



**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez

## INSTITUTO TECNOLÓGICO NACIONAL DE MEXICO CAMPUS TUXTLA GUTIÉRREZ

TEMA: *Evaluación de un fotobiorreactor tipo panel con agitación mecánica para el cultivo de *Desmodemus communis**

REPORTE FINAL DE RESIDENCIA PROFESIONAL

PRESENTA:  
FRANCISCO EDUARDO AGUILAR CRUZ

Como requisito para acreditar la Residencia Profesional de la Licenciatura en:

**INGENIERÍA QUÍMICA**

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas  
Junio de 2022



Carretera Panamericana Km. 1080, C.P. 29050,  
Apartado Postal 599, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.  
Tel. (961) 615 0461, 615 0138, 615 4808, ext. 303  
correo: dep\_tgutierrez@tecnm.mx  
tuxtla.tecnm.mx





**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO

**Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez**



Carretera Panamericana Km. 1080, C.P. 29050,  
Apartado Postal 599, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.  
Tel. (961) 615 0461, 615 0138, 615 4808, ext. 303  
correo: dep\_tgutierrez@tecnm.mx  
tuxtla.tecnm.mx



## AGRADECIMIENTOS

A mi familia: Por todo el apoyo y esfuerzo brindado que me hizo concluir satisfactoriamente con mis estudios, así como la educación que obtuve de ellos para llegar a tener mi desarrollo como estudiante y como persona. Y este logro personal va con especial dedicatoria a mis padres.

A mis docentes: Por los conocimientos que ellos me transmitieron a lo largo de la carrera que me guiaron en este proceso para concluir la residencia profesional.

A mi asesor el Dr. Arnulfo Rosales Quintero: Debido a que con su paciencia y tiempo dedicado logre terminar la Residencia profesional ya que el me brindo siempre mayor información y respuestas a dudas que me surgieron con el proyecto y logre obtener conocimientos más sólidos para la conclusión de este mismo.

A la Ingeniería Karla Zaraos: Por el apoyo a lo largo del proyecto y a su guía, lo cual hizo que las dificultades que veía en el proyecto se me resolvieran.

## RESUMEN

En este proyecto se evaluó el diseño para la construcción de un fotobiorreactor de panel para la producción y cultivo de biomasa y metabolitos de la microalga *Desmodesmus communis*. En el cual se hicieron simulaciones con ayuda de CFD para la predicción del comportamiento hidrodinámico del fluido en los prototipos iniciales del fotobiorreactor, para así llegar a la geometría del FBR que tenga la mejor hidrodinámica de mezclado, con el cual se llegó a la construcción de un FBR de panel con agitación mecánica con ubicación del agitador en el centro del mismo, con un porcentaje de similitud entre la simulación y el modelo construido del 96% en la hidrodinámica del mezclado.

El FBR construido en cristal es óptimo para la producción de *Desmodesmus communis* ya que se obtuvo una productividad celular máxima de  $328.33 \pm 8.17 \times 10^4$  cel/mL · d en el día 8,  $0.51 \pm 0.13$  g/L de biomasa,  $40.47 \pm 13$  µg/mL de clorofila a y b, manteniendo la viabilidad celular en  $93.57 \pm 1.27\%$ . Demostrando que el FBR es óptimo para maximizar la productividad y la concentración de clorofila de *D. communis*.

Palabras clave: Fotobiorreactores, *D. communis*, hidrodinámica, CFD, clorofila.

# CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	1
RESUMEN .....	2
CONTENIDO.....	3
1. GENERALIDADES DEL PROYECTO .....	7
1.1 INTRODUCCION .....	7
1.2 DESCRIPCIÓN DE LA EMPRESA: .....	8
1.3 OBJETIVOS .....	9
Objetivo general:.....	9
Objetivos específicos:.....	9
1.4 JUSTIFICACION.....	10
2. MARCO TEORICO.....	11
2.1 Microalgas .....	11
2.1.1 Fotosíntesis (FOTOSINTESIS C3) FOTOSINTESIS DE MICROALGAS .....	11
2.1.2 Aplicaciones biotecnológicas .....	12
2.1.3 Biorremediación .....	12
2.1.4 Bioenergías.....	13
2.1.5 Industria alimentaria .....	14
2.1.6 Pigmentos: (medicinales) .....	14
2.2 Cinética de crecimiento de microalgas .....	15
2.2.1 Fase de adaptación o ajuste:.....	15
2.2.2 Fase de crecimiento exponencial:.....	15
2.2.3 Fase de crecimiento lineal:.....	16
2.2.4 Fase de retardo: .....	16
2.2.5 Fase estacionaria:.....	16
2.2.6 Fase de muerte:.....	16
2.3 Factores físicos de crecimiento .....	16
2.3.1 Luz .....	16
2.3.2 PH .....	17
2.3.3 Temperatura.....	17

2.3.4	Agitación.....	18
2.4	factores químicos de crecimiento.....	18
2.4.1	Medio de cultivo.....	18
2.4.2	Fuente de carbono .....	19
2.5	Métodos analíticos.....	19
2.5.1	Determinación de biomasa .....	20
2.5.2	Determinación de clorofila a y b .....	21
2.5.3	Viabilidad celular .....	22
2.6	<i>Desmodesmus communis</i> .....	22
2.6.1	Taxonomía.....	22
2.6.2	Información morfológica.....	23
2.6.3	Información ecológica.....	23
2.7	Cultivo de microalgas.....	23
2.8	Fotobiorreactores.....	24
2.8.1	Fotobiorreactores abiertos .....	25
2.8.2	Fotobiorreactores cerrados.....	25
2.8.3	Diseño de fotobiorreactores (CFD) .....	26
2.8.4	Hidrodinámica en reactores.....	26
2.9	Mezclado en fotobiorreactores.....	27
2.9.1	Agitación mecánica .....	27
2.9.2	Agitación neumática.....	28
3.	PROCEDIMIENTO.....	30
3.1	Diseño del fotobiorreactor de panel con agitación mecánica mediante CFD .....	30
3.2	Modelado del FBR .....	30
3.3	Evaluación del tiempo de mezcla.....	31
3.4	Cultivo de <i>Desmodesmus communis</i> en fotobiorreactor .....	31
4.	RESULTADOS .....	33
4.1	Dimensiones del fotobiorreactor .....	33
4.2	Modelado del fotobiorreactor .....	34
4.3	Determinación del tiempo de mezclado .....	36
4.4	Cultivo de <i>Desmodesmus communis</i> en fotobiorreactor.....	37
5.	CONCLUSIONES .....	39
5.1	RECOMENDACIONES .....	39

6. COMPETENCIAS DESARROLLADAS O APLICADAS.....	40
7. ANEXOS .....	40
8. FUENTES DE INFORMACION.....	42
Trabajos citados .....	42

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.-</b> Mecanismo de producción de microalgas.....	11
<b>Figura 2.-</b> Proceso de fotosíntesis realizado por las microalgas.....	11
<b>Figura 3.-</b> Fases de crecimiento en el cultivo de microalgas.....	15
<b>Figura 4.-</b> Cámara de Neubauer.....	20
<b>Figura 5.-</b> Taxonomía de <i>Desmodesmus Communis</i> .....	23
<b>Figura 6.-</b> Tipos de fotobiorreactores abiertos.....	25
<b>Figura 7.-</b> Tipos de fotobiorreactores cerrados.....	26
<b>Figura 8.</b> Diferentes tipos de móviles de agitación mecánica.....	28
<b>Figura 9.-</b> Diseño del fotobiorreactor prototipo 1.....	30
<b>Figura 10.-</b> Puntos de evaluación de inyección del trazador.....	31
<b>Figura 11.-</b> Preparación y acondicionamiento del inoculo.....	31
<b>Figura 12.-</b> Fotobiorreactor inoculado.....	32
<b>Figura 13.-</b> Dimensiones finales del fotobiorreactor.....	33
<b>Figura 14.</b> Dimensiones y curvatura del agitador de hélice.....	34
<b>Figura 15.-</b> Simulación hidrodinámica del FBR con agitador lateral.....	34
<b>Figura 16.-</b> Simulación hidrodinámica del FBR con agitador central.....	35
<b>Figura 17.-</b> Partes del FBR.....	35
<b>Figura 18.-</b> Toma de tiempo de inyección del trazador.....	36
<b>Figura 19.-</b> Toma de tiempo de dilución en el reactor.....	36
<b>Figura 20.</b> Concentración celular de <i>Desmodesmus communis</i> en FBR de panel con agitación mecánica y en matraces con agitación orbital.....	37

<b>Figura 21.-</b> Diagrama de determinación Conteo de células.....	40
<b>Figura 22.-</b> Diagrama de determinación de peso seco.....	40
<b>Figura 23.-</b> Diagrama de determinación de Clorofila a y b.....	41
<b>Figura 24.-</b> Determinación de viabilidad celular.....	41

#### **LISTA DE TABLAS**

<b>Tabla 1.-</b> Componentes y cantidades para la preparación del medio de cultivo.....	18
<b>Tabla 2.</b> Parámetros de referencia empleados para el dimensionamiento del prototipo....	30
<b>Tabla 3.-</b> Condiciones de cultivo del inóculo.....	31
<b>Tabla 4.-</b> Tiempo de inyección del trazador.....	36
<b>Tabla 5.-</b> Tiempo de dilución del trazador en el reactor.....	36
<b>Tabla 6.</b> Productividad de los tratamientos en fotobiorreactor y matraz.....	37
<b>Tablas 7.</b> Células viables, biomasa y clorofila de los tratamientos en FBR y matraz.....	38

# 1. GENERALIDADES DEL PROYECTO

## 1.1 INTRODUCCION

Las microalgas son organismos fotosintéticos capaces de transformar el CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O y luz en biomasa. La producción de biomasa microalgal actualmente se lleva a cabo a nivel laboratorio y a nivel industrial en dispositivos denominados fotobiorreactores, en los últimos años se han centrado esfuerzos en maximizar la biomasa de las microalgas debido a que es fuente de biomasa para la generación de biocombustibles, alimentos, entre otros (Camacho Aguilar & Flores Castillo, 2020).

Es ahí donde la biotecnología toma fuerza ya que en el mundo podemos encontrar otras fuentes de recursos, en este caso las microalgas las cuales podemos encontrar en la mayor cantidad en cuerpos de agua, demostrándonos tener un potencial para ser empleadas en diversos procesos biotecnológicos dentro de los que se destacan: producción de biomasa para su empleo para la alimentación (animal o humana), producción de moléculas de alto valor agregado (antioxidantes, pigmentos, antimicrobianos, antimicóticos, ácidos grasos esenciales, etc.), producción de bioenergéticos (bioetanol, biodiesel, biohidrógeno, etc.), eliminación de contaminantes (metales pesados, pesticidas, colorantes, etc.), en el tratamiento de aguas residuales (eliminación de nitrógeno y fósforo principalmente) (Martinez Roldán & Gomez Lozano, 2020).

Los dispositivos de cultivo de microalgas han sido modificados con el paso de los años los más usados han sido normalmente los de agitación neumática sin embargo se ha explorado otras alternativas como el mezclado mecánico (Doncel Nuñez & Moreno Saboya, 2017). Las modificaciones que han pasado al largo de los años es la ubicación del burbujeo en el Fotobiorreactor (FBR) o la velocidad del burbujeo, mientras que en el de mezclado mecánico ha habido muy pocas investigaciones con este tipo de agitación.

Bajo este contexto se planteó un proyecto lo cambié que evalué el contenido de clorofila y biomasa generado en un fotobiorreactor tipo panel con agitación mecánica que permita maximizar el aprovechamiento de la luz y en el cultivo de *Desmodesmus communis* que se llevó a cabo en el Instituto Tecnológico Nacional de México campus Tuxtla Gutiérrez.

## 1.2 DESCRIPCIÓN DE LA EMPRESA:

### **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:**

El Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez establece el compromiso de implementar y orientar todos sus procesos estratégicos y actividades del proceso educativo, hacia la calidad del servicio educativo y respeto del medio ambiente, dando cumplimiento a los requisitos del estudiante y partes interesadas, mediante un sistema de gestión de la calidad con forme a la norma ISO 9001:2015/NMX-CC-9001-IMNC-2015.

### **Valores:**

- El Ser Humano
- El Espíritu de Servicio
- El Liderazgo
- El Trabajo en Equipo
- La Calidad
- El Alto Desempeño
- Respeto al Medio Ambiente

### 1.3 OBJETIVOS

Objetivo general:

Construir un fotobiorreactor de panel con agitación mecánica para maximizar la concentración de biomasa y metabolitos de *Desmodesmus communis*.

Objetivos específicos:

- Diseñar un fotobiorreactor de panel con agitación mecánica mediante dinámica computacional de fluidos.
- Evaluar la hidrodinámica del fotobiorreactor de panel mediante el tiempo de mezclado
- Determinar las cinéticas de crecimiento de *Desmodesmus communis* a diferentes velocidades de agitación en el fotobiorreactor construido.

## 1.4 JUSTIFICACION

El aumento de la población mundial ha generado a lo largo de los años la búsqueda de herramientas útiles a través del tiempo para la propia existencia y una calidad de vida estable, explotando los recursos que el planeta nos otorga para generar energía, alimento, ropa, tintes medicinas entre otras cosas, todo esto llevando al desgaste de la tierra ya sea acabando nuestros recursos o contaminando el medio ambiente (Arrieta Bolaños, 2008).

Es por ello que la presente investigación va enfocada a la construcción y evaluación de un fotobiorreactor de panel con agitación mecánica debido a que las microalgas tienen un gran potencial biotecnológico, aunque a contra partida aún se encuentra una gran limitante la cual es la generación de biomasa. Y buscamos el dispositivo tecnológico necesario para el crecimiento ya que hay diferentes investigaciones que nos brindan diferentes soluciones para el crecimiento de biomasa en reactores cerrados sin obtener los mejores resultados para *Desmodesmus Communis*.

El fotobiorreactor de panel fue seleccionado debido a que son los reactores que obtienen una mayor eficiencia en la distribución de luz, lo cual es muy importante para *Desmodesmus communis* para su crecimiento y su fotosíntesis. Para este tipo de fotobiorreactores aumentan la eficiencia de la actividad fotosintética debido a la mayor relación área volumen que genera mayor actividad fotosintética debido a él gran área de superficie iluminada. Así también se usará el mezclado con agitación neumática favorece el intercambio gaseoso, evita la sedimentación de células, la formación de gradientes de condiciones ambientales y de concentración de nutrientes, pero su función principal es permitir que todas las células puedan acceder a las zonas iluminadas en un fotobiorreactor (Loomba & Huber, 2018). Construido con aspapas relacionadas al tamaño de volumen y tamaño del fotobiorreactor ya que si los aspersores son muy pequeños dificultarían el mezclado generando estratificaciones y disminuyendo considerablemente la transferencia de masa. Y usaremos este tipo de agitación mecánica debido a que en recientes investigación en el cual aplican agitación neumática se encuentran con el problema en el cual el mezclado no tiene la misma hidrodinámica en todo el reactor y eso genera zonas muertas en donde conlleva aglomeraciones de biomasa (Loomba & Huber, 2018).

El proyecto se realizó cumpliendo con los objetivos generales y específicos, determinando la velocidad de agitación óptima en el fotobiorreactor evaluando a la microalga *Desmodesmus Communis* y determinar la producción de clorofila y biomasa, fortaleciendo las investigaciones previas que se llevaron a cabo en el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez con las microalgas aisladas e identificadas de las cascadas del Chiflón, Chiapas por su potencial biotecnológico (Olivia Paniagua, 2020).

## 2. MARCO TEORICO

### 2.1 Microalgas

Las microalgas son organismos unicelulares eucariotas fotosintéticos (2-200  $\mu\text{m}$ ), que pueden crecer de modo autotrófico o heterotrófico. En general son altamente eficientes en la fijación del  $\text{CO}_2$  y utilización de la energía solar para producir biomasa, con una eficiencia hasta cuatro veces superior a la de las plantas. La importancia de las microalgas radica en su papel como productoras primarias de la cadena trófica, que las convierte en las primeras productoras de materia orgánica (González Céspedes, 2015).

Las microalgas son, entonces, las algas que tienen una organización microscópica, encontrándose formas unicelulares, filamentosas o coloniales dependiendo del género en cuestión. Además, su situación ecológica puede ser de vida libre, endosimbiótica, parásita o de líquen (Arrieta Bolaños, 2008).

Están presentes en todos los ambientes con agua, como lagos, mares y ríos, aunque también las podemos encontrar en el suelo y en la mayoría de los ambientes terrestres, incluso los más extremos, lo cual permite hallarlas ampliamente distribuidas en la biósfera adaptadas a una gran cantidad de condiciones.

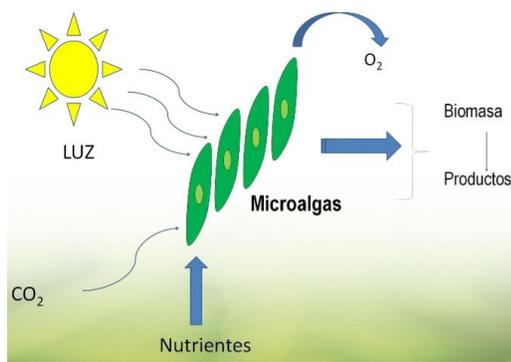
#### 2.1.1 Fotosíntesis (FOTOSINTESIS $\text{C}_3$ ) FOTOSINTESIS DE MICROALGAS

La fotosíntesis es un proceso metabólico que llevan a cabo algunas células de organismos autótrofos para sintetizar sustancias orgánicas a partir de otras inorgánicas. De esta forma se convierte la energía luminosa en energía química estable (González Céspedes, 2015).

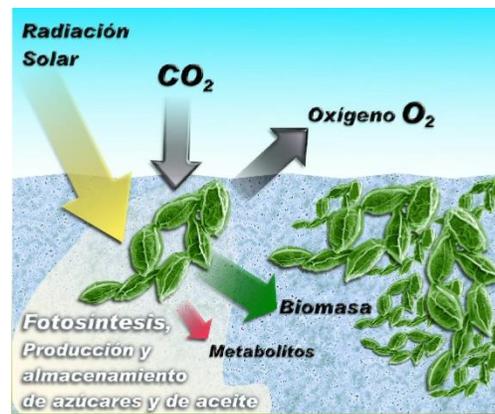
Como la mayoría de los organismos clorofílicos, las microalgas poseen la facultad de llevar a cabo el proceso de la fotosíntesis utilizando agua como donador de electrones. Las microalgas presentan gran diversidad de tamaños, formas y estructuras, caracterizándose sus representantes más primitivos, las cianobacterias, por ser procariotas (García Guerrero, 1983).

La fotosíntesis  $\text{C}_3$  es la más común (no solo en plantas, también en algas y bacterias), las plantas  $\text{C}_3$  utilizan una ruta fotosintética que incorpora el  $\text{CO}_2$  de la atmósfera en una reacción cuya primera molécula orgánica consta 3 átomos de carbono, el ácido fosfoglicérido (PGA, del inglés phosphoglyceric acid) (INTAGRI, 2018).

La enzima responsable de catalizar esta primera reacción fotosintética es la rubisco (también escrito RuBisCO), siglas de ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa. Se estima que la rubisco es la enzima proteica más abundante de la biosfera.



**Figura 1.-** Mecanismo de producción de microalgas (González Céspedes, 2015)



**Figura 2.-** Proceso de fotosíntesis realizado por las microalgas (González Céspedes, 2015)

Como su nombre indica, la rubisco cataliza el mismo proceso en sentido opuesto, es capaz de carboxilar y de oxigenar:

- Durante la fotosíntesis, la rubisco fija el CO<sub>2</sub> de la atmósfera y carboxila la ribulosa difosfato.
- Durante la fotorrespiración, la rubisco puede tomar oxígeno de la atmósfera para oxidar la ribulosa y desprender CO<sub>2</sub>. La fotorrespiración se activa en condiciones de alta luminosidad y alta temperatura.

La fotosíntesis C3 es la más común que se observa en la naturaleza bajo condiciones normales de luz y temperatura. La fotosíntesis tiene lugar en toda la hoja y las estomas, los poros por donde se intercambia el CO<sub>2</sub>, el O<sub>2</sub> y el H<sub>2</sub>O con la atmósfera, permanecen abiertos durante el día (INTAGRI, 2018).

### 2.1.2 Aplicaciones biotecnológicas

Las microalgas poseen un potencial prometedor para la mitigación de problemas actuales como la contaminación de agua, la generación de energía limpia y la demanda de alimentos, entre otros (Camacho Aguilar & Flores Castillo, 2020).

Con el paso del tiempo estos microorganismos han ganado importancia en diversos campos como en la obtención de mejores alimentos, la implementación como biocatalizadores, la producción de bioenergías, el uso como bioindicadores de calidad acuática, entre muchas otras aplicaciones. Lo anterior se debe a su gran variedad en su composición química, de la que depende el valor de la especie de la microalga pues este no es un factor estable para todas, por el contrario, varía en un alto rango de tal modo que algunas especies difieran de otras en las aplicaciones que puedan destinarse (Camacho Aguilar & Flores Castillo, 2020).

Estos microorganismos presentan un alto contenido en proteínas, lípidos ricos en ácidos grasos insaturados y carbohidratos, entre otros compuestos importantes a nivel industrial (V.O, 2019).

Hoy en día incluso es posible ver la existencia de empresas direccionadas en su totalidad al desarrollo e implementación de estos microorganismos a gran escala.

### 2.1.3 Biorremediación

El agua está constituida por diferentes elementos dependiendo al ecosistema al que se encuentre y por ellos mismos a estos elementos aumentar sus concentraciones estos influyen en la calidad del agua, los cuales desequilibran la biodiversidad de este debido a la toxicidad de algunos elementos.

Las causas principales del actual deterioro del agua son los vertidos incontrolados de las aguas residuales urbanas e industriales. Sustancias altamente contaminantes, como los metales pesados entre uno de los principales desechos, puesto que al estar presentes en forma natural en la corteza terrestre pasan a ser contaminantes cuando su distribución en el ambiente se altera mediante actividades humanas (Chávez, 2011).

El agua al estar expuesta a contaminación la humanidad ha llevado a cabo la remediación del agua mediante plantas de tratamiento de aguas, las cuales estas necesitan de un monitoreo fundamental

mediante indicadores físicos, químicos o biológicos de los cuales se obtienen una propiedad de la evaluación que nos permiten tomar las medidas correspondientes para mejorar la calidad del agua.

En la actualidad los investigadores tienden a centrarse en indicadores biológicos, como las plantas, los peces y los microorganismos que se desarrollan en ese medio ya que el impacto ecológico se correlaciona con las alteraciones en el medio que están (Sui, Wang, & Zeng). De este modo una de las principales aplicaciones de las microalgas es como bioindicadores de la calidad del agua por su susceptibilidad a los cambios que el medio puede sufrir, desde un cambio de pH hasta un exceso de materia orgánica que pueda limitar la reproducción de estos microorganismos o bien causarles teratologías. (Franco León & Vásquez, 2019)

Así también el uso de las microalgas en la biorremediación de agua incluye también su capacidad depuradora, conocida como ficorremediación, donde se aprovecha la cinética de consumo de nutrientes de estos microorganismos. De igual manera se logra la eliminación de otros contaminantes como fármacos, metales pesados y se consigue una mayor detoxificación del agua residual a diferencia de las tecnologías usuales utilizadas.

El uso de microalgas, por lo tanto, ha demostrado un eficiente descenso de DBO, DQO, eliminación de metales pesados, remoción de patógenos entre otro tipo de materia orgánica, permitiendo también que las bacterias aeróbicas que ayudan a la biotransformación puedan obtener el oxígeno necesario para no morir, pues el aumento de contaminantes disminuye su población, lo que se podría denominar como un consorcio entre microalga-bacteria. Siendo esta técnica de tratamiento muy prometedora ser menos costosa que las técnicas ya usadas y con mejores resultados. (Dominguez & Garrido, 2020)

#### 2.1.4 Bioenergías

Actualmente las bioenergías han sido dependientes de los recursos renovables como lo son el sol, el aire, el agua, aceite de las plantas entre otros, siendo estos recursos de gran ayuda debido a la creciente demanda energética que requiere de nuevos modelos energéticos que cubran a los recursos fósiles como el petróleo, carbón y gas natural que actualmente son el 80% de uso de energía para el mundo.

Es por eso en donde las microalgas comprenden de un papel importante ya que la biomasa de microalgas contiene tres componentes principales: carbohidratos, proteínas y lípidos que son esenciales para la producción de biocombustibles, así como ser usados en otras áreas aplicadas a bioenergías. (Camacho Aguilar & Flores Castillo, 2020)

La biomasa de alga tiene un variado uso que va desde el desarrollo de biofertilizantes, en el área alimentaria, desarrollo de medicamentos hasta el uso para generación de biocombustibles. A pesar de que producir biocarburos a partir de microalgas directamente a gran escala estima un presupuesto costoso y limitado a la hora de la recolección de la biomasa, las microalgas representan un gran exponente como convertidores muy eficientes de energía solar. Las microalgas están presentando una fuerte competencia para los métodos clásicos de obtención de biocombustibles por medio de otras plantas comestibles pues el alcance que estas segundas tienen para una producción a gran escala es menor a las microalgas que presentan ventajas desde el hecho de su cultivo. (Hernández Perez & Labbé, 2014)

Pero sí la biomasa se obtiene indirectamente, o bien, como un producto de segundo orden permite que todas las desventajas mencionadas pasen al lado contrario, es decir, al hacer unos de las microalgas en estanques para llevar a cabo la biorremediación de aguas residuales proporciona una biomasa algal (Pittman & Dean, 2011). Por lo tanto, la alta productividad de biomasa de las microalgas que generan las aguas residuales se convierte en una gran oportunidad para la producción de biomasa ofreciéndonos un potencial real como un medio viable para generar energía sostenible.

Se clasifica en dos grupos la producción de biocombustible a partir las microalgas: la primera es por descomposición térmica de la biomasa para producir productos combustibles la cual abarca técnica aplicadas a la obtención de gas de síntesis, bioaceite, carbón vegetal y electricidad. En segundo lugar, está la conversión bioquímica que consiste en la degradación biológica de la biomasa a través de reacciones químicas y biológicas asociadas a procesos metabólicos de microorganismos, con técnicas de digestión anaerobia, fermentación alcohólica y producción fotobiológica con fines para producción de biogás, etanol e hidrógeno respectivamente (Hernández Perez & Labbé, 2014).

#### 2.1.5 Industria alimentaria

Por el increíble contenido de carbohidratos, lípidos, vitaminas, ácidos grasos, entre otros, que pueden aportar las microalgas, las aplicaciones para el desarrollo de productos de valor agregados son muy importantes, principalmente suplementos alimenticios, que puedan sustituir a otros que hoy en día por las condiciones se dificulta obtener como algunas semillas esenciales o aceites naturales que el ser humano requiere en su dieta diaria. El uso de microalgas para productos de orden alimenticio humano es realmente limitado por la seguridad alimentaria, sin embargo, ya hay productos comercializándose como snacks, polvos, tabletas, fideos, vinos, etc. con un mayor valor proteico dado por algunas especies de microalgas (Galarza, 2019).

El efecto bioactivo que han demostrado tener las microalgas en algunos estudios es un paso crucial para su uso como las dosificaciones y la toxicidad. Por ejemplo, se encontró que los géneros *Chlorella*, *Scenedesmus* y *Arthrospira* contienen un valor proteico alrededor del 50%, el cual llega a superar a algunos tipos de cereales. Hasta el momento se encontrado principalmente 4 bioactivos en las microalgas: antioxidante, antihipertensivo, hipolipemiente y antimicrobial (Camacho Aguilar & Flores Castillo, 2020).

Pero no sólo está ganando importancia en la industria alimentaria humana, sino también en el valor agregado que produce a productos para animales, principalmente en el campo de la acuicultura puesto que un estudio en 2006 por Spolaore et al., determinó que el 30% de la producción mundial de microalgas está destinada al consumo animal y, el 50% de la producción de la especie de *Arthrospira* es con este fin (Hernández Perez & Labbé, 2014).

#### 2.1.6 Pigmentos: (medicinales)

En los últimos años se han realizado diversos estudios, sobre los principios bioactivos procedentes de las microalgas, tal es el caso de los pigmentos (Deniz & Garcia-Vaquero, 2018).

Los pigmentos son una de las características más destacadas de microalgas, pues su color se ve determinado por dichos compuestos, que se distinguen entres clases: Clorofilas a, b, c (1, 2 y 3), y d

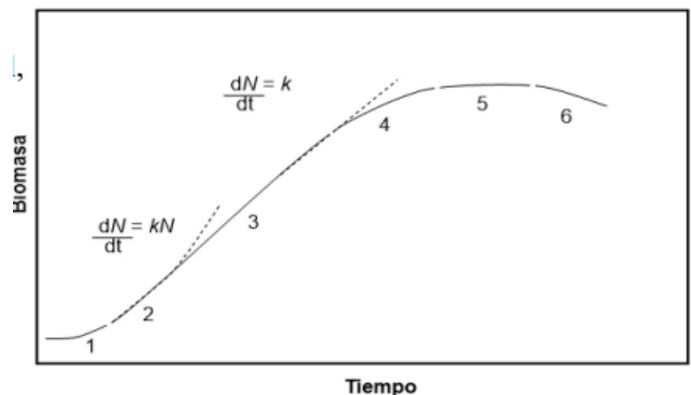
(origen bacteriano), las cuales representan 0.5 – 1.0% del peso seco, Carotenoides que representa en la mayoría de las microalgas el 0.1 – 0.2% en peso seco, existiendo algunas excepciones con el 14% de peso seco en  $\beta$ -caroteno y las ficobiliproteínas que representan hasta un 8% del peso seco (Olivia Paniagua, 2020).

Las cepas más utilizadas para la producción de pigmentos a nivel comercial deben cumplir con diversos criterios, siendo los más importantes: nula toxicidad, alto valor nutritivo, fácil manejo, paredes celulares digeribles. Las especies más utilizadas son: *Dunaliella salina*, *Haematococcus pluvialis*, *Chlorella* spp., *Muriellopsis* spp., *Scenedesmus* spp., *Arthrospira* spp., y *Porphyridium* spp (Christaki, Bonos, & Florou-Paneri, 2015).

## 2.2 Cinética de crecimiento de microalgas

La cinética de desarrollo de una población de microalgas bajo las condiciones preestablecidas de una cepa presenta las siguientes fases de desarrollo:

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 3.-** Fases de crecimiento en el cultivo de microalgas

2.2.1 Fase de adaptación o ajuste: 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. Es cuando la microalga 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.

2.2.2 Fase de crecimiento exponencial: En esta etapa las microalgas se han adaptado a las condiciones del medio en donde se han inoculado. 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

- 2.2.3 Fase de crecimiento lineal: En esta fase 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.
- 2.2.4 Fase de retardo: En esta 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.
- 2.2.5 Fase estacionaria: En la 5ta 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.
- 2.2.6 Fase de muerte: 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

Una interesante característica de esta fase 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 foto autotrófico. 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 (García Avendaño, 2019).

## 2.3 Factores físicos de crecimiento

### 2.3.1 Luz

La iluminación se divide en dos componentes: la irradiancia, la cual se refiere al flujo de luz por unidad de área a la cual están expuestas las microalgas, y el fotoperiodo, el cual es el número de horas durante el día en las que las microalgas son sometidas a dicha irradiación. Las microalgas utilizan sólo la luz en el intervalo comprendido entre 300 a 700 nm, región del espectro conocida como la radiación fotosintéticamente activa (González Céspedes, 2015).

Las algas que crecen en diversas intensidades de luz exhiben cambios notables en su composición química, contenido de pigmento y de la actividad fotosintética (Ruiz Aguilar, 2013).

En ausencia de limitación por nutrientes, la fotosíntesis se incrementa con el aumento de la intensidad lumínica, hasta alcanzar la máxima tasa de crecimiento específica para cada especie en el punto de saturación por luz. Pasado este punto, se alcanza el punto de fotoinhibición, con resultados perjudiciales para la misma célula e incluso la muerte, implicando pérdida de eficiencia fotosintética y productividad del cultivo.

### *Fotoinhibición*

Es el descenso de la capacidad fotosintética a elevadas intensidades de luz, implicando la fotodestrucción de pigmentos fotosintéticos. Las intensidades de luz muy elevadas con frecuencia son inhibitorias para el crecimiento microalgal, produciendo fotoinhibición. La fotoinhibición depende de la intensidad y calidad (longitud de onda) de la luz, así como en tiempo de exposición, siendo más pronunciada con exposiciones prolongadas a intensidades altas de luz (Ruiz Aguilar, 2013).

### *Fotoperiodo*

En condiciones normales (hábitat) las microalgas están sometidas en periodos de luz/oscuridad y esta alternativa generalmente se utiliza en su cultivo. Sin embargo, a nivel laboratorio también se mantienen a iluminación constante. Muchas especies de microalgas no crecen bien bajo iluminación constante, a pesar que el cultivo de las microalgas se desarrolla de esta forma, por lo tanto, se utiliza un ciclo luz/oscuridad.

#### 2.3.2 PH

Cada microorganismo crece en un intervalo de pH particular y normalmente existe un pH óptimo bien definido; en el caso de las microalgas el pH óptimo se encuentra apenas por encima de la neutralidad, por lo que son clasificados como microorganismos neutrófilos.

El pH del cultivo está influenciado por varios factores como la productividad algal, la respiración, la alcalinidad y composición iónica del medio de cultivo, la actividad microbiana autotrófica y heterotrófica y la eficiencia del sistema de adición de CO<sub>2</sub> (Martínez 2008, Park et al. 2011a). Como en los otros parámetros, cada especie necesita un rango determinado de pH que permita un crecimiento óptimo (Martínez 2008), siendo pH 8 el más indicado para especies dulceacuícolas (Park et al. 2011a). Por encima o debajo de éste, presentan un descenso en la productividad, que no solo afecta el crecimiento algal, sino también la capacidad de remover el nitrógeno en sistemas de tratamientos de aguas (Park et al. 2011a). El pH puede controlarse con un sistema automatizado de inyección de CO<sub>2</sub>, o incluso, con adición de ácido o base permitiendo, además, suministrar CO<sub>2</sub> necesario para cultivos de alta productividad (Berenguel et al. 2004, Martínez 2008, Sialve et al. 2009).

#### 2.3.3 Temperatura

En cuanto a la temperatura, la mayoría de las especies crecen entre 10 a 35 °C, con una temperatura óptima de 16-24 °C. En el cultivo de microalgas, y en general en el de cualquier microorganismo, hay tres temperaturas a considerar: una temperatura mínima, por debajo de la cual no es posible el crecimiento (aunque depende de cada especie y condiciones de cultivo, aproximadamente 16 °C), una temperatura óptima, entre 16 y 27 °C dependiendo de la microalga, a la que se produce el crecimiento más rápido, y una temperatura máxima, alrededor de 35 °C, por encima de la cual no es posible el crecimiento. Los cultivos de microalgas que crecen por debajo de la temperatura óptima generalmente son más sensibles a la fotoinhibición que aquellos que se mantienen en el valor ideal. La temperatura de crecimiento también afecta a la composición bioquímica de las células (González Céspedes, 2015).

### 2.3.4 Agitación

La aireación es un factor importante para la homogeneización de los nutrientes y evitar la sedimentación de las microalgas. Un adecuado mezclado favorece una distribución homogénea de las células, de los metabolitos, el calor y la transferencia de gases a través de la interfase gas-líquido. Sin embargo, una agitación excesiva puede causar un estrés hidrodinámico llevando a una disminución en la tasa de crecimiento (González Céspedes, 2015).

## 2.4 factores químicos de crecimiento

### 2.4.1 Medio de cultivo

En teoría las condiciones del cultivo deben semejarse al ambiente natural del alga; en la realidad existen diferencias significativas. La imposición de un ambiente artificial en una población celular que sobrevivió anteriormente bajo condiciones complejas y fluctuantes, 17 siguiendo un ciclo de vida estacional, causa inevitablemente un periodo de adaptación fisiológica o de selección, en el que el crecimiento de la población puede no ocurrir o es muy lento. El medio de cultivo es uno de los factores con mayor importancia para el desarrollo del microorganismo, ya que de manera fundamental este medio debe contar con los nutrientes necesarios e irlos aportando a las microalgas durante sus fases de crecimiento (Diaz Grajales & Solís Gómez, 2013).

#### Medio BG11

Para el cultivo de las microalgas *Desmodesmus Communis* se usó el Medio BG11 (Blue-Green Medium) ya que cuenta con los requerimientos principales para el crecimiento y producción de microalgas.

#	Componente	Cantidad de solución (G/L d)	Adicionar por cada litro de
1	NaNO <sub>3</sub>		1.5 g
2	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 3H <sub>2</sub> O	40	1 ml
3	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	75	1 ml
4	CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	36	1 ml
5	Acido cítrico	6	1 ml
6	citrato férrico de amonio	6	1 ml
7	MgNa <sub>2</sub> EDTA · H <sub>2</sub> O	1	1 ml
8	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	2	1 ml
9	Traza de metales		1 ml
PREPARACION DE LA SOLUCIÓN DE METALES TRAZA			
#	Metal	Adicionar por cada litro de agua	
1	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2.86 g	
2	MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	1.81 g	
3	ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.22 g	
4	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.39 g	
5	CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.08 g	
6	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.05 g	

**Tabla 1.-** Componentes y cantidades para la preparación del medio de cultivo en 1Lt de agua destilada. Ajustar pH a 7.4. Esterilizar.

#### 2.4.2 Fuente de carbono

La tasa de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> suministrado al cultivo puede convertirse en un factor limitante. Mejorando la circulación o mediante la adición adecuada de CO<sub>2</sub> o bicarbonato de sodio puede provocarse la prolongación del crecimiento exponencial de las microalgas. El CO<sub>2</sub> y el bicarbonato de sodio afectan al pH del cultivo, el cual debe ser controlado y mantenido en condiciones óptimas.

El macronutriente más importante es el carbono que constituye el 50% de la biomasa microalgal. El crecimiento microalgal está limitado por la fuente de carbono y de hidrogeno a utilizado como tal carbono orgánico e inorgánico. La fuente principal de carbono es el CO<sub>2</sub>, aunque algunas microalgas pueden utilizar compuestos orgánicos (cultivos heterotróficos y mixotróficos). El CO<sub>2</sub> es la fuente de carbono celular durante el crecimiento autotrófico característico de microalgas. En algunas microalgas es el único compuesto de carbono que pueden utilizar para el crecimiento (Kaplan & Richmond, 1986).

El CO<sub>2</sub> se suministra generalmente mezclado con aire, produciendo un burbujeo que sirve también de agitación. Las técnicas para el suministro de CO<sub>2</sub> representan un elemento importante en el cultivo a gran escala de microalgas. Se producen perdidas a la atmosfera difíciles de controlar, sobre todo en piscinas donde, debido a la poca profundidad de los recipientes las burbujas no permanecen en fase liquida durante el tiempo suficiente para que el CO<sub>2</sub> se disuelva (Becker, 1994).

El CO<sub>2</sub> es la fuente de carbono preferida por las microalgas, dado que difunde rápidamente del agua al interior de la célula y es utilizable directamente en los procesos de fijación. No todas las microalgas son capaces de utilizar el HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> en cantidad suficiente para una fuente de carbono, pues la incorporación de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> en cantidad suficiente para soportar la fotosíntesis requiere transporte activo del bicarbonato (Boney, 1989).

### 2.5 Métodos analíticos

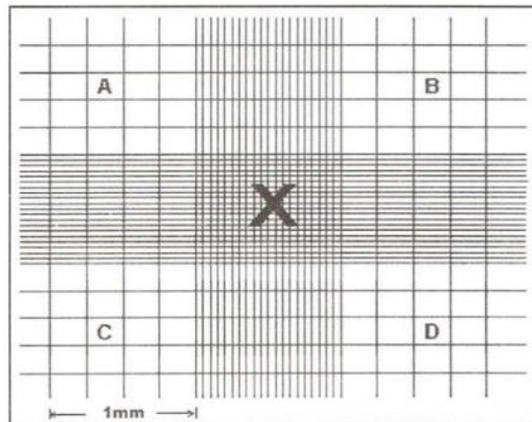
Actualmente en los laboratorios analíticos en la producción de microalgas a nivel laboratorio o a gran escala han desarrollado y mejorado diversas técnicas para la cuantificación y determinación de biomasa, lípidos y clorofila como por ejemplo el conteo en cámaras de Neubauer o determinación de peso seco con filtración.

De acuerdo a normas vigentes, las metodologías no normalizadas deben ser validadas (Resolución N.º 0008-2003/INDECOPI-CRT), por ello, la Asociación de las Comunidades Analíticas (AOAC Internacional), Eurachem, el Codex Alimentarius, Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP), ICH, ISO y otros organismos internacionales, recomiendan la implementación del método analítico evaluando los parámetros de desempeño como: veracidad, precisión, especificidad, linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, sensibilidad (Flores Ramos & Ruiz Soto, 2017).

### 2.5.1 Determinación de biomasa

#### *Conteo de células en cámara de Neubauer*

Hematocitómetro de 0.1mm de profundidad con reglilla de Neubauer es una cámara de recuento de células utilizada en los laboratorios la cual consta con 9 cuadros de 1mm por lado, el cual cada uno corresponde a un volumen de 0.1µL. Los cuatro extremos están subdivididos en 16 cuadros pequeños. El cuadro central contiene 25 cuadros, cada uno con un área de 0.04mm<sup>2</sup>, a su vez divididos en 16 cuadros más pequeños.



**Figura 4.-** Cámara de Neubauer

Se hace un triplicado de la muestra a contar en el microscopio, se contarán todas las células presentes dentro de los 16 cuadros dentro del cuadro de 1 mm<sup>2</sup> de área, los cuales están marcados como A, B, C y D, al finalizar el conteo la concentración celular se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$C = N * 10^4 * \text{fdilución}$$

En donde:

C = cel/mL

N = Promedio de células presentes en 1 mm<sup>2</sup>

fdilución = Factor de dilución (En el caso en el cual sea necesario diluir la muestra por un exceso de células, si se usó 1ml de muestra y 9 ml de agua sin células, el volumen total es 10ml por lo cual el factor de dilución es 10. Dilución definida como uno en 10 => "1:10")

10<sup>4</sup> = factor de conversión de 0.1 µL a 1 ml

Puede observar el diagrama de procedimiento figura 21 en la parte del anexo.

## Peso seco

El peso seco (contenido de sólidos) de las células que se encuentran en una suspensión se obtiene por el secado de un volumen en un horno a 80°C hasta peso constante. Esta técnica es útil para grandes volúmenes de muestra, debido a que diferencias del orden de los miligramos representan el peso de un gran número de células. La desventaja de este método es que componentes volátiles de la célula pueden perderse por el secado y puede existir alguna degradación. También la muestra seca puede recobrar humedad durante el pesado, principalmente si el ambiente tiene una humedad relativa alta.

La metodología se lleva a cabo mediante el secado de papel filtro llevándolo a peso constante en un horno a una temperatura de 80°C, el cual es llevado a un embudo Buchner el cual está sentado en un matraz Kitasato el cual está montado en una bomba de vacío para hacer la filtración al vacío correspondiente, la bomba debe trabajar a una presión de 50 mmHg. Las muestras se colocan en el embudo Buchner y se procedió con la filtración para al final de esta, llevar el papel filtro al horno durante 24 horas para el cálculo del nuevo peso del papel filtro con las células.

Puede observar el diagrama de procedimiento figura 22 en la parte del anexo.

### 2.5.2 Determinación de clorofila a y b

Las clorofilas son solubles en solventes orgánicos y existen varios tipos de ellas, destacando dos en particular: clorofilas "a" y "b".

La diferencia entre las clorofilas a y b viene determinada porque cada una de estas clorofilas tiene su función respecto a una longitud de onda diferente, esto quiere decir el color de la luz sobre la que actúan. La clorofila "a" cumple su función en los espectros más lejanos (nos referiríamos a las luces rojas y violetas, siendo los espectros más alejados entre sí), mientras que la clorofila "b" cumple su función dentro de los espectros más centrales (azules y rojo/naranja).

Para su extracción y cuantificación se suelen utilizar tres métodos: espectrofotométrico, fluorométrico y por cromatografía líquida (*High-performance liquid chromatographic*) aunque en nuestro caso vamos a utilizar la espectrofotometría UV-visible. El motivo de emplear el sistema UV-Vis es que nos permite agilizar el proceso de análisis y tiene una elevada eficacia en su medición.

Se trata de una técnica analítica que nos permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Su metodología se centra en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración.

Para calcular la concentración de clorofilas se utilizan las siguientes ecuaciones: Algas verdes que contienen clorofilas a y b, y se usó metanol como disolvente.

Las longitudes de onda a la que las muestras fueron expuestas en el espectro fueron 666 y 653 nm.

Clorofila a = 11.93A666 – 1.93A653

Clorofila b = 20.36A653 – 5.50A666

Puede observar el diagrama de procedimiento figura 23 en la parte del anexo.

### 2.5.3 Viabilidad celular

El concepto de viabilidad celular hace referencia a la cantidad de células sanas en una población y puede evaluarse utilizando ensayos que permitan determinar la actividad enzimática, la integridad de la membrana celular y la producción de ATP, entre otros indicadores. Estos métodos pueden utilizar lecturas de luminiscencia, fluorescencia o colorimetría como indicadores de la viabilidad celular general o incluso de vías celulares específicas.

Para llevar a cabo la técnica de viabilidad se preparó tampón fosfato salino (PBS) y FDA. Como primera instancia se toma una muestra de 1 mL el cual se deposita en tubos eppendorf, luego estos tubos se centrifugan a 12,000 rpm durante 1 minuto. Se retira el sobrenadante y se lava el sedimento con PBS (200 µL)

Puede observar el diagrama de procedimiento figura 24 en la parte del anexo.

## 2.6 *Desmodesmus communis*

Se encontraron cenobios de 2 y 4 células, de arreglo lineal, con células tipo elongadas, en el caso de las células internas tenían ápices redondeados, mientras que las células terminales de los cenobios son de ápice levemente curvado y poseen espinas largas, las células carecen de costillas, contienen un cloroplasto de tipo parietal, con un pirenoide cubierto de almidón, las paredes de las células son lisas. Los ejemplares identificados presentaron las siguientes dimensiones: 13.2, 13.86, 15.18 y 16.5 µm de largo, y 4.62, 5.28 y 5.94 µm de ancho, espinas: 12.54, 13.20 y 13.86 µm de largo (Olivia Paniagua, 2020).

### 2.6.1 Taxonomía

Domino: Eukaryota

División: Chlorophyta

Clase: Chlorophyceae

Orden: Sphaeropleales

Familia: Scenedesmaceae

Subfamilia: Desmodesmoideae

Género: *Desmodesmus*

Especie: *communis*



**Figura. 5.-** Taxonomía de *Desmodesmus Communis*

### 2.6.2 Información morfológica

Organismos coloniales formado generalmente por 2, 4 y 8 células, que incluso llegan a alcanzar hasta las 32 células. Organizados linealmente o ligeramente en zigzag, teniendo sus ejes más largos paralelos entre cada célula. Las células de la *Desmodesmus Communis* tiene formas diferentes como lo son elipsoides, ovoides o lunadas. La pared celular de esta microalga tiende a ser lisa en la mayoría de sus especies, aunque también se han notado algunas con diminutas verrugas. Contiene un cloroplasto por célula ubicado parietalmente y un pirenoide ubicado más o menos en el centro de cada célula.

### 2.6.3 Información ecológica

La *Desmodesmus Communis* son de las algas verdes más comunes entre todos sus géneros. Se encuentra en cuerpos de agua oligotrófico, y eutróficos, siendo la segunda la condición donde su crecimiento es mayor. Así mismo, son de las primeras microalgas en colonizar un ambiente acuático, por lo que cualquier cuerpo de agua presenta más de una especie de este género.

## 2.7 Cultivo de microalgas

Es importante conocer las condiciones óptimas y los límites de tolerancia de una microalga para todos o el mayor número de parámetros, tanto individualmente como para el conjunto de todos ellos. En el cultivo masivo de microalgas el rendimiento alcanzado depende tanto de la concentración de células en el cultivo como del grado en que las células pueden desarrollar su potencial de crecimiento. Son varios los factores que afectan a la producción de microalgas. Para su desarrollo requieren de CO<sub>2</sub>, nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio y otros nutrientes menores como metales, los cuales son esenciales porque actúan como cofactor de enzimas esenciales del metabolismo de las microalgas (González Céspedes, 2015).

Existen diversos factores que afectan el crecimiento y cultivo de las microalgas. Los factores se pueden clasificar de acuerdo a los siguientes criterios:

- La biología de la especie a cultivar.

- Forma de cultivo.
- Requerimientos lumínicos, de nutrientes, y resistencia al estrés.
- Relación de la superficie iluminada, volumen del reactor que determina la velocidad de crecimiento seguramente.
- Orientación e inclinación.
- Regulación de temperatura y PH.
- Tipo de sistema de mezcla o turbulencia (dispersión de gases)
- Sistema de limpieza y mantenimiento de las partes.
- Material de construcción en cuanto a su transparencia y durabilidad.
- Capacidad de escalado.

De acuerdo a las citadas categorías, se puede determinar el diseño o selección de un sistema de cultivo eficiente, a gran escala y de bajo costo en cuanto a su construcción y operación. La elección del sistema de cultivo es una muy importante y compleja decisión que debe realizarse en base a factores biológicos, técnicos, ambientales y económicos, definidos previamente, considerando el tipo y valor agregado del producto final a obtener a partir de la biomasa de las microalgas, ya que existe una amplia gama de productos biotecnológicos con usos en la industria alimenticia, salud y medicina humana, alimentación animal, compuestos orgánicos y biocombustibles. Todo esto adquiere una gran importancia debido a los problemas ambientales globales existentes en la actualidad (Montesinos Gonzales, Cid de Leon, & Aguilar Cruz, 2017).

## 2.8 Fotobiorreactores

Los fotobiorreactores (FBRs) son dispositivos destinados al cultivo masivo de microalgas. Para ello, tienen que mantener un medio estable (temperatura, pH, baja concentración de O<sub>2</sub>) y proporcionar los nutrientes necesarios para el crecimiento incluyendo la luz. Existen dos filosofías de diseño opuestas. Los reactores abiertos priman la economía aceptando un control pobre del entorno mientras que los FBR cerrados consiguen unas condiciones estrechamente controladas que permiten a las microalgas crecer a una velocidad óptima a cambio de un mayor coste. Una de las clasificaciones más comunes se base en separar los FBRs en abiertos y cerrados: los FBR abiertos son tipo inclinado, circular y circuito, que son agitados mediante paletas; Los sistemas cerrados pueden ser tubulares, tanque agitado, columna vertical y panel; agitados neumáticamente. El FBR

de panel es utilizado principalmente por su relación área/volumen que maximiza el aprovechamiento de la luz.

### 2.8.1 Fotobiorreactores abiertos

En los fotobiorreactores abiertos el cultivo está en contacto con la atmósfera. Son instalaciones que intentan compensar con un bajo coste una baja productividad debida a un control poco estricto o inexistente de condiciones como el pH o la temperatura. Al estar abiertos son susceptibles a la invasión por otros microorganismos incluyendo microalgas, por lo que son especialmente adecuados para especies robustas y de rápido crecimiento.

Sin embargo, pese a estos inconvenientes, la mayoría de las microalgas producidas en el mundo provienen de este tipo de sistemas. Su gran ventaja es que es fácil y económico construirlos en grandes volúmenes incluso de cientos de metros cúbicos (Fernandez Sevilla, 2014).



**Figura. 6.-** Tipos de fotobiorreactores abiertos. A) Open ponds. B) Raceways

### 2.8.2 Fotobiorreactores cerrados

Los fotobiorreactores cerrados se denominan así porque mantienen al cultivo totalmente aislado del medio ambiente exterior. Típicamente están equipados con sistemas de agitación, aireación, control del pH, intercambio del calor, adición de medio y CO<sub>2</sub>. Los fotobiorreactores cerrados son dispositivos muy especializados, a menudo diseñados específicamente para una especie concreta.

Los fotobiorreactores tubulares, además, tienen partes separadas para la captación de la luz y para la desgasificación, por lo que permiten optimizar ambas funciones a cambio de un coste mayor que puede ser compensado por una mayor productividad (Fernandez Sevilla, 2014).



**Figura. 7.-** Tipos de fotobiorreactores cerrados

### 2.8.3 Diseño de fotobiorreactores (CFD)

La construcción de FBR debe emplear materiales de alta transparencia como vidrio, acrílico o polietileno y debe tener una configuración que permita una buena distribución de la luz. El diseño de los FBR emplea parámetros como la producción y productividad de biomasa, el área iluminada, la relación entre el área iluminada y el volumen del reactor, el paso de luz, etc. (Martinez Roldán & Gomez Lozano, 2020).

Los recientes desarrollos de softwares de Mecánica de Fluidos Computacional (CFD, por sus siglas en inglés “Computational Fluid Dynamics”) cuentan con modelos de ecuaciones de transporte (masa, energía y momentum), de viscosidad (ley de potencias, ley de potencias cruzada, etc.), turbulencia ( $\kappa - \varepsilon$ ,  $\kappa - \omega$ ) y multifásicos (Euleriano, Lagrangiano, elementos discretos), que acoplándolos de la mejor manera brindan un resultado coherente con respecto a la realidad del sistema (Yang, 2004).

El modelado mediante CFD tiene varias ventajas comparado con técnicas experimentales pues permite un entendimiento total de la geometría y del fenómeno analizado, además, gracias a la cantidad de modelos y configuraciones posibles, se puede tener un gran número de condiciones de operación a analizar sin tener que llevar a cabo un experimento piloto del sistema (D, 2012).

Sin embargo, la discretización de la geometría y la implementación de métodos numéricos, introducen errores en los resultados obtenidos que de no ser analizados con cuidado pueden llevar a conclusiones erróneas. Dichas fallas pueden ser reducidas al aumentar el tiempo computacional. Es por esto que se debe llegar a un equilibrio entre las suposiciones realizadas y el detalle requerido del sistema (Blake, 2001).

### 2.8.4 Hidrodinámica en reactores

Es la parte de la hidráulica que estudia el comportamiento de los líquidos en movimiento. Para ello considera entre otras cosas la velocidad, la presión, el flujo y el gasto del líquido.

En el estudio de la hidrodinámica, el teorema de Bernoulli, que trata de la ley de la conservación de la energía, es de primordial importancia, pues señala que la suma de las energías cinética, potencial

y de presión de un líquido en movimiento en un punto determinado es igual a la de otro punto cualquiera.

La hidrodinámica investiga fundamentalmente a los fluidos incompresibles, es decir, a los líquidos, pues su densidad prácticamente no varía cuando cambia la presión ejercida sobre ellos. Cuando un fluido se encuentra en movimiento una capa se resiste al movimiento de otra capa que se encuentra paralela y adyacente a ella; a esta resistencia se le llama viscosidad.

Se aplica en el diseño y construcción de presas, canales, acueductos, cascos de barcos, aviones, turbinas, reactores, entre otras aplicaciones (Del Angel Hernandez, 2014).

## 2.9 Mezclado en fotobiorreactores

El mezclado favorece el intercambio gaseoso, evita la sedimentación de células, la formación de gradientes de condiciones ambientales y de concentración de nutrientes, pero su función principal es permitir que todas las células puedan acceder a las zonas iluminadas en un fotobiorreactor. El mezclado puede inducirse de muy diversas formas; sin embargo, los sistemas basados en la aireación del cultivo con aire comprimido (columnas burbujeadas o *airlift*), se usan comúnmente por su sencillez y porque pueden diseñarse para inducir un esfuerzo de corte pequeño que no cause daño mecánico a las células (Flores, y otros, 2003).

En un mismo fotobiorreactor es posible establecer diferentes condiciones de mezclado para manipular el régimen de iluminación y así la tasa de fotosíntesis.

El mezclado de un cultivo permite una utilización óptima de la luz y un "mejor régimen de iluminación", sin embargo, puede también causar daño a las células. La fragilidad celular es con frecuencia un factor que limita la intensidad de mezclado que puede aplicarse a un cultivo. En virtud de que la fragilidad celular y las características fotosintéticas entre otros factores pueden variar de cepa a cepa, los niveles óptimos de mezclado dependerán de cada especie cultivada (Flores, y otros, 2003).

La agitación es un factor que afecta la disponibilidad de nutrientes hecho que influye en un nivel de producción más elevado; en tanto que afecta la cantidad de luz que recibe cada microalga mientras se dispersan al interior del FBR ya que, evita que las células se asienten e incide en la distribución homogénea de los nutrientes al proporcionar un suministro adecuado de CO<sub>2</sub> a través de la interface cultivo-burbuja y así mismo la eliminación de O<sub>2</sub> al generar turbulencia en el medio (Doncel Nuñez & Moreno Saboya, 2017).

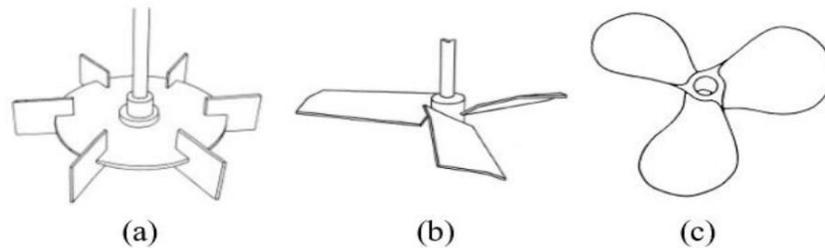
### 2.9.1 Agitación mecánica

Este tipo de agitación no es necesario para el trabajo con soluciones homogéneas; normalmente es el método escogido para aquellas reacciones donde se forma un precipitado y puede haber procesos de adsorción, o bien cuando las reacciones son exotérmicas y el calor generado puede afectar localmente la naturaleza de los productos de reacción. En estos casos es preciso agitar de forma continuada y preferentemente con una agitación mecánica, por esto se hace uso de un motor giratorio. Cabe señalar que cuando se trabaja con grandes cantidades de material, la agitación mecánica es más fácil y efectiva.

Dispositivos de agitación mecánica:

- Hélices
- Turbinas

Dispositivos que agitan el interior del FBR girado por motores. Cualquiera que sea su forma y diámetro, la agitación corresponde a un tercio del cilindro siendo en su caso un FBR. Las turbinas son eficaces para homogeneizar el medio, pero entre sus desventajas se encuentra la formación de incrustaciones en las paredes (Doncel Nuñez & Moreno Saboya, 2017).



**Figura 8.** Diferentes tipos de móviles de agitación mecánica. a) Turbina; b) Hélices planas; c) hélices redondeadas (Doncel Nuñez & Moreno Saboya, 2017).

### 2.9.2 Agitación neumática

Tipo de agitación de biorreactor por medio de la inyección de gas, preferidos mayormente que los agitadores mecánicos sobre todo en las nuevas aplicaciones de la biotecnología industrial, relacionadas con materiales frágiles como las células animales y vegetales.

La principal ventaja del uso de estos biorreactores con agitación neumática es que existe un riesgo de contaminación muy bajo debido a que se tiene un sellado hermético y su orientación vertical facilita su limpieza y esterilización. Además de que este tipo de reactores bajan los costos por suministro de energía ya que cumple con dos funciones, las de aireación y agitación.

Tipos de agitación neumática:

- **Columna de burbujeo:** Es el equipo de contacto gas-liquido más sencillo que podemos encontrar en la figura 3b, consiste en un tubo largo con una boquilla de entrada de gas en el fondo, pueden contener platos perforados para la redistribución de la fase gaseosa.
- **Reactores de corriente:** En este tipo encontramos todos aquellos que poseen lazos internos de recirculación
- **Reactores de corriente con impulsor:** Son aquellos en que el movimiento se produce por el uso de un impulsor que genera un lazo interno de recirculación
- **Airlift:** En esta categoría se incluyen las columnas de burbujeo que conllevan recirculación, producida mediante el movimiento del fluido en el reactor de la fase gaseosa dispersa. La circulación se lleva a cabo mediante un modelo cíclico definido a través de un conducto que divide el reactor en zonas: una con un flujo ascendente y otra con el flujo descendente. La

zona de difusión de gas del aro, tiene mayor retención de gas que la zona relativamente libre de gas, donde el flujo es descendente (Calderon Yepez, 2013).

- **Reactores jet-loop:** Tipo de reactor que utiliza una bomba para la recirculación del medio, utilizados incluso en lechos empacados centrífugos o los Gas-lift en el cual se tienen dos tubos verticales con un separador superior. En este tipo de reactores con agitación neumática la inyección de gas puede hacerse externo al tanque al mezclarse con el líquido recirculado. Estas configuraciones de agitación neumática presentan un buen mezclado y evitan la aparición de volúmenes muertos (Calderon Yepez, 2013).

### 3. PROCEDIMIENTO

#### 3.1 Diseño del fotobiorreactor de panel con agitación mecánica mediante CFD

El diseño del FBR de panel se basó en algunas de las características mencionadas por Martínez y colaboradores en 2020, quienes señalan que la concentración final típica de un proceso de producción de biomasa a escala laboratorio es de aproximadamente  $1 \text{ g L}^{-1}$ , una productividad de biomasa de alrededor de  $120 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  y que los valores de la relación Área/Volumen para este tipo de configuración deben ser de 20 a  $100 \text{ d}^{-1}$  (Martinez Roldán & Gomez Lozano, 2020).

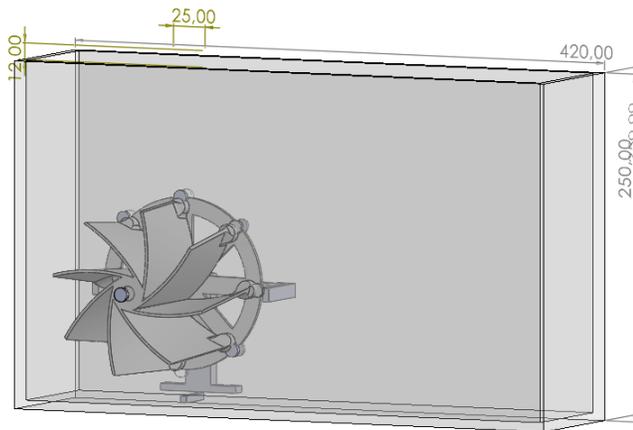
Parámetros de referencia empleados para el dimensionamiento del prototipo		
Parámetro	Valor	Unidades
Productividad	120	$\text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$
Producción global de biomasa	14	g
Relación área volumen	40	$\text{m}^{-1}$
Espesor del vidrio	6	mm

**Tabla 2.** Parámetros de referencia empleados para el dimensionamiento del prototipo. (Martinez Roldán & Gomez Lozano, 2020)

Basándose en el anterior antecedente se establecieron algunas de las dimensiones del fotobiorreactor, considerando el diseño típico de un FBR de panel, con algunas modificaciones que se describen en la sección 4.1 de resultados.

#### 3.2 Modelado del FBR

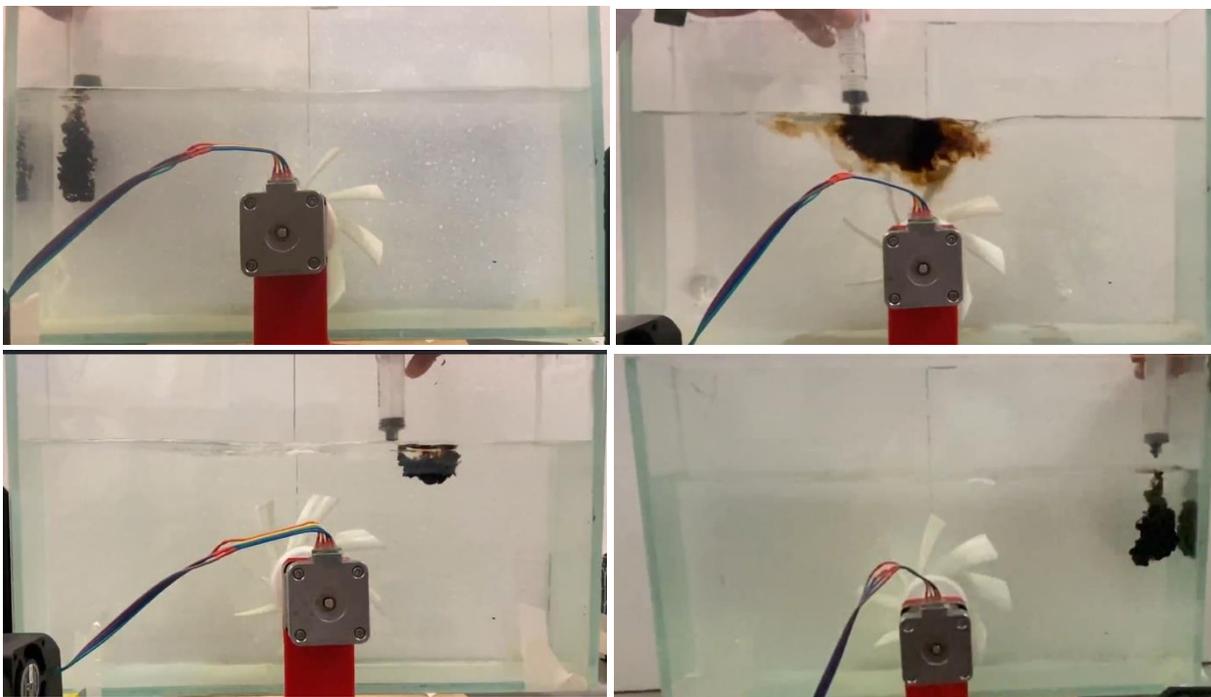
Para el modelado del FBR a utilizar en el ITTG se utilizaron herramientas computacionales de diseño, realizando el renderizado del FBR, en el que se obtuvieron 2 prototipos con sus diferentes modificaciones, en la figura 9 se presenta el diseño construido en ANSYS del prototipo 1. El prototipo final con las medidas se presenta en resultados.



**Figura 9.-** Diseño del fotobiorreactor prototipo 1

### 3.3 Evaluación del tiempo de mezcla

En ANSYS 2021 R2 se simuló el  $t_m$  del trazador, introduciendo el coeficiente de difusión, la ubicación, el volumen y velocidad de inyección. Se seleccionaron 12 puntos y se evaluaron por triplicado como lo ilustra la figura 10.



**Figura 10.-** Puntos de evaluación de inyección del trazador

### 3.4 Cultivo de *Desmodesmus communis* en fotobiorreactor

#### *Inoculación*

El inoculo se prepara 7 días antes del cultivo en fotobiorreactor, se realizó conteo por triplicado y se procuró una concentración de  $7 \times 10^6$  cel/mL. Se mantuvo en las siguientes condiciones.

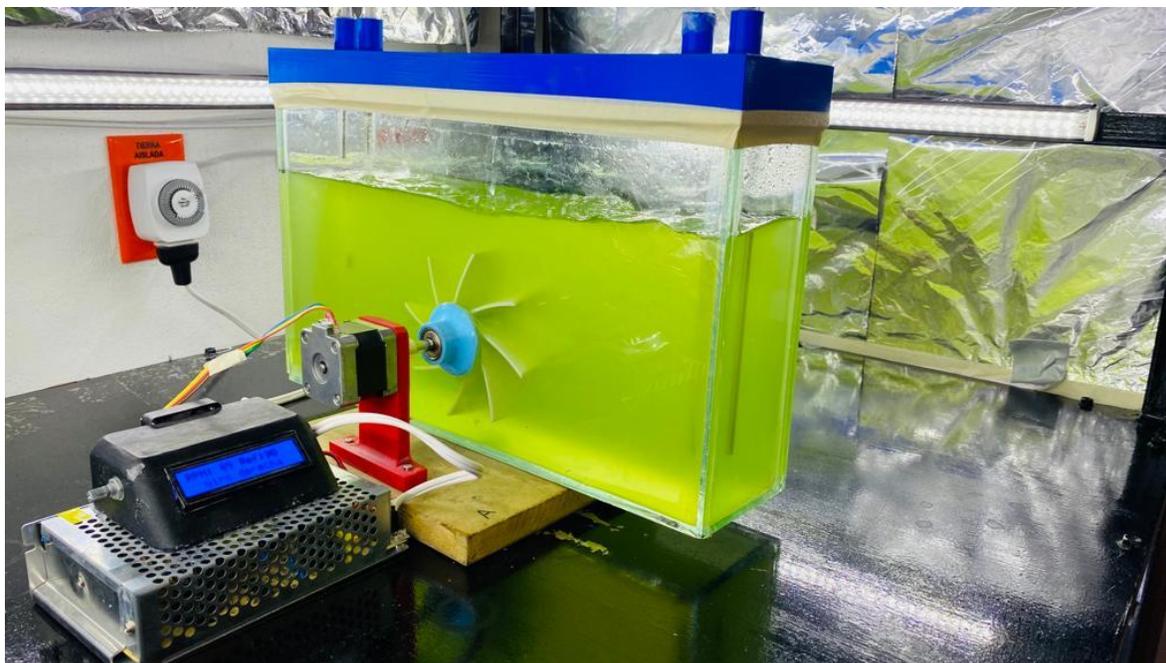
Condiciones de cultivo del Inoculo	
Intensidad luminosa	$53.8 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$
Temperatura	$25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$
pH	7.4
Fotoperiodo	12:12
Concentración celular	$7 \times 10^5$ cel/ml $t=0$
Medio de cultivo	Medio BG-11

**Tabla 3.-** Condiciones de cultivo del inoculo



**Figura 11.-** Preparación y acondicionamiento del inoculo

El inoculo representa el 10% del volumen total en el fotobiorreactor, el FBR inoculado se ilustra en la figura 12.



**Figura 12.-** Fotobiorreactor inoculado

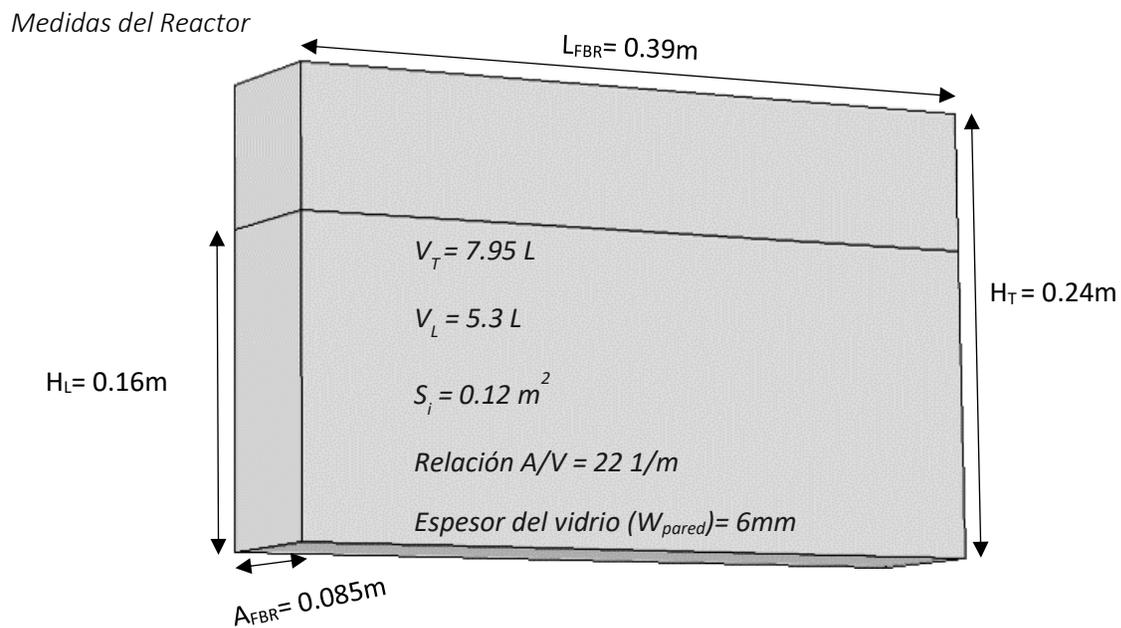
El cultivo de *Desmodesmus communis* se llevó a cabo en el fotobiorreactor evaluando velocidades de agitación de 0 y 60 RPM, con una concentración inicial en el tiempo cero de  $7 \times 10^5$  cel/mL en medio de cultivo BG11, a  $25 \pm 1^\circ$  C, fotoperiodo 12:12, intensidad luminosa de  $53.8 \mu \text{ mol/m}^2\text{s}$  a un pH inicial de 7.4 dentro del laboratorio 7 del polo tecnológico, los resultados de las determinaciones y el análisis estadístico se presenta en la sección de resultados.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Dimensiones del fotobiorreactor

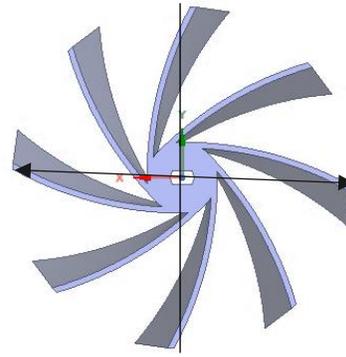
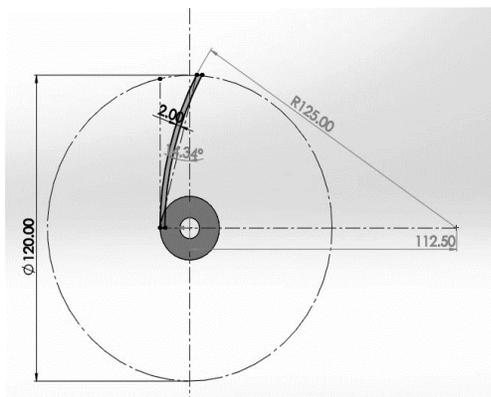
Las dimensiones establecidas del fotobiorreactor se basaron en un modelo de practicidad para poder remover el agitador con facilidad, de esta manera evaluar diferentes agitadores y la viabilidad en las células provocado por el esfuerzo cortante.

En la figura 13 se presenta las dimensiones del fotobiorreactor, el cual se construyó con las dimensiones largo del FBR ( $L_{FBR}$ ) 0.39m x altura total del FBR ( $H_T$ ) 0.24m x Ancho del FBR ( $A_{FBR}$ ) 0.085m, el volumen total ( $V_T$ ) es 7.95L operando con un volumen de manera óptima ( $V_L$ ) de 5.3L, siendo el total de la superficie ilumina ( $S_i$ ) de 0.12m<sup>2</sup>, con una relación Área/volumen ( $A/V$ ) de 22 m<sup>-1</sup> y con un espesor del vidrio ( $W_{pared}$ ) de 6mm.



**Figura 13.-** Dimensiones finales del fotobiorreactor

Para la agitación del FBR se utilizó un agitador de tipo hélice con 8 aspas curvas, con un diámetro de agitación ( $D_i$ ) de 0.12m y un espesor de cada aspa ( $W_i$ ) de 0.08m, como se muestra en la figura 14.



8 aspas

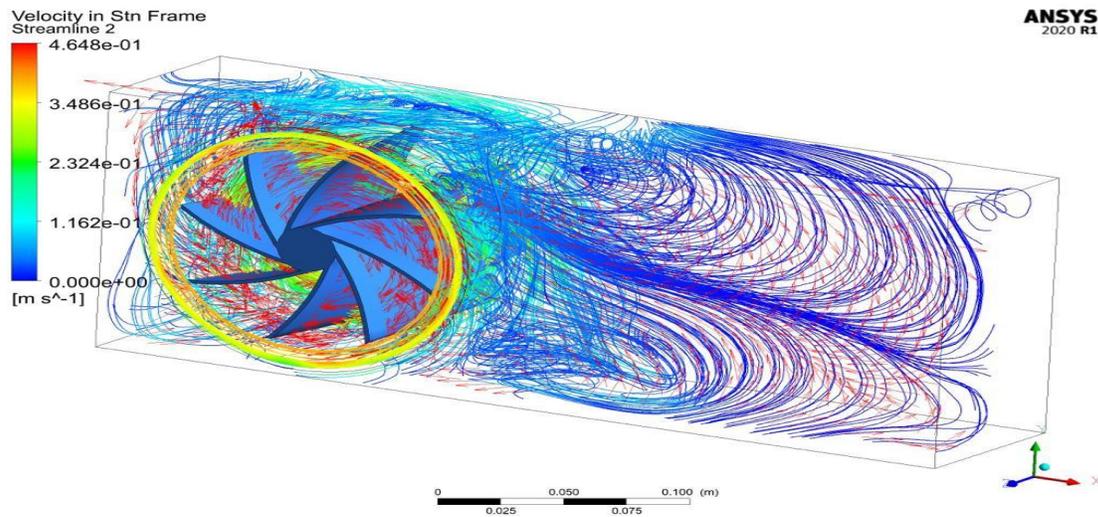
$D_i = 0.12 \text{ m}$

$W_i = 0.08 \text{ m}$

**Figura 14.** Dimensiones y curvatura del agitador de hélice

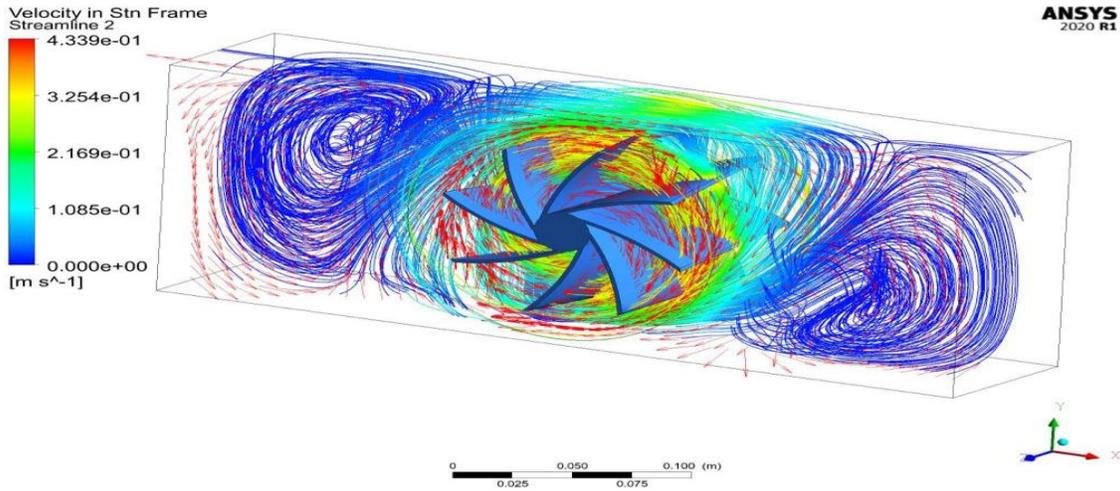
## 4.2 Modelado del fotobiorreactor

Para poder construir el fotobiorreactor se realizaron simulaciones hidrodinámicas en CFD, modelando el fotobiorreactor y sus dimensiones en el programa ANSYS, introduciendo la velocidad de agitación, el tipo de impulsor y la ubicación el FBR, obteniendo las imágenes 15 y 16.



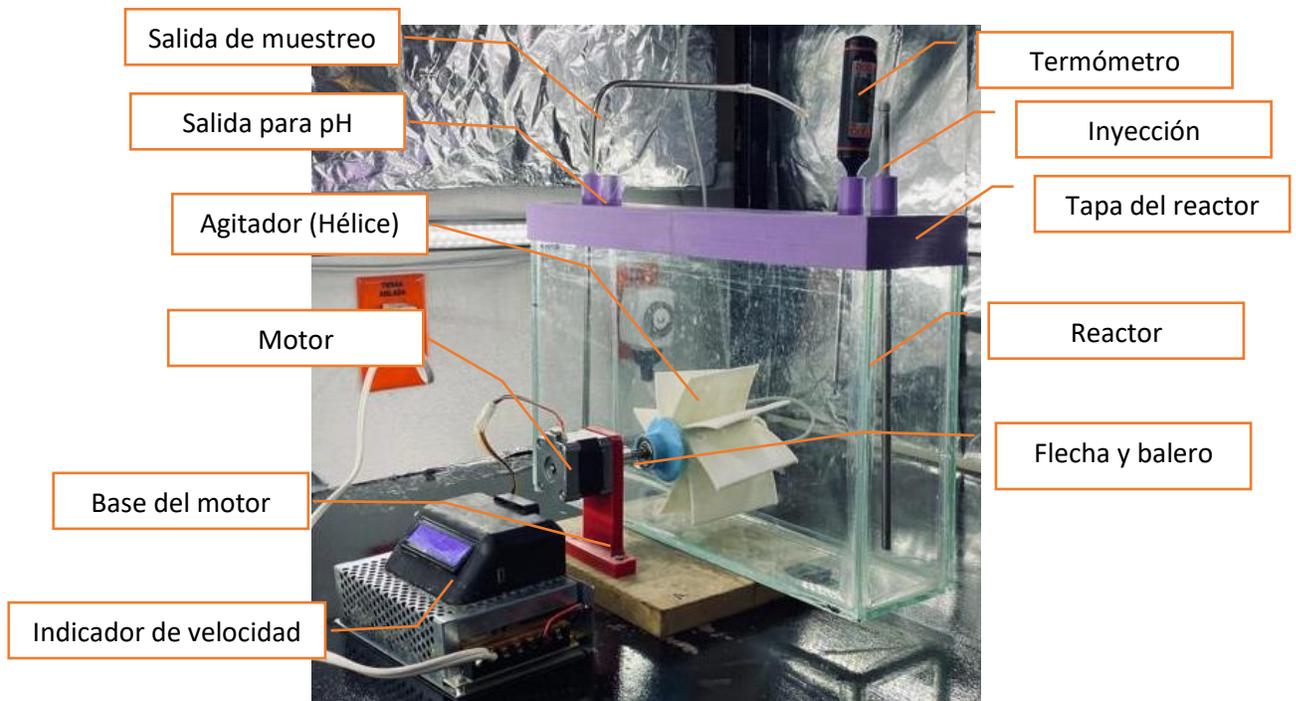
**Figura 15.-** Simulación hidrodinámica del FBR con agitador lateral

La figura 15 describe los vectores de velocidad del fluido dentro del fotobiorreactor, cuando el agitador se encuentra ubicado hacia un costado del FBR, las líneas de corriente que se observan en la parte inferior derecha de la figura (señaladas con un círculo rojo) demostrarían zonas de sedimentación en el prototipo 1, de esta manera se realizaron modificaciones en el diseño y posterior la simulación que se muestra a continuación.



**Figura 16.-** Simulación hidrodinámica del FBR con agitador central

En la figura 16 se estableció una ubicación diferente del agitador, las líneas de corriente en el fotobiorreactor final indicaban que no existirían zonas de sedimentación con dichas características por ello se procedió a la construcción obteniendo el resultado final que se ilustra y describe por partes en la figura 17.



**Figura 17.-** Partes del FBR

### 4.3 Determinación del tiempo de mezclado

Se determino el tiempo de mezclado realizando la inyección de un trazador en 12 puntos distintos del fotobiorreactor, cada punto por triplicado. Siendo el  $t_m 6.16 \pm 1.11$  s a 60 RPM. Y 25°C.

	Tiempo de Inyección	
	Prueba 1	Prueba 2
Punto 1	45 miliseg	46 miliseg
Punto 2	55 miliseg	53 miliseg
Punto 3	50 miliseg	48 miliseg
Punto 4	53 miliseg	44 miliseg
Punto 5	46 miliseg	42 miliseg
Punto 6	40 miliseg	41 miliseg
Punto 7	43 miliseg	39 miliseg
Punto 8	38 miliseg	42 miliseg
Punto 9	43 miliseg	39 miliseg
Punto 10	40 miliseg	42 miliseg
Punto 11	38 miliseg	41 miliseg
Punto 12	41 miliseg	43 miliseg

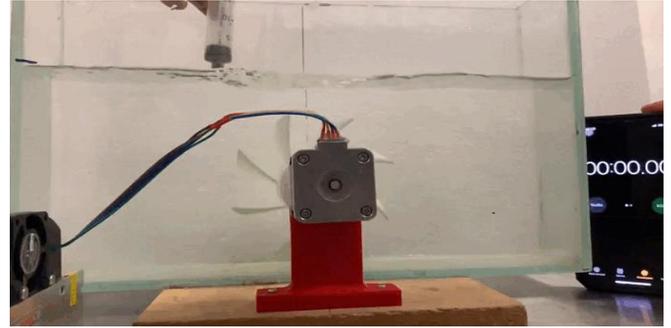


Figura 18.- Toma de tiempo de inyección del trazador

Tabla 4.- Tiempo de inyección del trazador

	Tiempo de dilución en reactor	
	Prueba 1	Prueba 2
Punto 1	7 seg 44 miliseg	7 seg 60 miliseg
Punto 2	7seg 40 miliseg	7 seg 82 miliseg
Punto 3	7 seg 57 miliseg	7 seg 67 miliseg
Punto 4	6 seg 57 miliseg	6 seg 35 miliseg
Punto 5	6 seg 40 miliseg	6 seg 54 miliseg
Punto 6	6 seg 04 miliseg	6 seg 40 miliseg
Punto 7	5 seg 48 miliseg	6 seg 20 miliseg
Punto 8	5 seg 50 miliseg	5 seg 9 miliseg
Punto 9	5 seg 55 miliseg	7 seg 30 miliseg
Punto 10	5 seg 66 miliseg	4 seg 95 miliseg
Punto 11	3 seg 98 miliseg	4 seg 15 miliseg
Punto 12	4 seg 98 miliseg	4 seg 58 miliseg

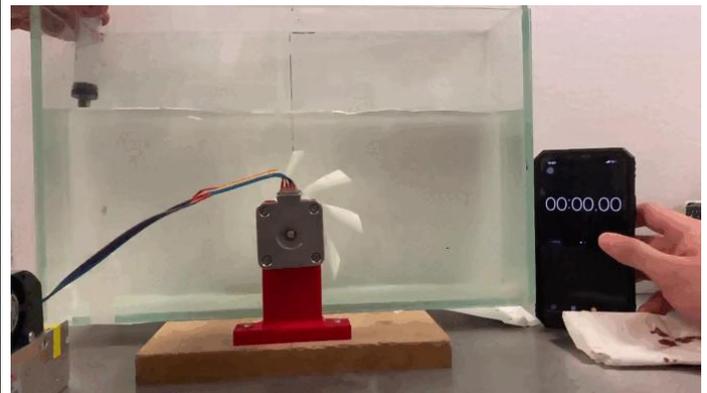
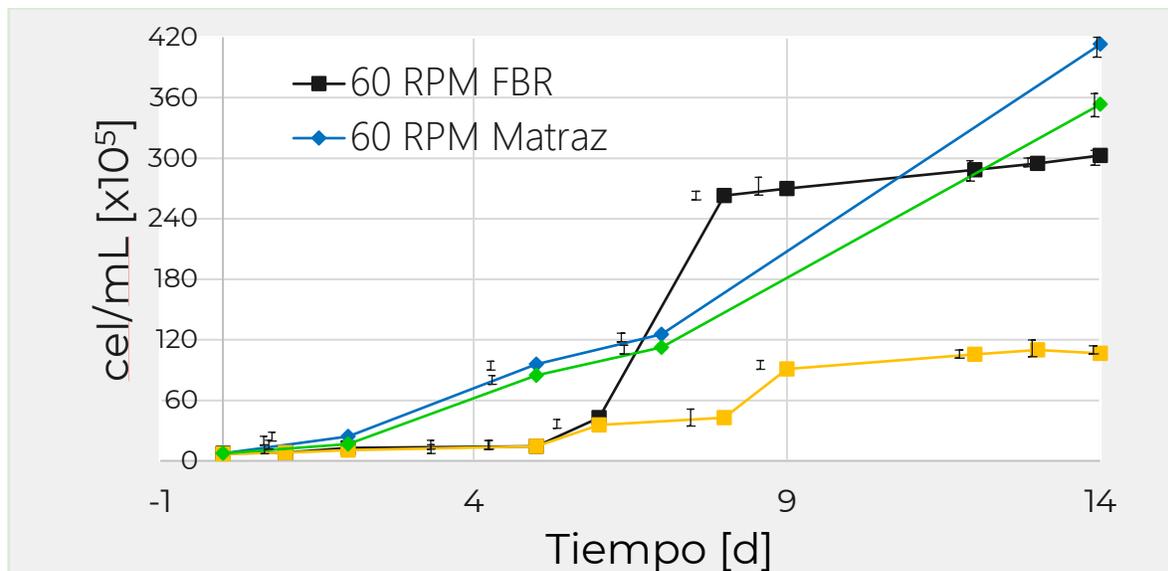


Figura 19.- Toma de tiempo de dilución en el reactor

Tabla 5.- Tiempo de dilución del trazador en el reactor

#### 4.4 Cultivo de *Desmodesmus communis* en fotobiorreactor

La figura 20 presenta las curvas de crecimiento de *Desmodesmus communis* en fotobiorreactor de panel comparado con las obtenidas en un sistema en matraz en un trabajo previo en el laboratorio 7 del polo tecnológico.



**Figura 20.** Concentración celular de *Desmodesmus communis* en FBR de panel con agitación mecánica y en matraces con agitación orbital.

La concentración máxima de cel/mL se obtuvo en el cultivo en matraces Erlenmeyer a 60 RPM sin embargo a continuación se presenta la tabla 6 que compara la productividad en FBR y en matraz.

Tabla 6. Productividad de los tratamientos en fotobiorreactor y matraz

Factores	Tratamiento			
	T1 FBR	T2 FBR	T1	T3
Agitación RPM	0	60	0	60
Productividad máxima cel/mL • d x10 <sup>4</sup>	111.36±10.82 <sup>d</sup>	328.33±8.17 <sup>a</sup>	256.31±7.66 <sup>c</sup>	291.93±2.66 <sup>b</sup>
Día	9	8	14	14

La tabla 6 nos representa la productividad máxima de cel/mL tanto en FBR como a nivel matraz, teniendo en cuenta ambos tratamientos con las mismas velocidades de 0 RPM y 60 RPM, así podemos identificar como la velocidad optimiza el crecimiento de las células de *Desmodesmus communis*, tomando en cuenta que el muestro en el tratamiento en FBR se tomó 6 días antes, demostrándonos un gran potencial para el crecimiento en el FBR.

Tablas 7. Células viables, biomasa y clorofila de los tratamientos en FBR y matraz al día 14

Factores	Tratamiento			
	T1 FBR	T2 FBR	T1	T3
Agitación RPM	0	60	0	60
Células viables %	83.33±4.42 b	93.57 ±1.27 a	99.29±0.54 a	99.10 ±0.49 a
Biomasa g/L	0.45± 0.05 a	0.51± 0.13 a	0.41±0.07 a	0.61±0.04 a
Clorofila a y b µg/mL	32.30±13 a	40.47±13 a	5.76±0.22 c	6.79±0.66 b

Se realizó análisis ANOVA y una prueba de Tukey para determinar la significancia con una  $P < 0.05$  en Statgraphics 19 centurion. Medias con grupo de letra distinta en la misma fila indican diferencia estadística significativa.

En la tabla 7 podemos notar como la influencia de la velocidad en comparación con el tratamiento en FBR y en matraz genera una mayor producción en cuanto a la clorofila a y b, ya que en ambos tratamientos se ve un incremento de producción de esta. Así mismo comparando el tratamiento en FBR y en matraz se nota la gran influencia que lleva el crecimiento de *Desmodesmus communis* en el FBR para la producción de clorofila.

También podemos observar como en la generación de biomasa en ambos tratamientos no indica gran diferencia estadística significativa al momento de su producción ya sea en FBR o a nivel matraz.

Y en cuanto a celular viables se obtuvo mayor porcentaje de células viables a nivel matraz, esto podría indicar debido a que la agitación con aspas genera turbulencia en las células el cual pueda llegar a matarlas.

## 5. CONCLUSIONES

Como se ha podido observar, se construyó un fotobiorreactor a escala laboratorio con agitación mecánica intermedia mediante la simulación del biorreactor en diferentes zonas de ubicación del agitador, ya que gracias a la simulación mediante CFD encontramos que el prototipo 1 (Figura 15) nos generaba zonas de sedimentación la cual hacía que el fluido no sea homogéneo y nos permitía un mezclado continuo.

Dentro del análisis del diseño del fotobiorreactor y con la simulación previa mediante CFD obtuvimos la evaluación de la hidrodinámica gracias a la configuración geométrica implementada en el FBR de panel, siendo una geometría óptima para el proceso ya que se obtuvo una media del tiempo de mezclado de  $t_m = 6.16 \pm 1.11$  s a 60 RPM. Y a 25°C. Con el cual se determinó la similitud entre el modelo simulado y el FBR construido la cual fue del  $96 \pm 1$  %

Ya que el FBR construido es funcional para el cultivo de *Desmodesmus communis* obteniendo una productividad celular máxima de  $328.33 \pm 8.17 \times 10^4$  cel/mL · d en el día 8,  $0.51 \pm 0.13$  g/L de biomasa,  $40.47 \pm 13$  µg/mL de clorofila a y b, manteniendo la viabilidad celular en  $93.57 \pm 1.27$ %. Demostrando que el FBR es óptimo para maximizar la productividad y la concentración de clorofila de *Desmodesmus communis*.

De este modo se llegó a la conclusión mediante la determinación de la cinética del crecimiento de *Desmodesmus communis* que el crecimiento de las microalgas tiene un mejor tiempo de adaptación y productividad a 60RPM en el fotobiorreactor, este comparado con las pruebas a nivel matraz. Siendo la agitación mecánica de mayor influencia para el incremento de pigmentos y de la productividad celular, teniendo en cuenta que o a nivel matraz debido al esfuerzo cortante que el FBR genera.

### 5.1 RECOMENDACIONES

- En experimentos posteriores para la optimización del proceso del FBR se propone la evaluación niveles más altos de agitación mecánica.
- También se propone evaluar otro tipo de impulsores e incluir alimentación de CO<sub>2</sub> para la evaluación de incrementos de producción de biomasa.

## 6. COMPETENCIAS DESARROLLADAS O APLICADAS

Dentro de las competencias aplicas o desarrolladas están las siguientes:

- Preparación de medio de cultivo
- Uso de equipo de laboratorio (centrifuga, microscopio, autoclave)
- Toma de decisiones en el proceso experimental
- Análisis y técnicas de crecimiento para la determinación de lípidos, clorofila y conteo celular en microalgas.

## 7. ANEXOS

Conteo de células en cámara de Neubauer

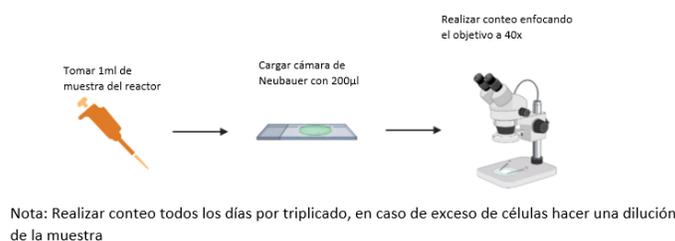
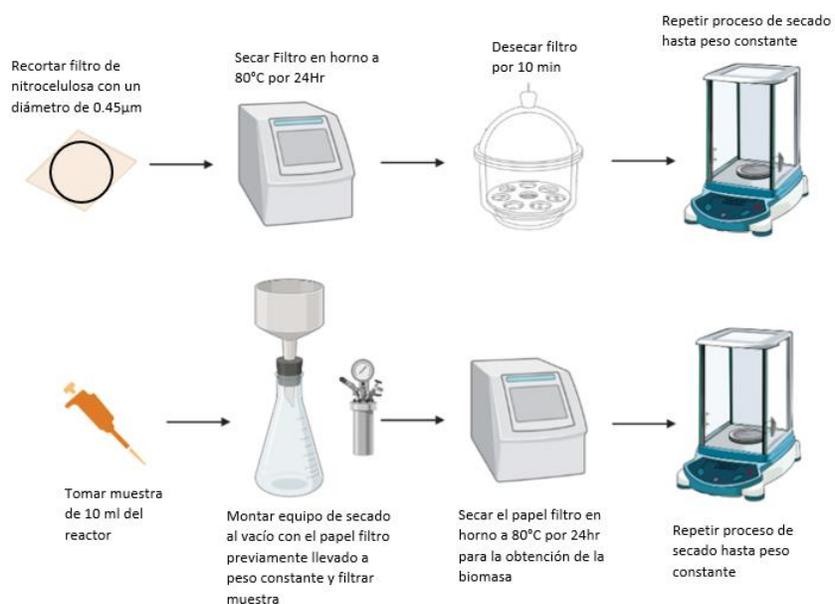


Figura 21.- Diagrama de determinación Conteo de células

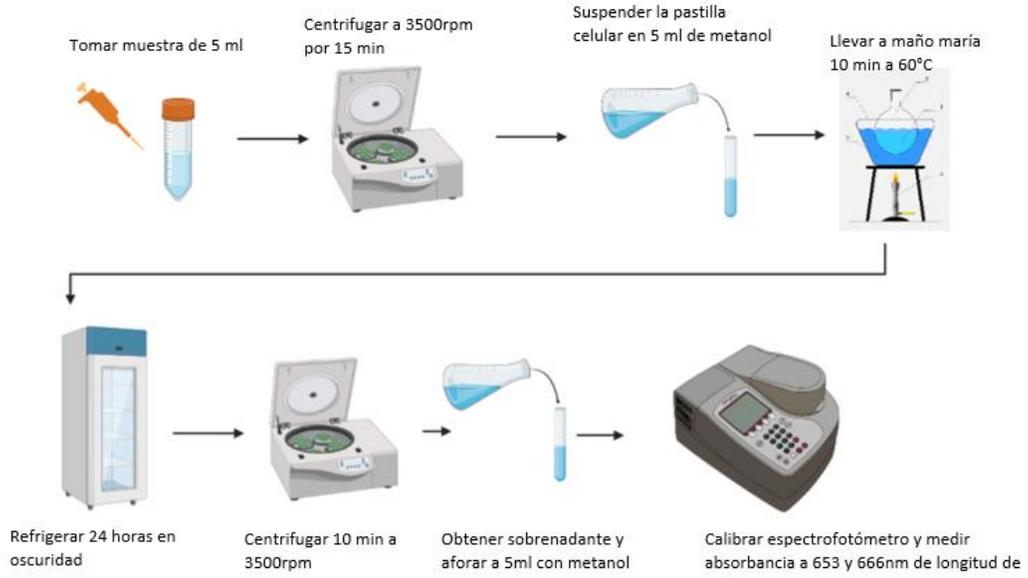
Peso Seco



Nota: Realizar muestreo por triplicado

Figura 22.- Diagrama de determinación de peso seco

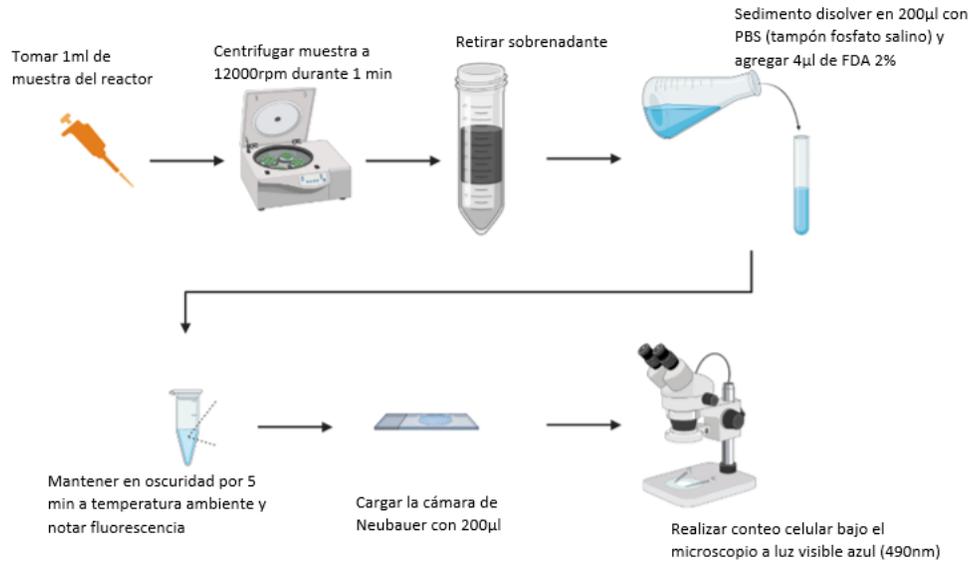
*Determinación de clorofila a y b*



Nota: Repetir procedimiento por triplicado

**Figura 23.-** Diagrama de determinación de Clorofila a y b

*Viabilidad celular*



Nota: Repetir procedimiento por triplicado

**Figura 24.-** Determinación de viabilidad celular

## 8. FUENTES DE INFORMACION

### Trabajos citados

- Alba Quiñones, C. (2013). *Extracción de lípidos a partir de la microalga Chlorella vulgaris*. Santiago de Cali.
- Arrieta Bolaños, E. (2008). Aplicaciones biotecnológicas de las microalgas. *Revista del colegio de microbiólogos y químicos clínicos de Costa Rica*.
- Becker, E. W. (1994). *Biotechnology and Microbiology*. Cambridge.
- Blake, J. (2001). *Computational Fluid Dynamics: Principles and applications*.
- Boney, A. (1989). *Phytoplankton*. Londres.
- Calderon Yopez, B. (2013). *Prezi*. Obtenido de <https://prezi.com/dmpfnksgicle/biorreactores-de-agitacion-neumatica/>
- Camacho Aguilar, P., & Flores Castillo, J. M. (2020). *Microalgas y sus aplicaciones biotecnológicas*. Instituto Tecnológico de Sonora, Sonora.
- Chávez, C. (2011). *Detección de metales pesados en agua*. Instituto nacional de astrofísica, óptica y electrónica.
- Christaki, E., Bonos, E., & Florou-Paneri, P. (2015). Innovative microalgae pigments as functional ingredients in nutrition. En *Handbook of marine microalgae* (págs. 233-241).
- D, K. (2012). *Introduction to computational fluid dynamics*. Dormund.
- Del Angel Hernandez, E. (2014). *Hidrodinámica*.
- Deniz, I., & Garcia-Vaquero, M. (2018). *Trends in red biotechnology: Microalgae for pharmaceutical applications*.
- Diaz Grajales, W., & Solís Gómez, M. (2013). *Producción de biomasa y lípidos de Chlorella vulgaris usando medios de cultivo sintéticos y un fertilizante comercial*. Tesis, Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutierrez.
- Dominguez, M., & Garrido, M. (2020). Fitorremediación de aguas residuales urbanas de pequeños municipios con microalgas. *ECOCIENCIA*.
- Doncel Nuñez, J. L., & Moreno Saboya, H. L. (2017). *Evaluación de la influencia de la agitación para la producción de biomasa microalgal en un FBR panel plano a escala laboratorio*. Bogotá.
- Fernandez Sevilla, J. M. (2014). *Ingeniería de procesos aplicada a la biotecnología de microalgas*. Obtenido de <https://w3.ual.es/~jfernand/ProcMicro70801207/tema-1---generalidades/1-7-fotobiorreactores.html>
- Flores Ramos, L., & Ruiz Soto, A. (2017). *Implementación de una metodología analítica para la cuantificación de proteínas en la microalga in Arthrospira platensis microalgae*. Lima.

- Flores, C. C.-C., Flores-Cotera, L. B., & Cañizares-Villanueva, R. O. (2003). Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. . *Interciencia*.
- Franco León, P., & Vásquez, P. (2019). Diatomeas teratológicas como organismos bioindicadores de la calidad del agua del río Tingo.
- Galarza, V. (2019). Carbohydrates and proteins in microalgae: Potential functional foods. *Brazilian journal of food technology*.
- García Avendaño, J. R. (2019). *Cultivo de microalgas en biorreactores de tipo columna de burbujeo con diferentes medios de cultivo*. Informe Técnico de Residencia Profesional , Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutierrez, Tuxtla Gutierrez.
- García Guerrero, M. (1983). Conversion biológica de la energía solar. *Mundo científico*.
- González Céspedes, A. (Octubre de 2015). ¿Que son las microalgas? Interés y uso. Almería, España.
- Hernández Pérez, A., & Labbé, I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios.
- INTAGRI. (2018). *Plantas C3, C4 y CAM* . México.
- Kaplan, D., & Richmond, A. (1986). *Handbook of microalgal mass culture*. Florida .
- Martínez Roldán, A. d., & Gómez Lozano, B. P. (2020). Diseño y construcción y puesta en marcha de un fotobiorreactor flat panel para el cultivo de microalgas. *Revista de alta tecnología y sociedad*.
- Montesinos Gonzales, S., Cid de León, C. V., & Aguilar Cruz, C. (2017). Situación actual de los fotobiorreactores. *Ingeniería industrial* , 21.
- Olivia Paniagua, B. (2020). *ESTUDIO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE BICARBONATO SOBRE EL CRECIMIENTO DE MICROALGAS DE LA CASCADA DEL CHIFLÓN*.
- Pittman, J., & Dean, A. (2011). The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource Technology*.
- Ruiz Aguilar, M. Y. (2013). *Análisis de cultivo de la microalga Chlorella vulgaris a diferentes fotoperiodos y concentraciones de nitrógeno*.
- Salazar Pérez, L. (2012). *Evaluación de métodos de extracción de aceite de microalgas para la producción de biodiesel*. Perú.
- Sui, H., Wang, J., & Zeng, Q. (s.f.). Screening of ecological impact assessment indicators in urban water body restoration process. *Ecological Indicators*.
- V.O, G. (2019). Carbohydrates and proteins in microalgae: Potential functional foods. *Brazilian Journal of Food Technology*.
- Yang, L. (2004). Analysis of mass transfer characteristics in a tubular membrane using CFD modeling. En W. research.

