



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MEXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ



INGENIERIA BIOQUIMICA

REPORTE FINAL

RESIDENCIA PROFESIONAL
AGOSTO-DICIEMBRE 2019

**Cultivo de microalgas en biorreactores de tipo
columna de burbujeo con diferentes medios de
cultivo**

José René García Avendaño
Número de control: 15270323

Asesor:

Dr. Arnulfo Rosales Quintero

Revisores:

M.C. José Humberto Castañón

M.C. Lucía María Cristina Ventura Canseco

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, 10 de Enero del 2020

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor el Dr. Arnulfo Rosales Quintero por brindarme su apoyo y paciencia, además de trasmitirme sus conocimientos que me han sido de gran ayuda ya que son esenciales para mi preparación profesional como ingeniero.

A mis padres José René García Guillen y María Antonieta Avendaño Hernández por brindarme su apoyo, inspirarme cada día y darme la confianza necesaria para continuar con mis proyectos de vida.

A mi hijo por ser el motivo por el cual me supero día con día.

A las personas que me brindaron su apoyo incondicional cuando más lo necesite.

A Dios por darme la oportunidad de poder llegar a este punto de mi vida.

RESUMEN

En el presente trabajo se llevó a cabo la realización de diferentes cinéticas de crecimiento haciendo uso de fotobiorreactores batch con agitación neumática tipo columna de burbujeo, empleando las microalgas: *Limnothrix planctónica* y *Pectinodesmus pectinatus*.

Se evaluó la producción de biomasa, clorofila y lípidos totales, con un fotoperiodo Luz/Oscuridad 12:12 y una aireación de 0.5 L/min, Se estableció como variable independiente diferentes medios de cultivo, los cuales fueron: Agua residual, Fertilizante 18-18-18 y medio de cultivo Blue Green-11. Al final de cada cinética se determinó el perfil de ácidos grasos mediante la técnica de cromatografía de gases.

De igual manera se realizaron simulaciones hidrodinámicas en 2D y 3D, haciendo uso del software COMSOL Multiphysics, en las cuales se determinó el tiempo de mezclado y las líneas de flujos, así como la tasa de cizalladura y la disipación de energía cinética turbulenta.

El desarrollo del presente trabajo ayudó a recopilar la primera información cinética de las microalgas: *Limnothrix planctónica* y *Pectinodesmus pectinatus*, Ya que son especies que su comportamiento cinético tanto a nivel matraz como a nivel biorreactor no ha sido reportado.

Se espera que la información obtenida sirva para futuros trabajos con las especies antes mencionadas.

INDÍCE

Agradecimientos.....	I
Resumen	II
1. Introducción.....	1
2. Descripción de la organización.....	2
2.1. Nombre de la organización	2
2.2. Ubicación de la organización.....	2
2.3 Organigrama de la organización	3
2.4 Descripción del área en la que se participó.....	4
2.5 Funciones y ubicación del residente	4
3. Problemas a resolver.....	5
4. Objetivos.....	6
4.1. Objetivo general	6
4.2. Objetivos específicos.....	6
5. Justificación.....	7
6.- Marco teórico	8
6.1. Microalgas	8
6.1.1. Fotosíntesis en las microalgas.....	8
6.1.2. Aplicaciones de las microalgas	10
6.2. <i>Limnithrix Planctónica</i>	13
6.2.1. Descripción morfológica.....	14
6.2.2. Taxonomía	14
6.3. <i>Pectinodesmus Pectinatus</i>	14
6.3.1. Descripción morfológica.....	15
6.3.2. Taxonomía	15
6.3. Medios de cultivos de microalgas	15
6.4 Cinética de crecimiento de las microalgas	16
6.5 Sistemas de cultivo de microalgas.....	18
6.5.1. Sistemas abiertos.....	18
6.5.2. Sistemas cerrados.....	20
6.6 Simulación.....	23
6.6.1. Aplicaciones.....	23

6.6.2. Dinámica de Fluidos Computacional.....	23
6.6.2.1. Etapas de un análisis de CFD.....	24
6.6.2.2. Aplicaciones de la dinámica de fluidos computacional	25
6.7 COMSOL Multiphysics.....	25
6.7.1. Aplicaciones.....	25
6.7.2. Modelo turbulento k- ϵ	26
6.7.2.1. Limitaciones del modelo.....	27
6.7.2.2. Ecuaciones de flujo de burbujas (Flujo bifásico)	27
7. Procedimiento y descripción de las actividades realizadas	31
7.1. Determinación de crecimiento microalgal.....	31
7.1.1. Cámara de Neubauer.....	31
7.1.2. Peso Seco	31
7.1.3. Tasa de crecimiento microalgal	32
7.1.4. Tiempo de duplicación.....	32
7.2. Cuantificación de clorofila a y b.....	33
7.3. Cuantificación de nitratos e	34
7.4. Cuantificación de lípidos totales.....	35
7.5. Determinación del perfil de lipidos por cromatografía de gases	36
7.6. Determinación de tiempo de mezclado	37
7.7. Determinación de diametro de burbuja	37
7.8. Simulación Hidrodinámica 2D.....	38
7.9. Simulación Hidrodinámica 3D.....	42
8. Resultados.....	47
8.1. <i>Pectinodesmus Pectinatus</i>	47
8.1.1. Agua Residual.....	47
8.1.2. Fertilizante	50
8.1.3. Medio de cultivo BG-11	53
8.2. <i>Limnothrix Planctónica</i>	59
8.2.1. Medio de cultivo BG-11	59
8.3. Parámetros Hidrodinámicos	62
8.4. Simulación.....	64
9. Conclusiones.....	66
10. Recomendaciones.....	67
12. Competencias desarrolladas.....	68
13. Bibliografía.....	70

1. INTRODUCCIÓN

Las microalgas son un grupo diverso de microorganismos fotosintéticos con una estructura simple lo que permite su rápido crecimiento celular y producción de biomasa (Li y Huang, 2009). Por esta razón, las microalgas son llamados microorganismos fotoautótrofos, siendo la luz su principal fuente de energía y el dióxido de carbono (CO₂) su principal fuente de carbono (Martin, 2010). La composición de la biomasa es determinante para la clasificación de las especies de acuerdo a su función y sus productos, la cual está constituida por tres principales compuestos: carbohidratos, proteínas y lípidos. Además, estos microorganismos son capaces de producir antibióticos, pigmentos, esteroides y otros compuestos haciendo solo uso de la luz solar, el dióxido de carbono y el agua dulce o salada. Por ello, la biotecnología de microalgas ha ganado relevancia y un progreso considerable en las últimas décadas.

El diseño y la optimización de biorreactores adecuados para cultivar estos microorganismos es una parte esencial de esta estrategia. Existen dos sistemas básicos para el cultivo de microorganismos fotoautotróficos (Grobbelaar, 2000): a) Los sistemas abiertos en los que el cultivo está expuesto a la atmósfera y b) Los sistemas cerrados, comúnmente denominados fotobiorreactores (FBR) en los que el cultivo tiene poco o ningún contacto con la atmósfera.

El éxito de la producción de biomasa y compuestos químicos por las microalgas dependen de gran forma del diseño de los fotobiorreactores. Un fotobiorreactor es un dispositivo técnico diseñado para producir microorganismos fotosintéticos en colaboración con los requerimientos óptimos de luz, mezclado, transferencia de momento, masa y calor (Pulz, 2001). Los fotobiorreactores presentan mayores ventajas que los sistemas abiertos siendo el control de las condiciones de cultivo la de mayor importancia. Considerando también los factores económicos, los fotobiorreactores son hoy en día reconocidos por su alta producción de biomasa y bajo costo comparados a los sistemas abiertos (Chisti, 2007). El crecimiento de las algas en un fotobiorreactor reduce el riesgo de contaminación, mejora la reproducibilidad de las condiciones de cultivo, brinda un mayor control de las condiciones hidrodinámicas y temperatura, además de permitir un diseño técnico apropiado (Singh y Sharma, 2012). Es por ello, que se realizó el presente proyecto de cultivo de las microalgas *Limnothrix Planctónica* y *Pectinodesmus Pectinatus* utilizando fotobiorreactores de tipo columna de burbujeo para poder evaluar sus parámetros cinéticos y determinar su posible uso potencial en la biotecnología.

2. DESCRIPCIÓN DE LA ORGANIZACIÓN

Nombre de la organización

Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez

Misión

Formar de manera integral profesionistas de excelencia en el campo de la ciencia y la tecnología con actitud emprendedora, respeto al medio ambiente y apego a los valores éticos.

Visión

Ser una Institución de Excelencia en la Educación Superior Tecnológica del Sureste, comprometida con el desarrollo socioeconómico sustentable de la región.

Política de Calidad

“En el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez estamos comprometidos con la formación de profesionales altamente capacitados en el campo de la ciencia y tecnología, garantizando su formación integral a través del desarrollo de competencias, bajo el cumplimiento de los requisitos de un Sistema de Gestión de la Calidad con la responsabilidad de mantener su eficacia y mejora continua”

Ubicación de la Organización

Carretera Panamericana Km. 1080

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

C.P: 29050

Apartado Postal: 599

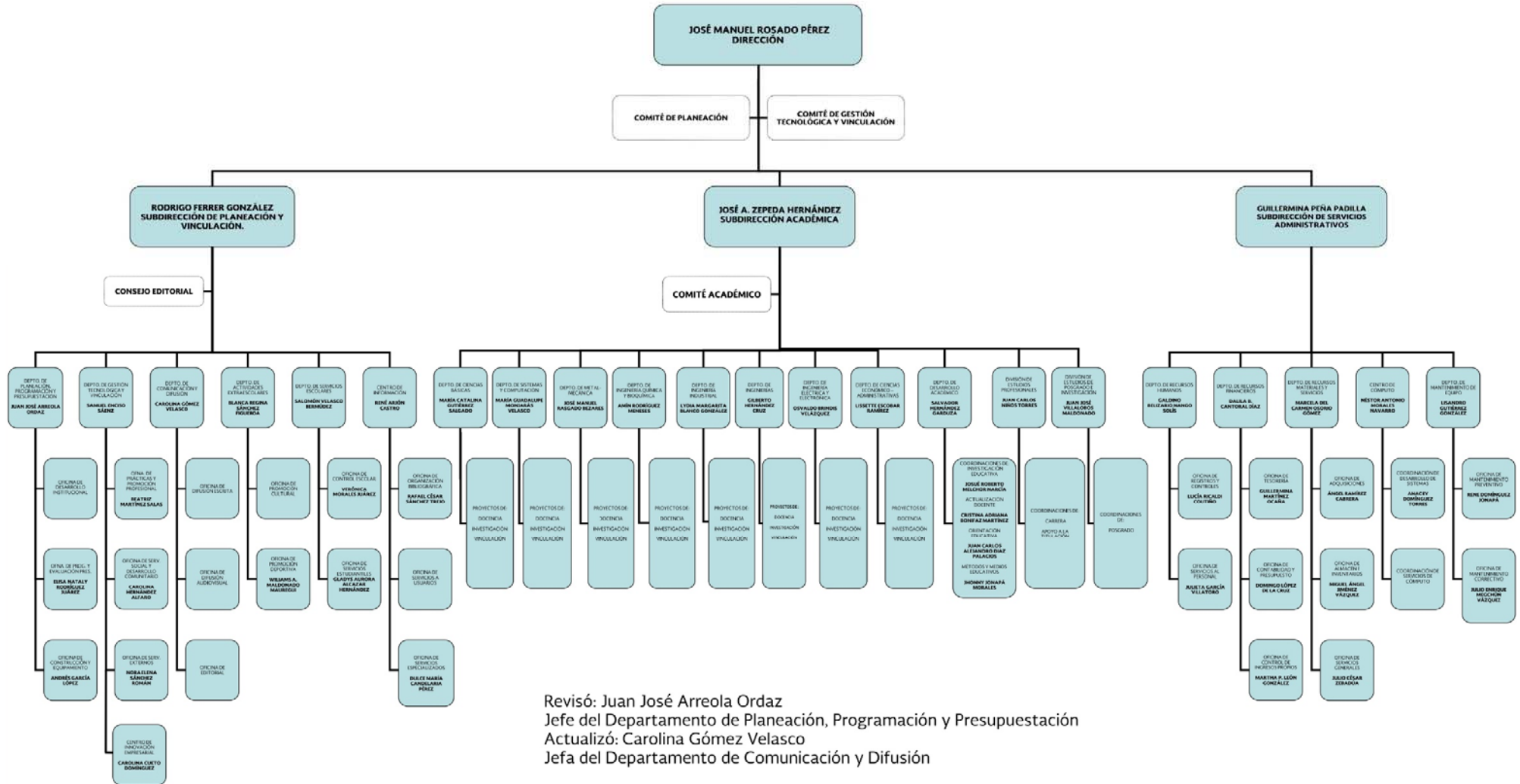
Fax: (961)61 5 16 87

Teléfono: (961)61 5 04 61

RFC: TNM140723GFA

Contacto: contacto@ittg.edu.mx

Organigrama de la institución



Revisó: Juan José Arreola Ordaz
 Jefe del Departamento de Planeación, Programación y Presupuestación
 Actualizó: Carolina Gómez Velasco
 Jefa del Departamento de Comunicación y Difusión

Descripción del área en la que se participó

Las actividades descritas en el presente trabajo se realizaron en el Polo Tecnológico Nacional para el Desarrollo de Investigación y Pruebas Analíticas en Biocombustibles dentro del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez (ITTG),

El Polo Tecnológico Nacional para el Desarrollo de Investigación y Pruebas Analíticas en Biocombustibles es un complejo que consta de 12 laboratorios en el cual se realizan más de 25 tipos de análisis a biodiesel, según la norma europea EN 14214.

Funciones y ubicación del residente

La fase experimental del presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio número 7 ubicado dentro del Polo Tecnológico Nacional para el Desarrollo de Investigación y Pruebas Analíticas en Biocombustibles, dicho laboratorio se enfoca en la caracterización de materias primas y se encuentra a cargo de mi asesor el Dr. Arnulfo Rosales Quintero.

Las funciones que realicé durante el periodo de la residencia profesional fueron:

- -La adecuación de 2 fotobiorreactores para su uso en cinéticas de crecimiento celular.
- -La elaboración de cinéticas de crecimiento de las microalgas *Limnithrix planctónica* y *Pectinodesmus Pectinatus* utilizando diversas sustancias como medio de cultivo, las cuales comprendieron: Agua residual tratada, fertilizante 18-18-18 y medio de cultivo Blue Green-11. Durante la fase experimental se monitoreó cada dos días la producción de biomasa y clorofila A Y B, así como también se cuantificó la producción final de lípidos totales, al final de cada cinética se realizó una cromatografía de gases de los lípidos obtenidos.
- Estimación del tiempo de mezcla y tamaño de burbuja empleado en los fotobiorreactores, para su posterior uso en simulaciones hidrodinámicas.
- La elaboración de simulaciones hidrodinámicas en 2D y 3D utilizando el software COMSOL Multiphysics.

3. PROBLEMAS A RESOLVER

Actualmente, los sistemas de cultivo de microalgas se pueden clasificar, según su configuración y tipo de funcionamiento, en sistemas abiertos como los estanques y sistemas cerrados como los fotobiorreactores (FBRs) (Ho, 2011). Los sistemas abiertos son los más comunes para la producción comercial de microalgas y son una tecnología relativamente sencilla, cultivándose las microalgas en estanques de unos 35 a 70 centímetros de profundidad. Los estanques de canales son los más empleados; suelen ser canales ovalados donde el cultivo se recircula y mezcla para intentar favorecer la estabilización del crecimiento y productividad de las microalgas. La producción mediante estanques tiene la gran ventaja de ser un método más barato que los FBRs, en inversión, mantenimiento y consumo energético. Sin embargo tiene desventajas, como su facilidad de contaminación, mezclado poco eficiente, la falta potencial de CO₂ y la limitación de la luz en las capas inferiores. En estos sistemas es difícil mantener una sola especie ya que el riesgo de contaminación es muy elevado.

Es por ello que actualmente se busca aumentar la eficiencia de la productividad tanto de biomasa como de metabolitos de las microalgas empleando fotobiorreactores, que son sistemas cerrados transparentes, de plástico o vidrio, con geometrías de diversos tipos. Su desarrollo es posterior al de los estanques y su configuración y geometría dependen de condiciones locales del producto a obtener y de las especificaciones económicas del sistema. En estos sistemas se obtiene una mayor productividad, fundamentalmente porque mejora la eficiencia de la fotosíntesis y la capacidad de fijación del CO₂.

4. OBJETIVOS

General

Evaluar la productividad de microalgas, biomasa y clorofila usando medios sintéticos y agua residual en un fotobiorreactor.

Específicos

- Realizar cinéticas de crecimiento de las microalgas *Limnothrix planctónica* y *Pectinodesmus pectinatus* utilizando agua residual tratada como medio de cultivo.
- Realizar cinéticas de crecimiento de las microalgas *Limnothrix planctónica* y *Pectinodesmus pectinatus* utilizando fertilizante 18-18-18 como medio de cultivo.
- Realizar cinéticas de crecimiento de las microalgas *Limnothrix planctónica* y *Pectinodesmus pectinatus* utilizando el medio de cultivo BG-11.
- Evaluar la producción de biomasa por cámara de Neubauer y peso seco.
- Evaluar la producción de clorofila A y B por espectrofotometría.
- Obtener el perfil de ácidos grasos de la producción de lípidos al final de cada cinética.
- Estimar el tiempo de mezclado y tamaño de burbuja empleado en los fotobiorreactores.
- Realizar simulaciones hidrodinámicas en 2D y 3D de los fotobiorreactores.

5. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años se ha demostrado que las microalgas son capaces de producir una amplia cantidad de intermediarios químicos e hidrocarburos que ofrecen la posibilidad de sustituir los productos derivados del petróleo o del gas natural. Así mismo, tres componentes principales pueden ser extraídos de la biomasa de las microalgas; lípidos, carbohidratos y proteínas. De los cuales se pueden obtener metabolitos secundarios alto valor agregado.

Es por ello, que es importante definir las condiciones óptimas de cultivo de las microalgas, para poder aumentar la productividad de estas mismas, ya que al igual que la mayoría de microorganismos, sus condiciones de cultivo son específicas para cada especie. Determinar el comportamiento cinético de las microalgas *Limnothrix planctónica* y *Pectinodesmus Pectinatus* bajo condiciones específicas de cultivo, es una labor de vital importancia, ya que son especies endémicas obtenidas de las lagunas de Montebello, Chiapas, de las cuales no se tiene información sobre cinéticas realizadas tanto a nivel matraz como en biorreactores.

Por otra parte, la realización de simulaciones hidrodinámicas mediante la dinámica computacional de fluidos (CFD), es una gran herramienta desde el punto de los fenómenos hidrodinámicos como en fenómenos bioquímicos-biológicos ya que nos brinda una visión más certera sobre la resistencia al esfuerzo cortante así como a la tasa de cizalladura de los microorganismos en cuestión.

Por consiguiente, la importancia de este proyecto radica en que los resultados obtenidos generaran un punto de partida para futuros trabajos con estas microalgas en los cuales se busquen explotar su máximo potencial biotecnológico.

6. MARCO TEÓRICO

Microalgas

Las microalgas son un conjunto heterogéneo de microorganismos fotosintéticos unicelulares procariotas (cianobacterias) y eucariotas (diatomeas y algas verdes), que se localizan en hábitats diversos tales como aguas marinas, dulces, salobres, residuales o en el suelo, bajo un amplio rango de temperaturas, pH y disponibilidad de nutrientes; se les considera responsables de la producción del 50% del oxígeno y de la fijación del 50% del carbono en el planeta (Mata, 2010)(Palomino A., 2013). Generalmente obtienen la energía fotosintéticamente a partir de la radiación solar y se desarrollan en base a materia inorgánica: son organismos fotoautótrofos. No obstante, hay especies capaces de crecer utilizando la materia orgánica como fuente de carbono. Por tanto, en función de su metabolismo es posible establecer la siguiente clasificación (Cuadro 5.1) (Lores H., 2015):

Cuadro 6.1.- Principales características de los grupos taxonómicos de las algas.

Tipo	Características
Fotoautótrofas	Obtienen la energía de la luz solar y su fuente de carbono son compuestos inorgánicos.
Fotoheterótrofas	Obtienen la energía del sol y utilizan compuestos orgánicos como fuente de carbono
Mixotróficas	Utilizan independientemente fuentes de carbono orgánicas o inorgánicas para su desarrollo, pero su fuente de energía sigue siendo la luz
Heterótrofas	Son capaces de utilizar la materia orgánica tanto como fuente de energía como fuente de carbono, por lo que tienen la capacidad de desarrollarse en ausencia de luz

Como fórmula molecular de las microalgas se puede emplear, a modo general, la propuesta por Grobbelaar (2004) (Ruiz Martínez, 2011): $C_{106}H_{181}O_{45}N_{16}P$, de donde se deduce que un kilogramo de microalgas contendría los compuestos según se muestran en la figura 6.1:

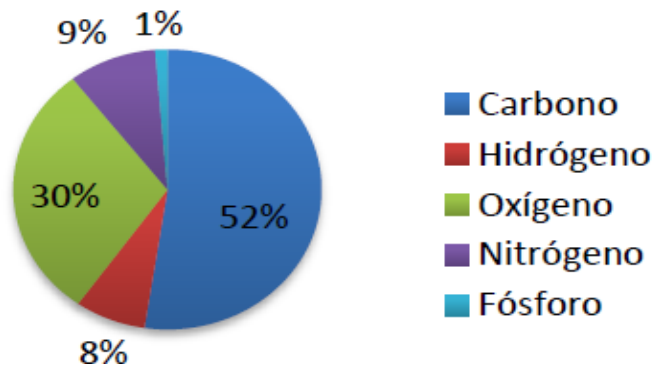


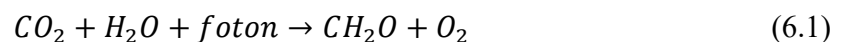
Figura 6.1.- Composición principal de las microalgas

Las microalgas producen lípidos, proteínas y carbohidratos en cantidades grandes en periodos de tiempos cortos. Son capaces de fijar CO₂ y liberar O₂ a la atmósfera y representan los microorganismos que mayor velocidad de crecimiento tienen. Sus principales ventajas, mencionadas por Campbell, Chisti, Huntley, Li *et al.*, Khan *et al.*, (citadas en Gouveia, 2011) son (Palomino A., 2013):

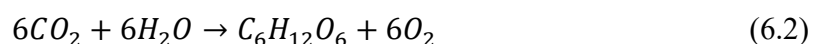
- Mayor rendimiento de crecimiento y producción de biomasa por hectárea (aproximadamente 3.8% frente a 0.5% que producen los cultivos energéticos convencionales como caña de azúcar, palma, maíz, etc)
- Mayor capacidad de captar el CO₂ (por cada 100 t de microalgas producidas, se consumen 183 toneladas de CO₂ (Chisti, 2007).
- Capacidad de crecer en medio líquido marino o en aguas residuales, con lo que se reduce el consumo de agua dulce para su producción.

Fotosíntesis en las microalgas

La fotosíntesis es el proceso más importante en el metabolismo de las microalgas. Estas utilizan la energía solar para metabolizar el dióxido de carbono (CO₂) a metanal (CH₂O) liberando oxígeno molecular (O₂). Las moléculas de CH₂O constituyen los bloques responsables de la formación de moléculas de glucosa en las microalgas. La Ecuación 6.1 describe el proceso universal de la fotosíntesis.



En este proceso de fotosíntesis el CO₂ se metaboliza a compuestos orgánicos como azúcares utilizando la energía solar. La Ecuación 6.2 representa este proceso de manera general.



La luz es primeramente absorbida por la antena de pigmentos del fotosistema (PS) I y II. La energía absorbida es transferida al centro de reacción de clorofilas: P680 en el fotosistema II y P700 en el fotosistema I. La absorción de un fotón de luz por el fotosistema II remueve un electrón del P680. Con la carga positiva resultante, el P680 es lo suficientemente electronegativo para remover un electrón de una molécula de agua. Cuando estos pasos ocurren cuatro veces, requieren de dos moléculas de agua, una molécula de oxígeno y cuatro protones (H^+) los cuales son liberados. Los electrones son transferidos a través de la plastoquinona al complejo citocromo b6/f (Pq y Cit b/f en la Figura 6.2) donde se proporciona la energía para la quimiosíntesis. La activación del P700 en el fotosistema I permite recoger los electrones del complejo citocromo b6/f (PC en la Figura 6.2) elevándolo a un alto potencial redox que, después de pasar por la ferredoxina (fd en la Figura 6.2), es capaz de reducir el $NADP^+$ a NADPH produciendo energía (Martin, 2010).

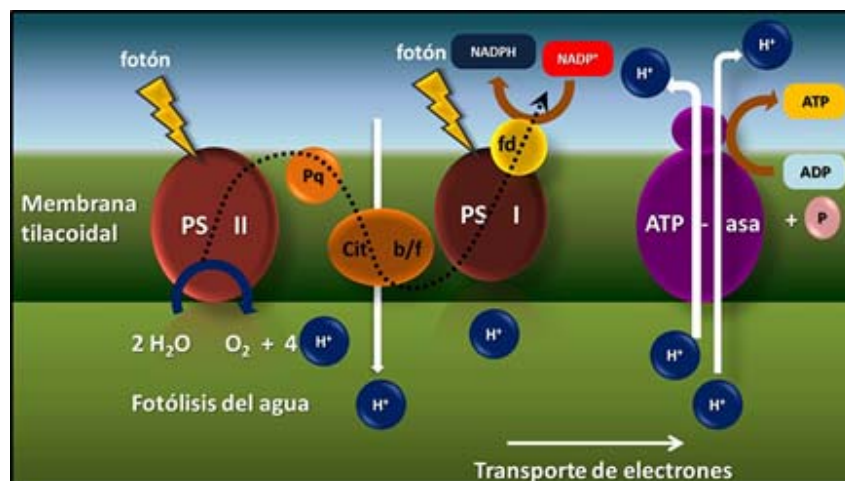


Figura 6.2.- Diagrama esquemático de la fotosíntesis (Martin, 2010)

Aplicaciones de las microalgas.

El uso de las microalgas como fuente bioenergética es prometedor debido a (Palomino A., 2013):

- Los tiempos de duplicación de biomasa durante la fase de crecimiento exponencial pues son relativamente bajos (3,5 horas), manteniendo un contenido de lípidos hasta del 80% por biomasa seca (Chisti, 2007).
- El contenido de lípidos puede variarse dependiendo de la composición del medio de crecimiento (Widjaja, 2009).
- Crecen tanto en agua dulce como salada y no necesitan establecerse en tierras fértiles (Ahmad, 2011)

Igualmente se utiliza para la biorremediación de aguas residuales, producen biomasa con un valor añadido generando coproductos o subproductos, además de ser una fuente de energía en la generación de biocombustibles (Bermeo Castillo, 2011).

Alimentación

Las microalgas pueden utilizarse directamente como alimento, para incrementar el contenido en principios nutritivos de alimentos preparados y como agente prebiótico con un efecto positivo en la salud humana y animal, lo que ha permitido el desarrollo de mercados para los productos derivados de ellas (Becker, 2004).

Los géneros con mayor coeficiente de digestibilidad y valor biológico son *Scenedesmus*, *Chlorella* y *Spirulina* (Pal, 2011). Las microalgas sintetizan y acumulan gran variedad de carbohidratos como almidón o glucógeno fácilmente digeribles y sin restricciones para su uso como fuente de alimento (Becker, 2004). Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga presentes constituyen un mercado bien establecido tanto en alimentación humana como animal (acuicultura). Así mismo, contienen un amplio rango de esteroides y vitaminas usados principalmente como constituyentes de alimentos funcionales (Borowitzka, 2013).

Fertilización

Las microalgas pueden ser utilizadas como fertilizantes en agricultura sostenible. Dentro de las comunidades microbianas desarrolladas en los suelos, junto a las cianobacterias juegan un papel fundamental en la recirculación y biodisponibilidad de elementos importantes como P y por tanto, en el acondicionamiento de suelos agrícolas (Singh, 2011). Actualmente se está poniendo en práctica el uso de microalgas para incrementar la productividad de cultivos como leguminosas y frutales (Prasanna, 2013) (Ismail, 2011).

Biorremediación

Se ha propuesto el uso de microalgas en procesos de biorremediación tales como eliminación de dióxido de carbono proveniente de gases de escape de plantas industriales, tratamientos de aguas residuales o remoción de metales pesados provenientes de efluentes contaminados por la minería o zonas altamente contaminadas (McHenry, 2013), así como la eliminación de compuestos fenólicos y pesticidas (Subashchandrabose, 2013).

El oxígeno producido por los cultivos de microalgas como resultado de la fotosíntesis supone una clara mejora en el proceso. Así mismo, las microalgas favorecen la retirada de nitrato, fosfato e iones metálicos. Para dar salida a esta biomasa de microalgas se plantea la instalación de plantas de biogás y generación de calor o electricidad a partir de la biomasa algal (Ahmad, 2013).

Generación de productos de interés

Entre todos los usos comerciales ya mencionados, la generación de productos con aplicación industrial constituye en la actualidad el aspecto central de la biotecnología de microalgas. Muchas especies producen, como resultado de su metabolismo, diferentes compuestos biológicos de interés para las industrias químicas o farmacéuticas, tales como pigmentos, lípidos, polisacáridos, vitaminas, etc. Estos pueden acumularse como parte de la biomasa del alga o en algunos casos, liberarse al medio externo (Gudin, 1986).

Pigmentos

Las ficobiliproteínas, además de su uso en como colorante en la industria alimentaria y cosmética, tienen una aplicación interesante en microscopia de fluorescencia e inmunoensayos. Se pueden asociar con una gran variedad de biomoléculas sin alterar sus características de absorción y emisión de luz, tienen alta eficiencia cuántica y son estables en amplios márgenes de pH y temperatura. Su fluorescencia anaranjada es fácil de diferenciar de la fluorescencia verde de los tejidos. Todas estas propiedades las convierte en excelentes trazadores fluorescentes para su aplicación en diagnóstico e investigación biomédica (Glazer, 1994).

Los carotenoides muestran una gran diversidad en su distribución, estructura y función. Multitud de estudios han puesto de manifiesto la poderosa actividad antioxidante tanto de b-caroteno como astaxantina y cantaxantina (Borowitzka, 1992). Estos compuestos actúan secuestrando radicales libres de oxígeno, directamente relacionados con la aparición de enfermedades degenerativas, con beneficios para la salud humana y animal previniendo o retrasando algunas enfermedades como cáncer, aterosclerosis, cataratas, etc. Los principales pigmentos explotados comercialmente son b-caroteno y astaxantina (Del Campo, 2007).

Compuestos con actividad biológica

Las microalgas son capaces de generar metabolitos secundarios de importancia en biomedicina y agronomía para el desarrollo de compuestos como herbicidas, pesticidas, antibióticos, compuestos anticancerígenos y antivirales, con actividad antiinflamatoria, antitrombótica, antidiabética, cardio, neuro y hepatoprotectora, antianémica y antihistamínica (Patel, 2013) (Skjanes, 2013).

Biocombustibles

El potencial de la biomasa de microalgas como fuente de materias primas para biocombustible se basa en su rápido crecimiento y alta productividad, no competencia con la agricultura tradicional, posibilidad de utilización de agua residual, salobre o marina y elevado contenido en aceite y/o azúcares (Douskova, 2009), (Arnold, 2013).

En general, la producción de biocombustibles se puede clasificar en dos grupos: por conversión termoquímica y por conversión bioquímica. El primer grupo consiste en la descomposición térmica de la biomasa para producir productos combustibles. La conversión bioquímica en cambio, es la degradación biológica de la biomasa a través de reacciones químicas y biológicas asociadas a procesos metabólicos de microorganismos (Abdel-Raouf, 2012) (Ho S-H, 2013) (Wang Y, 2012) (SK Prajapati, 2013).

Nuevos desarrollos

Se sigue investigando en nuevas aplicaciones y desarrollos para la biomasa de microalgas. Cabe destacar la producción de bioplásticos a partir de polihidroxicarbonos (Balaji, 2013) (Borowitzka, 2013), proteínas recombinantes para farmacología y medicina (Potvin, 2010), incremento de la productividad de lípidos y carbohidratos mediante modificación de rutas metabólicas (Dexter, 2009) (Blatti, 2013) o mediante la modificación estructural de las células (reducción de los pigmentos antena para disminuir los fenómenos de fotoinhibición o incremento de la eficiencia de la Rubisco) (Huntley, 2007).

Limnothrix planctónica

Las especies de *Limnothrix* se caracterizan por tricomas solitarios, sin cubierta y en su mayoría sin restricciones, que consisten principalmente en células cilíndricas estrechas con aerótopos polares y / o centrales. Algunas especies contienen ficocianina (PC) y ficoeritrina (PE), así como también muestran adaptación cromática complementaria (CCA) (Kohl y Nicklisch, 1981). Tal adaptación permite a estas especies maximizar la absorción de luz regulando la proporción de PC a PE (Stomp *et al.*, 2004, 2008).

El género *Limnothrix* se ha convertido en un gran grupo con 15 especies y formas descritas, en las cuales *L. redekei*, *L. planctonica* y *L. rosea* son ocasionalmente dominantes en los fitoplancton de agua dulce (Meffert, 1987; Koma'rek Y Anagnostidis, 2005). También se sabe que las poblaciones de *Limnothrix* están presentes en ambientes marinos en el sur África (Silva y Pienaar, 2000), Se ha informado con frecuencia que las poblaciones de *L. redekei* en Europa están masivamente presentes en lagos eutróficos poco profundos durante décadas (Bailey-Watts, 1972; Rojo y Cobelas, 1994; Vardaka *et al.*, 2000; Moustaka-Gouni *et al.*, 2007). Así mismo, en 2018 se obtuvo el primer reporte de *L. planctónica* en el cual se menciona como productora de metabolitos con potencial biotecnológico en la producción de lípidos, pigmentos, carbohidratos y exopolisacáridos (Olán *et al.*, 2018).

Descripción morfológica

Son filamentos o tricomas solitarios, de flotación libre en línea recta o ligeramente curvados, azul-verde pálido, de 1.5-2.5 (3 μm) de ancho, no comprimidos en las paredes transversales indistintamente visibles, sin vainas.

Células isodiamétricas tan largas como anchas o 2-3 veces más largas que anchas (6-10 μm), principalmente de color verde azulado, regularmente con un aerotopo localizados en los extremos de las células. Células apicales cilíndricas, redondeadas. Capaces de producir vesículas de gas facultativas, tilacoides localizados paralelamente a lo largo de las paredes celulares. Composición de ficobilina variable (con relación de ficoeritrina / ficocianina inestable). Células de involución conocidas. Sin tensiones tóxicas. Heterocitos y akinatos ausentes.

Taxonomía

Dominio: *Prokarya*

Reino: *Eubacteria*

Filo: *Cyanobacteria*

Clase: *Cyanophyceae*

Orden: *Synechococcales*

Familia: *Pseudanabaenaceae*

Subfamilia: *Pseudanabaenoideae*

Género: *Limnothrix*

Especie: *planctonica*

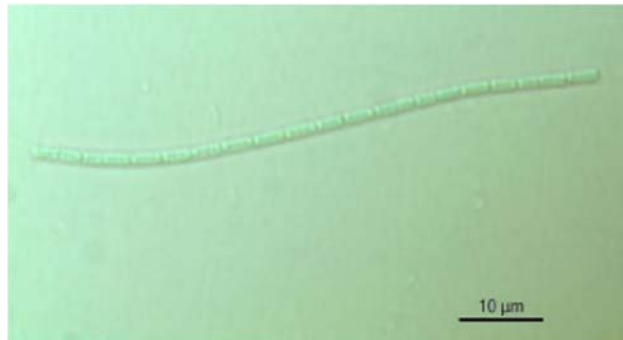


Figura 5.3.-*Limnothrix planctónica* (Olan et al., 2018).

Pectinodesmus pectinatus

Pectinodesmus pectinatus es un especie que pertenece a la familia Scenedesmaceae, que es la familia más grande con 54 géneros (Guiry & Guiry 2016), cada uno de los cuales muestra una gran variabilidad morfológica, mantenida por relaciones genéticas resultantes de los poros automáticos (Hegewald, 1997), que consecuentemente promueven todas las demás mutaciones (Krienitz & Bock, 2012). Scenedesmaceae es una familia de algas verdes del orden Sphaeropleales. La antigua familia Coelastraceae se considera sinónimo de Scenedesmaceae.

Según Komárek y Fott (1983), ésta es una especie de amplia distribución, común en el plancton donde hay plantas acuáticas. De acuerdo con la base de datos Taxfish, ha sido reportada en México en Lago de Chapala, Michoacán; en los Canales de Xochimilco, Distrito Federal; así como en los estados de Tabasco, Morelos, Veracruz y el Estado de México (Adrián, 2014). Existen reportes de acumulación de lípidos en *Pectinodesmus pectinatus* que podrían ser utilizados para la producción de biocombustibles como el biodiesel (Olán et al., 2018).

Descripción morfológica

La cepa de *Pectinodesmus pectinatus* presenta células fusiformes, a veces elipsoidales; las células externas están arqueadas y las internas son rectas. Hay un cloro-plasto parietal con un pirenoide por célula. Longitud y anchura de las células de 3-5 μm (Olán *et al.*, 2018).

Taxonomía

Dominio *Eukaryota*
Reino *Plantae*
Filo *Chlorophyta*
Clase *Chlorophyceae*
Orden *Sphaeropleales*
Familia *Scenedesmaceae*
Subfamilia *Scenedesmoidea*
Género *Pectinodesmus*
Especie *pectinatus*

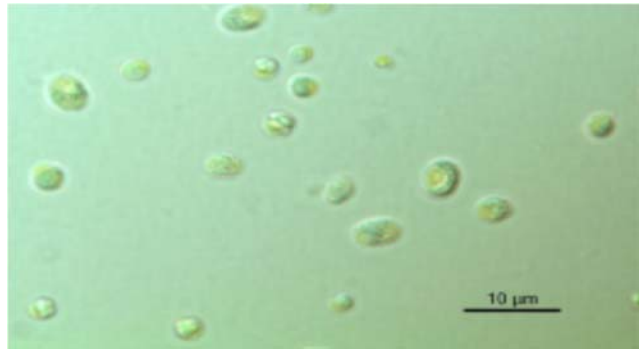


Figura 5.4.-*Pectinodesmus Pectinatus* (Olan *et al.*, 2018).

Medios de cultivos de microalgas

Una de las variables más complejas en el sistema productivo es la composición del medio de cultivo la cual se encuentra íntimamente relacionado con otras variables operativas y fisicoquímicas importantes: pH, temperatura y concentración de CO_2 (Ferreiro, 2011). Del mismo modo, el conocimiento de estos factores posibilita su modulación para conseguir una composición celular determinada y con ello, redirigir el metabolismo del microorganismo hacia la producción del compuesto o proceso deseado (Hu, 2004) (García, 2011).

Todos los organismos vivos incluyendo las microalgas requieren de un medio de cultivo que contenga todos los nutrientes esenciales que necesiten para su desarrollo (Edberg, 2010). En el cuadro 5.2 se reportan algunos valores de los requerimientos físicos y químicos que generalmente deben presentar los cultivos de microalgas, aunque estos sean particulares de la especie que se vaya a cultivar en las condiciones concretas de cultivo (Rodríguez, 2015).

Cuadro 5.2.- Requerimientos principales de cultivos de microalgas.

	Requerimientos	Compuestos Químicos	Valores
Físicos	Luz	-	2000-4000 lux
	Temperatura	-	15-25°C
	Salinidad	-	0.37%
	pH	-	7-9
Químicos	C	CO ₂ CO ₃	g/L
	O, H	O ₂ H ₂ O	g/L
	N	N ₂ NH ₄ ⁺ NO ₃	g/L
	P	PO ₄	g/L
	S	SO ₄	g/L
	Fe, Zn, Mn, B, Br, Si	Sales	mg/L
	Cu, Co, Cl, I, Sr, Rb, Al	Sales	mg/L
	Vitaminas	B ₁₂ , Tiamina, Biotina	mg/L

Cinética de crecimiento de las microalgas

El crecimiento de una población de microalgas en un cultivo bajo condiciones preestablecidas presenta las siguientes fases de desarrollo (Figura 5.5) (Wolfgang, 1994):

1. Fase de adaptación o ajuste,
2. Fase de crecimiento exponencial,
3. Fase de crecimiento lineal,
4. Fase de retardo,
5. Fase estacionaria
6. Fase de muerte,

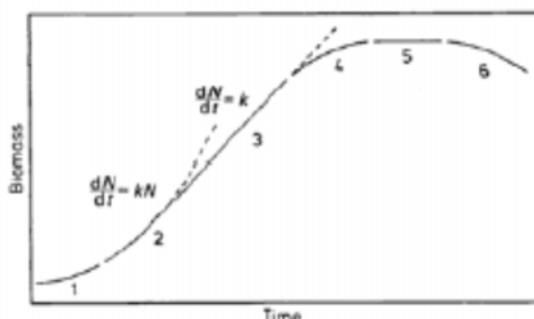


Figura 5.5.-Fases de crecimiento de un cultivo de microalgas

Durante la primera fase cuando un medio es inoculado con la microalga, esta se acopla a las condiciones establecidas, la tasa de crecimiento específico es baja y se incrementa con el tiempo del cultivo y la capacidad biológica de adaptación. En esta etapa las células son mucho más sensibles a la temperatura y a cualquier otro cambio en el ambiente en comparación con las demás etapas de desarrollo.

En la segunda fase el cultivo se ha adaptado a las condiciones de crecimiento. Aquí las células se duplican en intervalos iguales de tiempo y en un cultivo, sin luz y con nutrientes limitados, el incremento de biomasa de la microalga por unidad de tiempo, es proporcional a la biomasa inicial del cultivo (Rodríguez A., 2006).

El crecimiento continúa hasta la tercera fase en la cual la multiplicación celular se extiende a una tasa constante, determinada por la naturaleza intrínseca del organismo y las condiciones de cultivo, hasta llegar a ocultarse una célula sobre la otra, lo que produce una disminución de luz.

Durante la cuarta fase el tiempo requerido para duplicar la población aumenta, reduciéndose la tasa de crecimiento. Esto se debe a que los nutrientes están disminuidos en el medio y hay un aumento en la concentración de los metabolitos.

En la quinta fase la curva de crecimiento presenta el valor aproximado máximo de concentración de biomasa, es una fase corta donde se alcanza un equilibrio entre esta concentración y la pérdida debida a los procesos de degradación. La tasa de crecimiento se compensa con la mortalidad celular, de tal modo que $\mu = d$, donde d es la tasa de mortalidad.

Durante la última fase las células mueren liberando materia orgánica, es decir, la tasa de mortalidad supera la tasa de multiplicación celular $d > \mu$. Esta fase es causada por las condiciones desfavorables del ambiente, sobre el cultivo y el limitado suplemento de luz y nutrientes o la contaminación por otros microorganismos, este tipo de crecimiento ocurre en sistemas cerrados (Rodríguez A., 2006). Dicho crecimiento se expresa como el incremento de la función del tiempo de la biomasa o número de células dentro del cultivo.

Una interesante característica de esta fase descrita por (Becker, 1994); (Liere, 1982) y citada por (Lee, 2002) es que la biomasa total del cultivo se incrementa linealmente con el tiempo, debido a que la producción por unidad de tiempo, es proporcional a la absorción de luz. Esta fase de crecimiento lineal en cultivos batch, es una característica de los microorganismos fotosintéticos durante el crecimiento fotoautotrófico. Así, el conocimiento de los factores determinantes a partir de la velocidad de crecimiento lineal, puede suministrar una estrategia para optimizar la productividad del cultivo algal.

Sistemas de cultivos de microalgas

Probablemente, la característica más importante de las microalgas es que crecen rápidamente y tienen el potencial de generar una gran cantidad de biomasa en un tiempo relativamente corto. Se pueden resumir las características de los cultivos de microalgas por la elevada capacidad de generación de biomasa, generación de biomasa homogénea, gran variedad de productos y biomoléculas, no necesitan tierra cultivable, requieren nutrientes simples, aprovechan la luz del sol, retiran CO₂ de la atmósfera, además tienen eficiencia fotosintética alta comparada con las plantas.

En la producción de organismos fotoautótrofos existen dos diseños (Tredici, 2004) (Hernández-Pérez, 2014): cultivos abiertos, donde la biomasa está expuesta a las condiciones medioambientales; y cerrados, denominados fotobiorreactores o FBRs, con poco o ningún contacto con el medio externo (Posten, 2009) (Hernández-Pérez, 2014).

Sistemas de cultivos abiertos

Son los sistemas más comunes (Martínez, 2008) (Posten, 2009) comprenden tanto medios naturales, como lagunas y estanques, como artificiales con variedad de diseños. (Hernández-Pérez, 2014). Sus ventajas radican en el bajo costo y facilidad de construcción y operación, así como en la alta durabilidad (De Godos, 2009) (Rawat, 2011) (Abdel-Raouf, 2012). Este sistema es de los más rentables, ya que puede ser utilizado para el tratamiento de aguas residuales de distintas fuentes (De Godos, 2009) (Rawat, 2011) (Abdel-Raouf, 2012) lo que disminuye los costos por requerimientos nutricionales del cultivo (Abdel-Raouf, 2012) (FG Ación, 2012) pudiendo alcanzar una concentración celular hasta 0,7 g/L (Contreras-Flores C, 2003) y productividades por hectárea de hasta 50 t/año (Rawat, 2011) (Hernández-Pérez, 2014).

Como desventajas de este sistema se encuentra la baja accesibilidad de las células a la luz, la evaporación, la necesidad de grandes extensiones de terreno y exposición a contaminación por parte de organismos heterótrofos de rápido crecimiento y/o plancton pastoreador (Posten, 2009) (Park, 2011) (Rawat, 2011). El control de la temperatura es también complejo en un sistema de cultivo abierto, ya que si bien es verdad que la evaporación ejerce efecto de refrigeración, las oscilaciones diarias no se ven amortiguadas, y por otro lado la evaporación provoca cambios en la composición iónica del medio de cultivo (Ruiz Martínez, 2011).

En estos sistemas se encuentra en primera medida el cultivo extensivo, en el cual se usan grandes extensiones de terreno, sin agitación mecánica, con una cierta orientación tal que la turbulencia ocasionada por los vientos de la zona permita la homogenización y movimiento de la masa líquida empleada. El control del medio es mínimo debido a la magnitud del mismo y se tienden a manejar salinidades altas para disminuir el ataque de depredadores sobre la microalga. Además puede funcionar de manera continua o semicontinua, donde el suministro de CO₂ es directo regulado por un controlador de pH y una válvula de tipo solenoide en la mayoría de los casos. Luego, está el cultivo intensivo, el sistema más empleado hoy, en donde se controlan todas las variables de crecimiento celular, se utiliza estanques horizontales de poca profundidad, utilizando como sistema de agitación una rueda de paletas a baja velocidad (Alvear, 2011).

Existen diferentes tipos de sistemas de cultivos abiertos como las lagunas o estanques naturales (Tredici, 2004) (Lores H., 2015) (Figura 6.6). Los sistemas inclinados (Lores H., 2015), los estanques circulares (Tredici, 2004) (Lores H., 2015), así como los estanques *raceways* (Bermeo Castillo L.E., 2011) (Figura 6.6).



Figura 6.6.- A) Estanque natural para la producción de Dunaliella (Cognis, West Australia) B) Reactores tipo raceway con diferentes volúmenes en Israel (Seambiotic Ltd.)

Sistemas de cultivo cerrados

Las dificultades en los sistemas de cultivo abiertos han favorecido el desarrollo de los sistemas de cultivo cerrados (Martínez, 2008) (Posten, 2009). Éstos permiten un importante control de los parámetros, disminuyendo sustancialmente los problemas presentes en los sistemas abiertos (Martínez, 2008) (Posten, 2009). Además, permiten realizar cultivos hiperconcentrados, ya sean mixtos o monoalgales, con valores superiores a 1,5 g/L (Lavoie, 1985) (Abdel-Raouf, 2012) pudiendo obtener Alta Densidad Celular (ADC) por sobre 3 g/L o Ultra Alta Densidad Celular (UADC) entre 15 a 80 g/L (Contreras-Flores C, 2003) (Hernández-Pérez, 2014).

Para este tipo de sistemas la luz no incide directamente sobre la superficie del cultivo, pero tiene que pasar a través de las paredes transparentes del reactor para llegar a las células cultivadas. Estos sistemas no permiten o limitan el fuerte intercambio de gases y contaminantes (polvo, microorganismos, hongos, etc), ofrecen protección contra la lluvia, lo que los hace ideales para la mayoría de especies de microalgas que no se pueden mantener expuestas por demasiado tiempo al aire libre porque sufren el riesgo de ser dominados por otras especies (Bermeo Castillo, 2011).

Los sistemas cerrados presentan múltiples ventajas frente a los reactores abiertos como un uso más eficiente de la irradiancia, que conduce a la producción de cultivos más concentrados, la posibilidad de cultivar todo el año, una disminución de las pérdidas por evaporación, un mejor control de algunas variables como la temperatura y mayor facilidad de operación en continuo (Grobbelaar, 2009) (García, 2011).

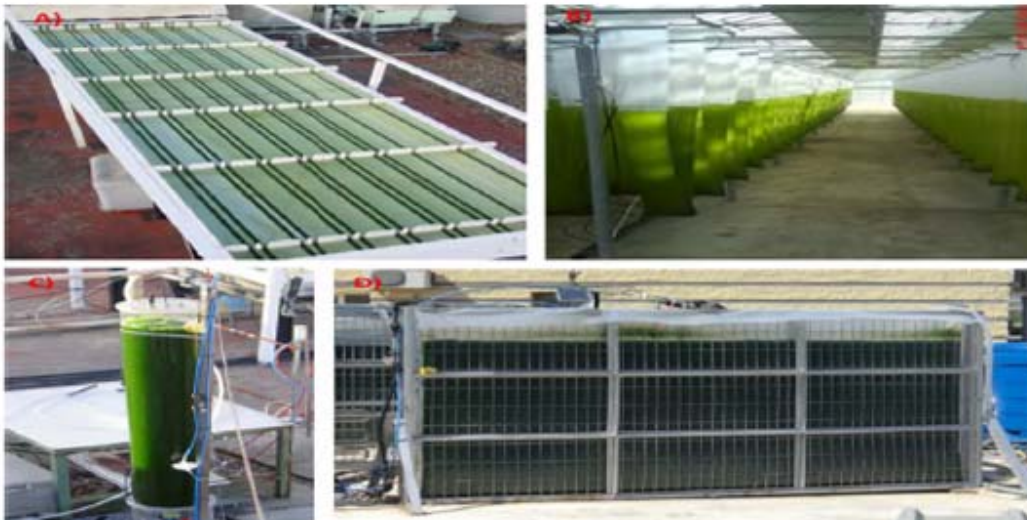


Figura 6.7. Diferentes diseños de fotobiorreactores cerrados: A) Tubular, Bolsas de polietileno C) Columna vertical. Reactor semiabierto: D) Panel vertical.

A continuación, se describen las tecnologías de fotobiorreactores algales más importantes: placas planas y tubulares. Todas ellas están enfocadas en conseguir una ratio superficie a volumen lo más elevada posible para mejorar la eficiencia fotosintética y, en consecuencia, una buena productividad de biomasa.

Fotobiorreactor de placas planas

Los reactores de placas planas (“Flat Plat Reactors” o FPR) siguen un concepto de diseño simple que busca un uso eficiente de la luz. Están formados por paneles estrechos construidos para lograr una relación área a volumen alta. Estas placas o paneles forman un sistema mediante la conexión de unas con otras. Dichas conexiones también son utilizadas para introducir gas y sustancias nutritivas. La introducción del CO₂ se suele realizar por la parte baja del panel para asegurar que tenga suficiente tiempo para interactuar con las algas. En general, las principales ventajas de estos fotobiorreactores son su alta productividad y una distribución uniforme de la luz.

Debido a las ventajas que se acaban de comentar, este tipo de fotobiorreactores ha sido objeto de gran atención. Los trabajos presentados por Milner (1953) prepararon la base para el cultivo de algas en este clase de sistemas. Siguiendo este trabajo, Samson y Leduy (1985) desarrollaron un reactor equipado con lámparas fluorescentes. Un año más tarde, Ramos de Ortega y Roux (1986) desarrollaron un reactor para exteriores usando PVC transparente. Posteriormente, en los años 90, se fueron presentando trabajos sobre el diseño de paneles alveolares verticales y reactores de placas planas para el cultivo masivo de diferentes tipos de algas. Buen ejemplo de ellos, son las investigaciones de Tredici y Materassi.

Fotobiorreactor tubular vertical

Los reactores de columna burbujeante son los ejemplos más típicos de fotobiorreactores tubulares verticales (“Vertical Tubular Reactors” o VTR). Se trata de una columna cilíndrica fabricada en un material transparente, normalmente polietileno o vidrio ya que permiten una buena penetración de luz y son relativamente baratos (Figura 6.8). La introducción de gas se lleva a cabo por la parte inferior de la columna y causa una corriente turbulenta que permite optimizar el intercambio de gas. En la actualidad, estos tipos de reactores se construyen con un diámetro máximo de 20 a 30 cm para asegurar el suministro de energía solar. La disponibilidad de luz en este tipo de columnas está influenciada por la velocidad de aireación, las acumulaciones de gas y la velocidad del líquido. El exceso de oxígeno generado por la actividad fotosintética debe ser retirado.

Aunque el cultivo de microalgas en este tipo de sistemas es simple y su empleo está ampliamente extendido, la tecnología es algo primitiva y presenta ciertas limitaciones derivadas de la fragilidad y de la baja versatilidad de los materiales utilizados. Por otro lado, el escalado de los equipos se preveía muy sencillo inicialmente, pero la experiencia acumulada ha demostrado que el aumento en el volumen de cultivo implica un descenso de la productividad.

Fotobiorreactor tubular horizontal

Un reactor tubular horizontal está formado por haces de tubos horizontales conectados como un sistema de tuberías. El fluido algal suspendido es capaz de circular por esta línea de tuberías. Los tubos se suelen fabricar de plásticos transparentes o vidrio de borosilicato y la circulación se mantiene constante mediante una bomba localizada al final del sistema. La transferencia de gas tiene lugar en las conexiones entre tubos o en unidades de intercambio de gas especialmente diseñadas para este propósito.

Parece que uno de los principales problemas operativos que se dan en en este tipo de fotobiorreactores, es el calentamiento excesivo durante las horas de calor. La amplitud del salto de temperatura que se produce en un día puede llegar a alcanzar los 20°C. Algunas de las soluciones que se han probado para atajar este problema pasan por rociar la superficie de los tubos con agua de manera regular o sumergir el cultivo en una piscina de agua cuando se considera necesario. Varias fuentes sostienen que los fotobiorreactores de exteriores pueden ser enfriados de manera efectiva y barata mediante intercambiadores de calor. Otra limitación importante, ya destacada en el caso de los tubulares verticales, es la fragilidad intrínseca de los vidrios habitualmente empleados en su fabricación.



Figura 6.8.- Fotobiorreactor de columna de burbujeo (VTR)

Simulación

La Simulación de Procesos. Resume toda la teoría relacionada con un proceso en el cual se sustituyen las situaciones reales por otras creadas artificialmente, de las cuales se deben aprender ciertas acciones, habilidades y hábitos. En los últimos años, la simulación de procesos ha llegado a ser una herramienta adecuada y oportuna de apoyo para el diseño, caracterización, optimización y monitoreo del funcionamiento de procesos industriales. Para aplicar estas simulaciones existen en la actualidad una gran variedad de Simuladores de Procesos.

Aplicaciones

En principio, la simulación de procesos puede ser útil en todas las etapas del desarrollo de un proyecto industrial. En las diferentes etapas de un proyecto, puede haber necesidad de realizar simulaciones con diferentes niveles de sofisticación. La simulación de procesos puede usarse en las siguientes etapas del desarrollo de un proyecto industrial:

- Investigación y desarrollo: Una simulación sencilla se puede usar para probar la factibilidad técnica y económica del proyecto.
- Etapa crítica en la toma de decisiones: Se prueban diferentes alternativas de proceso y condiciones de operación y se toman decisiones.
- Planta piloto: Simulación con modelos más sofisticados para obtener mejores estimaciones de las condiciones de operación a escala industrial.
- Diseño: La simulación proporciona todos los datos de proceso requeridos para el diseño detallado de los diferentes equipos.
- Simulación de plantas existentes: Puede ser muy útil cuando es necesario cambiar las condiciones de operación, o cuando se quieren sustituir materias primas.

Dinámica de Fluidos Computacional

La Dinámica de Fluidos Computacional o CFD (del inglés Computational Fluid Dynamics) es el área de conocimiento que trata sobre la simulación numérica de flujos fluidos, transferencia de calor y fenómenos relacionados tales como reacciones químicas, combustión, aeroacústica etc. El CFD tuvo origen a partir de la combinación de dos disciplinas: mecánica de los fluidos y cálculo numérico. Las ecuaciones que rigen el flujo fluido tienen origen en la mecánica de los fluidos y pueden ser resueltas por medio de diferentes métodos numéricos.

Etapas de un análisis de CFD

Un análisis completo de dinámica de fluidos computacional consta de las siguientes etapas:

1.-Cálculos previos, Esta etapa consiste en:

- Formular el problema y plantear las ecuaciones que lo gobiernan
- Establecer las condiciones de contorno
- La generación de una malla de volúmenes finitos

Todo esto depende del análisis que se quiera realizar (fuerzas, flujos, distribución de concentraciones, transferencia de calor,...) y de la capacidad computacional.

2.-Solución de las ecuaciones

Esta es la etapa principal del CFD. En ella tiene lugar la solución numérica de las ecuaciones que gobiernan el problema.

3.-Análisis de los resultados

Los resultados obtenidos de la solución de las ecuaciones se corresponden con el valor de las variables de campo (ρ, u, v, w, p, \dots) en cada punto de la malla. Esta enorme cantidad de números deben reducirse a los fundamentales para poder manejarse con facilidad y obtener lo que pretendíamos con el cálculo. Una parte importante de esta etapa es la representación gráfica de las variables que gobiernan el flujo, para tener una visión rápida y amena de los resultados obtenidos. También se incluye, la comparación de los resultados obtenidos con otros ya obtenidos con:

- Otros obtenidos con anterioridad mediante el análisis de CFD.
- Con resultados tabulados existentes en normativas, publicaciones científicas

Aplicaciones de la dinámica de fluidos computacional.

La dinámica de fluidos computacional ha sido empleada en una gran cantidad de campos de la ingeniería, entre los que se pueden destacar

- Aerodinámica - aviones y automóviles
- Hidrodinámica de embarcaciones
- Motores
- Turbomáquinas - bombas y turbinas
- Transferencia de calor - sistemas de calentamiento o enfriamiento
- Combustión
- Ingeniería de procesos - mezclas y reacciones químicas
- Cargas de viento - fuerzas y respuesta dinámica de estructuras
- Riegos de fuego y explosiones
- Ingeniería medioambiental - transporte de efluentes líquidos y gaseosos

COMSOL Multiphysics

COMSOL Multiphysics (antes conocido como FEMLAB) es un paquete de software de análisis y resolución por elementos finitos para varias aplicaciones físicas y de ingeniería, especialmente fenómenos acoplados, o multifísicos. COMSOL Multiphysics también ofrece una amplia y bien gestionada interfaz a MATLAB y sus *toolboxes* que proporcionan una amplia variedad de posibilidades de programación, preprocesado y postprocesado.

Aplicaciones

Las prestaciones de modelado y simulación de COMSOL, junto con las librerías disponibles para él, lo convierten en una herramienta aplicable en un amplio abanico de áreas, entre las que se destaca:

- Acústica, electromagnetismo, sistemas microelectromecánicos (MEMS), ingeniería de microondas, componentes de radiofrecuencia, dispositivos semiconductores, propagación de ondas.
- Reacciones químicas, difusión, dinámica de fluidos, fluidos en medios porosos, transferencia del calor, fenómenos de transporte.
- Mecánica de estructuras
- Física, geofísica, óptica, fotónica, mecánica cuántica.
- Sistemas de control.
- Modelado de componentes.
- Matemática aplicada.

Modelo turbulento k-ε

El modelo k-ε es uno de los modelos de turbulencia más utilizados para aplicaciones industriales. Este módulo incluye el modelo estándar k-ε. El modelo introduce dos ecuaciones de transporte adicionales y dos variables dependientes: la energía cinética turbulenta, k, y la tasa de disipación turbulenta, ε. La viscosidad turbulenta se modela como

$$\mu_T = \rho C_\mu \frac{\kappa^2}{\varepsilon} \quad (6.3)$$

Donde C_μ es una constante del modelo.

La ecuación de transporte para κ es:

$$\rho \frac{\partial \kappa}{\partial t} + \rho \mathbf{u} \cdot \nabla \kappa = \nabla \cdot \left[\left(\mu + \frac{\mu_T}{\sigma_\kappa} \right) \nabla \kappa \right] + P_\kappa - \rho \varepsilon \quad (6.4)$$

Donde el término de producción es

$$P_\kappa = \mu_T \left[\nabla \mathbf{u} : \left(\nabla \mathbf{u} + (\nabla \mathbf{u})^T \right) - \frac{2}{3} (\nabla \cdot \mathbf{u})^2 \right] - \frac{2}{3} \rho \kappa \nabla \cdot \mathbf{u} \quad (6.5)$$

La ecuación de transporte para ε se representa como:

$$\rho \frac{\partial \varepsilon}{\partial t} + \rho \mathbf{u} \cdot \nabla \varepsilon = \nabla \cdot \left[\left(\mu + \frac{\mu_T}{\sigma_\varepsilon} \right) \nabla \varepsilon \right] + C_{\varepsilon 1} \frac{\varepsilon}{\kappa} P_\kappa - C_{\varepsilon 2} \rho \frac{\varepsilon^2}{\kappa} \quad (6.6)$$

Las constantes del modelo en la Ecuación 6.3, la Ecuación 6.4 y la Ecuación 6-6 se determinan a partir de datos experimentales (Wilcox, 1998). y los valores se enumeran en el Cuadro 6.3.

Cuadro 6.3.-Constantes del modelo de k-ε

Constante	Valor
C_μ ,	0.09
$C_{\varepsilon 1}$,	1.44
$C_{\varepsilon 2}$,	1.92
σ_κ ,	1.0
σ_ε ,	1.3

La ecuación 6.4 y la ecuación 6.6 no se pueden implementar directamente como están escritas. Por ejemplo, no hay nada que impida la división por cero. En cambio, las ecuaciones se implementan como sugieren D. Kuzmin et al. (2007), La implementación incluye un límite superior en la longitud de mezcla, l_{mix} .

$$l_{mix} = \max \left(C_{\mu} \frac{\kappa^{3/2}}{\varepsilon}, l_{mix}^{lim} \right) \quad (6.7)$$

La longitud de mezcla se utiliza para calcular la viscosidad turbulenta, y no debe implementada en una solución convergente, ya que no es más que un instrumento para lograr la convergencia

Otra utilidad que se debe aplicar con el fin de obtener mejores resultados es la restricción de la realizabilidad se utiliza siempre para los modelos RANS. El efecto de no aplicar una restricción de la realizabilidad suele ser la producción excesiva de turbulencia, sobre todo en los puntos de estancamiento, para evitar esto se emplea el modelo de viscosidad de Foucault donde el tensor de esfuerzos de Reynolds se puede escribir como:

$$\overline{\rho u_i u_j} = -2\mu_T S_{ij} + \frac{2}{3}\rho\kappa\delta_{ij} \quad (6.8)$$

Donde δ_{ij} es la delta de Kronecker y S_{ij} es el tensor velocidad de deformación. Los elementos de la diagonal del tensor de tensiones de Reynolds debe ser positivo, pero el cálculo de μ_T partir de la ecuación (6.3) no garantiza esto. Afirmar que la viscosidad turbulenta se somete a una restricción que para un flujo 3D se expresa como:

$$\mu_T \leq \frac{\rho\kappa}{\sqrt{6}\sqrt{S_{ij}S_{ji}}} \quad (6.9)$$

La combinación de la ecuación (6.9) con la ecuación (6.3) y (6.7), la nueva ecuación da un límite en la escala de longitud de mezcla:

$$l_{mix} \leq \frac{1}{\sqrt{6}} \frac{\sqrt{\kappa}}{\sqrt{S_{ij}S_{ji}}} \quad (6.10)$$

Limitaciones del modelo

El modelo de turbulencia k-ε se basa en varios supuestos, el más importante de los cuales es que el número de Reynolds es lo suficientemente alto. También es importante que la turbulencia esté en equilibrio en las capas límite, lo que significa que la producción es igual a la disipación. Estas suposiciones limitan la precisión del modelo porque no siempre son ciertas. Por ejemplo, no responde correctamente a los flujos con gradientes de presión adversos y puede dar lugar a una predicción insuficiente de la extensión espacial de las zonas de recirculación (Wilcox, 1998). Además, en las simulaciones de flujos rotativos, el modelo a menudo muestra un pobre acuerdo con los datos experimentales (Driver & Seegmiller, 1985). En la mayoría de los casos, la precisión limitada es una compensación justa por la cantidad de recursos computacionales ahorrados en comparación con el uso de modelos de turbulencia más complicados.

Ecuaciones de flujo de burbujas (Flujo bifásico)

COMSOL Inc. (2010) proporciona un modelo de dos fluidos en un esquema Euler-Euler, mostrando un balance macroscópico de flujo de fluidos en dos fases, en el cual estas fases son tomadas como un medio con interpenetración mediante el seguimiento de la concentración promedio de cada una de las fases. A cada una de las fases está asociado un campo de velocidad con una ecuación de balance de momentum y una ecuación de continuidad para describir su dinámica. El modelo es una simplificación, basándose en las siguientes consideraciones:

- La densidad del gas es insignificante en comparación con la densidad del líquido.
- El movimiento de las burbujas de gas en relación con el líquido, está determinada por un equilibrio entre la resistencia viscosa y las fuerzas de presión.
- Las dos fases de comparten el mismo campo de presión.

Con base en estos supuestos, se obtiene un sistema de ecuaciones para ambas fases, con una ecuación de momento para la velocidad del líquido junto con su ecuación de continuidad, y una ecuación de transporte de la fracción de volumen de la fase gaseosa.

La ecuación de momento para la fase líquida.

$$\phi_l \rho_l \frac{\partial \mathbf{u}_l}{\partial t} + \phi_l \rho_l \mathbf{u}_l \cdot \nabla \mathbf{u}_l = -\nabla p + \nabla \cdot \left[\phi_l \mu (\nabla \mathbf{u}_l + \nabla \mathbf{u}_l^T) + \frac{2}{3} (\nabla \cdot \mathbf{u}_l) \mathbf{I} \right] + \phi_l \rho_l \mathbf{g} + \mathbf{F} \quad (6.11)$$

La ecuación de continuidad es la siguiente:

$$\frac{\partial}{\partial t} (\rho_l \phi_l + \rho_g \phi_g) + \nabla \cdot (\phi_l \rho_l \mathbf{u}_l + \phi_g \rho_g \mathbf{u}_g) = 0 \quad (6.12)$$

Y la ecuación para el transporte de la fracción volumétrica de gas es,

$$\frac{\partial \rho_g \phi_g}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi_g \rho_g \mathbf{u}_g) = -m_{gl} \quad (6.13)$$

En este caso los subíndices "l" y "g" denotan cantidades correspondientes a la fase líquida y la fase de gas, respectivamente, \mathbf{u} es la velocidad, p la presión, ϕ la fracción volumétrica de la fase en cuestión, ρ la densidad, \mathbf{g} el vector gravedad, una fuerza \mathbf{F} de volumen adicional, μ viscosidad dinámica del líquido, y μ_T viscosidad turbulenta y m_{gl} es la velocidad de transferencia de masa del gas al líquido.

Para fracciones volumétricas de gas bajas, en general es válido reemplazar la ecuación de continuidad (6.13), por

$$\nabla \cdot \mathbf{u}_l = 0 \quad (6.14)$$

En este sistema de ecuaciones las únicas variables independientes son la \mathbf{u}_l , p y la fracción volumétrica de gas ϕ_g . La fracción volumétrica del líquido es calculado como:

$$\phi_l = 1 - \phi_g \quad (6.15)$$

Otra consideración de este modelo es el uso de la ley del gas ideal para calcular la densidad de la fase de gas se la siguiente forma:

$$\rho_g = \frac{(p + p_{ref})M}{RT} \quad (6.16)$$

Donde M es el peso molecular del gas, R es la constante universal de los gases ideales, T es la temperatura y p_{ref} es la presión de referencia, la cual es una variable escalar que generalmente se le da un valor de 101325 Pa (1 atm).

La velocidad del gas \mathbf{u}_g es estimada mediante la suma de las siguientes velocidades:

$$\mathbf{u}_g = \mathbf{u}_l + \mathbf{u}_{slip} + \mathbf{u}_{drift} \quad (6.17)$$

Donde \mathbf{u}_{slip} es la velocidad relativa entre las fases y \mathbf{u}_{drift} es una contribución adicional cuando se emplea un modelo de turbulencia, para la velocidad de deslizamiento \mathbf{u}_{slip} se encuentran disponibles varios modelos según el tipo de aplicación. El modelo más simple asume que la velocidad de las dos fases son iguales, es decir, $\mathbf{u}_{slip} = 0$. Otros modelos se basan en la suposición de que las fuerzas de presión en una burbuja se equilibran con la resistencia viscosa:

$$\frac{3}{4} \frac{C_d}{d_b} \rho_l |\mathbf{u}_{slip}| \mathbf{u}_{slip} = -\nabla p \quad (6.18)$$

Aquí d_b indica el diámetro de la burbuja y C_d es el coeficiente de arrastre viscoso. Cuando las burbujas de gas tienen un diámetro de más de 2 mm, se puede utilizar el siguiente modelo para el coeficiente de resistencia (Sokolichin *et al.*, 2004):

$$C_d = \frac{0.622}{\frac{1}{E\ddot{o}} + 0.235} \quad (6.19)$$

Donde $E\ddot{o}$ es el número de Eötvös

$$E\ddot{o} = \frac{g \rho_l d_b^2}{\sigma} \quad (6.20)$$

Donde, g es la magnitud del vector de la gravedad y σ el coeficiente de tensión superficial.

Para burbujas con un diámetro menor de 2 mm, se puede elegir la ley arrastre de Hadamard-Rybczynski para burbujas de gas esféricas en un líquido (Crowe *et al.*, 1998):

$$C_d = \frac{16}{Re_b}, \quad Re_b = \frac{d_b \rho_l |\mathbf{u}_{slip}|}{\mu_l} \quad (6.21)$$

Para la mayoría de aplicaciones de flujo de burbujas, el campo de flujo se vuelve turbulento. En ese caso, puede utilizar un modelo de turbulencia y resolver para el campo de velocidades promedio, aplicando el modelo de turbulencia κ - ε , para calcular la velocidad y la turbulencia en el seno del líquido mediante la solución de dos ecuaciones de transporte adicionales para la energía cinética turbulenta, κ y la tasa de disipación de energía turbulenta, ε .

La ecuación del transporte para la energía cinética de turbulencia, κ , es:

$$\rho_l \frac{\partial \kappa}{\partial t} - \nabla \cdot \left[\left(\mu + \frac{\mu_T}{\sigma_\kappa} \right) \nabla \kappa \right] + \rho_l \mathbf{u}_l \cdot \nabla \kappa = \frac{1}{2} \mu_T \left(\nabla \mathbf{u}_l + \nabla \mathbf{u}_l^T \right)^2 - \rho_l \varepsilon + \mathbf{S}_\kappa \quad (6.22)$$

Y la evolución de la tasa de disipación de energía turbulenta, ε , se expresa como:

$$\rho_l \frac{\partial \varepsilon}{\partial t} - \nabla \cdot \left[\left(\mu + \frac{\mu_T}{\sigma_\varepsilon} \right) \nabla \varepsilon \right] + \rho_l \mathbf{u}_l \cdot \nabla \varepsilon = \frac{1}{2} C_{\varepsilon 1} \frac{\varepsilon}{\kappa} \mu_T \left(\nabla \mathbf{u}_l + \nabla \mathbf{u}_l^T \right)^2 - \rho_l C_{\varepsilon 2} \frac{\varepsilon^2}{\kappa} + \frac{\varepsilon}{\kappa} C_{\varepsilon} \mathbf{S}_\kappa \quad (6.23)$$

La viscosidad turbulenta, μ_T está definida por la ecuación (6.3). En todas estas ecuaciones, la velocidad, \mathbf{u}_l , es el campo de velocidad promedio de la fase líquida, en este caso C_μ , $C_{\varepsilon 1}$, $C_{\varepsilon 2}$, σ_κ , σ_ε , son las mismas constantes del modelo de turbulencia κ - ε de una sola fase.

La viscosidad turbulenta se tiene en cuenta en las ecuaciones de momento y mediante la adición de una velocidad de flotación a la velocidad del gas:

$$\mathbf{u}_{drift} = - \frac{\mu_T}{\rho_l} \frac{\nabla \phi_g}{\phi_g} \quad (6.24)$$

El término \mathbf{S}_κ , está relacionando con la turbulencia inducida por el flujo de burbujas y está descrito por

$$\mathbf{S}_\kappa = -C_\kappa \phi_g \nabla p \cdot \mathbf{u}_{slip} \quad (6.25)$$

Los valores adecuados para los parámetros del modelo C_κ y no están tan bien establecidos como los parámetros de flujo monofásico. En la literatura, se han sugerido los valores dentro de los rangos $0.01 < C_\kappa < 1$ (Sokolichin *et al.*, 2004).

7. Procedimiento y descripción de las actividades realizadas

Determinación de Biomasa

Conteo de células en cámara de Neubauer

El conteo celular se llevó a cabo en una cámara de Neubauer marca Hausser modelo BL0010, tomando muestras de 1 mL y con un análisis al microscopio con objetivos de 10X y 100X. La concentración celular se determinó mediante los 4 cuadros de 1 mm² marcados como A, B, C y D, de acuerdo a la fórmula (Arredondo *et al.*, 2017):

$$C = N \times 10000 \times D \quad (7.1)$$

C= Concentración celular

N=Promedio de células en 1 mm²

1000= Factor de conversión de 0.1 µL a 1 mL

D=Dilución

Peso seco

El peso seco se obtuvo llevando a peso constante filtros de microfibra de vidrio marca Whatman con un diámetro de poro de 1.6 µm en un horno marca NOVATECH No. MD-12 por 24 horas a 160 °C. Posteriormente de 2 ml de cultivo se filtraron a través de los filtros mediante el uso de una bomba de vacío marca FELISA MODELO FE-1800 de 50 mm Hg conectado a un embudo y un matraz Kitasato (Figura 7.1).



Figura 7.1.- Filtración al vacío del medio de cultivo para la recuperación de la biomasa

Posteriormente, se llevó la biomasa con el filtro al horno por 24 horas a 75°C hasta llegar su a peso constante. Se calculó con la siguiente fórmula (De la Noüe & de Pau , 1988):

$$\text{Biomasa } \frac{\text{g}}{\text{L}} = \frac{(\text{Peso del filtro} + \text{Biomasa}) - (\text{Peso del filtro})}{\text{Volumen de muestra}} \quad (7.2)$$

Velocidad específica de crecimiento y tiempo de duplicación

La constante de velocidad específica de crecimiento se calculó en la fase exponencial usando la ecuación de Monod:

$$\mu = \frac{\ln(X_f) - \ln(X_i)}{(t_f - t_i)} \quad (7.3)$$

Xf= Biomasa final

Xi= Biomasa inicial

Tf=Tiempo final

Ti= Tiempo inicial

Posteriormente se determinó el tiempo de duplicación mediante la ecuación 7.4:

$$td = \frac{\ln 2}{\mu} \quad (7.4)$$

Cuantificación de clorofila a y b.

Se centrifugó 5 ml de cultivo a 4000 rpm por 15 min 5 mL, la pastilla celular obtenida, se le adiciono 5 mL de metanol y se calentó por 10 min a 60°C en baño maría (Figura 7.2).

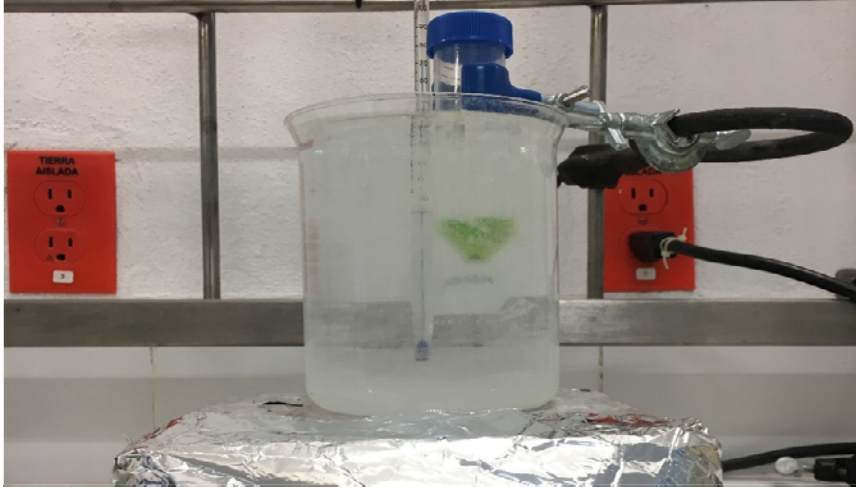


Figura 7.2.- Calentamiento de la mezcla biomasa-metanol previo a su refrigeración.

Las muestras obtenidas se refrigeraron por 24 h en oscuridad y posteriormente se centrifugaron por 10 min a 4000 rpm. En caso de que se presentara evaporación, los sobrenadantes obtenidos se aforaron con metanol al volumen inicial de 5 mL y se midió su absorbancia a 653 y 666 nm de longitud de onda. Los cálculos se hicieron utilizando las siguientes fórmulas (Wellbur, 1994):

$$\text{Clorofila } a = 15.65 (A_{666}) - 7.34 (A_{653}) \quad (7.5)$$

$$\text{Clorofila } b = 27.05 (A_{653}) - 11.21 (A_{666}) \quad (7.6)$$

Cuantificación de nitratos

La cuantificación de nitratos en el medio se realizó con base a la metodología descrita por Arredondo *et al.*, (2017) mediante el uso de una curva patrón, para su elaboración se disolvieron 0.102 g de KNO_3 en 100 mL de agua destilada, lo que equivale a una solución de 10 mM. De la solución resultante se tomó 1.6 mL y se aforó a 50 mL con agua destilada, resultando en una solución estándar de 320 μM . A partir de la solución estándar se realizaron las diluciones correspondientes para obtener las concentraciones de: 160, 80, 40, 20, 10 y 5 μM . Una vez realizadas las diluciones se leyó la densidad óptica en un espectrofotómetro a 220 nm, empleando una celda de cuarzo. Las muestras se leyeron a la misma longitud de onda y a partir de la ecuación de regresión lineal obtenida de la curva patrón (Figura 7.3) (ec 7.7), se calculó la concentración de nitratos.

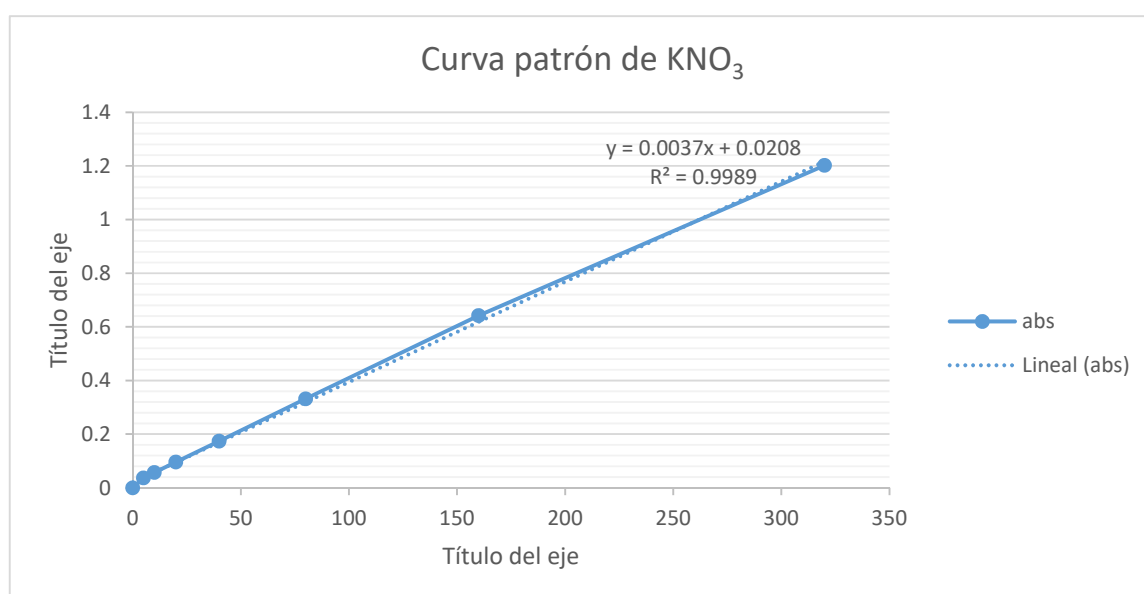


Figura 7.3.- Curva patrón de KNO_3

$$\text{Concentraci3n de } \text{NO}_3 = x = \frac{y - 0.0208}{0.0037} \quad (7.7)$$

Cuantificación de lípidos totales

La cuantificación de lípidos totales se realizó a partir de una muestra de 30 mL del cultivo. La muestra se centrifugó a 4500 rpm durante 20 min, la pastilla obtenida se le adicionó 3 mL de una mezcla 1:2 de cloroformo: metanol, la cual se agitó vigorosamente, Posteriormente se almacenó en refrigeración a 4 °C por un periodo de 24 h. El paquete celular se separó de la mezcla de solventes por centrifugación a 4500 rpm por 15 min. Los solución de solventes previamente recuperada se almaceno en tubos Falcón de 50 mL y la pastilla celular se lavó con 4 ml de la mezcla de solventes por dos ocasiones más, los solventes recuperados de los lavados se mezclaron con el inicial resultando en un volumen aproximado de 11 mL Con el propósito de romper el equilibrio de la mezcla cloroformo: metanol, se adicionaron 11 mL de agua destilada, obteniéndose con ello dos fases: la orgánica que contiene los lípidos disueltos en el cloroformo, y la fase metanol-agua, Posteriormente, se centrifugaron las muestras con los las fases ya divididas con la finalidad de recuperar las trazas de lípidos que hayan quedado en la fase acuosa (Figura 7.4).

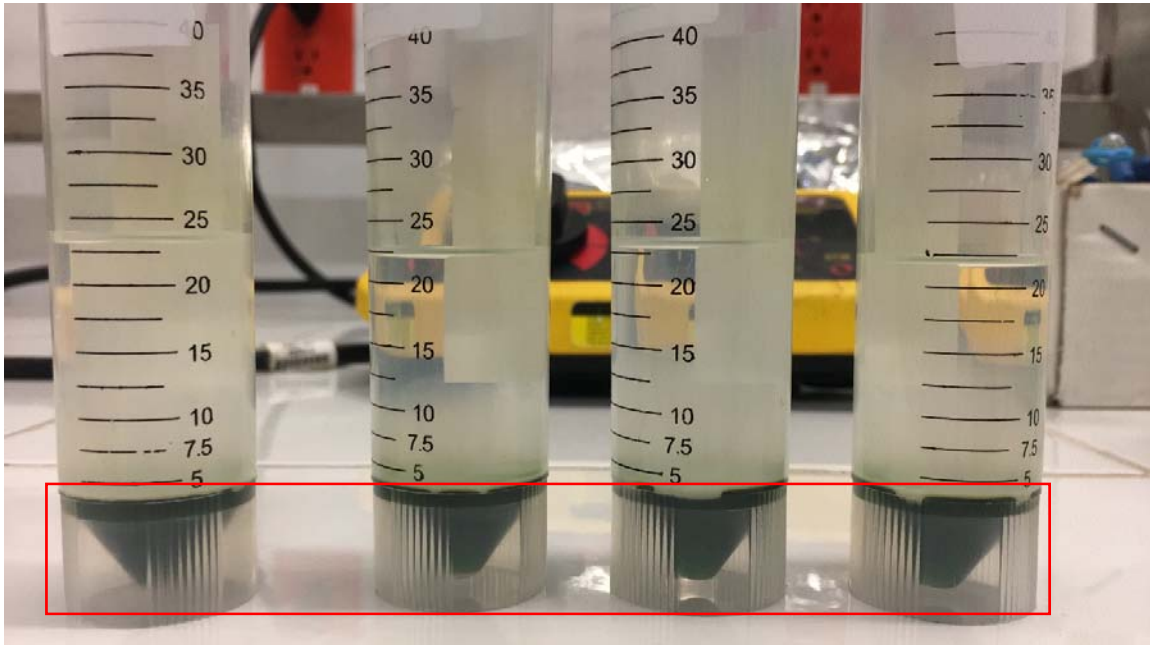


Figura 7.3.-Separacion completa de las fases acuosas y orgánicas. (El rectángulo rojo indica la fase orgánica utilizada para la cuantificación de lípidos)

La fase orgánica libre de agua se transfirió a viales previamente tarados y colocados en un baño maría a 80° C para eliminar el cloroformo remanente. Los viales con la muestra lipídica se almacenaron en un desecador y se pesaron varias veces hasta obtener un peso constante. El contenido lipídico se determinó por diferencia de peso (Band *et al.*, 1992).

Determinación de perfil de ácidos grasos

Para determinar el perfil de ácidos grasos, se utilizó 400 mL de cultivo, del cual se le realizó el mismo proceso de extracción de lípidos antes mencionado. Una vez realizada la extracción, las muestras fueron convertidas a metil ésteres. Se llevó a cabo una hidrólisis alcalina utilizando 100 μ L de lípidos y 1 mL de una solución de NaOH 0.5 M preparada con metanol grado HPLC. La reacción se llevó a cabo a 80°C durante 20 minutos en baño maría con agitación constante. Transcurrido este tiempo, se adicionó 1 mL de BF₃/MeOH al 14%, y se mantuvo a 25°C durante 20 minutos, con agitación constante.

Se realizó la extracción de los metil ésteres utilizando 1 mL de hexano grado HPLC. Posteriormente se llevó a centrifugación la muestra a 1000 g durante 10 min para recuperar el sobrenadante. El extracto hexánico obtenido al finalizar la esterificación (Figura 7.4), se inyectó por triplicado 1 μ L de cada una de las muestras en el cromatógrafo de gases marca Agilent Technologies, modelo 5975 inert XL (Net work GC system), equipado con una columna DBWax de 60 metros de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 μ m de espesor de película.

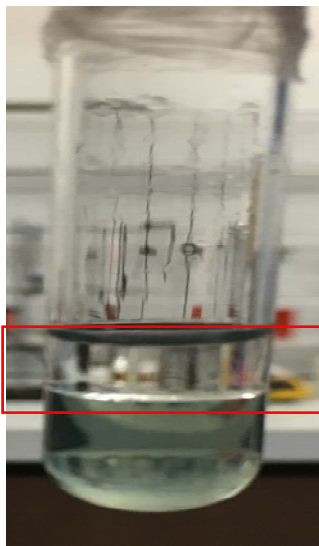


Figura 7.4 Extracto hexánico obtenido al finalizar el proceso de esterificación (rectángulo rojo).

La temperatura de entrada fue de 150 °C, la cual se mantuvo durante 5 minutos y posteriormente se elevó hasta 210°C usando una rampa de calentamiento de 30°C/min. De 210°C pasó a 213°C a una velocidad de 1°C/min, finalmente de esta temperatura pasó a 225°C a una velocidad de 20°C/min, durante 20 minutos haciendo un total de 30.6 minutos por corrida por muestra. Se usó helio como gas acarreador a un flujo de 1 mL/min. La temperatura del inyector fue de 250°C, inyección Split con una relación de 50:1.

Una vez obtenido el cromatograma, la identificación de cada una de las señales cromatográficas se llevó a cabo mediante espectrometría de masas empleando un espectro de masas marca Agilent Technologies modelo 5975 inert XL.

Parámetros Hidrodinámicos

Determinación de diámetro de burbuja

El diámetro de las burbujas se determinó empleando una cámara iSight de 12 megapíxeles con tecnología HDR, con la cual se tomaron 4 fotografías del reactor operando a un volumen del 80% con un flujo 0.5 L min^{-1} y con presencia de un objeto de referencia con tamaño (Flecha de aireación), Las fotografías fueron ampliadas e impresas, se procedió a medir de forma manual el diámetro de 250 burbujas que no presentaran coalescencia, posteriormente con ayuda del diámetro conocido de la flecha de aireación, se realizó la conversión de los diámetros de la burbuja de la burbuja en las impresiones, Posteriormente se realizó una media aritmética, la cual se consideró el diámetro de la burbuja.

Determinación de tiempo de mezclado

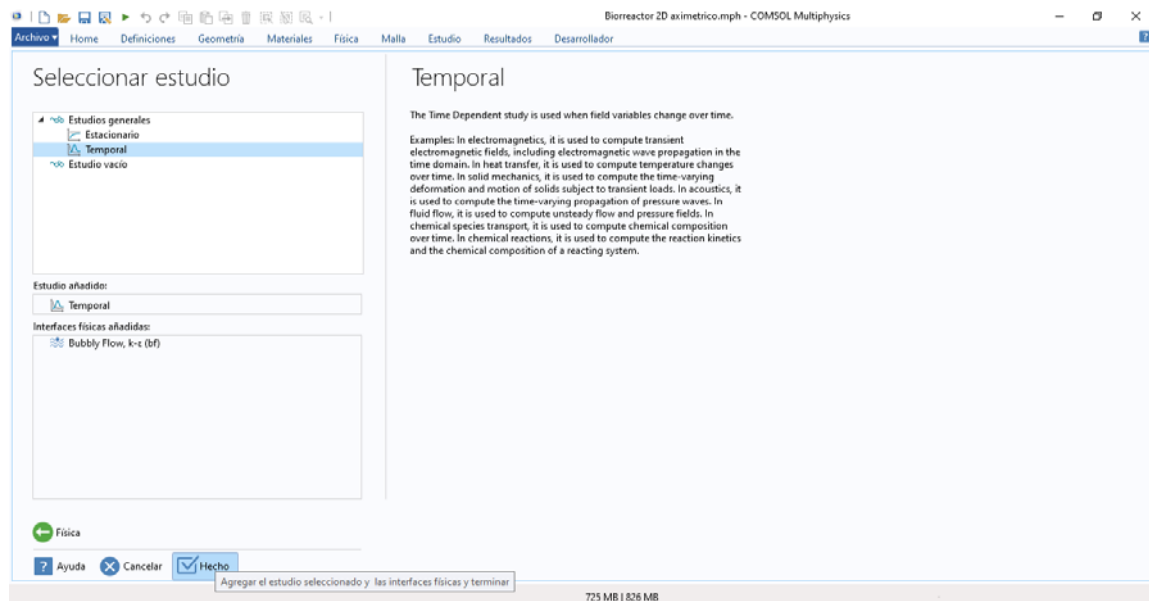
El tiempo de mezclado se determinó adicionando un 1 mL de colorante amarillo huevo marca PHARMAKOSS (con una concentración de 0.2 g mL^{-1}) en el reactor operando al 80% de su volumen total (volumen de operación) y una aireación de 0.5 L min^{-1} . Con ayuda de una cámara iSight de 12 megapíxeles se grabó el tiempo en el que el colorante se difundió completamente hasta tomar un color homogéneo, (este procedimiento se hizo por cuadruplicado). Con los resultados se obtuvo una media aritmética la cual se consideró el tiempo de mezclado.

Simulaciones

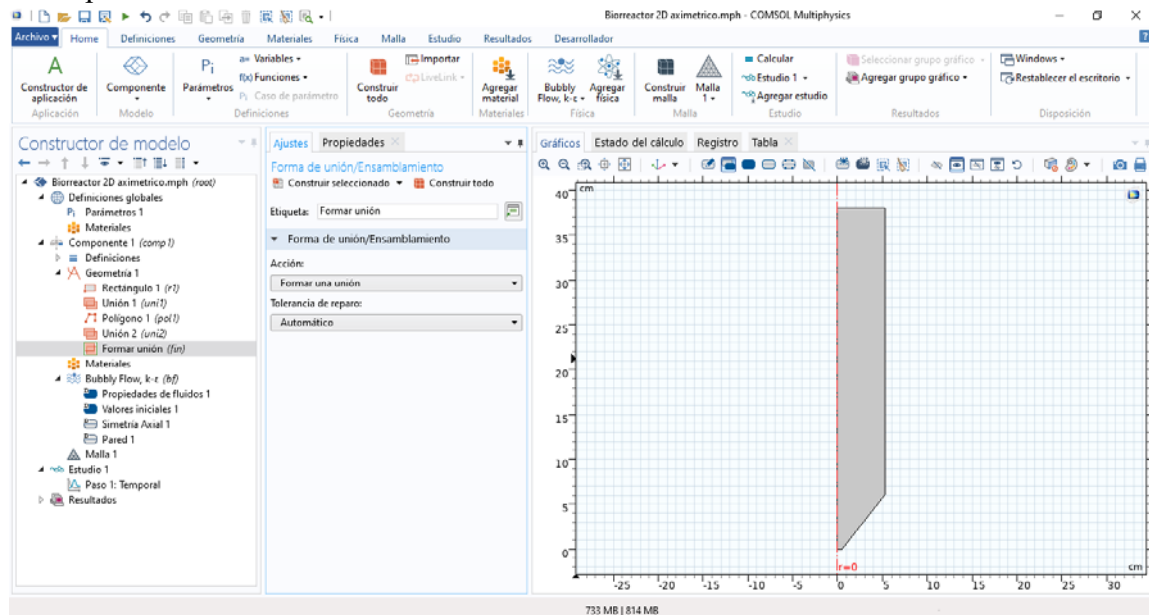
Simulación 2 D

Para la simulación hidrodinámica 2D, se utilizó el modelo de flujo turbulento Kappa-Epsilon en una dimensión 2D-Aximétrico, los pasos para la elaboración de la simulación se muestran a continuación.

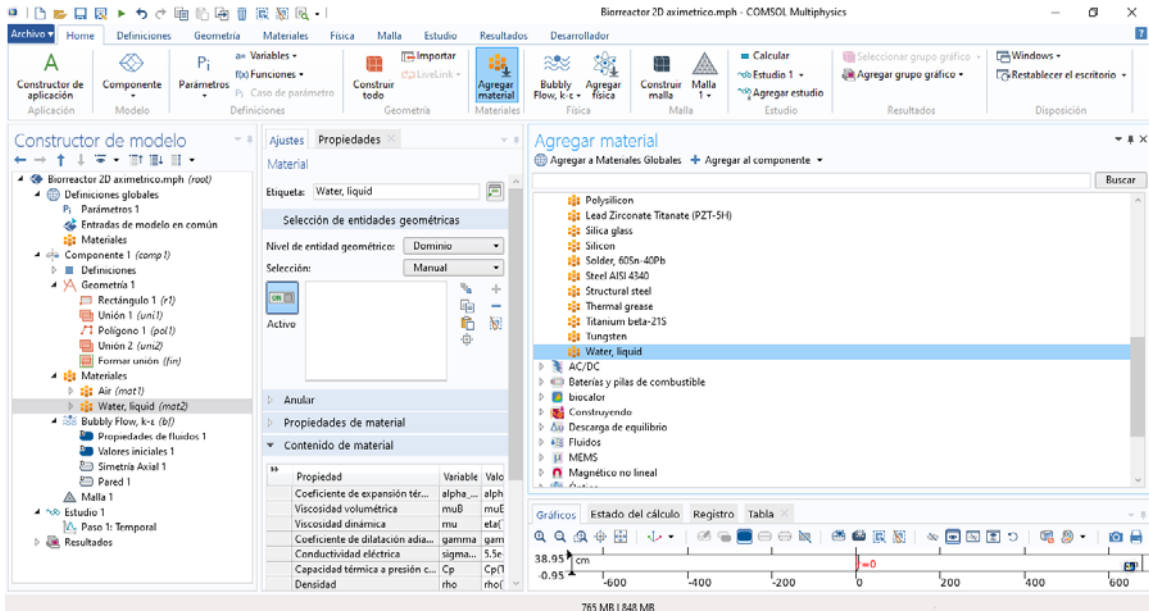
1.- Se seleccionó el plano de trabajo en 2D-Aximétrico y la física: flujo polifásico-flujo turbulento k-e, el régimen de estudio fue temporal.



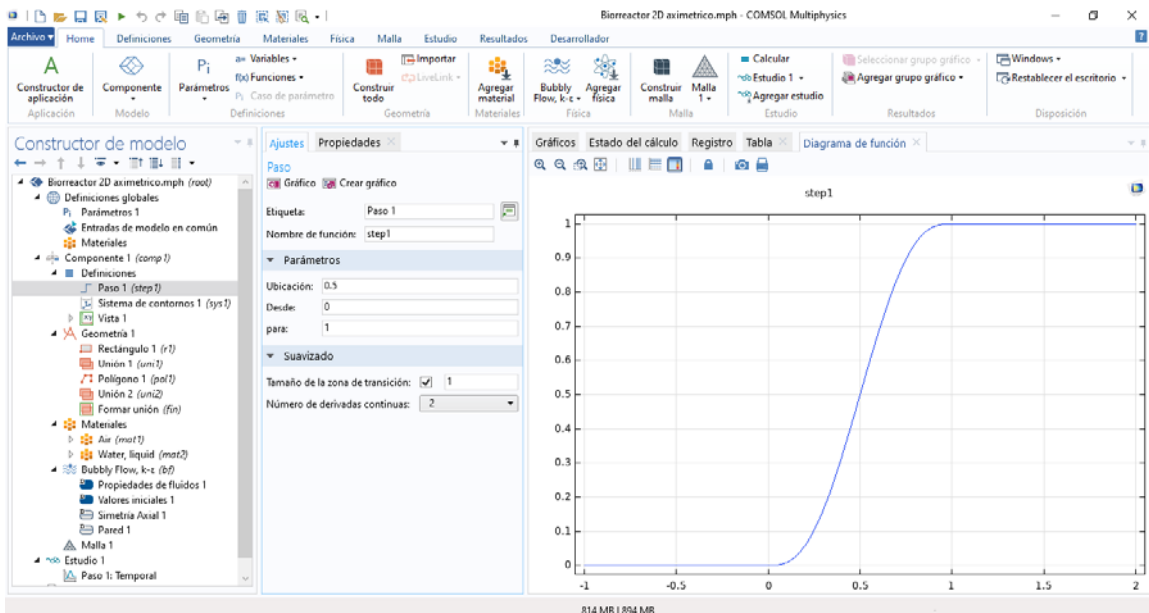
2.-Se definieron las medidas del modelo con base al reactor y se realizaron las uniones correspondientes.



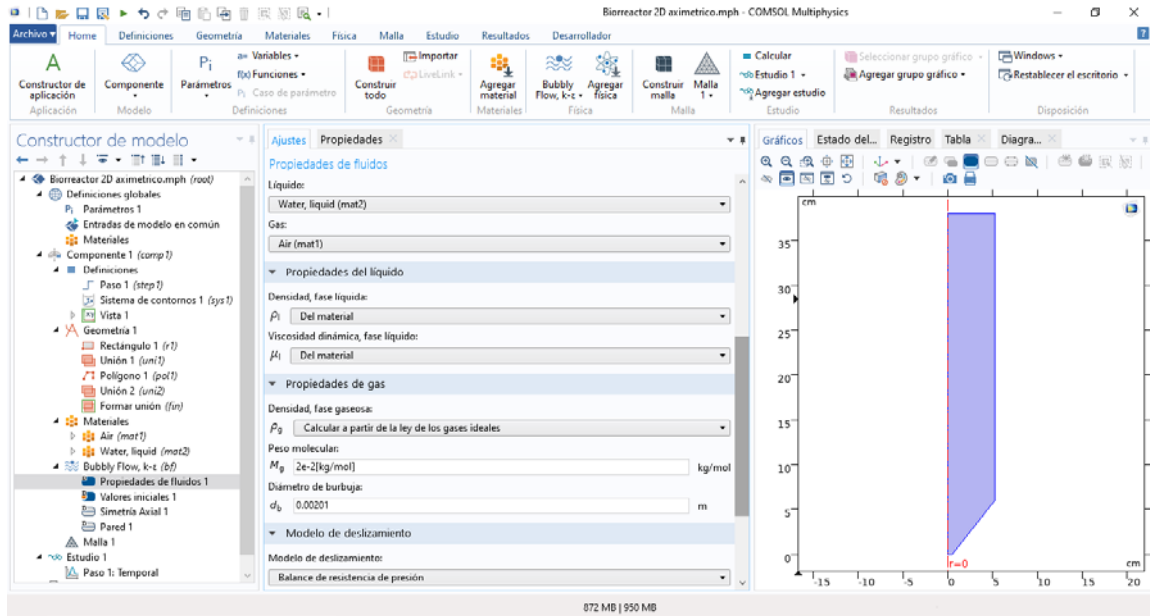
3.-Se seleccionaron los materiales que están involucrados en el fenómeno hidrodinámico (Agua en estado líquido y Aire).



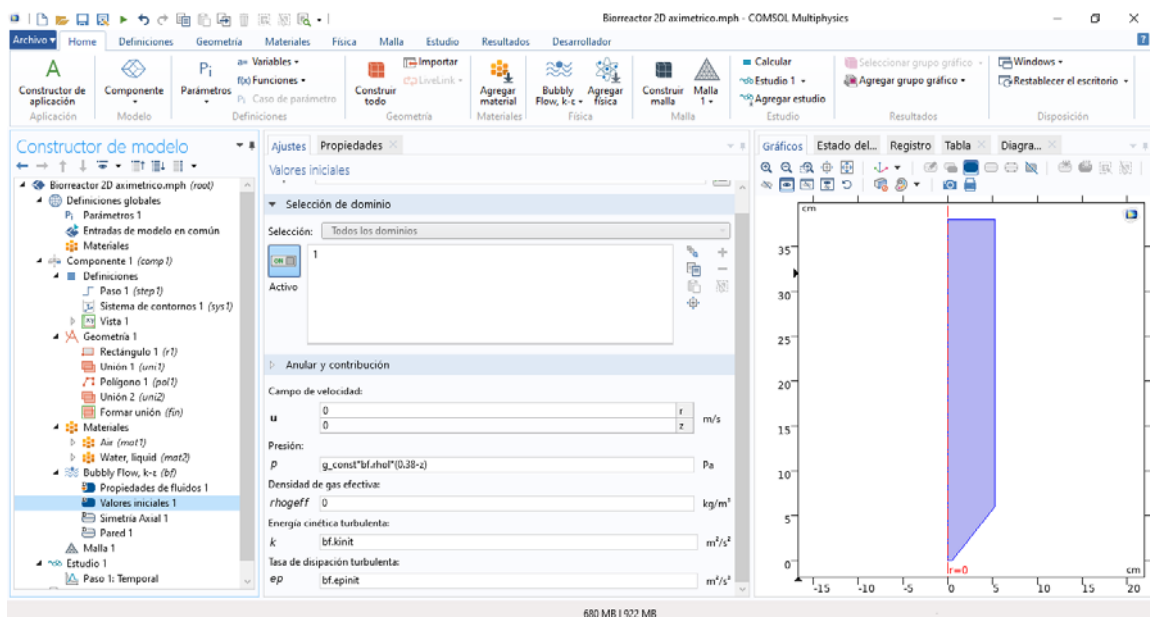
4.-Se definió una función “step”, que tiene la función de ayudar a estabilizar la simulación además de simular el encendido de la bomba de aire.



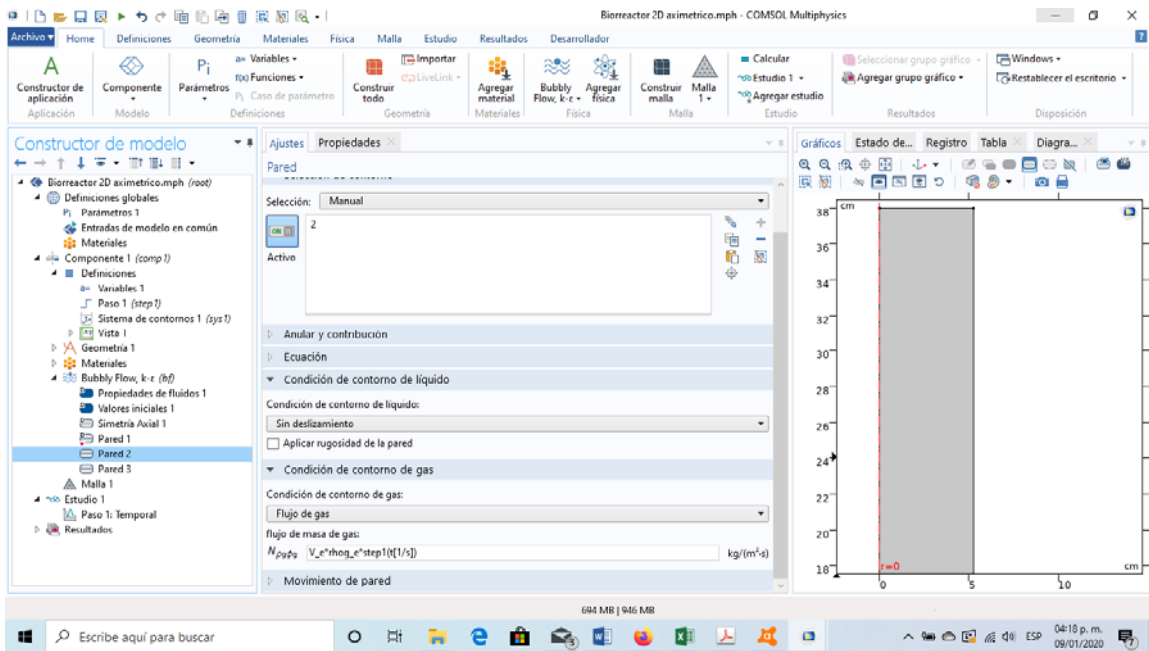
5.- Se estableció el diámetro de burbuja y el modelo de deslizamiento, usando un modelo de resistencia de burbujas grandes.



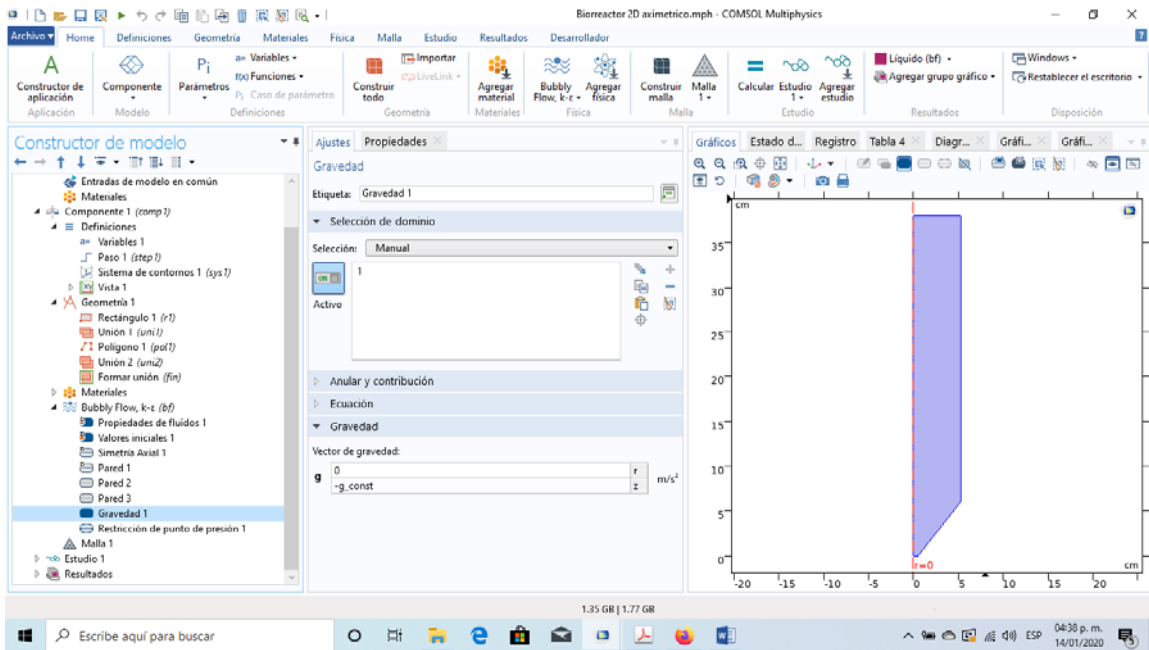
6.- Se establecieron las condiciones iniciales.



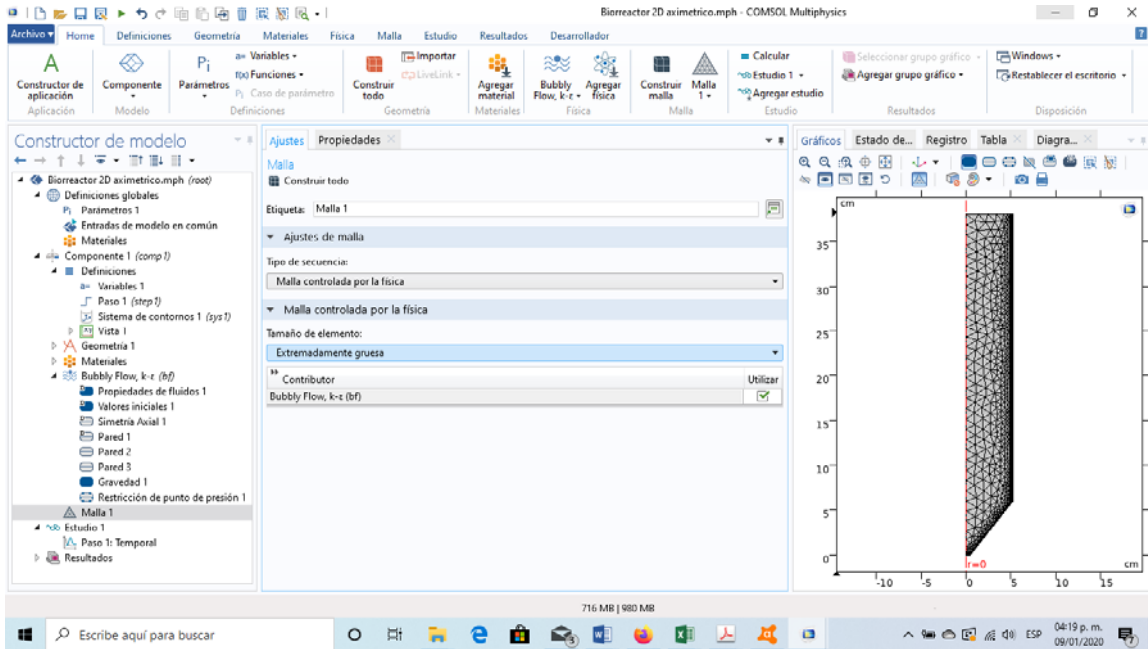
7.-Se definieron las condiciones de frontera.



8.-Se agregó el dominio de la gravedad.



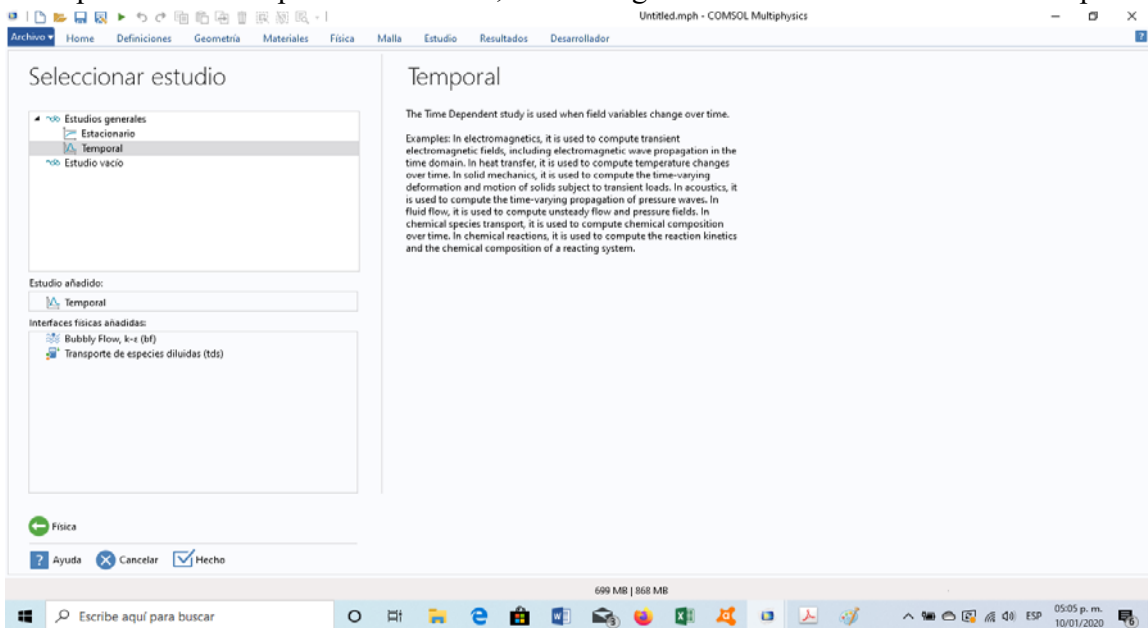
9.-Se definió el tamaño de malla y se ejecutó la simulación.



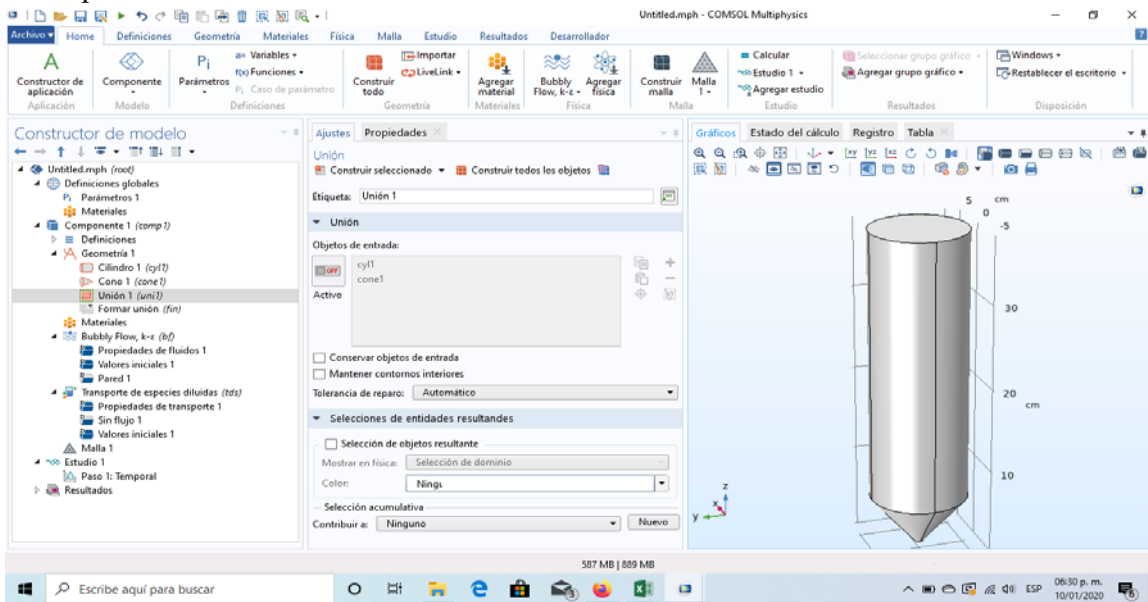
Simulación 3 D

Para la simulación hidrodinámica 3D, se utilizó el modelo de flujo turbulento kappa-Epsilon en una dimensión 3D, los pasos para la elaboración de la simulación se muestran a continuación.

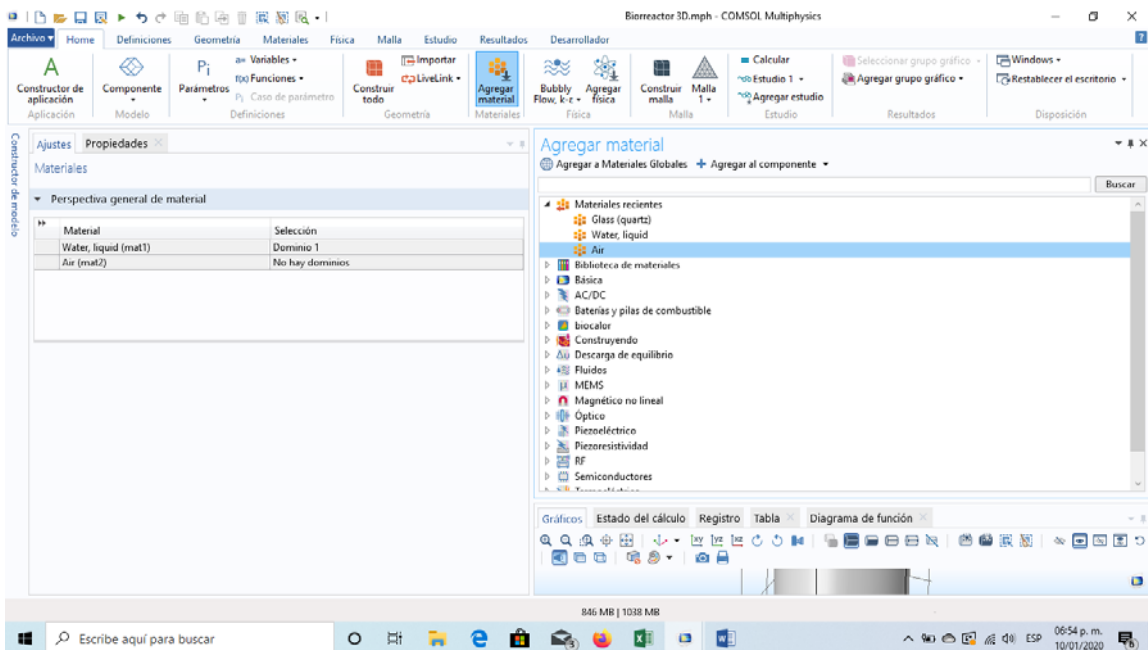
1.- Se seleccionó el plano de trabajo en 3D y la física: flujo polifásico-flujo turbulento k-e y Transporte de especies diluidas, el régimen de estudio fue temporal.



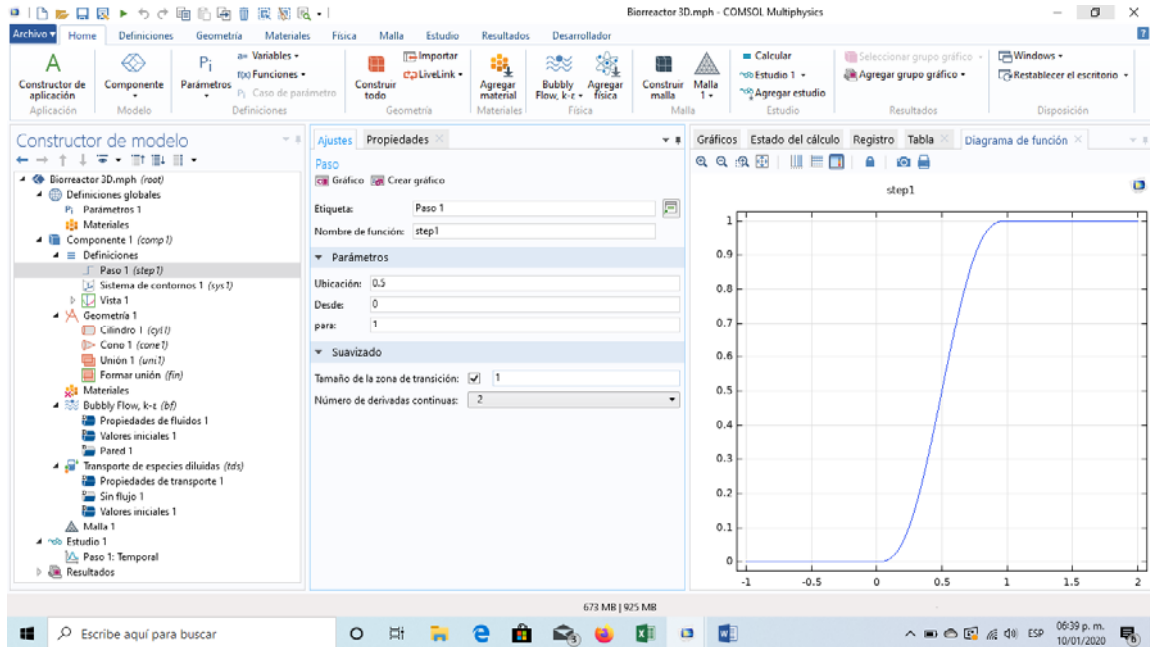
2.-Se definieron las medidas del modelo con base al reactor y se realizaron las uniones correspondientes.



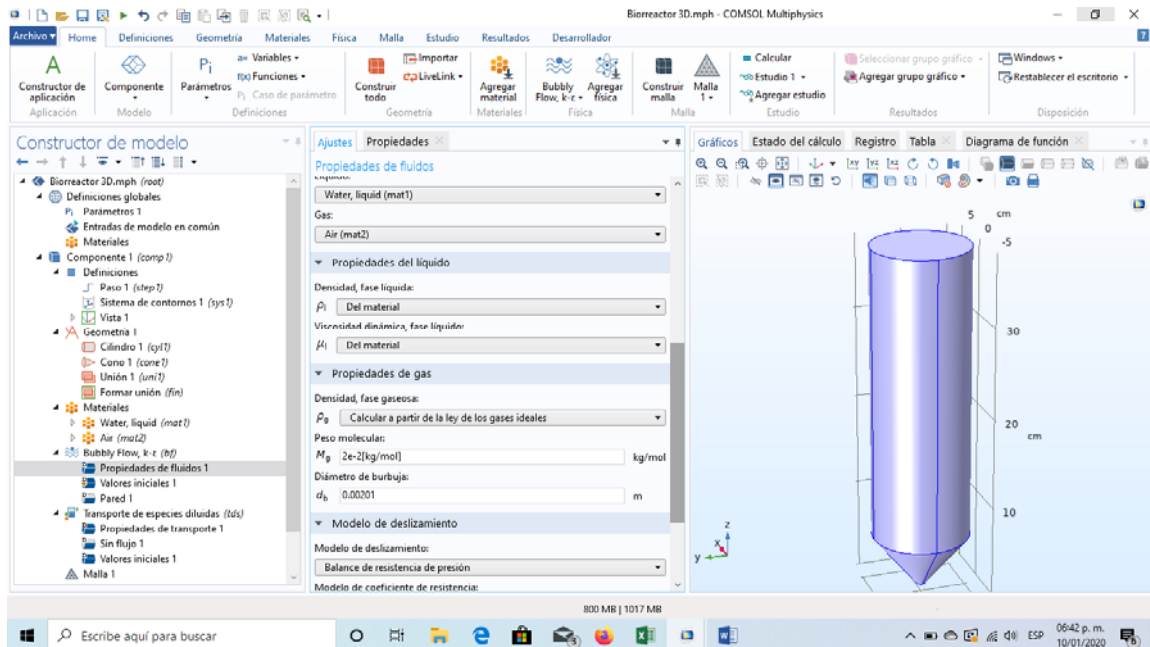
3.-Se seleccionaron los materiales que están involucrados en el fenómeno hidrodinámico (Agua en estado líquido y Aire).



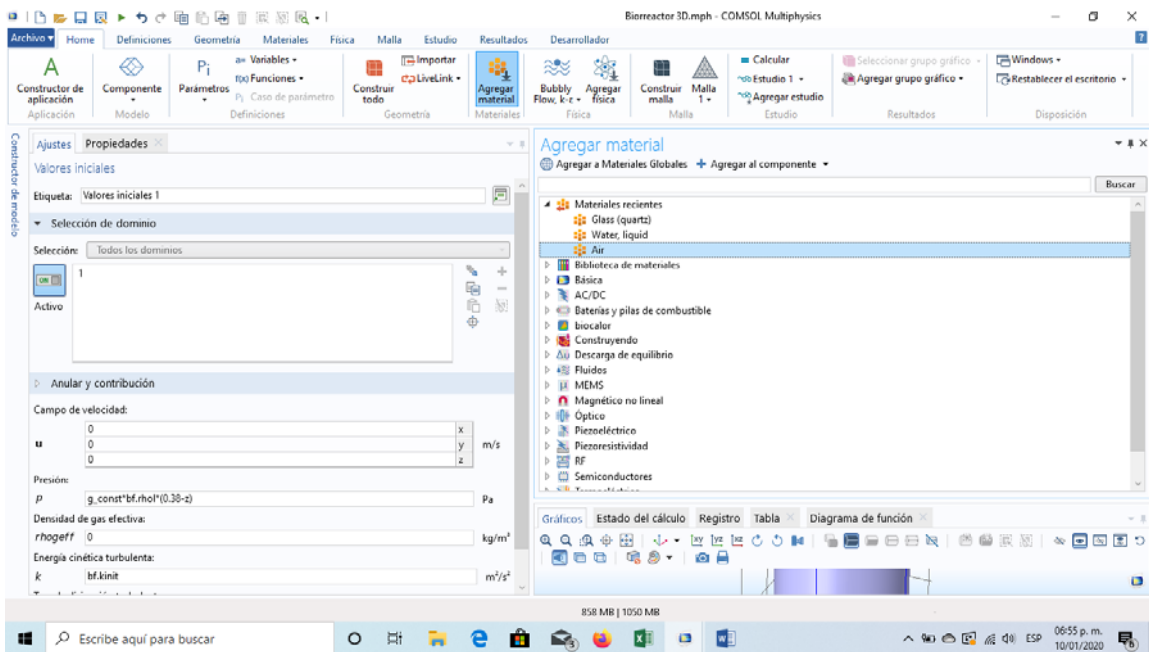
4.- Se definió una función “step”, que tiene la función de ayudar a estabilizar la simulación además de simular el encendido de la bomba de aire.



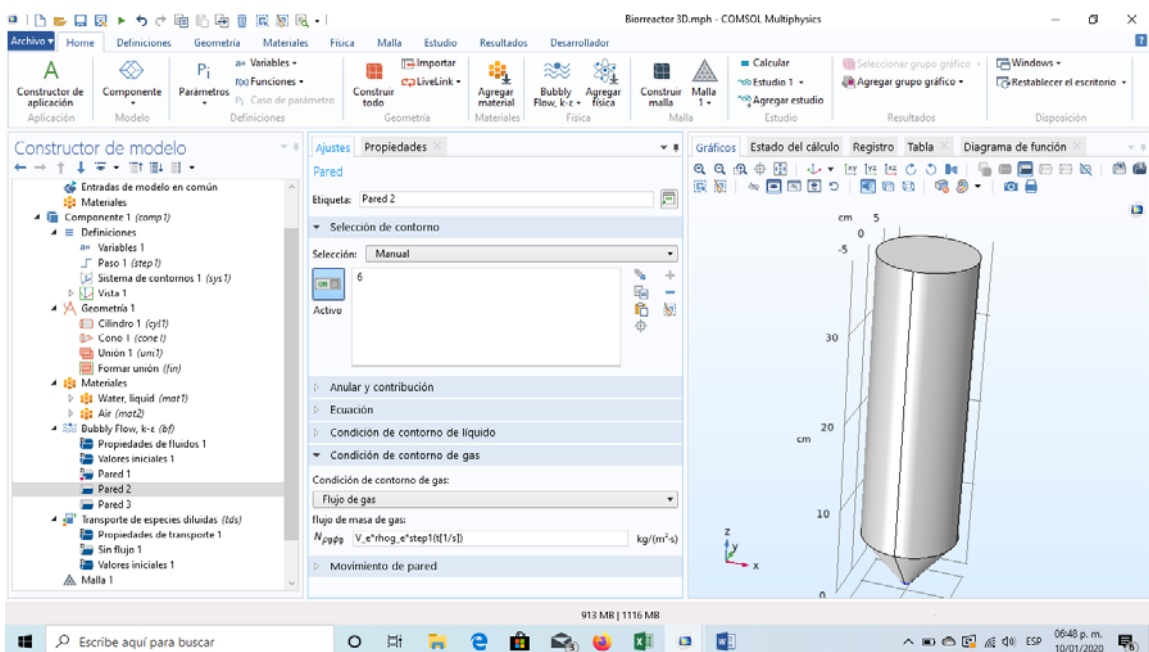
5.- Se estableció el diámetro de burbuja y el modelo de deslizamiento, usando un modelo de resistencia de burbujas grandes.



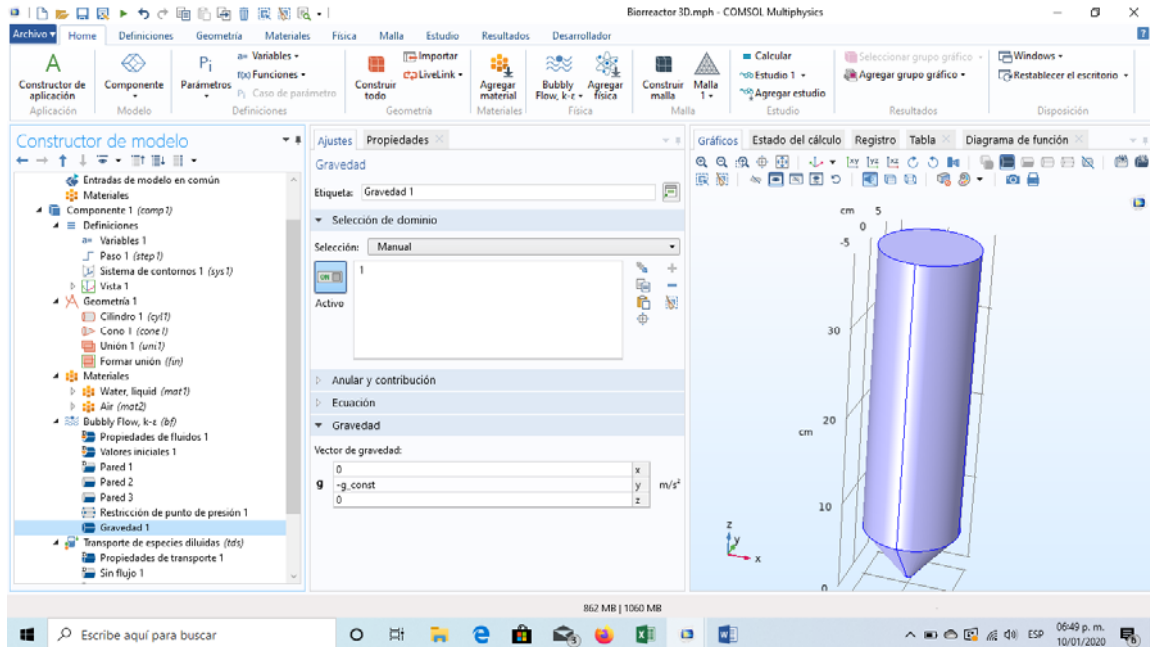
6.- Se establecieron las condiciones iniciales.



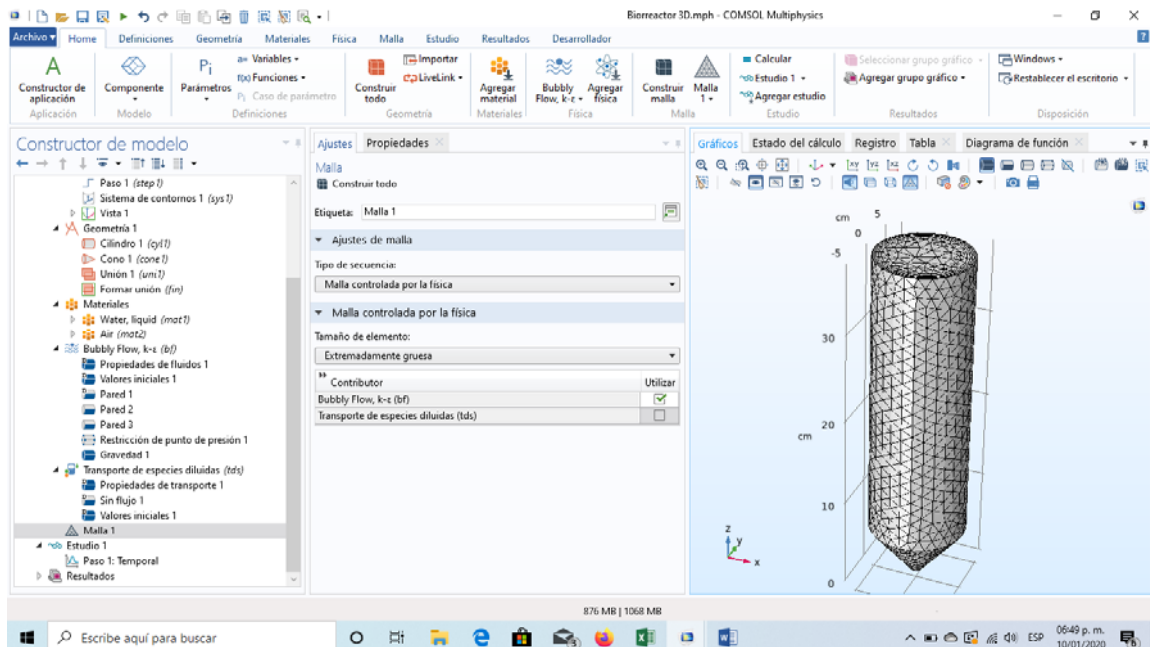
7.- Se definieron las condiciones de frontera.



8.-Se agregó el dominio de la gravedad.



9.- Se definió el tamaño de malla y se ejecutó la simulación.



8. Resultados

8.1 *Pectinodesmus Pectinatus*

8.1.1 Cinética agua residual

Se evaluó el crecimiento de *Pectinodesmus pectinatus* durante 20 días tiempo en el cual la microalga llegó a la fase de muerte (Figura 8.1), Obteniéndose un crecimiento máximo de 1.77×10^7 cel mL⁻¹ y una producción máxima de biomasa de 0.8 g L⁻¹. Los resultados del crecimiento celular así como la formación de biomasa se muestran en el Cuadro 8.1.

Cuadro 8.1 Producción de biomasa y crecimiento celular de *Pectinodesmus pectinatus* utilizando agua residual como medio de cultivo.

T(Días)	Biomasa g L ⁻¹	ln X	T(Días)	cel mL ⁻¹	ln X
0	0.1	4.60517019	0	2.91×10^6	14.8836636
2	0.2	5.29831737	2	6.91×10^6	15.7484802
4	0.35	5.85793315	4	1.07×10^7	16.1838834
6	0.5	6.2146081	6	1.41×10^7	16.4595554
8	0.55	6.30991828	8	1.67×10^7	16.6279208
10	0.55	6.30991828	10	1.75×10^7	16.6777114
12	0.6	6.39692966	12	1.76×10^7	16.6834095
14	0.75	6.62007321	14	1.77×10^7	16.6868128
16	0.75	6.62007321	16	1.65×10^7	16.6176581
18	0.75	6.62007321	18	1.63×10^7	16.6036035
20	0.8	6.68461173	20	1.60×10^7	16.5880993

La constante específica de crecimiento (μ) para la producción de biomasa y el crecimiento celular se calculó a partir de una linealización de los resultados de peso seco y la concentración celular. Los intervalos con el mayor coeficiente de determinación R^2 fueron seleccionados para la determinación de la constante. Resultando:

$$\mu_{\text{peso seco}} = 0.1778 \text{ Dias}^{-1}$$

$$\mu_{\text{conc celular}} = 0.3132 \text{ Dias}^{-1}$$

El tiempo de duplicación para la producción de biomasa y el crecimiento celular, fueron:

$$td_{\text{peso seco}} = 3.8984 \text{ Dias}$$

$$td_{\text{conc celulat}} = 2.2131 \text{ Dias}$$

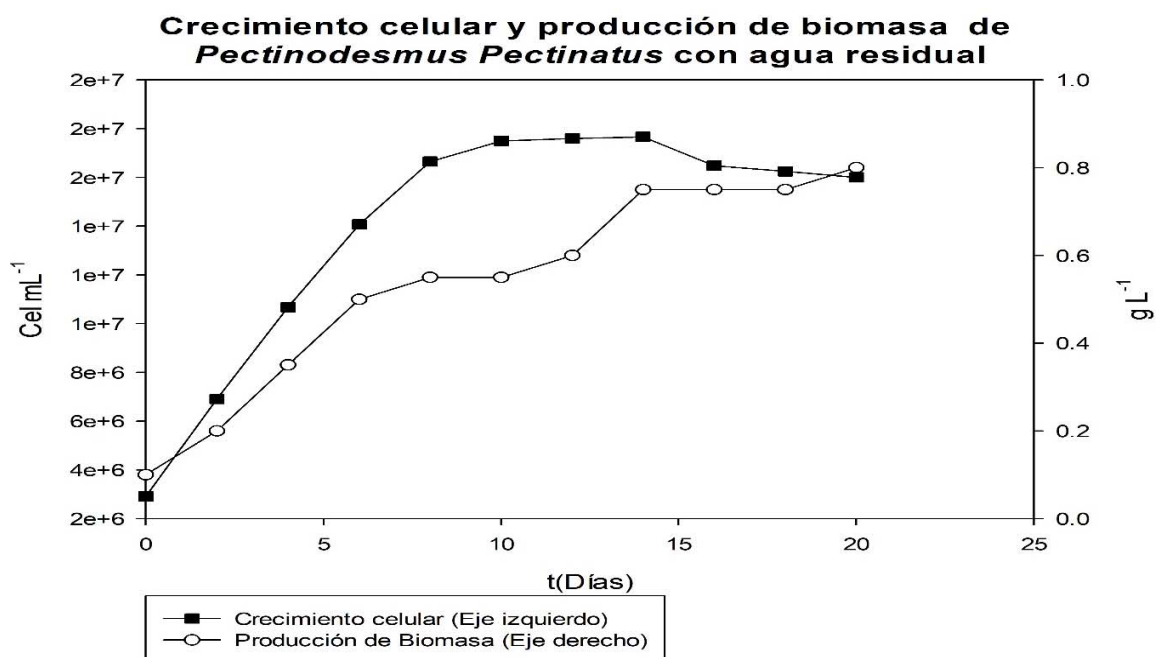


Figura 8.1.- Crecimiento celular y producción de biomasa de *Pectinodesmus Pectinatus* utilizando agua residual como medio de cultivo.

Los resultados obtenidos del monitoreo de la producción de clorofila a y b se observan en el cuadro 8.2.

Cuadro 8.2.- Producción de clorofila a y b de *Pectinodesmus pectinatus* utilizando agua residual como medio de cultivo.

T(Días)	A 653 nm	A 666 nm	Clorofila a µg mL ⁻¹	Clorofila b µg mL ⁻¹
0	0.102	0.098	0.78502	1.66052
2	0.304	0.486	5.37454	2.77514
4	0.34	0.576	6.5188	2.74004
6	0.317	0.534	6.03032	2.58871
8	0.293	0.492	5.54918	2.41033
10	0.287	0.486	5.49932	2.31529
12	0.286	0.482	5.44406	2.33308
14	0.241	0.405	4.56931	1.979
16	0.245	0.414	4.6808	1.98631
18	0.242	0.409	4.62457	1.96121
20	0.243	0.411	4.64853	1.96584

La producción máxima de clorofila a y b fue 6.5188 µg mL⁻¹ y 2.77514 µg mL⁻¹ respectivamente, dichos valores se obtuvieron al final de la fase exponencial del crecimiento celular (Figura 8.2).

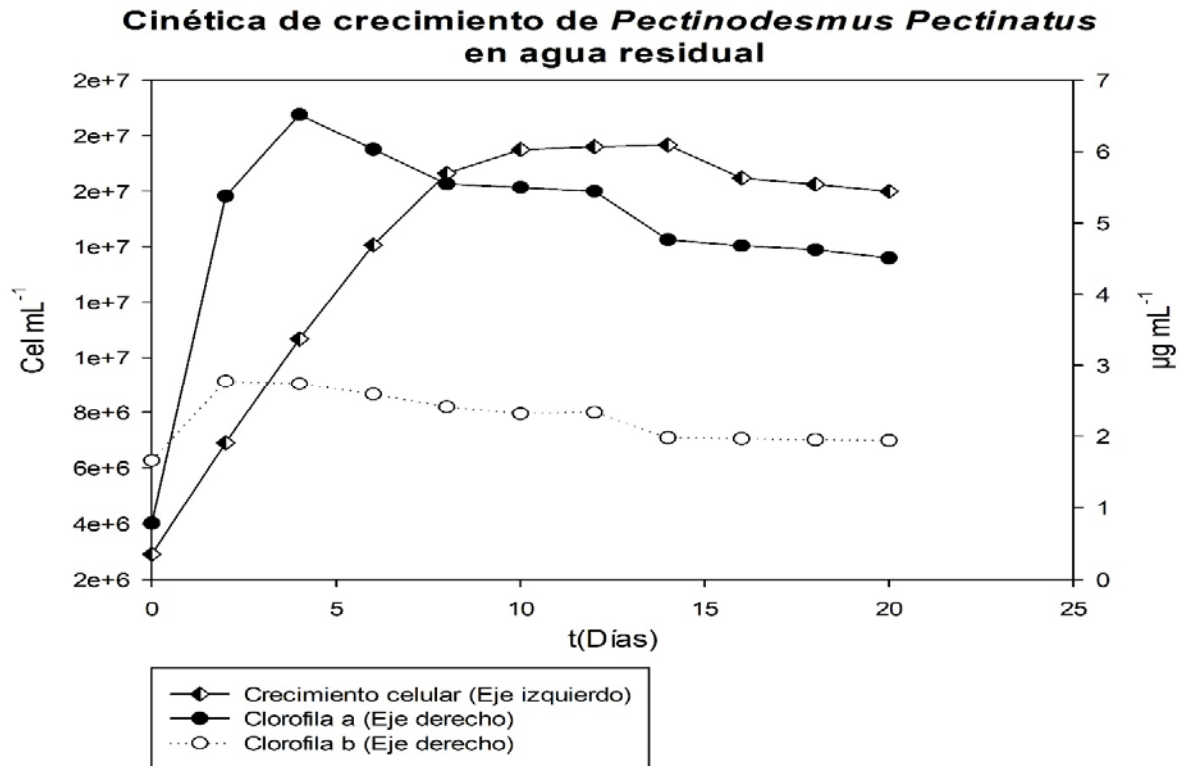


Figura 8.2- Cinética de crecimiento de *Pectinodesmus pectinatus* utilizando agua residual como medio de cultivo.

La producción total de lípidos así como los rendimientos de producción de clorofilas y lípidos con respecto a la biomasa se muestran en el cuadro 8.3

Cuadro 8.3.-Producción final de lípidos y rendimientos de *Pectinodesmus pectinatus* utilizando agua residual como medio de cultivo.

Producción final de lípidos mg L ⁻¹	Rendimiento de lípidos/biomasa g g ⁻¹	Rendimiento de clorofila a /biomasa gg ⁻¹	Rendimiento de clorofila a /biomasa gg ⁻¹
173.3	0.21662	0.01862	0.00782

8.1.2 Cinética fertilizante 18-18-18

Se evaluó el crecimiento de *Pectinodesmus pectinatus* durante 26 días, tiempo en el cual la microalga llegó a la fase de muerte (Figura 8.3), Obteniéndose un crecimiento máximo de 1.30×10^{-7} cel mL⁻¹ y una producción máxima de biomasa de 1.0 g L⁻¹. Los resultados del crecimiento celular así como la formación de biomasa se muestran en el Cuadro 8.4.

Cuadro 8.4 Producción de biomasa y crecimiento celular de *Pectinodesmus pectinatus* utilizando fertilizante 18-18-18 como medio de cultivo.

T(Días)	Biomasa g L ⁻¹	ln X	T(Días)	cel mL ⁻¹	ln X
0	0.05	-2.9957	0	1.90×10^5	12.1592
2	0.10	-2.3026	2	2.67×10^5	12.4969
4	0.20	-1.6094	4	3.56×10^5	12.7846
6	0.30	-1.2040	6	6.30×10^5	13.3548
8	0.35	-1.0498	8	1.80×10^6	14.4033
10	0.45	-0.7985	10	3.86×10^6	15.1679
12	0.50	-0.6931	12	6.03×10^6	15.6135
14	0.65	-0.4308	14	7.92×10^6	15.8850
16	0.65	-0.4308	16	1.01×10^7	16.1313
18	0.75	-0.2877	18	1.06×10^7	16.1795
20	0.90	-0.1054	20	1.27×10^7	16.3597
22	1.00	0.0000	22	1.30×10^7	16.3805
24	1.00	0.0000	24	1.27×10^7	16.3623
26	1.00	0.0000	26	1.25×10^7	16.3412

La constante específica de crecimiento (μ) para la producción de biomasa y el crecimiento celular se calculó a partir de una linealización de los resultados de peso seco y la concentración celular. Los intervalos con el mayor coeficiente de determinación R^2 fueron seleccionados para la determinación de la constante. Resultando:

$$\mu_{\text{peso seco}} = 0.1564 \text{ Dias}^{-1}$$

$$\mu_{\text{conc celular}} = 0.3466 \text{ Dias}^{-1}$$

El tiempo de duplicación y el número de generaciones para la producción de biomasa y el crecimiento celular, resultaron:

$$td_{\text{peso seco}} = 4.4318 \text{ Dias} \quad n = 5.8666$$

$$td_{\text{conc celulat}} = 1.9998 \text{ Dias} \quad n = 12.0012$$

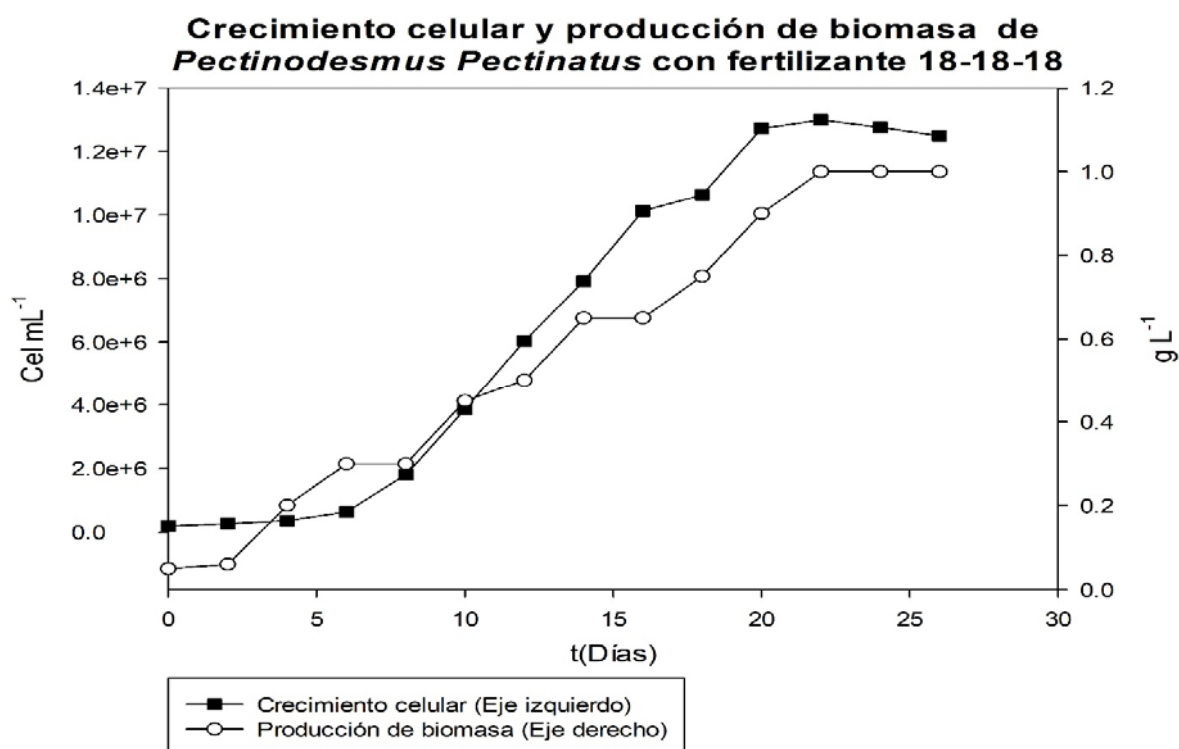


Figura 8.3.- Crecimiento celular y producción de biomasa de *Pectinodesmus Pectinatus* utilizando fertilizante 18-18-18 como medio de cultivo.

Los resultados obtenidos del monitoreo de la producción de clorofila a y b se observan en el cuadro 8.5.

Cuadro 8.5.- Producción de clorofila a y b de *Pectinodesmus pectinatus* utilizando fertilizante 18-18-18 como medio de cultivo.

T(Días)	A 653 nm	A 666 nm	Clorofila a $\mu\text{g mL}^{-1}$	Clorofila b $\mu\text{g mL}^{-1}$
0	0.005	0.005	0.04155	0.0792
2	0.008	0.01	0.09778	0.1043
4	0.017	0.028	0.31342	0.14597
6	0.066	0.099	1.06491	0.67551
8	0.151	0.253	2.85111	1.24842
10	0.235	0.397	4.48815	1.90638
12	0.34	0.568	6.3936	2.82972
14	0.416	0.7	7.90156	3.4058
16	0.467	0.793	8.98267	3.74282
18	0.477	0.811	9.19097	3.81154
20	0.527	0.901	10.23247	4.15514
22	0.641	1.074	12.10316	5.29951
24	0.629	1.063	12.01909	5.09822
26	0.615	1.058	12.0436	4.77557

La producción máxima de clorofila a y b fue $12.10316 \mu\text{g mL}^{-1}$ y $5.29951 \mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente, dichos valores se obtuvieron al final de la fase exponencial del crecimiento celular (Figura 8.4).

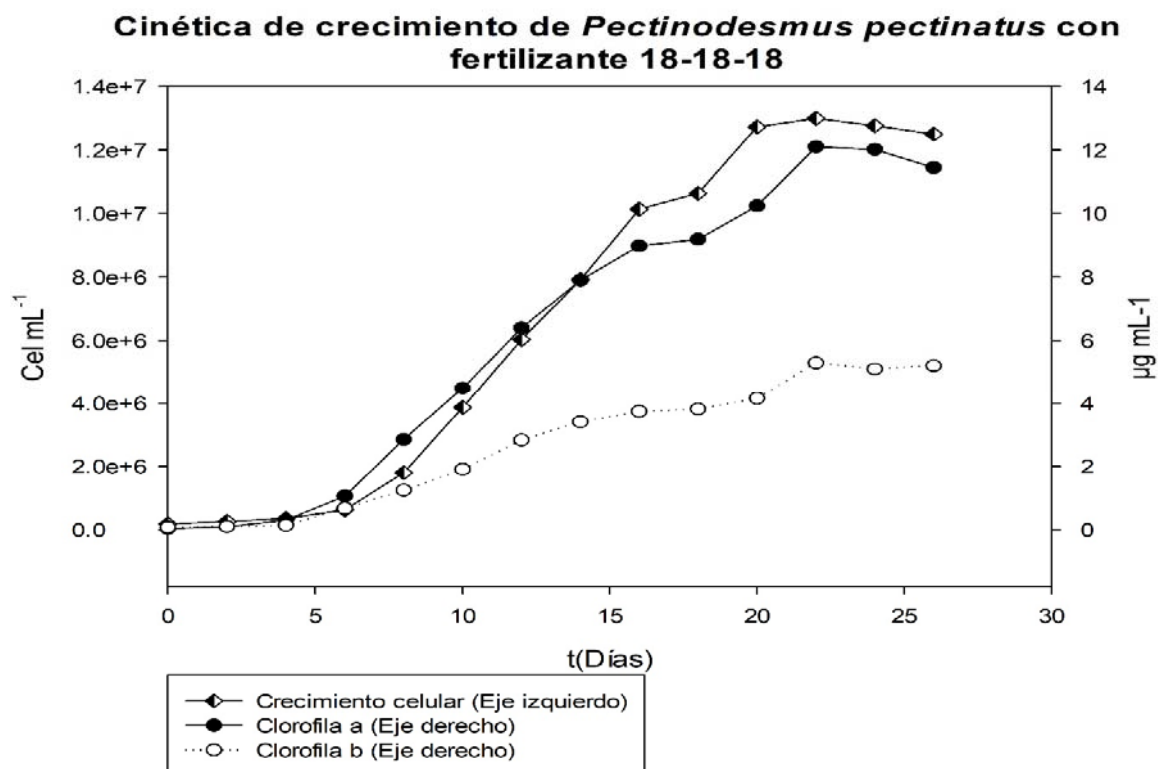


Figura 8.4- Cinética de crecimiento de *Pectinodesmus pectinatus* utilizando fertilizante 18-18-18 como medio de cultivo.

La producción total de lípidos así como los rendimientos de producción de clorofilas y lípidos con respecto a la biomasa se muestran en el cuadro 8.6

Cuadro 8.6.-Producción final de lípidos y rendimientos de *Pectinodesmus pectinatus* utilizando Fertilizante como medio de cultivo.

Producción final de lípidos mg L^{-1}	Rendimiento de lípidos/biomasa g g^{-1}	Rendimiento de clorofila a /biomasa gg^{-1}	Rendimiento de clorofila a /biomasa gg^{-1}
154.3	0.1543	0.01210	0.0052

Cinética BG-11

Se evaluó el crecimiento de *Pectinodesmus pectinatus* durante 26 días, tiempo en el cual la microalga llegó a la fase de muerte (Figura 8.5), Obteniéndose un crecimiento máximo de 1.61×10^{-7} cel mL⁻¹ y una producción máxima de biomasa de 0.65 g L⁻¹. Los resultados del crecimiento celular así como la formación de biomasa se muestran en el Cuadro 8.7.

Cuadro 8.7 Producción de biomasa y crecimiento celular de *Pectinodesmus pectinatus* utilizando medio de cultivo BG-11.

T(Días)	Biomasa g L ⁻¹	ln X	T(Días)	cel mL ⁻¹	ln X
0	0.025	-3.68887945	0	1.97×10^5	12.1934939
2	0.075	-2.59026717	2	2.10×10^5	12.2588232
4	0.15	-1.89711998	4	2.54×10^5	12.4457455
6	0.15	-1.89711998	6	3.10×10^5	12.6443276
8	0.2	-1.60943791	8	4.40×10^5	12.99453
10	0.3	-1.2039728	10	1.04×10^6	13.8531274
12	0.35	-1.04982212	12	2.74×10^6	14.8240766
14	0.4	-0.91629073	14	6.24×10^6	15.6467578
16	0.45	-0.7985077	16	1.02×10^7	16.1329843
18	0.6	-0.51082562	18	1.61×10^7	16.5984621
20	0.65	-0.43078292	20	1.58×10^7	16.5765748
22	0.65	-0.43078292	22	1.55×10^7	16.5584988
24	0.65	-0.43078292	24	1.48×10^7	16.5078829
26	0.65	-0.43078292	26	1.39×10^7	16.4437958

La constante específica de crecimiento (μ) para la producción de biomasa y el crecimiento celular se calculó a partir de una linealización de los resultados de peso seco y la concentración celular. Los intervalos con el mayor coeficiente de determinación R^2 fueron seleccionados para la determinación de la constante. Resultando:

$$\mu_{\text{peso seco}} = 0.1733 \text{ Dias}^{-1}$$

$$\mu_{\text{conc celular}} = 0.4035 \text{ Dias}^{-1}$$

El tiempo de duplicación y el número de generaciones para la producción de biomasa y el crecimiento celular, resultaron:

$$td_{\text{peso seco}} = 3.9996 \text{ Dias}$$

$$td_{\text{conc celulat}} = 1.7178 \text{ Dias}$$

Crecimiento celular y producción de biomasa de *Pectinodesmus Pectinatus* con medio de cultivo BG-11

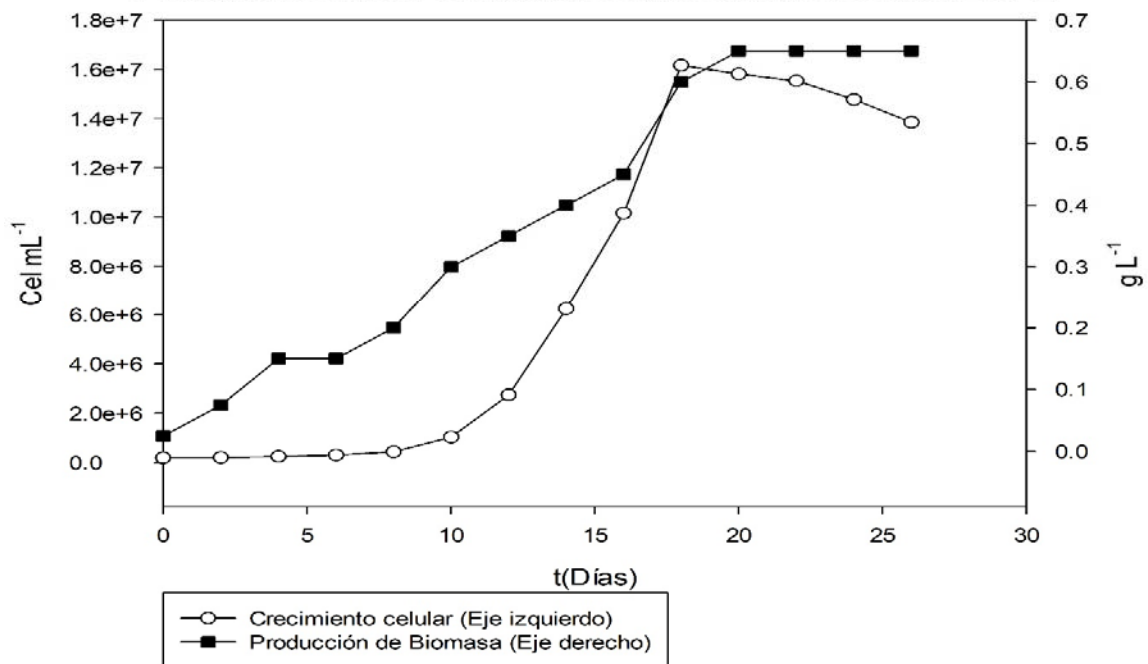


Figura 8.5.- Crecimiento celular y producción de biomasa de *Pectinodesmus Pectinatus* utilizando medio de cultivo BG-11.

Los resultados obtenidos del monitoreo de la producción de clorofila a y b se observan en el cuadro 8.8.

Cuadro 8.8.- Producción de clorofila a y b de *Pectinodesmus pectinatus* utilizando medio de cultivo BG-11.

T(Días)	A 653 nm	A 666 nm	Clorofila a µg mL ⁻¹	Clorofila b µg mL ⁻¹
0	0.006	0.011	0.12811	0.03899
2	0.011	0.016	0.16966	0.11819
4	0.014	0.019	0.19459	0.16571
6	0.016	0.024	0.25816	0.16376
8	0.022	0.035	0.38627	0.20275
10	0.048	0.08	0.89968	0.4016
12	0.098	0.164	1.84728	0.81246
14	0.298	0.509	5.77853	2.35501
16	0.428	0.7635	8.807255	3.018565
18	0.628	1.084	12.35508	4.83576
20	0.672	1.116	12.53292	5.66724
22	0.612	1.074	12.31602	4.51506
24	0.6	1.063	12.23195	4.31377
26	0.601	1.058	12.14636	4.39687

La producción máxima de clorofila a y b fue $12.53292 \mu\text{g mL}^{-1}$ y $5.66724 \mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente, dichos valores se obtuvieron al final de la fase exponencial del crecimiento celular (Figura 8.6)

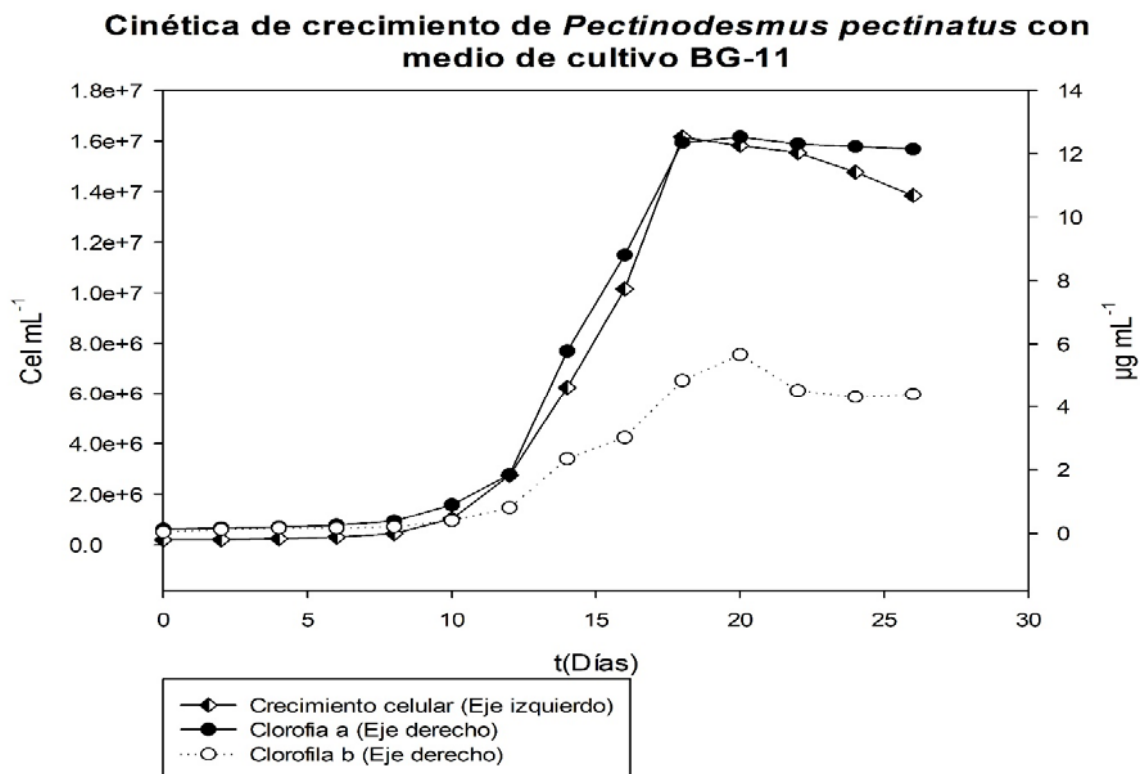


Figura 8.6- Cinética de crecimiento de *Pectinodesmus pectinatus* utilizando medio de cultivo BG-11.

La producción total de lípidos así como los rendimientos de producción de clorofilas y lípidos con respecto a la biomasa se muestran en el cuadro 8.9.

Cuadro 8.9.-Producción final de lípidos y rendimientos de *Pectinodesmus pectinatus* utilizando Fertilizante como medio de cultivo.

Producción final de lípidos mg L^{-1}	Rendimiento de lípidos/biomasa g g^{-1}	Rendimiento de clorofila a /biomasa gg^{-1}	Rendimiento de clorofila a /biomasa gg^{-1}
127.1	0.1955	0.01928	0.00871

Como se observa en los resultados de la producción de biomasa y crecimiento celular de las cinéticas anteriormente expuestas, existen diferencias de proporcionalidad del peso seco con la concentración celular, esta situación puede deberse a que algunas microalgas presentan cambios en su peso unitario, lo cual hace posible un aumento de su peso seco aun cuando la concentración celular se mantiene constante, así como el aumento de la concentración celular y un aumento casi notorio en el peso seco (Arreondo *et al.*, 2017).

Por otra parte, en las cinéticas realizadas de *Pectinodesmus pectinatus*, mostraron un comportamiento similar al momento de la producción de las clorofilas a y b, ya que la producción de clorofila a y b aumento proporcionalmente con respecto a la concentración celular, obteniéndose la mayor velocidad de formación de clorofila durante la fase exponencial y deteniéndose al finalizar esta misma. Esto se debe a que las células requieren una mayor concentración de pigmentos para realizar mejor la fotosíntesis, lo cual indica que las clorofilas son metabolitos asociados al crecimiento celular de las microalgas. (Benavente-Valdés *et al.* 2016).

Como se puede observar en la figura 8.2 de la cinética de agua residual, la clorofila comenzó a disminuir antes de que *Pectinodesmus pectinatus* llegara a la fase estacionaria, esto puede deberse a una limitación de ion Mg^{+} , ya que al ser agua residual tratada, la carga orgánica es significativa pero por el contrario la concentración de Mg es muy poca, por lo cual es posible que se haya limitado la formación de la clorofila a y b, las cuales son esenciales para la fotosíntesis y por ende ocurrió la inhibición del crecimiento de la microalga y la posterior disminución de concentración de clorofila.

Por otra parte en la figura 8.4 de la cinética con fertilizante 18-18-18, la producción de clorofila se detuvo en el final de la fase exponencial de crecimiento celular, esto puede deberse al consumo total del CO_2 disuelto en agua o del NO_3 , el CO_2 es la molécula necesaria en la fotosíntesis para la formación de carbohidratos o bien biomasa, el nitrato por otra parte, sirve para la formación de aminoácidos estructurales así como también en la formación de bases nitrogenadas esenciales en el proceso de duplicación celular, esto se deduce ya que al ser un fertilizante que contiene cantidades iguales de fósforo, magnesio y nitrato, puede que se haya agotado primero el CO_2 o el NO_3 porque son (junto con el oxígeno) de los componentes mayoritarios en la composición de las células microalgales, a diferencia del fósforo y magnesio que están presentes en menor proporción (Grobbelaar, 2004) (Ruiz Martínez, 2011)

De igual manera, el mismo comportamiento se observa en la figura 8.6 de la cinética con medio de cultivo BG-11.

La mayor producción de biomasa fue en las cinéticas con fertilizante 18-18-18 con una producción total 1.0 g L^{-1} , a pesar que las cinéticas con agua residual y medio de cultivo BG-11 obtuvieron una mayor concentración celular que la cinética con fertilizante, el peso seco obtenido en esta fue mayor, esto se puede deber a que el fertilizante tiene en la misma proporción fósforo y nitrógeno a diferencia que el medio BG-11 que el fósforo lo tiene en menor proporción que la concentración de nitrógeno (1.5 g L^{-1}), El fósforo juega un papel fundamental en la síntesis de proteínas estructurales, lo cual puede producir un mayor tamaño de célula y por lo tanto un mayor peso unitario.

Por otra parte, la mayor producción de clorofila a y b se obtuvo en la cinética con medio de cultivo BG-11, esto se debe a que la clorofila al ser un metabolito intracelular, su concentración es proporcional a la concentración celular presente al momento de la medición, siempre que no exista un déficit de magnesio, o nitrato (Benavente-Valdés *et al.* 2016).

La mayor producción de lípidos se obtuvo en la cinética de agua residual, esto puede deberse a que la síntesis de lípidos comienza una vez que la fuente de nitrógeno se agota, lo cual pudo ser el caso en esta cinética, ya que al ser agua residual tratada, ha pasado por varios tratamientos para bajar su carga orgánica e inorgánica, lo cual puede producir que su cantidad de nitrógeno sea más baja que el fertilizante 18-18-18 y el medio de cultivo BG-11, esto concuerda con lo citado por Cobos *et al.* (2016) que han indicado que una deficiencia de nitrógeno, provoca altas concentraciones de lípidos.

Pectinodesmus pectinatus es una especie poco reportada y no se han encontrado estudios de su cultivo en biorreactor, es por ello, que se decidió comparar la producción de biomasa con respecto a las especies de *Scenedesmus*, ya que pertenecen a la misma familia (Scenedesmaceae). Las concentraciones máximas de biomasa de este trabajo así como la de otros autores se muestran en el cuadro 8.10.

Cuadro 8.10.-Comparación de producción máxima de biomasa de *Pectinodesmus pectinatus* con *Scenedesmus*.

Especie	Biomasa g L ⁻¹	Medio de cultivo	Referencia
<i>Pectinodesmus Pectinatus</i>	1.0	Fertilizante 18-18-18	Este estudio
<i>Pectinodesmus Pectinatus</i>	0.8	Agua residual tratada	Este estudio
<i>Pectinodesmus Pectinatus</i>	0.65	BG-11	Este estudio
<i>Scenedesmus almeriensis</i>	0.72	Mann and Myers modificado	Molino <i>et., al</i> (2019)
<i>Scenedesmus sp</i>	0,408	Estándar 2 ajustado	QUEVEDO O. <i>et.,al</i> (2008)
<i>Scenedesmus sp.</i>	0.24	Agua residual con nutrientes añadidos	Sheng-Feng <i>et., et al</i> (2011)

Como se puede observar en el cuadro 8.10, la producción de biomasa en la cinética con fertilizante y agua residual de *Pectinodesmus pectinatus* fueron mayores a los reportados por otros autores que cultivaron la especie *Scenedesmus*. Esto puede deberse a que *Pectinodesmus pectinatus* crece favorablemente en ambiente eutrofizados. En la cual la carga de nutrientes es más compleja que en un medio de cultivo.

Los resultados de la cromatografía de gases para la obtención del perfil de lípidos para cada cinética se muestran en el cuadro 8.11

Cuadro 8.11.-Perfil de ácidos grasos de *Pectinodesmus pectinatus* utilizando diferentes medios de cultivo

Ácido graso	Símbolo	%Abundancia		
		BG-11	Fertilizante	Agua residual
Ácido láurico	C12:0	5.237	4.071	4.963
Ácido adípico	C16:1	11.870	15.529	12.761
Ácido mirístico	C14:0	2.985	2.334	3.745
Ácido palmítico	C16:0	29.214	24.297	27.161
Acido esteárico	C18:0	10.545	15.034	11.238
Ácido isooleico	C18:1	10.677	13.790	10.294
Ácido alfa-linolénico	C18:3	12.582	7.770	13.337
ácido 2'-Hexil-1,1' biciclopropano-2- octanoico	C21:0	1.454	1.577	1.483
ácido 12,15- octadecadiinoico	C18:2	6.100	3.483	5.723
ácido 8,11- octadecadiinoico	C18:2	9.336	12.113	9.255

Como se observa en el cuadro 8.11, los perfiles de ácidos grasos obtenidos de las diferentes cinéticas de crecimiento, resultaron muy similares en los ácidos grasos que estos contenían, sin embargo existió diferencia en las proporciones de estos mismos. Esto puede deberse a las diferentes composiciones de los medios de cultivos utilizados.

El perfil de ácidos grasos en *Pectinodesmus pectinatus* presentó una mayor abundancia de ácidos grasos saturados, de los cuales los más abundantes fueron el ácido isooleico, el ácido palmítico y el ácido linoleico (Cuadro 8.11). Esto es posiblemente debido a sus abundancias en la composición de los galactolípidos que componen a las membranas tilacoidales de los cloroplastos.

El perfil de ácidos grasos encontrado en *Pectinodesmus pectinatus* es similar a lo reportado para las especies *Ankistrodesmus falcatus*, *Ankistrodesmus fusiformis*, *Coelastrum microporum* y *Desmodesmus brasiliensis* (Nascimento et al. 2013), las cuales también presentaron la mayor abundancia en el ácido palmítico, oleico y linoléico. Perfiles similares también se han reportado en otros estudios (Griffith et al. 2012; Rodrigo et al. 2016) con presencia de ácido eicosapentaenoico (EPA) (C20: 5) y ácido docosahexaenoico (DHA) (C22: 6) en menor proporción, lo cual se observa generalmente en microalgas dulceacuícolas (Garibay et al. 2009). Sin embargo, hay que tener en cuenta que la presencia y composición de los ácidos grasos, siempre dependerá de la especie y a las condiciones de cultivo (Lang et al. 2011; Kaiwan-arporn et al. 2012; Arias et al. 2013; Islam et al. 2013).

Limnothrix planctónica

Cinética BG-11

Como se muestra en el Cuadro 8.12 y Figura 8.7, No se tuvo éxito en el cultivo de *Limnothrix planctónica*, los resultados obtenidos fueron los mismos en dos ocasiones más, lo que sugiere que a *Limnothrix planctónica* le es imposible adaptarse a las condiciones del biorreactor.

Cuadro 8.12.- Producción de biomasa y crecimiento celular de *Limnothrix planctónica* utilizando medio de cultivo BG-11.

t(Días)	Biomasa g L ⁻¹	Cel mL ⁻¹
0	0.1000	22500.0000
2	0.1000	34166.6667
4	0.1000	49166.6667
6	0.0500	37500.0000
8	0.0000	0.0000

Como se puede observar en la figura 8.7 hubo un decremento en la concentración celular así como en el peso seco, llegando el peso seco a ser menor que en el tiempo 0, esto es un comportamiento esperado debido a que en el último muestreo ya no se observaron microorganismos que se pudieran retener en los filtros de 1.6 micrómetros.

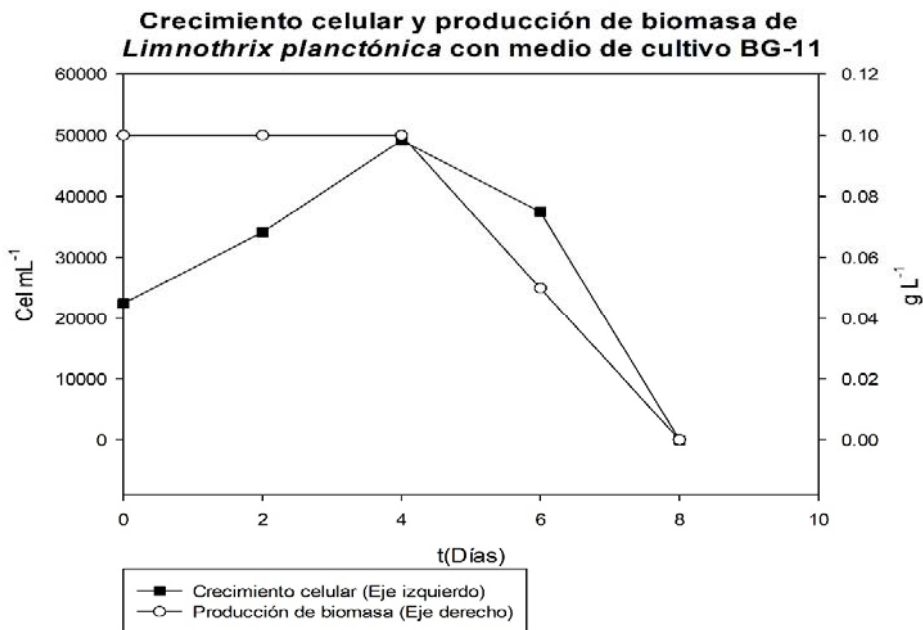


Figura 8.7.- Crecimiento celular y producción de biomasa de *Limnothrix Planctónica* utilizando el medio de cultivo BG-11.

Por otra parte, en el periodo que se realizaron las cinéticas de crecimiento a nivel biorreactor, se llevó a cabo otra fase experimental de cinéticas de crecimiento a nivel matraz (Datos no reportados en el presente trabajo), en el cual se les suministro aire mediante una flecha de vidrio invertida (sin difusor) a la mitad de la altura del líquido, en dicha fase experimental *Limnothrix planctónica* tuvo éxito en su crecimiento celular, en dichos matraces el mezclado no era del todo eficaz lo cual generada zonas muertas o de estancamiento del movimiento del fluido (Figura 8,9) lo cual indica que puede existir una relación entre el esfuerzo cortante producido por el mezclado de la aireación y el crecimiento celular.

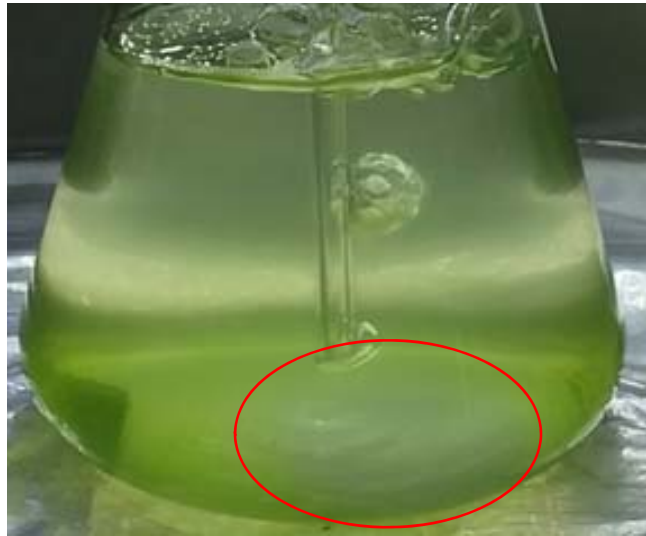


Figura 8.9 Comportamiento de mezclado en un cultivo de micro algas en matraces aireados. (El círculo rojo representa la zona que presenta el mezclado más eficaz, por el contrario las zonas con sedimentación de biomasa representan zonas muertas o de escaso mezclado).

Para corroborar lo anterior se realizaron simulaciones de hidrodinámicas del biorreactor utilizado y los matraces de la fase experimental antes mencionada (Figura 8.10 y 8.11)

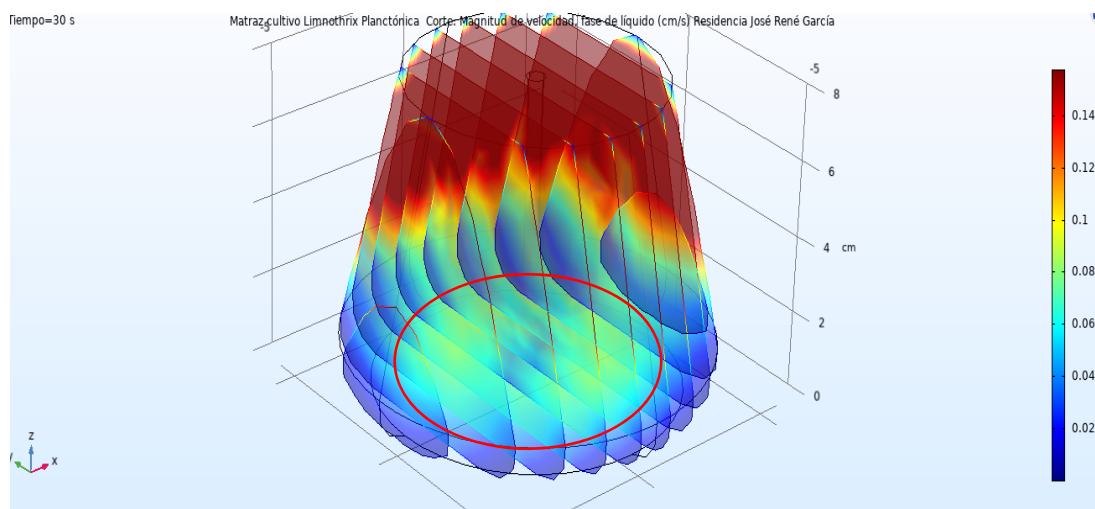


Figura 8.10.- Simulación hidrodinámica de la velocidad del fluido en el matraz

Como se observa en la Figura 8.10, existe una zona de movimiento justamente debajo de la flecha de aireación la cual toma forma circular, por el contrario en las orillas del matraz de la parte inferior, el movimiento del fluido es casi nulo, lo que representa una zona muerta o de escaso mezclado, lo cual es representativo con lo mostrado en la Figura 8.9.

La velocidad máxima alcanzada por el desplazamiento del fluido en el matraz fue 0.14 cm s^{-1} esta velocidad estaba presente justamente en la parte superficial del líquido, mientras que la mínima fue 0.01 cm s^{-1} esta fue la que estaba presente en las zonas de escaso mezclado en matraz (Figura 8.9)

Por otra parte en la simulación hidrodinámica del biorreactor utilizado para el cultivo de *Limnothrix planctónica* (Figura 8.11), mostró un comportamiento inverso al del matraz, ya que la mayor velocidad del líquido se encuentra en la parte inferior del biorreactor, alcanzando velocidades de 0.16 cm s^{-1} , mientras que la mínima se encuentra en la superficie del líquido, esto se debe a la configuración de la flecha de aireación y el difusor utilizado, al ser una manguera porosa el flujo de burbujas en la parte inferior abarcaban casi todo el área de la base del reactor, provocando un mayor desplazamiento del fluido y por lo tanto una mayor velocidad promedio en esa zona.

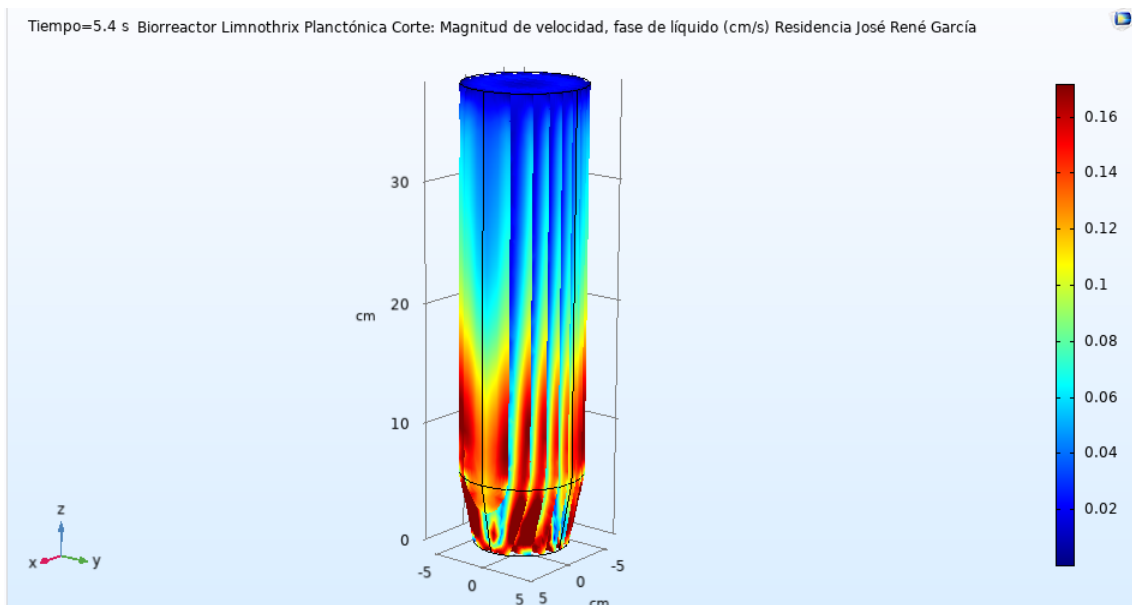


Figura 8.11.- Simulación hidrodinámica de la velocidad del líquido en el biorreactor

Con los resultados obtenidos por las simulaciones se puede deducir a primera instancia, que el crecimiento de *Limnothrix planctónica* se vio afectado por el esfuerzo cortante producido por el mezclado del reactor debido a la configuración del difusor y la flecha de aireación, esto no permitió la generación de zonas muertas de mezclado y por lo que se deduce inhibió el crecimiento de la microalga.

Parámetros hidrodinámicos

Diámetro de burbuja

Se obtuvo un diámetro de burbuja promedio de 2.01 mm, las burbujas que se utilizaron para obtener dicha medición se muestran en la figura 8.12, así mismo los datos de todas las mediciones y conversiones realizadas se muestran en el cuadro 8.13.

Cuadro 8.13.-Dimetros de las burbujas a escala impresión y su respectivo tamaño real obtenido mediante conversión matemática.

1		2		3		4	
Impresión	Real	Impresión	Real	Impresión	Real	Impresión	Real
Cm		Cm		Cm		cm	
0.6	0.25714286	0.4	0.17142857	0.5	0.21428571	0.4	0.17142857
0.4	0.17142857	0.5	0.21428571	0.7	0.3	0.66	0.28285714
0.4	0.17142857	0.5	0.21428571	0.4	0.17142857	0.6	0.25714286
0.4	0.17142857	0.5	0.21428571	0.4	0.17142857	0.5	0.21428571
0.9	0.38571429	0.5	0.21428571	0.4	0.17142857	0.5	0.21428571
0.4	0.17142857	0.4	0.17142857	0.4	0.17142857	0.4	0.17142857
0.5	0.21428571	0.4	0.17142857	0.6	0.25714286	0.5	0.21428571
0.5	0.21428571	0.7	0.3	0.6	0.25714286	0.4	0.17142857
0.5	0.21428571	0.4	0.17142857	0.5	0.21428571	0.4	0.17142857
0.5	0.21428571	0.4	0.17142857	0.4	0.17142857	0.4	0.17142857
0.5	0.21428571	0.5	0.21428571	0.4	0.17142857	0.4	0.17142857
0.4	0.17142857	0.5	0.21428571	0.4	0.17142857	0.4	0.17142857
0.5	0.21428571	0.4	0.17142857	0.4	0.17142857	0.4	0.17142857
0.5	0.21428571	0.5	0.21428571	0.4	0.17142857	0.4	0.17142857
0.55	0.23571429	0.5	0.21428571	0.5	0.21428571	0.55	0.23571429
0.4	0.17142857	0.6	0.25714286	0.4	0.17142857	0.4	0.17142857
0.6	0.25714286	0.4	0.17142857	0.4	0.17142857	0.4	0.17142857
0.5	0.21428571	0.6	0.25714286	0.5	0.21428571	0.4	0.17142857
0.5	0.21428571	0.4	0.17142857	0.5	0.21428571	0.4	0.17142857
0.4	0.17142857	0.4	0.17142857	0.4	0.17142857	0.4	0.17142857
0.4	0.17142857	0.5	0.21428571	0.7	0.3	0.5	0.21428571
0.5	0.21428571	0.4	0.17142857	0.5	0.21428571	0.35	0.15
0.5	0.21428571	0.4	0.17142857	0.6	0.25714286	0.35	0.15
0.7	0.3	0.4	0.17142857	0.4	0.17142857	0.4	0.17142857
0.35	0.15	0.5	0.21428571	0.4	0.17142857	0.5	0.21428571
Media (cm)	0.21257143		0.20057143		0.20228571		0.18874286
Media (mm)	2.125		2.005		2.022		1.8874
Medida media del diámetro de burbujas en el reactor (mm)					2.01		

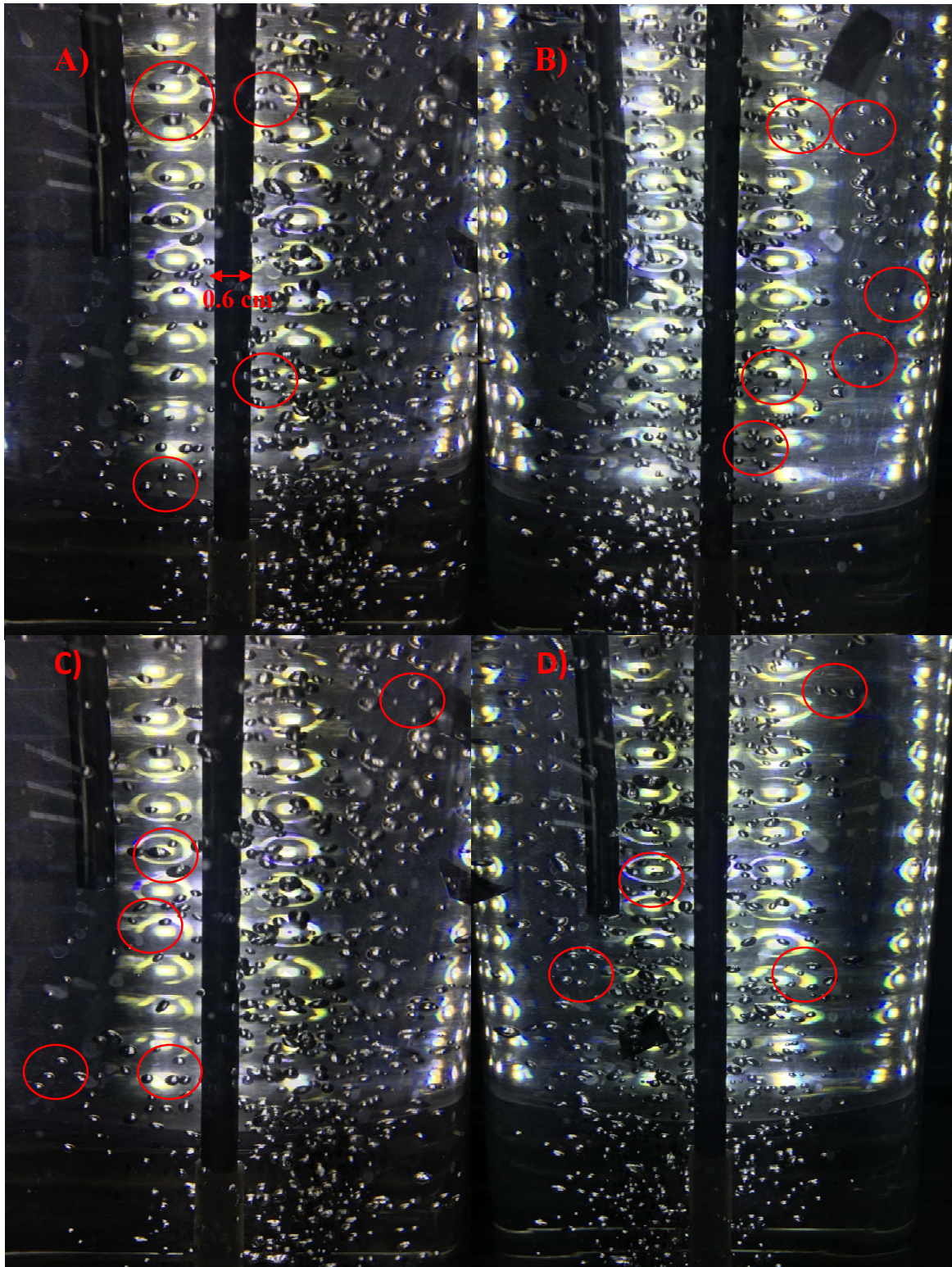


Figura 8.12. Fotografías de la difusión de burbujas dentro del biorreactor tomadas con una cámara iSight de 12 MP HDR. (Las burbujas encerradas en círculos rojos son ejemplos de las que se tomaron para la determinación del diámetro de burbuja)

Tiempo de mezclado

El tiempo de mezclado promedio fue de 8.333 segundos, este valor se calculó a partir de 3 repeticiones realizadas las cuales su tiempo de tiempo de mezclado respectivo se muestra en el cuadro 8.14

Cuadro 8.14- Resultados del tiempo de mezclado del biorreactor de *Pectinodesmus Pectinatus*

Repetición	Tiempo de mezclado (segundos)
1	9
2	8
3	8

La difusión del colorante con respecto al tiempo se muestra en la figura 8.14 (hoja siguiente).

SIMULACION

El resultado de la simulación en la cual se muestran los patrones de flujo así como la velocidad del líquido se muestran en la figura 8.13

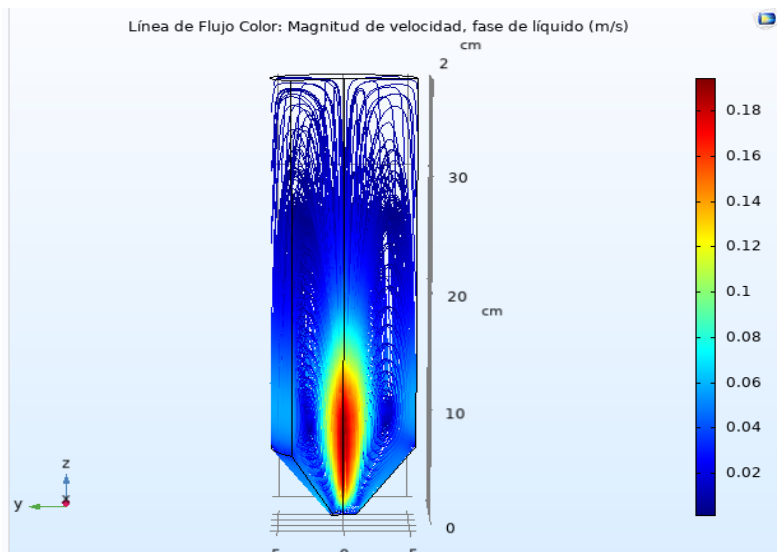


Figura 8.13.-Lineas de flujo con tonalidad de velocidad en el biorreactor

Como se observa en la figura 8.13 se aprecia una recirculación del fluido en la parte superior del biorreactor y la mayor velocidad alcanzada del fluido es la parte inferior, lo cual es congruente con lo que se esperaba obtener, este tipo de modelos han sido utilizados ampliamente como una simplificación con gran aceptación para el cálculo de velocidades de circulación y estimación de parámetro de transporte y han mostrado buena opción cuando no es requerido conocer a detalle el flujo dentro del reactor por su bajo consumo de cómputo (Ekambara *et al.*, 2005, Simcik *et al.*, 2011).

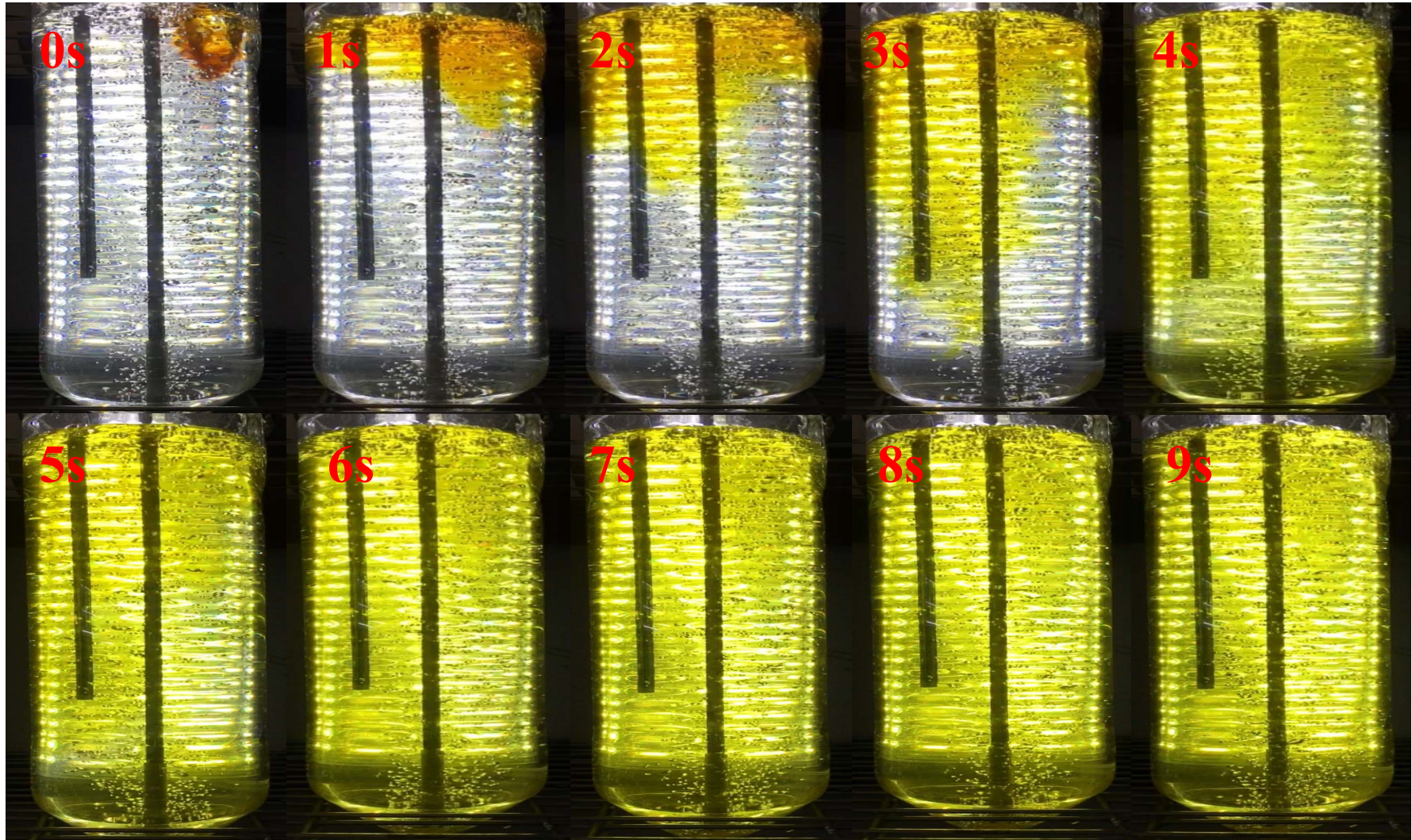


Figura 8.13.- Difusión del tinte dentro del biorreactor, fotos tomadas con una cámara iSight 12 MP HD

9. CONCLUSIONES

Se logró el cultivo de *Pectinodesmus Pectinatus* en los diferentes medios de cultivo propuestos, obteniéndose los mejores resultados en las cinéticas que se empleó fertilizante 18-18-18, Por otra parte, la cinética de agua residual tratada no obtuvo los mejores resultados, pero desde la vista del costo del proceso, es una opción más económica para el cultivo de *Pectinodesmus pectinatus*.

No existió diferencia en los ácidos grasos que comprendieron los perfiles obtenidos en la cromatografía, lo cual indica que en *Pectinodesmus pectinatus* no le afectó considerablemente el cambio de medio de cultivo.

No se logró el cultivo de *Limnothrix planctónica* debido a la cizalla producida por la aireación del biorreactor, por esto mismo también, no se logró obtener los perfiles de ácidos grasos de esta microalga.

Las simulaciones CFD mostraron resultados representativos del funcionamiento del biorreactor, aunque se logró observar diferencias en los resultados obtenidos por las simulaciones 2D y 3D, esto debido al tipo de mallado utilizado y las capacidades del hardware disponible.

10. RECOMENDACIONES

- Adaptar lámparas de luz UV para una esterilización más eficiente de los biorreactores, ya que al ser de tamaño superior a las autoclaves con los que cuenta el ITTG, no se pueden esterilizar por ese medio.
- Repetir las cinéticas realizadas a las mismas condiciones para verificar la reproducibilidad de los resultados aquí descritos.
- Realizar cinéticas de crecimiento de *Limnothrix planctónica*, cambiando la configuración de la flecha de aireación del biorreactor, así como la velocidad de aireación.
- Usar una malla más fina en el simulador COMSOL multiphysics, ya que con el computador que se trabajó no tenía el hardware necesario para realizar dicha tarea.
- Usar fertilizante líquido para evitar la formación de cristales en el medio.
- Realizar cinéticas de crecimiento a las condiciones que fueron aisladas las microalgas.

11. COMPETENCIAS DESARROLLADAS

Durante mi residencia profesional realizada en el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez adquirí nuevas experiencias profesionales. A lo largo de la realización de la fase experimental apliqué los conocimientos adquiridos durante mi formación como Ingeniero Bioquímico, que me ayudaron a realizar con mayor facilidad los temas a abordar en el presente trabajo.

A continuación, menciono los conocimientos aplicados de cada una de las asignaturas que me impartieron durante mi formación profesional:

Biología: Se aplicaron conocimientos sobre el metabolismo de las células vegetales, así como también para la identificación morfológica de las microalgas.

Microbiología: Los conocimientos adquiridos así como también las habilidades técnicas de esta asignatura, fueron vitales en la conservación de las cepas microalgales.

Biorreactores: Fue esencial para la realización de la fase experimental, ya que aplique los conocimientos obtenidos al momento de elegir la concentración correcta del inóculo, la determinación de los efectos adversos de la aireación, el modo de operación de los biorreactores, el cálculo de los parámetros cinéticos, etc.

Fisiología y Bioquímica Vegetal: Fue necesaria para la interpretación de las reacciones involucradas en el crecimiento microalgal, así como en la producción de clorofila y lípidos.

Bioquímica del nitrógeno y regulación: Los conocimientos adquiridos fueron esenciales en la interpretación más clara de las reacciones involucradas en los procesos metabólicos de las microalgas.

Fenómenos de transporte: El conocimiento adquirido de esta asignatura fue vital para una correcta interpretación de las ecuaciones utilizadas en el simulador.

Durante la residencia profesional se desarrollaron y aplicaron competencias profesionales que se describen en el siguiente cuadro:

Competencia Desarrollada y Aplicada	¿Dónde se aplicó?
Capacidad de Análisis y Síntesis	En la lectura de artículos científicos, revistas, documentos en páginas web, libros, etc. para el desarrollo del contenido teórico relacionado con el presente trabajo.
Capacidad Crítica	En la selección y modificación de algunas de las variables de la fase experimental, para la obtención de resultados más homogéneos.
Automotivación	En el interés constante por la investigación y realización del presente trabajo.
Análisis de Problemas	En la resolución de problemas de los problemas que se presentaban en las pruebas pre-experimentales.
Comunicación Escrita	En la redacción y uso del vocabulario técnico del presente trabajo.
Compromiso	En la entrega de avances y cumplimiento de las responsabilidades asignadas en tiempo y forma.
Tolerancia al Estrés	En la entrega de los avances en tiempo y forma, así como en la búsqueda de soluciones a los problemas que se presentaban sin ser previstos.
Escucha	Por la capacidad de detectar información importante de la comunicación con personal con experiencia en el área.
Iniciativa	Por la capacidad de idear y crear alternativas de configuraciones de los biorreactores para un mejor desempeño y actuar por cuenta propia.
Toma de Decisiones	En hacer los cambios pertinentes para un desarrollo más eficaz de la fase experimental
Planificación y Organización	En hacer lo posible por cumplir con los objetivos del plan de trabajo de acuerdo a lo pronosticado.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Adrian, J. S. (2014). Estudio de la biodiversidad fitoplanctónica del Canal Japón, Xochimilco. Tesis para de licenciatura en Biología.; Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Abdel-Raouf N, A. A.-H. & I. I., (2012). Microalgae and wastewater treatment.. Saudi Journal of Biological Sciences, Issue 19, pp. 257-275
- Ahmad, A. L. Y. N. H. M. D. C. J. C. & L. J. K., (2011). Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: A review.. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 15(1), pp. 584-593.
- Ahmad, F. A. U. K. Y., (2013). The potential of *Chlorella vulgaris* for wastewater treatment and biodiesel production.. Issue 45, pp. 461-465.
- Arias Peñaranda, M. T., Martínez Roldán, A. d., & Cañizares Villanueva, R. O. (2013). Biodiesel production from microalgae: Cultivation parameters that affect lipid production. Acta biol. Colomb., 18:43-68.
- Arredondo Vega, B. O., Voltolina, D., Zenteno Savín, T., Arce Montoya, M., & Gómez Anduro, G. A. (2017). Método y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. La Paz, Baja California Sur.: PerkinElmer.
- Arnold, M., (2013). Sustainable algal biomass products by cultivation in waste water flows. s.l., s.n.
- Bailey-Watts, A. E. (1972). The algal plankton of Loch Leven, Kinross. Proceeding of the Royal Society of Edinburgh Section B 74: 135–156.
- Band , C. J., Arredondo-Vega, B. O., & Vazquez-Duhal, R. (1992). Effect of a salt-osmotic upshock on the edaphic microalgae *Neochloris oleoabundans*. Plant Cell Environ. , 15: 129-133.
- Becker, E. W., (2004). Microalgae in Human and Animal Nutrition. En: A. Richmond, ed. Handbook of Microalgal Culture (Biotechnology and Applied Phycology.. s.l.:Blackwell Publishing.
- Bermeo Castillo L.E., (2011). Estudio del cosechado de cultivos de microalgas en agua residual mediante técnicas de centrifugado., Cádiz, España: s.n.
- Blatti, J. L. J. M. D. B., (2013). Engineering fatty acid biosynthesis in microalgae for sustainable biodiesel.. Current opinion in chemical biology , 17(3), pp. 496-505.
- Borowitzka, M. A., (1992). Comparing carotenogenesis in *Dunaliella* and *Haematococcus*: implications for commercial production strategies." Profiles on biotechnology.. Universidad de Santiago: Servicio de publicaciones..
- Borowitzka, M. A., (2013). High-value products from microalgae—their development and commercialisation.. Journal of Applied Phycology, 25(3), pp. 743-756.
- Chisti Y. (2007). Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances 25: 94–306.
- Del Campo, J. A. M. G.-G. G. G., (2007). Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: Current state and perspectives.. Applied Microbiology and Biotechnology., 74(6), pp. 1163-1174.

- De la Noüe , J., & de Pau , N. (1988). The potential of microalgal biotechnology: a review of production and uses of microalgae. *Biotechnol. Adv.* , 6: 725-770.
- Dexter, J. F., (2009). Metabolic engineering of cyanobacteria for ethanol production.. *Energy and Environmental Science* , 2(8), pp. 857-864.
- Douskova, I. J. D. K. L. J. M. P. N. D. U. V. Z. V., (2009). Simultaneous flue gas bioremediation and reduction of microalgal biomass production costs.. *Applied Microbiology and Biotechnology* , 82(1), pp. 179-185.
- Driver D.M. & Seegmiller H.L (1985). Features of a Reattaching Turbulent Shear Layer in Diverging Channel Flow , *AIAA Journal*, vol. 23, pp. 163–171,
- Edberg, A., (2010). Growth of *Chlorella Vulgaris* at high carbon dioxide levels in Swedish light conditions. Laboratory testing and development of methods.. s.l.:s.n.
- Ferreiro, I., (2011). Producción de biodiesel a partir de microalgas como alternativa a los cultivos clásicos., Argentina: s.n.
- García, R., (2013). Producción de biomasa de microalgas rica en carbohidratos acoplada a la eliminación fotosintética de CO₂, s.l.: s.n.
- Garibay Hernández, A., Vázquez-Duhalt, R., Sánchez Saveedra, M. d., Serrano Carreón, L., & Martínez Jiménez, A. (2009). Biodiesel a Partir de Microalgas. *BioTecnología*, 13:38-61.
- Glazer, A. N., (1994). Phycobiliproteins-a family of valuable, widely used fluorophores.. *J.Appl.Phycol*, Issue 6, pp. 105-122.
- Griffith, M. J., van Hille, R. P., & L. Harrison, S. T. (2012). Lipid productivity, settling potential and fatty acid profile of 11 microalgal species grown under nitrogen replete and limited conditions. *J Appl Phycol* , 24:989–1001.
- Grobbelaar JU. (2000). Physiological and technological considerations for optimizing mass algal cultures. *Journal of Applied Phycology* 2: 201-206.
- Grobbelaar, J., (2004). Algal nutrition: mineral nutrition. In: Richmond A (ed).. *En: Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology.. Iowa: Blackwell Science*, pp. 97-115.
- Gudin, C. T., (1986). Bioconversion of solar energy into organic chemicals by microalgae.. *Adv.Biotechnol.Processes* , Issue 6, pp. 73-110.
- Guiry MD, Guiry GM. (2016). *AlgaeBase*. World-wide electronic publication. National University of Ireland, Galway.
- Hegewald E. (1997). Taxonomy and Phylogeny of *Scenedesmus*. *Algae* 12: 235-246.
- Ho, S.-H., Chen, C.-Y., Lee, D.-J., & Chang, J.-S. (2011). Perspectives on microalgal CO₂-emission mitigation systems-A review. *Biotechnolo-gy Advances*, 29(2), 189-198
- Huntley, M. E. G. R., (2007). CO₂ mitigation and renewable oil from photosynthetic microbes: a new appraisal.. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, Issue 12, pp. 573-608.

- Islam, M. A., Magnusson, M., Brown, R. J., Ayoko, G. A., Nabi, M. N., & Heimann, K. (2013). Microalgal species selection for biodiesel production based on fuel properties derived from fatty acid profiles. *Energies*, 6:5676-5702.
- Ismail, O. M. O. F. D. N. I., (2011). Influence of some bacteria strains and algae as biofertilizers on growth of bitter orange seedlings.. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences.*, 5(11), pp. 1285-1289.
- Kaiwan-arporn, P., Dong Hai, P., Thi Thu, N., & Annachhatre, A. P. (2012). Cultivation of cyanobacteria for extraction of lipids. *Biomass and bioenergy* , 44:142 -149.
- Kohl, J. G. & A. Nicklisch, (1981). Chromatic adaptation of the planktonic blue-green alga *Oscillatoria redekeivana* Goorand its ecological significance. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie* 66: 83–94
- Komárek, J., Fott, B. (1983). *Das Phytoplankton des Süßwassers: Chlorophyceae*. Zürich, Alemania: Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung.
- Komárek, J. & K. Anagnostidis, (2005). *Cyanoprokaryota-2. Teil*: Elsevier, Heidelberg: 70 pp
- Krienitz L, Bock C. (2012). Present state of the systematics of planktonic coccoid green algae of inland waters. *Hydrobiologia* 698: 295-326. DOI 10.1007/s10750-012-1079-z
- Kuzmin D., Mierka O & Turek S. (2007). On the Implementation of the k-ε Turbulence Model in Incompressible Flow Solvers Based on a Finite Element Discretization”, *Int.J. Computing Science and Mathematics*, vol. 1, no. 2–4, pp. 193–206.
- Lang, I., Hodac, L., Friedl, T., & Feussner, I. (2011). Fatty acid profiles and their distribution patterns in microalgae: a comprehensive analysis of more than 2000 strains from the SAG culture collection. *BMC Plant Biology* , 11:124.
- Li Y & Huang J. (2009). High-light and sodium chloride stress differentially regulate the biosynthesis of astaxanthin in *Chlorella zofingiensis*. *Journal of Phycology* 45: 635-641
- Lores H., (2015). Estudio a escala piloto del efecto de diferentes condiciones de operación sobre la eliminación de nutrientes en un cultivo de microalgas.. s.l.: Tesis de Maestría.
- Martin FPH. (2010). Optimization of photobioreactor for astaxanthin production in *Chlorella zofingiensis*. Tesis de Maestría en Ingeniería. National University of Singapore.
- Mata, T. M. M. A. A. & C. N. S., (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1), pp. 217-232.
- McHenry, M. P., (2013). Hybrid microalgal biofuel, desalination, and solution mining systems: Increased industrial waste energy, carbon, and water use efficiencies.. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 18(1), pp. 159-167.
- Meffert, M. E., (1987). Planktic unsheathed filaments (Cyano-phyceae) with polar and central gas-vacuoles. I. Their morphology and taxonomy. *Archiv für Hydrobiologie Supplement* 76: 315–346.
- Moustaka-Gouni, M., E. Vardaka & E. Tryfon, (2007). Phyto-plankton species succession in a shallow Mediterranean lake (L. Kastoria, Greece): steady-state dominance of *Limnothrix redekei*, *Microcystis aeruginosa* and *Cylindrocapsa raciborskii*. *Hydrobiologia* 575: 129–140.

- Nascimento, I. A., Izabel Marques, S. S., Dominguez Cabanelas, I. T., Andrade Pereira, S., Isabel Druzian, J., Oliveira de Souza, C., Andrade Nascimento, M. (2013). Screening microalgae strains for biodiesel production: Lipid productivity and estimation of fuel quality based on fatty acids profiles as selective criteria. *Bioenerg. Res.*, 6:1–13.
- Pal, R. A. G. T., (2011). "Impact of environmental factors on the biomass production of spirulina in different conditions.". *Vegetos*, 24(2), pp. 142-148.
- Palomino A., (2013). Extracción de aceite de microalgas.. Universidad del Valle. Escuela de Ingeniería Química. Santiago de Cali: Tesis de Maestría.
- Patel, S. G., (2013). Current and prospective insights on food and pharmaceutical applications of spirulina.. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 7(2), pp. 681-695.
- Prasanna, R. S. T. N. B. S. B. K. Y. A. A. S. K. M. P. Y. S. K. S., (2013). Evaluating the efficacy of cyanobacterial formulations and biofilmed inoculants for leguminous crops.. *Archives of Agronomy and Soil Science.*, pp. 209-344.
- Pulz O. (2001). Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 57: 287-293.
- Rodrigo López, T., Fidel Galeano, E., Dos Santos, M., Rodriguez Bonet, S., & Daniel Benitez, A. (2016). Cinética de crecimiento y productividad lipídica del alga *Tetrademus wisconsinensis* obtenida en un cuerpo de agua de Paraguay. *Investig. Agrar.*, 18(1):22-29.
- Rodríguez A., T. F., (2006). Evaluación del pH en el cultivo de *Spirulina* spp. (*Arthospira*) bajo condiciones de laboratorio., s.l.: s.n.
- Rodríguez Carvajal, L., (2015). Introducción del empleo de vinazas en el crecimiento de microalgas para ser integradas en las producciones de etanol de la región central., Santa Clara, Cuba: s.n.
- Rojo, C. & M. A. Cobelas, (1994). Population dynamics of *Limnospira redekei*, *Oscillatoria lanceaeformis*, *Planktothrix agardhii* and *Pseudanabaena limnetica* (cyanobacteria) in a shallow hypertrophic lake (Spain). *Hydrobiologia* 275(276): 165–171
- Ruiz Martínez, A., (2011). Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente., s.l.: s.n.
- Silva, S. M. F. & R. N. Pienaar, (2000). Benthic Marine Cyano-phyceae from Kwa-Zulu Natal, South Africa. *Gebüder Borntraeger, Stuttgart*: 231–236
- Singh, J. S. V. C. P. P. S., (2011). Efficient soil microorganisms: A new dimension for sustainable agriculture and environmental development.. *Agriculture, Ecosystems and Environment.*, 140(3-4), pp. 339-353.
- Singh RN and Sharma S. (2012). Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16: 2347– 2353.
- Skjanes, K. C. R. P. L., (2013). Potential for green microalgae to produce hydrogen, pharmaceuticals and other high value products in a combined process.. *Critical Reviews in Biotechnology*, 33(2), pp. 172-215.

Stomp, M., J. Huisman, F. de Jongh, A. J. Veraart, D. Gerlam, M. Rijkeboer, B. W. Ibelings, U. I. A. Wollenzien & L.J. Stal, (2004). Adaptive divergence in pigment composition promotes phytoplankton biodiversity. *Nature* 432:104–107

Subashchandrabose, S. R. B. R. M. M. K. V. N., (2013). Mixotrophic cyanobacteria and microalgae as distinctive biological agents for organic pollutant degradation.. *Environment international*, Issue 51, pp. 59-72.

Vardaka, E., M. Moustaka-Gouni & T. Lanaras, (2000). Temporal and spatial distribution of planktic cyanobacteria in Lake Kastoria, Greece, a shallow, urban lake. *Nordic Journal of Botany* 20: 501–511.

Wang Y, T. C. & S. Q., (2012). Heterotrophic cultivation of *Chlorella kessleri* for fatty acids production by carbon and nitrogen supplements.. *Biomass and Bioenergy*, Issue 47, pp. 402-409.

Widjaja, A. C. C.-C. & J. Y.-H., (2009). Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*.. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 40(1), pp. 13-20.

Wellbur, A. R. (1994). The spectral determination of chlorophylls a y b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol.*, 144: 307-313.

Wilcox D.C. (1998). *Turbulence Modeling for CFD*, 2nd ed., DCW Industries.

Wolfgang, E., (1994). *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*.. Cambridge University Press, pp. 51-57.