



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ

TOLERANCIA DE MICROALGAS AL DIÉSEL PARA SU CULTIVO EN FOTOBIORREACTOR DE AGITACIÓN MECÁNICA

REPORTE FINAL DE RESIDENCIA PROFESIONAL QUE
PRESENTA:

José Carlos Sarmiento Matuz

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

INGENIERIA QUÍMICA

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

14 de febrero de 2024

**TOLERANCIA DE MICROALGAS AL DIÉSEL PARA SU
CULTIVO EN FOTOBIORREACTOR DE AGITACIÓN
MECÁNICA**

AGRADECIMIENTOS

En primer parte, deseo expresar mi profundo agradecimiento a mis queridos padres Carlos y Fabiola. Ellos representan para mí el mayor ejemplo de superación, y siempre han estado ahí brindado su apoyo incondicional para poder cumplir todos mis objetivos, así como metas académicas y personales, han sido parte fundamental constante tanto de mis momentos más difíciles y también de los de mayor fortaleza y motivación diaria para salir adelante. Además, quiero reconocer el respeto material económico que me brindaron permitiéndome culminar con un gran éxito este proyecto. Su contribución ha sido invaluable y les estoy eternamente agradecido.

Agradezco a mi hermano Ángel Gabriel Sarmiento Matuz, quien ha sido mi apoyo inquebrantable a lo largo de este viaje académico. Agradezco por su compañía constante. Su apoyo incondicional desde el inicio hasta el final de este proyecto por ser el sólido respaldo que siempre necesite de su presencia y sobre todo por ser mi gran compañero.

Y con agradecimiento especial a mis asesores, maestros, al equipo de trabajo del laboratorio de biorreactores, por su instrucción, apoyo y guía en la elaboración de este trabajo. Y demás personas que brindaron su apoyo y compañía, en el transcurso de este trabajo, que realizaron un poco más ameno, este camino. GRACIAS.

Y por último quiero agradecer a Dios que me dio la fortaleza para seguir, y sobre todo que me dio la oportunidad de vivir con todo lo que esto conlleva.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	6
2. PROBLEMAS A RESOLVER.....	7
3. OBJETIVOS.....	8
3.1 Objetivo general	8
3.2 Objetivos específicos	8
4. JUSTIFICACIÓN	9
5. MARCO TEÓRICO.....	10
5.1 Generalidades de las microalgas.....	10
5.1.1 Definición	10
5.2 Cultivo de microalgas	11
5.2.1 Cinética de crecimiento.....	12
5.3 Cepas a utilizar.....	14
5.3.1 PECTINODESMUS PECTINATUS.....	14
5.3.2 CHLOROCOCCUM SP	15
5.4 Reactores	16
5.5 Fotobiorreactores.....	16
5.5.1 Fotobiorreactores abiertos	16
5.5.2 Fotobiorreactores cerrados	17
5.5.3 Agitación.....	17
5.5.4 Equipo de agitación	18
5.6 Tipos de agitación.....	19
5.6.1 Neumática.....	19
5.6.2 Mecánica.....	19
5.7 Medios de cultivo	20
5.7.1 Medio Basal Bold (BBM):	21
5.7.2 Medio de Guillard F/2:.....	21
5.7.3 Fotoperiodo.....	22

5.7.4 Sistemas de cultivo	22
5.8 Hidrocarburos.....	23
5.9 Petróleo.....	24
5.10 Diésel.....	24
5.11 Microalgas para biorremediación.....	24
6. METODOLOGÍA PARA EL DESARROLLO DE CINÉTICAS MICROALGALES EN DIESEL.....	25
7. CONCLUSIONES DEL PROYECTO Y RECOMENDACIONES.....	31
8. COMPETENCIAS DESARROLLADAS.....	32
FUENTES DE INFORMACIÓN	33

1. INTRODUCCIÓN

En los tiempos modernos, con el desarrollo de la población y de las nuevas tecnologías como lo es el diésel, viene a la par de un crecimiento en consumo, que, en su producción, transporte pueden ocurrir accidentes los cuales conllevan secuelas ambientales irreparables, el derrame de diésel y sus derivados es un fuerte problema que de no desarrollarse alternativas previamente para su contramedida, no hará más que aumentar sus efectos negativos.

Como un enfoque previo se conoce que tanto como las especies *Pectinodesmus*, y *Chlorococcum Sp.* Son muy utilizadas en la biorremediación, el proyecto se realizó con el fin de ver la incidencia del diésel en las microalgas, con la ayuda de un fotobiorreactor en un ambiente más controlado a través de la técnica de conteo de biomasa, todo esto con el fin de discernir los fenómenos que estén ocurriendo y poder generar una pauta en la contramedida de los hidrocarburos.

2. PROBLEMAS A RESOLVER

La ausencia de un trabajo que haga una primera aproximación de biorremediación en un entorno distinto, con estas especies de microalgas, que constata una pauta en metodología para determinar la eficiencia de las microalgas frente a los hidrocarburos, ya que con la ausencia de esta; el desarrollo de posteriores trabajos tendría dificultades para discernir bajo que parámetros y alternativas podría ser viable o no. Así como a su vez ayudara a generar conocimiento científico, que promueva el desarrollo de nuevas tecnologías en pro del ambiente.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

- Evaluar la producción de biomasa de microalgas en medio adicionado con diésel en fotobiorreactor (FBR) de agitación mecánica.

3.2 Objetivos específicos

- Evaluación de parámetros cinéticos de *Pectinodesmus*, y *Chlorococcum Sp* sin diésel
- Evaluación de formación de biomasa de *Pectinodesmus*, y *Chlorococcum Sp*, con diésel a nivel matraz.
- Analizar el crecimiento de biomasa de *Pectinodesmus*, y *Chlorococcum Sp* a nivel fotobiorreactor.

4. JUSTIFICACIÓN

Es importante para mí desarrollo académico la realización de esta clase de proyectos que involucren estas nuevas tecnologías.

La problemática sobre derrame de diésel e hidrocarburos ha sido en anteriores años poco aproximada, en el aspecto de la remediación y en la sociedad actual hay una creciente des empatía en los asuntos que aquejan al ambiente, influenciada mayormente por las grandes industrias y sus carentes cuidados con el medio ambiente.

El desarrollo de este tipo de proyectos que en parte generan conocimiento científico, brindan ese apartado extra en el apoyo al ambiente, la generación de estos nuevos conocimientos a través de propuestas poco comunes podría abrir la puerta a nuevas ramas o incluso métodos económicamente viables.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 Generalidades de las microalgas

5.1.1 Definición

“El término microalga...se refiere a aquellos microorganismos que contiene clorofila y otros pigmentos fotosintéticos, capaces de realizar fotosíntesis oxigénica...” Las microalgas son organismos unicelulares eucariotas fotosintéticos, que pueden crecer de modo autotrófico o heterotrófico. En términos generales son eficientes en la fijación del CO₂ y en el aprovechamiento de la energía solar para la producción de biomasa. La cadena trófica tiene como productoras primarias a las microalgas, lo que las convierte en las primeras productoras de materia orgánica. “Las microalgas eucariotas, a pesar de la enorme variedad en forma, organización y tamaño, se caracterizan por ser microorganismos unicelulares que poseen núcleo y todos los orgánulos propios de células eucariotas ...” (Abalde et al., 2000).

Estas algas son conocidas por su pequeño tamaño, que puede variar desde unas pocas micras hasta varios cientos de micras. A pesar de su pequeño tamaño, las microalgas son importantes en los ecosistemas acuáticos, ya que son una fuente vital de nutrientes y energía para una amplia variedad de organismos, desde bacterias hasta animales más grandes como peces y crustáceos. Además, las microalgas tienen un gran potencial en aplicaciones

industriales, como la producción de biocombustibles, alimentos para acuicultura, suplementos alimenticios y productos químicos.

5.2 Cultivo de microalgas

El crecimiento demográfico, la industrialización y el desarrollo económico global han generado desafíos significativos, como el cambio climático y la creciente demanda de recursos esenciales como agua, energía y alimentos. Ante esta problemática, es crucial desarrollar e implementar alternativas innovadoras, eficaces y sostenibles. En este contexto, las microalgas surgen como recursos biológicos clave para abordar estas cuestiones. Reconocidas por su potencial en la generación de alimentos, biocombustibles, pigmentos y



compuestos de interés biotecnológico, el cultivo de microalgas se presenta como un componente estratégico para lograr metas de desarrollo sostenible, equilibrando las necesidades humanas con la preservación del medio ambiente (Manzoni et al., 2021).

Las microalgas, alineadas con la Agenda 2030 de la ONU, contribuyen al ODS 2 “Hambre Cero” al ser una fuente rica en nutrientes que aborda la inseguridad alimentaria, especialmente en regiones con recursos limitados. En el marco del ODS 7 “Energía Asequible y No Contaminante”, las microalgas destacan como una fuente sostenible para biocombustibles, respaldando la transición hacia energías más limpias.

A pesar de la importancia comercial de diversas especies de microalgas para múltiples aplicaciones, el desarrollo industrial en biotecnología microalgal se ve obstaculizado por los elevados costos de producción. La reducción de estos costos es fundamental para desbloquear el potencial completo de la tecnología algal. La optimización de procesos y la mejora de rendimientos son elementos clave para aumentar la rentabilidad y superar las barreras económicas que

actualmente limitan una implementación más amplia de esta prometedora tecnología (Abalde et al., 2000).

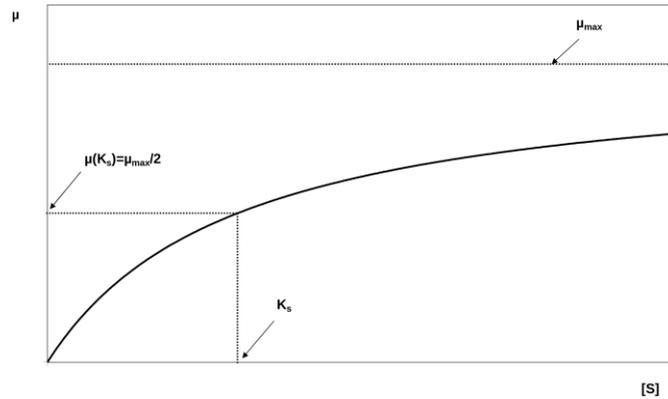
La viabilidad comercial y la expansión industrial de la biotecnología microalgal están vinculadas a la capacidad para superar los desafíos económicos y hacerla más accesible a escala global. En los últimos años, la tecnología de bioprocesos o biotecnología ha surgido como un campo con el potencial de abordar de manera significativa los desafíos mencionados anteriormente. Es esencial reconocer las diferencias entre desarrollar soluciones para reactores a escala de laboratorio con condiciones estables y semi-controladas, en comparación con la implementación a escala industrial y en entornos externos. Este contraste subraya la importancia de adaptar las tecnologías y enfoques para abordar los desafíos específicos asociados con la expansión de la biotecnología microalgal a nivel global (Guzmán et al., 2021).

5.2.1 Cinética de crecimiento

La comprensión de las cinéticas de crecimiento es esencial en biología y biotecnología, donde los microorganismos y células desempeñan un papel crucial. Estas cinéticas describen la evolución de poblaciones biológicas con el tiempo, siendo fundamentales para el modelado, la optimización y la comprensión del crecimiento de organismos. Los procesos biotecnológicos dependen en gran medida de cómo la manipulación de ciertos factores afectan a estas poblaciones con el tiempo; factores ambientales, como la temperatura y el pH, son determinantes en estas dinámicas de crecimiento, donde la creación de un entorno óptimo se convierte en un aspecto crucial para favorecer condiciones propicias para la actividad biológica (Doran, 2013).

Los modelos matemáticos, como el exponencial y el de Monod, ofrecen herramientas precisas para cuantificar y prever el crecimiento celular en función de diversos factores. Mientras que el modelo exponencial revela un crecimiento ilimitado en ausencia de limitaciones de recursos, el modelo de Monod considera la influencia de la disponibilidad de nutrientes. Este enfoque matemático no solo proporciona una representación cuantitativa del crecimiento biológico, sino que también permite la predicción y optimización de condiciones en entornos controlados. El entendimiento profundo de estas cinéticas facilita la manipulación estratégica de variables ambientales y de nutrientes para maximizar la eficiencia de los bioprocesos (Guzmán et al., 2021).

La aplicación práctica de estos conceptos se lleva a cabo en los reactores biológicos, dispositivos controlados que permiten ajustar las condiciones para el crecimiento celular y posibilitan la escalabilidad de estos procesos desde investigaciones de laboratorio hasta la producción a gran escala (Manzoni et al., 2021).



La integración de las cinéticas de crecimiento en modelos matemáticos no solo amplía nuestro conocimiento sobre el comportamiento biológico, sino que también sirve como una herramienta valiosa para diseñar y mejorar procesos biotecnológicos, proporcionando así avances significativos en la producción de productos biológicos y la ingeniería de sistemas biológicos.

5.3 Cepas a utilizar

5.3.1 PECTINODESMUS PECTINATUS

Taxonomía:

Reino: Plantae

Filo: Chlorophyta

Orden: Sphaeropleales

Familia: Scenedesmaceae

Subfamilia: Scenedesmoidea

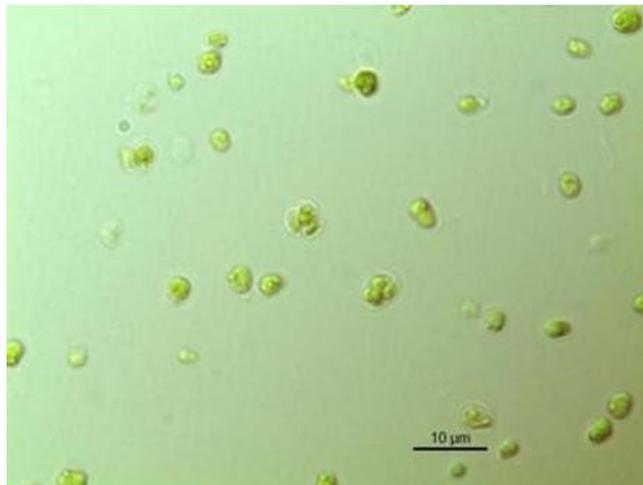
Género: Pectinodesmus

Especie: Pectinatus

Está es una especie muy común en México. De acuerdo con la base de datos Taxfish cuenta con una alta presencia en los estados de Michoacán, Distrito Federal, Tabasco, Morelos, Veracruz y el Estado de México

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 cloroplasto parietal con un pirenoide por célula. Longitud y anchura de las células de 3-5 μm (Olán et al, 2018).



Pectinodesmus Pectinatus con objetivo 100X

5.3.2 CHLOROCOCCUM SP

Taxonomía:

Reino: Plantae

Filo: Chlorophyta

Clase: Chlorophyceae

Orden: Chlamydomonadales

Familia: Chlorococcaceae

Género: Chlorococcum

Especie: Sp

Descripción morfológica:

Es una microalga que puede ser ovoide, elipsoidal o esférica, presenta un cloroplasto parietal urceolado y uno o varios pirenoides, su reproducción puede ser asexual por zoosporas y aplanósporas formadas por sucesivas divisiones celulares y en ocasiones de forma sexual por fusión de isogametos de las zoosporas.



Chlorococcum sp con objetivo 40X

5.4 Reactores

La producción de microalgas es un proceso que requiere tanto una planificación como una ejecución adecuada, constando de varias etapas clave. Estas etapas incluyen: 1) preparación del medio de cultivo; 2) producción de biomasa en fotobiorreactores; 3) cosecha de la biomasa; 4) tratamiento de aguas para recirculación o vertido; y 5) estabilización de la biomasa o su transformación en productos finales. Cada una desempeña un papel crucial en el proceso productivo. No obstante, la etapa centrada en la producción de biomasa en los fotobiorreactores se destaca como la más compleja y relevante, dado el gran número de factores que influyen en la operación del sistema. Aquí, el control de procesos desempeña un papel fundamental para maximizar eficientemente la producción en este punto crítico del proceso (Manzoni et al., 2021).

El diseño de los sistemas de cultivo debe asegurar condiciones óptimas para las cepas seleccionadas con un consumo mínimo de energía. Esto implica proporcionar las condiciones específicas discutidas previamente, garantizando un mezclado y transferencia de masa eficientes. Los biorreactores de microalgas se dividen principalmente en dos tipos según su diseño: sistemas abiertos, como estanques extensos sin mezclar o estanques con canales, y sistemas cerrados, como fotobiorreactores tubulares (PBR), PBR verticales y fermentadores heterótrofos (Guzmán et al., 2021).

La importancia de la agitación en el diseño de reactores de microalgas radica en su papel esencial para garantizar condiciones óptimas de crecimiento. Al mantener una mezcla homogénea del medio de cultivo, evita la sedimentación de las microalgas, permitiendo un acceso constante a nutrientes y luz. La agitación también facilita la transferencia eficiente de gases, esencial para el metabolismo celular y la fotosíntesis. Además, contribuye a evitar la fotoinhibición y mejora la transferencia de calor en sistemas cerrados (Doran, 2013).

5.5 Fotobiorreactores

5.5.1 Fotobiorreactores abiertos

Los fotobiorreactores abiertos son grandes estanques con poca profundidad con el fin de contribuir así al aumento de la productividad mediante una mejor penetración de la luz, siendo los tipo raceway los más extendidos y los de

referencia dentro del nivel industrial. Estos reactores están divididos en tres partes: un foso bajo el suelo (generalmente a una profundidad aproximada de 2-3 metros) donde se realizan los procesos de inyección de gases, un canal o receptor solar diseñado en forma de U por donde se hacen circular las microalgas para que puedan recibir la radiación solar y realizar la fotosíntesis, y unas palas para poder impulsar el cultivo a lo largo del canal (Guzmán et al., 2021).

Los fotobiorreactores abiertos presentan ventajas notables en la producción de microalgas. Su diseño simple y bajo costo de construcción los hacen accesibles. Además, permiten un intercambio gaseoso eficiente y un fácil manejo de microorganismos. Su mayor volumen facilita la dilución de contaminantes. Sin embargo, las desventajas incluyen la susceptibilidad a contaminantes atmosféricos, la variabilidad climática y la competencia con otras microalgas. Además, la necesidad de grandes áreas y el riesgo de infecciones limitan su eficiencia en comparación con fotobiorreactores cerrados (Doncel & Moreno, 2017).

5.5.2 Fotobiorreactores cerrados

A diferencia de los fotobiorreactores abiertos, los cerrados cuentan con una barrera física que separa el cultivo del entorno circundante, ofreciendo a las microalgas una protección contra posibles fuentes de contaminación externa. Entre los diversos diseños de estos fotobiorreactores cerrados, destacan los paneles planos, las columnas de burbujeo y los tubulares. Entre ellos, los fotobiorreactores tubulares son los más prevalentes a nivel comercial y tienden a ser los referentes en la industria. Los fotobiorreactores tubulares están divididos en dos partes: la columna de burbujeo donde se produce el proceso de aireación y control de temperatura, y el lazo o receptor solar por donde circulan las microalgas mediante una bomba de impulsión para que puedan exponerse a la radiación solar y realizar la fotosíntesis. El lazo está diseñado como un tubo cerrado de gran longitud que permite aislar al cultivo del entorno que lo rodea, permitiendo así minimizar la posible contaminación y poder controlar mejor las condiciones de operación (Guzmán et al., 2021).

5.5.3 Agitación

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 CO₂ a través de la interfaz cultivo-burbuja y así mismo la eliminación de O₂ al generar turbulencia en el medio (Doncel & Moreno, 2017).

En cualquier sistema de cultivo de microalgas es imperativo generar condiciones hidrodinámicas que promuevan un buen mezclado para: (i) minimizar la existencia de gradientes y distribuir eficientemente nutrientes y gases entre las células y el medio de cultivo; (ii) evitar el estancamiento de las células en zonas no iluminadas; (iii) mantener las células en suspensión; (iv) facilitar la transferencia de calor y el intercambio de gases; y (v) evitar los fenómenos de fotolimitación, fotoinhibición y fotooxidación (Manzoni et al., 2021).

5.5.4 Equipo de agitación

La agitación se realiza generalmente en un tanque agitado, estos tienden a ser cilíndricos desde la base, mientras que las herramientas que se utilizan son rodetes que se instalan sobre el tanque y deflectores que se instalan a los costados del tanque de manera vertical. La elección de un tipo específico de rodete y de un número de placas deflectoras depende de varios factores, entre los que destacan la viscosidad del líquido, la sensibilidad al esfuerzo de corte e incluso el diseño del propio tanque de agitación (Doran, 2013).

El tipo de flujo dentro de un tanque agitado depende del diseño del rodete, las propiedades del fluido y la geometría del mismo tanque, pudiéndose diferenciar tres tipos diferentes de flujo, el circular, el axial y el radial. En biorreactores, los agitadores con movimiento axial y radial son cruciales para garantizar una mezcla homogénea de nutrientes y oxígeno, favoreciendo así el crecimiento de microorganismos. Los agitadores axiales suelen generar flujo en dirección vertical, mientras que los radiales proporcionan una distribución más uniforme en el plano horizontal (Doncel & Moreno, 2017).

5.6 Tipos de agitación

5.6.1 Neumática

La agitación neumática en reactores se caracteriza por el uso de burbujeo de gas para generar movimiento en el medio de cultivo. Entre sus características destacan su simplicidad y versatilidad en la aplicación. Las burbujas de gas agitan el contenido del reactor de manera eficiente, facilitando la mezcla homogénea de nutrientes y microorganismos (Doran, 2013).

Entre las ventajas de la agitación neumática se destaca su eficiencia en la homogeneización del medio, contribuyendo a una distribución uniforme de nutrientes y gases en todas las microalgas. Además, el burbujeo de gas puede servir como fuente de carbono adicional para las microalgas, favoreciendo su crecimiento. Sin embargo, algunas desventajas incluyen la generación de microburbujas que pueden afectar la eficiencia fotosintética al bloquear la luz, así como la posibilidad de estrés celular debido a la agitación constante. Además, en sistemas cerrados, la acumulación de espuma y la necesidad de controlar la concentración de gases pueden presentar desafíos operativos (Doncel & Moreno, 2017).

Los difusores de aire y bombas de aire son componentes esenciales en la agitación neumática de biorreactores. Mientras que los difusores de aire introducen burbujas de aire finas en el medio de cultivo, promoviendo la transferencia de oxígeno y mezclando eficientemente los componentes, las bombas de aire suministran el flujo continuo de aire a través de los difusores. Estas bombas suelen ser ajustables para controlar la velocidad y la cantidad de aire introducido, permitiendo una gestión precisa de las condiciones de cultivo (Doran, 2013).

5.6.2 Mecánica

La agitación mecánica en reactores de microalgas se caracteriza por el uso de dispositivos como hélices o paletas para generar movimiento en el medio de cultivo. Su principal objetivo es mantener una mezcla uniforme, asegurando condiciones propicias para el crecimiento de los microorganismos (Doran, 2013).

Entre las ventajas de la agitación mecánica se destaca su capacidad para proporcionar una distribución homogénea de nutrientes, evitando gradientes de concentración y asegurando un acceso equitativo para todas las microalgas. Además, contribuye a prevenir la sedimentación de las microalgas,

garantizando su exposición constante a la luz y los nutrientes. También mejora la transferencia eficiente de gases esenciales como CO₂ y O₂, favoreciendo el metabolismo celular y la fotosíntesis. Sin embargo, presenta desafíos, como el consumo significativo de energía, lo que puede incrementar los costos operativos. Además, los componentes mecánicos están sujetos a desgaste, lo que implica necesidades periódicas de mantenimiento y posiblemente de reemplazo. Existe también el riesgo potencial de generar estrés mecánico en las microalgas, aunque esto depende del diseño del reactor y la intensidad de la agitación (Doncel & Moreno, 2017).

En los biorreactores, las paletas y turbinas desempeñan un papel crucial en la agitación mecánica. Las paletas, al moverse a lo largo del eje vertical, facilitan la mezcla homogénea del medio de cultivo, asegurando una distribución uniforme de nutrientes. Por otro lado, las turbinas, al generar agitación radial, contribuyen a la eficiente oxigenación y mezcla de los microorganismos. Además, los agitadores magnéticos, que operan mediante imanes, ofrecen una alternativa que minimiza la contaminación y facilita la esterilización al eliminar la necesidad de un eje penetrante. Estas opciones son seleccionadas según los requisitos específicos de cada proceso biotecnológico (Doran, 2013).

5.7 Medios de cultivo

En el ámbito de la fitorremediación, el medio de cultivo es esencial para el crecimiento de las plantas destinadas a remediar contaminantes ambientales. Este medio no solo suministra los nutrientes esenciales para el desarrollo saludable de las plantas, sino que también proporciona el soporte estructural necesario. La elección cuidadosa del medio de cultivo en la fitorremediación es crucial para optimizar la absorción y acumulación de contaminantes por parte de las plantas.

En el contexto general de los organismos, la búsqueda de nutrientes esenciales, como carbono (C), hidrógeno (H), oxígeno (O), nitrógeno (N), azufre (S), fósforo (P), potasio (K), magnesio (Mg), hierro (Fe), calcio (Ca), manganeso (Mn) y trazas de zinc (Zn), cobalto (Co), cobre (Cu) y molibdeno (Mo), es fundamental para la generación de energía y la biosíntesis celular. El medio de cultivo, una técnica de laboratorio que consiste en un gel o solución con los nutrientes necesarios, se utiliza para facilitar el crecimiento de microorganismos, células, tejidos vegetales o plantas. Estos medios pueden presentarse desecados en forma de polvo fino o granular antes de su preparación y estar en estado sólido, semisólido o líquido después de su preparación.

En el cultivo de microalgas bajo condiciones de laboratorio, se utilizan diversas fórmulas de medios, algunas de las cuales se han modificado a partir de fórmulas anteriores o se han derivado mediante análisis del agua en el hábitat nativo y consideraciones ecológicas. A pesar de la variedad de fórmulas, la comprensión detallada de los requisitos nutricionales de los organismos en estos medios sigue siendo limitada. Los medios de cultivo más comunes son los siguientes:

5.7.1 Medio Basal Bold (BBM): Es un medio utilizado para el cultivo de algas de agua dulce sin necesidad de extracto de suelo. La composición de este se representa en la siguiente tabla:

COMPOSICION MEDIO BASAL BOLD		
Reactivos	Solución Stock	volumen
KH ₂ PO ₄	8.75 g / 500 mL	10 mL
CaCl ₂ ·2H ₂ O	12.5 g / 500 mL	1 mL
MgSO ₄ ·7H ₂ O	37.5 g / 500 mL	1 mL
NaNO ₃	125 g / 500mL	1 mL
K ₂ HPO ₄	37.5 g / 500 mL	1 mL
NaCl	12.5 g / 500mL	1 mL
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	10 g/L	
KOH	6.2 g/L	1 mL
FeSO ₄ ·7H ₂ O	4.98 g/L	
H ₂ SO ₄	1 mL/L	1 mL
Solución trace Metal	g/L	1 mL
H ₃ BO ₃	2.86 g	
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.81 g	
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.222 g	
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.390 g	
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.079 g	
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0.0494 g	
Solución de vitaminas	g/L	1 mL
Vitamina B12	0.001	
2. Biotina	0.001	
3. Tiamina	0.2	

5.7.2 Medio de Guillard F/2: Es un medio de cultivo utilizado comúnmente para el cultivo de algas marinas. Fue desarrollado por John Guillard y Claire Ryther en la década de 1960. Este medio tiene una naturaleza inorgánica y es ampliamente utilizado en investigaciones relacionadas con la biología de las microalgas, la acuicultura y la producción de biomasa de microalgas para diversos fines, como la

obtención de biocombustibles, productos alimenticios o productos químicos especializados. La composición específica del medio puede variar según las necesidades de la especie de microalga que se esté cultivando. Su composición puede variar según las necesidades de la microalga, pero se compone principalmente de un 85% en peso de sal, nitrato de sodio como única fuente de nitrógeno, macronutrientes PO₄, K, Mg, SO₄, Ca, Cl y micronutrientes.

5.7.3 Fotoperiodo

El "fotoperiodo" hace referencia a la duración del periodo de luz proporcionado a las plantas utilizadas en el proceso de remediación. Este aspecto es crucial, ya que la duración de la luz y la oscuridad influye directamente en los procesos fisiológicos y metabólicos de las plantas. La variación en la exposición a la luz puede afectar la absorción de contaminantes, la síntesis de compuestos orgánicos y otros procesos metabólicos esenciales para la fitorremediación.

En la práctica de la fitorremediación, se tiene la capacidad de ajustar y controlar el fotoperiodo en entornos de cultivo o sistemas de tratamiento. Este control se realiza con el objetivo de optimizar la eficacia de las plantas en la remediación de contaminantes específicos. La manipulación del fotoperiodo busca crear condiciones óptimas que impulsen la absorción y acumulación de contaminantes por parte de las plantas, maximizando así la eficiencia del proceso de fitorremediación.

Es interesante notar que el fotoperiodo también tiene un impacto en las microalgas, tanto en cultivos como en la naturaleza. En condiciones naturales, la mayoría de las algas siguen ciclos alternos de luz y oscuridad. Sin embargo, en entornos de laboratorio, se mantiene constante la iluminación para favorecer la división celular en ciertas microalgas. Cuando se emplean ciclos luz:oscuridad, se busca simular condiciones naturales o sincronizar los cultivos con el entorno, reconociendo la influencia fundamental del fotoperiodo en la biología de las microalgas.

5.7.4 Sistemas de cultivo

Existen dos sistemas de cultivos para organismos fotoautótrofos, los cultivos abiertos en los que la microalga es expuesta a condiciones medioambientales y

cultivos cerrados, generalmente denominados fotobiorreactores en los cuales la biomasa posee poco o ningún contacto con el medio externo (Leiton Y., 2018).

5.8 Hidrocarburos

Los hidrocarburos son compuestos orgánicos formados por átomos de carbono e hidrógeno, la mayoría se extrae de combustibles fósiles (Flores- Puente, et al. 2004). La composición elemental del crudo de petróleo está en función de la abundancia de los compuestos tipo hidrocarburo: carbono (84-87%), hidrógeno (11-14%), azufre (0-8%), oxígeno y nitrógeno (0-4%), y metales como el níquel y el vanadio (Viñas, 2005).

Los hidrocarburos presentes en el petróleo se encuentran agrupados en las siguientes familias (Viñas, 2005):

1. Parafinas volátiles. Son alcanos no ramificados y ramificados formados por cadenas de 1 a 10 átomos de carbono, representa hasta el 30% del crudo de petróleo.
2. Parafinas no volátiles. Son alcanos lineales y ramificados formados por cadenas de 11 a 40 átomos de carbono, puede constituir entre el 15-20 % del crudo de petróleo.
3. Naftenos o cicloalcanos. Son compuestos que pueden llegar a representar hasta el 31% del crudo.
4. Oleofinas o alquenos. Son compuestos que están poco presentes en el crudo de petróleo, pero adquieren importancia en los productos resultantes de su refinado.
5. Hidrocarburos aromáticos. Son estructuras formadas por moléculas que contienen uno o varios anillos de seis miembros de carbono (anillos bencénicos) subdividiéndose en hidrocarburos monoaromáticos (un anillo bencénico), diaromáticos (dos anillos bencénicos) y poliaromáticos (HAPs, con más de dos anillos bencénicos).

En México, la contaminación por hidrocarburos es un aspecto regulado por la Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003, la cual determina los límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y restauración.

5.9 Petróleo

El petróleo es una mezcla compleja de compuestos químicos cuyas características y proporción de sus constituyentes varían en función de su origen geológico y geográfico (Flores-Puente et al., 2004).

Cuando la cantidad de petróleo en el ambiente supera la porción que puede ser reciclada, se convierte en un contaminante de impacto negativo ya que entre sus componentes existen altas concentraciones de sustancias consideradas como residuos peligrosos por su efecto dañino a la salud; algunos de estos residuos son cancerígenos y otros completamente sintéticos y altamente tóxicos, por lo que no pueden ser degradados de manera natural (Flores-Puente et al., 2004).

5.10 Diésel

El gasóleo, también denominado gasoil o diésel, es un líquido de color blancuzco o verdoso, compuesto fundamentalmente por parafinas y utilizado principalmente como combustible en motores diésel y en calefacción (Plaza, 2019)

El diésel derivado del petróleo está compuesto aproximadamente de un 75% de hidrocarburos saturados, principalmente parafinas incluyendo isoparafinas y cicloparafinas; y un 25% de hidrocarburos aromáticos, incluyendo naftalenos y alcalobencenos. La fórmula química general del diésel común es $C_{12}H_{26}$, incluyendo cantidades pequeñas de otros hidrocarburos cuyas fórmulas van desde $C_{10}H_{22}$ a $C_{15}H_{32}$. (ATSDR, 2004).

5.11 Microalgas para biorremediación

Las microalgas poseen una capacidad ficorremediadora que consiste en la eliminación o biotransformación de contaminantes de un medio líquido o gaseoso. Estos compuestos contaminantes son captados por la biomasa algal y pueden ser recuperados mediante su cosecha. Esta capacidad resulta en un sistema de cultivo con 2 propósitos: eliminación de contaminantes y producción de biomasa con fines comerciales. Ambos objetivos dependen del sistema de cultivo, la o las especies cultivadas y los factores ambientales. La utilización de medios contaminados en el cultivo impacta directamente en los costos de producción. La elección del tipo de sistema de cultivo es importante, y debe realizarse en base a factores biológicos, técnicos, ambientales y económicos, definidos previamente.

6. METODOLOGÍA PARA EL DESARROLLO DE CINÉTICAS MICROALGALES EN DIESEL

6.1 Bases para el desarrollo de una cinética

Para el inicio de una cinética hay que tener definido la especie de la microalga, así como el medio a utilizar que son los dos factores que alteraran en mayor medida los resultados obtenidos.

La realización del medio es un paso principal, este se realiza por medio de compuestos con cantidades específicas ya designadas para 1000mL. (se puede observar ejemplo en el punto 5.7.1)

Lo siguiente conocer la cantidad de inóculo y la cantidad de medio a producir, lo cual puede afectar en gran medida la duración de la cinética; y de sus etapas.

Es importante siempre esterilizar los medios antes de la inoculación de la especie, en gran medida por la ausencia de algún medio de glucosa, con lo cual es poco probable la infección por bacterias, pero si puede ser ocupada por otra especie de microalga.

Para el desarrollo efectivo del proyecto es necesario tener una base de biomasa de las especies, con lo cual se desarrolló una inoculación previa, para la generación de esta en cada especie.



6.2 Propuesta para cinética con diésel

En cada cinética es importante tener al menos una cinética de referencia con la misma concentración de inóculo de la misma cepa, pero en este caso con ausencia de diésel, con su respectivo triplicado por cada propuesta que en este

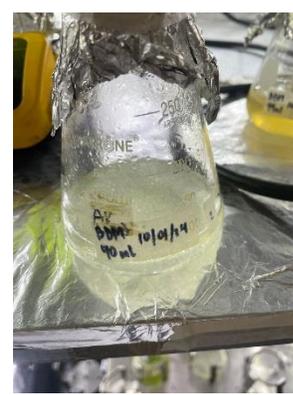
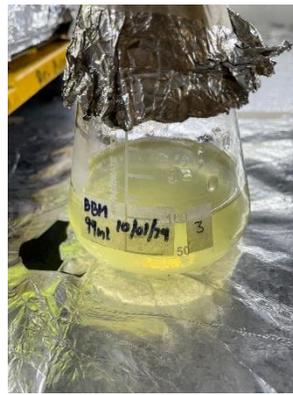
caso se estimo para 1% de diésel, 5% de diésel y 10% de diésel, en un matraz de 250ml y un volumen de medio de 100ml.

		Pectinodesmus pectinatus					
Concentración de inocuo		46	40	66	60	56	53
		47	48	45	65	53	83
		52	54	39	67	58	57
		72	68	84	52	64	63
		76	73	65	82	60	75
		82	80	70	68	70	83
		2.53E+08					

		Chlorococcum					
Concentración de inocuo		106	131	138	153	153	177
		112	107	145	195	151	122
		150	150	121	168	167	156
		138	128	134	107	163	178
		128	159	146	118	188	172
		127	136	150	157	148	156
		5.82E+08					

Concentraciones de inoculo inicial en ambas especies

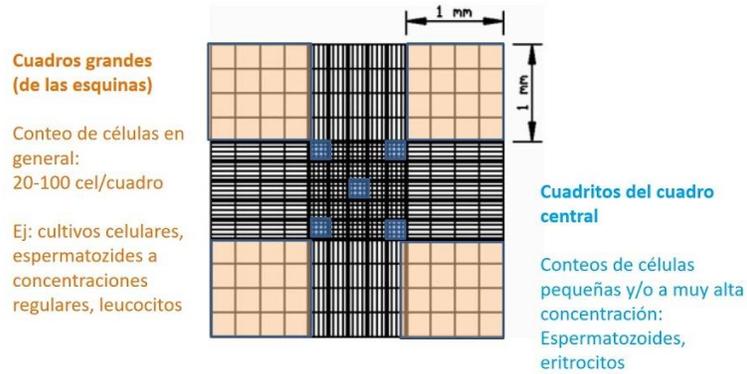
A su vez generar los datos previos de las cinéticas normales de crecimiento para cada especie en fotobiorreactores, que, para fin de obtener un promedio del crecimiento de la biomasa, se capturaron los datos dividiendo el reactor en tres partes y posteriormente promediando.



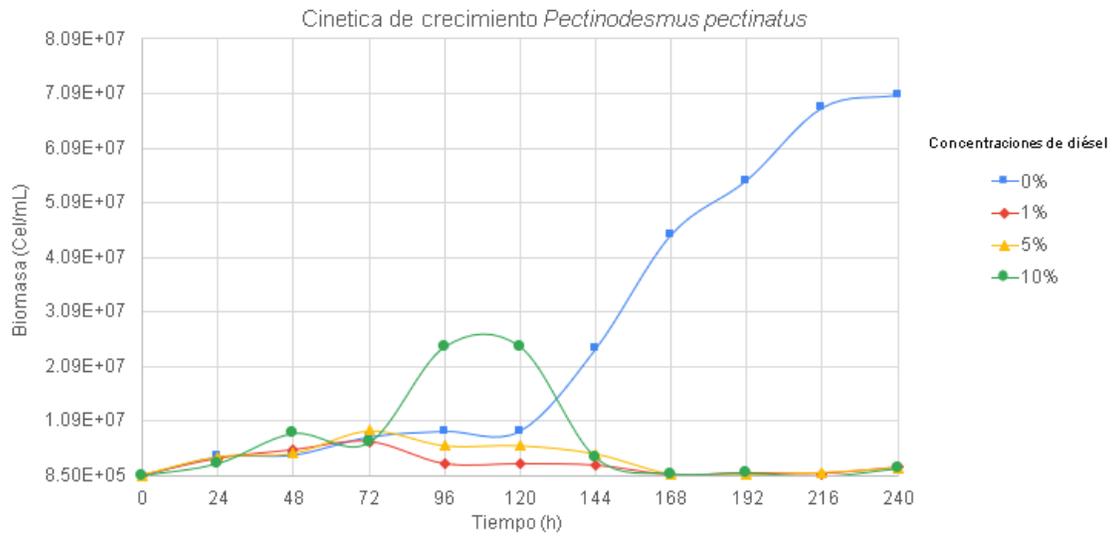
6.3 Concentración de biomasa

El parámetro de referencia propuesto, que nos ayudaría a conocer los efectos del diésel en las microalgas es el conteo de la concentración de biomasa, la cual para fines de más precisión se optó por la técnica de conteo en cámara de Neubauer la cual constato de dos cinéticas, para Pectinodesmus pectinatus durando alrededor de 11 días, y para Chlorococcum Sp durando alrededor de 15 días, con conteo diarios para las dos cinéticas, generando así los siguientes resultados.

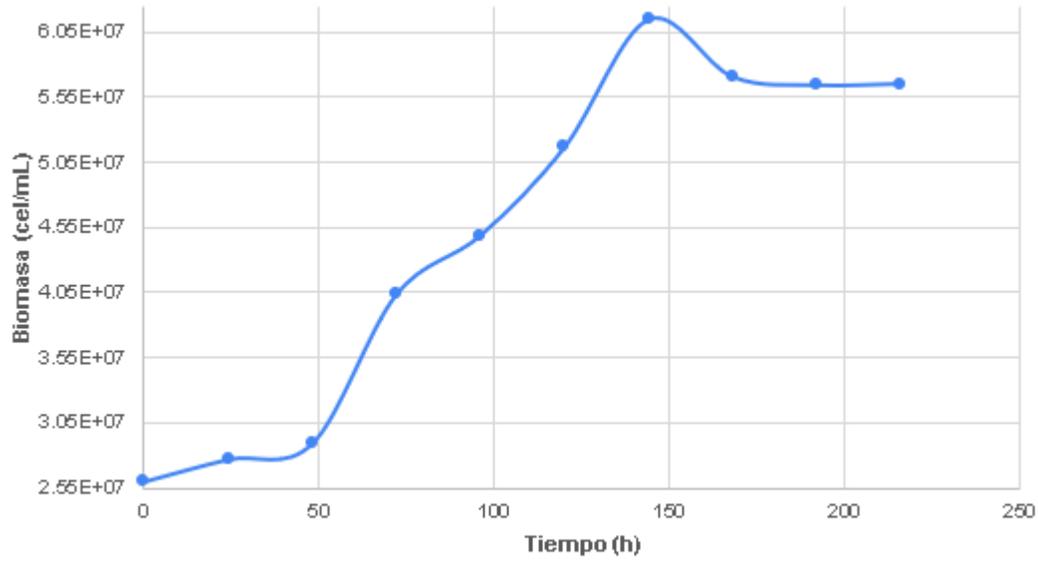
Conteos celulares



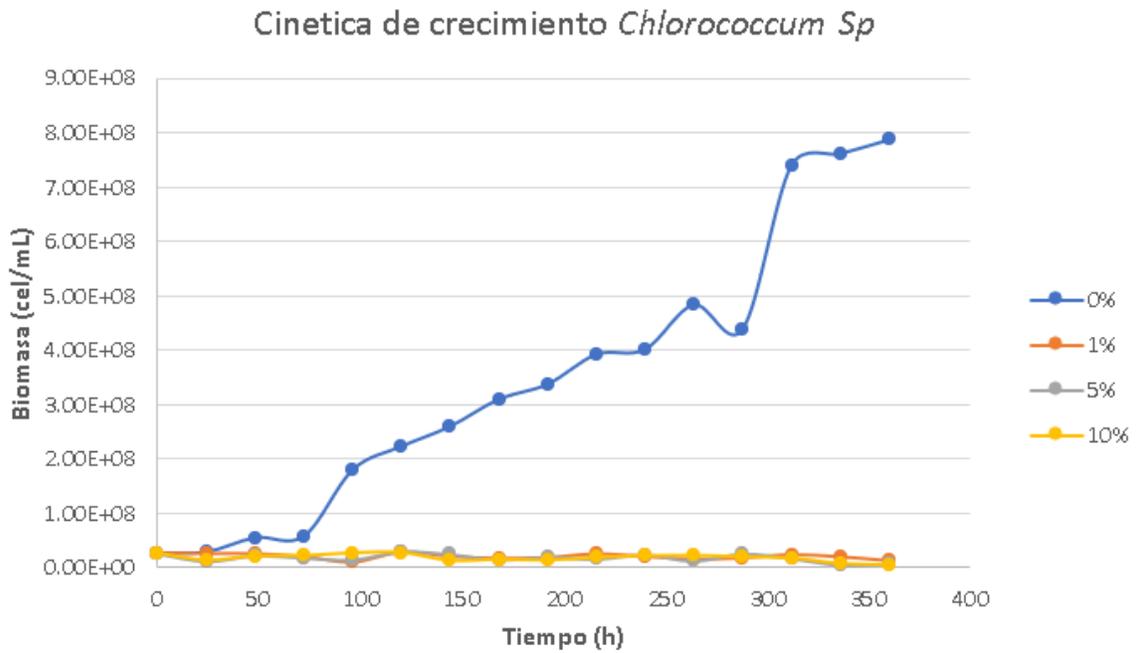
Cuadritos vrs cuadros:
 25 cuadritos = 1 cuadro grande
 Equiparar conteos de cuadritos a cuadro grande: $Cel\ totales\ en\ 5\ cuadritos * 5 = cel/cuadro$



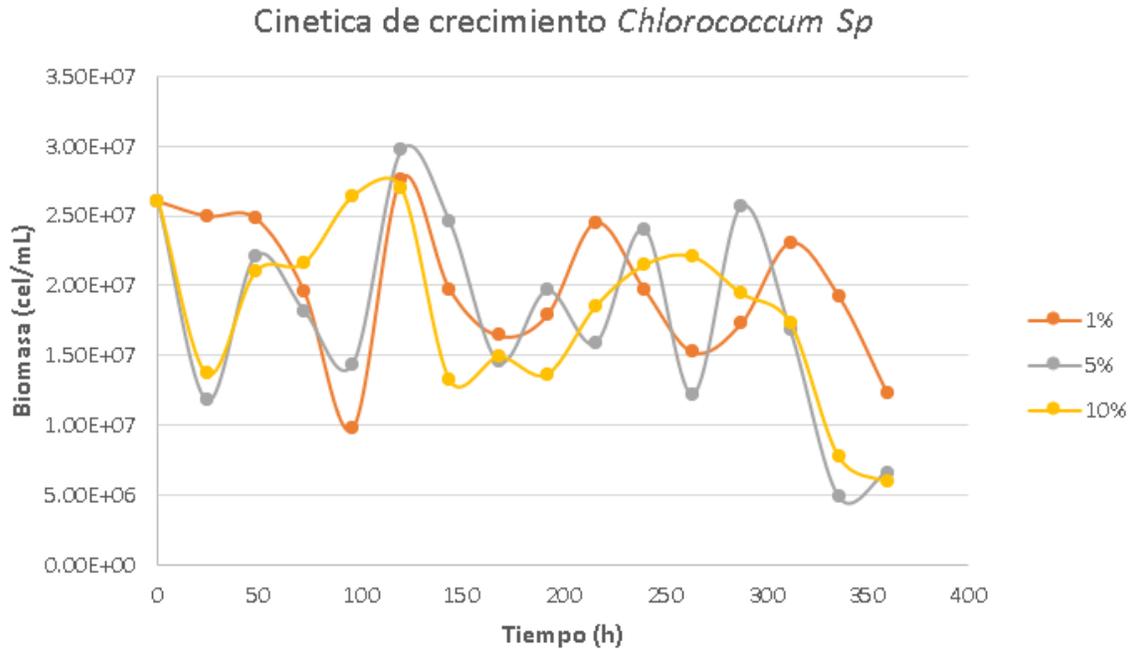
Cinética en matraces a distintas concentraciones de diésel



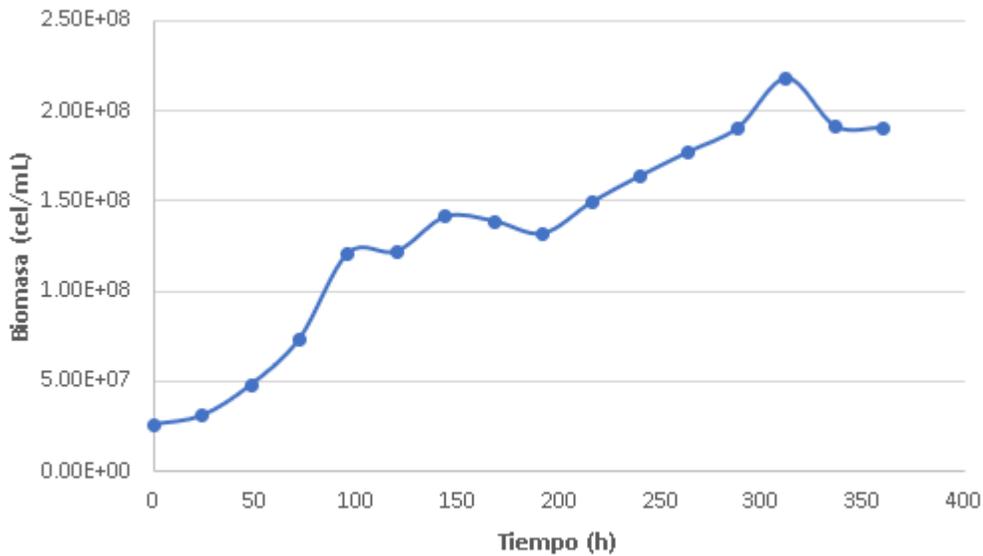
Cinética en reactor *Pectinodesmus pectinatus*



Cinética en matraces a distintas concentraciones de diésel



Cinética en matraces a distintas concentraciones de diésel (Exponentes mas bajos)



*Cinética en reactor *Chlorococcum Sp**

En el caso específico de *Pectinodesmus* logramos observar el punto mas bajo y alto en la concentración más alta de diésel, esto se puede a deber a la inicial depresión en concentración molecular que pudo contar con una generación que se adapto brevemente al agente externo, pero que, al llegar a su culmen y a la

final de recursos, simplemente termino por entrar a la fase de eliminación, por lo contrario en el lado de Chlorococcum pudimos presenciar el intento de la microalga por adaptarse al agente contaminante, teniendo valores mas constantes en las de concentración del 1% de diésel, con respecto a las cinéticas normales por parte de las dos especies, se oportuno en conseguir llegar a la etapa estacionaria del desarrollo de las mismas, siendo que solo en pectinodesmus se pudo alcanzar de una manera normal, se podría interpretar que Chlorococcum cuenta con pequeñas fases estacionarias, pero que sin embargo logra llegar a partir del día 15 en reactor siendo eso efecto tal vez del esfuerzo de corte en la agitación.

7. CONCLUSIONES DEL PROYECTO Y RECOMENDACIONES

La aplicación del uso de biorreactores constata diferencias incluso partiendo de pautas similares, aunque claro la mayor diferencia se reconoce en la especie y su forma de desarrollarse con el diésel, una adaptándose en un breve periodo de tiempo y otra por su parte adaptándose en diferentes estancias, y teniendo un crecimiento poblacional más desproporcionado.

La realización de cinéticas más largas podría ciertamente proporcionar datos con mayor exactitud en su incidencia y relación con este tipo de agentes contaminantes.

Se recomienda preparar una cantidad de medio que pueda abastecer la cantidad de lecturas para un tiempo estimado más largo. Así como para las lecturas en cámara con diésel, centrifugar las muestras en tubos de ensayo y rellenar posteriormente con agua esterilizada destilada, ya que las burbujas de diésel podrían complicar el conteo, y de no ser agua estéril podrían encontrarse bacterias en el conteo. En caso de usar la centrifuga distribuir los pesos y de ser necesario pesarlás en una balanza.

Para la preparación de grandes cantidades de medio lo mejor sería preparar concentrados de un 1lt para diluir posteriormente en agua esterilizada destilada.

8. COMPETENCIAS DESARROLLADAS

En el transcurso del trabajo realizado Tolerancia de microalgas al diésel para su cultivo en fotobiorreactor de agitación mecánica se han implementado diversas capacidades y prácticas que forman parte de mi proyecto de formación.

Uso de equipos e instrumentos del laboratorio:

- Microscopio
- Espectrofotómetro
- Fotobiorreactor
- Centrifuga
- Autoclave
- Campana UV

Medición de parámetros de laboratorio:

- Temperatura
- Clorofila
- Biomasa
- pH

Habilidades técnicas:

- Diseño de cinéticas microalgales
- Elaboración de distintos medios de cultivo
- Uso adecuado de fotobiorreactor

En conclusión, este proyecto me ha beneficiado en mi ámbito académico al brindarme habilidades y capacidad para manejar diversas prácticas relacionadas al ámbito laboratorio, así como a la hora de brindar experiencia, mejorar mis técnicas y habilidades desarrollados a lo largo de mi carrera y residencia.

FUENTES DE INFORMACIÓN

- Abalde, J., Cid, A., Fidalgo, P., Torres, E. & Herrero, C. (2000). *Microalgas: Cultivo y Aplicaciones*. 1ª Edición. Editorial Universidade da Coruña.
- Doncel, J. & Moreno, H. (2017). Evaluación de la influencia de la agitación para la producción de biomasa microalgal en un FBR panel plano a escala laboratorio. [Tesis profesional, Fundación Universidad América: Facultad de Ingenierías].
- Doran, P. (2013). *Principios de la Ingeniería de Bioprocesos*. 2ª Edición. Editorial Academic Press.
- Guzmán, J., Ación, F., Berenguel, M. (2021). Modelado y control de la producción de microalgas en fotobiorreactores industriales. *Revista Iberoamericana de Automática e Informática Industrial (18)2*, 1-18. <https://doi.org/10.4995/riai.2020.13604>.
- Manzoni, M., Montenegro, C. & Martínez, A. (2021). Perspectivas sobre los sistemas de cultivo de microalgas: una revisión crítica. *Biotecnología*, (25)5.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological profile for fuel oils. (Atlanta (Georgia): U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service). 1995
- Flores Puente, M. A., Torras Ortiz, S., & Téllez Gutiérrez, R. Medidas de mitigación para uso de suelos contaminados por derrames de hidrocarburos en infraestructura de transporte terrestre. 2004.
- Plaza, David. «El gasóleo o gasoil: propiedades y tipos». Motor. España. 2019.
- Viñas, Marc. Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica. 2005

- Tejas G. & Ayala A. (2017) Determinación de la curva de crecimiento de CHLOROCOCCUM SP., en función de la concentración de nitrógeno. *Jóvenes en la ciencia*, 3 (1), 154-158. <http://repositorio.ugto.mx/handle/20.500.12059/3402>
- García K. & Novoa J. (2019) Impacto en la producción de lípidos por *scenedesmus dimorphus* en medio de cultivo BG-11 suplementado con vitamina B3 o Vitamina B9. [Tesis de grado para licenciatura] Udistrial. Repositorio de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas. <http://hdl.handle.net/11349/22262>
- Lorenzana J. (2019) Determinación de cinéticas de crecimiento de microalgas para su escalamiento a biorreactor. [Reporte final de residencia profesional] Repositorio institucional del Tecnológico Nacional de México / Campus Tuxtla Gutiérrez. <http://repositoriodigital.tuxtla.tecnm.mx/xmlui/bitstream/handle/123456789/3355/MDRPIBQ2018046.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Leitón Y. (2018) Producción de *Haematococcus pluvialis* en un biorreactor tecferm de 5 L en medios de cultivo RM y BBM. [Trabajo de grado - pregrado] Uicolmayor. Repositorio de la universidad colegio mayor de Cundinamarca. <https://repositorio.unicolmayor.edu.co/handle/unicolmayor/3701>