

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE LA MIXTECA División de Estudios de Posgrado

MANUFACTURA DE UN FOTOBIORREACTOR TIPO "AIRLIFT" PARA MEJORAR LA EFICIENCIA PRODUCTIVA EN LA GENERACIÓN DE BIOMASA ALGAL

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE: MAESTRO EN TECNOLOGÍA AVANZADA DE MANUFACTURA

> PRESENTA: ING. GERARDO BALLESTEROS BRISEÑO

> > DIRECTOR DE TESIS: DR. CONRADO AGUILAR CRUZ

CO-DIRECTOR: M.C. MOISÉS MANZANO HERRERA

HEROICA CIUDAD DE HUAJUAPAN DE LEÓN, OAX., DICIEMBRE DEL 2019.

DEDICATORIA

Esta Tesis está dedicada a:

A mis padres Gerardo y Ana Glenda quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades porque Dios está conmigo siempre.

A mi Hermano Josué, mis amigos Ramón y Eduardo que son también parte de mi familia, gracias por estar conmigo en todo momento.

A mis amigos de la Licenciatura, Adrián, Leonardo, José y Diego, muchas gracias por las palabras de aliento, los ánimos y su apoyo incondicional en esta etapa de mi vida.

A Fabiola, por el apoyo en todo este proceso, el cual sabe que no ha sido fácil pero que ha estado conmigo a lo largo de este proceso.

Finalmente quiero dedicar esta tesis a todos mis amigos y compañeros de la maestría, con los cuales compartí dos años de grandiosas experiencias y amistad.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a:

La Universidad Tecnológica de la Mixteca, por la oportunidad formativa como estudiante de uno de sus programas de posgrado.

La División de Estudios de Posgrado al que pertenece la Maestría en Tecnología Avanzada de Manufactura por todo el apoyo recibido.

La Coordinación de la Maestría en Tecnología Avanzada de Manufactura y de la Jefatura de Ingeniería Industrial por el acompañamiento durante el proceso formativo de los estudios de maestría.

Al programa para el desarrollo profesional docente, tipo superior (PRODEP) "Apoyo de fomento a la generación o aplicación innovadora del conocimiento" bajo el rubro de "beca para estudiante" por el estímulo económico otorgado.

A los sinodales revisores Dr. Mario Márquez Miranda, Dr. José Alfredo Carazo Luna, la Dra. Orquídea Sánchez López, Mtro. Carlos Vázquez Cid de León y Mtro. Salvador Montesinos González, por leer el documento y realizar observaciones puntuales que contribuyeron al mejoramiento del contenido.

Al Dr. Conrado Aguilar Cruz por su dirección oportuna en el desarrollo del trabajo de investigación.

Al Co-Director Mtro. Moisés Manzano Herrera por guiar oportunamente cada etapa del proyecto compartiendo su experiencia y visión.

A mis compañeros de la Maestría en Tecnología Avanzada de Manufactura por compartir experiencias y el apoyo brindado en estos años de formación académica.

RESUMEN

La presente investigación se ubica dentro de un contexto más general, que tiene que ver con el incremento considerable de la demanda energética y la presión que ejerce sobre los recursos no renovables que se agotan rápidamente.

La situación descrita conduce a proponer mejoras de las tecnologías encaminadas a generar fuentes alternativas de energía como las energías renovables provenientes del agua, viento, energía geotérmica y la bioenergía.

Este estudio se enfoca sobre la bioenergía, específicamente sobre variables clave que afectan los sistemas de cultivo de microalgas en el proceso de obtención de biomasa algal como el flujo de aire, bioincrustaciones de microalgas en las paredes, tiempo de preparación del cultivo, concentración celular y hermeticidad.

La metodología utilizada consistió, en la revisión documental especializada sobre el tema y el estado del arte para adentrarse de lleno al tema, luego se realizaron pruebas al prototipo que se tenía ensamblado, se detectaron áreas de mejora; con estas observaciones se rediseñó y manufacturó un fotobiorreactor de panel ondulado tipo airlift.

Los resultados indican una mejora de la eficiencia del mezclado debido a que la geometría hecha logra adecuar el flujo de aire para realizar un buen mezclado dando como resultado un aumento en la concentración celular que fue de 2.1985 x10⁷, en comparación con el prototipo PBR – GRRC17 que obtuvo una concentración de 1.67 x10⁷ de manera cualitativa se logra determinar la reducción de bioincrustaciones de microalgas que se obtuvo de un tratamiento de imágenes a las paredes del fotobiorreactor una vez vacío, un proceso que ayuda a la puesta en marcha en el cual se disminuyen los contaminantes, además de la concentración celular, se obtuvo un mayor índice de peso seco, teniendo como resultados en las nuevas pruebas un peso de 700 mg, en retrospectiva con el prototipo PBR – GRRC17 que fue de 445 mg y cualitativamente se verifica la eliminación de fugas y cero contaminaciones del cultivo.

ÍNDICE

RESUMEN	4
INTRODUCCIÓN	9
CAPÍTULO 1. MARCO DE REFERENCIA	12
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
1.2 JUSTIFICACIÓN	13
1.3 OBJETIVOS	14
1.4 METAS	15
1.5 LIMITACIONES DE LA TESIS	15
CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO	16
2.1 ENERGÍAS RENOVABLES	16
2.2 BIONERGÍA	17
2.3 MICROALGAS	19
2.4 VARIABLES QUE AFECTAN EN EL CULTIVO DE MICROALGAS	23
2.4.1 Efecto de la concentración de nutrientes	23
2.4.2 Efecto de la fuente de carbono	23
2.4.3 Efecto de la luz	24
2.4.4 Efecto de la temperatura	25
2.4.5 Potencial hidrógeno (pH)	26
2.5 SISTEMAS DE CULTIVO DE MICROALGAS	26
2.5.1 Definición de un fotobiorreactor	27
2.5.2 Tipos de fotobiorreactores	28
2.5.3 Fotobiorreactores tipo airlift	30
2.6 ESTADO DEL ARTE	33
2.7 PROCESO DE TERMOFORMADO	36
2.7.1 Termoformado al vacío	36
2.7.2 Termoformado a presión	37
2.9 INGENIERÍA ASISTIDA POR COMPUTADORA	38
CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA	40
3.1 Pruebas del prototipo PBR – GRRC17	42
3.2 Curvas de Calibración	46

3.3 Rediseño	48
3.3.1 Trabajos previos	48
3.3.2 Propuestas y selección de diseño	49
3.3.3 Análisis de propuestas	50
3.3.3.1 Simulación estática	51
3.3.3.2 Simulación de fluidos	53
CAPÍTULO 4. ENSAMBLE Y PUESTA EN MARCHA	55
4.1 Proceso de manufactura	55
4.1.1 Maquinaria y herramientas para la manufactura del fotobiorreactor	55
4.1.2 Materiales para componentes del fotobiorreactor	56
4.1.3 Parámetros de operación para la maquinaria a utilizar	57
4.1.3 Proceso de termoformado	62
4.1.4 Ensamble del fotobiorreactor	63
4.2 Puesta en marcha	64
CAPÍTULO 5. RESULTADOS	66
5.1 Concentración celular	66
5.2 Hermeticidad del fotobiorreactor	66
5.4 Tiempos de preparación	68
5.5 Curvas de Calibración	70
5.6 Cinética de crecimiento	73
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES	74
6.1 Conclusiones	74
6.2 Trabajos futuros	75
ANEXOS	79
Anexo 1. Códigos de maquinado para ambos moldes de termoformado.	79
Anexo 2. Tablas de resultados prototipo PBR-GRRC17.	80
Anexo 3. Resultados obtenidos de las pruebas a las diluciones.	81
Anexo 4. Curvas de correlación de los resultados obtenidos a las pruebas de laboratorio con las diluciones.	87

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Contenido lipídico de algunas microalgas [1]	. 22
Tabla 2. Comparación de sistemas de cultivo para microalgas [13]	. 30
Tabla 3. Promedios de las pruebas a las diluciones	. 47
Tabla 4. Herramientas utilizadas	. 56
Tabla 5. Componentes del fotobiorreactor	. 56
Tabla 6. Parámetros de la maquinaría a utilizar	. 57
Tabla 7. Orden de operaciones de procesos por cada pieza	. 58
Tabla 8. Diagrama de flujo de proceso.	. 59
Tabla 9. Tabla de componentes a fabricar	. 62
Tabla 10. Ficha técnica de la termoformadora.	. 63
Tabla 11. Tiempos para la puesta en marcha del fotobiorreactor	. 69
Tabla 12. Promedios de las pruebas realizadas en laboratorio	. 70
Tabla 13. Prueba de absorbancia	. 80
Tabla 14. Prueba de color (L*).	. 80
Tabla 15 Prueba de color (a*).	. 80
Tabla 16. Prueba de color (b*)	. 80
Tabla 17. Resultados de pruebas indirectas para la dilución 1:50	. 81
Tabla 18. Resultados de pruebas indirectas para la dilución 1:20	. 81
Tabla 19. Resultados de pruebas indirectas para la dilución 1:10	. 81
Tabla 20. Resultados de pruebas indirectas para la dilución 1:5	. 81
Tabla 21. Resultados de pruebas indirectas para la dilución 1:3	. 82
Tabla 22.Resultados de pruebas indirectas para la dilución 1:2	. 82
Tabla 23. Resultados de pruebas indirectas para la dilución 1:1	. 82
Tabla 24. Resultados de pruebas indirectas para el inóculo sin diluir	. 82
Tabla 25. Resultados de peso seco para la dilución 1:50.	. 83
Tabla 26. Resultados de peso seco para la dilución 1:20	. 83
Tabla 27. Resultados de peso seco para la dilución 1:10	. 83
Tabla 28. Resultados de peso seco para la dilución 1:5	. 83
Tabla 29. Resultados de peso seco para la dilución 1:3	. 83
Tabla 30. Resultados de peso seco para la dilución 1:2	. 84
Tabla 31. Resultados de peso seco para la dilución 1:1	. 84
Tabla 32. Resultados de peso seco para el inóculo sin diluir	. 84
Tabla 33. Resultados del conteo celular para la dilución 1:50	. 84
Tabla 34. Resultados del conteo celular para la dilución 1:20	. 85
Tabla 35. Resultados del conteo celular para la dilución 1:10	. 85
Tabla 36. Resultados del conteo celular para la dilución 1:5	. 85
Tabla 37. Resultados del conteo celular para la dilución 1:3	. 85
Tabla 38. Resultados del conteo celular para la dilución 1:2	. 86
Tabla 39. Resultados del conteo celular para la dilución 1:1	. 86
Tabla 40. Resultados del conteo celular para el inóculo sin diluir	. 86

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentajes de biomasa primaria para la generación de energía mundial [3]	. 17
Figura 2. Clasificación de los biocombustibles [7].	. 18
Figura 3. Fotobiorreactor tubular [16]	. 28
Figura 4. Reactor airlift [21]	. 29
Figura 5. Partes características de un reactor airlift [12]	. 32
Figura 6. Termoformado al vacío [27].	. 37
Figura 7. Termoformado a presión [27].	. 38
Figura 8. Termoformado con moldes positivos [27]	. 38
Figura 9. Metodología utilizada	. 40
Figura 10. Grieta del prototipo 1	. 43
Figura 11. Fuga a falta de hermeticidad	. 43
Figura 12. Bioincrustaciones.	. 44
Figura 13. Comparación de las placas de acrílico.	. 45
Figura 14. Celda fabricada para el estudio de PAR	. 47
Figura 15. Prototipo de Fotobiorreactor de panel ondulado	. 49
Figura 16. Geometría del fotobiorreactor de panel ondulado	. 49
Figura 17. Propuestas de rediseño	. 50
Figura 18. Simulación de desplazamientos	. 52
Figura 19. Simulación de deformaciones.	. 52
Figura 20. Recorrido del aire dentro del FBR	. 53
Figura 21. Estructura metálica	. 64
Figura 22. Atornillado de la estructura	. 64
Figura 23. Estructura del fotobiorreactor.	. 65
Figura 24. Bioincrustaciones generadas en el prototipo 1	. 67
Figura 25. Bioincrustaciones generadas en el prototipo 2	. 68
Figura 26. Correlación entre la absorbancia y el conteo celular	. 71
Figura 27. Correlación entre la absorbancia y el peso seco	. 72
Figura 28. Cinética de crecimiento	. 73
Figura 29. Gráfica de correlación entre peso seco y PAR	. 87
Figura 30. Gráfica de correlación entre conteo celular y PAR	. 87
Figura 31. Gráfica de correlación entre peso seco y absorbancia	. 88
Figura 32. Gráfica de correlación entre conteo celular y absorbancia	. 88
Figura 33. Gráfica de correlación entre peso seco y L*	. 89
Figura 34. Gráfica de correlación entre conteo celular y L*	. 89
Figura 35. Gráfica de correlación entre peso seco y a*	. 90
Figura 36. Gráfica de correlación entre conteo celular y a*	. 90
Figura 37. Gráfica de correlación entre peso seco y b*	. 91
Figura 38. Gráfica de correlación entre conteo celular y b*	. 91

INTRODUCCIÓN

El objetivo de esta investigación es mejorar la eficiencia productiva de un fotobiorreactor tipo airlift para la generación de biomasa algal, a través del análisis del proceso de manufactura del prototipo PBR-GRRC17 basado en una geometría previamente determinada, para la mejora del mezclado, hermeticidad, concentración celular, bioincrustaciones y tiempos de preparación.

Una tendencia actual, a nivel mundial, es la búsqueda de combustibles más limpios y nuevas fuentes de energía de baja emisión de carbono, entre las que se encuentran la energía solar, la térmica, la hidroeléctrica, la geotérmica, la eólica y los biocombustibles; las cuales están siendo evaluadas y se encuentran en diferentes fases de estudio y aplicación [1]. De acuerdo con datos del Banco Mundial la demanda de energía per cápita es de 3.128401 kWh [2] y con base en los resultados del informe especial sobre fuentes de energía renovables y mitigación del cambio climático emitido por la ONU (2011), se tiene que las energías renovables satisfacen el 12.9 % de la demanda actual, de la cual, la bioenergía cubre el 10.2 % [3].

En este contexto, mediante la presente propuesta de mejora de las tecnologías encaminadas a generar fuentes alternativas de energía, como las energías renovables, se espera contribuir a la producción más eficiente de bioenergía a base de microalgas y, en esta medida aportar a la reducción de emisiones de gases de efecto invernadero y, por lo tanto, al cuidado del medio ambiente.

Este proyecto tiene como punto de partida el prototipo PBR – GRRC17, el cual es un fotobiorreactor tipo airlift de panel ondulado para el cultivo de microalgas; este prototipo mejoró el aprovechamiento de la luz, el CO₂ y los nutrientes disueltos en el medio. Su funcionamiento en relación con fotobiorreactores similares presenta una innovación en la reducción de las bioincrustaciones en las paredes. Fue diseñado y manufacturado por un equipo de trabajo del Cuerpo Académico UTMIX-CA-37 de la Universidad Tecnológica de la Mixteca con la participación de estudiantes.

Sin embargo, todavía se detectaron áreas de mejora con respecto al flujo de aire, bioincrustaciones de microalgas en las paredes, tiempo de preparación del cultivo, crecimiento y concentración celular, así como de hermeticidad. A partir de dichas observaciones, este trabajo de investigación propuso un rediseño al prototipo de fotobiorreactor tipo airlift de panel ondulado, además el ensamble y se realizaron pruebas finales de su desempeño.

Los resultados indican una mejora de la eficiencia del mezclado debido a que la geometría hecha logra adecuar el flujo de aire para realizar un buen mezclado dando como resultado un aumento en la concentración celular que fue de 2.1985 x10⁷, en comparación con el prototipo PBR – GRRC17 que obtuvo una concentración de 1.67 x10⁷ de manera cualitativa se logra determinar la reducción de bioincrustaciones de microalgas que se obtuvo de un tratamiento de imágenes a las paredes del fotobiorreactor una vez vacío, un proceso que ayuda a la puesta en marcha en el cual se disminuyen los contaminantes, además de la concentración celular, se obtuvo un mayor índice de peso seco, teniendo como resultados en las

nuevas pruebas un peso de 700 mg, en retrospectiva con el prototipo PBR – GRRC17 que fue de 445 mg y cualitativamente se verifica la eliminación de fugas y cero contaminaciones del cultivo.

El documento tiene la siguiente estructura: el primer capítulo, presenta el marco de referencia, en el que se plantea el problema de investigación, la justificación del proyecto y se definen los objetivos y metas pertinentes para este trabajo. En el segundo capítulo se construye el marco teórico, en este apartado se describe el panorama actual de las energías renovables, la importancia de la bioenergía a nivel mundial y el uso de las microalgas para la generación de biomasa, se conceptualizan los sistemas de cultivos, además de revisar los tipos de fotobiorreactores actuales y las variables que afectan al crecimiento de las microalgas, por último, se puntualizan las herramientas del campo de las tecnologías avanzadas de manufactura que nos ayudarán a realizar este proyecto. En el tercer capítulo se describen los pasos en la realización de este proyecto de investigación, los diferentes métodos de estudio, herramientas y conocimientos adquiridos en la maestría en tecnología avanzada de manufactura. El cuarto capítulo consta de la parte del rediseño del fotobiorreactor, allí se describen los puntos a mejorar del prototipo PBR – GRRC17 y se propone un nuevo diseño para corregir los problemas encontrados. En el capítulo cinco se describe el proceso de manufactura realizado. Por último, en el capítulo seis, se presentan los resultados y las conclusiones, lo mismo que, los futuros trabajos de investigación.

CAPÍTULO 1. MARCO DE REFERENCIA

Este capítulo contiene cinco apartados: planteamiento del problema, justificación, objetivos, metas y limitaciones de la investigación.

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En las últimas décadas la demanda energética a nivel mundial crece considerablemente, al mismo tiempo que las fuentes de energía no renovables se agotan. La situación descrita plantea un problema energético que las fuentes de energía renovables, a pesar de ofrecer grandes promesas, aún se encuentran lejos de resolver. Actualmente, hay un proceso de mejora continua en las diversas tecnologías de generación de energías renovables. Por eso es por lo que investigadores de diversos países están comprometidos en desarrollar fuentes de energía alternativas basadas en el aprovechamiento del viento [4], la energía solar [5], energía geotérmica [6] y la biomasa para biocombustibles [3]. La producción de biocombustibles, en especial a base de microalgas, puede reducir la dependencia actual que se tiene hacia las fuentes de energía no renovables [7].

En la actualidad existen dos sistemas básicos para la producción de biomasa, los sistemas abiertos en los que el cultivo está expuesto a la atmósfera y los sistemas cerrados, en los que se encuentran los fotobiorreactores (FBR), donde el cultivo tiene poco o ningún contacto con la atmósfera [8]. Sin embargo, las tecnologías de producción de biomasa en fotobiorreactores aún están en un proceso de pruebas y sigue siendo muy costoso producir grandes volúmenes de biomasa, que permitan satisfacer la demanda de materia prima para elaborar biocombustibles.

Con base en lo anterior, el Cuerpo Académico UTMIX-CA-37 de la Universidad Tecnológica de la Mixteca, con participación de estudiantes de Ingeniería Industrial, se desarrolló un prototipo de fotobiorreactor tipo airlift de panel ondulado (prototipo PBR – GRRC17) para el cultivo de microalgas. No obstante, el prototipo mencionado, aún presenta algunas áreas de oportunidad para mejorar, las cuales se abordaron en este proyecto mediante un rediseño a dicho prototipo.

En esta investigación se trabajó en la optimización del diseño y operación del fotobiorreactor propuesto, específicamente sobre la incidencia de la luz, la presión del aire y la mejora que el propio diseño puede ofrecer para el mezclado de nutrientes y el rompimiento de burbujas, lo cual ayudará al incremento de la eficiencia del proceso del cultivo de microalgas para la obtención de biomasa, reduciendo los costos de producción al obtener un mayor volumen de biomasa en comparación con los diseños actuales de fotobiorreactores.

1.2 JUSTIFICACIÓN

Todas las sociedades requieren de servicios energéticos para cubrir las necesidades humanas básicas (por ejemplo, de alumbrado, cocina, ambientación, movilidad, y comunicación) y para asegurar los procesos productivos. Para un desarrollo sostenible, el suministro de servicios energéticos deberá ser seguro y tener un impacto medioambiental bajo [3]. En este contexto, el desarrollo de tecnologías orientadas al cuidado del ambiente, a la reutilización de los residuos y a la generación de energías limpias de bajo costo se ha tornado indispensable [10]. Es por esta razón que existe una tendencia por parte de varios países hacia la

investigación de energías alternativas, lo cual genera una gran expectación para satisfacer la demanda actual de energéticos a nivel mundial.

El estudio sobre cultivos de microalgas adquiere protagonismo, al ser considerados eco-amigables (ecofriendly process) [10], aunque en nuestro país la investigación respecto a sistemas de cultivo de microalgas mediante fotobiorreactores es limitada en comparación con la investigación desarrollada en países como España [11], Colombia [12] y Canadá [13], representa una gran oportunidad para aportar al desarrollo de la tecnología que nos ayude a satisfacer parte de la demanda actual que tiene México en materia de energéticos.

A pesar de la gran utilidad que representa el uso de fotobiorreactores, todavía se trabaja en mejorar parámetros que permitan incrementar la eficiencia productiva del proceso de cultivo de microalgas.

1.3 OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Manufacturar un fotobiorreactor de panel ondulado tipo airlift para cultivo de microalgas que aumente la generación de biomasa algal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Mejorar el aprovechamiento de la luz, y los nutrientes disueltos en el medio a través del rediseño e incremento en la eficiencia de mezclado.
- Manufacturar un fotobiorreactor para el cultivo para microalgas tipo airlift.

- Obtener mediciones con el sensor de PAR, para correlacionar esta variable con las pruebas hechas al fotobiorreactor.
- Evaluar el diseño del fotobiorreactor para obtener un mezclado eficiente del proceso en la obtención de biomasa para incrementar la eficiencia productiva.
- Evaluar la eficiencia productiva del sistema de cultivo para la generación de biomasa algal.

1.4 METAS

- Realizar el estado del arte de las tecnologías actuales para la producción de biomasa.
- Determinar las variables que a evaluar para las pruebas del fotobiorreactor.
- Realizar las pruebas adecuadas para evaluar el desempeño del diseño propuesto.
- Ensamblar un fotobiorreactor de acuerdo con las especificaciones y parámetros determinados.

1.5 LIMITACIONES DE LA TESIS

El presente trabajo se centra en la manufactura de un fotobiorreactor del tipo airlift, no pretende usar algún otro tipo de fotobiorreactor actual, la innovación se pretende realizar mediante la geometría del diseño propuesto.

A pesar de ser un sistema de cultivo cerrado para microalgas, las pruebas a realizar serán exclusivamente a la cepa de microalga *chlorella sp.*

CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO

En este apartado se revisa el estado actual de las energías renovables, la bioenergía y los sistemas de cultivo para microalgas. Se definen los tipos de fotobiorreactores y se mencionan las variables de estudio que se evaluarán en este proyecto. De igual manera se mencionan cuestiones referentes a la tecnología avanzada de manufactura, como procesos o herramientas que ayudarán en el desarrollo del proyecto.

2.1 ENERGÍAS RENOVABLES

Se denomina energía renovable a todo tipo de energía procedente de fuentes solares, geofísicas o biológicas que se renuevan mediante procesos naturales a un ritmo igual o superior al de su utilización. La energía renovable se obtiene de los flujos de energía constantes o repetitivos que están presentes en el medio ambiente natural, y abarca recursos tales como la biomasa, la energía solar, el calor geotérmico, la energía hidroeléctrica, la energía mareomotriz y del oleaje, la energía térmica oceánica y la energía eólica [14]. Sin embargo, es posible utilizar biomasa con mayor rapidez de la que ésta se acumula, o extraer calor de un campo geotérmico a un ritmo mayor del de reposición. Por otra parte, la tasa de utilización de la energía solar directa no influye en las cantidades de la que viene a parar a nuestro planeta. Los combustibles fósiles (carbón, petróleo, gas natural) no responden a esta definición, ya que no se renuevan en un período de tiempo breve en comparación con su tasa de utilización [3].

2.2 BIONERGÍA

La bioenergía se define como la manera de generar energía a partir de biomasa: "materia viva" o derivada de seres vivos [15]. La bioenergía está integrada de manera compleja en los sistemas mundiales de biomasa que producen alimentos, piensos, fibra y productos forestales, así como en la gestión de desechos y residuos. Tal vez, más importante sea que la bioenergía cumple una función decisiva y está íntimamente vinculada a los medios de subsistencia cotidianos de miles de millones de personas en los países en desarrollo. En la Figura 1 se ilustran los tipos de biomasa primaria utilizados para obtener bioenergía a nivel internacional [3].



Figura 1. Porcentajes de biomasa primaria para la generación de energía mundial [3]. La bioenergía incluye un amplio rango de productos como combustible, por lo cual los biocombustibles se clasifican en biocombustibles naturales, biocombustibles primarios y biocombustibles secundarios, tal como se muestra en la Figura 2 [7].



Figura 2. Clasificación de los biocombustibles [7].

A pesar de su potencial, los biocombustibles de primera generación poseen notables preocupaciones económicas, ambientales y políticas. La cuestión más alarmante asociada con los biocombustibles de primera generación es que, con el aumento de la capacidad de producción, se necesitan más tierras agrícolas cultivables para la producción de materias primas de biocombustibles de primera generación, lo que resulta en una importante reducción de tierras destinadas a la producción de alimentos para el consumo humano y animal, razón por la cual no resultan viables para la producción de biocombustibles [7].

Por otra parte, las principales fuentes de biocombustibles de segunda generación son predominantemente residuos agrícolas, residuos (por ejemplo, ramas recortadas, hojas, pajillas, astillas de madera, etc.), residuos forestales, sin embargo, la conversión de la biomasa leñosa en azúcares fermentables requiere tecnologías sofisticadas y costosas para el pretratamiento con enzimas especiales [13] que hacen que los biocombustibles de segunda generación no sean económicamente rentables para la producción comercial.

Por lo tanto, los biocombustibles de tercera generación resultan ser más viables, debido a que el componente principal de los biocombustibles de tercera generación son las microalgas como se muestra en la Figura 2. Actualmente se considera que es un recurso factible alternativo de energía renovable para la producción de biocombustibles, superando las desventajas de los biocombustibles de primera y segunda generación. El potencial para la producción de biodiesel a partir de microalgas es de 15 a 300 veces más que los cultivos tradicionales sobre una base de área. Además, en comparación con las plantas de cultivo convencionales que suelen cosecharse una o dos veces al año, las microalgas poseen un ciclo de recolección muy corto (de 1 a 10 días dependiendo del proceso), permitiendo la cosecha múltiple o continua con rendimientos significativamente incrementados [7].

2.3 MICROALGAS

Las microalgas son microorganismos (2-200 µm) unicelulares que tienen la capacidad de realizar la fotosíntesis, están compuestas, básicamente, por proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos y ácidos grasos. Los ácidos grasos se encuentran en las membranas, en los productos de almacenamiento, metabolitos, etc. En algunas especies, los ácidos grasos representan el 40% de su peso seco. En primera instancia para la producción de biodiesel se requieren microalgas que contengan un alto contenido en lípidos y que sean fácilmente cultivables. Las

mejores algas para producir biodiesel son las microalgas con un diámetro menor a 0.2 mm, ya que producen más aceite y crecen de forma más rápida y fácil que las macroalgas [16].

El contenido de lípidos de las microalgas varía considerablemente de una especie a otra, y puede variar, en términos de biomasa seca, entre el 5 y el 77% en peso. El perfil de ácidos grasos y la composición de los lípidos extraídos de una especie en particular se ven afectados por el ciclo de vida y las condiciones de cultivo, tales como la composición del medio, la temperatura, la intensidad de iluminación, la relación del ciclo de luz/oscuridad y la tasa de aireación. Algunas especies de microalgas pueden aumentar su contenido de lípidos entre un 10 al 20% en peso durante periodos de escasez de oxígeno. Las microalgas, generalmente, responden a la ausencia de nutrientes mediante la intensificación de la vía metabólica, que sintetiza lípidos neutros; sin embargo, este aumento de la producción de lípidos no ocasiona, por lo general, un aumento de la productividad de aceite por unidad de masa, ya que se realiza a menudo a costa de sacrificar la tasa de crecimiento y, por ende, la división celular.

No obstante, el contenido de aceite, por sí solo, no determina la productividad; la *Botryococcus braunii* puede alcanzar niveles de aceite del 75%, pero tiene una baja productividad de biomasa, y las microalgas más comúnmente usadas, como la *Chlorella vulgaris,* tienen contenido de aceite más bajos, pero alcanza productividades más altas. Debido a lo anterior, para la producción de biodiesel se requiere optimizar la producción de lípidos, examinando cada caso por separado, para establecer así las mejores condiciones de cultivo [16].

El desarrollo de la biotecnología microalgal ha permitido, no sólo el desarrollo a escala comercial de cultivos de diversas especies, sino la ampliación de la lista de aplicaciones farmacéuticas e industriales que de ellas se extraen. La microalga *Chlorella vulgaris* ha sido una de las especies más estudiadas en investigaciones relacionadas con la extracción de sustancias biológicamente activas, por las cualidades de su biomasa y la versatilidad de sus cultivos [17].

Las microalgas bajo condiciones normales de cultivo presentan un contenido de lípidos que por lo general varía entre el 20 y el 50 % de su peso seco [18], sin embargo, cuando son sometidas a situaciones de estrés, frecuentemente incrementan su fracción lipídica, por lo que se han reportado valores en rangos más amplios como se señala en la Tabla 1. Las especies predominantes de microalgas para la obtención de lípidos y su posterior conversión a biodiesel se encuentran dentro del grupo de las algas verdes. De acuerdo con el Instituto de Investigación en Energía Solar (SERI por sus siglas en inglés), las especies más prometedoras son Nannochloropsis salina y Dunaliella salina por su elevada concentración de ácidos grasos. De igual forma, el National Renewable Energy Laboratory (NREL) en Estados Unidos reportó que Dunaliella, Scenedesmus y Chlorella son los géneros más populares que se han cultivado con éxito a escala comercial para la obtención de biodiesel. En la Tabla 1 se presenta el porcentaje en peso de lípidos de algunas microalgas y se pueden apreciar diferencias significativas entre géneros y especies. Hasta el momento no se conoce una cepa de microalga capaz de satisfacer al mismo tiempo todos los requisitos que permitan considerarla como materia prima óptima para la producción de biocombustibles. En este sentido, es pertinente continuar con las pruebas que permitan identificar cepas adecuadas de microalga

para cultivo masivo y conocer su respuesta a diferentes condiciones de cultivo. En la producción comercial de microalgas resulta clave la adaptación de la cepa a su medio ambiente local, de tal forma que esta sea capaz de resistir tanto las condiciones ambientales como a los invasores locales, lo que constituye una clara ventaja de las cepas autóctonas sobre cepas introducidas, por tanto, el aislamiento y caracterización de cepas locales para la producción de biocombustibles debe ser considerado [1].

		Lípidos	
Tipo de Agua	Microalga	(%peso	
		seco)	
	Chlorella emersonii	63	
	Chlorella protothecoides	11-59	
	Chlorella pyrenoidosa	27	
	Chlorella sorokiniana	13-23	
	Chlorella saccharophila	18-54	
	Chlorella sp.	19-43	
	Chlorella vulgaris	15-58	
Dulce	Chlorella zofingiensis	51	
Duice	Haematococcus pluvialis	35	
	Neochloris oleoabundans	26-38	
	Scenedesmus dimorphus	31	
	Scenedesmus	9_10	
	incrassatulus	0-1Z	
	Scenedesmus obliquus	10-43	
	Scenedesmus rubescens	27-43	
	Scenedesmus sp.	7-53	
	Chlorella minutissima	57	
Salada	Chlorella sp.	35-52	
	Chlorella vulgaris	57	
	Dunaliella tertiolecta	24	
	Nannochloris sp.	40	
	Nannochloropsis oculata	8-54	
	Nannochloropsis sp.	24-60	
	Tetraselmis suecica	20-54	

Tabla 1. Contenido lipídico de algunas microalgas [1].

2.4 VARIABLES QUE AFECTAN EN EL CULTIVO DE MICROALGAS

A continuación, se mencionan diversas variables que tienen lugar dentro de un sistema de cultivo de microalgas, dichas variables intervienen entre sí para el crecimiento de las microalgas, razón por la cual es de vital importancia conocerlas.

2.4.1 Efecto de la concentración de nutrientes

Se ha demostrado que el nitrógeno es el principal regulador en el crecimiento y acumulación de lípidos. Cuando un cultivo es expuesto a una intensidad luminosa adecuada, pero con limitación de nutrientes, se disminuye la tasa de división celular (aunque se sigue convirtiendo energía solar en energía química), pero a menor velocidad y como mecanismo de supervivencia, entonces se desvía el flujo de carbono fijado por la fotosíntesis a síntesis de lípidos o carbohidratos [9]. Dado que la disminución de nutrientes limita el crecimiento celular, al momento de seleccionar las condiciones de cultivo que favorezcan la acumulación de lípidos, es necesario maximizar su productividad volumétrica para cada cepa.

2.4.2 Efecto de la fuente de carbono

Dependiendo del tipo de metabolismo utilizado por las microalgas para su crecimiento, la fuente de carbono puede ser orgánica (glucosa, acetato, glicerol, fructosa, entre otras), o inorgánica (CO₂). Los cultivos se dividen en grupos dependiendo de cómo utilizan el carbono y las fuentes de luz para realizar su proceso de obtención de lípidos, los cuales son: Fotoautotróficamente, las microalgas utilizan la luz como fuente de energía y el CO₂ como fuente de carbono

para obtener energía química a través de la fotosíntesis [19]; heterotróficamente, las microalgas en ausencia de luz utilizan solo compuestos orgánicos como fuente de carbono y energía; mixotróficamente, utilizan carbono orgánico e inorgánico como fuente de carbono y captan la energía de la luz y del carbono orgánico [17]. La principal diferencia entre cultivos mixotróficos y fotoheterotróficos es que estos últimos requieren de luz para la incorporación del carbono orgánico. Por lo tanto, este tipo de cultivo necesita de luz y azúcares al mismo tiempo, la utilización de este tipo de cultivo para la producción de lípidos en microalgas es poco común.

Las microalgas fotoautótrofas pueden fijar CO₂ de tres fuentes diferentes: de la atmósfera, de los gases exhaustos de la industria o en forma de carbonatos solubles como Na₂CO₃ y NaHCO₃. La concentración de CO₂ en la atmósfera es de 0,03 - 0,06 % (0,36 mg/ml) y la mayoría de las microalgas pueden tolerar niveles más elevados de CO₂, por lo general hasta 150 mg/ml, por lo que los gases de combustión de plantas de energía, que contienen hasta en 15% de CO₂, pueden ser alimentados al medio de cultivo de las microalgas [1].

2.4.3 Efecto de la luz

Un aspecto importante para considerar en el cultivo de una especie microalgal, para la producción de biocombustibles, es sí la acumulación de lípidos se ve afectada por la exposición del cultivo a diferentes regímenes de luz; por lo que es necesario considerar su intensidad, su calidad espectral y la necesidad de establecer un fotoperiodo. La intensidad luminosa influye notablemente en la actividad fotosintética, el contenido de pigmentos y composición química de la microalga.

Cultivos de *Scenedesmus obliquus* fueron inhibidos a valores superiores a 297,5 μ E/m².s y presentaron características similares, incluso en el perfil de ácidos grasos, a los cultivos heterótrofos, tendencia que se hizo más evidente al incrementar la cantidad de luz recibida, mientras que un aumento en la intensidad de 2000 a 8000 lux (39 - 156 μ E/m².s) favoreció el crecimiento de la microalga marina *Chlorella sp.*, pero el incremento hasta 10000 lux (195 μ E/m².s) lo disminuyó ligeramente, no así para *Nannochloropsis sp.* que creció en forma continua en todo el rango de luz evaluado (39 - 195 μ E/m².s) mostrando una gran capacidad de aclimatación a la luz Con respecto al contenido de lípidos, algunos reportes evidencian que la capacidad de acumulación de lípidos se ve reforzada al aumentar la intensidad de luz en cultivos como en *Haematococcus pluvialis* y *Nannochloropsis sp.* [1].

2.4.4 Efecto de la temperatura

La producción algal aumenta proporcionalmente con la temperatura hasta alcanzar la temperatura óptima de cada especie. Por encima de esta, aumenta la respiración y la fotorrespiración reduce la productividad global. La temperatura óptima varía entre las especies, pero en general está entre 28°C y 35°C.

En un sistema de cultivo cerrado, la temperatura se puede controlar por varios mecanismos, tales como rociadores de agua, inmersión del colector solar en piscinas, reactor dentro de un invernadero, etc. Por el contrario, en un sistema de cultivo abierto es muy difícil de controlar, aunque se pueden realizar ciertas acciones simples para disminuir el efecto, como cubrir los estanques con plásticos transparentes [10].

2.4.5 Potencial hidrógeno (pH)

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 CO₂. Como en los otros parámetros, cada especie necesita un rango determinado de pH que permita un crecimiento óptimo, siendo pH 8 el más indicado para especies dulceacuícolas. 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.

El pH puede controlarse con un sistema automatizado de inyección de CO₂, o incluso, con adicción de ácido o base permitiendo, además, suministrar CO₂ necesario para cultivos de alta productividad [1].

2.5 SISTEMAS DE CULTIVO DE MICROALGAS

Para el cultivo de microalgas actualmente se emplean dos sistemas de cultivo principales: sistemas abiertos en los que el cultivo está expuesto a la atmósfera, y sistemas cerrados, en los que se emplean diversos mecanismos que permiten controlar la exposición a dicha atmósfera [20].

Los sistemas de cultivo abiertos suelen tener un costo asociado menor tanto de construcción como de operación, en comparación con los sistemas cerrados. Sin

embargo, los sistemas abiertos necesitan más energía para agitar el agua y conseguir una mezcla más homogénea de nutrientes y microalgas [7].

Los fotobiorreactores son sistemas mucho más flexibles y que permiten un control más exhaustivo de las variables que más influyen en el crecimiento de las microalgas. Mediante sistemas de control adecuados se puede jugar con estos parámetros para lograr que las condiciones del medio de cultivo sean las mejores para garantizar una velocidad de crecimiento elevada [19].

2.5.1 Definición de un fotobiorreactor

Es un biorreactor que incorpora algún tipo de fuente de luz para proporcionar una fuente de energía fotónica en el reactor. Prácticamente, cualquier recipiente transparente se podría llamar fotobiorreactor, sin embargo, el término es comúnmente utilizado para definir un sistema cerrado. Debido a que estos sistemas son cerrados, el cultivo de microalgas no interactúa con los gases del medio ambiente evitando su contaminación. Además, se debe introducir en el sistema un medio de cultivo que proporcione todos los nutrientes esenciales para el crecimiento de las microalgas, con el fin de maximizar la producción de biomasa.

Los fotobiorreactores son sistemas complejos compuestos de varios subsistemas.

Los principales sistemas son: fuente de luz, sistema de manejo de aire sistema de intercambio de gas, sistema de nutrientes, sistema de filtración, sistemas eléctricos y sistema de instrumentación.

Algunos de los subsistemas que conforman el fotobiorreactor son los sensores de oxígeno y CO₂, sensor de temperatura, sensor de pH, bomba de recirculación, válvula de inyección de CO₂, válvulas de circulación, sistema de liberación de oxígeno y panel de control [21].

2.5.2 Tipos de fotobiorreactores

Existen diversos tipos de fotobiorreactor. A continuación, se presentan los más sobresalientes por la razón de que se ha demostrado una eficiencia en estos sistemas

FBR Tubulares: Son diseños con diferentes estructuras serpenteadas, verticales, horizontales, e inclinadas. Incluyen tubos de plástico o vidrio con sistemas de intercambio de gases y una bomba re-circulatoria para las mezclas [16] (Ver Figura 3). Generalmente, los fotobiorreactores tubulares son relativamente baratos y se pueden instalar a la intemperie. El hecho de que el medio de cultivo fluido esté continuamente circulando favorece la mezcla de nutrientes y microalgas y hace que presenten unos niveles altos de productividad. Además, este tipo de sistema de cultivo permite un aislamiento de las microalgas con respecto al medio circundante, lo que impide que el cultivo sea fácilmente contaminado [21].



Figura 3. Fotobiorreactor tubular [16].

• Columnas de burbujas en vertical y reactores "Airlift": El denominador común de estos FBR cilíndricos es la introducción de burbujas de gas desde la parte inferior del sistema. Recientemente, se han desarrollado diseños de fotobiorreactor tipo airlift consistentes en una columna en la que la recirculación se consigue mediante burbujeo de aire en un tubo de ascenso que se introduce lateralmente en la columna por su parte superior, consiguiéndose un efecto de vórtice con el que se logra un menor consumo de energía, una mayor turbulencia y productividad (ver Figura 4) [21].





• FBR de placas o en panel: Se trata de unidades rectangulares traslúcidas abiertas en un extremo y con hendiduras de un extremo a otro. El aporte de gas y la mezcla se realiza a través de tubos perforados que recorren todo el fondo del FBR. Los FBR en panel son costosos para una escala comercial, y más complicados de regular en cuanto a temperatura. Sin embargo, permiten disponer de mayores superficies iluminadas y son más fáciles de limpiar [21].

En la Tabla 2 se enlistan las principales ventajas y características de los sistemas de cultivo para microalgas.

	lluminación	Mezclado de masa	Aumento proporcional	Cuestión económica
Estanque	lluminación natural	Ciclos de mezclado bajos	Limitado por la superficie disponible	Usado para chlorella y dunalliela
Airlift	lluminación artificial	Alto grado de mezclado	lluminación interior requerida	Aplicaciones a gran escala muy caros
Columna vertical	lluminación artificial	Buena mezcla	Área de iluminación disminuye con el tamaño	Muchas aplicaciones de crecimiento a gran escala
Tubular	Gran superficie de iluminación para uso al aire libre	Surgen gradientes de gas de gran tamaño a lo largo del tubo	Secciones adicionales dificultan el mezclado	Poco práctico para aplicaciones de producción
Placa plana	Diseño inclinado para uso al aire libre, gran relación superficie- volumen	Difícil de controlar y posible ensuciamiento por las algas	Flexibilidad operativa	Múltiples unidades requeridas

Tabla 2. Comparación de sistemas de	cultivo para microalgas [13].
-------------------------------------	-------------------------------

2.5.3 Fotobiorreactores tipo airlift

Los reactores airlift (reactores de tiro o corriente de aire) componen una amplia familia de reactores que constituyen una fase líquida a través de la cual se burbujea aire. Frecuentemente cuentan con sólidos suspendidos [12]. Los reactores airlift se diferencian de los de columnas de burbujeo, porque en ellos las corrientes de flujo ascendentes se separan físicamente de las descendentes. Para ello, los reactores *airlift* cuentan con varias estructuras bien definidas:

- Columna de burbujeo (riser o upow): guía las burbujas hacia el separador de gases. En ella, el flujo es ascendente.
- Columna de flujo descendente (downcomer o downow): sin burbujas; como su nombre lo indica, en esta parte se establece un flujo descendente debido a una mayor densidad aparente que en la columna de burbujeo.
- Separador de gases: ubicado en el extremo superior del reactor, es el lugar donde ocurre la separación de las burbujas que llegan por la columna de burbujeo, ésta se une con la columna de flujo descendente.
- Base: parte inferior del reactor, allí se unen, una vez más, la columna de burbujeo y la columna de flujo descendente. En esta parte se introducen las burbujas por el riser.

La columna de burbujeo, el separador de gases, la columna de flujo descendente y la base enmarcan de esta manera una continua corriente interna de mezclado. La Figura 5 nombra estas partes en un airlift tubular de columna de burbujeo concéntrico (a) y en otro con columna de flujo descendente concéntrico (b) [12].



Figura 5. Partes características de un reactor airlift [12].

El burbujeo de gas de la parte inferior de la columna permite la eficiente utilización del CO₂. Por lo tanto, el crecimiento de las algas es a menudo limitada por otros parámetros tales como la intensidad de la luz. La agitación constante del medio provocado por las burbujas de gas hace que el mezclado de nutrientes se haga con menor esfuerzo en comparación con el mezclado impulsado por bombas que presentan los fotobiorreactores tubulares, por lo tanto, se presenta muy poco daño celular [22].

Ventajas de los reactores airlift:

- Débiles fuerzas de cizalla en su interior al remplazar una agitación mecánica por una neumática. Esta cualidad ha sido aprovechada para cultivar células o tejidos frágiles que se estropearían en reactores agitados con aspas.
- Su diseño no involucra ejes o motores eléctricos por lo que su construcción es sencilla, robusta, de fácil mantenimiento y gran eficiencia energética.

 El burbujeo de aire a través del medio líquido facilita la transferencia de masa, enriqueciendo el medio con algún gas o por el contrario despojándolo de gases residuales de reacción [12].

2.6 ESTADO DEL ARTE

A continuación, se describen algunas patentes de fotobiorreactores que ayudará a la comparación del diseño propuesto.

N° de publicación: ES 2 071 572.

Título: dispositivo para el cultivo de microorganismos fotosintéticos y la producción de biomasa rica en ácido *eicosapentaenoico*.

Descripción: un dispositivo tipo airlift con recirculación interna y tubos concéntricos, constituido por módulos independientes, de material plástico transparente, para el cultivo de microorganismos fotosintéticos. El control de temperatura se realiza mediante agua que circula por un cambiador de calor situado en el interior del fotobiorreactor, el cultivo es iluminado por tubos fluorescentes y el dispositivo tiene posibilidad de funcionamiento discontinuo, semicontinuo o continuo [23].

N° de publicación: WO 2010/103154 A3.

Título: método de cultivo de microorganismos y fotobiorreactor empleado en dicho método.

Descripción: comprende un cuerpo vertical transparente de forma cilíndrica, un fondo sobre el que apoya dicho cuerpo, una salida en la parte inferior del fondo, conectada a un conducto de salida, que desemboca en un conducto de recirculación conectado con una entrada superior ubicada en la parte superior del cuerpo. Unos

medios de inyección inyectan agua inyectan aire y eventualmente CO₂ en el conducto de recirculación, produciendo un vórtice en el interior del cuerpo [24].

N° de publicación: WO 2014/044883 A1.

Título: Fotobiorreactor combinado tipo airlift para la producción de biomasa.

Descripción: Fotobiorreactor combinado tipo airlift para la producción de biomasa que comprende un cuerpo vertical de forma cilíndrica, un medidor de pH con compensación de temperatura, un conducto de salida del cultivo, un conducto de entrada de gas adaptado para la circulación de gases, un conducto que conecta la salida de cultivo, la entrada del gas y la entrada del conducto de recirculación interno y una tapa. El fotobiorreactor se caracteriza por que presenta un conducto de recirculación interno ubicado en el fondo que comprende una salida del conducto de recirculación interno y una entrada del conducto de recirculación interno que presenta un conducto de recirculación interno que necesita del conducto de recirculación interno y una entrada del conducto de recirculación interno que permite combinar los efectos airlift y columna de burbujas [11].

Subitec: El fotobiorreactor Flat Panel Airlift (FPA) patentado a nivel mundial usa el sol como fuente de energía y gases de combustión como fuente de CO₂, se pueden alcanzar altas concentraciones de biomasa a una alta productividad. Se conservan recursos como el agua y los nutrientes. Con esto, se cumplen los requisitos previos para una producción en masa comercial al aire libre de microalgas.

Debido al menor riesgo de contaminación, los costos de fabricación razonables, la alta productividad volumétrica y la producción de microalgas de bajo consumo de energía se vuelven viables en las regiones de Europa Central.

La biomasa de algas se puede utilizar para la extracción de productos de alto valor para la industria química y cosmética, así como para suplementos alimenticios y piensos. Además, el fotobiorreactor FPA permite la producción de biomasa de algas con rendimiento neto de energía, el requisito previo fundamental para la explotación energética de la biomasa como biodiesel, bioetanol o biogás [25].

Ventajas del fotobiorreactor de Subitec [25]:

- Buena escalabilidad por modularidad.
- Aplicación en invernaderos y en tierras no cultivables.
- Crecimiento de algas optimizado para una productividad máxima.
- Bajos gastos operacionales debido al principio airlift.
- Bajos gastos de capital debido a semicubiertas de plástico embutidas.
- Rendimiento de energía neto posible: la biomasa de algas contiene más energía que gastar para su cultivo.
- Fiabilidad plurianual aprobada en instalaciones piloto.

N° de publicación: EP 1 326959 B1.

Título: Biorreactor para el Cultivo de Microorganismos y Procesos para la Fabricación de este.

Descripción: Esta familia de patentes, transferida del Fraunhofer-Gesellschaft a Subitec GmbH, se relaciona con las siguientes características: Fotobiorreactor fabricado en carcasa permeable al agua. Reactor airlift, equipo de dirección de flujo transversal a la dirección de flujo, diseño de equipos de dirección de flujo, fabricación a partir de película flexible. de plástico [26].

2.7 PROCESO DE TERMOFORMADO

El termoformado es un proceso en el cual se usa una lámina plana de material termoplástico para darle la forma deseada. El proceso se usa ampliamente en el empaque de productos de consumo para fabricar grandes artículos como tinas de baño, domos grandes para tragaluces y revestimiento internos para refrigeradores. El termoformado consta de dos pasos principales: calentamiento y formado. El calentamiento se realiza generalmente mediante radiadores eléctricos en uno o ambos lados de la lámina de plástico inicial, a una distancia aproximada de 125 mm. La duración del ciclo de calentamiento necesita ser suficiente para ablandar la lámina, dependiendo del polímero, su espesor y color. Los métodos de formado pueden clasificarse en tres categorías básicas: 1) termoformado al vacío, 2) termoformado a presión y 3) termoformado mecánico. Describimos aquí los métodos para el formado de material laminar; pero en la industria del empaque la mayoría de las operaciones de termoformado se realizan con películas delgadas [27].

2.7.1 Termoformado al vacío

El método más antiguo es el termoformado al vacío (llamado simplemente formado al vacío en sus inicios, en los años cincuenta) en el cual se usa presión negativa para adherir la lámina precalentada dentro la cavidad del molde. El proceso se explica en la Figura 6 en su forma más básica. Los agujeros para hacer el vacío en el molde son del orden de 0.8 mm de diámetro, así sus efectos en la superficie del plástico son menores [27].


Figura 6. Termoformado al vacío [27].

2.7.2 Termoformado a presión

Una alternativa del formado al vacío involucra presión positiva para forzar al plástico caliente dentro de la cavidad del molde. Esto se llama termoformado a presión o formado por soplado; su ventaja sobre el formado al vacío radica en que se pueden desarrollar presiones más altas, ya que en el método anterior este parámetro se limita a un máximo teórico de una atmósfera. Son comunes las presiones de formado de tres a cuatro atmósferas. La secuencia del proceso es similar a la anterior, la diferencia es que la lámina se presiona desde arriba hacia la cavidad del molde. Los agujeros de ventilación en el molde dejan salir el aire atrapado. La parte del formado de la secuencia (pasos 2 y 3) se ilustra en la Figura 7 [27].



Figura 7. Termoformado a presión [27].

Es conveniente distinguir aquí entre moldes negativos y positivos. Los moldes que se muestran en las Figuras 6 y 7 son moldes negativos porque tienen cavidades cóncavas. Un molde positivo tiene una forma convexa. Ambos tipos se usan en termoformado. En el caso del molde positivo, la lámina caliente recubre la forma convexa, y se usa presión negativa o positiva para forzar al plástico contra la superficie del molde. El molde positivo se muestra en la Figura 8 para el caso de formado al vacío [27].



Figura 8. Termoformado con moldes positivos [27]

2.9 INGENIERÍA ASISTIDA POR COMPUTADORA

El software de diseño tiene la capacidad para el análisis de esfuerzo, dinámica de componentes y ensambles utilizando el método del elemento finito (MEF), que es

una técnica numérica para analizar diseños de ingeniería, aceptado como el método de análisis estándar debido a su generalidad y compatibilidad para ser implementado en computadoras; el método divide el proceso en numerosas piezas pequeñas de formas simples llamadas "elementos" que reemplazan eficazmente un problema complejo por muchos problemas simples que deben ser resueltos en forma simultánea, los elementos comparten puntos comunes denominados nodos y al proceso de división del modelo en pequeñas piezas se denomina mallado; el comportamiento de cada elemento es bien conocido bajo todas las situaciones de soporte y carga posibles por lo que cada nodo se describe a detalle por un cierto número de parámetros, según el tipo de análisis o del elemento utilizado, el software formula las ecuaciones que rigen el comportamiento de cada elemento teniendo en cuenta su conectividad con los demás elementos, estas ecuaciones hacen referencia a la respuesta de cargas, restricciones y propiedades del material conocidas, así el programa organiza las ecuaciones en un conjunto mayor de ecuaciones algebraicas simultáneas y resuelve las desconocidas [28].

CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA

La metodología experimental utilizada en este proyecto consta de siete etapas, las cuales se representan en la Figura 9, cada una de ellas representa un paso para realizar este proyecto de investigación, razón por la cual se manejaron diferentes métodos de estudio, herramientas y conocimientos adquiridos en la maestría en tecnología avanzada de manufactura de acuerdo con las actividades que se deban realizar.



Figura 9. Metodología utilizada.

Para iniciar este proyecto se tuvo que recabar a lo largo del trabajo información bibliográfica en artículos, tesis, patentes y documentos que ayuden a la investigación, con el fin de tener un punto de partida acerca de la generación de biomasa por medio de microalgas, consideraciones para el diseño de fotobiorreactores, además de indagar posibles soluciones a problemas presentados dentro del fotobiorreactor de panel ondulado. En la siguiente etapa de nuestra metodología se analiza el estado del arte con respecto a los fotobiorreactores tipo airlift, con el designio de obtener un punto de partida, el cual nos ayudará a contrastar este trabajo de tesis.

Lo siguiente en la metodología consta de la parte práctica, en la cual se desarrollaron las observaciones y pruebas al primer prototipo, tales como absorbancia, color y conteo celular, además de realizar mejoras dentro del mismo para ir resolviendo problemas que se observaron en la primer prueba, tales como el cambio de fertilizante y agregarle más difusores al fotobiorreactor; cabe destacar que dentro de la operación de este prototipo, se hicieron las primeras mediciones con el sensor de PAR (radiación fotosintéticamente activa), de manera que se obtuvieron buenos resultados, razón por la cual se planteó este estudio posteriormente. de todo esto se obtuvieron bases que nos ayudaron al rediseño y la puesta en marcha del nuevo fotobiorreactor, los cuales se describirán en los siguientes capítulos.

Los puntos 4 y 5 de esta metodología son el rediseño y la manufactura, para proponer un nuevo diseño se utilizaron ciertas observaciones realizadas al momento de realizar las pruebas descritas anteriormente, con el objetivo de minimizar o eliminar los problemas encontrados en el prototipo. dicho diseño se validó teóricamente mediante simulaciones en el software SolidWorks. La manufactura de este se realizó en el Laboratorio de Tecnología Avanzada de Manufactura en la Universidad Tecnológica de la Mixteca, las máquinas que se

41

utilizaron para alcanzar este objetivo fueron el centro de maquinado CNC (control numérico computarizado) y la Termoformadora, una vez maquinado el molde, se procedió a termoformar placas de acrílico para posteriormente realizar el ensamble de todo el fotobiorreactor.

Una vez ensamblado el fotobiorreactor se procede a ponerlo en operación, se debe revisar que los difusores y las mangueras se encuentren bien conectados, se le dejará lleno con una solución de agua con cloro por determinado tiempo para así desinfectar y evitar posibles contaminantes en nuestro cultivo. Terminado en tiempo de desinfección se vacía, dejándolo listo para realizar el cultivo.

Por último, se analizan los resultados obtenidos en las pruebas del primer fotobiorreactor y el estudio del PAR (radiación fotosintéticamente activa), se consideran las mejoras que se realizaron de una prueba a otra y se determinan si las mejoras al rediseño en conjunto a las anteriores nos ayudan a conseguir los resultados propuestos.

3.1 Pruebas del prototipo PBR – GRRC17

Se realizaron tres pruebas al prototipo antes mencionado, en cada prueba se observaron detalles referentes a la operación de este, conforme se fue avanzando se fueron tomando decisiones y medidas para resolver dichos conflictos, decisiones que ayudaron a concebir el rediseño del fotobiorreactor y mejorar el cultivo dentro del mismo.

En la primera prueba se tuvo que lidiar con el hecho de que el prototipo PBR – GRRC17 presentaba una fuga, la primera razón fue porque tenía una grieta en la parte central inferior como se muestra en la Figura 10.



Figura 10. Grieta del prototipo 1.

Una vez resuelta esa fuga se encontró que el neopreno que se utiliza para darle hermeticidad al fotobiorreactor se encontraba roto en la parte central, justo en donde se unen las dos placas de acrílico, causando así otra fuga que se tuvo que resolver (Ver Figura 11).



Figura 11. Fuga a falta de hermeticidad.

Una vez resueltos estos problemas se hizo la primera prueba. Se realizó la puesta en operación del primer prototipo, en el cual se llenó de agua de la llave y el inóculo utilizado fue el cultivado con fertilizante "Royal Garden®" y solo 2 lámparas led encendidas. Se observó que el crecimiento y concentración celular era muy lento, esto debido a que la luz que irradiaba sobre el fotobiorreactor no era la suficiente, además se empezaron a notar asentamientos de microalgas en cada una de las ondulaciones como se muestra a continuación en la Figura 12.





El cultivo de esta prueba fue interrumpido debido a que al momento de realizar el conteo celular se observó que dicho cultivo se encontraba contaminado, razón por la cual se llegó a la decisión de iniciar nuevamente, determinando un proceso de preparación en el cual se controlara de manera adecuada este problema.

Es por eso que el fotobiorreactor se dejó operando por 6 horas con una solución de agua con cloro, en la cual se diluyó 4 ml de Clarasol® por cada 100 ml de agua, esto con el fin de dejar desinfectado el reactor antes de utilizarlo, pasado este tiempo se dejó secar. Una vez listo el fotobiorreactor se agregaron 23 litros de agua purificada (para mantener condiciones de esterilidad) con 2.3 litros de inóculo, debido a que se estableció que se debía utilizar 10% de microalgas.

Cabe destacar que en esta prueba los cambios que se realizaron fueron el de agregarle 2 difusores más, teniendo así un total de 4, con la finalidad de incrementar el flujo de aire y reducir los asentamientos y bioincrustaciones que se observaron en la prueba anterior, esta mejora en el flujo de aire se puede observar en la Figura 13; otro cambio que se realizó fue el del fertilizante, utilizando el fertilizante "Ultrasol®", este cambio en el medio de cultivo ayudó a que se obtuviera una mayor concentración celular (Figura 13).



Figura 13. Comparación de las placas de acrílico.

Como se puede observar en la figura anterior al aumentar el flujo de aire mediante los difusores dentro del fotobiorreactor, se logra hacer un mezclado más uniforme, logrando así que los asentamientos que fueron observados en las ondulaciones durante la primera prueba se redujeran, el problema observado ahora es que debido a esta turbulencia generada, la parte de arriba se encuentra llena de biomasa seca debido al romperse las burbujas generadas, este problema fue contemplado en el rediseño del fotobiorreactor.

3.2 Curvas de Calibración

A continuación, se muestra un estudio preliminar para correlacionar el PAR con la absorbancia y las pruebas de color, este estudio es parte de la innovación en este trabajo de tesis, debido a que este tipo de estudio presenta poca información en la literatura. El inóculo utilizado para este estudio fue el obtenido en las pruebas del prototipo FBR-GRRC17.

Para iniciar se realizaron 8 diluciones, 1:50, 1:20, 1:10, 1:5, 1:3, 1:2, 1:1 y 1, las cuales fueron vaciadas en una celda (Figura 14) hecha para simular el sistema completo, a cada dilución se le tomaron 3 lecturas con el sensor de PAR, posteriormente se le realizaron pruebas de espectrografía y colorimetría en el laboratorio de bioprocesos ubicado en el laboratorio de productos naturales y alimentos. Los resultados promediados se presentan en la Tabla 3, los datos complementarios se ven en la Tabla 13, Tabla 14, Tabla 15 y Tabla 16 las cuales se muestran en el Anexo 2.



Figura 14. Celda fabricada para el estudio de PAR.

Dilución	PAR	Absorbancia	L*	a*	b*
1	3.24	1.444	72.5	-10.50	59.47
1:1	7.91	0.823	82.90	-8.64	41.31
1:2	18.99	0.432	90.89	-5.87	24.27
1:3	23.95	0.311	93.12	-4.49	18.09
1:5	31.35	0.204	95.05	-3.10	12.47
1:10	39.34	0.116	96.91	-1.76	7.27
1:20	45.81	0.057	98.34	-0.84	3.63
1:50	58.18	0.018	99.41	-0.25	1.17

Tabla 3. Promedios de las pruebas a las diluciones.

Este estudio se estableció debido a que para monitorear el crecimiento celular dentro del fotobiorreactor se requiere de extraer muestras diarias para realizarle pruebas de laboratorio, es por eso que el sensor de PAR (radiación fotosintéticamente activa) se incorporó dentro del cultivo, para monitorear el crecimiento con respecto a las lecturas del mismo, como estudio preliminar, se observó que este sensor es muy sensible para las lecturas y que las burbujas de los difusores hacen interferencia al momento de tomas lecturas.

3.3 Rediseño

En este apartado se habla sobre el rediseño, menciona los trabajos y observaciones que se realizaron a un prototipo para evaluar las áreas de oportunidad, con este análisis fue concebido el rediseño al fotobiorreactor de panel ondulado para posteriormente haber ejecutado un análisis mediante simulaciones para valorar su comportamiento.

3.3.1 Trabajos previos

En este apartado se propuso un nuevo diseño, con el fin de resolver los problemas encontrados en el fotobiorreactor actual, dicho rediseño parte de las áreas de oportunidad para mejorar el prototipo de panel ondulado al cual se le hicieron las pruebas, dicho modelo se muestra en la Figura 15.

Algunos problemas detectados en estas pruebas se enumeran a continuación:

- No se encuentra cubierto totalmente por lo que el cultivo puede contaminarse.
- Al estar expuesto, el cultivo es susceptible de contaminación.
- No se cuenta con espacio para los sensores del sistema de monitoreo.
- Las placas de acrílico tienen una separación mayor a la esperada entre ellas.
- Se observa que en la parte superior del fotobiorreactor hay biomasa seca, esto debido a que se forma espuma, esto como resultado de las burbujas que se forman de los difusores.
- No tiene un sistema para purgar el agua del cultivo.

• Existen bioincrustaciones debido a que el flujo de aire es inadecuado, esto da como resultado que el mezclado no se realice de manera adecuada.



Figura 15. Prototipo de Fotobiorreactor de panel ondulado.

Para el rediseño planteado en este proyecto se respeta la geometría actual (Figura

16), se propone el diseño que resuelva los problemas encontrados en el prototipo.



Figura 16. Geometría del fotobiorreactor de panel ondulado.

3.3.2 Propuestas y selección de diseño

A partir de lo observado durante el proceso de puesta en marcha y pruebas del prototipo de fotobiorreactor, se proponen 2 diseños diferentes (Figura 17), los cuales

serán evaluados teniendo en cuenta, cuestiones de diseño, maquinaría disponible en la Universidad Tecnológica de la Mixteca y los detalles que se encontraron al momento de probar el prototipo 1 de fotobiorreactor.



Figura 17. Propuestas de rediseño.

3.3.3 Análisis de propuestas

Una vez identificados los problemas a resolver del trabajo previo, se evalúan las propuestas, con el fin de resolver los conflictos detectados y mostrar una mejora en el cultivo de microalgas.

La primera propuesta se basa en un declive en la parte superior, el cual mediante los flujos de aire dentro del fotobiorreactor ayudará a eliminar el problema de la biomasa seca, su elaboración es técnicamente factible debido a que se utilizarán las mismas máquinas que se utilizaron en el prototipo 1, presenta un espacio para colocar de manera adecuada los difusores. La segunda propuesta presenta un diseño similar al del primer prototipo, este se pretende ensamblar a lo largo del fotobiorreactor, evitando así la fuga por falta de hermeticidad en la parte inferior, por lo que la placa será de 55 cm por 72 cm aproximadamente, estas longitudes no son posibles de manufacturar en la termoformadora que se encuentra en disposición.

Razones por la cual se ha escogido la primera propuesta.

3.3.3.1 Simulación estática

Un punto de partida para validar este proyecto es mediante simulaciones hechas en un software CAE (ingeniería asistida por computadora por sus siglas en inglés), es por eso por lo que se elaboran las simulaciones respectivas en el programa SolidWorks®, debido a que la Universidad Tecnológica de la Mixteca cuenta con la licencia de este.

A continuación, se muestran algunos resultados que se obtuvieron al evaluar el diseño del nuevo fotobiorreactor mostrados en la Figura 18 y Figura 19, con estos resultados podemos fundamentar la manufactura del mismo, con placas de acrílico de 3 mm de espesor.

De acuerdo con estas simulaciones y los resultados que se obtuvieron, podemos determinar que el material de acrílico de 3 mm de espesor resulta factible para la manufactura del fotobiorreactor, debido a que no muestra una deformación sustancial al ser sometido a la presión hidrostática del proceso, el desplazamiento máximo que se obtiene es de 1.767 mm (Figura 18). Los resultados obtenidos de la simulación son los siguientes.

51



Figura 18. Simulación de desplazamientos.



Figura 19. Simulación de deformaciones.

De acuerdo la figura anterior se determinó que el material seleccionado no se romperá con las condiciones determinadas, esto debido a que en los resultados obtenidos el mayor punto de deformación no supera el modulo elástico del acrílico, el cual es de 30,000kg/cm²

3.3.3.2 Simulación de fluidos

En esta simulación se analizará el recorrido que hay del aire entre el agua, debido a modificación que se realizó al diseño, se espera eliminar el rompimiento de burbujas en la parte superior de todo el fotobiorreactor y en su lugar mandarlas a la parte superior del downcoder para que ahí se realice el intercambio de gases y rompimiento de burbujas, este recorrido se muestra a continuación en la Figura 20.



Figura 20. Recorrido del aire dentro del FBR.

El modelo y simulación de dos fases fue realizado en el software SolidWorks®, el procedimiento fue de realizar el diseño y ensamble en el software, una vez hecho esto, se procedió a utilizar el complemento de fluidos en el software, la fase líquida que se designó como agua, fue parte de todo el dominio generado en la cavidad del modelo, simulando toda el agua contenida dentro del fotobiorreactor, los valores

para el agua no se modificaron a los que se tenía predeterminados por el mismo software; la fase gaseosa que se definió como el aire se designó en la parte inferior del modelo para simular los difusores de aire, en esta parte se definió como presión de aire la suministrada por la bomba de aire a utilizar, dicho valor es de 0.030 MPa.

CAPÍTULO 4. ENSAMBLE Y PUESTA EN MARCHA

En este capítulo quedó establecido el proceso de manufactura para el fotobiorreactor de panel ondulado mediante un diagrama de flujo. Posteriormente se describe la puesta en marcha y operación de este, tomando en cuenta los problemas que se resolvieron del anterior prototipo.

4.1 Proceso de manufactura

A continuación, se presentan las máquinas y herramientas para la elaboración del nuevo prototipo, además se explica el proceso de ensamble mediante el cual se arma el fotobiorreactor.

4.1.1 Maquinaria y herramientas para la manufactura del fotobiorreactor

Para la construcción del fotobiorreactor se utilizaron máquinas que se encuentran en el Laboratorio de Tecnología Avanzada de Manufactura de la Universidad Tecnológica de la Mixteca, en primer lugar, se utilizó el centro de maquinado CNC para el maquinado de los moldes, los cuales se obtuvieron del rediseño (el código de maquinado se muestra en el Anexo 1). La siguiente máquina para utilizar es la termoformadora ubicada en el mismo laboratorio, con la cual se realizó el termoformado de las placas de acrílico para el cuerpo del fotobiorreactor.

Otro aspecto importante para determinar es el herramental utilizado para la fabricación del prototipo, estas herramientas se muestran en la Tabla 4:

Tabla 4.	Herramientas	utilizadas.
----------	--------------	-------------

Herramienta	Función			
Cortador plano 1/2" y cortador de bola	Máquina del molde en el centro de			
3/8"	maquinado CNC			
Cortador de acrílico	Corte de las placas de acrílico			
Llave mixta de 1/4"	Ajuste de los tornillos para la estructura de			
	soporte			
Taladro inalámbrico	Barrenar las placas de acrílico			
Pistola calafateadora	Pegar el material y sellas posibles fugas			

4.1.2 Materiales para componentes del fotobiorreactor

El fotobiorreactor consta de diversos materiales para su elaboración (Tabla 5) de 4 piezas de acrílico de 3 mm de espesor termoformadas, estructura de acero como soporte y 4 difusores conectados mediante mangueras de silicona a una turbina de aire para realizar el burbujeo dentro del proceso, se sellará mediante una cinta de neopreno; como soporte de las placas de acrílico se tiene una estructura hecha con perfil ranurado.

Parte	Material	Descripción	Cantidad	Uso
Cuerpo FBR	Acrílico	Placa transparente 2.44 m x 1.60 m de 3 mm de espesor	2 placas	Placa para fabricar el cuerpo del fotobiorreactor
Soporte	Perfil ranurado	Perfil gris de 2.20 m x 3.3 cm x 3.5 cm	2 perfiles	Se utilizó para fabricar el soporte en donde se encuentra montado el fotobiorreactor.
Difusor	Hule	Difusor de hule de 30 cm	4 difusores	Burbujeo dentro del fotobiorreactor
Manguera	Silicona	Manguera de silicona de 2 mm de espesor	6 metros	Conectar los difusores a la bomba que suministra el aire
Cinta para sellar	Neopreno	Cinta de neopreno de 3 mm	2 metros	Sellar el fotobiorreactor para mayor hermeticidad

Tabla 5. Componentes del fotobiorreactor.

4.1.3 Parámetros de operación para la maquinaria a utilizar

A continuación, en la Tabla 6 se muestran los parámetros de corte para cada una de las operaciones principales a ser aplicadas en las dos piezas a manufacturar, como lo son las cuchillas de corte y el árbol de transmisión. Estos parámetros fungen como una base para el maquinado, pueden ajustarse para mejorar la calidad dentro de los costos de trabajo.

PARÁMETROS DE CORTE								
	Fresado							
MaterialAcabadoDesbaste								
Tocho de MDF	S= 2000 - 2500 RPM S= 2500 - 3500 RPM F= 250 mm/min F= 150 - 180 mm/min							
Termoformado								
Material	Precalentado	Termoformado	Desmolde					
Placa de acrílico 6 mm	Temperatura: 150 °C Tiempo: 10 minutos	Temperatura: 150 °C Tiempo: 5 minutos	Tiempo: 2 minutos					

Tabla 6. Parámetros de la maquinaría a utilizar.

Algunas operaciones se ejecutarán de forma manual, por ejemplo, el corte de las placas de MDF y las placas de acrílico, el corte de los perfiles para la estructura de soporte y el atornillado. En la Tabla 7 se muestra el orden de las operaciones para cada proceso, tomando en consideración los dos componentes principales del fotobiorreactor, los cuales son: el contenedor en el cual serán cultivadas las microalgas y la estructura de soporte, en donde será puesto el contenedor para la sujeción del mismo, cabe decir que otro componente a considerar es el molde para termoformado, este no forma parte del fotobiorreactor, pero es un componente principal dentro de todo el proceso de manufactura del mismo.

Operaciones y secuencias por componente								
No.	Pieza	Secuencia	Máquina o herramienta	Operación				
		1	Sierra de corte horizontal	Aserrado				
		2	Prensas de sujeción	Pegado de placas				
01	Molde	3	Almacén de reposo	Secado del pegamento				
		4	Fresadora CNC	Maquinado				
		5	Pistola de aire para pintura	Acabado				
	Quality and the	1	Cortador de acrílico	Corte				
		2	Termoformadora	Termoformado				
		3	Termoformadora	Desmolde				
02	Contenedor	4	Mesa de trabajo	Enfriamiento				
		5	Caladora	Corte de exceso de material				
		6	Mototool	Acabado				
03	Estructura de soporte	1	Cortadora horizontal	Corte				
03	Estructura de soporte	2	Esmeril	Acabado				

Tabla 7. Orden de operaciones de procesos por cada pieza.

Ahora se muestra el diagrama de flujo de proceso representado en la Tabla 8, el cual cuenta con mayor detalle el proceso operativo. Este tipo de diagrama resulta particularmente útil para registrar los costos ocultos no productivos, como son las

distancias recorridas, retrasos, almacenamientos temporales, etc., con esto se pueden tomar medidas para mejorar los procesos, siendo este caso para la manufactura del fotobiorreactor.

La simbología estándar en conjunto utilizada es la siguiente:

- Flecha: Se refiere al transporte de las piezas durante el proceso dentro de la operación.
- Letra D: Representa un retraso, el cual es presentado cuando una parte no se puede procesar inmediatamente y depende de la siguiente estación.
- Triángulo equilátero: Representa el almacenamiento de alguna pieza en cualquier momento del proceso.
- Círculo: Representa una operación, como es cortar, perforar, etc.
- Cuadrado: Este símbolo representa una inspección del trabajo realizado.

DIAGRAMA DE FLUJU DE PROCESO								
						Tiempo	Distancia	Observaciones
Descripción de la	Símb	olo				(min)	(m)	
actividad	•	>	D					
Colocar placa de MDF en la sierra horizontal		>				3	2	
Marcar medidas exactas						5		
Realizar corte con sierra						20		
Trasladar la placa a la mesa de trabajo		⇒				3	3	
Pegar 4 placas cortadas para obtención del tocho						8		

Tabla 8. Diagrama de flujo de proceso.

Dejar secar el pegamento y verificar que el tocho esté en buenas condiciones				240		
Trasladar tocho a				10	400	
Sujetar la pieza en la mesa de trabajo de la fresadora				15		
Cargar código y poner en marcha la fresadora CNC	•			5		
Maquinado del molde	ightarrow			600		
Trasladar molde para realizar el acabado		>		10	400	
Acabado del molde	0			60		
Almacenar pieza terminada				8	15	
Medir placas de acrílico				5		
Corte de placas de acrílico				10		
Trasladar molde para realizar el termoformado		⇒		10	400	
Colocar molde en la mesa de la termoformadora	•			5	2	
Encendido de la termoformadora y compresor de aire				2	2	
Ajuste de los parámetros de la parrilla de calentamiento	•			4		
Precalentamiento de la parrilla	0			10		
Termoformado de las placas de acrílico				30		
Trasladar a área de corte		\Rightarrow		7	250	
Corte de exceso de material con la caladora	•			40		
Acabado de las placas termoformadas	•			60		
Unión de placas de acrílico para	ightarrow			15		

formar las caras del contenedor							
Trasladar al área de ensamble		-			3	100	
Colocar perfiles en la mesa trabajo	ightarrow				2		
Tomar medidas para corte					5		
Corte de los perfiles para la estructura de soporte	•				10		
Trasladar al área de ensamble		\Rightarrow			8	300	
Pegado del neopreno en la orilla de las placas de acrílico termoformado					10		
Colocar difusores y mangueras	0				8		
Pegado de las placas de acrílico para formar el contenedor de microalgas	•				10		
Secado del silicón			D		360		
Inspección de fugas en el contenedor					15		
Atornillado de los perfiles para realizar la estructura de soporte					25		
Ensamble del contenedor con la estructura	•				20		
Llenado del fotobiorreactor					10		
Realizar las conexiones de los difusores a la bomba					6		
Puesta en marcha del fotobiorreactor					5		

En la Tabla 9 se puede observar la tabla de componentes a fabricar, siendo el molde, contenedor y la estructura de soporte, aquí se muestran las operaciones de fabricación y el tiempo en minutos para cada una y en total.

TABLA DE COMPONENTES A FABRICAR								
Número de pieza	Operaciones de fabricación	Tiempo (minutos)						
Molde para termoformado	 Medir Cortar Pegado Maquinado Acabado Almacenar 	3 20 240 600 60 8						
Contenedor	 Medir Cortar Termoformado Corte de exceso de material Acabado Unión de placas Unión de las caras Inspección 	5 10 30 40 60 15 28 15						
Estructura de soporte	 Medir Cortar Atornillado 	5 10 25						
Fotobiorreactor	 Ensamble Llenado Conexiones Puesta en marcha 	20 10 6 5						

Tabla 9. Tabla de componentes a fabricar.

4.1.3 Proceso de termoformado

Se coloca el molde que dará la forma a la lámina del producto que será hecho en la platina de la máquina, posterior a eso se coloca la lámina del material a utilizar; una vez encendida la máquina se regula la temperatura manualmente con las perillas de las zonas de calor del horno, una vez regulada la temperatura, inicia el proceso, el horno calienta el material durante determinado tiempo. Al término de este tiempo

la platina sube, haciendo que el molde sea cubierto por la lámina y a continuación se aplica el vacío, logrando así la forma deseada. Para finalizar, se enfría el material con ayuda del ventilador colocado arriba de la máquina; se realiza el desmolde aplicando presión de aire para separar el molde del producto terminado. En la Tabla 10 se presenta la ficha técnica de la termoformadora marca "HER-MAQ"

Marca	"HER-MAQ"
Área de trabajo	40 cm x 50 cm
Presión de vacío	55 mmHG
Temperatura máxima	120 °C - 140 °C
Fuente de calentamiento	Resistencias de tubular blindado
Potencia	7500 watts, Trifásica a 220 Volts 60 Hz.

Tabla 10. Ficha técnica de la termoformadora.

4.1.4 Ensamble del fotobiorreactor

Una vez teniendo las placas de acrílico termoformadas, se procedió a pegar las caras de la parte plana, para así formar la parte central del fotobiorreactor. Para darle hermeticidad se le colocó una tira de neopreno alrededor de las placas de acrílico, antes de unir ambas caras se lo colocaron los 4 difusores para que queden dentro del fotobiorreactor, una vez teniendo unidas las dos caras, a continuación, se montó a una estructura metálica, la cual fue hecha con ángulos y perfiles de acero (Figura 21). Una vez montadas las placas de acrílico en la estructura es atornillada para fijar las piezas (Figura 22).



Figura 21. Estructura metálica.



Figura 22. Atornillado de la estructura.

4.2 Puesta en marcha

La puesta en operación del fotobiorreactor se realizó una vez teniendo acoplado el mismo, los difusores deben estar conectados al blower, en primer lugar, se llenó con una solución de agua con cloro, la cual consiste en agregar 4 ml de clarasol® por cada 100 ml de agua; esta solución se dejó por 6 horas mientras el blower se encuentra encendido, esto para que el mismo flujo ayude a desinfectarlo antes de agregar el cultivo.

Una vez pasado el tiempo de desinfección fue vaciado para dar paso al cultivo. El cultivo es preparado con 10% de inóculo de microalgas diluido con el resto de volumen de agua purificada (para guardar la mayor esterilidad posible), la

preparación del medio de cultivo es añadiendo un gramo de fertilizante por cada litro de cultivo. Una vez terminado este proceso, se colocaron los leds que suministran la energía fotosintética, con lo anterior se logra cerrar la estructura en la cual está colocada la estructura metálica que sirve como soporte del fotobiorreactor (Figura 23), se vigila periódicamente para cerciorarse que no presente fugas.



Figura 23. Estructura del fotobiorreactor.

CAPÍTULO 5. RESULTADOS

En este capítulo se presentan los resultados de acuerdo con el objetivo de investigación planteado en el proyecto inicialmente: mejorar la eficiencia productiva de un fotobiorreactor tipo airlift para la generación de biomasa algal sobre los siguientes parámetros.

5.1 Concentración celular

Al término del periodo de crecimiento de las microalgas, el cual es de 14 días, se realizaron pruebas de laboratorio al cultivo obtenido, estas son absorbancia, color, peso seco y conteo celular; la pruebas más contundentes que se puede encontrar es la de concentración celular, en la prueba al nuevo fotobiorreactor se obtuvo una concentración de 2.20 x 10^7 (22,000,000 de células), en comparación con el primer prototipo realizado, el cual es de 1.67 x 10^7 (16,700,000 de células), lo cual es un incremento significativo en la concentración de microalgas.

Otro punto importante que destacar es el del peso seco, que al igual tuvo un incremento, en el cual en este nuevo fotobiorreactor fue de 706 mg/l, comparado con el anterior que fue 446 mg/l.

5.2 Hermeticidad del fotobiorreactor

La hermeticidad es un aspecto fundamental que evita la contaminación del cultivo por contacto no deseado con el medio ambiente, de tal manera que una mejor hermeticidad favorece la inocuidad de los cultivos en el FBR. Para abordar este aspecto se utilizó neopreno como material que ayuda a que los sistemas sean mayormente herméticos. A la hermeticidad contribuyó en gran medida al empalme de las placas.

El resultado fue la disminución gradual de agentes contaminantes que se pudieron observar al microscopio a través de diversas pruebas de conteo celular.

5.3 Bioincrustaciones

Las bioincrustaciones fueron un punto crítico a resolver, estas se definen como las microalgas que quedaban incrustadas en las paredes del fotobiorreactor durante el proceso de cultivo y que no permitían el paso de la luz; además, en la parte superior se aglomeraban las microalgas, las cuales ensuciaban el fotobiorreactor y al final del proceso era biomasa que no se podía utilizar, estos aglomerados se generaban del burbujeo de los difusores. La Figura 24 muestra zonas con tono morado que significan una mayor concentración de bioincrustaciones.



Figura 24. Bioincrustaciones generadas en el prototipo 1.

En la Figura 25 se muestra una mejoría en la concentración de bioincrustaciones al visualizarse mayor claridad en comparación con la Figura 24. En el nuevo prototipo

se logró obtener que las ondulaciones empalmaran de mejor manera, ayudando así a que la turbulencia generada limpiara las áreas detectadas en donde se asentaban las microalgas. De igual manera, en el diseño de este nuevo prototipo se incorporó una inclinación de 35°, haciendo que el mismo recorrido de las burbujas limpiaran la parte superior del fotobiorreactor.



Figura 25. Bioincrustaciones generadas en el prototipo 2.

5.4 Tiempos de preparación

El tiempo de preparación del cultivo se refiere al tiempo total de las operaciones para poner en operación al fotobiorreactor. Incluye limpieza de las placas para eliminar residuos y sustancias que puedan contaminar el cultivo, el procedimiento de limpieza se realiza con una solución con clarasol® al 4% en agua y un paño hasta eliminar todo tipo de residuo. Antes de sellar el fotobiorreactor se le añaden los componentes (difusores, mangueras y el sensor de PAR). Pegado de las placas de acrílico utilizando el neopreno como material hermético y adicionalmente se sella con silicón. Armado de la estructura que consiste en el ensamblado de los soportes hecho con estructura metálica, esto consiste en atornillar cada uno de los componentes formando un marco en el que se colocan las placas de acrílico una vez selladas. Una vez hecho esto se procede a desinfectar el fotobiorreactor ya

armado, para esto se le llena completamente con la solución de cloro al 4% en agua y se deja por 2 horas en funcionamiento. Terminado el periodo de desinfección se procede a vaciarlo completamente con el propósito de dejar listo el fotobiorreactor para su operación.

Para poner en operación el fotobiorreactor se debe asegurar que las mangueras se encuentren conectadas de manera adecuada a la bomba y los difusores. Se llena completamente utilizando el 10% de su capacidad de inóculo de microalgas y el resto de agua purificada, añadiendo además fertilizante que sirve como nutrientes para las microalgas, la cantidad de fertilizante utilizado es el equivalente a 1 gramo por litro. Los tiempos de esas operaciones se muestran en la Tabla 11.

OPERACIÓN	TIEMPO UNITARIO	TIEMPO ACUMULADO
	(minutos)	(minutos)
Limpieza de placas	15	15
Colocación de componentes	10	25
Pegado de las placas	17	42
Armado de la estructura	26	68
Ensamble	48	116
Montaje del FBR	12	128
Desinfección	120	248
Llenado con inóculo	35	283
TIEMPO TOTA	AL	4 horas 43 minutos

Tabla 11. Tiempos para la puesta en marcha del fotobiorreactor.

5.5 Curvas de Calibración

Al término del tiempo de cultivo, este fue utilizado para realizarle diversas pruebas de laboratorio y así poder obtener curvas de calibración para trabajos futuros, además de poder observar las mediciones del cultivo con un sensor de PAR (radiación fotosintéticamente activa), el cual se encuentra dentro del fotobiorreactor y verificar si puede haber correlación con las pruebas de conteo celular y peso seco, para su monitoreo continuo; cabe decir, que la correlación es la forma numérica en la que se puede evaluar la relación de dos o más variables, es decir, mide la dependencia de una variable con respecto de otra variable independiente. Los resultados se muestran en la Tabla 12, la cual solo es de promedios, las Tablas 17 a la Tabla 40 con todos los datos obtenidos se muestran en el Anexo 3.

Dilución	PAR µmolm ⁻² s ⁻¹	Absorbancia (nm)	L*	a*	b*	Conteo	Peso seco (g)
Dilución 1:50	-55.4333333	0.042	98.7	- 0.7733	2.72	7.75E+05	0.0006
Dilución 1:20	-52.7	0.066	98.21	- 1.1233	4.023	1.33E+06	0.0008
Dilución 1:10	-37.94	0.122	96.883 3	-2.07	7.523	1.99E+06	0.001033 33
Dilución 1:5	-27.8966667	0.254	94.56	- 3.9033	14.55 3	3.89E+06	0.0015
Dilución 1:3	-23.9533333	0.396	92.343	- 5.5866	21.39 3	6.45E+06	0.002233 33
Dilución 1:2	-17.7566667	0.527	90.286 6	- 6.8933	27.22 6	7.29E+06	0.002866 67
Dilución 1:1	-11.5433333	0.777	86.09	-9.01	37.89 3	1.19E+07	0.0038
Sin diluir	-4.79666667	1.46766	74.26	-12.11	59.14 6	2.20E+07	0.007066 67

Tabla 12. Promedios de las pruebas realizadas en laboratorio.

Con base en la tabla anterior se obtuvieron gráficas de correlación, donde las pruebas indirectas, las cuales son: PAR, absorbancia, color (L*, a*, b*) fueron

comparadas con el conteo celular y el peso seco, para determinar la prueba que mejor se adecue para el monitoreo del crecimiento celular sin tener que estar realizando el conteo y peso seco de manera continua.

La prueba que tuvo un mayor coeficiente de determinación fue la de absorbancia para ambas pruebas directas, las gráficas son ilustradas en la Figura 26 y la Figura 27. Las gráficas restantes se encuentran ilustradas de la Figura 29 a la Figura 38, dentro del Anexo 4.



Figura 26. Correlación entre la absorbancia y el conteo celular.

El coeficiente de correlación, este se define como la expresión numérica que nos indica el grado de relación existente entre las dos variables y en qué medida se relacionan y son números que varían entre +1 y -1. En el caso del análisis entre el conteo celular y absorbancia, el coeficiente de correlación es de 0.9989, este dato se obtiene de la raíz cuadrada del coeficiente de determinación, y se interpreta como una correlación positiva muy alta en un modelo de correlación simple.

71



Figura 27. Correlación entre la absorbancia y el peso seco.

Para el caso de la relación entre el peso seco y la absorbancia el coeficiente de correlación es de 0.9994, de igual manera se interpreta como una correlación positiva muy alta en un modelo de correlación simple.
5.6 Cinética de crecimiento

Durante el segundo ensayo se fueron tomando fotografías al fotobiorreactor para tener un parámetro visual de cómo se va desarrollando el crecimiento celular a lo largo de los días, esto se muestra en la Figura 28.



Día 13

Figura 28. Cinética de crecimiento.

CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES

6.1 Conclusiones

En este proyecto de investigación se rediseñó y manufacturó un fotobiorreactor de panel ondulado tipo airlift para el cultivo de microalgas. Utilizando herramientas y conocimientos adquiridos en la Maestría en Tecnología Avanzada de Manufactura, como lo son el diseño, manufactura e ingeniería asistida por computadora, los procesos de manufactura tales como fresado CNC y termoformado, además se adquirieron conocimientos sobre el uso de materiales y equipos del laboratorio de bioprocesos, ubicado en el laboratorio de Productos Naturales y Alimetos, indagando de esta manera en el área de microbiología diferente a la manufactura y dando un panorama más amplio al perfil de egreso.

Se concluye que al aumentar el flujo de aire mediante más difusores ayuda a un mejor mezclado dentro del fotobiorreactor y que para la puesta en marcha de este se debe desinfectar antes de agregar el inóculo con agua; por último, en este punto se determina que el fertilizante a utilizar es el Ultrasol®.

El fotobiorreactor manufacturado resuelve el conflicto inicial del desfase entre las placas, logrando así adecuarse a la geometría propuesta inicialmente, con el rediseño propuesto se podría resolver el conflicto de la biomasa seca en la parte superior debido a que en la simulación se observa el recorrido de los flujos de aire.

Con el fotobiorreactor construido ayudará a las investigaciones que el cuerpo académico UTMIX-CA-37 tiene previsto en los procesos de obtención de biomasa

74

para alinearlos a su objetivo planteado el cual es la generación de biocombustibles a partir de microalgas.

El estudio preliminar realizado con el sensor de PAR resulta interesante para seguir analizando el ocupar este sensor para tener un indicador rápido y directo en el sistema para el crecimiento y concentración celular.

6.2 Trabajos futuros

- Pruebas de absorbancia, color, peso seco y conteo celular al fotobiorreactor fabricado en este trabajo para su validación.
- Caracterización de la cepa utilizada en los experimentos.
- Instrumentación del fotobiorreactor y monitoreo mediante una interfaz SCADA.
- Fabricación de más fotobiorreactores.
- Estudio para operar varios fotobiorreactores en modo continuo.
- Puesta en marcha de una planta piloto para la generación de biomasa algal.
- Limpieza de la cepa de microalga utilizada para realizar el estudio completo con el sensor de PAR.

REFERENCIAS

[1] A. Peñaranda, M. Trinidad; M. Roldán, A. de Jesús; C. Villanueva, R. Olivia. "Producción de biodiesel a partir de microalgas: parámetros del cultivo que afectan la producción de lípidos". Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. vol. 18, no. 1, pp. 43-68, 2013.

[2] (2014). [Online]. Disponible: https://datos.bancomundial.org/indicator/EG.USE.

[3] H. Chum. "*Bioenergy*. In IPCC Special Report on Renewable Energy Sources and Climate Change Mitigation", Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2011.

[4] C. Álvarez, "Energía Eólica". Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía, Madrid, España, 2006.

[5] L. H. Berrío; C. Zuluaga, "Smart Grid y la energía solar fotovoltaica para la generación distribuida: una revisión en el contexto energético mundial" Ingeniería y Desarrollo, Universidad del Norte Barranquilla, Colombia, vol. 32, no. 2, pp. 369-396, 2014.

[6] E. Santoyo, I. Torres, "Escenario futuro de explotación de la energía geotérmica: hacia un desarrollo sustentable". Revista digital universitaria, Centro de Investigación en Energía, UNAM, vol. 11, no. 10, 2010.

[7] A. Firoz, D. Abhijit, R. Roesfiansjah, M. Saleh, M. Hazim, B. Abdul, "Biofuel from algae - Is it a viable alternative?", Procedia Engineering vol.49, pp. 221 – 227, 2012.

[8] C. Contreras Flores, J. M. Peña Castro, L. B. Flores Cotera, R. O. Cañizares Villanueva, "Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas". Interciencia, vol. 28, no. 8, pp. 450-456, Agosto 2003.

[9] T. Sato, D. Yamada, S. Hirabayashi, "Development of virtual photobioreactor for microalgae culture considering turbulent flow and flashing light effect". Energy Conversion and management, vol. 51, pp. 1196-1201, 2010.

[10] A. Hernández-Pérez, J. I. Labbé, "Microalgas, cultivo y beneficios", Revista de Biología Marina y Oceanografía. Universidad de Valparaíso Viña del Mar, Chile, vol. 49, no. 2, pp. 157-173, 2014.

[11] A. Marcilla Gomis, M. Hernández Férez, F. J. Valdés Barceló, L. Catalá Esteve, "Fotobiorreactor combinado tipo airlift para la producción de biomasa". Patente internacional WO2014044883 A1, Marzo 27, 2014.

[12] M. Fernández Ángel, "Diseño, montaje y caracterización de fotobiorreactores airlift para el cultivo de la microalga *Chlorella sorokiniana*". Tesis Ingeniería de procesos, Universidad EAFIT, Medellín, Colombia, 2013.

[13] B. Wang, C. Lan, M. Horsman, "Closed photobioreactors for production of microalgal biomasses". University of Ottawa, Canada, vol. 30, pp. 904-912, 2012.

[14] D. González Couret, "Las energías renovables al servicio de la humanidad", Arquitectura y Urbanismo, Instituto Superior Politécnico José Antonio Echeverría, Habana, Cuba vol. 36, no. 1, pp. 93-98, Enero-Abril, 2015.

[15] M. E. González Ávila, "Producción de bioenergía en el norte de México: tan lejos y tan cerca". Frontera Norte, vol. 21, no. 41, pp. 177-183. Enero-Junio, 2009.

[16] L. Tejeda-Benítez, D; Henao-Argumedo; M. Alvear-Alayón; C.R. Castillo-Saldarriaga. "Caracterización y perfil lipídico de aceites de microalgas", Fac. Ing., vol. 24 no. 39, pp. 43–54, Mayo-Agosto 2015.

[17] L. M. Gómez Luna, "Microalgas: aspectos ecológicos y biotecnológicos", Revista Cubana de Química. vol. 19, no. 2, pp. 3-20, 2007.

[18] P. Gómez Alonso, "Desarrollo y validación de tecnologías de intensificación lumínica para fotobiorreactores (FBR) para el aprovechamiento de la radiación en el cultivo de microalgas". Tesis de doctorado, Universidad Politécnica de Madrid, 2012.

[19] L. Rodolfi, G.Chini; N.Bassi, G. Padovani, N.Biondi, G. Bonini, "Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. Biotechnol Bioeng". vol. 102, no. 1, pp.100-112, 2009.

[20] A. Richmond, "Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology". Blackwell Science, 2004.

[21] F. A. López Ayala, R. C. Rojas Prada, "Diseño y montaje de un de un fotobiorreactor a escala laboratorio para la producción de microalgas". Tesis Ingeniería Química, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, 2010.

[22] C. Q. Bei Wang, M. Horsman, "Closed photobioreactors for production of microalgal biomasses". Biotechnology Advances. vol. 30, pp. 904-912, 2012.

[23] Contreras Gómez, Antonio; Molina Grima, Emilio; Francisco y Valdés Sanz, Fernando. "Dispositivo para el cultivo de microorganismos fotosintéticos y la producción de biomasa rica en ácido eicosapentaenoico". Patente española ES 2 071 572, Enero 01, 1996.

[24] C. Díaz García, E. Romero Palazón, R. García-Blairsy, "Método de cultivo de microorganismos y fotobiorreactor empleado en dicho método". Patente internacional WO 2010/103154 A3, Marzo 09, 2010.

[25] Disponible: https://subitec.com/en/flat-panel-airlift-bioreactor-technology

[26] G. Fraunhofer; F. Förderung der angewandten, "Bioreaktor für die kultivierung von mikroorganismen sowie verfahren zur herstellung desselben". Patente internacional WO 2002031102 A1, Abril 18, 2002.

[27] (2012) "Termoformado". Facultad de Ciencia y Tecnología. Disponible: http://materias.fcyt.umss.edu.bo/tecno-II/PDF/cap-238.pdf.

[28] J. Carro-Suárez, F. Flores-Salazar, I. Flores-Nava, "Análisis de esfuerzo de contacto en engranes rectos aplicando el criterio de Hertz con ingeniería asistida por computadora" Instituto Politécnico Nacional, Distrito Federal, México Científica, vol. 16, no. 1, pp. 25-32, Enero-Marzo, 2012.

ANEXOS

Anexo 1. Códigos de maquinado para ambos moldes de termoformado.

%MOLDE,MX--,

N1 G90

N2 T01 M06

N3 G54

N12 G0 X330.423 Y-14.213 S4000 M03

N14 G1 Z9.351 F1200

N15 X330.498 Z8.38

N16 X330.72 Z7.431

N17 X331.085 Z6.527

N18 X331.584 Z5.69

N19 X332.206 Z4.94

N20 X332.934 Z4.293

N21 X333.754 Z3.765

N22 X334.644 Z3.369

N23 X335.584 Z3.113

N24 X336.553 Z3.005

N25 X343.538 Z2.763

N26 X350.523 Z2.52

N27 X357.508 Z2.278

Los dos códigos de maquinado para los moldes se encuentran en el siguiente enlace: https://mega.nz/#F!NUIiXaoC!_o9ccFVu7bSdFkIHGbf-6w

Anexo 2. Tablas de resultados prototipo PBR-GRRC17.

Tabla 13. Prueba de absorbancia.

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9
ABS	0.047	0.116	0.272	0.442	0.686	0.956	1.178	1.357	1.532

Tabla 14. Prueba de color (L*).

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9
L*	98.81	97.09	94.2	91.11	87.57	84.37	80.15	76.88	74.46

Tabla 15 Prueba de color (a*).

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9
a*	-0.66	-2.15	-4.83	-7.27	-9.59	-11.09	-12.32	-12.74	-13.49

Tabla 16. Prueba de color (b*).

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9
b*	2.6	7.56	17.07	26.37	37.08	45.55	53.71	57.91	62.51

Anexo 3. Resultados obtenidos de las pruebas a las diluciones.

Tabla 17. Resultados de pruebas indirectas para la dilución 1:50.

DILUCIÓN 1:50							
	1	2	3	Promedio			
PAR (µmolm ⁻² s ⁻¹)	55.48	55.4	55.42	55.43333333			
Absorbancia (nm)	0.04	0.042	0.044	0.042			
L*	98.73	98.63	98.74	98.7			
a*	-0.75	-0.81	-0.76	-0.773333333			
b*	2.63	2.87	2.66	2.72			

Tabla 18. Resultados de pruebas indirectas para la dilución 1:20.

DILUCIÓN 1:20							
	1	2	3	Promedio			
PAR (µmolm ⁻² s ⁻¹)	52.69	52.72	52.69	52.7			
Absorbancia (nm)	0.069	0.064	0.067	0.06666667			
L*	98.21	98.22	98.2	98.21			
a*	-1.13	-1.12	-1.12	-1.12333333			
b *	4.03	4.01	4.03	4.02333333			

Tabla 19. Resultados de pruebas indirectas para la dilución 1:10.

DILUCIÓN 1:10							
	1	2	3	Promedio			
PAR (µmolm ⁻² s ⁻¹)	37.95	37.94	37.93	37.94			
Absorbancia (nm)	0.122	0.12	0.126	0.12266667			
L*	96.89	96.88	96.88	96.8833333			
a*	-2.06	-2.08	-2.07	-2.07			
b*	7.51	7.55	7.51	7.52333333			

Tabla 20. Resultados de pruebas indirectas para la dilución 1:5.

DILUCIÓN 1:5							
	1	2	3	Promedio			
PAR (µmolm⁻²s⁻¹)	27.91	27.9	27.88	27.8966667			
Absorbancia (nm)	0.254	0.256	0.254	0.25466667			
L*	94.54	94.57	94.57	94.56			
a*	-3.9	-3.91	-3.9	-3.90333333			
b *	14.57	14.58	14.51	14.5533333			

DILUCIÓN 1:3							
	1	2	3	Promedio			
PAR (µmolm ⁻² s ⁻¹)	23.95	23.95	23.96	23.95333333			
Absorbancia (nm)	0.397	0.397	0.396	0.396666667			
L*	92.32	92.34	92.37	92.34333333			
a*	-5.6	-5.61	-5.55	-5.586666667			
b*	21.48	21.44	21.26	21.39333333			

Tabla 21. Resultados de pruebas indirectas para la dilución 1:3.

Tabla 22. Resultados de pruebas indirectas para la dilución 1:2.

DILUCIÓN 1:2							
	1	2	3	Promedio			
PAR (µmolm ⁻² s ⁻¹)	17.76	17.76	17.75	17.7566667			
Absorbancia (nm)	0.527	0.529	0.526	0.52733333			
L*	90.27	90.28	90.31	90.2866667			
a*	-6.89	-6.88	-6.91	-6.89333333			
b*	27.23	27.18	27.27	27.2266667			

Tabla 23. Resultados de pruebas indirectas para la dilución 1:1.

DILUCIÓN 1:1							
	1	2	3	Promedio			
PAR (µmolm ⁻² s ⁻¹)	11.55	11.54	11.54	11.5433333			
Absorbancia (nm)	0.77	0.783	0.778	0.777			
L*	86.07	86.13	86.07	86.09			
a*	-9.01	-9	-9.02	-9.01			
b*	37.88	37.83	37.97	37.8933333			

Tabla 24. Resultados de pruebas indirectas para el inóculo sin diluir.

		SIN DILUI	R	
	1	2	3	Promedio
PAR (µmolm ⁻² s ⁻¹)	4.79	4.8	4.8	4.79666667
Absorbancia (nm)	1.464	1.471	1.468	1.46766667
L*	74.15	74.26	74.37	74.26
a*	-12.13	-12.12	-12.09	-12.1133333
b*	59.38	59.16	58.9	59.1466667

DILUCIÓN 1:50												
	P PC PB D											
1	0.1055 g	0.1052 g	0.106 g	0.0008 g								
2	0.0986 g	0.0984 g	0.099 g	0.0006 g								
3	0.1007 g	0.1004 g	0.1008 g	0.0004 g								
		PROMEDIO		0.0006								

Tabla 25. Resultados de peso seco para la dilución 1:50.

Tabla 26. Resultados de peso seco para la dilución 1:20.

DILUCIÓN 1:20												
	P PC PB D											
1	0.0976 g	0.0974 g	0.0983 g	0.0009 g								
2	0.0983 g	0.098 g	0.0988 g	0.0008 g								
3	0.0999 g	0.0998 g	0.1005 g	0.0007 g								
	PROMEDIO											

Tabla 27. Resultados de peso seco para la dilución 1:10.

	DILUCIÓN 1:10											
	P PC PB D											
1	0.0982 g	0.0979 g	0.0991 g	0.0012 g								
2	0.0966 g	0.0963 g	0.0973 g	0.001 g								
3	0.0971 g	0.097 g	0.0979 g	0.0009 g								
	PROMEDIO 0.00103											

Tabla 28. Resultados de peso seco para la dilución 1:5.

	DILUCIÒN 1:5											
	P PC PB D											
1	0.0979 g	0.0977 g	0.0992 g	0.0015 g								
2	0.0983 g	0.098 g	0.0996 g	0.0016 g								
3	0.0964 g	0.0963 g	0.0977 g	0.0014 g								
	0.0015											

Tabla 29. Resultados de peso seco para la dilución 1:3.

	DILUCIÓN 1:3											
	P PC PB D											
1	0.0997 g	0.0996 g	0.1018 g	0.0022 g								
2	0.0984 g	0.0981 g	0.1006 g	0.0025 g								
3	0.0984 g	0.0983 g	0.1003 g	0.002 g								
		0.00223333										

	DILUCIÓN 1:2											
	P PC PB D											
1	0.0982 g	0.098 g	0.1005 g	0.0025 g								
2	0.1003 g	0.0999 g	0.1029 g	0.003 g								
3	0.0989 g	0.0986 g	0.1017 g	0.0031 g								
		PROMEDIO		0.00286667								

Tabla 30. Resultados de peso seco para la dilución 1:2.

Tabla 31. Resultados de peso seco para la dilución 1:1.

	DILUCIÓN 1:1											
	P PC PB D											
1	0.0957 g	0.0955 g	0.0994 g	0.0039 g								
2	0.0982 g	0.098 g	0.1016 g	0.0036 g								
3	0.0964 g	0.0961 g	0.1 g	0.0039 g								
	PROMEDIO 0.00											

Tabla 32. Resultados de peso seco para el inóculo sin diluir.

	SIN DILUIR											
	P PC PB D											
1	0.0976 g	0.0975 g	0.1046 g	0.0071 g								
2	0.0973 g	0.0972 g	0.1042 g	0.007 g								
3	0.0968 g	0.0967 g	0.1038 g	0.0071 g								
		0.00706667										

Tabla 33. Resultados del conteo celular para la dilución 1:50.

DILUCIÓN 1:50											
Conte	o de cél	CONTEO									
6	10	5	3	4	2	3	3	36	7.75 x10⁵		
7	3	4	5	2	6	6	4	37			
4	5	10	5	5	8	3	2	42			
7	7	4	10	2	3	6	1	40			
								155			

DILUCIÓN 1:20										
Conteo	de célu	las						TOTAL	CONTEO	
8	10	7	6	9	7	10	6	63	1.33 x10 ⁶	
7	7	5	7	6	12	10	8	62		
6	6	7	14	8	8	8	9	66		
17	10	11	10	5	6	7	9	75		
								266		

Tabla 34. Resultados del conteo celular para la dilución 1:20.

Tabla 35. Resultados del conteo celular para la dilución 1:10.

	DILUCIÓN 1:10										
Conteo	de cél	ulas						TOTAL	CONTEO		
13	15	15	13	5	12	11	10	94	1.985 x10 ⁶		
15	16	9	14	16	14	12	8	104			
10	11	12	19	13	17	14	11	107			
7	12	8	16	12	11	16	10	92			
								397			

Tabla 36. Resultados del conteo celular para la dilución 1:5.

	DILUCIÓN 1:5											
Conteo de células								TOTAL	CONTEO			
31	24	28	21	15	19	23	18	179	3.89 x10 ⁶			
32	25	23	20	27	19	29	28	203				
31	24	24	16	20	28	35	23	201				
14	23	27	14	35	21	30	31	195				
								778				

Tabla 37. Resultados del conteo celular para la dilución 1:3.

DILUCIÓN 1:3												
Conteo	de cél	lulas		TOTAL CONTEO								
29	36	42	43	35	42	43	48	318	6.45 x10 ⁶			
31	49	35	34	40	47	53	39	328				
36	41	40	44	26	39	42	51	319				
30	40	45	45	37	38	40	50	325				
								1290				

DILUCIÓN 1:2												
Conteo	de cél	e células TOTAL CONTEO										
38	35	63	34	50	37	53	54	364	7.285 x10 ⁶			
61	45	44	36	53	49	45	57	390				
46	40	36	50	37	59	47	37	352				
39	47	44	45	40	53	42	41	351				
								1457				

Tabla 38. Resultados del conteo celular para la dilución 1:2.

Tabla 39. Resultados del conteo celular para la dilución 1:1.

DILUCIÓN 1:1												
Contec	de cé	élulas	TOTAL CONTEO									
65	80	73	102	53	66	84	86	609	1.193 x10 ⁷			
63	79	77	71	66	82	72	51	561				
71	69	72	91	73	90	59	85	610				
68	71	87	85	58	86	60	91	606				
								2386				

Tabla 40. Resultados del conteo celular para el inóculo sin diluir.

		SIN DILUIR											
CONTEO	TOTAL		Conteo de células										
2.1985 x10 ⁷	1091	121	151	154	144	116	125	138	142				
	1144	137	139	146	143	145	141	139	154				
	1021	126	108	149	152	110	120	134	122				
	1141	153	161	152	170	130	134	117	124				
	4397												

Anexo 4. Curvas de correlación de los resultados obtenidos a las pruebas de laboratorio con las diluciones.



Figura 29. Gráfica de correlación entre peso seco y PAR.



Figura 30. Gráfica de correlación entre conteo celular y PAR.



Figura 31. Gráfica de correlación entre peso seco y absorbancia.



Figura 32. Gráfica de correlación entre conteo celular y absorbancia.



Figura 33. Gráfica de correlación entre peso seco y L*.



Figura 34. Gráfica de correlación entre conteo celular y L*.



Figura 35. Gráfica de correlación entre peso seco y a*.



Figura 36. Gráfica de correlación entre conteo celular y a*.



Figura 37. Gráfica de correlación entre peso seco y b*.



Figura 38. Gráfica de correlación entre conteo celular y b*.