



UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y AMBIENTALES

Trabajo de Fin de Carrera Titulado:

**“DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y OPERACIÓN DE UN FOTOBIORREACTOR
PLANO PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA EN CONDICIONES
AMBIENTALES A PARTIR DE MICROALGAS Y SU USO POSTERIOR EN
LA INDUSTRIA ENERGÉTICA”**

Realizado por:

ANNY MARIA CORAL ZAMBRANO

Director del proyecto:

Msc. Rodolfo Jefferson Rubio Aguiar

Como requisito para la obtención del título de:

INGENIERA QUÍMICA INDUSTRIAL

Quito, 2 de Agosto del 2017

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, ANNY MARIA CORAL ZAMBRANO, con cedula de identidad # 1309679031, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado a calificación profesional; y, que he consultado las referencia bibliográficas que se incluyen en el documento.

A través de la presente declaración, cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la UNIVESIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normativa institucional vigente.



FIRMA

Ci: 1309679031

DECLARATORIA

El presente trabajo de investigación titulado:

“DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y OPERACIÓN DE UN FOTOBIORREACTOR PLANO PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA EN CONDICIONES AMBIENTALES A PARTIR DE MICROALGAS Y SU USO POSTERIOR EN LA INDUSTRIA ENERGÉTICA”.

Realizado por:

ANNY MARIA CORAL ZAMBRANO

como Requisito para la Obtención del Título de:

INGENIERA QUÍMICA INDUSTRIAL

ha sido dirigido por el profesor

JEFFERSON RODOLFO RUBIO AGUIAR

quien considera que constituye un trabajo original de su autor



FIRMA

LOS PROFESORES INFORMANTES

Los Profesores Informantes:

Msc. JOHANNA MEDRANO

PhD. PABLO CASTILLEJO

Después de revisar el trabajo presentado,

lo han calificado como apto para su defensa oral ante

el tribunal examinador



FIRMA



FIRMA

Quito, 2 de Agosto del 2017

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a Dios, por brindarme la oportunidad de llegar a cumplir esta meta. A mi madre, por ser el pilar fundamental, por demostrarme su cariño y apoyo incondicional sin importar nuestras diferencias. A mi padre por brindarme su apoyo en cada una de mis metas. A mi abuelita por enseñarme que en la vida se tiene que luchar por los sueños, a ser fuerte, a ser humilde y a siempre tener una sonrisa a pesar de las dificultades. A mis tíos y primos por acompañarme siempre. A mis compañeros quienes me acompañaron durante esta aventura y me ayudaron a llegar a la meta. Por último a las personas especiales que me apoyaron y creyeron en mí.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por protegerme durante todo mi camino y darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi vida.

A mi madre, por enseñarme a no rendirme ante las dificultades de la vida y siempre perseguir mis sueños, por enseñarme con su amor y paciencia, por estar a mi lado siempre y por luchar para que yo pueda cumplir mis sueños.

A mi padre, por su apoyo incondicional. A mis tíos quienes con su ayuda, cariño y comprensión han sido parte fundamental de mi vida.

A Elena Cedeño y su familia por brindarme su amor y paciencia, por abrirme las puertas de su casa y ser mi apoyo durante estos cinco años.

A Hipatia Arguello por ser mi cómplice y amiga, gracias por a su cariño puedo llegar a cumplir esta meta.

A Gilbert y Atenays Delgado, gracias por creer en mí, por brindarme su ayuda en los momentos en los que más lo necesite.

A mi enamorado Javier Delgado gracias por apoyarme y ayudarme a llegar a cumplir esta meta.

31/7/17 11:36:55 a.36.p.36.

Para someter a: *Rev. Int. Biochemical Engineering Journal*
To be submitted : *Rev. Int. Chemical Engineering Journal*

DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y OPERACIÓN DE UN FOTOBIORREACTOR PLANO
PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA EN CONDICIONES AMBIENTALES A
PARTIR DE MICROALGAS Y SU USO POSTERIOR EN LA INDUSTRIA
ENERGÉTICA.

DESIGN, CONSTRUCTION AND OPERATION OF A FLAT PHOTOBIOREACTOR TO
PRODUCE BIOMASS AT ENVIRONMENTAL CONDITIONS FROM MICROALGAE,
AND ITS LATER USE IN THE ENERGY INDUSTRIE.

A anny Coral¹, Jefferson Rubio^{1*}

¹ Universidad Internacional SEK, Facultad de Ciencias Naturales y Ambientales, Quito,
Ecuador.31/7/17 11:36:55 a.36.p.36.

* AUTOR DE CORRESPONDENCIA: Rodolfo Jefferson Rubio Aguiar, Universidad
Internacional SEK, Facultad de Ciencias Naturales y Ambientales, Quito, Ecuador.
Contacto: rodolfo.rubio@uisek.edu.ec

Título corto o Running title: Diseño de un Fotobiorreactor de placas planas para la producción
de Biomasa a partir de microalgas.....

Resumen.

En la presente investigación se diseñó, construyó y experimentó con un Fotobiorreactor de placas planas con un volumen de operación de 55 L, para producir biomasa a partir de microalgas, se consideraron varios factores como la radiación solar en la Ciudad de Quito en el año anterior (2016). También se calculó el coeficiente global de transferencia de Masa (K_{La}), el coeficiente total de transferencia de Masa (K_L), la retención del gas (ϵ) y el tiempo de mezcla (t_m) en función de la velocidad superficial del gas (UG) en un fotobiorreactor de panel plano (PBR). Así mismo, se calculó la eficiencia de utilización de CO_2 y el consumo de energía volumétrica (P/V). El proceso de siembra se realizó utilizando medio de cultivo BBM, con un consorcio de microalgas compuesto por “*Chlorella vulgaris* 0,4% - *Monoraphidium Contortum* 99.6%”, obtenido de la Reserva Biológica de Limoncocha. Así mismo se cuantificó el contenido lipídico y proteico de dicho consorcio. Los resultados obtenidos en este trabajo fueron los siguientes: K_{La} : $0,005\ s^{-1}$, ϵ : 0,010, velocidad del gas: $0,007\ m.s^{-1}$, eficiencia del CO_2 : 1,74 % y (P/V) de $34\ W.m^{-3}$, los cuales indican que las características hidrodinámicas y de transferencia de Masa de este Fotobiorreactor se acercan a la característica referentes para algunos reactores de este tipo. El contenido lipídico total fue del 41%, indicando así que el consorcio cultivado en el Fotobiorreactor es apto para ser utilizados en la industria energética.

Palabras clave:

Biomasa, Microalgas, Fotobiorreactor, Lípidos, Proteínas, Transferencia de Masa, Diseño.

Abstract.

For this research a 55 L flat plate photobioreactor was designed, constructed and experimented, to produce biomass from microalgae, several factors were considered for the research, such as solar radiation in Quito City for year 2016. The Global mass transfer coefficient (K_{La}), the total mass transfer coefficient (K_L), the gas retention (ϵ) and the mixing time (t_m) as a function of the surface gas velocity (U_G) in a flat panel photobioreactor (PBR). As well as the CO_2 efficiency of utilization and the consumption of volumetric energy (P/V) were investigated. The sowing process was carried out using BBM , the culture medium, consisted in a consortium of microalgae composed of "Chlorella vulgaris 0.4% - Monoraphidium Contortum 99.6 %" obtained from the Limoncocha Biological Reserve. At the same time, the lipid and protein content of this consortium was quantified. The results obtained from this work were the following: K_{La} were 0.005 s^{-1} , ϵ 0.010, gas velocity 0.007 ms^{-1} , the CO_2 efficiency 1.74% and the (P/V) 34 Wm^{-3} , they indicate that the hydrodynamic and mass transfer characteristics of this photobioreactor are the same as reactors of this type. The total lipid content was 41%, so the consortium and the Photobioreactor are suitable for use in the energy industry.

Key words:

Biomass, Microalgae, Photobioreactor, Lipids, Proteins, Mass Transfer, Design.

Introducción.

Los biocombustibles nacen con el uso de hidrocarburos como fuente de energía a finales del siglo XIX. En 1895 se empieza a utilizar aceites vegetales como combustibles para motores de combustión interna. Un biocombustible es aquel combustible que se obtiene a partir de biomasa Edmar & Victor, (2009).

En la actualidad, los precios de los combustibles fósiles no son elevados, pero generan grandes contaminantes, por lo cual se están buscando alternativas para reemplazarlos. Una alternativa son los biocombustibles producidos a partir de materia orgánica. Esta alternativa debería aliviar la carga de contaminantes emitidos hacia el medio ambiente Ramos et al., (2015).

La demanda de biocombustibles se está incrementando en el mundo, y los biocombustibles de primera generación que utilizan materias primas de uso alimentario son utilizados para cumplir con dicha demanda; la mayoría de cultivos que se destinaban como fuente alimentaria ahora también se destinan para la producción de combustibles biológicos. Esto provoca un incremento en la demanda económica en plantas oleaginosas comestibles como maíz, girasol, soya, y otros cultivos. El principal problema es la competencia con los cultivos de interés agronómico, esto genera inestabilidad en la sociedad, debido a la destrucción de ecosistemas enteros para desarrollar cultivos destinados a dicha producción Galvan, Sierra Rangel, & Venegas Camelo, (2014).

Una de las alternativas sostenibles posibles, es la producción de biocombustibles de tercera generación utilizando microalgas Galvan et al., (2014). Por lo tanto se pretende contribuir a la solución de la problemática energética investigando más acerca de los recursos biodiversos de Ecuador, utilizando cepas de microalgas obtenidas de la Reserva Biológica de Limoncocha, las cuales fueron empleadas y colocadas en un fotobiorreactor de placas planas, para la producción de biomasa y su aprovechamiento como fuente energética.

DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

Las microalgas y cianobacterias son microorganismos fotosintéticos procariotas y eucariotas, que utilizan como nutriente el dióxido de carbono (CO₂), agua y energía solar para producir biomasa, poseen un elevado contenido en aceites (hasta un 60% en peso), crecen entre 10 y 200 veces más rápido que los cultivos terrestres como la soya y la colza, y su ventaja es que pueden vivir en condiciones poco favorables Ramos et al., (2015).

Además son organismos fotoautótrofos, que obtienen la energía de la luz solar, se desarrollan a partir de materia inorgánica y utilizan el CO₂ para elaborar su propia materia orgánica. Asimismo, tienen la capacidad de eliminar o biotransformar contaminantes en un medio líquido o gaseoso. De acuerdo con esto se puede producir biomasa con fines comerciales o eliminación de contaminantes que afectan al medio ambiente Hernández & Labbé, (2014).

De acuerdo a Rawat et al. 2011, citado en Héctor M. Alvarez, Matías Blanco, María A. Fajardo, (2007) la utilización de la biomasa podría proporcionar aproximadamente el 25% de las necesidades energéticas mundiales, siendo además una fuente de productos biotecnológicos, farmacéuticos y aditivos alimentarios, por lo tanto las microalgas se constituyen como las productoras más eficientes de biomasa en el ciclo de la naturaleza, siendo reconocidas como un excelente recurso medioambiental y biotecnológico.

El biodiesel que se produce a partir de microalgas no posee impactos en el suministro de alimentos. Las microalgas pueden cultivarse utilizando agua salina, residual, potable o autoclavada, tienen un alto potencial de crecimiento, duplican su biomasa en 24 horas. Esta biomasa por su gran carga proteica también puede utilizarse como fuente de alimento para seres humanos y animales Pérez & Quishpi, (2014).

En la actualidad la mayoría de la producción de microalgas se realiza en sistemas abiertos, tipo estanque. Una de las razones principales de los sistemas abiertos es la facilidad de construcción, operación, bajo coste y durabilidad que poseen, aunque la accesibilidad de

DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

luz, las pérdidas por evaporación, el uso de grandes extensiones de terreno y contaminación del cultivo por organismos heterótrofos de rápido crecimiento, dificultan el crecimiento celular Martínez García, (2012). Estos sistemas abiertos son de tipo natural tales como lagos, lagunas y estanques, los cuales dependen de las condiciones meteorológicas del lugar en el que se realice el cultivo Pérez & Quishpi, (2014).

Los sistemas cerrados, estos brindan mejor protección al cultivo de microalgas y facilitan el control de variables que promueven su crecimiento, pero los costos de operación son mayores que en los cultivos en sistemas abiertos Pérez & Quishpi, (2014).

La producción de biomasa en sistemas cerrados se realiza a escala piloto, industrial o en laboratorio y se utilizan fotobiorreactores (PBR) , los cuales son recipientes donde se lleva a cabo una transformación química, proporcionan un ambiente óptimo para el crecimiento celular y aseguran el control de variables importantes tales como; pH y temperatura Martínez García, (2012).

Los fotobiorreactores deben proporcionar determinadas condiciones para mantener el cultivo puro, a una temperatura constante y homogénea, asegurando el crecimiento celular, utilizando la luz solar como fuente de energía botánica Galvan et al., (2014).

La variedad de diseños para fotobiorreactores están relacionados con las diferentes demandas fisiológicas de las células con respecto a la cinética de crecimiento, formación del producto y por último el valor del producto y su campo de aplicación Posten, (2009). A continuación una descripción detallada del tipo de fotobiorreactor que se utilizó en la presente investigación.

Los fotobiorreactores (PBRs) de placas planas fueron diseñados para tener un uso eficiente de luz solar. Pueden ser de materiales transparentes como vidrio, plexiglás, policarbonato, etc Ramírez, Queiroz Zepka, & Jacob-Lopes, (2013). Para la agitación por lo

DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

general se utilizan burbujas, ya que se conoce como la forma más suave cuando se refiere al esfuerzo cortante para las microalgas Posten, (2009).

Para hacer el crecimiento celular eficiente es necesario diseñarlos para que transmitan la mayor cantidad posible de luz, esto implica una alta relación superficie/volumen (S/V) del reactor Ramírez et al., (2013). Por general se ha observado en varios modelos de PBRs que las velocidades de transferencia de masa son relativamente bajas. Esto se debe a que el espacio entre los paneles es muy fino, lo que restringe la trayectoria de luz y reduce la eficacia de la eliminación del O₂ disuelto que es producido por la fotosíntesis. Estos tipos de reactores necesitan grandes cantidades de energía luminica para tener una relación (S/V) propicia para obtener la energía luminosa requerida, por lo que su operación se hace costosa Reyna, Cristiani, & Hernandez, (2010).

Las velocidades de transferencia de masa en un biorreactor son afectadas por las propiedades del fluido, la velocidad del líquido y del gas, y por la geometría y tipo de biorreactor. La transferencia de masa es evaluada mediante el coeficiente global de transferencia de masa (kLa), por lo tanto la predicción y optimización de la transferencia de masa por kLa busca predecir cuándo se llega a la máxima transferencia de masa utilizando una mínima cantidad de entrada de energía luminica Reyna et al., (2010).

Es por ello que existen varios criterios que se deben tener en cuenta a la hora de diseñar un fotobiorreactor de placas planas, entre ellas está la relación que existe entre la superficie iluminada en el reactor y volumen del cultivo (S/V), a medida que se incrementa (S/V), mayor es la concentración celular en el cultivo Galvan et al., (2014).

En cuanto a la transferencia de masa del gas, se conoce como la relación entre la fracción de volumen de la fase gaseosa en dispersión y la fracción vacía del gas; por otra parte el agarre del gas determina el tiempo de residencia del gas en el líquido que

DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

combinándolo con el tamaño de burbuja influyen en el área entre las fases del gas y líquido disponibles para la transferencia de masa Galvan et al., (2014).

El carbono es el principal nutriente utilizado para promover el crecimiento celular Ramírez et al., (2013), según Carvalho et al., (2006), la mayoría del flujo de carbono alimentado al PBR está determinado por la velocidad de burbujeo y la presión parcial del CO₂, por lo que cuando se alcanza la combinación perfecta entre estas variables se logra evitar la limitación de carbono en el cultivo de microalgas.

Uno de los criterios más importantes para el diseño es la hidrodinámica del reactor ya que puede generar daño celular; esto se debe principalmente a la ruptura de las burbujas en la superficie. Según Barbosa, Albrecht, & Wijffels, (2003) cuando existe mayor altura las células pueden ser capturadas por las burbujas llevándolas hacia la superficie donde mueren con la ruptura de la burbuja. La mezcla ineficiente del CO₂ contribuye a la formación de grupos celulares que disminuyen la velocidad de transferencia de masa comprometiendo el crecimiento celular Ramírez et al., (2013).

El control de la temperatura es importante para promover el crecimiento, por lo tanto se debe mantener la temperatura constante; la producción de microalgas incrementa proporcionalmente hasta que alcanza la temperatura óptima, esto depende de la cepa de microalgas. Cuando la temperatura sobrepasa el límite aumenta la fotorespiración reduciendo la productividad global. En el caso de un cultivo cerrado se facilita el control la temperatura, mientras que en los sistemas abiertos esto se dificulta Hernández & Labbé, (2014).

El incremento del pH en el medio de cultivo se da por el consumo de carbono en la fotosíntesis. Cuando esto sucede, la polaridad de los compuestos en el medio de cultivo y la disponibilidad de nutrientes, se ven afectados, produciendo precipitaciones de sales y generando daño celular Ramírez et al., (2013). El pH está influenciado por la productividad

DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

algal, la respiración, alcalinidad y composición iónica del medio de cultivo, para especies de agua dulce su valor óptimo es de 8, y se lo puede controlar inyectando CO₂ o adicionando ácidos o bases de acuerdo al requerimiento Hernández & Labbé, (2014).

En cuanto a los materiales de construcción de un PBR se toman en cuenta los costos, la facilidad de instalación, durabilidad, impermeabilidad, alta transparencia, alta fuerza mecánica y protección del cultivo, por lo que se recomienda el uso de cristal en fotobiorreactores de placas planas Galvan et al., (2014).

Uno de los principales problemas que presenta la producción biomasa es que los procesos de obtención no son económicamente viables, los costos de producción son altos, debido a que se necesita una gran cantidad de energía para su cultivo y recuperación de la biomasa. La reducción de los costos se puede realizar mejorando el diseño de los fotobiorreactores, utilizando floculantes para separar la biomasa del sobrenadante, utilizando nutrientes residuales, entre otros cambios García, Jawiarczyk, González, Fernández, & Ación, (2012).

Los nutrientes y medios de cultivo para microalgas son imprescindibles y costosos por lo que escoger un medio saturado en nutrientes que promueva el crecimiento dependerá del tipo de producto que se quiera obtener; algunos medios de cultivo son reformas en formulas existentes, mientras que otros son originarios de análisis realizados en el habitat de las microalgas y se consideran ecológicos Holmes, (2000).

Para cosechar la Biomasa de microalgas se emplean varios métodos como: centrifugación, floculación Aguilar et al., (2011) filtración, sedimentación y flotación. Según varios estudios estos métodos de separación llegan a representar del 20% al 35% de costo total de la producción de biomasa Pérez & Quishpi, (2014).

La floculación se utiliza como una etapa de deshidratación en la cual las células de las microalgas forman agregados pesados que luego sedimentan. El hierro, sales de aluminio y

DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

polímeros son los más utilizados para flocular las células sin afectar su composición y toxicidad de la biomasa, en la floculación no interviene ningún químico, este proceso utiliza burbujas de aire disperso para capturar las células de las microalgas Pérez & Quishpi, (2014).

El proceso de secado se realiza antes de la extracción de lípidos y el método más utilizado pero que toma mucho tiempo es el secado al sol. Cuando la biomasa es poca se coloca en una estufa 24 horas, otros procesos más rápidos pueden afectar la calidad de la proteína contenidas en la biomasa y alterar la estructura de los lípidos Pérez & Quishpi, (2014).

Para el pre tratamiento de la biomasa se debe romper la pared celular que rodea la membrana protoplasmática y el citoplasma la cual es resistente y rígida, esto se lo realiza para extraer los lípidos y proteínas. Existen varios procesos que están ligados a la disrupción celular entre ellos están los físico químicos, como microondas, molino de bolas, ultrasonido, autoclave, enzimas, lisis acida, lisis alcalina, entre otros, pero todo esto depende del tipo de microorganismo y el acondicionamiento previo que se le dé a la biomasa Pérez & Quishpi, (2014).

Las microalgas que se cultivan en la actualidad poseen paredes celulares más resistentes por lo tanto las proteínas no se pueden extraer debido a que el acceso a ellas se dificulta, generando mayores gastos en métodos de rompimiento celular. Como se ha mencionado antes el contenido proteico contenido en la biomasa de microalgas se considera como la fracción mayoritaria, por ese motivo se busca agregarle un valor comercial, para utilizarlas como fuente de alimentación animal o humana García et al., (2012).

La fracción lipídica por lo general es menor que la fracción proteica y de carbohidratos; está compuesta por moléculas bioactivas como pigmentos, esteroides y ácidos grasos poliinsaturados de gran interés para la presente investigación. A partir de los lípidos contenidos en la biomasa se puede obtener biodiesel, utilizando la extracción de lípidos para

DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

realizar la transesterificación de fracciones saponificables o transesterificación directa de la biomasa García et al., (2012).

El Ecuador es un país mega biodiverso, posee grandes cuerpos de agua dulces en los distintos tipos de ambientes naturales y su clima variable E. Bravo, (2014) que ayudan a promover el crecimiento de las microalgas. La presente investigación pretende aprovechar los recursos microbiológicos provenientes de la Reserva Biológica de Limoncocha utilizándolos en la producción de biomasa a escala piloto en condiciones ambientales de Quito, determinando si dichas condiciones son aptas para este tipo de cultivo y su posible utilización en la industria energética.

Materiales y Métodos

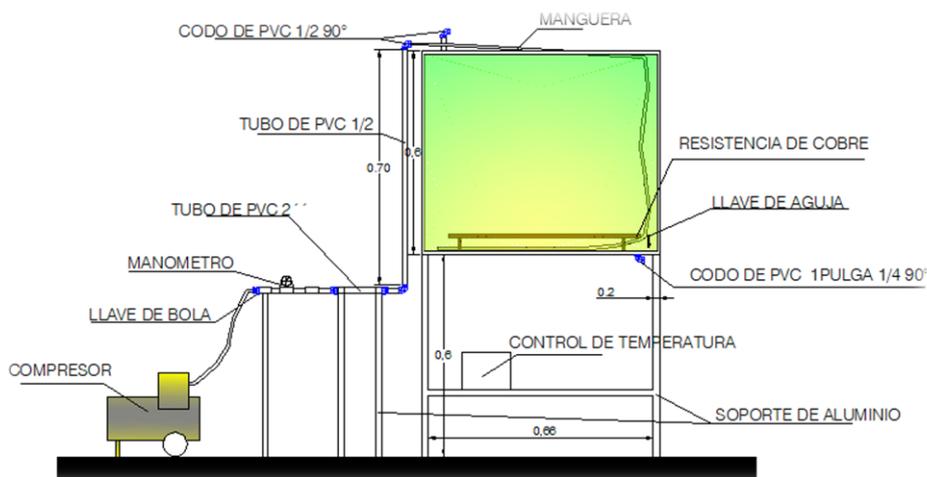
Diseño de Reactor Fotobiorreactor (PBR)

Se construyó un reactor PBR de placas planas, con las siguientes especificaciones: el volumen de trabajo 55 L, 0,7 m de ancho, 0,6 m de largo y ancho 0,17 m. Los materiales de construcción fueron láminas de vidrio de 8mm de grosor con un marco y soportes de aluminio, para el flujo de aire se utilizó una manguera de silicona con un diámetro interno de 4 mm, esta manguera tiene un largo de 4m y posee 200 agujeros con un diámetro de 0,50 mm, en su interior esta rellena de un cable de acero inoxidable de 3 mm para darle soporte, peso, y forma a la manguera.

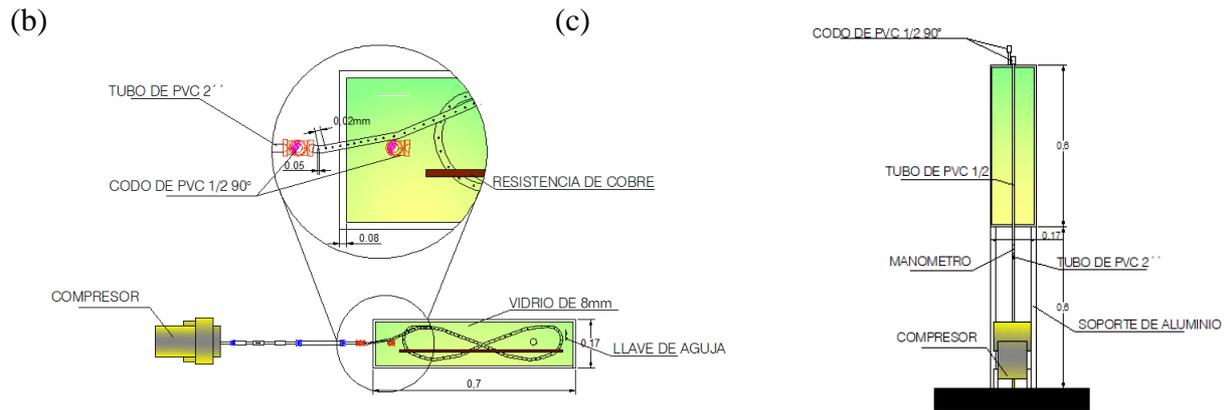
El flujo de aire se controla por medio de una válvula de bola, a la entrada del reactor, y en el interior del tanque cuenta con unas válvulas de aguja que permiten regular el flujo que sale de los orificios de la manguera, el PBR tiene en la parte baja un desagüe de 1 ¼ de pulgada que permite la descarga del mismo. El PBR se encuentra ubicado en el exterior por lo tanto tiene la iluminación de la Ciudad de Quito, así mismo los parámetros de transferencia de masa fueron calculados utilizando fuentes bibliográficas a la temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$ y a una presión atmosférica de aproximadamente 0,760 atm.

Fig. 1. Diagrama esquemático PBR placas planas:(a) Vista Frontal: (b) Vista hacia abajo:(c)

Vista Lateral.



DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS



Variables de diseño del PBR.

Control de temperatura (PBR).

Para controlar la temperatura dentro del PBR se utilizó un controlador PID (proporcional, integral, derivativo) tipo REX-C100, este control posee una niquelina con un cobertor de cobre, este material no permite que las microalgas se adhieran a la niquelina y se utiliza como proveedora de calor al sistema, para censar la temperatura a la que se encuentra el medio de cultivo este controlador tiene una termocupla protegida con un capuchón para que la radiación del sol no afecte la medición de la temperatura.

Relación superficie volumen del FPBR.

La relación superficie volumen del PBR es un factor determinante para promover el crecimiento de las microalgas, el cual se determinó utilizando la ecuación citada en Rubio & Hernández, (2016):

Ecuación. 1. Relación Superficie Volumen

$$\text{Relación Sup - Vol} = \frac{\text{Área de la placa lateral}}{\text{Volumen del equipo}}$$

Las dimensiones del PBR el área de la placa lateral que es: de largo 0,6 m y base de 0,7 m se obtuvo el área y el volumen del reactor es 60 L.

Productividad de la Biomasa en el PBR.

DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

La productividad que es la capacidad que posee el reactor para producir biomasa, se calculó mediante la siguiente ecuación obtenida de Sandoval, (2013):

Ecuación. 2. Productividad de Biomasa

$$\text{Productividad} = \frac{X_{\text{final}} - X_{\text{inicial}}}{t_{\text{final}} - t_{\text{inicial}}}$$

Donde X_i , X_f concentración de la biomasa inicial y final respectivamente [g.L^{-1}] y t_i , t_f es el tiempo que duro el cultivo en el PBR inicial y final [d^{-1}].

La tasa específica de crecimiento del consorcio en el PBR se calculó utilizando la siguiente ecuación (Sandoval, 2013).

Ecuación. 3. Tasa específica de Crecimiento

$$\mu_x = \frac{\ln \frac{X_{\text{final}}}{X_{\text{inicial}}}}{t_{\text{final}} - t_{\text{inicial}}}$$

Producción y eficiencia de la utilización de CO_2 .

El CO_2 es la fuente principal de carbono para los microorganismos es por ello la importancia de su estimación y esto se lo realizó utilizando la ecuación proveniente de Reyna, Cristiani, & Hernandez, (2010), en la cual interviene el peso de la biomasa obtenida, el contenido de carbono en la célula, la productividad del PBR y el CO_2 .

Ecuación. 4. Eficiencia del CO_2

$$E_{\text{CO}_2} = \frac{CP \left(\frac{44}{12} \right) 100}{V_{\text{CO}_2}}$$

En donde C = carbono contenido en la célula [0.45 gC g^{-1}], P = productividad [$\text{g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$],
 $V_{\text{CO}_2} = \text{CO}_2$ [$\text{g CO}_2 \text{ L}^{-1}.\text{d}^{-1}$].

Diámetro de burbuja (d_B).

DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

Con un el tamaño adecuado de las burbujas se logra asegurar la transferencia del dióxido de carbono hacia las microalgas, por lo tanto el tamaño de la burbuja es de gran importancia, con tamaños de burbujas pequeños las microalgas flotan y cuando estos son demasiado grandes se produce muerte celular. Por lo cual para el cálculo del diámetro de la burbuja se utilizó un modelo en el cual intervienen la fuerza de impulso (F_A), la fuerza viscosa (F_η) y la fuerza de inercia (F_T) sacadas de Gaitero, (2012).

Ecuación. 5. Diámetro de Burbuja

$$(\rho_L - \rho_g) * \frac{\pi}{6} * g * d_B^3 - 15 \eta_L * v_o * d_B^1 - 1.3 \rho_L * v_o^2 * d_B^2 - \pi * d_o * \sigma_L = 0$$

En donde ρ_L y ρ_g = densidades del líquido y gas respectivamente [kg.m^{-3}], g es la aceleración gravitacional [m.s^{-2}], η_L = viscosidad dinámica del agua a 30°C [$\text{kg.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$], v_o = concentración del CO_2 en el gas (CO_2 + aire) [%], d_o = diámetro del orificio [m], σ_L = tensión superficial del agua a 30°C [N.m^{-1}].

Hidrodinámica y transferencia de masa del PB.

El coeficiente global de transferencia de masa en PBR se calculó utilizando el método dinámico obtenido de Chen, Jiang, & Zhang, (2016) .

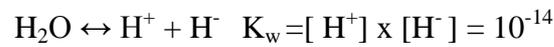
Ecuación. 6. Relación del carbono total inorgánico en el tiempo

$$\frac{dC_T}{dt} = K_L a (C_{T^*} - C_T)$$

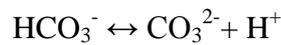
En el cual C_T y C_{T^*} son la concentraciones instantáneas y de equilibrio del carbono inorgánico total en el líquido. Según Chen et al., (2016) se debe reemplazar el dióxido de carbono por oxígeno, para medir las concentraciones del carbono inorgánico disuelto, debido a que el dióxido de carbono en los cultivos de microalgas está en equilibrio con formas de carbonato y bicarbonato, de los cuales dichos equilibrios dependen del pH.

DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

La relación entre la concentración total de carbono inorgánico y el pH fueron ignorados en esta investigación debido a que se utilizó agua potable la cual tiene un pH de 6,7 el porcentaje de $[C_T]$ es muy pequeño y las concentraciones CO_3^{2-} fueron ignoradas.



$$K1 = \frac{[HCO_3^-] \times [H^+]}{[CO_2]} = 10^{-6.381}$$



$$K2 = \frac{[CO_3^{2-}] \times [H^+]}{[HCO_3^-]} = 10^{-10.377}$$

$$[C_T] = [CO_2] + [HCO_3^-] + [CO_3^{2-}]$$

$$[H^+] = [OH^-] + [HCO_3^-] + [CO_3^{2-}] = 10^{-pH}$$

Tiempo de mezcla (t_m).

Fue calculado mediante la ecuación obtenida en Shah, Kelkar, Godbole, & Deckwer, (1982), cuando la mezcla es eficiente las células fotosintéticas se mueven de la zona de máxima irradiación solar a una de baja iluminación, creando fotoperiodos los cuales afectan directamente a la productividad de los Fotobiorreactores.

Ecuación. 7. Tiempo de mezcla

$$t_m = 0,343g^{1/3}U_G^{1/3}d^{4/3}$$

En donde interviene la gravedad (g) en $[m.s^{-2}]$, la velocidad superficial del gas (U_G) $[m.s^{-1}]$ y el porcentaje de solidos disueltos (d).

Gas retenido \acute{e} .

Fue calculado de acuerdo a la relación entre el poder volumétrico en $[W.m^{-3}]$ y unas constantes desarrolladas en Shah et al., (1982), la fórmula utilizada fue la siguiente.

Ecuación. 8. Gas retenido en el líquido

$$\acute{e} = 3.33 \times 10^{-4} * \frac{P^{0.97}}{V}$$

Poder volumétrico (P/V).

El poder volumétrico (P/V) se calculó en función de la velocidad superficial del gas la gravedad, la densidad del líquido, y la relación entre las áreas superficiales, que en este PBR es igual a 1 de acuerdo a Reyna et al., (2010).

Ecuación. 9. Poder Volumétrico

$$\frac{P}{V} = \frac{\rho L g U_G}{1 + \frac{A_d}{A_r}}$$

En donde (P/V) está en unidades de [W.m⁻³], U_G = la velocidad superficial del gas [m.s⁻¹], g = aceleración gravitacional [m.s⁻²] y A_d/A_r = relación entre áreas [m²].

Coefficiente de difusión (D_z).

Dicho coeficiente fue calculado mediante la relación que existe en la velocidad superficial del gas, la gravedad y el porcentaje de solidos disueltos de acuerdo a la siguiente ecuación obtenida de Sierra et al., (2008).

Ecuación. 10. Coeficiente de difusión del gas

$$D_z = 0,5 g^{1/4} U_G^{1/2} d^{5/4}$$

Donde D_z está en [m².s⁻¹], g= aceleración gravitacional [m.s⁻²], U_G= la velocidad superficial del gas [m.s⁻¹].

Coefficiente total de transferencia de masa en el PBR (K_L).

Para el cálculo del Coeficiente total de transferencia de masa en el PBR (K_L) existen muchas teorías entre ellas la teoría de penetración, la de dos películas entre otras es por ello que en esta investigación dicho coeficiente se calculó en base a la ecuación citada en Chen et al.,(2016).

Ecuación 11. Coeficiente total de transferencia de masa

$$K_L = 5.63 \times 10^{-5} * \frac{g \rho_L^2 D_z \sigma_L^{0.5}}{\mu_L^3} * d_B e^{-0.31 C_s^2}$$

Donde K_L [$m \cdot s^{-1}$], ρ_L = densidad del líquido [$kg \cdot m^{-3}$], D_z = el coeficiente de difusión [$m^2 \cdot s^{-1}$], σ_L = Tensión superficial [$N \cdot m^{-1}$], μ_L = viscosidad dinámica del líquido [$Kg \cdot m^{-1} \cdot s^{-1}$], d_B = diámetro de la burbuja [m], C_s = concentración de la biomasa alcanzada.

Coeficiente global de transferencia de masa en el PBR ($K_L a$).

De acuerdo a Reyna et al., (2010) el Coeficiente Global de Transferencia de Masa en el PBR ($K_L a$) puede ser calculado por la relación que existe entre algunas variables incluidas el poder volumétrico (P/V) de acuerdo a la formula.

Ecuación. 12. Coeficiente global de transferencia de masa

$$K_L a = 2.33 \times 10^{-4} \frac{P^{0.86}}{V}$$

Donde (P/V) es el poder volumétrico y ($K_L a$) [s^{-1}]. O utilizando la ecuación obtenida de (Reyna et al., 2010) la cual relaciona el gas retenido con el diámetro de la burbuja y el coeficiente total de transferencia de masa.

Ecuación. 13. Coeficiente global de transferencia de masa

$$K_L a = \frac{K_L (6\varepsilon)}{d_B (1 - \varepsilon)}$$

Donde K_L = coeficiente total de transferencia de masa [$m \cdot s^{-1}$], ε = gas retenido en el líquido, d_B = diámetro de la burbuja [m].

Los valores utilizados para calcular el coeficiente global de transferencia de Masa y otras variables, fueron tomados de información bibliográfica, el U_G según Sierra et al., (2008) utilizado para PBRs de placas planas es de 0,007 [$m \cdot s^{-1}$] y la relación entre áreas $A_d/A_r = 1$ para PBRs de placas planas con aireación por burbujas según Chen et al., (2016).

Variables

DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

Variables Ambientales.

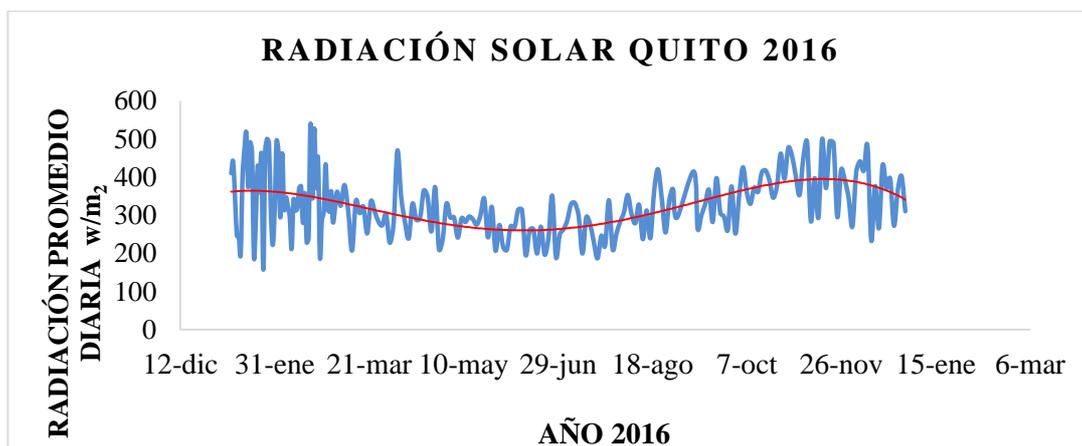
Perfil de radiación solar en la ciudad de Quito.

Los datos de radiación solar que actúan sobre el PBR fueron obtenidos de la estación meteorológica ubicada en la Universidad Internacional SEK, lugar donde se realizó la investigación, la estación arroja los datos de radiación solar en unidades W/m_2 , con una frecuencia de media hora.

Estos datos fueron procesados en una hoja de Excel realizando promedios diarios para poder obtener el perfil de radiación solar que podría influenciar en el PBR. Durante los meses de mayo y junio se llevó acabo la experimentación debido al tiempo específico para la investigación.

La radiación máxima fue en el mes de febrero con $540 W/m_2$ y la mínima de $157 W/m_2$ en el mes de enero, esta radiación se ve afectada por la nubosidad existente en la ciudad de Quito. La línea roja representa la tendencia polinomial de la radiación solar en Quito.

Fig. 2. Perfil de radiación solar en la ciudad de Quito en el año 2016.



Variables de cultivo del PBR

Consorcio de microalgas.

Las cepas de microalgas que se utilizaron en la investigación fueron obtenidas del laboratorio de Investigación de la Universidad Internacional SEK, provienen de la Reserva

DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

Biológica de Limoncocha y son: “*Chlorella vulgaris* y *Monoraphidium Contortum*”, la relación del consorcio fue por cada célula de “*Chlorella vulgaris*” habían 250 de “*Monoraphidium Contortum*”, en otras palabras el 99,6% del consorcio pertenece a *Monoraphidium Contortum*”, mientras que el 0,4% a *Chlorella vulgaris*”.

Medio de cultivo PBR.

Se utilizó el medio de cultivo Bolds Bosal Medium (BBM) (Bravo, 2017) el cual contiene NaNO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , NaCl , H_3BO_3 , una solución con EDTA la cual está compuesta por EDTA y KOH; la solución de hierro ácida compuesta por $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y H_2SO_4 al 96% y por último los metales traza los cuales son $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, MoO_3 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, estos compuestos fueron colocados en el PBR de acuerdo a las proporciones que demanda el método, para promover el crecimiento de las microalgas.

Variables de medición

Temperatura

La temperatura se midió utilizando una termocupla la cual estaba incorporada en el control de temperatura y un termómetro de mercurio para tener dos referencias, hasta la correcta calibración del control de temperatura.

pH

La medición del pH diaria se realizó utilizando un multi parámetros marca Hach-HQ40d.

Densidad óptica

Este procedimiento se lo realizó como una medida indirecta del crecimiento celular; después de que se tomaban las muestras, se colocaban con el blanco, el cual era medio de cultivo BBM en celdas de 1ml, estas se limpiaban y colocaban en el espectrofotómetro a una

DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

longitud de onda de 675 Nm, a esa longitud de onda se logra medir la clorofila, esta medición era diaria para dar seguimiento al crecimiento celular.

Conteo celular

El conteo celular se realizó utilizando la Cámara de Neubauer, la muestra se colocaba en un homogeneizador antes de realizarse el conteo celular, debido a que el conteo no era inmediato y las células se sedimentaban, una vez homogénea la muestra, con una pipeta de 1000ul se pipeteaban 100ul de muestra y se ponían en la cámara de Neubauer.

Después se fijaba el microscopio utilizando 40 aumentos y se contaban las células en los cinco cuadrantes, cuando el número de células por mililitro excedía el millón se realizaban diluciones para que el contaje fuera correcto, este procedimiento se realizó de acuerdo a Bastidas, (2008).

Ecuación. 14. Concentración de celular

$$\text{Concentración} = \frac{\text{número de células} \times 10000}{\text{número de cuadros}}$$

El número de células es el promedio de los cinco cuadrantes, el número de cuadrantes en este caso es cinco y la concentración está en [cel.ml⁻¹].

Experimentación

Para la presente investigación se realizaron dos corridas del PBR, la primera corrida se realizó con medio de cultivo BBM el cual se preparó para un volumen de 55L, se utilizó agua potable de la Ciudad de Quito, el consorcio que se utilizó fue *Chlorella vulgaris* y *Monoraphidium Contortum*“, una vez preparado el medio se dejó reposar por un periodo de 24 horas para que el cloro que contiene el agua de la llave se evapore, después de eso se colocaron 300ml de cultivo el cual contenía un inóculo de 3644 cel/ml.

El periodo de la experimentación fue de 15 días, empezó el 3 de mayo del 2017 y culminó el 17 de mayo del mismo año, el flujo de aire fue constante y se distribuyó mediante

DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

burbujeo, el control de temperatura estaba programado para alcanzar una temperatura de 30°C y el cultivo inició con un pH de 6,7.

La ubicación del PBR fue en el exterior por lo que la iluminación no era una variable de control, el conteo celular se realizó cada 24 horas, a la misma hora en dos sitios específicos del PBR, para realizar un promedio diario las variables como pH, temperatura y densidad óptica se medían al mismo tiempo en el que se realizaba el conteo celular, una vez finalizado el periodo de siembra se procedió a descargar el reactor.

La segunda corrida se realizó del 22 de mayo del 2017 al 5 de junio del mismo año, la metodología de siembra fue la misma pero cambiaron ciertos parámetros, se preparó medio BBM para 55L, se utilizó agua potable de la ciudad de Quito, se cultivaron 300 ml pero el inóculo inicial fue de 2324 cel/ml.

En esta ocasión, el flujo de aire también fue constante, pero el pH se trató de mantener constante alrededor de 7,5, para esto se utilizó HCl al 15% la temperatura se fijó en 28°C y el conteo celular se lo realizó cada 24 horas a las 11 am, al mismo tiempo que se medían el resto de variables de interés antes mencionadas, la experimentación también tuvo un periodo de 15 días hasta descargar el PBR.

Una vez descargado el PBR se procedió a la obtención de la biomasa, para esto se estabilizó el pH y se lo dejó entre 6 y 7 para que el floculante fuera eficiente, se colocó 120 ml de floculante orgánico para separar la biomasa del agua. Este proceso se realizó en los dos experimentos por igual y duro aproximadamente dos horas y media hasta lograr la clarificación, para comprobar que el proceso fuera eficiente se tomó muestras del sobrenadante cada media hora y se realizó el conteo celular para saber la concentración de células en el sobrenadante.

A las horas y medias el conteo celular reveló que ya no había presencia de microalgas y se sacó el agua utilizando una manguera plástica, la biomasa sedimentada en el fondo del

DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

recipiente se trasladó a unas bandejas de aluminio, las cuales se colocaron en la estufa a 105°C durante 24 horas, para evaporar toda el agua contenida en ella, después de eso se colocó la biomasa seca y se pesó en una balanza analítica.

Posteriormente la biomasa seca se puso a -80°C durante una hora y se molió con un mortero, antes de esto el mortero se limpió con una solución de agua oxigenada para evitar contaminaciones, este proceso se realizó para poder romper la pared celular y tener acceso a los lípidos y proteínas contenidas en ella, por último se almacenó en Falcoms para poder realizar las pruebas respectivas.

Caracterización de la biomasa

Extracción de lípidos

Para la cuantificación de lípidos totales se utilizó el método extracción Soxhlet basado en Pérez & Quishpi, (2014) pero con algunos cambios, para el solvente se utilizó una mezcla de cloroformo metanol en relación 1-2 para poder extraer los lípidos polares y apolares contenidos en la biomasa, debido a la baja productividad y poca cantidad de biomasa se realizó el procedimiento con 5 gramos de biomasa, ya que este método no tiene mucho porcentaje de error se lo realizó dos veces Pérez & Quishpi, (2014).

La temperatura se mantuvo en 70°C y el proceso de extracción duró aproximadamente ocho horas. Una vez realizada la extracción se procedió a extraer el solvente utilizando una destilación simple, se utilizó la siguiente ecuación citada en Pérez & Quishpi, (2014) para determinar el contenido de lípidos totales del consorcio.

Ecuación. 15. Porcentaje de lípidos

$$\% \text{ de lípidos} = \frac{P_l - P_v}{\text{peso de muestra de alga seca}} * 100$$

Donde el P_l es el peso en gramos del balón de ebullición con los lípidos y P_v es el peso en gramos del balón de ebullición vacío.

DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

La productividad de los lípidos se calcula mediante la siguiente formula Sandoval, (2013)

Ecuación. 16. Productividad de lípidos

$$PL = LC \times Px$$

En donde Px es la productividad de la biomasa [$\text{g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$], Lc es el porcentaje de lípidos contenidos en la biomasa

Perfil lipídico.

El procedimiento con el que se realizó el perfil lipídico fue obtenido de Antequera & Martinez, (2006), se lo realizó igual para las dos experimentaciones y por duplicado; este análisis se lo realizó mediante Cromatografía de Capa Fina (TLC), se utilizaron placas de silica gel tipo 60 F₂₅₄ Merck de 5x10 cm, las cuales fueron activadas rociándoles ácido bórico, luego se colocaron en la estufa a 120°C durante una hora, una vez activadas se dejaron enfriar.

La muestra se preparó pesando 10mg de biomasa seca obtenida del primer PBR y 10 mg de biomasa seca del segundo PBR, se colocó 300 μl de cloroformo-metanol en relación 2:1 se centrifugó a 13000 rpm durante 5 minutos, este procedimiento se realizó tres veces, para que el volumen final del sobrenadante fue de 1ml.

Como marcador de lípidos se utilizó Lecitina de soja comercial, la cual contiene glicerol, ácidos grasos y tres tipos de fosfolípidos. Para la experimentación el marcador se preparó igual que las muestras a analizar. Se puso el sobrenadante y la lecitina en fracciones de 2 μl hasta completar un volumen total de 100 μl , esperando que el solvente se evapore en cada fracción de muestra.

Se agregó el solvente en la cámara de cromatografía, se colocaron las placas y se selló muy bien la cámara para evitar la evaporación del solvente, todo esto se lo realizo debajo de la campana de extracción de gases, al mismo tiempo en otra cámara se agregó yodo en granos para crear una atmosfera de gases de Yodo la cual sirve para revelar las placas de silica gel.

DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

Después que los fosfolípidos terminaron su recorrido la placa se retiró y se dejó secar durante media hora, después se colocó en la atmosfera de Yodo durante 1 hora y se logró observar los fosfolípidos presentes en las muestras de biomasa seca del consorcio, para saber que fosfolípido se tiene se midieron las distancias de las bandas sacando un factor de Relación de Frentes (Rf), el cual mide el desplazamiento alcanzado por cada componente de una mezcla de sustancias.

Ecuación. 17. Valor de referencia de Lípidos

$$Relación_{Frentes} = \frac{Distancias\ Recorrida\ por\ el\ Producto}{Distancia\ Recorrida\ por\ la\ Fase\ Movil}$$

Cuantificación de proteínas.

Para la cuantificación de proteínas se utilizó el método Biuret sacado de Bravo, (2017), se preparó el reactivo de Biuret y se dejó reposar un día, como indicador se utilizó una solución sero albumina bovina conocida como (BSA). Para la preparación de la muestra se pesó 50 mg de muestra de biomasa seca en 1 ml del buffer de extracción de proteínas, las muestras se tomaron del homogenato, sobrenadantes y pellet.

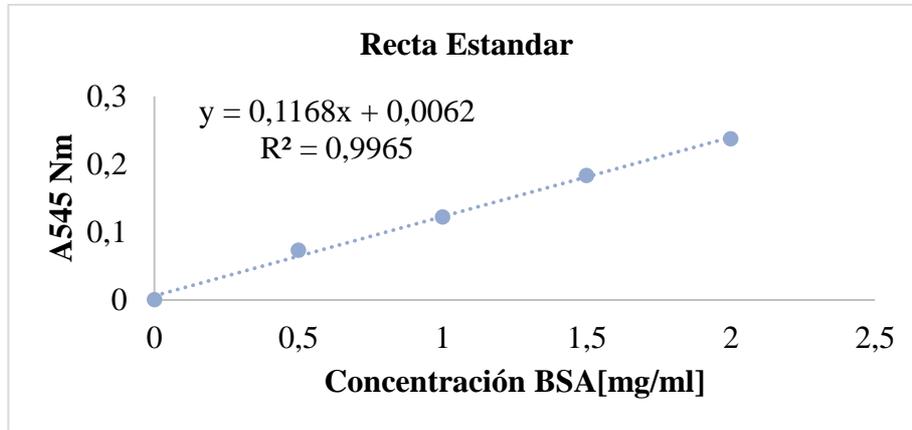
Para realizar la recta patrón se utilizaron diferentes concentraciones de BSA, una vez realizado este proceso se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 570nm, después se reemplazó en la ecuación de la recta para conocer la concentración de las proteínas de las muestras.

Tabla 1. Valores para la Recta patrón de BSA

CONCENTRACIÓN BSA [MG/ML]	A ₅₄₅ NM
0	0
0,5	0,073
1	0,122
1,5	0,183

2	0,237
---	-------

Fig. 3. Recta estándar de concentración BSA y ecuación de la recta.



Perfil proteico.

El perfil proteico se realizó utilizando el método de electroforesis en geles de poliacrilamida, los reactivos se hicieron de acuerdo al protocolo obtenido de Herriko, (2006) y para las muestras se pesaron 50 mg de biomasa seca y se colocó en un ml del buffer de extracción de proteínas, se homogenizó y se tomaron muestras del homogenato, sobrenadante y pellet, se realizaron los geles de poliacrilamida y se colocaron las muestras con el Treatment buffer en un total de 15 μ L, se armó la cámara de electroforesis y se colocó en un voltaje continuo de 110 V durante 4 horas, después se tiñó el gel utilizando la solución de tinte durante una hora, para después desteñirlo y poder observar las bandas, y conocer la concentración de las proteínas en cada uno de los fragmentos de la muestra.

Resultados

Diseño.

De acuerdo a la geometría del fotobiorreactor el volumen total es de 60 L, tiene un área superficial de 0,07 m³, y un volumen de operación de 55 L, la temperatura de operación fue de 30°C para la primera corrida y 28°C para la segunda corrida.

El pH en la primera corrida del reactor inició en 6,7 y terminó en 9,75 mientras que en la segunda corrida alcanzó un valor máximo de 7,5 debido a que se controló utilizando HCl, el flujo del reactor se mantuvo en 7 L.h⁻¹. La relación superficie volumen del reactor es de 6 m⁻¹, la cual es un poco baja, pero normal para PBRs de este tipo.

En las tablas 1 y 2 se muestran los datos de las dos corridas del PBR, en el cual se puede observar claramente que la productividad en la corrida 1 con 0,79 g/L.d fue mayor que en la corrida 2 con un valor 0,53 g/L.d, estos valores de productividad son bajos, comparándolos con el volumen del cultivo, pero esto se produjo debido a que en los cultivos 1 y 2 se encontró la presencia de un protozoo, el cual se alimentaba de las microalgas afectando el crecimiento celular del consorcio. Al mismo tiempo la tasa de crecimiento celular de 0,4 d⁻¹ y 0,3 d⁻¹ estos valores confirman que la contaminación en los cultivos afecto la productividad del PBR, comparada con la experimentación realizada en el laboratorio de la Universidad Internacional SEK Subiá, (2017).

Tabla 2. Productividad y tasa de crecimiento de la corrida 1

Productividad de biomasa	g/L.d	0,79
Biomasa final	g/L	12
Biomasa inicial	g/L	0,025
Tiempo inicial	D	0
Tiempo final	D	15
Tasa de crecimiento	d ⁻¹	0,4

Tabla 3. Productividad y tasa de crecimiento de la corrida 2

Productividad de biomasa	g/L.d	0,53
Biomasa final	g/L	8
Biomasa inicial	g/L	0,015
Tiempo inicial	D	0
Tiempo final	D	15
Tasa de crecimiento	d ⁻¹	0,3

En cuanto a la eficiencia del CO₂ en el PBR en la primera corrida fue de 1,74% y en la segunda de 1,172%, esto se calculó como la suma de CO₂ entregada a través del aire inyectado al PBR más el CO₂ suministrado por disociación del medio de cultivo, considerando la conversión al 100%. Diámetro de burbuja con el que se trabajó fue de 0,00673m el cual se calculó a una temperatura de 30°C y 0,76 atm presión atmosférica de la ciudad de Quito.

Hidrodinámica y transferencia de masa del PBR.

El tiempo de mezcla del reactor fue de 0,019 sg, el gas retenido en el líquido fue de 0,010, el poder volumétrico del PBR fue de 34,07 [W.m⁻³], el coeficiente de difusión del gas en el líquido fue de 0,01 m²/sg, todos estos valores obtenidos están dentro del rango para PBRs de placas planas pero son valores relativamente bajos.

El coeficiente total de transferencia de masa fue de 0,4 m.s⁻¹ y el coeficiente global de transferencia de masa según la primera ecuación fue de 0,005 s⁻¹ y con la segunda ecuación fue de 4 s⁻¹, los valores obtenidos demuestran lo antes mencionado que se necesitan grandes cantidades de energía para que el crecimiento celular se dé adecuadamente y estos valores se deben a la geometría del PBR y a la baja concentración de CO₂ atmosférico.

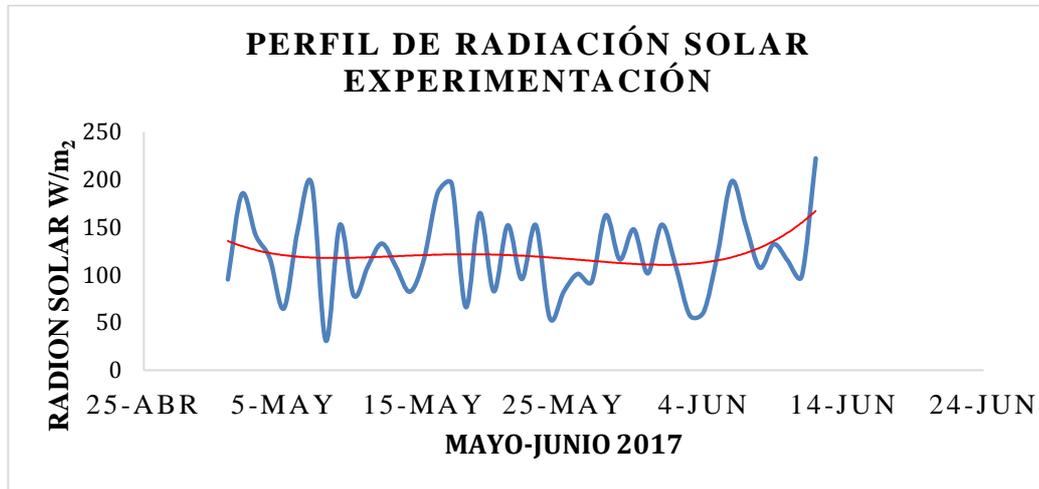
Perfil de radiación solar en la ciudad de Quito.

En la fig. 4. se tiene los datos de la radiación solar que se tuvo en Quito durante la experimentación de cultivo del PBR, como se observa en la gráfica la variación diaria es

DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

grande por lo tanto el valor de radiación mínima fue el 8 de Mayo del 2017 con una radiación solar de 31 W/m^2 y el máximo el 12 de junio del 2017 con 222 W/m^2 .

Fig. 4. Perfil de radiación solar en la ciudad de Quito (mayo-junio)



Crecimiento del consorcio *Chlorella vulgaris* y *Monoraphidium Contortum*

La Fig. 5. Muestra el crecimiento del consorcio obtenido en la primera corrida del PBR, en el cual se observa que la fase de adaptación duró aproximadamente 3 días, luego empezó el crecimiento exponencial el cual se ve se frenado y continua durante 8 días hasta que finalmente se llega a la fase estacionaria, alcanzando un número de células de 452000 cel/ml, un valor remotamente bajo pero esto se debió a la contaminación encontrada en el cultivo.

En la Fig. 6. se observa que la fase de adaptación toma igual 3 días pero no se observan tantos picos al alcanzar la fase exponencial del crecimiento mucho más estable que la curva de la primer corrida del PBR, aunque el número de células alcanzado fue de 300000 cel/ml, al igual que en la experimentación anterior el cultivo estaba contaminado. En las dos figuras se observa que el crecimiento celular de las microalgas se mantuvo lineal y no alcanzó la fase exponencial.

Fig. 5. Crecimiento del consorcio PBR 1

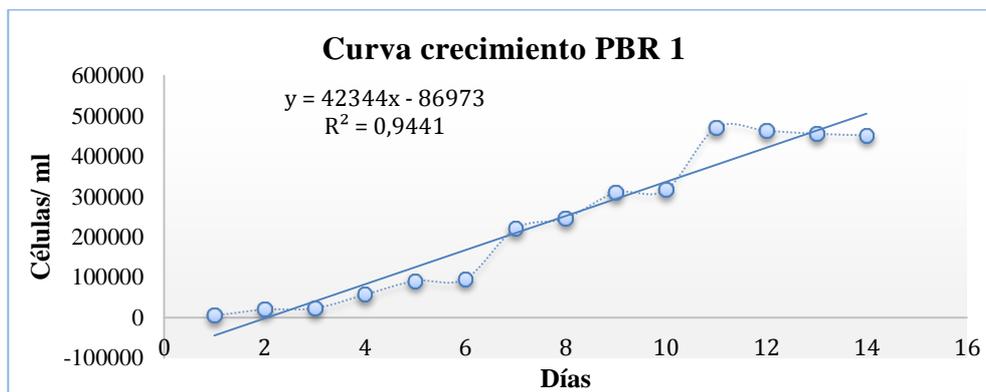
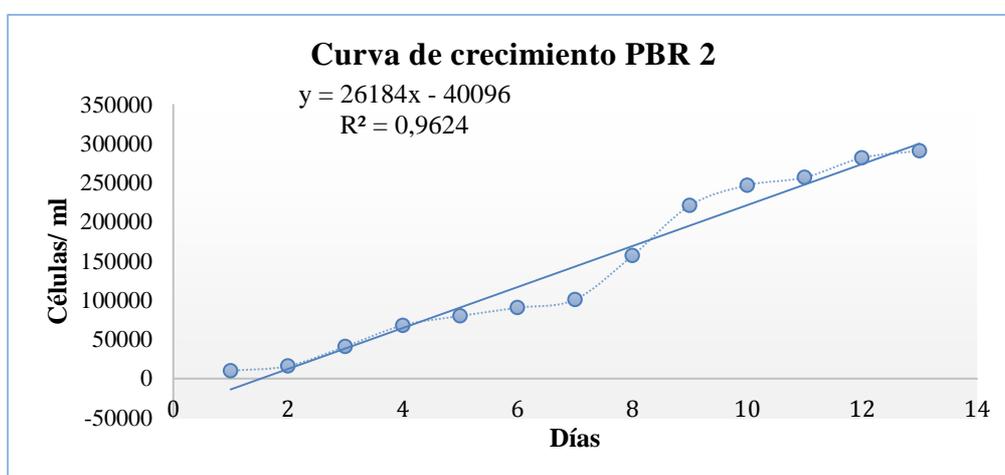


Fig. 6. Crecimiento del consorcio PBR 2



La medida del crecimiento del consorcio realizada por la medición de absorbancia a una longitud de onda de 575 Nm no es precisa debido a que las correlaciones de R^2 salieron por debajo de 96, para el primer reactor fue de 95 y para la segunda corrida del reactor fue de 81,4, demostrando así que es una medida aun inexacta del crecimiento celular.

Fig. 7. Densidad óptica consorcio PBR 1

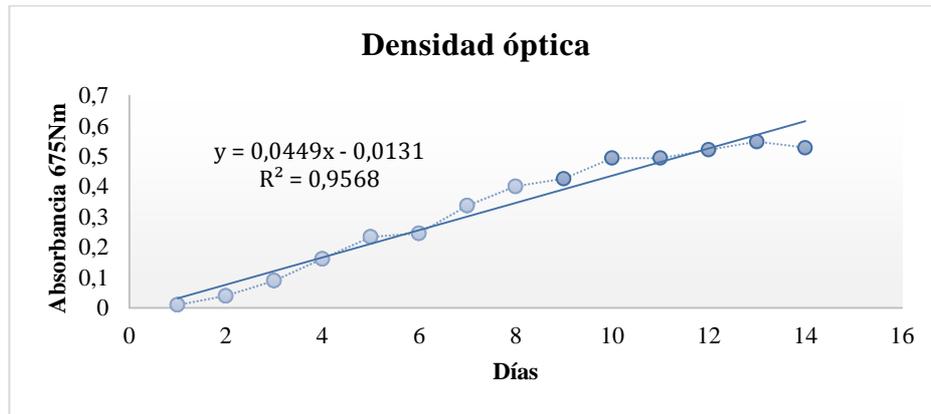
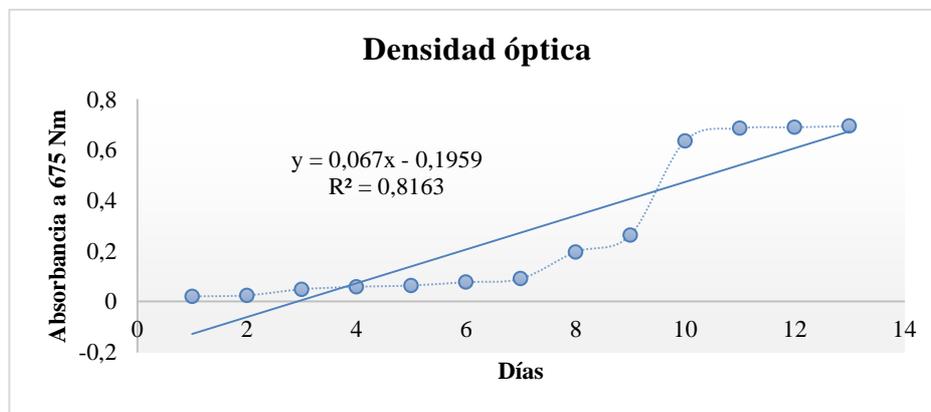


Fig. 8. Densidad óptica consorcio PBR 2



Extracción de lípidos y producción de lípidos.

En la Tabla.4 se puede observar los valores que se utilizaron para el cálculo del porcentaje lipídico de la primera corrida del PBR, en el cual se obtuvieron porcentajes de 41,38% para la muestra 1 y 40,08% para la muestra 2 lo cual demuestra que el consorcio utilizado en la investigación contiene un porcentaje elevado de lípidos y podría ser utilizado en la industria energética.

Por otra parte en la Tabla. 5 Se muestran los valores obtenidos para la corrida del PBR en las condiciones antes mencionadas, fue, para la muestra 1 de 24,19% y para la muestra 2 13,51%, demostrando así que cuando se somete al consorcio de microalgas a condiciones extremas de pH el porcentaje lipídico aumenta según los datos obtenidos en esta

DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

investigación, por otro lado la producción de lípidos depende en gran medida de la productividad de la biomasa, por lo tanto los rendimientos globales son bajos.

Tabla. 4 Porcentaje y producción de lípidos del consorcio en el PBR1

% DE LÍPIDOS (M1)		% DE LÍPIDOS (M1)	
%	41,34	%	40,08
Peso Matraz seco	176,7 g	Peso Matraz seco	155,6 g
Peso Matraz con grasa	178,76 g	Peso Matraz con grasa	157,6 g
Peso Muestra	5,001 g	Peso Muestra	5,0002 g
Producción Lípidos	33,5 g/L.d	Producción Lípidos	32 g/L.d

Tabla. 5 Porcentaje y producción de lípidos del consorcio en el PBR

% DE LÍPIDOS (M1)		% DE LÍPIDOS (M1)	
%	24,2	%	25,5
Peso Matraz seco	174,92 g	Peso Matraz seco	156,11 g
Peso Matraz con grasa	175,65 g	Peso Matraz con grasa	157,03 g
Peso Muestra	3,0211 g	Peso Muestra	5,0002 g
Producción Lípidos	12,85 g/L.d	Producción Lípidos	13,51 g/L.d

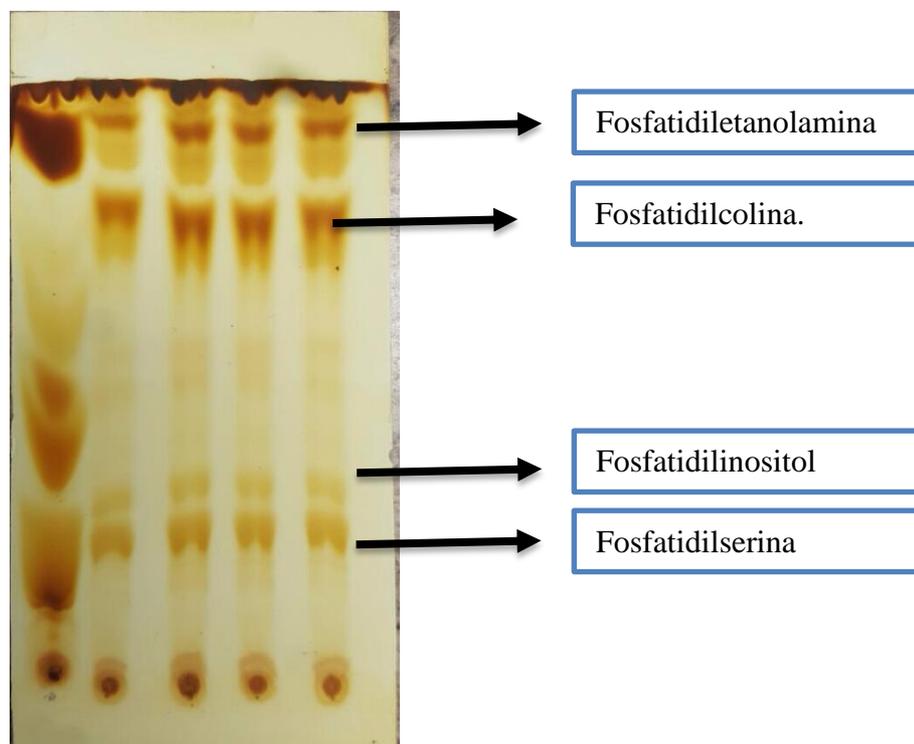
Perfil lipídico.

Los valores de Rf de los compuestos contenidos en la lecitina de soja fueron sacados de (Tamargo et al., 2011) y fueron los siguientes: el patrón de fosfatidilserina es 0,13 , y los Rf de de las muestras del PBR 1 y 2 fue 0,15, el patrón del fosfatidilinositol es 0,20 y los Rf de las muestras del PBR 1 y 2 fue 0,23. El Rf de la Fosfatidilcolina es 0,68 y en las muestras 0,70 y por último el patrón de fosfatidiletanolamina es 0,8 y en las muestra de 0,89, demostrando así que la biomasa obtenida a partir del consorcio “*Chlorella vulgaris* 0.4% - *Monoraphidium Contortum* 99.6%“ posee fosfolípidos cargados positivamente como son la colina y etanolamina y fosfolípidos cargados negativamente como serina e inositol, la diferencia que existe entre los Rf de los patrones y las muestras se debe a que los patrones, no

DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

se deriven de los fosfolípidos de soya y tienen diferencias entre la composición de ácidos grasos.

Fig. 8. Fosfolípidos contenidos en la biomasa de microalgas



Cuantificación de proteínas.

En las tablas 6 y 7 se observan los valores obtenidos de la cuantificación de proteínas totales a partir de Biuret lo que se puede observar es que los valores de proteínas son muy bajos.

Tabla.6 Concentración final de proteínas PBR1

Muestras	A ₅₇₀ Nm	Concentración [mg/ml]	Dilución	Concentració n Final [mg/ml]	%
Homogenato	0,134	1,14	0,33	0,38	0,77
Sobrenadante	0,073	0,61	1	0,61	1,23
Pellet	0,1	0,84	0,33	0,3	0,57

DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

Tabla.7 Concentración final de proteínas PBR 2

Muestras	A₅₇₀ Nm	Concentración [mg/ml]	Dilución	Concentració n Final [mg/ml]	%
Homogenato	0,13	1,10	0,33	0,36	0,73
Sobrenadante	0,083	0,70	1	0,70	1,40
Pellet	0,073	0,61	0,33	0,20	0,41

Perfil proteico.

No se logró obtener el perfil proteico debido a que no se pudo penetrar en la membrana celular, por el método de congelamiento. Por lo tanto los resultados del perfil proteico para saber el peso molecular de las proteínas contenidas en la Biomasa seca no se pudieron conocer.

Contaminación.

La productividad de la biomasa se vio afectada debido a la presencia de un Protozoo identificado como EUGLENA, Su tamaño es de 30-45µm de largo y 8-10µm de ancho, es heterótrofo, lo que significa que se alimenta de otros seres vivos, dependiendo de la especie algunos son extremófilos, se encuentran en el suelo aire, aguas contaminadas (Sittenfeld, Vargas, Sánchez, Mora, & Serrano, 2004) el cual no permitió que el crecimiento de las microalgas alcanzara su fase exponencial satisfactoriamente. De acuerdo a los resultados cuando el pH alcanzó un valor de 9,75 la proliferación de este protozoo fue menor que cuando el pH se mantuvo en 7,5 que hizo del medio de cultivo un lugar propicio para su proliferación.

Discusión.

El fotobiorreactor de placas planas se diseñó para que los coeficientes de transferencia global de masa estuvieran dentro del rango, inclusive un poco más altos entre $0,005 \text{ s}^{-1}$ y 4 s^{-1} mientras que según Barbosa, Albrecht, & Wijffels,(2003) el K_La para PBRs de este tipo es de $0,005 \text{ s}^{-1}$, lo cual demuestra que tiene una mejor transferencia de masa. Por lo tanto el gasto energético es menor, aunque en comparación con otros tipos de PBRs tubulares, la transferencia de masa es relativamente baja.

El aumento de la transferencia de masa en este reactor se pudo incrementar ya que se aumentó el espesor de las placas de vidrio del PBR, así el O_2 producido por la fotosíntesis se disolvió mejor. En cuanto a la relación superficie- volumen el resultado fue de 6 m^{-1} una relación muy baja, ya que según Posten,(2012) debería estar entre 5 y 200 m^{-1} , lo que significa que el PBR se encuentra en el rango mínimo, esto afecta a la productividad de la biomasa debido a la poca transmisión de luz y también se necesita una gran cantidad energética para mejorar esta relación.

La hidrodinámica del PBR fue investigada por varios factores indispensables para la eficiencia del mismo. La aireación una de las principales variables para el diseño, el diámetro de la burbuja de $0,00673\text{m}$ y se encuentra dentro del rango aceptable según Chen et al., (2016), para generar burbujas que no contribuyan al daño celular pero que al mismo tiempo ayuden a la distribución eficiente del aire. El tiempo de mezcla del PBR calculado fue de $0,019 \text{ m}^2/\text{sg}$ es igual al mencionado en Chen et al., (2016) por lo cual se asume que cumple con la función requerida.

La eficiencia del consumo de CO_2 en el reactor fue de 1,74% en la primera corrida del PBR y en la segunda corrida de 1,172%, estos valores demuestran que el consumo de CO_2 dentro del reactor fue otro de los factores por lo cual no se alcanzó una productividad alta de

DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

la biomasa comparados con la productividad alcanzada en los fotobiorreactores a escala laboratorio (Subía, 2017).

Como el CO₂ es uno de los principales nutrientes para que las microalgas puedan alcanzar la fase exponencial y duplicar su crecimiento debería tener una eficiencia más alta.

En cuanto a la baja productividad de la biomasa que fue de 0,79 g/L.d para la primera corrida y 0,53 g/L.d para la segunda corrida, se pueden hacer algunas conjeturas ya que dentro de la experimentación se presentaron condiciones irregulares, como por ejemplo la radiación solar en Quito de acuerdo a la gráfica tiene grandes fluctuaciones de radiación en un mismo día, asumiendo así que esto pudo contribuir su baja producción. Se debería realizar un estudio más profundo acerca de si esta fluctuación ayuda a producir fotoinhibición en las microalgas del consorcio.

Por otro lado cuando se realizó el escalamiento desde el laboratorio de investigación de la Universidad Internacional SEK en los cultivos de 4 L la proliferación de "*Chlorella vulgaris* era mayor que *Monoraphidium Contortum*", pero en el PBR la cepa de "*Chlorella vulgaris* creció a una velocidad mínima, mientras que *Monoraphidium Contortum* fue más resistente a las condiciones de cultivo y ambientales a las que fue expuesta llegando a una relación final de por cada célula de "*Chlorella* hay 250 de *Monoraphidium*.

La cepa de microalgas identificada como *Monoraphidium Contortum* no ha sido muy estudiada pero se muestra como una fuente potencial en la producción de biomasa para elaborar biodiesel. de acuerdo a Bogen et al., (2013) esta cepa cuenta con un porcentaje de lípidos del 23% por encima de *Chlorella vulgaris*, lo cual se logró confirmar ya que en el presente estudio la concentración de lípidos fue del 41%, esto también se debe a que cuando las microalgas son sometidas a condiciones extremas aumentan la producción de lípidos.

Los fosfolípidos observados en la cromatografía de capa fina fueron fosfolípidos cargados positivamente como son la colina, etanolamina y fosfolípidos cargados

DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

negativamente como serina e inositol, no se logró analizar la composición de triacilglicérido y digliceridos que son de gran importancia ya que con ellos se realiza la reacción de transesterificación para producir biodiesel.

Las condiciones del cultivo demostraron que cuando el pH llega a valores de 9,7 y temperaturas superiores a 30°C la obtención de lípidos aumenta según los resultados obtenidos en esta investigación, la fracción proteica continua igual y el crecimiento de las microalgas fue relativamente igual, que cuando se controló el pH en 7,5, aunque varios autores como Rubio & Hernández, (2016) exponen que las microalgas tienen un crecimiento mayor en pHs de 7,5-8, se llegó a la conclusión que esto depende de la cepa de microalga con la que se es trabajando.

Por lo general y según varios autores antes mencionados la fracción proteica en la biomasa de microalgas suele ser mayor que la fracción de lípidos y carbohidratos, pero en este caso la fracción de proteínas es casi nula, llegando valores máximo de 1,7 % para las dos corridas del PBR. Esto se puede atribuir a que no se logró romper la pared celular, por lo tanto no se logró acceder a las proteínas, para realizar el correcto análisis de la misma.

En cuanto a la contaminación del cultivo, es un factor que se debe tener en cuenta, cuando la producción de biomasa se realiza en la intemperie o de forma industrial, la probabilidad de contaminación aumenta debido a las múltiples bacterias existentes en el ambiente, suelos y agua. Por lo que la búsqueda de antibióticos que puedan eliminar las bacterias que frenan el crecimiento de las microalgas sin causar daño celular o daño en el medio de cultivo, se convierte en una prioridad.

En la presente investigación el cultivo se contaminó con un protozoo identificado como EUGLENA el cual presentó ser resistente al pH de 9,7 y a temperaturas superiores a 30°C, esto abre la puerta para investigaciones posteriores de como eliminar este tipo de

DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

microorganismos y poder obtener la productividad real de la biomasa y el contenido proteico de dicho consorcio.

DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

Conclusiones.

- Los coeficiente globales de $0,0005 \text{ s}^{-1}$ y 4 s^{-1} de transferencia de masa son bajos debido a la configuración geométrica del PBR esto causa mayor requerimiento energético para producir biomasa.
- El tiempo de mezcla de $0,019 \text{ m}^2/\text{sg}$ es óptimo para la difusión del CO_2 y nutrientes fueran aprovechados en cada punto del reactor promoviendo el crecimiento celular.
- La transferencia de CO_2 en el medio de cultivo afecta el crecimiento de la biomasa, los valores de su absorción fueron de $1,74\%$ para la primera corrida y $1,172 \%$ para la segunda corrida del reactor y su absorción fue casi nula.
- Las condiciones ambientales extremas promueven la proliferación de *Monoraphidium Contortum*.
- Las condiciones extremas inhiben el crecimiento de *Chlorella vulgaris*.
- Una relación superficie volumen de 6 m^{-1} afecta negativamente al crecimiento del consorcio debido a que no permite la incidencia correcta de luz para alcanzar el crecimiento celular máximo.
- Existen variables ambientales y de diseño que afectan el crecimiento celular, las cuales merecen un estudio más profundo.
- Las correlaciones obtenidas en las curvas de medición utilizando densidad óptica son menores a $0,99$ por lo tanto este método de medición indirecto es inviable.
- El consorcio *Chlorella vulgaris* $0,4\%$ - *Monoraphidium Contortum* $99,6\%$ ” es apto para su utilización en la industria energética.
- El perfil lipídico según el método de Cromatografía de capa fina es insuficiente para determinar triacilglicéridos, digliceridos y ácidos grasos de interés para esta investigación.

DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

- Se puede establecer una relación que si hay los fosfolípidos como: Fosfatilserina, Fosfatidilinositol, Fosfatidilcolina y Fosfatidiletanolamina, pueden haber ácidos grasos que no fueron identificados en esta investigación.
- Las microalgas en la primera corrida producían 33 g/L.d de lípidos tomando en cuenta que la productividad del PBR fue del 0,79 g/L.d, se logra concluir que aumentando la productividad de la biomasa podemos aumentar la cantidad de lípidos producidos.
- Las microalgas en la segunda corrida producían 13 g/L.d de lípidos tomando en cuenta que la productividad del PBR fue del 0,53 g/L.d, se puede concluir que aumentando la productividad de la biomasa podemos aumentar la cantidad de lípidos producidos.
- Las cepas de *Chlorella vulgaris* 0,4% - *Monoraphidium Contortum* 99.6% ” no son susceptibles de romperse utilizando el método de congelamiento.
- Debido a que no se pudo romper la pared celular, no se logró acceder a las proteínas contenidas en la biomasa, esto se evidencio en el porcentaje de proteínas máximo obtenido para las dos corridas fue del 1,74%.

Recomendaciones.

- Para mejorar los coeficientes globales de transferencia de masa se debería aumentar la longitud y disminuir la altura para que el CO₂ se pueda difundir mejor en el líquido

Agradecimientos.

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo gracias al apoyo financiero de la Universidad Internacional SEK, bajo la guía y la ayuda del MSc. Rodolfo Rubio, y la colaboración del Ph.D Pablo Castillejo, MSc. Johanna Medrano Barboza, Ing. Alonso Moreta y la Dra. Graciela Uzcanga.

Referencias.

- Antequera, Y., & Martinez, E. (2006). Surfactante Pulmonar.
- Barbosa, M. J., Albrecht, M., & Wijffels, R. H. (2003). Hydrodynamic stress and lethal events in sparged microalgae cultures. *Biotechnology and Bioengineering*, 83(1), 112–120. <https://doi.org/10.1002/bit.10657>
- Bastidas, O. (2008). Technical Note -Neubauer Chamber Cell Counting. *Celeromics*, 6. Retrieved from www.celeromics.com
- Bogen, C., Klassen, V., Wichmann, J., Russa, M. La, Doebbe, A., Grundmann, M., ... Mussnug, J. H. (2013). Identification of Monoraphidium contortum as a promising species for liquid biofuel production. *Bioresource Technology*, 133, 622–626. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.164>
- Bravo, A. (2017). “*CARACTERIZACIÓN DE MICROALGAS DE LA LAGUNA DE LIMONCOCHA Y OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE CULTIVO IN VITRO PARA LA OBTENCIÓN DE BIOMASA*; 2017. Universidad Intenacional SEK. Retrieved from <file:///C:/Users/ANI PC/Downloads/ALEX BRAVO TESIS MICROALGAS.pdf>
- Chen, Z., Jiang, Z., & Zhang, X. (2016). Numerical and experimental study on the CO₂ gas?liquid mass transfer in flat-plate airlift photobioreactor with different baffles. *Biochemical Engineering Journal*, 106, 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.11.011>
- Gaitero, A. (2012). Diseño de un Prototipo de Fotobiorreactor para el Cultivo de “Spirulina Platensis.” *Conama*, 25.
- Herriko, E. (2006). *METODOLOGÍA BÁSICA E BIOQUÍMICA SEPARACIÓN DE PROTEÍNAS EN GELES DE POLIACRILAMIDA*. País Vasco. Retrieved from http://www.ehu.es/biofisica/pdf/practica_6.pdf
- Pérez, M. J., & Quishpi, J. (2014). “*EVALUACIÓN CUANTITATIVA DE LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL DE MICROALGAS DE LAGUNAS DE TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL*.” Universidad de Cuenca.
- Posten, C. (2012). Design and Performance Parameters of Photobioreactors. *SCHWERPUNKT*, 1.
- Reyna, R., Cristiani, E., & Hernandez, D. (2010). Hydrodynamic and mass transfer characterization of a flat-panel airlift photobioreactor with high light path. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 49(1), 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2009.11.014>
- Rubio, D., & Hernández, G. (2016). Evaluation of the incidences of salinity and pH on the biomass, productivity and lipids accumulation in cultures of *Chlorella vulgaris* in a flat plate photobioreactor. *Iteckne*, 13(1), 44–56. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-17982016000100006&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Sandoval, M. a. (2013). “*DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y PUESTA EN MARCHA DE UN FOTOBIOREACTOR PILOTO PARA EL CRECIMIENTO DE LA MICROALGA Chlorella sp EN EL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA Y ENERGÍAS RENOVABLES DE LA EMPRESA ELÉCTRICA QUITO*.”
- Shah, Y. T., Kelkar, B. G., Godbole, S. P., & Deckwer, W.-D. (1982). Design parameters estimations for bubble column reactors. *AIChE Journal*, 28(3), 353–379. <https://doi.org/10.1002/aic.690280302>
- Sierra, E., Ación, F. G., Fernández, J. M., García, J. L., González, C., & Molina, E. (2008). Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. *Chemical Engineering Journal*, 138(1–3), 136–147. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.06.004>

DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

- Sittenfeld, A., Vargas, M., Sánchez, E., Mora, M., & Serrano, A. (2004). Una nueva especie de Euglena (Euglenozoa: Euglenales) aislada de ambientes extremófilos en las Pailas de Barro del Volcán Rincón de la Vieja, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 52(1), 27–30. Retrieved from <http://www.ots.ac.cr/rbt/attachments/volumes/vol52-1/03-SITTENFELD-27-30.pdf>
- Subiá, S. (2017). *Caracterización de Microalgas para su uso en la industria energética*.
- Tamargo, B., Herrera, L., Bello, A., Sierra, G., Cuéllar, A., & Humberto, G. (2011). Obtención de fosfolípidos a partir de la lecitina de soya (Glicine max L), para usos biomédicos. *Revista Cubana de Química*, XXIII(April 2016), 5–14.

LISTA DE ECUACIONES.

Ecuación. 1. Relación Superficie Volumen	10
Ecuación. 2. Productividad de Biomasa.....	11
Ecuación. 3. Tasa específica de Crecimiento	11
Ecuación. 4. Eficiencia del CO ₂	11
Ecuación. 5. Diámetro de Burbuja	12
Ecuación. 6. Relación del Carbono total inorgánico en el tiempo	12
Ecuación. 7. Tiempo de mezcla	13
Ecuación. 8. Gas Retenido en el líquido	13
Ecuación. 9. Poder Volumétrico	14
Ecuación. 10. Coeficiente de Difusión del gas.....	14
Ecuación 11. Coeficiente Total de Transferencia de masa	15
Ecuación. 12. Coeficiente Global de Transferencia de Masa	15
Ecuación. 13. Coeficiente Global de Transferencia de Masa	15
Ecuación. 14. Concentración de celular	18
Ecuación. 15. Porcentaje de lípidos	20
Ecuación. 16. Productividad de lípidos.....	21
Ecuación. 17. Valor de referencia de Lípidos	22

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1. Diagrama esquemático PBR placas planas:(a) Vista Frontal: (b) Vista hacia abajo:(c) Vista Lateral.	9
Fig. 2. Perfil de Radiación Solar en la ciudad de Quito en el año 2016.....	16
Fig. 3. Recta Estándar de concentración BSA y ecuación de la Recta.	23
Fig. 4. Perfil de Radiación Solar en la Ciudad de Quito (Mayo-Junio).....	26
Fig. 5. Crecimiento del Consorcio PBR 1	27
Fig. 6. Crecimiento del Consorcio PBR 2.....	27
Fig. 7. Densidad Óptica Consorcio PBR 1.....	28
Fig. 8. Densidad Óptica Consorcio PBR 2.....	28
Fig. 8. Fosfolípidos contenidos en la Biomasa de microalgas	30

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Valores para la Recta patrón de BSA.....	22
Tabla 2. Productividad y Tasa de Crecimiento de la Corrida 1	24
Tabla 3. Productividad y Tasa de Crecimiento de la Corrida 2	25
Tabla. 4 Porcentaje y Producción de lípidos del consorcio en el PBR1	29
Tabla. 5 Porcentaje y Producción de lípidos del consorcio en el PBR	29
Tabla.6 Concentración Final de Proteínas PBR1	30

DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

Tabla.7 Concentración Final de Proteínas PBR 2	31
--	----

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A	43
A-1. Resultados del Crecimiento Celular Corrida 1 PBR	43
A-2. Resultados del Crecimiento Celular Corrida 2 PBR	43
A-3. Resultados de la Floculación del PBR 1	44
A-4. Resultados de la Floculación del PBR 2	44
ANEXO B	45
B-1. Diseño Final del Fotobiorreactor.....	45
ANEXO C	46
C-1 Vista al microscopio.....	46
ANEXO D	47
D-1. Siembra del PBR 1.....	47
D-2. Siembra del PBR 2.....	48
ANEXO E	49
E-1. Análisis de Cuantificación de Proteínas y Lípidos.....	49
ANEXO F.....	50
F-1 Contaminación.....	50

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Fotobiorreactor	45
Ilustración 2. Control de Temperatura	45
Ilustración 3. Vista en el Microscopio del Consorcio de Microalgas	46
Ilustración 4. Cultivo del consorcio al inicio y final de la experimentación 1.....	47
Ilustración 5. Cultivo del consorcio al inicio y final de la experimentación 2.....	48
Ilustración 6. Gel Final de Electroforesis.....	49
Ilustración 7. Revelación en atmosfera de Yodo.....	49
Ilustración 8. Euglena.....	50
Ilustración 9. Euglena vista en el Microscopio	50

ANEXO A

A-1. Resultados del Crecimiento Celular Corrida 1 PBR

Días	N cel/ml	Densidad Óptica
0	3644	0
1	5000	0,01
2	20000	0,04
3	23000	0,09
4	57000	0,162
5	91000	0,234
6	96000	0,246
7	221000	0,337
8	246000	0,401
9	310000	0,426
10	317000	0,494
11	471000	0,494
12	463500	0,521
13	456000	0,548
14	452000	0,528

A-2. Resultados del Crecimiento Celular Corrida 2 PBR

Días	N cel/ml	Densidad Óptica
0	2324	0
1	10000	0,025
2	16000	0,03
3	41000	0,04
4	68000	0,06
5	80000	0,075
6	90500	0,09
7	101000	0,1
8	157000	0,256
9	221000	0,676

DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

10	247000	0,712
11	257000	0,72
12	282000	0,724
13	291000	0,726
14	300000	0,728

A-3. Resultados de la Floculación del PBR 1

T(horas)	N cel/ml
11:00 am	492000
11:30 am	350000
12:00 pm	230000
12:30 pm	98000
1:00 pm	42000
1:30 pm	8000
2:00 pm	6000
2:30 pm	2000

A-4. Resultados de la Floculación del PBR 2

T(horas)	N cel/ml
11:00 am	296000
11:30 am	272000
12:00 pm	160000
12:30 pm	70000
1:00 pm	28000
1:30 pm	8000
2:00 pm	2000
2:30 pm	0

ANEXO B

B-1. Diseño Final del Fotobiorreactor.

Ilustración 1. Fotobiorreactor



Ilustración 2. Control de Temperatura



ANEXO C

C-1 Vista al microscopio.

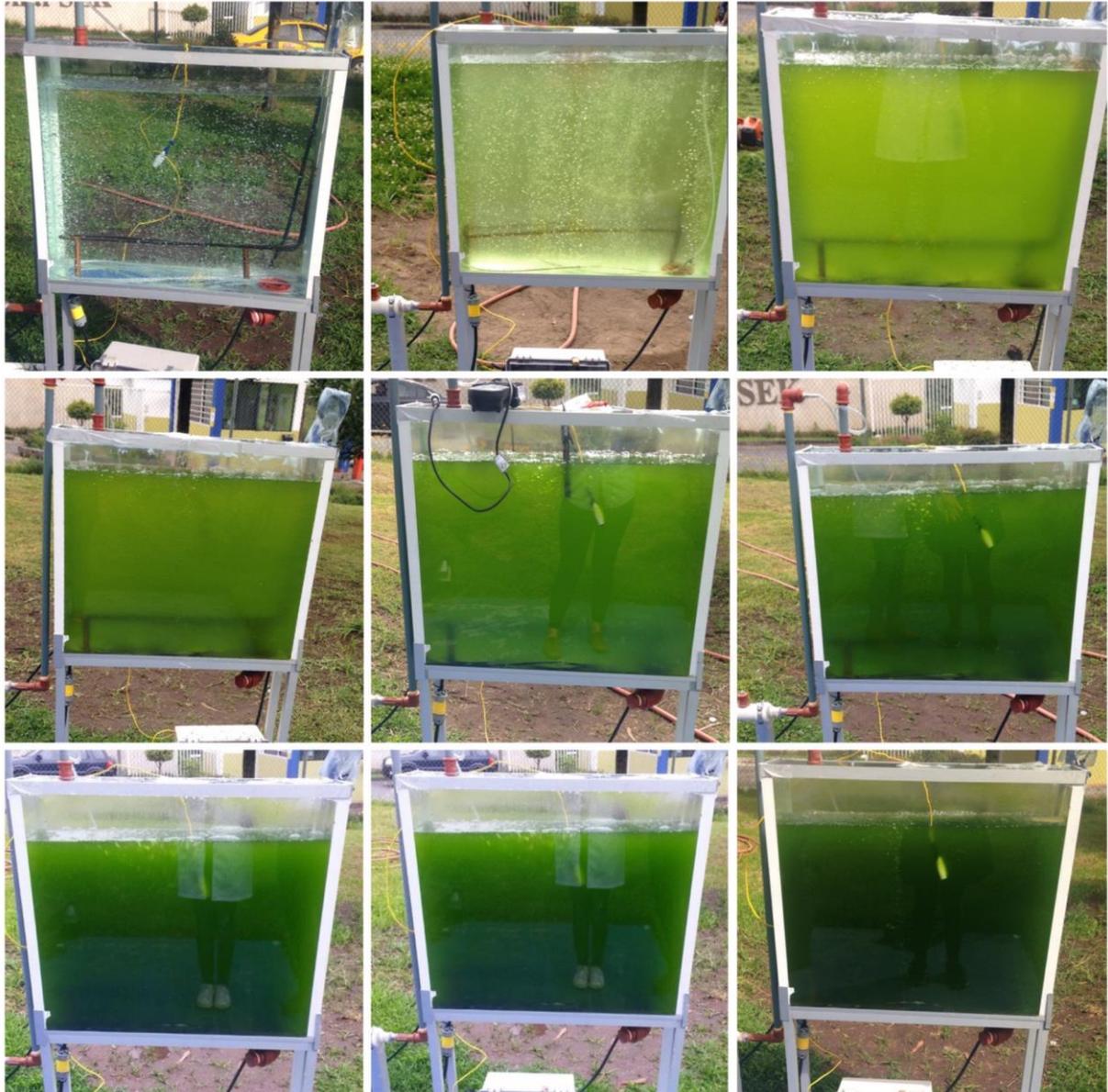
Ilustración 3. Vista en el Microscopio del Consorcio de Microalgas



ANEXO D

D-1. Siembra del PBR 1.

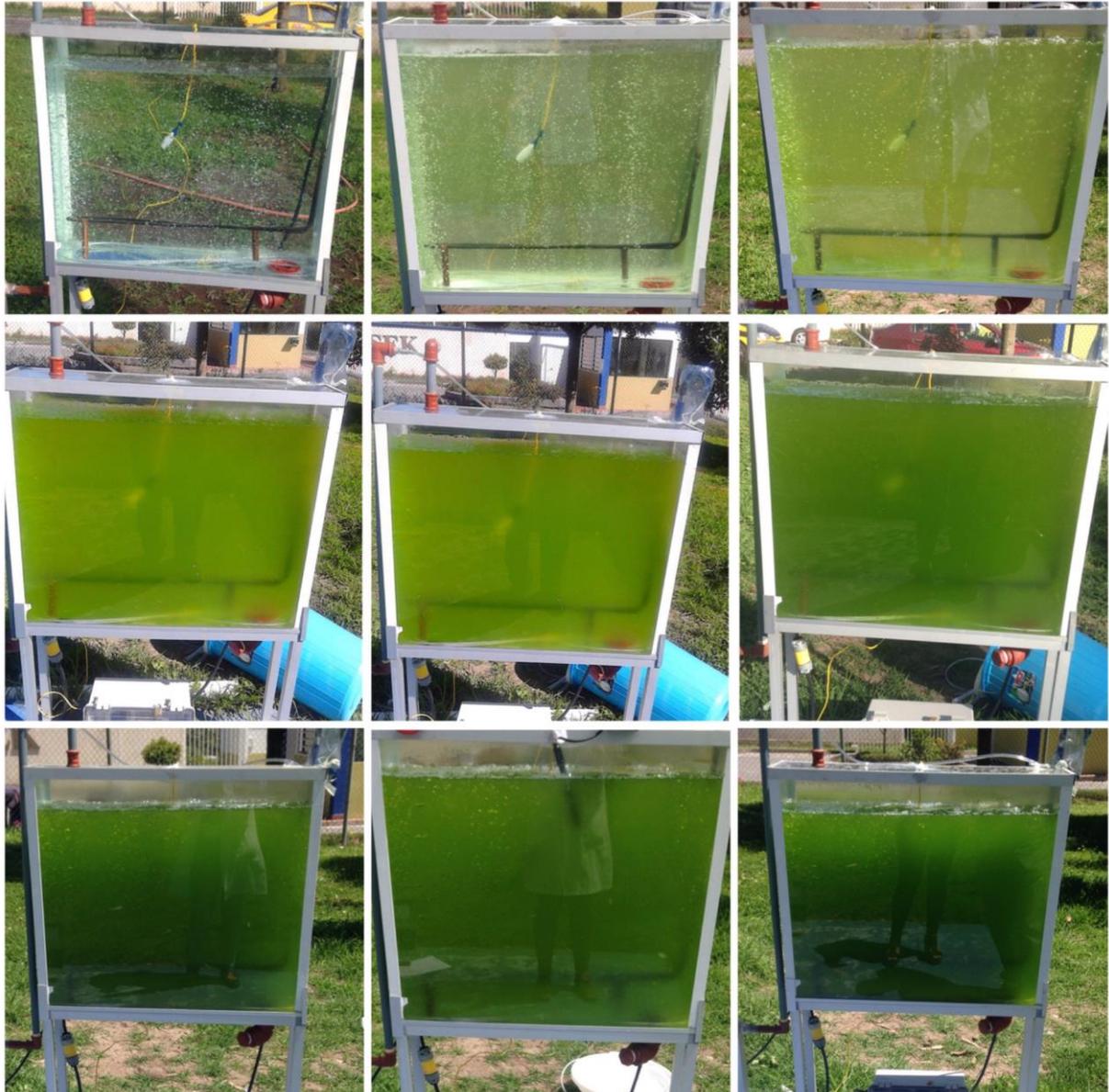
Ilustración 4. Cultivo del consorcio al inicio y final de la experimentación 1.



DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR DE PLACAS PLANAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA A PARTIR DE MICROALGAS

D-2. Siembra del PBR 2.

Ilustración 5. Cultivo del consorcio al inicio y final de la experimentación 2.



ANEXO E

E-1. Análisis de Cuantificación de Proteínas y Lípidos.

Ilustración 6. Gel Final de Electroforesis.

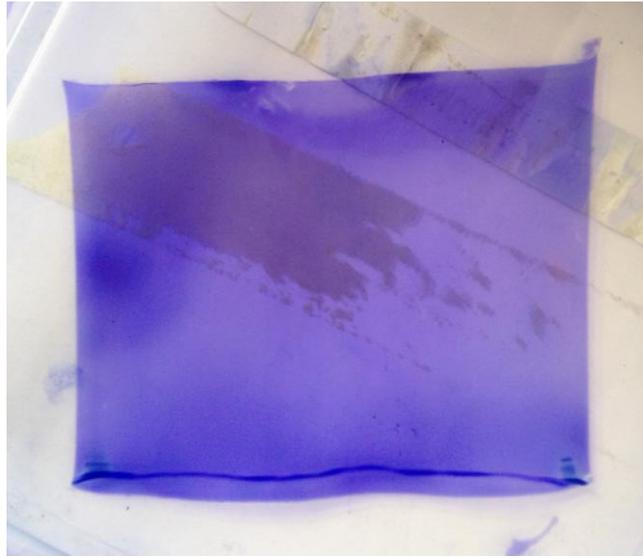


Ilustración 7. Revelación en atmosfera de Yodo.



ANEXO F

F-1 Contaminación.

Ilustración 8. Euglena



Ilustración 9. Euglena vista en el Microscopio

