que la distribución es bastante simétrica, como puede comprobarse en la Gráfica 2; por otra parte se puede notar que la media del pH es de 7.66 con una desviación estándar de 0.22, con una mediana de 7.62, con un límite de confianza al 95% de 0.27 y un valor de curtosis igual a 3.43, lo cual indica que la distribución es asimétrica positivamente como se puede notar en la Gráfica 3; para la temperatura se tiene una media de 24.12°C, con una desviación estándar de 1.06, una mediana de 24.30°C, un límite de confianza al 95% de 1.32 y un valor de curtosis de 2.45, lo cual indica que la distribución es asimétrica positivamente.

En análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupos indica que entre filas (al pasar el tiempo del análisis) la probabilidad P es de 0.16, debido a que $P > 0.05$, lo que

significa que no existen diferencias significativas entre el paso de días y el crecimiento de biomasa, esto es debido a que en 15 días no se logra llegar a la fase de crecimiento exponencial, lo que se puede notar comparando la Gráfica 2 de monitoreo de la biomasa producida. El análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupos indica que entre columnas (porcentaje de transmitancia, pH y Temperatura) la probabilidad P es de 1.59×10^{-14} , debido a que $P < 0.05$, lo que significa que existen diferencias significativas entre las propiedades de porcentaje de transmitancia, pH y temperatura a lo largo del tiempo, esto significa que la respuesta de las tres propiedades es distinta para cada una a lo largo del tiempo.

El análisis de correlación indica que entre los días y el porcentaje de transmitancia existe un coeficiente de correlación de -0.99; el coeficiente de correlación entre los días y el pH es de -0.71; el coeficiente de correlación entre los días y temperatura es de -0.94; el coeficiente de correlación entre el porcentaje de transmitancia y el pH es de 0.75; el coeficiente de correlación entre el porcentaje de transmitancia y la temperatura es de 0.95 y finalmente el coeficiente de correlación entre el pH y la temperatura es de 0.76. Debido a que un coeficiente de correlación cercano a 1 indica una alta correlación, se puede concluir que la más alta correlación se encuentra entre el porcentaje de transmitancia y la temperatura.

Se realizó un análisis económico de Costo del fotobiorreactor tubular continuo y una simulación económica de su operación mediante el análisis del Valor Presente Neto VAN. El costo del equipo se hizo mediante las cotizaciones y facturas de las piezas adquiridas, debido a que el fotobiorreactor fue construido y montado, estos datos eran conocidos, el costo total es de Q3949.99 de los cuales el rubro más caro del fotobiorreactor lo representa la bomba peristáltica rotatoria, la cual tiene un costo de Q2500, seguido de las lámparas fluorescentes de luz fría Q500 ambas y los tubos de vidrio con un costo de Q200, los precios detallados del equipo pueden observarse en la sección de Apéndice (Ver Apéndice D). Para el Análisis del Valor Presente Neto, se llevó a cabo una simulación de las condiciones de operación del fotobiorreactor tubular continuo, tomando como base datos de la literatura y fotobioreactores similares bajo condiciones ideales. Las asunciones más importantes son las siguientes, se asume un costo de producción de \$2.95/kg de biomasa producida; la cepa de microalga posee un 30% de peso en aceite; el precio del biodiesel de microalga actual es \$1.40/L (Q44.10/gal); la producción anual del fotobiorreactor es 11.36kg de biomasa; la densidad del aceite de microalga es 900 kg/m^3 ; se asume un 10% de aumento de producción cada año, debido a la mejor adaptación de la cepa utilizada; al final de los 10 años el fotobioreactor tiene un valor de salvamento del 50% de su precio inicial, esto debido a que todos los componentes del fotobiorreactor son adecuados para operaciones continuas; la depreciación se asume lineal y la tasa de interés manejada es 15%. Con todos estos datos asumidos, se realiza la simulación y se obtiene el flujo de caja del proyecto a 10 años, tomando en

cuenta que debido a la vida útil de las lámparas fluorescentes, debe hacerse reinversiones cada dos años para sustituirlas, con estos datos se obtiene un VAN para el fotobiorreactor construido de -Q3923.92, lo cual indica que la rentabilidad del proyecto a 10 años para la prueba piloto no es factible. Esto es lógico, primeramente debido a que los costos de producción son superiores al costo de venta del producto final, debido a que los costos de producción son \$2.95/kg y el precio de venta del biodiesel es \$1.4/L (\$1.6/kg), además es importante mencionar que mientras no se invierta en investigación para proyectos que hagan más eficiente a los fotobiorreactores, que se desarrollen metodologías más eficientes para la extracción y elaboración del biodiesel a partir de microalgas, el proyecto no será rentable. Otro aspecto que afecta la rentabilidad es el hecho de que las pruebas piloto en su gran mayoría son no rentables, debido a que se requiere de una gran inversión y la producción no lo justifica, para hacer rentable el proyecto se debe de maximizar la producción de biomasa, esto solo se puede lograr con un equipo de escala industrial. El flujo de caja detallado se encuentra en Apéndice (Ver Apéndice D). A escala industrial, producción de 150kg de biomasa producida, lograda en fotobiorreactores más grandes y con mayor número de unidades, el proyecto ya es rentable, se obtienen ganancias a partir del segundo año (ver Apéndice D), y se obtiene un VAN igual a Q2084.96, haciendo rentable el proyecto, siendo más específicos, esta cantidad es lograda con 6 fotobiorreactores tubulares continuos, con dos tubos de 0.057m (2.25pulg) y 1m de largo.

Es importante mencionar que esta simulación de rentabilidad económica se basó en datos reportados por otros estudios, realizados en países con mayor tecnología y recursos, por lo cual los datos asumidos como costo de producción, cantidad de producción, precio de venta entre otros pueden estar sujetos a cambiar en nuestro país, el objetivo de esta simulación es resaltar los aspectos que se deben enfocar para hacer rentable esta tecnología y ser un punto de partida para futuros estudios más profundos en materia de viabilidad económica de fotobiorreactores.

Tomando en contexto los resultados obtenidos en este proyecto, junto con el análisis estadístico y económico se puede decir que se cumplieron los objetivos principales, al diseñar un fotobiorreactor tubular continuo que pudiera producir biomasa a partir de una cepa de microalga, en este caso *Melosira sp*, se logró diseñar un método de monitoreo de crecimiento que fuera rápido y diera una idea de la cantidad de biomasa producida.

Las limitaciones más importantes de este proyecto han sido el hecho de no poder cuantificar de una forma más exacta la biomasa producida, monitorear el consumo de nutrientes del medio de cultivo y la absorción de dióxido de carbono, aumentar la cantidad de dióxido de carbono absorbido por la muestra y llevar un control fotográfico del estado fisiológico de las

microalgas, para monitorear posibles deformaciones provocadas por el sistema. Todas las mejoras respecto a estas limitaciones se detallan en la sección de recomendaciones.

Es importante mencionar que en la actualidad, el país está teniendo problemas por la eutrofización de muchos de sus cuerpos de agua dulce debido a que muchos de los desechos han ido a parar a las cuencas de los lagos y se han acumulado muchas reservas de fósforo, nitrógeno y otros nutrientes, lo que ha provocado la proliferación de cianobacterias y otros organismos que hacen ver a los cuerpos de agua de una manera desagradable, como se colocan en la superficie de los lagos, impiden el paso de luz hacia el fondo del lago, afectando la vida marina en ella, todo esto forma un gran problema ambiental y social, que no tiene una solución clara y viable. Sin embargo debido a las características de las microalgas, de consumir los nutrientes que se encuentran en el lago, convertir el dióxido de carbono en oxígeno con ayuda de la luz solar y su fotosíntesis, y su increíble adaptabilidad a casi cualquier medio, el uso de microalgas para reducir la contaminación con nutrientes en los cuerpos de agua contaminados es una opción que sería ambientalmente amigable, no costosa y podría utilizarse la biomasa producida para otros fines como son extracción de aceite para fabricación de biodiesel, alimento de peces, usos farmacéuticos y alimenticios entre otros.

IX. Conclusiones

- Se logró producir 9.73 ± 1.86 g de biomasa de *Melosira sp* en 15 días de cultivo con una tasa de producción de 127.13 ± 0.13 g *Melosira sp*/m²·día con el diseño de fotobiorreactor tubular continuo propuesto.
- La saturación del medio de cultivo con dióxido de carbono se realizó por medio de la inyección de aire a un filtro a una razón de 7.0×10^{-6} g de CO₂ por litro de medio de cultivo.
- El flujo másico de entrada al fotobiorreactor tubular continuo es de 0.260kg/s de Medio de cultivo/microalga, mientras el flujo de salida es de 5.318kg/s, se maneja un Número de Reynolds de 132,787.12 y el tiempo de residencia de la mezcla medio de cultivo/microalga dentro de los tubos de vidrio es 1.16min.
- El modelo matemático para monitorear el crecimiento de biomasa por medio de porcentaje de transmitancia en la región de 90% a 50% es $\text{Transmitancia} = -1 \times 10^7 \cdot (\text{Peso Seco})^2 - 98967 \cdot (\text{Peso Seco}) + 225.5$ con un R² de 1.00.
- El modelo matemático para monitorear el crecimiento de biomasa por medio de porcentaje de transmitancia en la región de 50% a 0% es $\text{Transmitancia} = -5722 \cdot (\text{Peso Seco}) + 69.56$.
- La distribución de porcentaje de transmitancia a lo largo del tiempo de estudio es simétrica con un coeficiente de curtosis cercano a 0 e igual 0.82.
- No existe diferencias significativas entre el paso de los días y el crecimiento de biomasa según el análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo.
- Existen diferencias significativas entre las propiedades de porcentaje transmitancia, pH y temperatura según el análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo.
- Existe una alta correlación entre el porcentaje de transmitancia y la temperatura debido a que posee un coeficiente de correlación de 0.95.
- El costo del fotobiorreactor tubular continuo es de Q3949.99
- El Valor Presente Neto del Proyecto a 10 años es de -Q3923.92 lo cual hace la prueba piloto no rentable.
- Para que el proyecto sea rentable se deben producir 150kg de biomasa anual, el Valor Presente Neto del Proyecto a 10 años bajo estas condiciones es de Q2084.96 lo cual hace rentable el proyecto.
- Las microalgas son una posible solución a la reducción de la eutrofización de cuerpos de agua dulce debido al consumo de nutrientes que demanda su reproducción.

X. Recomendaciones

- Se recomienda el uso de un fluorómetro con su cubeta especial para clorofila como forma de monitorear el crecimiento de biomasa.
- Se recomienda colocar un temporizador para controlar mejor los períodos de iluminación con las lámparas fluorescentes y el accionamiento de la bomba peristáltica rotatoria.
- Se recomienda para futuros cultivos utilizar directamente alimentación por medio de tanques de dióxido de carbono y realizar mezclas de aire-dióxido de carbono después de 15 días de estudio.
- Se recomienda realizar el análisis de cada cultivo en un período mínimo de 1 mes.
- Se recomienda llevar un control por medio de microscopio de la microalga para monitorear deformaciones, crecimiento y contaminación con otros microorganismos.
- Se recomienda realizar una nueva curva de calibración en caso de utilizarse otra cepa distinta a *Melosira sp.*
- Se recomienda realizar un mantenimiento a la bomba peristáltica y la manguera al finalizar un cultivo.
- Se recomienda llevar un control del consumo de nutrientes del medio de cultivo por medio de cromatografía para monitorear la eficacia del medio de cultivo.
- Se recomienda diseñar una estructura que maximice el aprovechamiento de la luz en los tubos de vidrio y diseñar una estructura que proteja los tubos de vidrio de cualquier golpe.
- Se recomienda diseñar una estructura que evite que la manguera sea succionada por el rotor y la atasque.

XI. Bibliografía

- Andersen, R. 2005. *Algal Culturing Techniques*. Elsevier Academic Press. China. Pp. 578.
- Barsanti, L. y P. Gualtieri. 2006. *Algae. Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*. Taylor and Francis Tour. Estados Unidos. Pp. 301.
- Chisti, Yusuf. 2007. *Biodiesel from microalgae*. *Biotechnology Advances* 25. Págs 294-306
- Cobelas, M. y T. Gallardo. 1989. *Una revisión sobre la biotecnología de las algas*. Departamento de Biología Vegetal 1, Facultad de Biología, Universidad Complutense. Madrid. Pp. 60.
- Gil, M., Santinelli, N., Albarrancín, I y J. Esteves. 2001. *Incorporación de Nutrientes provenientes del efluente cloacal de la ciudad de Puerto Madryn por Fitoplancton (Bahía Nueva, Patagonia, Argentina)*. Centro Nacional Patagónico. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de la Patagonia. Argentina. Pp. 5
- Hizpeter, I., Shene, C. y L. Masson. 2006. *Alternativas Biotecnológicas para la producción de ácidos grasos poliinsaturados omega-3*. *Revista, Grasas y Aceites*. Julio-Septiembre 2006. Chile. Pp. 8.
- López, J. 1990. *Cultivos Semicontinuos de Cuatro Especies de Microalgas con Medios Simplificados: Evaluación de Técnicas analíticas y de producción*. Tesis. Centro de Investigaciones Científicas y Educación Superior de Ensenada. División de Oceanología. Departamento de Ecología Marina. Pp. 163.
- Mantecon, E., Unamunzaga, C. y C. Cañavete. *Diseño de un Fotobiorreactor Tubular para el cultivo masivo al exterior de la microalga marina Nannochloropsis gaditana en la bahía de Cádiz*. Centro de Investigación y Cultivo de especies marinas “El Toruño”. Cádiz, España. Pp. 2.
- Mitchell, D., Krieger, N. y M. Berovic. 2006. *Solid-State Fermentation Bioreactors*. Springer Editor. Brasil. Pp. 447.
- Octagon S.A., Biocombustibles. 2006. *Planta Industrial de Producción de Biodiesel partiendo a través de aceites vegetales*. Guatemala. Pp. 39
- Putt, R. 2007. *Algae as a Biodiesel Feedstock: A Feasibility Assessment*. Universidad de Auburn, Alambama. Estados Unidos. Pp. 47.

- Sánchez, H., Juscamaita, J., Vargas, J. y R. Oliveros. 2008. *Producción de la Microalga Nannochloropsis oculata en Medios enriquecidos con ensilado biológico de pescado*. Departamento Académico de Biología, Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. Pp. 11.
- Scheper, T. 1998. *Bioprocess and Algae Reactor Technology, Apoptosis*. Springer Editor. Alemania. Pp. 259.
- Seckbach, J. 2007. *Algae and Cyanobacteria in Extreme Enviroments*. Springer Editor. Israel. Pp. 811.

XII. Apéndice

Apéndice A.

Cálculos de diseño

- Diseño de Fotobiorreactor Tubular

Bases de diseño:

- Se asume un porcentaje de conversión de 60%
- Se desea un flujo másico en los tubos de 5.32kg/s
- Se desea una velocidad de reacción de 237 kg/m³·s

$$dV = F_A \int \frac{dX_A}{r_A} \quad \text{Ecuación 1}$$

Integrando se obtiene

$$V = \frac{F_A X_A}{r_A} \quad \text{Ecuación 2}$$

$$V = \frac{(5.32 \text{ kg/s})(0.60)}{(237 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3 \cdot \text{s}})} = 0.0134 \text{ m}^3$$

Se tomará un 10% de sobrediseño:

$$V_f = 1.10V \quad \text{Ecuación 3}$$
$$V_f = 1.10(0.0134 \text{ m}^3) = 0.0147 \text{ m}^3 \approx 0.015 \text{ m}^3 (15L)$$

- Diseño de equipo

Base de diseño: Se utilizará un lote de 15L (3.96gal) de medio de cultivo f/2 de Guillard basado en su mayoría por Agua Salada (densidad = 1,226.83kg/m³ a 25°C y 25% de salinidad).

- Diseño de tanque

Se desea que un 58% de la totalidad del medio de cultivo se encuentre en el tanque.

$$V_{EN\ TANQUE} = 0.58V_{MEDIO\ DE\ CULTIVO} \quad \text{Ecuación 4}$$

$$V_{EN\ TANQUE} = 0.58(15L) = 8.78L \ (2.32ga)$$

Se desea que el tanque se encuentre a 90% de su capacidad debido a la recirculación del medio de cultivo.

$$V_{TANQUE} = 1.10V_{EN\ TANQUE} \quad \text{Ecuación 5}$$

$$V_{TANQUE} = 1.10(8.78L) = 10L \ (2.64gal)$$

- Diseño de tubos

Se cuenta con dos tubos de 2 ¼ pulgadas (0.057m) de vidrio de distintos tamaños, se desea que el 42% del medio cultivo se encuentre en ellos.

$$V_{TUBOS} = 0.42V_{MEDIO\ DE\ CULTIVO} \quad \text{Ecuación 6}$$

$$V_{TUBOS} = 0.42(15L) = 6.32L \ (1.64gal)$$

$$V_{TUBOS} = 0.0062 \text{ m}^3$$

$$Largo_{TUBOS} = \frac{V_{TUBOS}}{n D_{TUBOS}^2} \quad \text{Ecuación 7}$$

$$Largo_{TUBOS} = \frac{(0.0062m^3)}{(\pi \cdot (0.057m)^2)} = 0.60m$$

* Se utilizarán 2 tubos de vidrio para no crear sobrepresión sobre la tubería de vidrio y evitar posibles fracturas del mismo.

- Bomba peristáltica

Se desea mantener un régimen turbulento de flujo (Número de Reynolds > 2400), por lo que se propone un caudal de $2.14 \times 10^{-4} \text{ m}^3/\text{s}$ (3.4gmp) y una velocidad lineal de 1.69 m/s.

$$Q = \frac{\pi}{4} d_{MANGUERA}^2 \cdot u \quad \text{Ecuación 8}$$

$$d_{MANGUERA} = \left(\frac{4 \cdot Q}{\pi \cdot u} \right)^{0.5} \quad \text{Ecuación 9}$$

$$d_{MANGUERA} = \left(\frac{4(2.15 \times 10^{-4} \text{ m}^3/\text{s})}{\pi(1.69 \text{ m/s})} \right)^{0.5} = 0.01269 \text{ m}$$

$$N_{RE} = \frac{u \cdot D_{TUBOS} \cdot \rho}{\mu} \quad \text{Ecuación 10}$$

$$N_{RE} = \frac{\left(\frac{1.69 \text{ m}}{\text{s}} \right) (0.057 \text{ m}) \left(\frac{1226.83 \text{ kg}}{\text{m}^3} \right)}{\frac{8.90 \times 10^{-4} \text{ kg}}{\text{m} \cdot \text{s}}} = 132,78$$

$$N_{RE} = 132,787.12$$

$$Q = 30\pi^2 d_{\text{MANGUERA}}^2 f r \quad \text{Ecuación 11}$$

$$f = \frac{Q}{30\pi^2 d_{\text{MANGUERA}}^2 r} \quad \text{Ecuación 12}$$

$$f = \frac{(2.14 \text{ m}^3/\text{s})}{30\pi^2 (0.01269 \text{ m})^2 (2.54 \times 10^{-2} \text{ m})} = 1767 \text{ rpm}$$

- Balance de masa

$$m_{\text{ALIMENTACIÓN}} = V_{\text{MEDIO DE CULTIVO}} \cdot \rho_{\text{MEDIO DE CULTIVO}} \quad \text{Ecuación 13}$$

$$m_{\text{ALIMENTACIÓN}} = (15 \text{ L}) \left(\frac{1 \text{ m}^3}{1000 \text{ L}} \right) \left(1226.83 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \right)$$

$$m_{\text{ALIMENTACIÓN}} = 18.40 \text{ kg Medio de Cultivo}$$

$$\dot{m}_{\text{SALIDA DE TANQUE}} = u \cdot \rho_{\text{MEDIO DE CULTIVO}} \cdot \frac{\pi}{4} d_{\text{MANGUERA}}^2 \quad \text{Ecuación 14}$$

$$\dot{m}_{\text{SALIDA DE TANQUE}} = \left(\frac{1.69 \text{ m}}{\text{s}} \right) \left(1226.83 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \right) \frac{\pi}{4} (0.0127 \text{ m})^2$$

$$\dot{m}_{\text{SALIDA DE TANQUE}} = 0.26 \frac{\text{kg Melostra/Medio de Cultivo}}{\text{s}}$$

$$\dot{m}_{\text{SALIDA DE TUBOS}} = u \cdot \rho_{\text{MEDIO DE CULTIVO}} \cdot \frac{\pi}{4} D_{\text{TUBOS}}^2 \quad \text{Ecuación 15}$$

$$\dot{m}_{\text{SALIDA DE TUBOS}} = \left(\frac{1.69 \text{ m}}{\text{s}} \right) \left(1226.83 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \right) \frac{\pi}{4} (0.0571 \text{ m})^2$$

$$\dot{m}_{\text{SALIDA DE TUBOS}} = 5.32 \frac{\text{kg Melostra/Medio de Cultivo}}{\text{s}}$$

$$m_{AIRE} = \frac{PV}{RT} \cdot M_{CO_2} \cdot 0.00385 \frac{L CO_2}{L aire} \quad \text{Ecuación 16}$$

$$m_{AIRE} = \frac{(1atm)(10L)}{\left(0.0821 \frac{L \cdot atm}{K \cdot mol}\right) (298K)} \cdot \left(44 \frac{g}{mol CO_2}\right) \cdot 0.003$$

$$m_{AIRE} = 0.007g CO_2/m^3$$

- Velocidad de crecimiento
 - Se obtuvo $9.73 \pm 1.86g$ de *Melosira sp.*

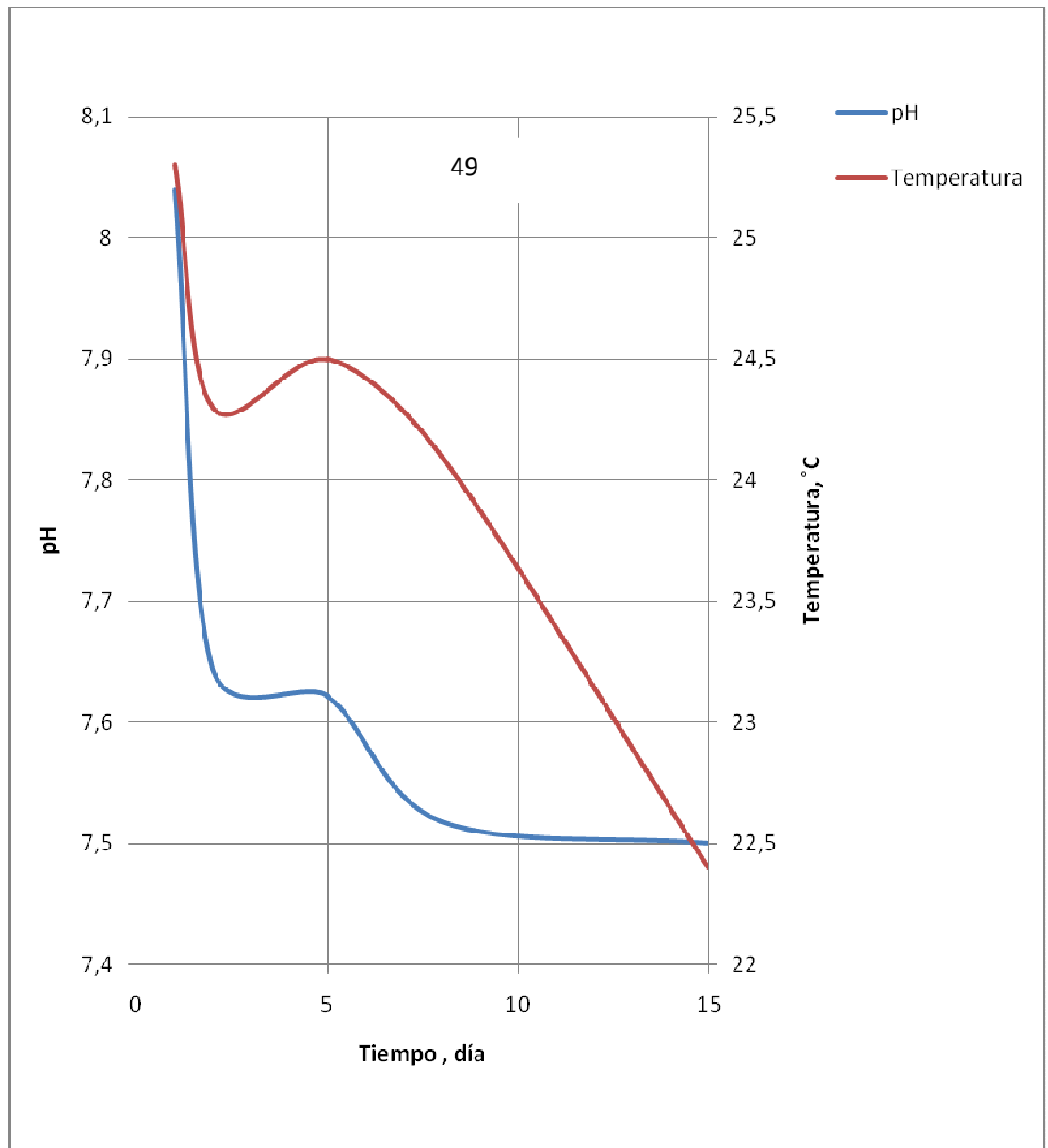
$$Tasa de Crecimiento = \frac{Biomasa Producida}{Tiempo de producción \cdot \text{Área de Tubos}} \quad \text{Ecuación 17}$$

$$Tasa de Crecimiento = \frac{(9.73 \pm 1.86g)}{(15días)(2 \cdot \pi(0.057m)^2)} = 127.13 \pm 0.13 g \frac{Melosira}{día \cdot m^2}$$

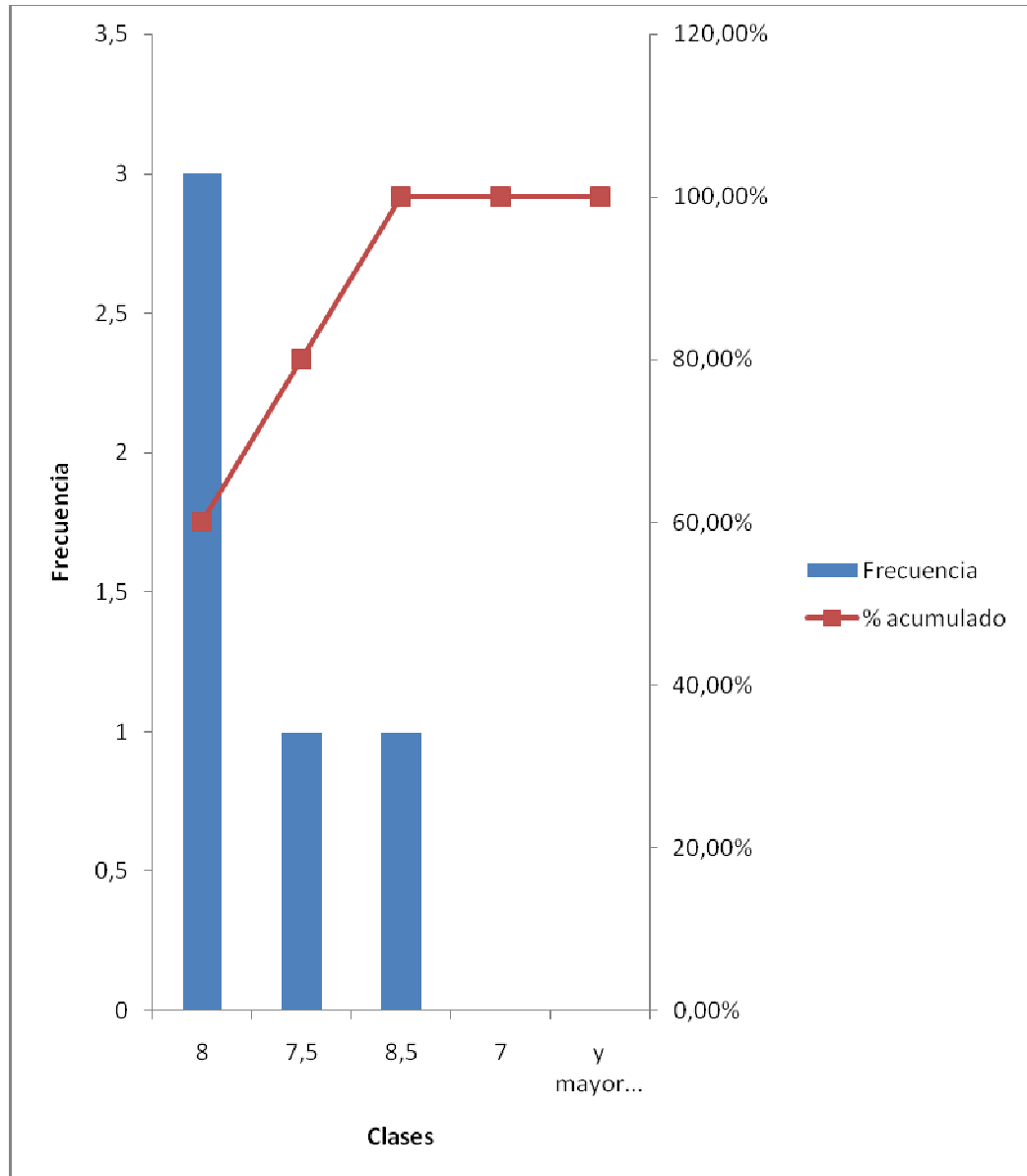
Apéndice B.

Gráficas de control de temperatura y pH

Gráfica 3

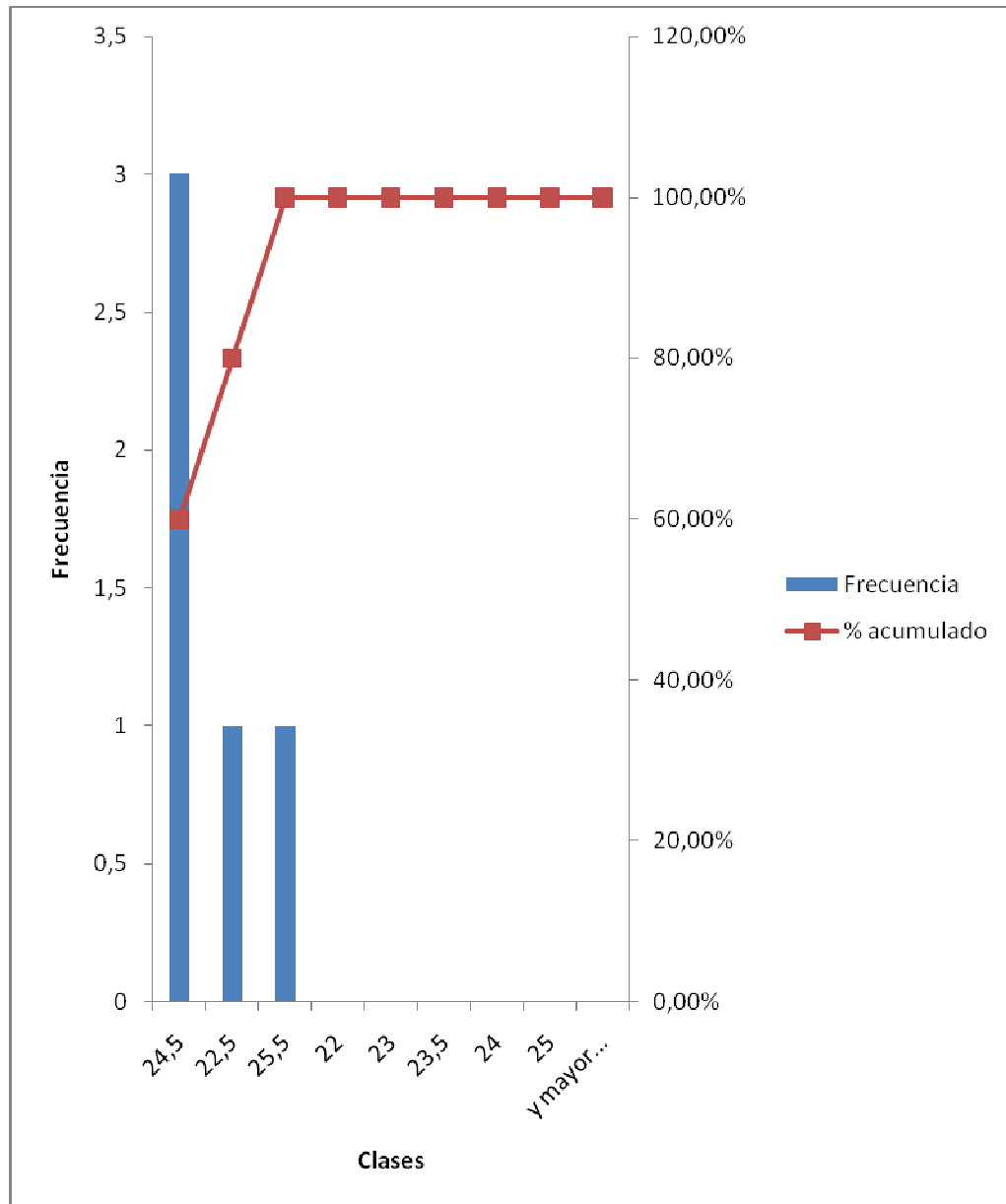
Control de pH y temperatura del cultivo de *Melosira sp.* en el Fotobioreactor Tubular Continuo

Gráfica 4
Histograma de distribución de pH a lo largo del tiempo



Gráfica 5

Histograma de distribución de temperatura a lo largo del tiempo



Apéndice C.
Análisis Estadístico

Tabla 4

Estadísticas descriptivas del cultivo de *Melosira sp.* en el Fotobioreactor Tubular Continuo

| Porcentaje transmitancia | | pH | | Temperatura | |
|----------------------------|--------|----------------------------|-------|----------------------------|--------|
| Estadística | Valor | Estadística | Valor | Estadística | Valor |
| Media | 86.74 | Media | 7.66 | Media | 24.12 |
| Error típico | 0.65 | Error típico | 0.10 | Error típico | 0.48 |
| Mediana | 87.00 | Mediana | 7.62 | Mediana | 24.30 |
| Moda | ----- | Moda | ----- | Moda | ----- |
| Desviación estándar | 1.44 | Desviación estándar | 0.22 | Desviación estándar | 1.06 |
| Varianza de la muestra | 2.08 | Varianza de la muestra | 0.05 | Varianza de la muestra | 1.13 |
| Curtosis | 0.82 | Curtosis | 3.44 | Curtosis | 2.45 |
| Coficiente de asimetría | -1.01 | Coficiente de asimetría | 1.79 | Coficiente de asimetría | -1.17 |
| Rango | 3.70 | Rango | 0.54 | Rango | 2.90 |
| Mínimo | 84.50 | Mínimo | 7.50 | Mínimo | 22.40 |
| Máximo | 88.20 | Máximo | 8.04 | Máximo | 25.30 |
| Suma | 433.70 | Suma | 38.32 | Suma | 120.60 |
| Cuenta | 5.00 | Cuenta | 5.00 | Cuenta | 5.00 |
| Mayor (1) | 88.20 | Mayor (1) | 8.04 | Mayor (1) | 25.30 |
| Menor(1) | 84.50 | Menor(1) | 7.50 | Menor(1) | 22.40 |
| Nivel de confianza (95.0%) | 1.79 | Nivel de confianza (95.0%) | 0.27 | Nivel de confianza (95.0%) | 1.32 |

Tabla 5

Resumen de estadísticas del análisis de varianza de dos factores con una sola muestra para el cultivo de *Melosira sp.* en el fotobioreactor tubular continuo

| RESUMEN | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|---------------|--------|--------|----------|----------|
| Día 1 | 3 | 121.02 | 40.34 | 1797.03 |
| Día 2 | 3 | 119.50 | 39.83 | 1788.97 |
| Día 5 | 3 | 119.12 | 39.71 | 1748.66 |
| Día 8 | 3 | 118.04 | 39.35 | 1721.07 |
| Día 15 | 3 | 114.94 | 38.31 | 1651.46 |
| Transmitancia | 5 | 433.70 | 86.74 | 2.08 |
| pH | 5 | 38.32 | 7.66 | 0.05 |
| Temperatura | 5 | 120.60 | 24.12 | 1.13 |

Tabla 6
Probabilidad del análisis de varianza de dos factores con una sola muestra para el cultivo de *Melosira sp.* en el Fotobioreactor Tubular Continuo

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|----------|--------------|----------------------|
| Días | 6.87 | 4.00 | 1.72 | 2.22 | 0.16 | 3.84 |
| Columnas | 17408.21 | 2.00 | 8704.10 | 11261.63 | 0.00 | 4.46 |
| Error | 6.18 | 8.00 | 0.77 | | | |
| Total | 17421.26 | 14.00 | | | | |

Tabla 7
Coeficiente de correlación entre el porcentaje de transmitancia, pH y temperatura para el cultivo de *Melosira sp.* en el fotobioreactor tubular continuo

| | Día | Transmitancia | pH | Temp |
|---------------|-------|---------------|------|------|
| Día | 1.00 | | | |
| Transmitancia | -1.00 | 1.00 | | |
| pH | -0.72 | 0.75 | 1.00 | |
| Temp | -0.94 | 0.95 | 0.76 | 1.00 |

Tabla 8
Estadísticas de regresión de la Gráfica 1, curva de calibración porcentaje de transmitancia en función de peso seco de *Melosira sp.*

| | |
|--------------------------------------|------|
| Coefficiente de correlación múltiple | 0.98 |
| Coefficiente de determinación R^2 | 0.95 |
| R^2 ajustado | 0.90 |
| Error típico | 8.77 |
| Observaciones | 3.00 |

Tabla 9
Análisis de varianza de la Gráfica 1, curva de calibración porcentaje de transmitancia en función de peso seco de *Melosira sp.*

| | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Promedio de los cuadrados | F |
|-----------|--------------------|-------------------|---------------------------|-------|
| Regresión | 1 | 1484.58 | 1484.58 | 19.28 |
| Residuos | 1 | 76.98 | 76.98 | |
| Total | 2 | 1561.56 | | |

Tabla 10

Límite de confianza al 95% de la Gráfica 1, curva de calibración porcentaje de transmitancia en función de peso seco de *Melosira sp.*

| | Coeficientes | Error típico | Inferior 95% | Superior 95% |
|------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Intercepto | 69.56 | 10.27 | -60.98 | 200.11 |
| Pendiente | -5722.75 | 1303.15 | -22280.89 | 10835.39 |

Apéndice D.

Análisis económico

Tabla 11

Costo de Fotobioreactor Tubular Continuo

| Cantidad | Equipo | Costo unitario (Q) | Costo total (Q) |
|-----------|---------------------------|--------------------|-----------------|
| 1 | Tanque | 100.00 | 100.00 |
| 1 | Bomba peristáltica | 2500.00 | 2500.00 |
| 2 | Tubos de vidrio | 100.00 | 200.00 |
| 1 | Manguera depurador 2 1/4" | 50.00 | 50.00 |
| 3 | Manguera hule 1/2" | 53.33 | 159.99 |
| 2 | Codos 45 PVC | 20.00 | 40.00 |
| 2 | Lámparas fluorescentes | 250.00 | 500.00 |
| 2 | Ángulares 1 1/2" 6 m | 100.00 | 200.00 |
| Total (Q) | | | 3949.99 |

Tabla 12

Asunciones principales para simulación de flujo de caja a 10 años de la operación del Fotobiorreactor Tubular Continuo

| Costo electricidad(Q/kW·h) | Costo producción (\$/kg) | % Peso aceite | Precio venta (\$/L) | Densidad aceite microalga (kg/m ³) | Tasa cambio Q/\$ | Producción de biomasa (kg) |
|----------------------------|--------------------------|---------------|---------------------|--|------------------|----------------------------|
| 0.82 | 2.95 | 30.00 | 1.40 | 900.00 | 8.40 | 11.36 |

Tabla 13

Costos y ventas esperadas en la producción de biomasa a partir de microalgas en el Fotobiorreactor Tubular Continuo

| Costo de medio de cultivo (Q) | Costo de producción (Q) | Biodiesel producido (L) | Ventas de biodiesel (Q) |
|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 500.00 | 281.59 | 12.63 | 148.48 |

Tabla 14

Tiempo de vida y costo total de reinversión en lámparas fluorescentes de luz fría para Fotobiorreactor Tubular Continuo

| Duración lámpara (años) | Costo total reposición (Q) |
|-------------------------|----------------------------|
| 2.05 | 2500.00 |

Tabla 15

Flujo de Caja a 10 años de operación de fotobiorreactor tubular continuo a Escala Piloto

| Año | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-------------------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Ingresos | | 148.48 | 163.33 | 179.67 | 197.63 | 217.40 | 239.14 | 263.05 | 289.35 | 318.29 | 350.12 |
| Costos | | -281.59 | -281.59 | -281.59 | -281.59 | -281.59 | -281.59 | -281.59 | -281.59 | -281.59 | -281.59 |
| Depreciación | | -395.00 | -535.00 | -535.00 | -535.00 | -535.00 | -535.00 | -535.00 | -535.00 | -535.00 | -535.00 |
| Utilidad Bruta | | -528.11 | -653.26 | -636.92 | -618.96 | -599.19 | -577.45 | -553.54 | -527.23 | -498.30 | -466.47 |
| Impuestos | | 163.71 | 202.51 | 197.45 | 191.88 | 185.75 | 179.01 | 171.60 | 163.44 | 154.47 | 144.61 |
| Utilidad Neta | | -364.39 | -450.75 | -439.48 | -427.08 | -413.44 | -398.44 | -381.94 | -363.79 | -343.83 | -321.86 |
| Depreciación | | 395.00 | 535.00 | 535.00 | 535.00 | 535.00 | 535.00 | 535.00 | 535.00 | 535.00 | 535.00 |
| Inversión Inicial | -4449.99 | | -500.00 | | -500.00 | | -500.00 | | -500.00 | | -500.00 |
| Valor Salvamento | | | | | | | | | | | 2225.00 |
| Flujo de caja | -4449.99 | 30.61 | -415.75 | 95.52 | -392.08 | 121.56 | -363.44 | 153.06 | -328.79 | 191.17 | 1938.13 |

| |
|-------------|
| VAN |
| Q -3.923.76 |

Tabla 16

Simulación de Flujo de Caja a 10 años de operación de fotobiorreactor tubular continuo a Escala Industrial (150kg biomasa)

| Año | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-------------------|----------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|----------|
| Ingresos | | 1960.00 | 2156.00 | 2371.60 | 2608.76 | 2869.64 | 3156.60 | 3472.26 | 3819.49 | 4201.43 | 4621.58 |
| Costos | | -3717.00 | -281.59 | -281.59 | -281.59 | -281.59 | -281.59 | -281.59 | -281.59 | -281.59 | -281.59 |
| Depreciación | | -395.00 | -535.00 | -535.00 | -535.00 | -535.00 | -535.00 | -535.00 | -535.00 | -535.00 | -535.00 |
| Utilidad Bruta | | -2152.00 | 1339.41 | 1555.01 | 1792.17 | 2053.05 | 2340.01 | 2655.67 | 3002.90 | 3384.84 | 3804.99 |
| Impuestos | | 667.12 | -415.22 | -482.05 | -555.57 | -636.44 | -725.40 | -823.26 | -930.90 | -1049.30 | -1179.55 |
| Utilidad Neta | | -1484.88 | 924.19 | 1072.96 | 1236.60 | 1416.60 | 1614.61 | 1832.41 | 2072.00 | 2335.54 | 2625.44 |
| Depreciación | | 395.00 | 535.00 | 535.00 | 535.00 | 535.00 | 535.00 | 535.00 | 535.00 | 535.00 | 535.00 |
| Inversión Inicial | -4449.99 | | -500.00 | | -500.00 | | -500.00 | | -500.00 | | -500.00 |
| Valor Salvamento | | | | | | | | | | | 2225.00 |
| Flujo de caja | -4449.99 | -1089.88 | 959.19 | 1607.96 | 1271.60 | 1951.60 | 1649.61 | 2367.41 | 2107.00 | 2870.54 | 4885.44 |

| |
|------------|
| VAN |
| Q 2.084.96 |

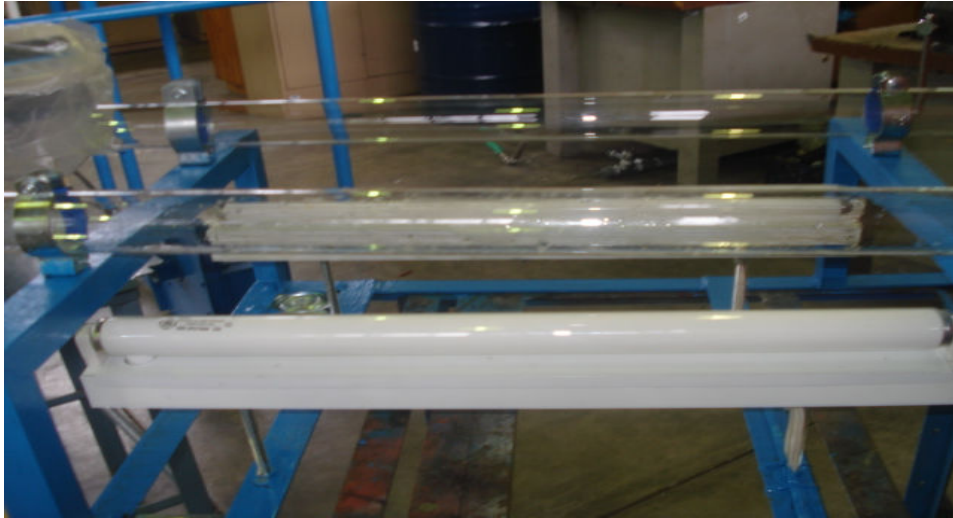
Apéndice E.

Fotografías del proyecto

Fotografía 1. Estructura que sostiene a Fotobioreactor Tubular continuo.



Fotografía 2. Diseño de estructura de iluminación del fotobioreactor tubular continuo.



Fotografía 3. Estructura que sostiene a la bomba peristáltica



Fotografía 4. Nutrientes que forman el medio f/2 de Guillard utilizado como medio de cultivo para la cepa *Melosira sp.*



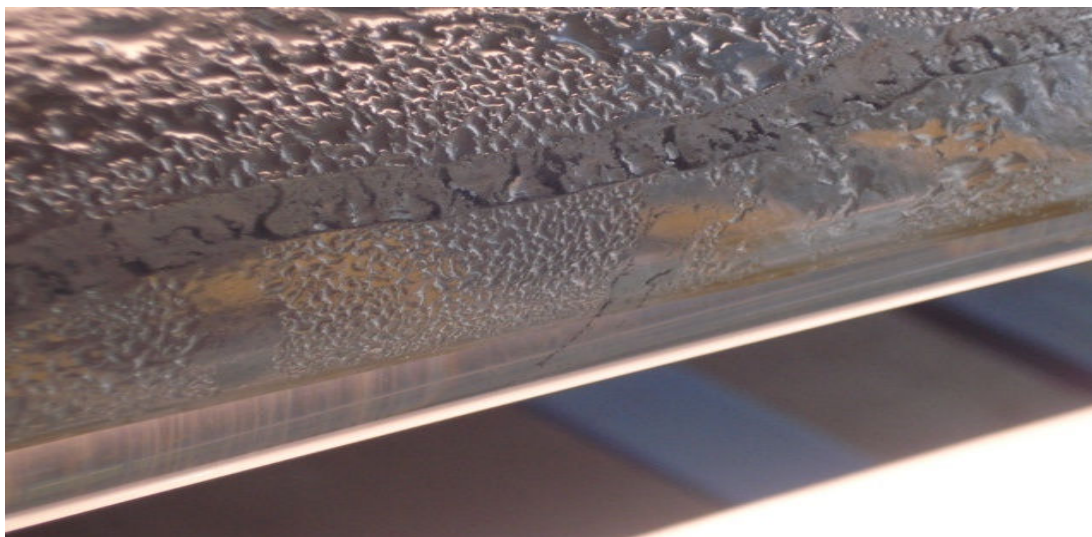
Fotografía 5. Preparación del medio /2 de Guillard utilizado como medio de cultivo para la cepa *Melosira sp.*



Fotografía 6. Fotobioreactor Tubular continuo.



Fotografía 7. Biomasa de *Melosira sp* formada en el Fotobioreactor tubular continuo.



Fotografía 8. Saturación de CO₂ en el tanque de alimentación



Fotografía 9. Soluciones conocidas de *Melosira sp.* para la determinación de peso seco.



Fotografía 10. Centrifugación de la biomasa de las soluciones de *Melosira sp.*



Fotografía 11. Filtración de las soluciones de *Melosira sp.* para la separación de la biomasa del medio de cultivo



Fotografía 12. Secado en horno para eliminar la humedad de las muestras de *Melosira sp.*



Fotografía 13. Peso seco de *Melosira sp.*



Apéndice F.

Medio de cultivo

f/2 Medium

(Guillard and Ryther 1962, Guillard 1975)

This is a common and widely used general enriched seawater medium designed for growing coastal marine algae, especially diatoms. The concentration of the original formulation, termed “f Medium” (Guillard and Ryther 1962), has been reduced by half (Guillard 1975). The original medium (Guillard and Ryther 1962) used ferric sequestrine; we have substituted $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. **Into 950 mL** of filtered natural seawater, add the following components. Bring the final volume to 1 liter with filtered natural seawater. Autoclave. If silicate is not required, omit to reduce precipitation.

| <i>Component</i> | <i>Stock Solution (g · L⁻¹ dH₂O)</i> | <i>Quantity Used</i> | <i>Concentration in Final Medium (M)</i> |
|---|--|----------------------|--|
| NaNO_3 | 75 | 1 mL | 8.82×10^{-4} |
| $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 5 | 1 mL | 3.62×10^{-5} |
| $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ | 30 | 1 mL | 1.06×10^{-4} |
| Trace metals solution | (See following recipe) | 1 mL | — |
| Vitamins solution | (See following recipe) | 0.5 mL | — |

f/2 Trace Metals Solution

Into 950 mL of dH₂O, dissolve the EDTA and other components. Bring the final volume to 1 liter with dH₂O.

| <i>Component</i> | <i>1° Stock Solution (g · L⁻¹ dH₂O)</i> | <i>Quantity Used</i> | <i>Concentration in Final Medium (M)</i> |
|---|---|----------------------|--|
| $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | — | 3.15 g | 1.17×10^{-5} |
| $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | — | 4.36 g | 1.17×10^{-5} |
| $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 180.0 | 1 mL | 9.10×10^{-7} |
| $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 22.0 | 1 mL | 7.65×10^{-8} |
| $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 10.0 | 1 mL | 4.20×10^{-8} |
| $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 9.8 | 1 mL | 3.93×10^{-8} |
| $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 6.3 | 1 mL | 2.60×10^{-8} |

f/2 Vitamins Solution

Into 950 mL of dH₂O, dissolve the thiamine · HCl, and add 1 mL of the primary stocks. Bring final volume to 1 liter with dH₂O. Filter-sterilize and store frozen.

| <i>Component</i> | <i>1° Stock Solution (g · L⁻¹ dH₂O)</i> | <i>Quantity Used</i> | <i>Concentration in Final Medium (M)</i> |
|---|---|----------------------|--|
| Thiamine · HCl (vitamin B ₁) | — | 200 mg | 2.96×10^{-7} |
| Biotin (vitamin H) | 1.0 | 1 mL | 2.05×10^{-9} |
| Cyanocobalamin (vitamin B ₁₂) | 1.0 | 1 mL | 3.69×10^{-10} |

h/2 Medium is *f/2 medium* plus 1 mL of NH_4Cl solution ($26.75 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ dH}_2\text{O}$) to give a final medium concentration of $5.0 \times 10^{-4} \text{ M}$.

Figura 12. Medio de cultivo *f/2* de Guillard. (Andersen 2005).