

23



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"

DISEÑO DE UN BIORREACTOR PARA EL CULTIVO
DE *Dunaliella* sp.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
INGENIERO QUIMICO
P R E S E N T A :
JOSE ALBERTO MONTOYA CRUZ

UNAM
F E S
ZARAGOZA

ASESOR: M. EN C. ANTONIO AVALOS RAMIREZ

MEXICO, D.F.,

29/1/35

2001.

LO HUMANO EJE
DE NUESTRA REFLEXIÓN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA**

**JEFATURA DE LA CARRERA
DE INGENIERIA QUIMICA**

OFICIO: FESZ/JCIQ/0502/01

ASUNTO: Asignación de Jurado

**ALUMNO: MONTOYA CRUZ JOSE ALBERTO
P R E S E N T E.**

En respuesta a su solicitud de asignación de jurado, la jefatura a mi cargo, ha propuesto a los siguientes sinodales:

| | |
|--------------------|--|
| Presidente: | M. en C. Francisca L. Sánchez García-Figueroa |
| Vocal: | M. en C. Antonio Avalos Ramírez |
| Secretario: | M. en C. Lucia Cornejo Barrera |
| Suplente: | Biol. Juana María de la Paz López |
| Suplente: | Biol. Guillermo González Martínez |

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

A t e n t a m e n t e
“POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU”
México, D. F., 29 de Enero del 2001.

EL JEFE DE LA CARRERA

I.Q. ARTURO E. MENDEZ GUTIERREZ

INDICE

| | |
|--|----|
| Índice de gráficas y figuras | 4 |
| Índice de Tablas | 6 |
| Resumen | 7 |
| Introducción | 8 |
| Objetivos | 10 |
| | |
| Capítulo I. Generalidades | |
| | |
| I.1 La <i>Dunaliella sp.</i> y su medio ambiente | 12 |
| I.2 Composición química | 13 |
| I.2.1 Proteínas | 14 |
| I.2.2 Aminoácidos | 15 |
| I.2.3 Lípidos | 16 |
| I.2.4 Hidrocarburos | 18 |
| I.3 Glicerol | 19 |
| I.3.1 Osmorregulación | 21 |
| I.4 Pigmentos | 23 |
| I.4.1 Carotenoides | 23 |
| I.5 Producción de "β-caroteno" | 26 |
| I.6 Biotecnología de la <i>Dunaliella sp.</i> | 27 |
| I.7 Productos del cultivo de <i>Dunaliella sp.</i> | 28 |
| | |
| Capítulo II. Datos de Mercado | |
| | |
| II.1 Historia | 31 |
| II.2 Macrolocalización | 33 |
| II.3 Exportación e Importación de "β-caroteno" | 34 |

Capítulo III Tipos de Biorreactores

| | |
|--------------------------------------|----|
| III.1 Información general | 40 |
| III.2 Sistemas tubulares cerrados | 41 |
| III.3 Biorreactores cilíndricos | 49 |
| III.4 Biorreactores circulares | 51 |
| III.5 Biorreactores en forma oblonga | 51 |
| III.6 Biorreactores inclinados | 61 |
| III.7 Materiales de construcción | 65 |

Capítulo IV. Aspectos Ingenieriles para diseñar un biorreactor

| | |
|--|-----|
| IV. 1 Factores climáticos | 69 |
| IV.2 Sistemas de carbonatación | 73 |
| IV.3 Sistemas de aereación | 76 |
| IV.4 Columna de carbonatación | 86 |
| IV.5 Agitación | 88 |
| IV.6 Rugosidad | 95 |
| IV.7 Paletas | 99 |
| IV.8 Sistemas air-lift | 100 |
| IV.9 Profundidad | 103 |
| IV.10 Relaciones entre agitación-profundidad | 105 |
| IV.11 Areas agitadas | 106 |
| IV.12 Potencia | 108 |
| IV.13 Tiempos de residencia | 110 |
| IV.14 Productividad | 112 |
| IV.15 Efecto del pH | 113 |
| IV.16 Temperatura | 115 |

Capítulo V. Métodos de Cosecha

| | |
|-----------------------------|-----|
| V.1 Información general | 118 |
| V.2 Filtración por gravedad | 119 |
| V.3 Microcolador | 120 |

| | |
|--|-----|
| V.4 Separador de Laminilla | 120 |
| V.5 Filtro rotatorio | 121 |
| V.6 Filtro de tambor a vacío | 123 |
| V.7 Filtro a presión | 125 |
| V.8 Floculación | 125 |
| V.9 Flotación | 132 |
| V.10 Centrifugación | 134 |
| V.10.1 Cámara de centrifugación | 135 |
| V.10.2 Centrífuga de platos | 135 |
| V.10.3 Centrífugas de tobera | 135 |
| V.10.4 Decantador | 136 |
| | |
| Capítulo VI. Diseño del Biorreactor | |
| | |
| VI.1 Especificaciones generales | 142 |
| VI.2 Dimensionamiento del Biorreactor | 143 |
| VI.3 Suministro de CO ₂ | 145 |
| VI.4 Materiales de construcción | 146 |
| VI.5 Suministro de nutrientes | 146 |
| VI.6 Agitación | 151 |
| VI.7 Bombeo de agua de mar | 151 |
| | |
| CONCLUSIONES | 156 |
| BIBLIOGRAFIA | 158 |

INDICE DE GRAFICAS Y FIGURAS

| | |
|--|----|
| Gráfica 1.1 Crecimiento de la <i>Dunaliella sp.</i> adaptado a un medio que contiene las concentraciones salinas de (1 M NaCl \approx 6 % de sal) | 13 |
| Gráfica 1.2 Concentración intracelular de glicerol en la alga <i>Dunaliella sp.</i> como una función de la concentración de sal en el medio donde se cultiva | 22 |
| Figura 1.1 Fórmula estructural de all-trans β -caroteno (A) y 9-cis-trans- β -caroteno (B) | 25 |
| Gráfica 2.1 Exportación de " β -caroteno" que realiza México a diferentes Países (Volumen: Toneladas) | 36 |
| Gráfica 2.2 Exportación de " β -caroteno" que realiza México a diferentes Países (Valor: millones de dólares) | 36 |
| Gráfica 2.3 Importación de " β -caroteno" que realiza México de diferentes Países (Volumen: Toneladas) | 37 |
| Gráfica 2.4 Importación de " β -caroteno" que realiza México de diferentes Países (Valor: millones de dólares) | 37 |
| Figura 3.1 Esquema de los biorreactores más usados para el cultivo de algas en el ámbito industrial | 41 |
| Figura 3.2 Cultivo al aire libre de <i>Porphyridium sp.</i> en mangas de polietileno de 25 L | 43 |
| Figura 3.3 Vista general de un fotobiorrecator tubular | 46 |
| Figura 3.4 fotobiorreactor algal (100 m ²) en Cadarache | 47 |
| Figura 3.5 Principio donde se aprecia como se sumerge y emerge un biorreactor tubular | 48 |
| Figura 3.6 Diseño de un biorreactor metálico de uso estándar | 50 |
| Figura 3.7 Biorreactor algal con recubrimiento de poliuretano en MRCR | 52 |
| Figura 3.8 Biorreactor experimental hecho de membrana de plástico durable | 53 |
| Figura 3.9 Pequeño biorreactor experimental | 54 |
| Figura 3.10 Biorreactor hecho de hojas de PVC | 55 |
| Figura 3.11 Biorreactor algal de 11 m ² hecho de PVC, cubierto con nilón sobre una estructura metálica | 56 |
| Figura 3.12 Sobrevista de una serie de biorreactores tipo canal (raceway) en California (USA) hecha de hojas de plástico | 57 |
| Figura 3.13 Diferentes biorreactores hechos de tabique y cemento para cultivar <i>Spirulina</i> | 58 |

| | |
|---|-----|
| Figura 3.14 Diseño que contiene paredes que giran sobre su propio eje, elaborado por Märkl & Matern (1985) | 60 |
| Figura 3.15 Diagrama esquemático de un diseño óptimo de un biorreactor tipo canal (raceway) | 61 |
| Figura 3.16 Diseño de un biorreactor inclinado tipo laberinto (meander) en Sausal Perú | 63 |
| Gráfica 4.1 Concentración de CO ₂ a diferentes profundidades de un biorreactor en relación con la distancia de entrada del CO ₂ | 75 |
| Gráfica 4.2 Cambio de la composición del gas en el intercambiador de gas flotante (volumen de 44 L), como una función del tiempo de operación | 85 |
| Gráfica 4.3 Equilibrio del intercambio de gas del flotador con relación a su volumen | 85 |
| Gráfica 4.4 Efecto de la velocidad de filtración sobre el tiempo requerido para obtener un equilibrio usando un flotador | 86 |
| Gráfica 4.5 Influencia de la profundidad y extensión del Biorreactor utilizando una paleta con las siguientes extensiones 6 m x 1.8 m | 108 |
| Figura 4.1 Diferentes sistemas para suministrar CO ₂ | 78 |
| Figura 4.2 Diseño esquemático de un inyector de CO ₂ | 81 |
| Figura 4.3 Diagrama esquemático de una columna de absorción de carbono | 87 |
| Figura 4.4 Diagrama simplificado de un biorreactor usado para el cultivo de algas, que muestra la nomenclatura principal | 93 |
| Figura 4.5 Principio del sistema air-lift | 101 |
| Figura 4.6 Diseño de una bomba portátil air-lift | 103 |
| Figura 5.1 Diagrama esquemático de un separador de laminilla | 121 |
| Figura 5.2 Diagrama esquemático de un filtro rotatorio (Dodd, 1986) | 122 |
| Figura 5.3 Diseño esquemático de un filtro de tambor a vacío | 124 |
| Figura 5.4 Diagrama esquemático de un cosechador, basado en los principios de flotación. | 133 |
| Figura 6.1 Propuesta de la ubicación de cada equipo en una planta que realizará la producción de "β-caroteno" | 153 |
| Figura 6.2 Dimensiones del biorreactor (ancho, longitud y profundidad) | 154 |
| Figura 6.3 Establecimiento de los sistemas hidráulicos y mecánicos del biorreactor | 155 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|--|-----|
| Tabla 1.1 Composición química de alimentos convencionales para consumo humano y de diferentes algas (% de materia seca) | 14 |
| Tabla 1.2 Valores de aminoácidos de diferentes algas comparados con fuentes de proteínas convencionales con una referencia patrón (g por 16 g N) | 16 |
| Tabla 1.3 Datos analíticos sobre la composición de ácidos grasos de lípidos de diferentes algas | 18 |
| Tabla 1.4 Influencia de varios factores sobre la biomasa y el contenido de "β-caroteno" | 26 |
| Tabla 2.1 Valores de "β-caroteno" recomendados en alimentos de uso habitual. | 33 |
| Tabla 2.2 Comparación de precios de exportación e importación del "β-caroteno" | 38 |
| Tabla 4.1 Radiación solar: valores promedio probables de radiación total, sobre una superficie horizontal a nivel del mar en Langley's por día | 72 |
| Tabla 4.2 Valores estimados de n en canales al aire libre | 96 |
| Tabla 5.1 Variables generales, para calcular costos cuando se realiza una cosecha | 137 |
| Tabla 5.2 Diferentes floculantes, mostrando su efectividad conforme a su cantidad | 138 |
| Tabla 6.1 Medio de cultivo simplificado para la <i>Dunaliella sp.</i> | 149 |

RESUMEN

El presente trabajo hace la propuesta para el diseño de un biorreactor que se llevará a cabo por medio de un análisis de datos de mercado, aspectos ingenieriles y de condiciones climáticas. Este diseño se propone realizarse en el Estado de Baja California, Estado que comprende grandes extensiones de costas, medio esencial para el cultivo de la microalga *Dunaliella sp.*, ya que cuenta con las condiciones climáticas para realizar un buen cultivo de la microalga, así como también las materias primas (agua de mar) para realizar un cultivo barato y eficiente. También se propone que tipo de biorreactor se diseñará y cuales serán las dimensiones de este para obtener una cantidad de 1000 kg de β -caroteno/año. Este producto es de gran utilidad para la industria alimentaria (utilizada en la producción de mantequillas, bebidas y cereales), así como también para la industria farmacéutica (utilizada como pro-vitamina A), gracias a su factor químico preventivo contra el cáncer de piel provocada por la irradiación solar. Por último se dan opciones para escoger que método de cosecha sería el más indicado, tomando en cuenta las características de la microalga *Dunaliella sp.*

INTRODUCCION

Desde la antigüedad las algas marinas han sido utilizadas para diferentes áreas, pero principalmente para alimento humano. A partir de 1960 se han realizado experimentos para obtener productos a partir de algas marinas, estos experimentos han arrojado diferentes métodos para obtener dichos productos, los primeros de estos fueron: aceites, polisacáridos, fertilizantes o como acondicionadores de suelos y para el tratamiento de aguas residuales.

Posteriormente, la utilización económica de las algas se ha enfocado en la obtención de productos de alto valor agregado, caso específico en la industria farmacéutica y en la alimentaria. La obtención de estos productos de alto valor agregado sólo se puede adquirir mediante un método de cultivo apropiado. En nuestros días hay diferentes métodos para realizar tal cultivo, siendo el más indicado la construcción de biorreactores, por lo tanto se realiza este proyecto para obtener un producto que es muy importante “ β -caroteno” en las áreas farmacéuticas y alimentaria.

Es por ello que el presente trabajo se enfoca al diseño de un biorreactor, para el cultivo de la microalga *Dunaliella sp.*

En el capítulo I, se presentan aspectos generales de la microalga *Dunaliella sp.* con el fin de entender su medio ambiente, composición celular y osmorregulación, así como un panorama general de cómo esta puede usarse con fines biotecnológicos.

En el capítulo II, se realiza una justificación del diseño del biorreactor, tomando en cuenta como principal factor datos de mercado con referencia al pigmento natural “ β -caroteno”, además de realizar una macrolocalización del diseño del biorreactor, la cual

esta basada por aspectos ambientales, variables de suma importancia para el diseño del biorreactor.

Por otra parte, en el capítulo III, se describen los diferentes tipos de biorreactores, así como sus principales características y funcionamientos en la producción a un nivel industrial de biomasa o productos de alto valor agregado utilizando microalgas.

En el capítulo IV, se presentan los aspectos ingenieriles, herramientas fundamentales para llevar a cabo el diseño del biorreactor.

En el capítulo V, se describen los diferentes métodos de cosecha que pueden realizarse a una microalga, este proceso es de vital importancia, ya que la economía en la producción de la microalga depende de la tecnología empleada para la cosecha y concentración de la suspensión algal, para obtener el producto deseado.

Por último, en el capítulo VI, se presenta el diseño del biorreactor, tomando en cuenta el análisis de los datos de mercado (capítulo II), tipos de biorreactores (capítulo III), aspectos ingenieriles (capítulo IV) y se sugiere que método de cosecha es el más apropiado para obtener el pigmento natural “ β -caroteno”.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Diseñar un biorreactor, para el cultivo de la microalga *Dunaliella sp.* para obtener el pigmento natural “ β -caroteno”.

Objetivos particulares

- Definir la macrolocalización del biorreactor.
- Definir las especificaciones generales del biorreactor.
- Establecer el sistema mecánico e hidráulico del biorreactor.
- Seleccionar el tamaño y material de construcción del biorreactor.

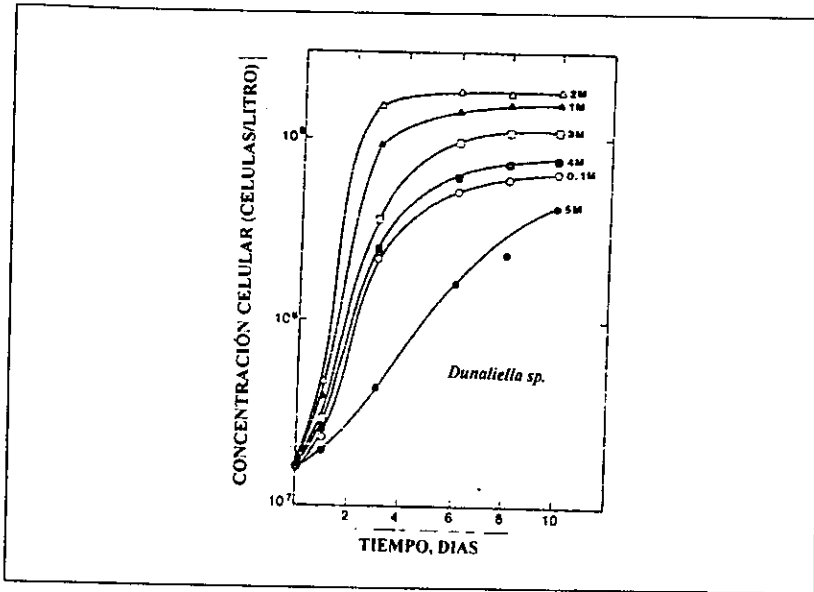
CAPÍTULO I.
GENERALIDADES

I.1 LA *Dunaliella sp.* Y SU MEDIO AMBIENTE

La clorofita *Dunaliella sp.* Está clasificada bajo el orden de los Volvocales, el cual incluye una variedad de especies unicelulares bien definidas. Los miembros de este género son todas móviles, de una forma ovoide, biflagelada y con un tamaño celular de 50 a 1000 μm . Esta alga contiene un gran cloroplasto con un solo pironeo y muchos gránulos almidonados en la porción basal del cloroplasto. Como muchas algas verdes, la *Dunaliella sp.*, contiene el típico extracloroplasto, núcleo, mitocondria, pequeñas vacuolas, aparato de golgi, etc. Sin embargo a diferencia de otras algas, la *Dunaliella sp.* carece de una pared celular rígida, y la célula está encerrada por una membrana de plasma delgada y elástica cubierta por una superficie mucosa. La carencia de una pared celular rígida permite una rápida respuesta a los cambios osmóticos extracelulares.

La *Dunaliella sp.* predomina en muchos hábitats marinos que pueden contener mas de 10% de sal. Ejemplos típicos son el mar muerto en Israel, el lago rosa en Australia, y el gran lago salino en los Estados Unidos. La *Dunaliella sp.* es probablemente el organismo eucariótico más halotolerante conocido, que muestra una adaptación sorprendente a una gran variedad de concentraciones salinas que van de 0.2% a 35% (Ben-Amotz, 1989) ver gráfica 1.1.

Gráfica 1.1 Crecimiento de la *Dunaliella sp.* adaptado a un medio que contiene las concentraciones salinas de (1 M NaCl \approx 6 % de sal)



Fuente: Cresswell (1989)

1.2 COMPOSICION QUIMICA

Como cualquier planta de dimensiones grandes, la composición química de las algas no es un factor constante intrínseco pero varía en un rango muy grande. Varios factores ambientales influyen en la proporción de los diferentes constituyentes de la biomasa del alga. Variaciones muy extremas en la composición son reportadas en respuesta de parámetros tales como la temperatura, iluminación, valor del pH del medio, nutrientes, suministro de CO₂, etc. Para obtener una biomasa algal con una composición deseada, la proporción de los diferentes constituyentes de varias algas pueden modificarse para variar las condiciones de cultivo, por ejemplo la disminución del suministro de nitrógeno y fósforo o cambios de factores físicos tal como la presión osmótica, intensidad de luz solar, densidad de población, crecimiento en la luz o en la

obscuridad. Una compilación de datos sobre la composición química de diferentes algas se muestra en la tabla 1.1 y se compara con algunos alimentos convencionales.

Tabla 1.1 Composición química de alimentos convencionales para consumo humano y de diferentes algas (% de materia seca)

| <i>PRODUCTO</i> | <i>PROTEINA</i> | <i>CARBOHIDRATOS</i> | <i>LIPIDOS</i> | <i>ACIDO NUCLEICO</i> |
|------------------------------|-----------------|----------------------|----------------|-----------------------|
| Levadura de pan | 39 | 38 | 1 | - |
| Arroz | 8 | 77 | 2 | - |
| Huevo | 47 | 4 | 41 | - |
| Leche | 26 | 38 | 28 | - |
| Soya | 37 | 30 | 20 | - |
| <i>Scenedesmus obliquus</i> | 50-56 | 10-17 | 12-14 | 3-6 |
| <i>Scenedesmus dimorphus</i> | 8-18 | 21-52 | 16-40 | - |
| <i>Chlorella vulgaris</i> | 51-58 | 12-17 | 14-22 | 4-5 |
| <i>Chlorella pyrenoidosa</i> | 57 | 26 | 2 | - |
| <i>Dunaliella bioculata</i> | 49 | 4 | 8 | - |
| <i>Dunaliella Salina</i> | 57 | 32 | 6 | - |
| <i>Prymnesium parvuum</i> | 28-45 | 25-33 | 22-38 | 1-2 |
| <i>Spirulina platensis</i> | 46-63 | 8-14 | 4-9 | 2-5 |

Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

1.2.1 PROTEINAS

El alto contenido de proteínas de varias microalgas fue una de las principales razones para considerar estos organismos como una fuente no convencional de proteínas. Muchas de los cálculos encontrados en la literatura sobre concentraciones de la proteína algal están basadas sobre la estimación de "proteína cruda". Como una regla, estos cálculos se obtienen por hidrólisis ácida de la biomasa algal, seguida por la estimación del nitrógeno total por el método de Kjeldahl (Hiller, Plazin & Van Slyke, 1948) y subsecuentemente multiplicando el valor por un factor de 6.25. Sin embargo, se debe tener en cuenta que este cálculo involucra varios errores. Porque las partes substanciales del total de nitrógeno del alga, así como otras formas de proteína celular, consisten de

nitrógeno no proteínico, lo cual proviene predominantemente de ácidos nucleicos, amidas, glucosamidas o materiales de la pared celular, la multiplicación del nitrógeno total por 6.25 resulta en una sobreestimación del verdadero contenido proteínico del alga. Para evitar este error, el nitrógeno puro debe determinarse de manera separada y la cantidad de ácidos nucleicos debe calcularse por métodos especiales. Otro procedimiento para la estimación de proteínas en las algas es mediante reacciones de color con constituyentes proteínicos ya definidos y los cuales no reaccionarán con otros compuestos que contengan nitrógeno, el método más conocido para llevar a cabo dichas reacciones, es el método de Lowry.

Un contenido de nitrógeno carente de proteínas de aproximadamente 12% del nitrógeno total se encontró en *Scenedesmus sp.*; Para *Dunaliella sp.* y *Spirulina* valores de 6% y 11.5% respectivamente. Como una regla se puede asumir que un porcentaje de cerca del 10 % del nitrógeno encontrado en las microalgas consiste de nitrógeno no proteínico

1.2.2 AMINOACIDOS

La calidad nutricional de una proteína se determina por su perfil de aminoácidos, por el contenido, proporción y disponibilidad de ellos. Así las plantas pueden ser capaces de sintetizar todos los aminoácidos, los animales y seres humanos están limitados a la biosíntesis de ciertos aminoácidos.

Debido a que las microalgas están consideradas principalmente como una fuente de proteínas, la composición de aminoácidos de las diferentes especies es de especial importancia. La tabla 1.2 muestra el perfil de aminoácidos de varias algas comparadas con huevo, soya y una referencia patrón de una dieta bien balanceada recomendada por la WHO (OMS, Organización Mundial de la Salud).

Tabla 1.2 Valores de aminoácidos de diferentes algas, comparados con fuentes de proteínas convencionales con una referencia patrón (g por 16 g N)

| Aminoácido | FUENTE | | | | | | | | | |
|------------|--------|------|------|------|------|------|------|-----|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | *10 |
| Ile | 4.0 | 6.6 | 5.3 | 6.0 | 6.7 | 3.6 | 4.5 | 3.4 | 3.2 | 4.2 |
| Leu | 7.0 | 8.8 | 7.7 | 8.0 | 9.8 | 7.3 | 9.3 | 4.0 | 9.5 | 11.0 |
| Val | 5.0 | 7.2 | 5.3 | 6.5 | 7.1 | 6.0 | 7.9 | 5.1 | 7.0 | 5.8 |
| Lys | 5.5 | 5.3 | 6.4 | 4.6 | 4.8 | 5.6 | 5.9 | 7.9 | 6.4 | 7.0 |
| Phe | - | 5.8 | 5.0 | 4.9 | 5.3 | 4.8 | 4.2 | 4.5 | 5.5 | 5.8 |
| Tyr | 6.0 | 4.2 | 3.7 | 3.9 | 5.3 | 3.2 | 1.7 | 2.7 | 2.8 | 3.7 |
| Met | - | 3.2 | 1.3 | 1.4 | 2.5 | 1.5 | 0.6 | 1.8 | 1.3 | 2.3 |
| Cys | 3.5 | 2.3 | 1.9 | 0.4 | 0.9 | 0.6 | 0.7 | - | - | 1.2 |
| Try | 1.0 | 1.7 | 1.4 | 1.4 | 0.3 | 0.3 | - | 1.4 | - | 0.7 |
| Thr | 4.0 | 5.0 | 4.0 | 4.6 | 6.2 | 5.1 | 4.9 | 3.2 | 5.3 | 5.4 |
| Ala | - | - | 5.0 | 6.8 | 9.5 | 9.0 | 12.2 | 5.9 | 9.4 | 7.3 |
| Arg | - | 6.2 | 7.4 | 6.5 | 7.3 | 7.1 | 5.8 | 5.6 | 6.9 | 7.3 |
| Asp | - | 11.0 | 1.3 | 8.6 | 11.8 | 8.4 | 8.8 | 5.9 | 9.3 | 10.4 |
| Glu | - | 12.6 | 19.0 | 12.6 | 10.3 | 10.7 | 10.5 | 9.3 | 13.7 | 12.7 |
| Gly | - | 4.2 | 4.5 | 4.8 | 5.7 | 7.1 | 10.4 | 4.8 | 6.3 | 5.5 |

Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

Notas: 1. Referencia de proteínas (FAO/WHO, 1973); 2. Huevo; 3. Soya (Diem & Letner, 1975); 4. *Spirulina maxima* (Clement, Giddey & Menzi, 1976 b); 5. *Spirulina maxima* (Becker & Venkataraman, 1984); 6. *Scenedesmus obliquus* (Becker, 1984); 7. *Chlorella ellipsoidae* (Priestley, 1976); 8. *Chorella pyrenoidosa* (Lubitz, 1963); 9. *Chorella vulgaris* (El-Fouly et al., 1985); *10 *Dunaliella sp.* (Ben-Amotz & Avron, 1980)

1.2.3 LIPIDOS

Los lípidos y ácidos grasos son constituyentes de todas las células de las plantas, donde funcionan como componentes de membrana, como productos de almacenamiento, como metabolitos, y como fuente de energía. Las rutas básicas para la síntesis de lípidos en las algas son análogas a las encontradas con plantas de mayor tamaño; sin embargo hay algas que tienen su propia vía para producir una única cadena de ácidos grasos no saturados.

Las diferencias mayores con respecto a las plantas de mayor tamaño son: 1) El hecho de que las algas responden a las fluctuaciones de las condiciones de crecimiento de varios tipos de estrés con variaciones en la composición de ácidos grasos de los aceites; y 2) que en contraste con plantas de mayor tamaño, la acumulación de aceite en las células de la alga están desempeñando la fotosíntesis, esto significa que la vía completa de la fijación de CO_2 arriba de la síntesis de glicéridos puede ser ajustado por la célula. Bajo condiciones de estrés la síntesis de lípidos ocurre como cuando la actividad fotosintética disminuye.

Los lípidos extraídos con disolventes orgánicos lipofílicos (éter, éter de petróleo, cloroformo, etc.) son llamados comúnmente "lípidos totales". Los lípidos pueden clasificarse sobre la base de su polaridad. El porcentaje del contenido de lípidos varía entre 1 y 40 %, y bajo ciertas condiciones puede incrementarse hasta 85 % del peso seco del alga. Los lípidos de las algas están constituidos típicamente por glicéridos, azúcares o bases esterificadas a ácidos grasos que tienen un número de carbonos en el rango de C12-C22.

Las algas, predominantemente eucarióticas, contienen ácidos grasos saturados y monosaturados; los triglicéridos son los lípidos que comúnmente almacenan hasta por encima del 80% de la fracción total de lípidos. Un resumen del rango del contenido de lípidos se presenta en la tabla 1.3.

Tabla 1.3 Datos analíticos sobre la composición de ácido graso de lípidos de diferentes algas

| ACIDO GRASO | SPIRULINA PLATENSIS | SPIRULINA MAXIMA | SCENESDEMUS OBLIQUUS | CHLORELLA VULGARIS | DUNALIELLA SP. |
|-------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------|
| 12:0 | 0.4 | Tr | 0.3 | - | - |
| 14:0 | 0.7 | 0.3 | 0.6 | 0.9 | - |
| 14:1 | 0.2 | 0.1 | 0.1 | 2.0 | - |
| 15:0 | Tr | Tr | - | 1.6 | - |
| 16:0 | 45.5 | 45.1 | 16.0 | 20.4 | 41.7 |
| 16:1 | 9.6 | 6.8 | 8.0 | 5.8 | 7.3 |
| 16:2 | 1.2 | Tr | 1.0 | 1.7 | - |
| 16:4 | - | - | 26.0 | - | 3.7 |
| 17:0 | 0.3 | 0.2 | - | 2.5 | - |
| 18:0 | 1.3 | 1.4 | 0.3 | 15.3 | 2.9 |
| 18:1 | 3.8 | 1.9 | 8.0 | 6.6 | 8.8 |
| 18:2 | 14.5 | 14.6 | 6.0 | 1.5 | 15.1 |
| 18:3 | 0.3 | 0.3 | 28.0 | - | 20.5 |
| 18:3 | 21.1 | 20.3 | - | - | - |
| 20:2 | - | - | - | 1.5 | - |
| 20:3 | 0.4 | 0.8 | - | 20.8 | - |
| Otros | - | - | 2.5 | 19.6 | - |
| Referencia | Hudson & Karis (1974) | Hudson & Karis (1974) | Keynon et Al. (1972) | Spoehr & Milner (1949) | Fied et al (1982) |

Nota Tr: Trazas

Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

1.2.4 HIDROCARBUROS

Aunque se han detectado hidrocarburos (C_{15} - C_{27}) en pequeñas cantidades (menos del 5% de la materia seca) en varias cianobacterias y clorofitas, solo hay pocas especies que contienen relativamente grandes cantidades. Dos especies contienen estas cantidades: *Dunaliella sp.* como una fuente de carotenoides y *Botryococcus braunii*, como una mezcla única de hidrocarburos C_{17} - C_{34} , éstas han mostrado producir grandes cantidades, de las cuales la última tiene un potencial para producir combustibles líquidos renovables.

La fracción de lípidos en la clorofita *Dunaliella sp.* consiste del 50% de la materia orgánica, y grandes proporciones de los lípidos totales consisten de

hidrocarburos cíclicos y no cíclicos, estas cantidades pueden influenciarse por la temperatura y la intensidad de luz.

I.3 GLICEROL

Todas las plantas incluyendo las microalgas, están rodeadas de membranas, las cuales separan la célula del medio ambiente. Estas membranas son más o menos permeables al agua, pero casi impermeables a los solutos. En este contexto, es esencial para todas las células mantener un balance entre la presión osmótica dentro de la célula y sus alrededores. Dentro de ciertos límites la célula puede responder a fluctuaciones osmóticas del ambiente acuoso por excreción del agua, manejado por la diferencia del potencial químico que desarrolla a través de la membrana celular, de este modo el aumento o disminución de la concentración de los solutos dentro de la célula puede variar. En respuesta a altas concentraciones de sal en sus alrededores, la célula balancea el aumento de solutos externos por el mejoramiento de la síntesis de solutos dentro del citoplasma e incrementa los solutos externos.

Las algas representan un grupo de plantas que exhiben una alta variedad de tolerancia a diferentes concentraciones de sal en su ambiente, en un rango de milimoles o hasta la saturación. Teniendo esta capacidad para establecerse a altas y bajas concentraciones de sal, las algas pueden dividirse en especies halotolerantes y halofílicas, esta última requiere sal para un crecimiento óptimo y para tener un mecanismo osmoregulador que permita la sobrevivencia de ésta en un medio salino.

El ejemplo más concreto de la osmorregulación es el alga halofílica verde *Dunaliella sp.*, la cual puede crecer en medios que contienen 0.1-8 M en soluciones saturadas. El componente orgánico que ayuda a realizar una osmoregulación eficaz en esta alga es el glicerol, por lo cual la extracción y comercialización de este producto se ha llevado a cabo en diferentes países.

El potencial económico de esta producción biológica de glicerol se estudio en detalle, especialmente en Israel (Ben Amotz & Avron, 1983). Se encontró que bajo condiciones óptimas de crecimiento, *Dunaliella sp.* puede acumular por encima del 40% del peso seco del alga, expresándolo en términos algales, 16 g de glicerol $m^{-2} d^{-1}$. Experimentos en el cultivo de esta alga en un ambiente abierto mostraron que un porcentaje de producción de cerca del 4.5 g de glicerol $m^{-2} d^{-1}$ pueden obtenerse en una concentración de 3.5 M. Ya que las condiciones para un incremento óptimo en la biomasa total no son necesariamente aquellas que maximizan la producción del glicerol, debe hallarse una relación entre el crecimiento del alga y glicerol. En consecuencia, el rendimiento más alto de glicerol será obtenido en 2 M de NaCl, por lo cual las condiciones que favorecen el crecimiento algal máximo son a bajas concentraciones de sal. Se ha sugerido que varios osmorreguladores que se pueden encontrar en varias algas (glicerol, aminoácidos, carbohidratos, manitol, manosa, sorbitol, etc.) protegen la actividad enzimática a altas presiones osmóticas, una sugerencia que apoya este hecho es que varias enzimas son inhibidas débilmente a 5 M de glicerol mientras que son inhibidas débilmente a concentraciones de sal muy bajas. Hay plantas que utilizan el glicerol como un sustrato para procesos de bioconversión.

Sin embargo, la idea de producir glicerol tiene algunas desventajas, ya que la actividad osmótica del glicerol es menor que de la sacarosa o sorbitol. Además, las soluciones equimolares de NaCl y glicerol no resultan en similares potenciales osmóticos. La práctica ha mostrado que por arriba del 45% de la concentración externa real de NaCl puede encontrarse dentro de la alga y solo la compensación por la presión osmótica externa es hecha por el glicerol.

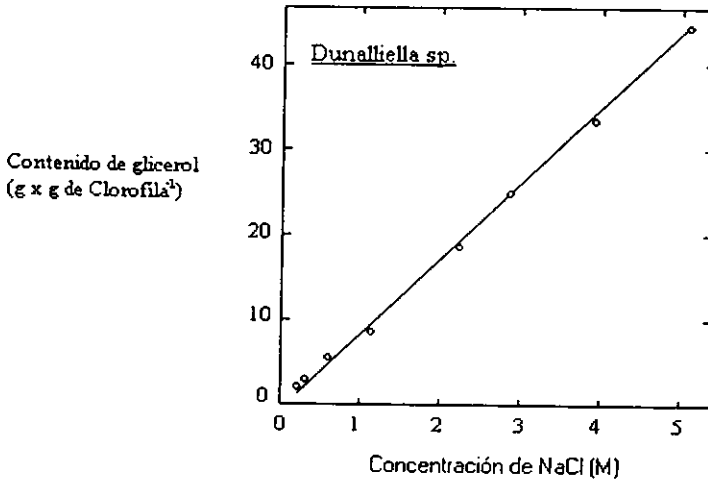
Aunque la idea de producir glicerol a partir de algas suena muy prometedor, todavía se debe de enfrentar problemas técnicos tal como cosechar las células y la extracción del glicerol. Es un hecho que en nuestros días el precio del glicerol producido por esta vía no puede competir con la producción sintética de éste.

En resumen la alga *Dunaliella sp.* está compuesta de aproximadamente 50% de proteínas, 35% de carbohidratos incluyendo glicerol, y 8% de grasas. La composición varía con las condiciones de crecimiento. La composición de aminoácidos de la *Dunaliella sp.* se asemeja a las algas verdes y a plantas verdes de mayor tamaño, con un alto contenido de aminoácidos de sulfuro de lisina y metionina. Los carbohidratos incluyen principalmente almidones de α -1-4-glucosán y mono y disacáridos comunes. El contenido de lípidos es de 6 a 18%. Los ácidos grasos de la *Dunaliella sp.* están formados principalmente de 16 a 18 carbonos (Cresswell, 1989).

I.3.1 OSMORREGULACION

El mecanismo por el cual un organismo se adapta a varias concentraciones de sal se nombra "osmorregulación". Esta habilidad se lleva a cabo por la *Dunaliella sp.* debido al glicerol. Cuando la alga se adapta a un medio de cultivo, el cual contiene principalmente diferentes concentraciones de sal, la concentración de glicerol intracelular es directamente proporcional a la concentración de sal extracelular, este comportamiento se puede apreciar en la gráfica 1.2. Las concentraciones intracelulares de sodio y potasio son alrededor de 50 a 200 mM, y son independientes de la concentración salina a la cual son cultivadas las algas.

Gráfica 1.2 Concentración intracelular de glicerol en la alga *Dunaliella sp.* como una función de la concentración de sal en el medio donde se cultiva.



Fuente: Cresswell, *Algal and Cyanobacterial Biotechnology*, (1989)

Cuando se expone a grandes y bajas concentraciones de sal en su medio, la alga se comporta como un perfecto osmómetro, rápidamente se encoge o se expande dependiendo de la concentración de sal que exista en el medio.

Este cambio se debe a la síntesis o eliminación de glicerol. La síntesis de glicerol bajo condiciones hipertónicas (incremento en la concentración salina) y eliminación de glicerol bajo condiciones hipotónicas (disminución en la concentración salina) es independiente de la síntesis de proteínas y ocurre tanto en la oscuridad como en la luz. La síntesis de glicerol en la oscuridad requiere, por supuesto, la presencia de un almacenamiento de polisacáridos

I.4 PIGMENTOS

Una de las características más obvias de las algas es su color. En general cada especie tiene su propia combinación de pigmentos y un color individual. Todas las algas contienen clorofila, que es el pigmento principal de muchas algas. El segundo grupo importante de pigmentos que se encuentra en las algas son los carotenoides

I.4.1 CAROTENOIDES

Los carotenoides son pigmentos lipofílicos de color amarillo, naranja o roja de estructura alifática o no cíclica compuesta de ocho a cinco unidades de carbono.

Los carotenoides pueden dividirse dentro de dos grupos. Los pigmentos compuestos de hidrocarburos libres de oxígeno y los que se derivan de éste. Todas las algas contienen carotenoides, cada especie contiene entre cinco a diez formas de carotenos, por lo cual las algas tienen mas variedad de pigmentación que las plantas verdes de mayor extensión.

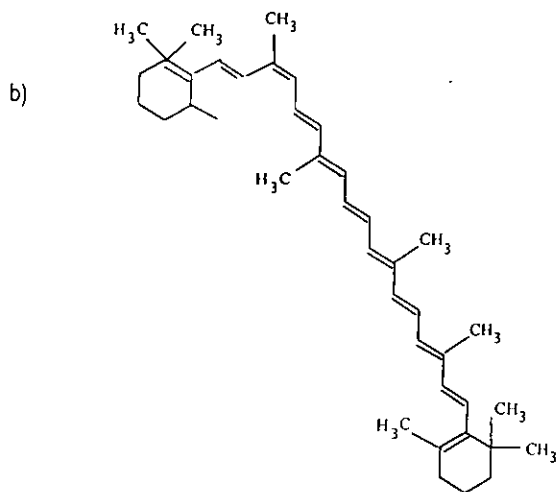
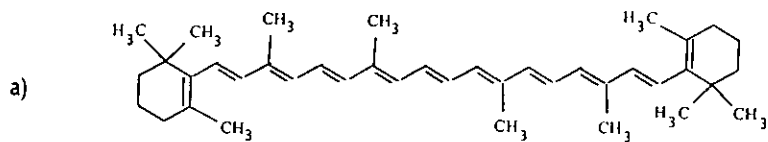
El porcentaje de concentración de carotenos que se encuentran en las algas es de 1-2% de su peso seco, sin embargo en algunas algas, caso específico del género *Dunaliella sp.*, cuando se cultiva en condiciones apropiadas (alta intensidad de luz solar y alto nivel de salinidad en el medio), la cantidad de "β-caroteno" que se puede producir es de 14%. Varios pigmentos tienen funciones fotoprotectoras que protegen a las moléculas de clorofila en contra del blanqueo y destrucción creado por la radiación extrema. Es esta función como lípido antioxidante que puede ser responsable de las posibles propiedades terapéuticas del "β-caroteno" como un agente anticancerígeno.

El "β-caroteno" del género *Dunaliella sp.*, cuando se cultiva bajo condiciones ya definidas, se compone de aproximadamente de 50% all-trans β-caroteno y de

40% de 9 cis- β -caroteno, como se muestra en la figura 1.1. La relación de 9-cis a all-trans es proporcional a la intensidad de luz integral a la cual la alga ha sido expuesta durante su ciclo de división.

Aunque de la cantidad de carotenos encontrados en las algas, solo un pequeño número son de importancia comercial, éstas incluyen " β -caroteno" y licopeno, los cuales se usan principalmente como aditivos alimenticios en su modalidad de pigmentos naturales. En nuestros días, se venden en pequeñas cantidades, principalmente por su alto costo, y porque la mayoría de los carotenoides usados comercialmente se producen sintéticamente. Sin embargo, el incremento de producción de " β -caroteno" a partir de algas, principalmente del género *Dunaliella sp.*, podría cambiar esta situación en pocos años (Becker, 1994).

Figura 1.1 Fórmula estructural de all-trans β -caroteno (A) y 9-cis- β -caroteno (B)



1.5 PRODUCCION DE "β-CAROTENO"

Dunaliella sp. es el organismo eucariótico que contiene más "β-caroteno" (Borowitzka, 1988; Ben-Amotz, 1990). Bajo un cultivo apropiado, mas del 10% del peso seco de *Dunaliella sp.* es "β-caroteno". La acumulación de "β-caroteno" se realiza bajo condiciones especiales, en la tabla 1.4 se mencionan algunos:

Tabla 1.4 Influencia de varios factores sobre la biomasa y el contenido de "β-caroteno".

| FACTOR | BIOMASA | β-CAROTENO |
|--|---------|------------|
| NaCl: 6% → 18% | - | + |
| Deficiencia de N | - | + |
| Deficiencia de P | - | + |
| Incremento de [CO ₂] → 5% en aire | + | 0 |
| Luz blanca → Luz roja | 0 | 0 |
| Luz blanca → Luz verde | 0 | 0 |
| Luz: 1200 → 2200 lx | 0 | + |
| 2200 → 500 lx | 0 | - |
| Temperatura: 30 °C → 20 °C | 0 | - |
| 30 °C → 35 °C | - | + |
| [O ₂]: 12% → 15% | 0 | - |
| Efecto combinado: | | |
| 2200 lx a 27 °C → 1200lx a 34 °C | -- | ++ |

(+) = Efecto estimulado; (-) = Efecto inhibitorio; (0) = No hay efecto

Fuente: Borowitzka, *Microalgae Biotechnology* (1988)

El "β-caroteno" acumulado en la alga está compuesto principalmente de dos estereoisómeros: 9-cis y all-trans. La relación de 9-cis y all-trans depende de la luz absorbida durante el ciclo de división celular. La relación de 9-cis al isómero de all-trans aumenta con el incremento de la intensidad de luz a la

cual es expuesta la alga. Las propiedades fisicoquímicas del 9-cis β -caroteno difieren de las de all-trans β -caroteno, el all-trans β -caroteno es prácticamente insoluble en aceite y es fácilmente cristalizable, mientras que el 9-cis β -caroteno es mucho más soluble en disolventes hidrofóbicos y muy difícil de cristalizar (Ben-Amotz, 1989).

La principal función de los glóbulos de " β -caroteno" en la alga *Dunaliella sp.* es proteger a la célula en contra de la alta intensidad de luz a la cual se exponen en su habitat natural o en un cultivo manipulado.

1.6 BIOTECNOLOGIA DE LA *Dunaliella sp.*

La *Dunaliella sp.* es altamente rentable para la biotecnología. La habilidad de crecer en medios donde hay grandes concentraciones de sal le permiten cultivarse al aire libre en cultivos relativamente puros con baja presencia de predadores. Además, su alto contenido de " β -caroteno" la protege de la alta irradiación solar donde se cultiva, en áreas tales como desiertos o zonas áridas con una limitación de suministro de agua. La *Dunaliella sp.* se cultiva en un medio autótrofo a expensas de nutrientes inorgánicos. La producción de *Dunaliella sp.* puede activarse por técnicas semejantes a aquellas comúnmente usadas para la producción de gran escala de otras algas, sin embargo, la producción comercial de *Dunaliella sp.* en cultivos al aire libre está enfocada a la producción de " β -caroteno" en vez de la biomasa, como en el cultivo de *Chlorella* o *Spirulina*. Como se indicó anteriormente, la acumulación de " β -caroteno" se incrementa con la intensidad de luz y a una velocidad de crecimiento baja. Sin embargo, bajo estas condiciones, la productividad es baja debido a la baja velocidad de crecimiento. Es por ello que la máxima productividad de " β -caroteno" se lleva a cabo en áreas de alta intensidad de luz y donde la velocidad de crecimiento y suministro de nitrógeno se controlen. La velocidad de crecimiento de la alga está limitada drásticamente por la concentración salina en el medio y por el control de nutrientes esenciales tal como nitrato o sulfato. La productividad máxima

teórica para condiciones naturales establece un límite superior a la eficiencia de conversión de la luz de aproximadamente 3%, tomando en cuenta la maquinaria fotosintética, irradiación solar, suministro de nutrientes, temperatura y el diseño del bioreactor. Una eficiencia de conversión de la luz de 3% es equivalente a 25 g de biomasa $\text{m}^{-2} \text{día}^{-1}$.

Cultivos intensivos de *Dunaliella sp.* están basados en cultivos de canales ovalados y al aire libre, operados con paletas con una profundidad del cultivo de 10-25 cm y una superficie de área de 1000-4000 m^2 . El cultivo intensivo contiene de 10-20 mg de β -caroteno litro^{-1} en una profundidad de 10-20 cm y con una productividad máxima de β -caroteno de 500 $\text{mg m}^{-2} \text{día}^{-1}$. Pero se han observado productividades anuales de alrededor de 250 $\text{mg m}^{-2} \text{día}^{-1}$ de β -caroteno (Borowitzka, 1984; Cresswell, 1989).

Recientemente se introdujo un modo superintensivo de cultivo de *Dunaliella sp.*, se trata de los fotobiorreactores. La alga se cultiva en un sistema de tubos cerrados que son de diámetros pequeños, elaborados de plástico, y transparentes. El diámetro pequeño del tubo permite una pequeña vía de luz para maximizar la densidad celular bajo un control de crecimiento fisiológico ajustado. De este sistema se espera obtener un rendimiento diez veces mayor a las que se produce en canales (raceways) y con ello una mayor productividad de " β -caroteno".

El alto rango de biotecnología de la *Dunaliella sp.* hace tener varios métodos para su cultivo, ya sea fotobiorreactores, canales (raceways) o biorreactores al aire libre, todos estos sobre la base de su necesidad económica deseada (Ben-Amotz, 1989).

I.7 PRODUCTOS DEL CULTIVO DE *Dunaliella sp.*

El " β -caroteno" es actualmente el producto más importante del cultivo de *Dunaliella sp.* Este se usa como un agente colorante en alimentos y como

provitamina A en alimento tanto para animales como para seres humanos. A esto se añade diferentes productos tal como cosméticos, preparaciones de vitaminas, y productos farmacéuticos. El mercado mundial está dominado por el all-trans β -caroteno sintético, un producto de síntesis química compleja desarrollada por investigadores de Hoffmann La Roche en 1950. Estudios epidemiológicos y oncológicos recientes sugieren que niveles altos de " β -caroteno" en el cuerpo podría protegerlo contra el cáncer. Es por ello que el " β -caroteno" funcionaría como un agente químico preventivo. Por lo tanto se sugiere que los animales tengan una dieta alta en " β -caroteno" para protegerlos de varios tipos de cáncer.

Muchos productos de la *Dunaliella sp.* en el mercado comercial son extractos de " β -caroteno" en aceite comestible, que contienen entre 1.5 y 30% de " β -caroteno". Otros productos son secados y transformados en cápsulas o tabletas que contienen cerca de 5% de " β -caroteno" estos se usan específicamente como alimento naturista para el mejoramiento de la salud bajo la marca de " β -caroteno" natural. El incremento en la producción de *Dunaliella sp.* y la introducción del " β -caroteno" en la margarina y otros productos como pigmento natural en alimentos puede reemplazar gradualmente la producción sintética de all-trans " β -caroteno". Hay productos obtenidos de *Dunaliella sp.* que no han alcanzado una producción en el ámbito comercial, especialmente por barreras económicas. No obstante. La producción de *Dunaliella sp.* permite la extracción y purificación de muchos otros agente bioquímicos, incluyendo glicerol, enzimas, vitaminas, aminoácidos, ácidos grasos y reguladores de crecimiento (Ben-Amotz, 1989).

CAPÍTULO II.
DATOS DE MERCADO

II.1 HISTORIA

Desde la antigüedad las algas marinas han sido utilizadas como alimento humano, para forraje y para el acondicionamiento de suelos (Soeder, 1986). Hace alrededor de 40 años que empezó a desarrollarse en muchos países la producción masiva de microalgas útiles para el consumo humano ya sea directamente o a través de cadenas alimentarias, para ser utilizadas como fuente de reactivos químicos, aceites, polisacáridos, drogas o como acondicionadores de suelo y para el tratamiento de aguas residuales (Dubinsky *et al.*, 1978; Aguilar-Rosas *et al.*, 1982; Arredondo-Vega y Vázquez-Duhalt, 1991).

Los productos algales tienen que competir con los productos agrícolas y con los obtenidos por síntesis química y petroquímica. Una ventaja de los productos algales se puede encontrar en el tratamiento de suelos, ya que el beneficio ecológico logrado por ellas no pueden obtenerse por ninguno de los otros métodos. Las microalgas que habían sido utilizadas principalmente como alimento han atraído ahora la atención de los científicos, quienes investigan su potencial biotecnológico para su futuro aprovechamiento (Borowitzka y Borowitzka, 1988; de la Noüe *et al.*, 1989; Arredondo-Vega y Vázquez-Duhalt, 1991)

La utilización económica de las microalgas data de 1940, cuando en Alemania surgió el interés por el cultivo de microalgas, especialmente en diatomeas, como fuente de combustibles líquidos. En los años 50 inicio la idea de tratar aguas residuales con microalgas. En las décadas de los 50 y 60 cobró fuerza el cultivo masivo de microalgas en estanques para obtener proteína de origen unicelular al considerarla como una fuente económica y abundante para la alimentación humana (Borowitzka y Borowitzka, 1988; de la Noüe *et al.*, 1989; Arredondo-Vega y Vázquez-Duhalt, 1991). La obtención de proteína de origen unicelular a partir de microalgas tiene varios problemas, ya que para obtener una producción elevada es necesario tener una especie dominante y para esto es necesario crecerlas en un medio definido o semidefinido, lo que eleva el costo de la producción.

En los años 70 la atención estaba centrada en la producción de biomasa algal para combustible y fertilizante, así como en el desarrollo de metodologías para el tratamiento de aguas residuales, ya sea mediante el uso de lagunas de estabilización o como un tratamiento terciario. La presencia de microalgas contribuye al suministro de cantidades considerables de oxígeno vía la fotosíntesis y eleva el pH por consumo de CO_2 durante las horas de iluminación. Además consumen amonio, con lo que disminuye la demanda de oxígeno ligada a la nitrificación bacteriana. Algunas de las algas más comunes en las lagunas de estabilización son: *Chlamydomonas*, *Chlorella*, *Euglena*, *Micractinium* etc.

Los usos actuales o potenciales de las microalgas son diversos: bioconversión de la energía; mejoramiento de suelos; producción de sustancias químicas finas: ficocianinas, ficoeritrinas, "β-caroteno", luteína, zeaxantina, astaxantina, tocoferoles; producción de sustancias con propiedades farmacológicas: vitaminas A, B₁₂, C, E y K₁, sustancias antivirales, antibacterianas, antifúngicas y toxinas de interés neurológico; polisacáridos; ácidos grasos poliinsaturados: ácidos araquidónico, eicosapentanoico, docosahexanoico entre otras, y son también utilizadas como alimento para peces, crustáceos, mariscos, aves, ganado vacuno, conejos, cerdos y como alimento para humanos (de la Noüe *et al.*, 1989; Gudin 1989).

En el caso particular del "β-caroteno", compuesto que pertenece a los químicos finos, que se utiliza como colorante natural, su valor comercial es alto, aunque la cantidad de utilización es pequeña, a continuación se muestra la siguiente tabla 2.1, donde se aprecia las cantidades recomendadas de "β-caroteno" en alimentos de uso común.

Tabla 2.1 Valores de "β-caroteno" recomendados en alimentos de uso habitual.

| Alimentos | Cantidad |
|--|------------------------|
| Mantequilla y Margarina | No tienen limitaciones |
| yogur | 0.1 g/kg |
| Conservas de pescado | 200 mg/kg |
| Productos derivados de huevos, conservas vegetales y mermeladas | 300 mg/kg |
| Quesos | 600 mg/kg |
| Bebidas refrescantes, helados y productos cárnicos | No tiene limitaciones |

Fuente: Gordon.H.T., Bouernfeind, J.C. Carotenoids as Food Colorants (1982)

II.2 MACROLOCALIZACION

La producción de biomasa de algas en agua de mar, podría constituir una actividad económicamente viable en las zonas costeras áridas del mundo. En estas áreas la producción orgánica es baja, debido a la escasez de agua para la agricultura convencional, ya que el agua de mar no es adecuada para la irrigación de cosechas convencionales. Por otro lado, cultivando microalgas marinas o de aguas salobres en estas áreas, se pueden lograr cosechas de magnitud similar a la totalidad de la producción orgánica de áreas agrícolas tradicionales. Las ventajas de los cultivos de microalgas sobre la agricultura convencional son entre otras, el elevado valor de la relación entre superficie y volumen de cultivo que da como resultado un crecimiento rápido, la falta de órganos o tejidos no utilizables, el alto valor nutricional y su capacidad para utilizar el agua de mar (Dubinsky et. al., 1978). A través del cultivo de especies adecuadas de algas, que respondan bien a la abundante irradiación solar y a las

altas temperaturas, el agua de mar podría ser usada en muchas de estas regiones para aumentar la bioproducción (Richmond, 1986).

Esta posibilidad ha sido reconocida en varios países que poseen zonas áridas, donde el agua disponible no es adecuada para la agricultura convencional, en los cuales la producción de microalgas y su utilización para diferentes propósitos se ha ido desarrollando gradualmente como una alternativa industrial (Olguin, 1986; Richmond, 1986; Borowitzka y Borowitzka, 1988).

Amplias regiones desérticas del mundo están cercanas a ambientes marinos. La república mexicana tiene grandes extensiones consideradas como semidesérticas (51% de la superficie del país), algunas de las cuales poseen aguas salobres y/o están cercanas a zonas costeras y tienen un clima apropiado para el cultivo de algas (Programa de Desarrollo Agropecuario y Forestal, 1981; López-Mercado, 1985).

El estado de Baja California tiene 1380 Km de litoral, que constituye el 11.6% del total de los litorales del país, siendo su superficie el 3.75% de la superficie total nacional. El clima presenta diferencias notables, debido a la diversidad altitudinal, latitudinal y topográfica, siendo en términos generales templado. El régimen de precipitación es muy definido, con una gran humedad proveniente del norte durante la época invernal. Por otra parte, las tormentas tropicales y ciclones que se originan en el pacífico, provocan lluvias durante el verano en algunas partes del norte de la península, principalmente en las sierras y desiertos (Delgadillo-Rodriguez, 1992; Carrillo et al., 1994)

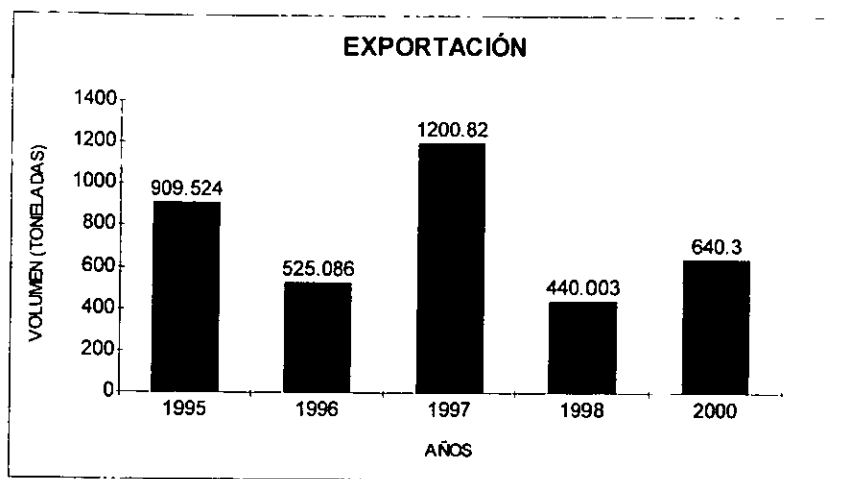
II.3 EXPORTACION E IMPORTACIÓN DE "β-CAROTENO"

A continuación se explicará en una forma general los datos de mercado del pigmento que se obtiene de la cosecha de la microalga *Dunaliella sp.* Como se puede apreciar en la gráfica 2.1, no hay una correlación con respecto a la exportación de "β-

caroteno”, este comportamiento se debe a que el “ β -caroteno” se extrae de productos que tienen una temporada de cultivo establecido, si a esto se añade que estos cultivos dependen considerablemente de los eventos climáticos, entonces se concluye que cuando hubo menos exportación se debió a posibles heladas, inundaciones, plagas u otro problema que propicio un bajo rendimiento en el cultivo.

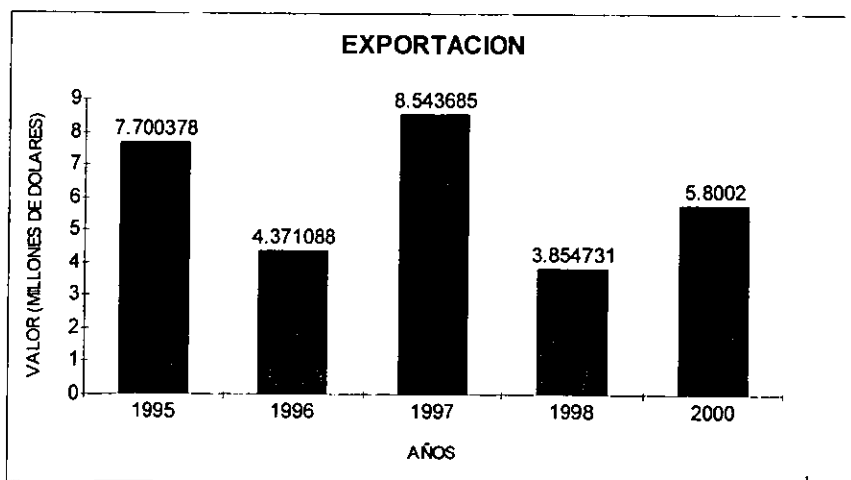
En la gráfica 2.3 se muestra que el volumen que México importa es mucho menor a lo que exporta, este comportamiento se puede entender con las gráficas 2.2, 2.4 y la tabla 2.1.

DATOS DE MERCADO

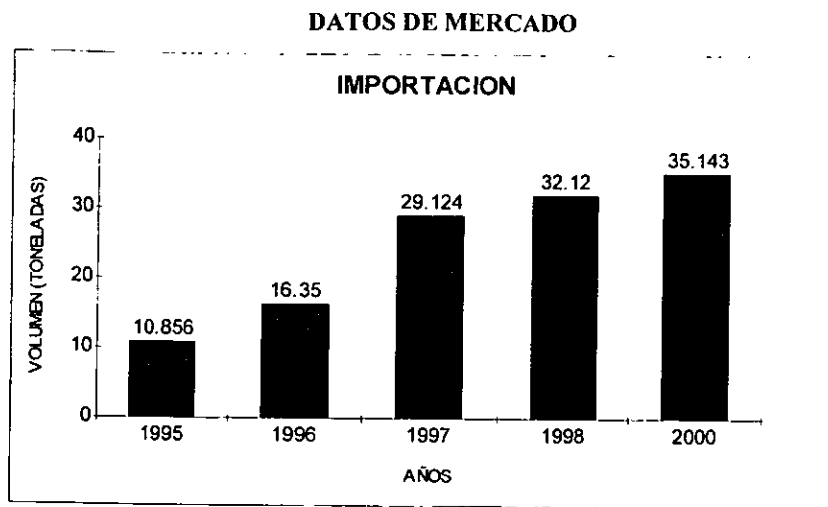


Gráfica 2.1 Exportación de “β-caroteno” que realiza México a diferentes Países (Volumen: Toneladas)

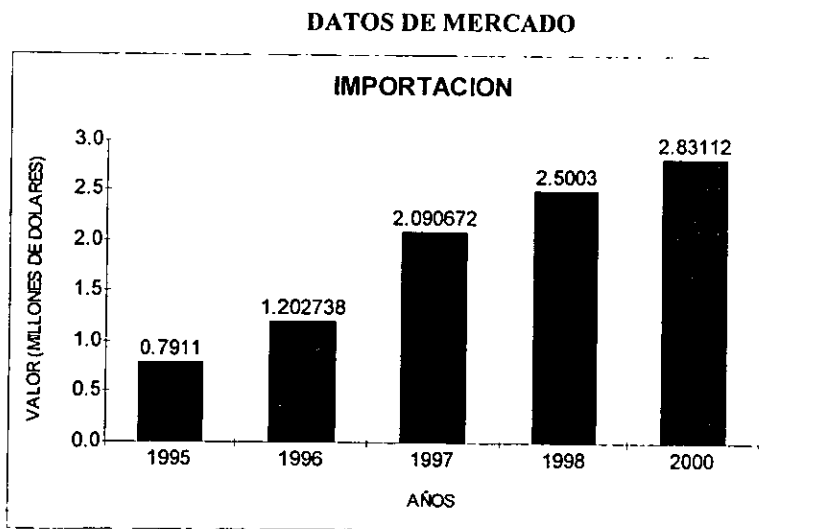
DATOS DE MERCADO



Gráfica 2.2 Exportación de “β-caroteno” que realiza México a diferentes Países (Valor: millones de dólares)



Gráfica 2.3 Importación de “β-caroteno” que realiza México de diferentes Países (Volumen: Toneladas)



Gráfica 2.4 Importación de “β-caroteno” que realiza México de diferentes Países (Valor: millones de dólares)

Tabla 2.2 Comparación de precios de exportación e importación del “β-caroteno”

| AÑO | VOLUMEN (Kg) | | VALOR (DLS) | | PRECIO UNITARIO DLS/Kg | |
|------|--------------|-------|-------------|---------|---------------------------|-------|
| | EXP. | IMP. | EXP. | IMP. | EXP. | IMP. |
| 1995 | 909524 | 10856 | 7700378 | 791100 | 8.466 | 72.81 |
| 1996 | 525086 | 16350 | 4371088 | 1202738 | 8.324 | 73.56 |
| 1997 | 1200820 | 29124 | 8543685 | 2090672 | 7.114 | 71.78 |
| 1998 | 440003 | 32120 | 3854731 | 2500300 | 8.760 | 77.84 |
| 2000 | 640300 | 35143 | 5800200 | 2831120 | 9.05 | 80.55 |

FUENTE: BANCOMEXT

En la tabla 2.1 se aprecia que el costo (precio unitario) del “β-caroteno” es mucho mayor del que se importa al que se exporta, este incremento se debe a que el “β-caroteno” que se importa esta en una forma purificada, esta purificación sólo se puede realizar con alta tecnología, es por ello que sólo los países más industrializados pueden llevar a cabo dicho proceso, países como:

- Alemania
- Dinamarca
- España
- Estados Unidos
- Francia
- Irlanda
- Inglaterra

Son los que exportan a México en mayor proporción que los demás Países.

CAPÍTULO III.
TIPOS DE BIORREACTORES

III. 1 INFORMACIÓN GENERAL

Uno de los requisitos importantes para un cultivo exitoso de algas al aire libre lo constituye la construcción de biorreactores apropiados, los cuales deben ser eficientes, fácil de operar, durables y baratos. Por lo tanto, el tamaño, la forma, el material usado para la construcción y el tipo de agitación empleado varía dependiendo de las condiciones locales, la materia prima disponible y la utilización final de la biomasa. En la práctica, la construcción es siempre un compromiso entre sistemas de alto desempeño con óptimas propiedades hidrodinámicas y la necesidad económica para mantener el costo de la construcción en un nivel aceptable.

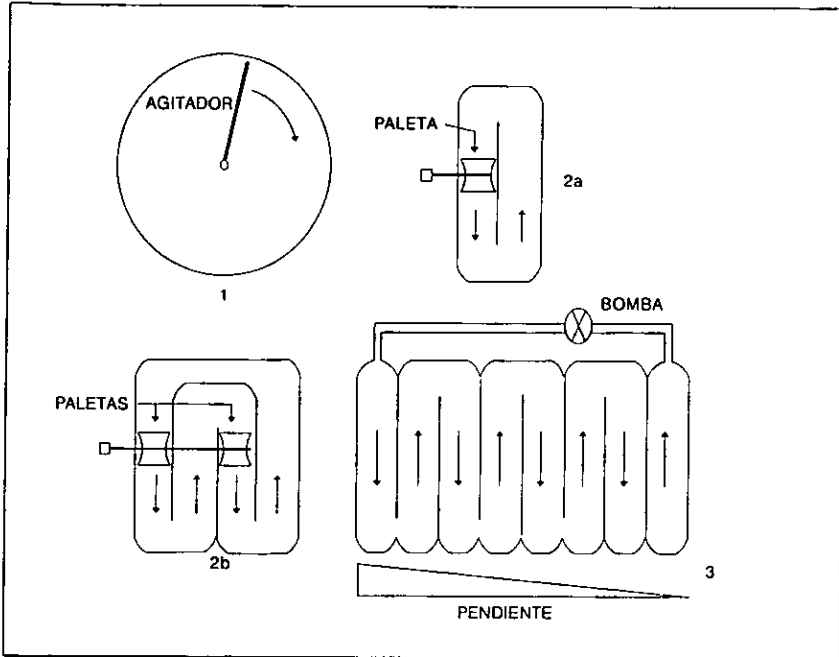
Durante la corta historia del cultivo de algas, se han desarrollado y operado diferentes tipos de biorreactores en el ámbito experimental, piloto e industrial. De los cuales sobresalen dos métodos, estos son:

- 1) Biorreactores sofisticados cerrados para el cultivo y producción de bioquímicos específicos tal como: enzimas, citocromos, toxinas y compuestos farmacéuticos, etc.;
- 2) Unidades abiertas al aire libre las cuales son fáciles de mantener para competir con otros métodos para la producción de productos específicos.

De estos se desprenden tres modelos para diseñar un biorreactor, estos se muestran en la figura 3.1

- 1) Estanques circulares con agitación producida por un brazo rotatorio
- 2) Formas ovaladas llamados canales (raceways), las cuales son construidas de una sola unidad o de varias unidas conocidas como laberintos (meander), con agitación por medio de paletas, impulsor o por medio de bombas.
- 3) Por inclinación, donde la agitación de la suspensión se adquiere por bombeo o por gravedad.

Figura 3.1 Esquema de los biorreactores más usados para el cultivo de algas en el ámbito industrial. 1. Biorreactor circular con agitador rotatorio; 2a. Biorreactor de forma oblonga (raceway) con paletas; 2b Biorreactor de forma oblonga en grupo (meander) con paletas; 3. Biorreactor en circuito inclinado, auxiliado por bombeo



Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

En algunos lugares, han sido probados los sistemas circulares cerrados, en los cuales el cultivo circula en tubos de plástico o en zanjas poco profundas cubiertas por un plástico delgado (Becker, 1994).

III.2 SISTEMAS TUBULARES CERRADOS

Como ya se mencionó, los biorreactores cerrados se utilizan para propósitos especiales. El alto valor de productos específicos y la necesidad de una buena

manufactura, aunado a eso la necesidad de esterilización de los biorreactores, un buen control, justifica la operación de tales instalaciones.

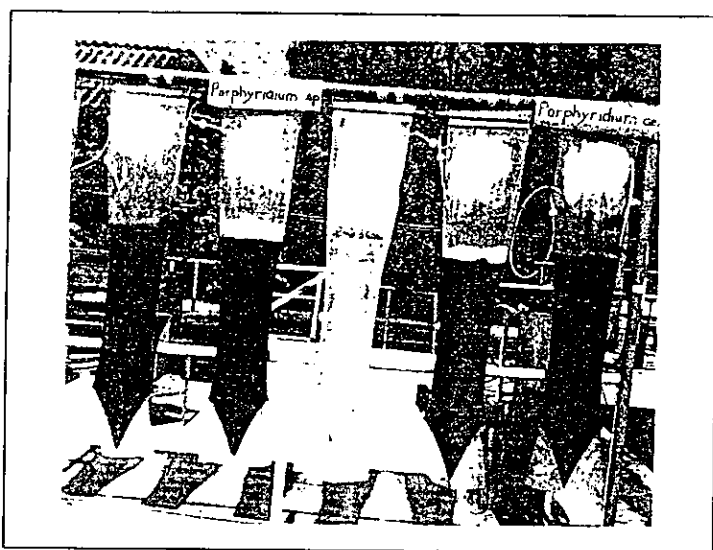
Las ventajas atribuidas a pequeños sistemas cerrados, por ejemplo son la prevención de la contaminación, pero no pueden transferirse a sistemas más grandes. Se ha reportado repetidamente que no es posible llevar tal acción. También se facilita un mejor suministro y utilización del CO_2 . La única desventaja de los grandes sistemas tubulares parece ser la posibilidad de mantener relativamente altas temperaturas en la noche, lo cual puede comenzar a ser un factor limitante de producción en diferentes lugares (sin embargo debe mencionarse aquí que hay fuerte evidencia que el incremento máximo de biomasa algal que proviene del incremento de la temperatura nocturna parece ser menos del 20 %), un beneficio cuestionable cuando se compara con el costo de un recubrimiento.

Por ahora se debe mantener en claro, que el cultivo de microalgas es difícil si se lleva a cabo un escalamiento mediante un control de sistemas tales como: el suministro de luz, la cual va relacionada con la superficie de área del biorreactor y del volumen. El diseño y operación de diferentes sistemas tubulares se describirán aquí con la intención de ilustrar los principios generales de tales mecanismos.

En el Instituto de Beer-Sheva (Israel), un mecanismo muy simple, aunque durable y eficiente, de contenedores se ha desarrollado para el cultivo de microalgas, principalmente para el cultivo de *Porphyridium*. Como puede observarse en la figura 3.2 consiste de mangas de polietileno de los que se usan en sistemas de acuicultura para la producción de larvas. El fondo de cada manga está sellado por calentamiento transformándola a una forma cónica para prevenir el establecimiento de sustancias no deseadas. El cultivo se mezcla con una corriente de aire que contiene CO_2 . Un calentamiento excesivo en días muy calientes se

puede prevenir rociando agua a las mangas para que no excedan la temperatura de 31 °C. El volumen de estos contenedores es de 25-30 L.

Figura 3.2 Cultivos al aire libre de *Porphyridium sp.* en mangas de polietileno de 25 L.



En 1950, pequeños biorreactores (10 L) que consistían de columnas de vidrio verticales se probaron en California. Debido a que se asumió que la carencia de una iluminación artificial es el mayor factor que limita tal sistema, estudios análogos se llevaron a cabo con cultivos de crecimiento en lugares cerrados, y en lugares al aire libre. Se encontró que a pesar de la mayor intensidad de luz, los valores de los cultivos al aire libre no fueron muy altos con respecto a los que se obtuvieron a partir de cultivos en los que se utilizó iluminación artificial. Esto se puede explicar por el hecho de que en la posición vertical el biorreactor esta siempre en un ángulo mayor (A) a los rayos del sol, por lo cual una cantidad substancial de energía solar (I_0) se espera reflejar, y solo una fracción ($I_0 \sin A$) esta disponible para el crecimiento de la biomasa.

Los primeros intentos para cultivar algas en sistemas tubulares al aire libre se llevaron a cabo por la Compañía A.D. Little, sobre el tejado de su edificio en 1950. El diseño sufrió varias desventajas, una de ellas fue la carencia de usar un plástico que evitara el establecimiento de materia no deseada y especialmente un sobrecalentamiento del medio, lo cual afecta adversamente al crecimiento de la mayoría de microalgas fotoautótrofas, un problema central para cualquier cultivo que se lleva a cabo en un lugar cerrado. Las ventajas de los sistemas cerrados sobre biorreactores convencionales abiertos son que los cerrados pueden levantarse sobre cualquier espacio abierto, pueden operar a altas concentraciones de biomasa, previene la pérdida de agua por evaporación, y mantiene al cultivo libre de contaminación atmosférica.

El primer biorreactor tubular a gran escala se reportó a principios de los 50, y consistió de 12 m de vidrio o tubos de plástico. La relación volumétrica del sistema de tuberías fue de 0.54. El rendimiento más alto que se obtuvo para este biorreactor usando *Chlorella* fue de 12 g m^{-2} .

Otro biorreactor de circuito tubular de 40 L se construyó al mismo tiempo en Japón, tenía una longitud total de 33 m. Se observó que en un cultivo limitado por luz, la velocidad de crecimiento lineal (dn/dt) de un cultivo de *Chlorella* (cuando n es el número de células y t es el tiempo) disminuye con el incremento del diámetro de la tubería de 0.7 a 0.6 cm siguiendo la relación $dv/dt=kd$, donde k = velocidad de crecimiento por unidad de área y d = diámetro del tubo.

Muchas de las técnicas empleadas para las plantas tubulares horizontales también pueden aplicarse para mecanismos de cultivo con torres verticales. La principal razón para el diseño de una torre fue la necesidad de una construcción más económica que permitiera el cultivo de microalgas. La parte principal del sistema es un tubo de vidrio de 2 metros de longitud con un diámetro interno de 15 cm, con una salida en el fondo y en la parte superior de la torre. Para mejorar la geometría desfavorable de la torre por la iluminación, un tubo de vidrio muy

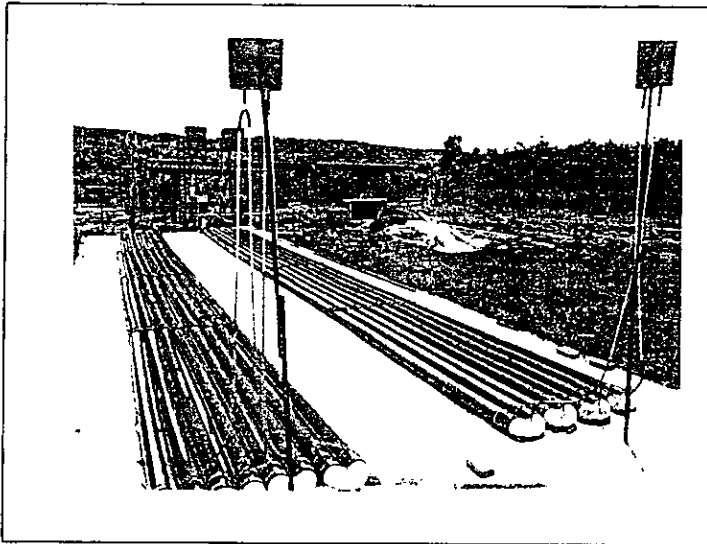
delgado se inserto desde la parte superior, eliminando la parte central, la cual es iluminada a una baja intensidad en cultivos demasiados densos. En el volumen reducido de la torre se obtuvo una producción total más alta de alga que en una torre que no se redujo. El ancho óptimo de la suspensión algal depende de la especie cultivada y de la cantidad de radiación que se pueda suministrar. Los anchos probados varían entre 2.5 y 5 cm, si la parte más interna se llena con agua circulando a través de un termostato, este puede controlar la temperatura del sistema. El gas, se introduce a través de una conexión lateralmente insertada en el fondo de la torre, manteniendo la alga en suspensión. Para evitar que la alga tenga altos valores de densidad específica en ciertas áreas del fondo de la torre, se encontró útil inyectar la corriente de gas no a través del centro de la torre, sino en una parte lateral y a su vez agitar el fondo continuamente con un agitador magnético.

En años recientes, han sido propuestos mejores diseños de fotobiorreactores y se han realizado en plantas piloto de Francia, Italia y Estados Unidos. Han sido estudiados varios parámetros, como flujo de turbulencia, energía requerida para la circulación, balance de oxígeno y CO₂. Mecanismos de cultivo cerrados de más de 100 m² se construyeron con el propósito de producir productos altamente rentables tales como polisacáridos.

En la planta piloto construida en Florencia Italia, por Torzillo et. al., para el cultivo de *Spirulina* mostrada en la figura 3.3. El biorreactor está hecho de tubos de polietileno transparentes y flexibles (14 cm de diámetro y 0.3 mm de espesor) y cubre un área superficial de 80 m² (8000 L). La longitud máxima del circuito fue de 500 m. Los tubos de polietileno se colocaron dentro de tubos que tienen 13 cm de diámetro interno y 4 mm de espesor. Estos tamaños se seleccionaron para obtener una relación de superficie-volumen similar a biorreactores que están al aire libre (100 L por metro cuadrado de superficie)

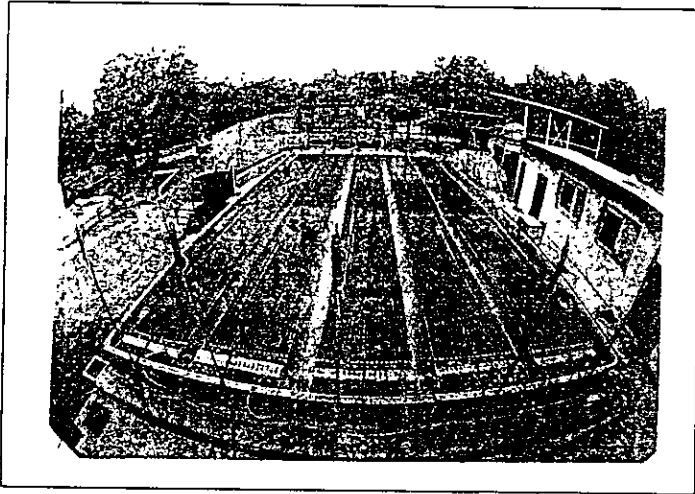
Los tubos se sellaron con PVC, cada conexión incorpora un pequeño tubo para el desecho de oxígeno. El cultivo cae hacia un tanque receptor de donde se bombea hacia un tanque de alimentación. De aquí el medio se descarga intermitentemente hacia los tubos creando una velocidad de flujo de 25 cm s^{-1} .

Figura 3.3 Vista general de un fotobiorreactor tubular. Los tubos están hechos de polimetilmetacrilato, teniendo 13 cm de diámetro interno y 4 mm de espesor. El volumen es de 100 L por metro cuadrado de superficie iluminada.



Un reactor tubular de 100 m^2 hecho de tubos de polietileno (diámetro de 6.4 cm) se construyó en Francia (Gudin & Chaumont, 1983) consistía de cinco unidades idénticas de 20 m^2 figura 3.4. Cada uno de ellos puede aislarse independientemente de los otros, lo cual permite la inoculación de todos o solo una parte del biorreactor. El cultivo circula en cada tubo y cada unidad de 20 m^2 esta equipada con una columna de carbonatación donde es inyectada una mezcla de aire/ CO_2 . La unidad está equipada para operar en cultivos continuos con una velocidad constante de dilución que puede elegirse para producir preferentemente polisacáridos y ácidos grasos no saturados.

Figura 3.4 Fotobiorreactor algal (100 m²) en Cadarache. La unidad consiste de cinco receptores solares, flotando en un gran estanque.



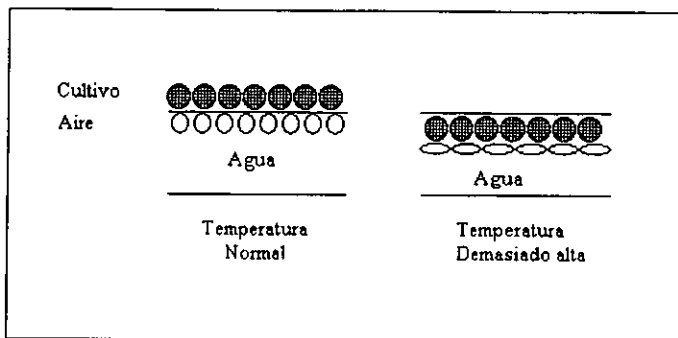
Existen todavía varias limitaciones para tales sistemas tubulares. Los grandes canales de algunos de estos biorreactores tienen problemas hidráulicos así como también bajo suministro de CO₂ en el cultivo. Otro factor limitante es la acumulación de oxígeno producido fotosintéticamente dentro del tubo, la cual puede demostrarse por un pequeño cálculo: Durante las horas pico de la fotosíntesis la producción de 4 g de biomasa m⁻¹ h⁻¹ en un tubo de 4 cm de diámetro resulta en una cantidad similar de O₂.

Los reactores tubulares son ventajosos en áreas con temperaturas moderadas, pero se hacen complicados en climas muy calientes porque la temperatura en los tubos puede alcanzar valores de 10-15 °C más altos que a temperatura ambiente. Por lo tanto es necesario desarrollar un sistema de enfriamiento. Varias posibilidades se han probado para prevenir un sobrecalentamiento de la suspensión algal:

- a) Sombrear los tubos con hojas de color oscuro. Sin embargo, para adquirir un grado significativo de sombreado, arriba del 80% del área superficial tiene que cubrirse, lo cual causa una gran reducción de la iluminación, que causaría un rendimiento bajo en la producción de biomasa.
- b) Enfriar el sistema, esparciendo agua sobre la superficie. Experimentos llevados a cabo en Italia mantuvieron la temperatura de la suspensión algal entre 33 °C y 35 °C, demostrando que la cantidad de agua perdida por evaporación fue de 1 a 2 L d⁻¹ m⁻².
- c) Utilizar un sistema tubular flotante sobre una gran extensión de agua. Esta sugerencia asegura suficiente intercambio térmico además de proveer agitación por medio de la acción ondulante del agua.

Con el biorreactor francés, la regulación térmica está asegurada por tubos flexibles montados por encima de los tubos de cultivo, estos pueden inflarse con aire para que los tubos de cultivo se eleven durante períodos de temperaturas tolerables o sumergirlas cuando la temperatura del cultivo se vuelve muy caliente o muy fría, como se observa en la figura 3.5.

Figura 3.5 Principio donde se aprecia como se sumerge y emerge un biorreactor tubular, en un estanque para regular la temperatura de la suspensión algal.



Otros problemas que se encontraron con los biorreactores cerrados son problemas hidráulicos, vacío de CO_2 y acumulación de oxígeno afectando el rendimiento y composición química de la biomasa.

En muchos sistemas de cultivo desarrollados hasta el momento, los cultivos algales se recirculan con bombas centrífugas. Generalmente, se creyó que los cultivos de algas unicelulares no eran sensibles a fuerzas hidráulicas y turbulencia creada por las bombas centrífugas.

Los efectos adversos sobre las células causados por bombas tanto centrífugas como rotatorias fueron proporcionales a la velocidad de rotación de la bomba (Becker, 1994).

III.3 BIORREACTORES CILINDRICOS

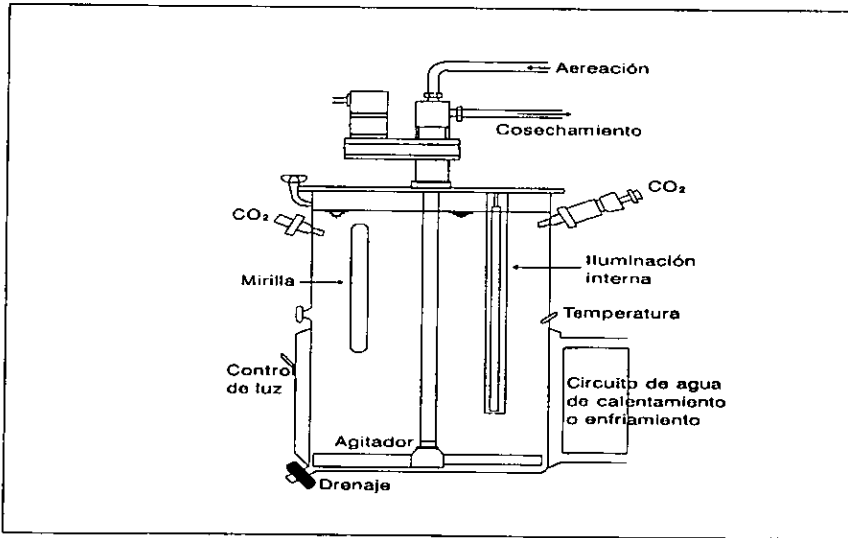
Estos biorreactores se construyen de acero inoxidable, teniendo una forma cilíndrica con diámetros que van de entre 20 y 60 cm y alturas de 35 a 100 cm, correspondientes a volúmenes de 20-250 L, este tipo de biorreactor se muestra en la figura 3.6. La parte superior está cubierta por una placa de acero, mas abajo, cerca de la tercera parte esta cubierta por una tapa de acero, en el cual el agua puede circular para mantener la temperatura constante. Muchos de los biorreactores se equipan con una iluminación interna. Ya sean tubos transparentes insertados dentro del cilindro desde la parte superior por medio de agujeros en la tapadera, los cuales están sujetos por tubos fluorescentes, que pueden removerse fácilmente sin tener que abrir el biorreactor, o por medio de tubos fluorescentes que se insertan directamente hacia el medio.

Después de la inoculación, la suspensión algal se agita por medio de un agitador en este caso un mecanismo multifuncional en forma de T que consiste de un tubo central con dos o cuatro paletas. Aire estéril, enriquecido con CO_2 , se pasa

por vía del tubo central dentro de las paletas, de donde penetra hacia el medio a través de hoyos capilares.

La cosecha de la alga, que es usualmente un paso en el cual se requiere gran cantidad de dinero, puede llevarse a cabo agitándose como se mencionó antes de una forma rápida y eficiente. Cuando la alga ha alcanzado la fase de crecimiento estacionario, tanto la aeración como la agitación se apagan, para que el alga se establezca en el fondo del reactor. Después de un cierto período, dependiendo de la velocidad de sedimentación de cada especie, el agitador se conecta a una bomba de succión por medio del tubo central y se establece una rotación muy lenta. La capa formada en el fondo por el alga se absorbe a través de la succión en las paletas del agitador (Becker, 1994).

Figura 3.6 Diseño de un biorreactor metálico de uso standard.



Fuente: Becker E.W, *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

III.4 BIORREACTORES CIRCULARES

Durante los primeros años del cultivo de microalgas, los estanques circulares de longitud mayor de 45 m de diámetro fueron operados primeramente en Japón y Taiwan. El sistema circular, sin embargo, tiene varias desventajas, porque requiere de construcciones muy caras de concreto, y alto consumo de energía para la agitación, porque la turbulencia es baja en la parte central del biorreactor. Además, hay problemas mecánicos al controlar el movimiento del mecanismo de agitación y en el suministro de CO₂ al cultivo. Finalmente, el uso de suelo es ineficiente, es por ello que en nuestros días se prefiere utilizar los biorreactores horizontales (raceways), por los biorreactores circulares (Becker, 1994).

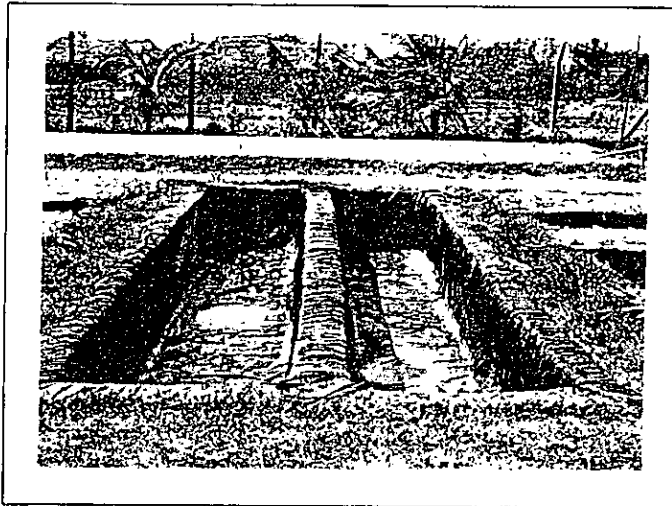
III.5 BIORREACTORES EN FORMA OBLONGA

La mayoría de biorreactores empleados en nuestros días son de tipo oblongo, ya sea de una forma simple o de los llamados canales (raceway), el cual consta de dos o más unidades simples con una pared central el cual divide a las unidades.

La construcción más simple se muestra en la figura 3.7. este no es más que hoyos en el suelo, que se cubren con hojas de plástico delgadas que cuelgan en las paredes de los hoyos. Aunque la construcción de tal biorreactor es barata y fácil, y pueden hacerse sin necesidad de tener gran habilidad en construcción, este método contiene grandes desventajas. Como se puede ver en el ejemplo dado, el lineamiento de plástico está lleno de arrugas, que favorece la acumulación de sólidos y un problema de mantenimiento y limpieza del biorreactor. Además, el material delgado se expone a picaduras o a otros daños mecánicos debidos al viento y a fuerzas hidrodinámicas, y a la formación de burbujas debido al gas o a la acumulación de agua bajo el plástico, son problemas que se presentan posteriormente en este tipo de biorreactor. El riesgo

de daño de la membrana, particularmente del fondo, puede reducirse suministrando un lineamiento (recubrimiento) con material manejable entre los cuales se destaca: arena blanda y blanca, que es muy barata y fácil de manejar y prácticamente se encuentra en todas partes. La arena debe tamizarse para remover las partes más grandes que puedan dañar o realizar una pinchadura en el material de lineamiento especialmente en las operaciones de limpieza. Para biorreactores de grandes producciones es aconsejable alisar todas las áreas que contengan una forma irregular o que estén sujetos a fuerzas hidráulicas con diferentes materiales, por ejemplo membranas con un reforzamiento de parte del tejido. Este método debe de contener siempre un nivel de agua apreciable ya que el agua protege al material desde el comienzo del resquebrajamiento debido a la absorción de calor y a la intensa radiación de los rayos UV, en consecuencia minimiza la formación de grietas: por lo tanto, previene el rozamiento debido al viento. Se ha reportado recientemente que las hojas de plástico se pierden rápidamente debido a las fuerzas del viento, debido a una insuficiencia de agua para proteger al plástico.

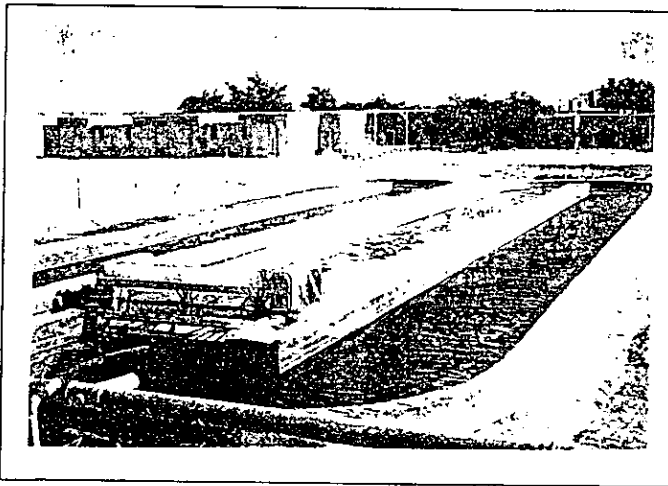
Figura 3.7 Biorreactor algal con recubrimiento de poliuretano en MRCR.



Otra imperfección de tal sistema, es la carencia de una altura considerable de los lados lo que permite la contaminación del cultivo, comúnmente de insectos e inclusive se han observado ranas nadando en el cultivo.

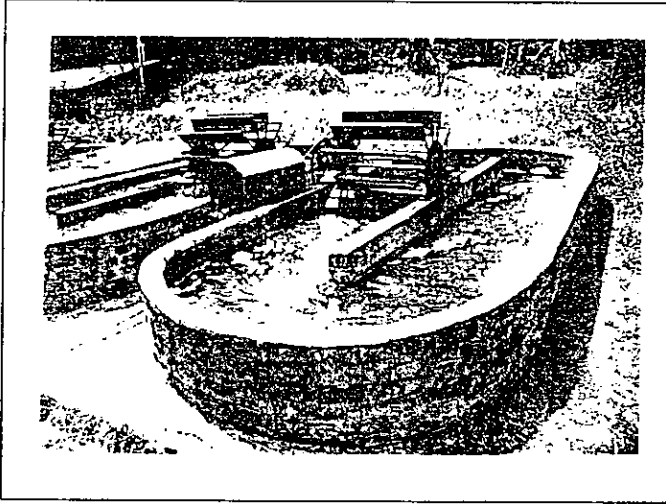
El siguiente diseño, figura 3.8 es más avanzado. Las paredes de este tipo de biorreactor pueden construirse de bloques de plástico, bloque de concreto o aún por bloque de adobe, todos son adecuados, cubiertos de una membrana de plástico durable, cortada y sellada exactamente según las medidas del biorreactor, este paso es muy importante ya que minimiza la tendencia de formación de pequeñas olas en el cultivo, reduciendo el espacio requerido.

Figura 3.8 Biorreactor experimental hecho de membrana de plástico durable sobre bloques de Styrofoam en Sede Boker, Israel.



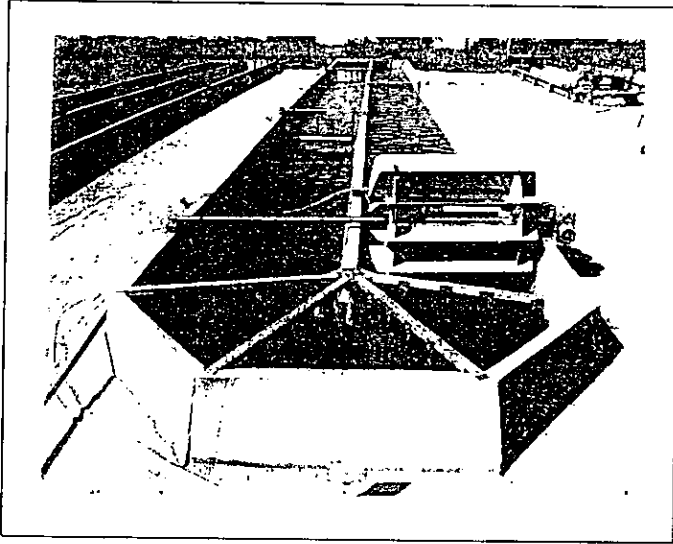
La pequeña unidad operada en Singapur, figura 3.9 muestra algunas carencias técnicas, por ejemplo, la paleta está hecha de un tamaño desproporcionado a comparación a la del biorreactor, el cultivo es demasiado profundo y en consecuencia el cultivo está limitado por la radiación solar, y las paredes no protegidas absorben cantidades considerables de calor, lo cual puede provocar un sobrecalentamiento del cultivo.

Figura 3.9 Pequeño biorreactor experimental hecho con tabique, mostrando un pobre diseño con una altura desproporcionada de las paredes y con un tamaño de paleta no adecuado.



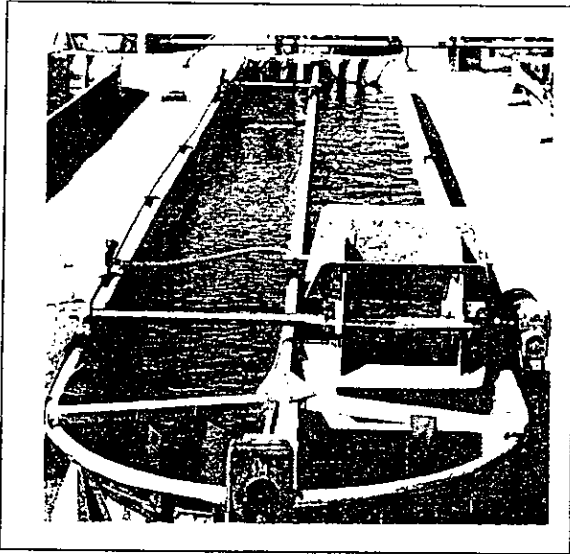
La pared del biorreactor mostrada en la figura 3.10, consiste de partes prefabricadas en forma de triángulo con una longitud de 5 m de largo las cuales están elaboradas de poliuretano cubierto con una hoja delgada de plástico que es resistente a los rayos UV. Las partes se ensamblan y sellan con tiras de material plástico pegadas al final de la unión realizada. Este concepto ofrece la posibilidad de variar la longitud y ancho del biorreactor añadiendo o removiendo partes de la pared, la cual puede ser cortada fácilmente con una navaja u otra herramienta, el fondo está hecho de hileras de hojas de plástico.

Figura 3.10 Biorreactor hecho de hojas de PVC, selladas sobre bloque de poliuretano.



La construcción del biorreactor dado en la figura 3.11, está elaborada directamente de tubos metálicos con una pulgada de diámetro unidos todos entre sí y apoyándose en soportes metálicos, como puede observarse a los lados del biorreactor. El lineamiento del plástico se refuerza con nilón, este lineamiento debe hacerse sobre la base de las medidas del biorreactor.

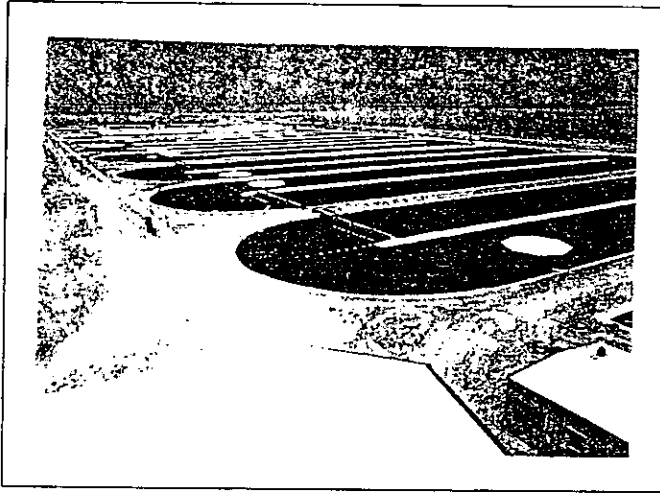
Figura 3.11 Biorreactor algal de 11 m² hecho de PVC cubierto con nilón, sobre una estructura metálica.



Los pequeños biorreactores se pueden fabricar sin dificultades. Sin embargo, cuando se quieren construir grandes biorreactores se deben tener en cuenta varios factores, de los cuales uno de los importantes es el rompimiento del concreto en la parte inferior del biorreactor, para evitar tal situación se recomienda reforzar el fondo con rejillas de hierro.

Probablemente el biorreactor más grande elaborado con lineamiento de plástico se encuentra en California. La figura 3.12, muestra parte de la unidad de producción de *Spirulina* de la compañía Earthrise, la cual consiste de 10 biorreactores de 5000 metros cuadrados cada uno. La profundidad de los biorreactores varía de 30 a 40 cm.

Figura 3.12 Sobrevista de una serie de biorreactores tipo canal (raceway) área total de 100 000 m² en el sur de California (USA) hechos de hojas de plástico.

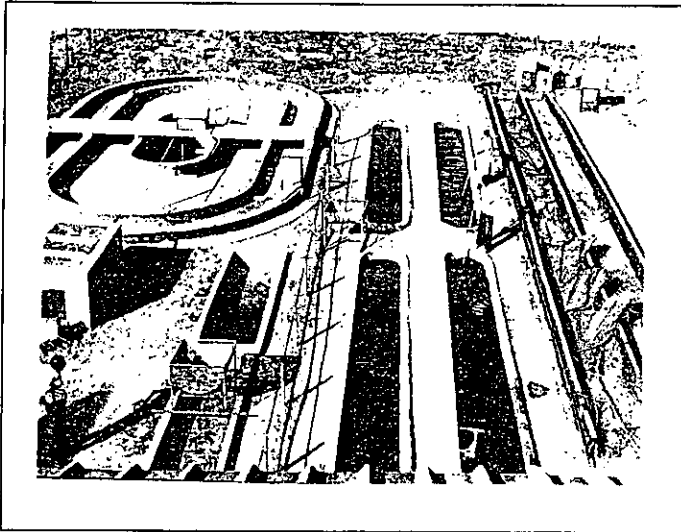


El cemento y los ladrillos pueden causar algunas dificultades si entran en contacto con el medio de cultivo, ya que existe la posibilidad de que el calcio u otros minerales se desprendan del material de construcción, lo que puede acumularse por la biomasa algal, estos problemas se presentan frecuentemente en los países que están en vías de desarrollo, no así en las potencias, ya que estas emplean materiales de mejor calidad.

El biorreactor de forma elíptica con una área total de 95 metros cuadrados (12000 L) se construyó con la intención de cosechar la biomasa algal por floculación, este biorreactor se muestra en la figura 3.13, el biorreactor está dividido en cuatro partes: un hoyo central, una sección de almacenamiento central, una sección de recirculación tanto interna como externa. Cada parte está separada por una pared de 30 cm de longitud con varios agujeros que pueden taparse. La parte interna está provista para recolectar una cierta cantidad del medio, la cual se bombea a través de un tubo desde ahí hasta la parte externa. La sección de almacenamiento puede usarse para retener el volumen total, si es

necesario, y también para colectar la nata del medio para cosecharla posteriormente por medio de floculación o sedimentación. El nivel del suelo de la tercera sección tiene una inclinación gradual. Esto se hace para remover la nata abriendo los agujeros situados a una cierta altura en las paredes de separación después de establecerse el cultivo. Una bomba reparte el medio a través de una tubería de descarga desde la parte más interna hacia la más externa, desde donde la suspensión regresa por gravedad en una capa muy delgada. El flujo de velocidad puede regularse por el número de agujeros abiertos o cerrados en las paredes internas.

Figura 3.13 Diferentes biorreactores hechos de tabique y cemento para cultivar *Spirulina*.

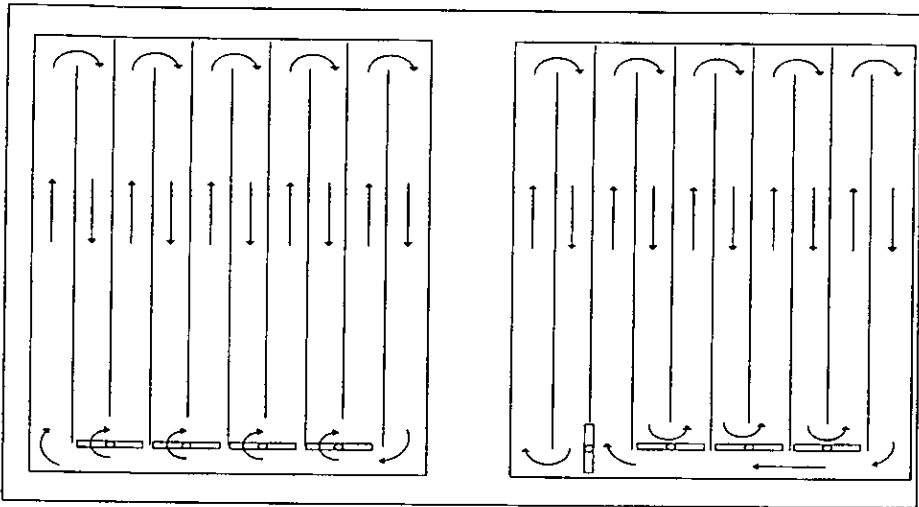


Como se mencionó anteriormente bajo ciertas circunstancias, los biorreactores cerrados pueden ofrecer ventajas comparándolos con los biorreactores que están al aire libre. La mayor ventaja es la extensión de la temporada de cultivo en áreas donde la temperatura no se puede controlar, también el medio está libre de contaminación. Pero en las mayores desventajas es el sobrecalentamiento de estos biorreactores durante los días más calurosos del verano, este problema se puede

solucionar mediante la construcción de equipo adicional, al hacer esto se tendría que gastar más en la construcción del biorreactor.

Para la producción de biomasa algal que no está destinada para consumo humano, puede cultivarse en sistemas que no requieren de mucha esterilización, o en biorreactores que tienen una construcción muy sencilla. Tales unidades, se construyen para el tratamiento de aguas residuales, al realizar tales construcciones se debe tener mucho cuidado con el manejo de los materiales, tal es el caso de materiales que contienen asbestos, porque las fibras de asbesto se han clasificados potencialmente cancerígenas. Este problema se puede evitar si se hace un recubrimiento de las paredes del biorreactor por medio de una capa de plástico. Una modificación de la unión de los canales del biorreactor sugerido por (Märkl & Mather, 1985) que permite la repartición de una unidad grande dentro de varias unidades más pequeñas que pueden operarse individualmente. El sistema requiere de paredes que puedan girar sobre su propio eje al final de los lados más pequeños de los canales separados, este sistema se muestra en la figura 3.14.

Figura 3.14 Diseño que contiene paredes que giran sobre su propio eje, elaborado por Märkl & Matern (1985).

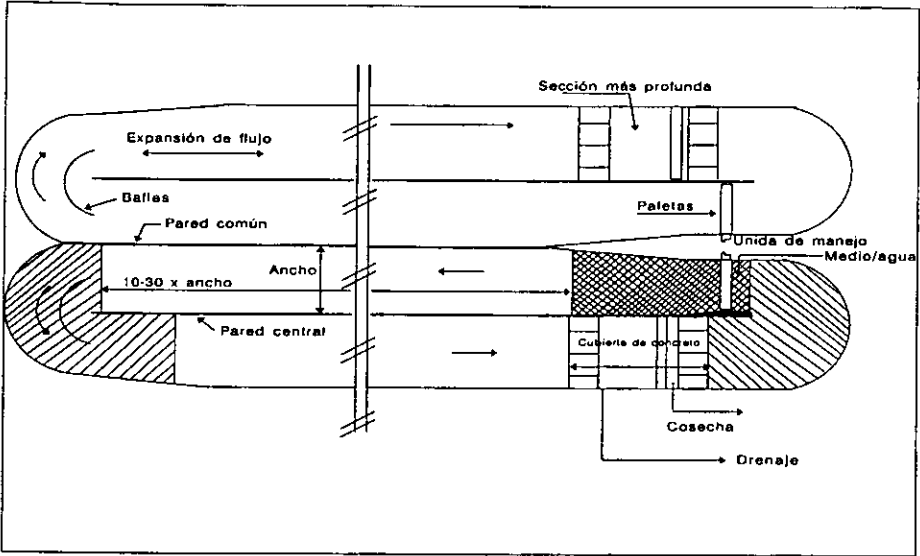


Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

Este diseño contiene mecanismos de agitación adicionales. La construcción es especialmente útil para operaciones de escalamiento, donde el cultivo fresco puede empezar en la unidad más pequeña, la cual puede alargarse paso a paso abriendo canales adicionales según el incremento de la biomasa algal (Becker, 1994).

La figura 3.15, muestra el diseño de un biorreactor en forma oblonga tipo (raceway) que incluye la configuración óptima para su uso.

Figura 3.15 Diagrama esquemático de un diseño óptimo de un biorreactor tipo canal (raceway).



Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

III.6 BIORREACTORES INCLINADOS

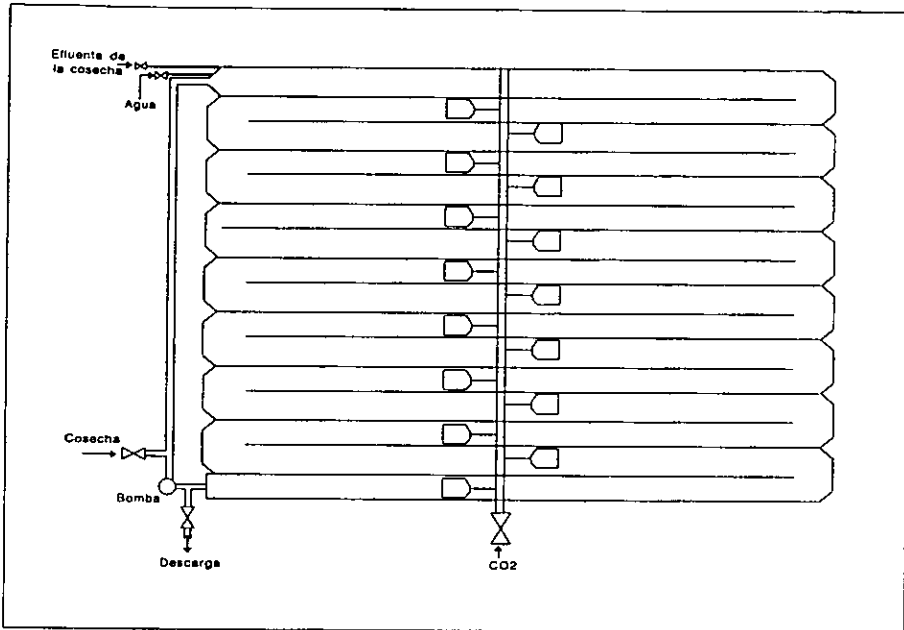
El principio del diseño de un biorreactor inclinado es crear un flujo turbulento mientras la suspensión algal pasa a través de canales o superficies inclinados. Una bomba regresa el medio algal desde el punto más bajo hasta el más alto del biorreactor. La turbulencia se produce por la gravedad, según la velocidad de flujo del líquido dado por el canal o la superficie inclinada. La mayor ventaja de este diseño es el hecho que, una sola bomba realiza una velocidad de flujo y presión baja, y no hay mecanismos de agitación como paletas o un impulsor que sean necesarios para producir la agitación del medio.

El concepto empleado para las unidades de cultivo en un biorreactor inclinado en lugares abiertos se estableció durante los sesentas en Trebon (Checoslovaquia). En las primeras unidades de cultivo, el flujo superficial

descendente se estableció con paletas hechas de poliéster de resina reforzada apiladas una sobre otra, para formar una cascada de saltos hidráulicos. El cultivo se recirculó continuamente hacia al punto más alto por medio de bombeo, así que la cascada hecha por la gravedad se conforma esencialmente de una capa delgada de líquido. La mayor desventaja de esta construcción fue que el movimiento en las paletas no fue bastante vigoroso para prevenir completamente la sedimentación del cultivo. La alta inclinación necesita relativamente una cantidad considerable de energía para el bombeo y la aireación creado por el arrastre del cultivo causa altas velocidades de desorción de la suspensión. En consecuencia el diseño fue modificado a fin de establecer un flujo uniforme de una capa relativamente delgada de la suspensión. Fueron construidas dos unidades de 50 metros cuadrados y una de 900 metros cuadrados, en los cuales la suspensión fluye sobre una superficie plana ligeramente inclinada (3%) hecho de hojas de vidrio, ajustadas con baffles transversales los cuales crearon la turbulencia necesaria. Un carácter específico de este diseño fue la diferencia del modo de operación que se hizo en el día como en la noche. La suspensión se mantuvo en circulación sólo durante aquellas horas del día cuando hubo suficiente radiación solar. Durante las siguientes horas la suspensión se mantuvo en un tanque de almacenamiento donde se lleva a cabo la aereación y mezclado del cultivo.

Una versión modificada del principio de biorreactores inclinados se construyó en Perú, (Heussler 1985). Esta unidad representa un canal (raceway) abierto, consistiendo de un canal inclinado, adaptado por un gradiente de terreno por laberintos (Becker, 1994). Este biorreactor se muestra en la figura 3.16.

Figura 3.16 Diseño de un biorreactor inclinado tipo laberinto (meander) en Sausal (Perú)



Fuente: Becker E.W. Microalgae Biotechnology and Microbiology (1994)

Similar a los otros sistemas descritos anteriormente, La suspensión algal se bombea desde el punto más bajo hacia el más alto, desde donde regresa como una película delgada. La planta consiste de un biorreactor de 500 metros cuadrados y dos de 1000 metros cuadrados, Los canales se construyeron por segmentos de concreto de 5.5 m de longitud y 0.1 m de espesor, enlazados y sellados con grapas de plástico. El afluente de la cosecha retorna hacia la entrada así que la velocidad de flujo en el biorreactor no se altera durante el cultivo.

Un problema común que se encontró con todos los tipos de biorreactores construidos de concreto también se observó en esta construcción. Aunque los canales se plastificaron lo más delicado posible, una gruesa costra se desarrolló sobre la superficie, compuesta principalmente de limo, precipitado del medio, diatomeas y algas filamentosas e infecciones mediante parásitos. Para sobrellevar

estas dificultades, todas las superficies en contacto con la suspensión algal tuvieron que pintarse con pintura epóxica. La operación óptima de un biorreactor inclinado depende del ajuste de la capacidad de bombeo hacia la velocidad de flujo del medio en el canal; sin embargo, la eficiencia del sistema no se afecta seriamente por las desviaciones del balance hidrodinámico.

En el caso de un incremento de la velocidad del flujo en el canal que exceda la capacidad de bombeo, una inundación de la suspensión ocurrirá en la parte más baja del biorreactor. A fin de evitar la pérdida de suspensión debido a estos inbalances o fallas de las bombas, el margen más bajo del biorreactor tiene que ser elevado suficientemente para retener el volumen entero del biorreactor.

Se obtuvieron rendimientos máximos de $40 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, el porcentaje diario de las velocidades de crecimiento fue de 22 g m^{-2} durante una operación semi-continua de la planta.

Datos obtenidos de la literatura indican que se obtienen rendimientos mayores utilizando biorreactores inclinados, es por ello que es muy importante saber si tales datos son fidedignos. En consecuencia se realizó una investigación enfocada a conocer cuales rendimientos son los adecuados tanto para los biorreactores inclinados como los horizontales. La investigación se llevó a cabo en Florencia (Italia) en dos superficies inclinadas y en dos biorreactores tipo canal (raceway) equipadas con paletas para realizar la agitación. Todos los parámetros de cultivo (CO_2 , iluminación, densidad de cultivo) se mantuvieron lo más similar a los dos tipos de biorreactores. La alga usada fue *Scenedesmus obliquus*.

Se encontraron diferencias en el desempeño de los dos tipos de biorreactores. La productividad de los biorreactores horizontales fue más baja que la productividad de los biorreactores inclinados. Los mejores rendimientos de los biorreactores inclinados parecen ser un resultado de las temperaturas más altas causadas por la transferencia de calor de la circulación provocada por el bombeo que se realiza

hacia el medio. Estas diferencias de temperaturas fueron más pronunciadas en las horas matutinas.

En consecuencia, no hay conclusiones finales que puedan decir cual sistema es la mas adecuado, parece que los diferentes regímenes térmicos de los dos sistemas pueden ser el único factor responsable para las diferencias observadas (Becker, 1994).

III.7 MATERIALES DE CONSTRUCCION

Uno de los factores más importantes que determinan el desempeño y durabilidad del biorreactor es el material que se va usar en la construcción del fondo y paredes de este, y el tipo de recubrimiento. La selección específica depende de varios factores como son: el propósito de la producción algal, condiciones climáticas, disponibilidad del material y equipamiento de la instalación.

Los materiales usados para el levantamiento de las paredes del biorreactor van desde simple arena, hasta tabiques o cemento, aunque también se emplean materiales más caros como plásticos resistentes a los rayos UV, PVC, fibra de vidrio o poliuretano. En muchos casos el material empleado para la construcción del fondo del biorreactor es idéntico al usado en las paredes. Sin embargo hay biorreactores donde el fondo y paredes se construyen de diferentes materiales.

El recubrimiento en un biorreactor es muy importante, porque esta parte es la que esta en contacto permanente con el medio y determina el grado de erosión y turbidez del material, también puede afectar la composición química y calidad de la biomasa algal. En general hay dos tipos de recubrimiento, el membranoso y no membranoso.

En nuestros días muchos sistemas de producción de microalgas utilizan membranas de plástico. Estas membranas incluyen varios tipos de plásticos y

hojas de caucho o goma que a menudo son usados en la agricultura, para recubrir albercas, reservas de agua y sitios de distribución de agua. El material usado para construir biorreactores debe de ser durable y uniforme, debe prevenir la pérdida del medio y evitar la formación de lodo durante la agitación, ser resistente a químicos y a los rayos UV, ser duro pero elástico a varias temperaturas, no tóxico y fácil de juntar y sellar.

La utilización de grandes hojas de plástico para construir un biorreactor, requiere de experiencia ya que frecuentemente se observan grandes burbujas de gas en el fondo del plástico recubierto del biorreactor, esto se debe a la filtración del cultivo y fermentación de materia orgánica, la cual ocasiona desgarramiento de las hojas de plástico del lineamiento.

En nuestros días, los plásticos hechos de PVC resistentes a los rayos UV o polietileno blanco resistente a los rayos UV, son los materiales más usados para el lineamiento de los biorreactores.

La elección entre un biorreactor linealizado y no linealizado debe basarse tanto en consideraciones técnicas como económicas. Los biorreactores no linealizados pueden sufrir de cortaduras y filtraciones, y la posibilidad de no limpiar adecuadamente cuando haya microorganismos no deseados. Los materiales no membranosos pueden ser tierra o arcilla comprimida, concreto, asfalto o fibra de vidrio reforzado con poliéster.

El concreto ha sido usado durante mucho tiempo en biorreactores algales. Aunque requiere de gran inversión, esta construcción dura demasiado. Sin embargo, para ciertos propósitos, un cemento no tratado no se puede recomendar, caso específico es con la microalga *Dunaliella sp.* El alto contenido salino del medio de cultivo necesita un cuidado especial para la preparación de la superficie interna del biorreactor para evitar el deterioro del concreto y corrosión del metal que pueda estar en contacto con el medio. Como lo reportó (Ben-

Amotz & Avron 1989), dos de los pioneros en el cultivo de *Dunaliella sp.*, el concreto o rocío de este no es recomendado, porque este material gradualmente se integra y empieza a flotar como pequeñas piedras en el cultivo. Por otro lado este material puede ser muy adecuado para otros fines de cultivo.

Todos los materiales tienen sus ventajas y desventajas que afectan el funcionamiento del biorreactor. A menudo, una combinación de diferentes materiales proporcionará la solución más apropiada para satisfacer las diferentes áreas del biorreactor.

CAPÍTULO IV.

ASPECTOS INGENIERILES PARA DISEÑAR UN BIORREACTOR

Este capítulo examinará los aspectos ingenieriles para el diseño de un biorreactor, el cual será de un tamaño suficiente para producir alga en cantidades industriales, para realizar tal acción se debe de considerar los siguientes factores:

- 1) La aplicación específica del producto deseado (alimento, cosmético etc.)
 - (a) Requerimientos del medio (Físico) para cultivar la biomasa, producto o proceso deseado.
 - (b) Varios medios de entrada (materias primas) como una función de calidad y disponibilidad para la reducción de costos.
- 2) Condiciones climáticas locales, incluyendo información referente a la variación de la iluminación, temperatura, precipitación, evaporación, humedad relativa y otros factores.
- 3) Propiedades físicas del diseño: Requerimientos físicos específicos para el cultivo: agitación, profundidad, tiempo de residencia, requerimiento de potencia etc.
- 4) Eficiencia y productividad accesible
- 5) Cosecha y cultivo

Muchos de los factores citados están relacionados de una u otra forma. No obstante que cada una tiene diferente propósito (Oswald, 1988).

IV.1 FACTORES CLIMATICOS

El clima es un factor muy importante en el diseño de un biorreactor, porque es virtualmente imposible controlarlo en un cultivo de gran extensión, por lo tanto es un determinante primario para la factibilidad técnica del diseño. Sin una apropiada temperatura y suficiente luz solar, las aplicaciones económicas del biorreactor no podrán ocurrir. La iluminación artificial y el calentamiento a gran escala sólo se pueden llevar a cabo en donde el producto deseado tenga un rendimiento, calidad y cantidad superior a los obtenidos mediante otros métodos ya sean químicos o de otra índole. Aún con agua geotérmica, a causa del costo

de los intercambiadores de calor y cubierta del biorreactor probablemente sería más económico localizar el biorreactor en un sitio donde se pueda contar tanto de luz como de temperatura adecuada durante gran parte del año. Aunque los trópicos pueden ser ideales por la temperatura, el problema es que hay demasiados días nublados durante gran parte del año y tal situación impide tener disponibilidad de luz solar. En este caso la respiración nocturna de la célula a una velocidad proporcional a la temperatura puede ser casi igual a la síntesis de la célula y la producción de biomasa por unidad de área y tiempo se disminuye. Por esta razón la localización ideal para el diseño de un biorreactor se ubicaría en lugares semi-tropicales o desiertos. Donde no halla muchos días nublados, y las noches sean generalmente más frías que los días. Sin embargo en lugares tropicales donde no hay muchos días nublados puede haber gran productividad.

Cada especie de alga tiene una temperatura óptima para su cultivo, algunos ejemplos son los siguientes: 20 °C para *Chlorella sp.*, 30 °C para *Spirulina sp.* y 32 °C para *Dunaliella sp.*

Una dificultad con el cultivo de algas en zonas desérticas es la alta velocidad de evaporación de superficies al aire libre. Esto puede plantear un problema desde del punta de vista del incremento de la concentración de sales, como el de tener un suministro de agua apropiado para contrarrestar la evaporación. Por esta razón cualquier sitio que se seleccione, debe tener una fuente abundante de agua y un sitio donde el agua salina pueda depositarse sin causar un problema de contaminación. Una fuente de agua destilada usando energía solar sería de gran utilidad pero esta a su vez sería muy costosa. En áreas tropicales húmedas, pueden tener excesos de lluvias causando una severa dilución del cultivo. Este problema se demuestra fácilmente, la profundidad del biorreactor raramente sobrepasa los 30 cm y en 24 hr de lluvia en zonas tropicales se pueden tener 20 cm o más de lluvia, este hecho ocasionaría una severa dilucion y pérdida de nutrientes. En áreas donde tales inundaciones pueden ocurrir, los biorreactores

deben equiparse con vertederos de sobreflujo para proteger el equipo y evitar roturas o derrumbamientos en el biorreactor. También en tales áreas se puede contar con un equipo de bombeo para almacenar todo el cultivo, antes de aproximarse una tormenta, tal acción justificaría económicamente la cantidad de cultivo salvado.

La humedad relativa es muy importante ya que, donde la humedad es baja, las velocidades de evaporación son altas, particularmente durante períodos de viento. Donde la humedad es alta y hay poco o nada de viento, y la luz solar es abundante, el agua en cultivos poco profundos de 10 a 20 cm, puede tener un sobrecalentamiento hasta de 40 °C cada día, lo que sería fatal para el cultivo. Es por ello que el sitio elegido debe de tener humedad relativa promedio de 50 a 60 % durante gran época del año.

El viento es un factor importante en la elección del sitio, porque la superficie mezclada, enfriamiento y evaporación se benefician por viento leve. Por otro lado, fuertes vientos pueden romper o dañar el estanque y estos a su vez introducirían probablemente materiales extraños, tal como insectos, polen y pequeñas yerbas que pueden interferir en la absorción de luz y pueden contaminar el cultivo, beneficiando la formación de algas y bacterias no deseadas, el problema con las hojas es que estas no permitirían una agitación adecuada para el cultivo.

La energía solar disponible como una función de la latitud y del mes se muestra en la tabla 4.1. Esta tabla debe ser vista como un aproximado de luz solar, pero no es sustituto de valores locales. Por lo tanto estos valores sólo son útiles para diseños teóricos, cuando no hay información disponible (Oswald, 1978)

Tabla 4.1 radiación solar: valores promedio probables de radiación total sobre una superficie horizontal a nivel del mar en Langleys por día

| LATITUD | enero | | febrero | | marzo | | abril | | mayo | | junio | | julio | | agosto | | septiembre | | octubre | | noviembre | | diciembre | |
|---------|-------|-----|---------|-----|-------|-----|-------|-----|------|-----|-------|-----|-------|-----|--------|-----|------------|-----|---------|-----|-----------|-----|-----------|-----|
| | MAX | MIN | MAX | MIN | MAX | MIN | MAX | MIN | MAX | MIN | MAX | MIN | MAX | MIN | MAX | MIN | MAX | MIN | MAX | MIN | MAX | MIN | MAX | MIN |
| N 40° | 280 | 105 | 390 | 180 | 500 | 270 | 630 | 355 | 732 | 415 | 778 | 450 | 765 | 455 | 680 | 416 | 562 | 310 | 430 | 202 | 313 | 134 | 270 | 94 |
| N 30° | 400 | 220 | 490 | 260 | 587 | 362 | 675 | 405 | 744 | 490 | 768 | 425 | 759 | 469 | 702 | 462 | 625 | 399 | 524 | 290 | 420 | 256 | 380 | 210 |
| N 20° | 500 | 360 | 575 | 390 | 652 | 440 | 703 | 447 | 730 | 532 | 738 | 383 | 729 | 450 | 706 | 472 | 674 | 467 | 596 | 400 | 540 | 370 | 480 | 320 |
| N 10° | 595 | 475 | 655 | 490 | 694 | 573 | 711 | 464 | 694 | 512 | 688 | 330 | 690 | 414 | 693 | 460 | 693 | 510 | 650 | 474 | 600 | 472 | 570 | 420 |
| 0° | 685 | 580 | 700 | 583 | 708 | 536 | 690 | 462 | 645 | 480 | 626 | 274 | 630 | 368 | 666 | 432 | 690 | 533 | 694 | 530 | 683 | 543 | 667 | 527 |
| S 10° | 743 | 446 | 734 | 487 | 707 | 520 | 636 | 464 | 573 | 451 | 521 | 389 | 556 | 444 | 618 | 462 | 679 | 561 | 725 | 473 | 726 | 598 | 742 | 356 |
| S 20° | 785 | 485 | 747 | 500 | 688 | 476 | 583 | 392 | 497 | 353 | 444 | 296 | 467 | 336 | 543 | 368 | 638 | 431 | 718 | 456 | 764 | 557 | 796 | 413 |
| S 30° | 818 | 505 | 743 | 489 | 638 | 407 | 513 | 284 | 401 | 244 | 352 | 195 | 374 | 206 | 462 | 245 | 575 | 354 | 689 | 413 | 779 | 513 | 829 | 459 |
| S 40° | 824 | 490 | 720 | 440 | 573 | 316 | 421 | 198 | 298 | 128 | 250 | 87 | 261 | 98 | 368 | 151 | 489 | 264 | 643 | 362 | 766 | 434 | 839 | 485 |

Hemisferio norte: calculados de datos publicados de US Weather Bureau

Hemisferio sur: basados sobre los datos del hemisferio norte corregidos por una constante (solar)

1 langley = 1 g-cal cm

Correcciones: por elevación $TOY(1+0.0185E)$ donde E, esta en miles de pies. Para días nublados $MIN((MAX-MIN)CI)$

Fuente: M.A. Borowitzka, Microalgae Biotechnology, 1988

IV.2 SISTEMAS DE CARBONATACION

La pregunta de cómo suministrar CO_2 a cultivo de algas es una consideración clave para el diseño de un biorreactor. Deben considerarse tres factores cuando se discute la transferencia de CO_2 hacia el biorreactor: el régimen de mezclado, la concentración de CO_2 en el biorreactor (dependiendo del pH y la alcalinidad), y el efecto causado por la reacción de disolver CO_2 con OH^- para producir bicarbonato.

Varias técnicas se han desarrollado para distribuir el bióxido de carbono hacia el medio de cultivo. Principalmente, dos técnicas se han distinguido por cumplir una utilización eficiente del bióxido de carbono hacia el alga.

- a) Transferencia activa de gas a través de pequeñas burbujas hacia el medio o rociar el líquido a través de la fase gas;
- b) Transferencia pasiva por medio de mantener contacto durante un tiempo prolongado entre una atmósfera de CO_2 y la superficie del medio de cultivo.

El balance total de carbonatos en un cultivo de algas está determinado por el flujo a través del sistema de suministro, el carbonato mezclado durante la fotosíntesis por la alga como carbón orgánico, y la pérdida por desorción a través de la interfase entre la suspensión de la alga y el aire. La fijación de carbonato vía fotosíntesis depende de las condiciones de crecimiento de la alga (iluminación, pH, temperatura, nutrientes, etc.) y se expresa por el incremento de la biomasa. Si el bióxido de carbono se añade como gas puro al medio, el transporte de CO_2 de la fase gas a la célula del alga puede expresarse por la fórmula empírica según (Märkl & Mather, 1985):

$$\dot{n}_{\text{CO}_2} = \beta_1 \times A (C_{\text{CO}_2 \text{ burbuja}} - C_{\text{CO}_2 \text{ célula}}) \quad (4.1)$$

Donde A es el área de contacto gas-líquido y β_L el coeficiente de transporte. El subíndice L indica que la resistencia al lado del líquido de la interface gas-líquido esta controlando el transporte. Este comportamiento es similar para otros gases, normalmente oxígeno o nitrógeno, así que β_L tiene el mismo valor para todos los gases. La concentración al lado del gas puede definirse por:

$$C_{\text{CO}_2\text{burbuja}} = P_{\text{CO}_2\text{burbuja}} / H \times 55.56 \text{ mol}^{-1} \quad (4.2)$$

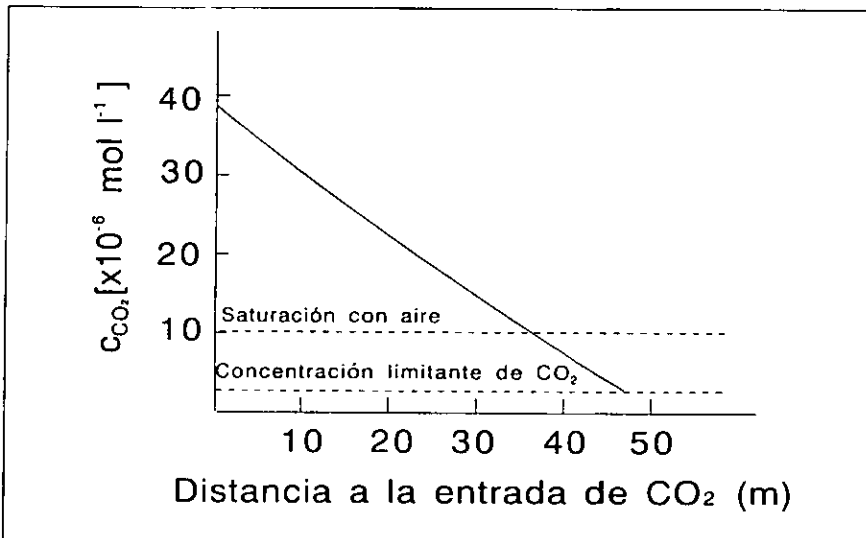
Donde H es el coeficiente de Henry (para $\text{CO}_2 = 1.64 \times 10^{-3}$, $\text{O}_2 = 4.38 \times 10^{-4}$ y $\text{N}_2 = 8.65 \times 10^{-4}$ bar).

A partir de estas consideraciones se puede ver que para una presión parcial dada, la transferencia de masa para O_2 es más pequeña que para el CO_2 . El factor $C_{\text{CO}_2\text{ célula}}$ indica la concentración de CO_2 muy cerca de la célula de la alga. Este es el verdadero valor que determina la eficiencia fotosintética y no la presión parcial P_{CO_2} en el gas esparcido.

Se ha calculado que a una concentración baja de CO_2 , de $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (30 p.p.m.), es suficiente para mantener una fotosíntesis no limitada de la alga. Por otro lado, experimentos con diferentes concentraciones de O_2 en el medio han mostrado que la eficiencia fotosintética aumenta en un 14% si el O_2 no está presente en el medio, pero se reduce a un 35% cuando el medio está saturado con 100% de O_2 . En sistemas al aire libre se debe de mantener una concentración de O_2 no más alta que la concentración de saturación con aire al 21%. Con unidades a gran escala es casi inevitable que la concentración de CO_2 sea uniforme en todos los puntos del biorreactor. Asumiendo que el CO_2 se introduce hacia el biorreactor en un solo punto, cierta concentración se establece en corto tiempo después de este punto. Como el medio se mueve alrededor del biorreactor pierde CO_2 a causa de la fijación de la alga y por la pérdida por temperatura. En un sistema bien balanceado la concentración de CO_2 en el medio después de alcanzar el punto de aereación no debe ser más bajo que la

concentración crítica de CO₂ necesaria para no limitar la fotosíntesis. Si, por otro lado, la concentración de CO₂ se mantiene a concentraciones excesivamente altas, ocurrirían pérdidas de CO₂ al aire. La correlación inicial entre la concentración de CO₂, la distancia entre las áreas de aereación y la fijación de CO₂ por la alga se muestra en la gráfica 4.1 para un biorreactor experimental (profundidad de cultivo = 15 cm, velocidad de mezclado = 30 cm s⁻¹) con un crecimiento de 30 g m⁻² d⁻¹. Se puede ver que a una concentración inicial de 40x10⁻⁶ mol L⁻¹ la concentración mínima crítica se alcanza después de 45 m. Para simplificar, se menosprecia la transformación de CO₂ a carbonato, lo cual es correcto a valores de pH más bajos de 5.3. A pH de 6.3 el carbonato es equivalente al CO₂. En el caso de valores de pH mayores, el CO₂ se almacena completamente en la forma de carbonato (Becker, 1994).

Gráfica 4.1. Concentración de CO₂ a diferentes profundidades de un biorreactor en relación con la distancia de entrada del CO₂.



Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

IV.3 SISTEMAS DE AEREACION

La forma más simple para introducir gas hacia un líquido es por burbujas. En cultivos de algas a nivel laboratorio, es común aerear el medio ya sea con CO_2 puro o con mezclas de CO_2 y aire comprimido. Durante las etapas iniciales del cultivo de algas al aire libre, se emplearon los mismos conceptos de aereación. Por lo tanto, se usaron tubos o piedras porosas comúnmente usados en los acuarios, solo que se adaptaron para la distribución de burbujas finas de gas hacia el medio de cultivo, como se muestra en la figura 4.1 A. Un método similar con una mejor eficiencia puede usarse en conexión con un sistema de agitación air-lift. Si el CO_2 se inyecta en la parte inferior de la suspensión, en la sección de bombeo, el tiempo de retención del gas en el cultivo puede aumentar. Desafortunadamente, todos estos métodos tienen desventajas. Los biorreactores poco profundos tienen grandes pérdidas de CO_2 hacia la atmósfera a causa del corto tiempo de retención de las burbujas de gas en la suspensión, lo que no permite la completa absorción del CO_2 . Se encontró que bajo condiciones de trabajo fue difícil completar una utilización de más del 10% del CO_2 suministrado. Además, hay varios problemas técnicos en montar conductos, tubos etc. En el fondo del biorreactor, el material poroso usado para distribuir el gas hacia el medio tiende a taparse por la misma alga, por ello se necesitaría un mantenimiento excesivo.

Una modificación del sistema para introducir el gas fue la introducción de largos tubos de PVC (conectados) que se colocaron longitudinalmente en el fondo del biorreactor. Una línea de agujeros finos se taladraron hacia la parte superior de los tubos para que el gas pudiera distribuirse sobre partes más largas del biorreactor, asegurando una mejor eficiencia de la utilización de CO_2 . Sin embargo, también se pierden cantidades apreciables de CO_2 hacia la atmósfera con este método. Estas pérdidas se pueden reducir con la instalación de hojas de plástico delgado montadas 5 cm debajo de la línea de agua y por encima de la tubería en todo el trayecto del biorreactor, como se muestra en la figura 4.1 B.

Las burbujas pequeñas de aire, inyectadas a través del tubo hacia el cultivo, quedaron atrapadas bajo estas hojas en la forma de grandes burbujas de aire, las cuales se mueven lentamente a lo largo del cultivo. Este efecto incrementa el tiempo de contacto entre el CO_2 gaseoso y la suspensión, resultando una mejor utilización de CO_2 . Para maximizar la transferencia, se puede añadir turbulencia al líquido ya sea abajo o al lado de la cubierta. Para maximizar el desprendimiento de oxígeno bajo la cubierta, un área de turbulencia puede ser una distancia apropiada para facilitar tal acción.

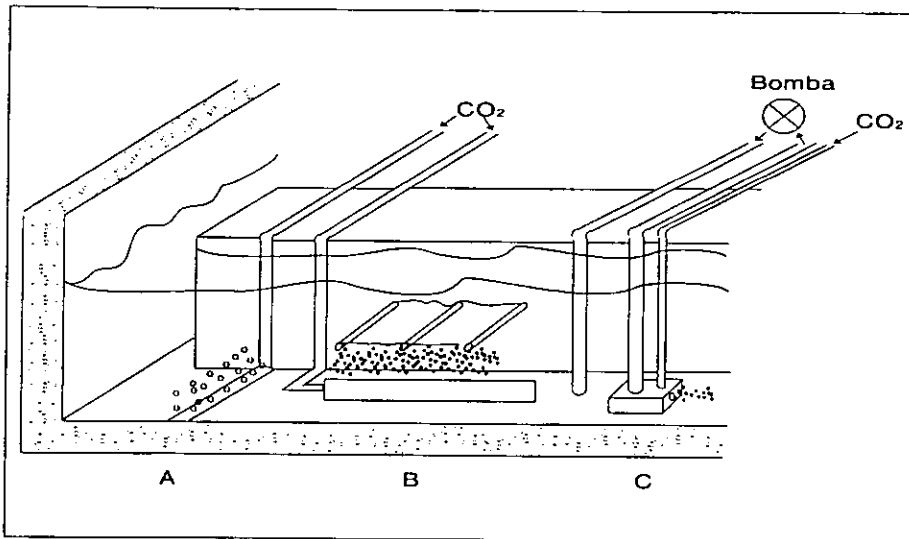
No hay una figura exacta que pueda dar una área total para cubrir tal sistema de transferencia que pueda cumplir una utilización máxima de CO_2 , porque sólo están disponibles datos experimentales que varían dentro de un orden de magnitud. Se espera que la transferencia de CO_2 pueda cumplir dentro de 0.5-5% del área superficial total. A pesar de tales instalaciones, todavía se pierden cantidades considerables de CO_2 en las hojas de plástico donde el gas no absorbido escapa hacia la atmósfera.

Con este método es importante que la hoja de plástico esté sumergida y mezclada debajo de la superficie de la suspensión. La hoja sumergida debe cubrir la extensión completa del canal de el biorreactor, asegurando que las burbujas de CO_2 no escapen por permanecer en contacto con el medio por un período extenso. Además, si partes de la hoja de plástico ascienden por encima de la superficie del agua, ocurrirá un efecto invernadero. El medio se calentaría hasta la evaporación y subsecuentemente se condensaría en el fondo de la hoja en la forma de pequeñas gotas de agua que actuarían como un espejo y reflejaría la luz, de esta manera reduciría la intensidad de radiación en el cultivo.

Una futura posibilidad para suministrar CO_2 al cultivo de algas, es utilizando una combinación de aereación con agitación. Ya se ha mencionado que el cultivo de algas puede agitarse empleando diferentes métodos de bombeo, uno de estos sistemas es un tipo de inyector en el cual la suspensión algal se

bomba con presión a través de una boquilla. Con este método, el CO_2 puede añadirse en una cámara especial donde puede establecerse alta turbulencia y una buena velocidad de transferencia de CO_2 , esto se puede apreciar en la figura 4.1 C.

Figura. 4.1. Diferentes sistemas para suministrar CO_2 en biorreactores A. Piedra porosa; B. tubería porosa tapada con hojas de plástico, las cuales no dejan escapar las burbujas de CO_2 lo que incrementa el tiempo de contacto entre el gas y el agua; C. Bomba de presión que inyecta una mezcla de aire y CO_2 a alta velocidad, la cual sirve para aerear y mezclar el volumen del biorreactor.



Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

Para mejorar las velocidades de crecimiento dos tipos de inyectores se deben usar simultáneamente en un biorreactor. Con un inyector, el CO_2 se introduce hacia el cultivo por lo cual el otro succiona aire hacia una cámara de turbulencia. Este tipo de problema produce un incremento en el área de contacto

gas-líquido para un mejor intercambio de O_2 , lo cual ayuda evitar una sobresaturación del cultivo con oxígeno producido fotosintéticamente.

Para cultivos a gran escala, se han desarrollado biorreactores inclinados utilizando la fuerza de gravedad donde la suspensión se bombea a través de los tubos desde la parte más baja del biorreactor hasta la parte superior. Si el CO_2 es bombeado desde la parte más baja del tubo, el gas quedará atrapado y fluirá junto con la suspensión a través de la longitud total del tubo, resultando un extenso tiempo de contacto entre el alga y el CO_2 . El método de burbujeo puede mejorarse posteriormente si la suspensión algal se enriquece con CO_2 en una columna cerrada, absorbedores de gases conteniendo un desviador se utilizaron, primero en Checoslovaquia.

Por inyección del CO_2 a través de tubos porosos hacia el biorreactor y por la instalación de hojas de plástico debajo de la superficie, la cantidad de gas necesaria para obtener una velocidad de crecimiento satisfactoria está en el rango de $10-20 \text{ ml h}^{-1} \text{ L}^{-1}$ de medio de cultivo. Al suministrar continuamente CO_2 durante 8 horas al día de las 9 a.m. a 5 p.m., se añade más gas del que se puede utilizar durante este tiempo. Ya que el pH del medio es proporcional a la cantidad de CO_2 disuelto, mecanismos de monitoreo pueden usarse para mantener el pH a un valor constante por la inyección de cantidades controladas de CO_2 hacia el medio. Si la velocidad de flujo de gas se mantiene constante y si se conecta un solenoide para registrar el tiempo y la cantidad de gas inyectado hacia el cultivo, puede calcularse la cantidad de gas suministrado de la mañana a la noche.

Experimentos muestran que el número de veces que se tiene que abrir la válvula para mantener un pH de 7.6 incrementa durante el transcurso del día y alcanza su máximo al comenzar las primeras horas de la tarde entre el mediodía y 4 p.m.. Se observó que en cultivos de 5 días bajo las condiciones antes citadas, el CO_2 se añadió durante un período total de sólo 4 horas al día. No hay

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

diferencias de crecimiento entre estos cultivos y en cultivos donde se suministró continuamente CO_2 durante 8 horas al día. Como es muy costoso equipar un biorreactor con tal mecanismo para controlar el pH, se recomienda un método simple que ayuda a minimizar la pérdida de CO_2 . Basado en la experiencia antes citada que el CO_2 suministrado durante 4 horas al día son suficientes para mantener un buen crecimiento del alga, el gas puede suministrarse en intervalos de cada hora hacia el cultivo. En un experimento llevado a cabo con *Scenedesmus* no se encontró diferencia substancial entre el suministro continuo y este procedimiento, el cual ahorra 50% de CO_2 . Por supuesto, este procedimiento puede mejorarse con el incremento de períodos cortos de suministro de gas, el cual se puede adaptar mejor a las horas pico de la fotosíntesis y requerimientos del CO_2 , determinado por las condiciones particulares del ambiente y régimen del cultivo.

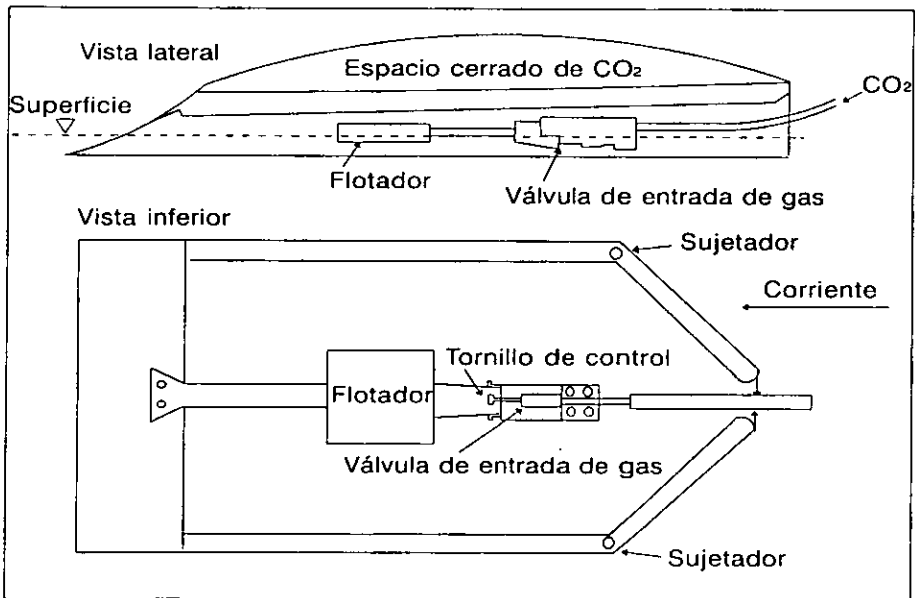
Resumiendo las eficiencias de todas las técnicas usadas para suministrar CO_2 al cultivo algal, se puede establecer que su desempeño todavía no es satisfactorio porque todas fallan al ajustar exactamente la cantidad de CO_2 suministrado a un requerimiento específico del crecimiento de la alga.

Es más eficiente el segundo tipo de aereación, ya que tiene áreas de contacto más prolongadas entre el CO_2 atmosférico y el medio de cultivo.

En nuestros días, esta construcción parece ser el medio más eficiente para suministrar CO_2 a biorreactores poco profundos. Además, la construcción del intercambiador de gas es simple y puede ser hecho con materiales locales, aún en países en vías de desarrollo. El diseño del mecanismo se muestra esquemáticamente en la figura 4.2. Consiste de un compartimiento invertido (abierto en el fondo), hecho preferentemente de tubos de PVC sellados y cubiertos con lámina transparente, la cual flota sobre la superficie a causa de la formación de gas bajo la cubierta. El compartimiento se llena de CO_2 puro sumergiendo el sistema completo (permitiendo al aire salir a través de la

válvula) posteriormente se llena esta a través del sistema de válvula de globo, la cual es una válvula estándar de las que usa hasta un plomero, se montan de tal forma que cuando las burbujas de gas se esparcen, el mecanismo emerge debido a la fluctuación de estas, causando que la válvula se dispare y viceversa. El sistema puede ajustarse (verticalmente y horizontalmente) para determinar la altura de flotación (volumen máximo de gas) y para regular la presión del CO₂ en la manguera de suministro. El perturbador a través de el inyector, produce alta turbulencia en el transcurso de la suspensión algal, que es necesario para transferir eficientemente gas hacia el líquido. A causa de la forma de la parte inferior del inyector, se disminuye la turbulencia a la que sale la suspensión para evitar la pérdida de desorción excesiva a la atmósfera. La instalación de inyectores de flotación en biorreactores inclinados muestran, una superficie de área cubierta por el flotador que omite y no afecta la eficiencia fotosintética del sistema debido a un posible ensombreamiento (Becker, 1994).

Figura. 4.2. Diseño esquemático de un inyector de CO₂



Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

El flujo de bióxido de carbono a través de la interfase gas-líquido, ya sea del flujo del inyector de flotación o del de desorción a la atmósfera, puede describirse con la siguiente ecuación:

$$Q = kA(C_s - C_d) \quad (4.3)$$

Donde

Q = Flujo de masa del bióxido de carbono (mML^{-1})

K = Coeficiente de transferencia de masa (M min^{-1})

A = Area interfacial (m^2)

C_s = Concentración de saturación de CO_2 disuelto en el líquido en equilibrio con la presión parcial de CO_2 en la fase gaseosa (mML^{-1})

C_d = Concentración instantánea de CO_2 disuelta en el líquido (mML^{-1})

Este flujo se dirige a la zona de concentración más baja de CO_2 . Bajo los inyectores la presión parcial de CO_2 debe ser alto para conseguir un C_s alto y una eficiencia satisfactoria de transferencia de gas por unidad de área. Por otro lado, C_d debe ser bajo para evitar pérdidas excesivas de CO_2 a través de grandes superficies del biorreactor en contacto con la atmósfera con una baja presión parcial. Si el flujo de CO_2 hacia el inyector y la presión parcial en la mezcla gaseosa encerrada se conocen, el coeficiente de transferencia para el área de un inyector dado puede estimarse de la siguiente manera:

$$K_i = Q_i / [A_i(C_{s_i} - C_d) \times 1000] \quad (\text{M min}^{-1}) \quad (4.4)$$

Donde

K_i = Coeficiente de transferencia de masa del inyector (M min^{-1})

A_i = Area del inyector (m^2)

Q_i = Flujo de CO_2 (mM min^{-1})

C_s = Concentración de saturación de CO_2 disuelto en equilibrio con la presión parcial por debajo del inyector (mM L^{-1})

C_d = Concentración real de CO_2 disuelto en la suspensión algal (mM L^{-1})

Según esta ecuación la eficiencia del inyector depende del coeficiente de transferencia de masa y la diferencia entre la concentración de saturación y la concentración real del CO_2 disuelto en la suspensión. Para una eficiencia óptima la diferencia $C_s - C_d$ debe ser la mayor posible, lo cual significa que una concentración alta de CO_2 se debe mantener en la fase gaseosa debajo del inyector. Asumiendo temperaturas de medio de cultivo de entre 25 y 30 °C y concentraciones de saturación del inyector de entre 15 y 25 mM L^{-1} a una concentración máxima de 1.5 mM L^{-1} de CO_2 disuelto, pueden esperarse velocidades de flujo de 70 a 130 $\text{mM de CO}_2 \text{ min}^{-1} \text{ m}^{-2}$ del área del inyector. Eso significa que bajo condiciones prácticas 1 m^2 del área del inyector puede suministrar 1.8-3.4 kg de CO_2 durante 10 horas hacia el biorreactor. Las pérdidas de CO_2 de la superficie del líquido hacia la atmósfera están influenciadas por la concentración de CO_2 disuelto. A las temperaturas dadas anteriormente, la concentración máxima recomendada de 1.5 $\text{mM CO}_2 \text{ L}^{-1}$ causará pérdidas alrededor de 7 $\text{mM min}^{-1} \text{ m}^{-2}$

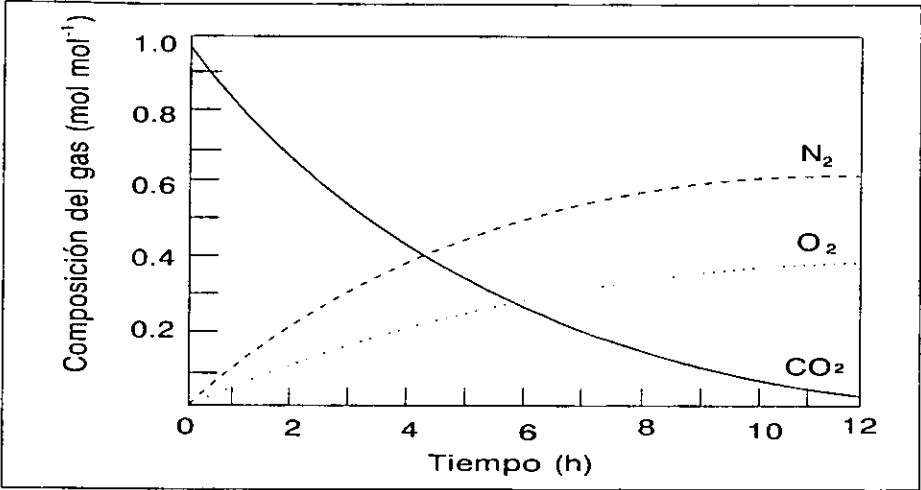
Para una futura valoración en la utilización de CO_2 , las concentraciones de CO_2 disueltas, se monitorearon tanto el pH como el carbonato durante el transcurso del día en un denso, e intensivo crecimiento del cultivo de *Scenedesmus obliquus* en la curva y en la parte inferior del inyector de 1 m^2 , en un biorreactor inclinado o con flotador con una longitud de 100 m. Durante la iluminación máxima, el nivel de carbonato total se redujo cerca de 0.2 mM L^{-1} después de esta distancia y la concentración de CO_2 disuelto a un valor de 50%: el valor del pH incrementa 0.3 unidades. Esto se podría mostrar manteniendo una concentración mínima de CO_2 de 0.2 mM L^{-1} en un cultivo que crece activamente, aún durante las horas de actividad máxima fotosintética. Una parte considerable del área del inyector se requiere para compensar las pérdidas

por desorción; para encontrar la demanda de un cultivo algal con una velocidad de crecimiento de $25 \text{ g d}^{-1} \text{ m}^{-2}$, 1 m^2 del área del inyector puede suministrar de $40\text{-}75 \text{ m}^2$ del área del biorreactor.

Si el suministro de CO_2 se desconecta durante la noche, la concentración total de carbonato aumenta y alcanza una concentración aproximada de 2.0 mM L^{-1} y un pH de 8.2. Se observó que el nivel de carbonato total en la mañana fue mayor que la concentración en la noche, presumiblemente a causa de un aumento durante las primeras horas después del atardecer. Este aumento coincide con el tiempo de división celular en el cultivo algal, y se supuso que durante este período aumenta la actividad respiratoria del alga, de este modo el incremento de carbonato en el biorreactor.

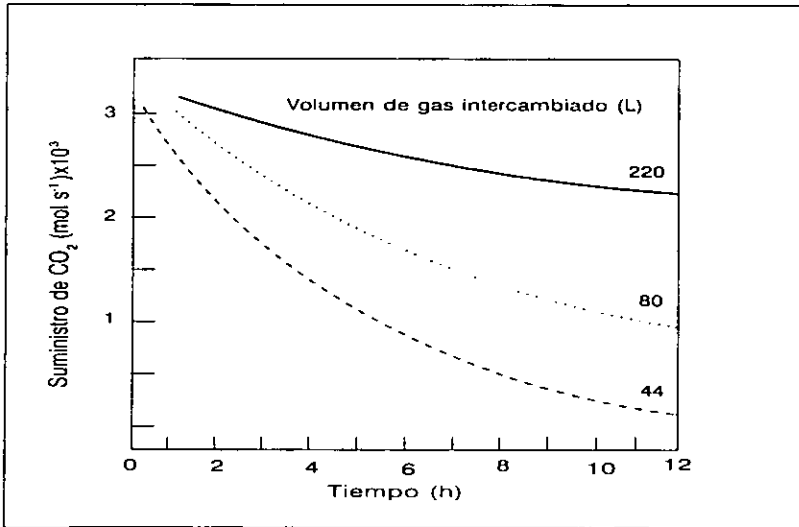
El diseño inicial del inyector de flotación tuvo una desventaja en suministrar el CO_2 en el compartimiento ya que se diluye continuamente con otros gases, especialmente el O_2 producido por la fotosíntesis, y por el nitrógeno de la atmósfera. La gráfica 4.2 muestra el cambio de la composición del gas en el inyector (volumen de 44 L) como una función del tiempo de operación. Se puede ver que la presión parcial del CO_2 disminuye con el tiempo mientras que las cantidades de O_2 y N_2 incrementan. Para un suministro adecuado hacia la alga, se requiere una presión de CO_2 de por lo menos 0.5 bar. Este valor mínimo se alcanza después de aproximadamente 3-4 horas. La eficiencia del sistema puede mejorarse con el incremento del volumen del inyector, como se aprecia en la gráfica 4.3 a fin de mantener un adecuado suministro de CO_2 durante grandes períodos. Sin embargo puede adquirirse un mejor desempeño por una areación continua a través de un agujero pequeño en la cubierta del inyector. Dependiendo de la velocidad de filtración en equilibrio se alcanzará después de un cierto período, este punto se puede observar en la gráfica 4.4. La pérdida de CO_2 es relativamente pequeña, siendo de aproximadamente 4% del total de CO_2 suministrado (Becker, 1994).

Gráfica 4.2. Cambio de la composición del gas en el intercambiador de gas flotante (volumen de 44 L) como una función del tiempo de operación.



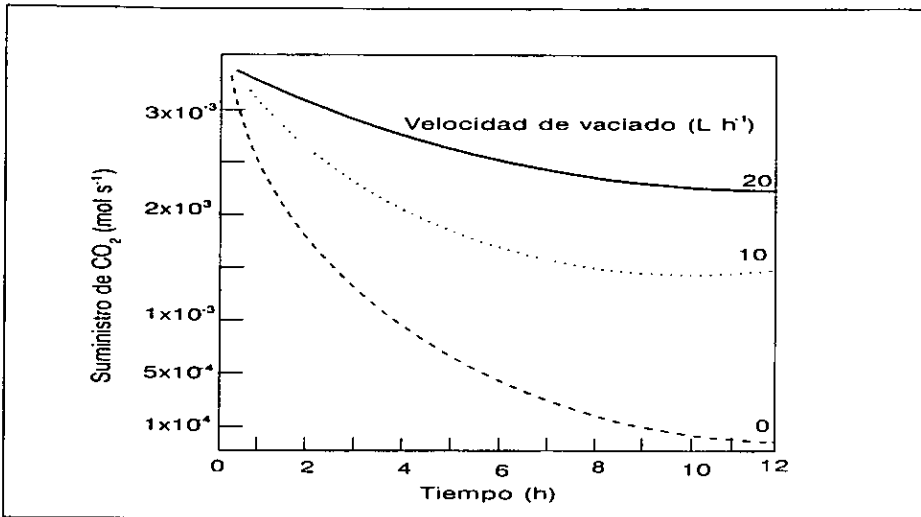
Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

Graf. 4.3. Equilibrio del intercambio de gas del flotador con relación a su volumen.



Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

Gráfica 4.4. Efecto de la velocidad de filtración sobre el tiempo requerido para obtener un equilibrio usando un flotador.



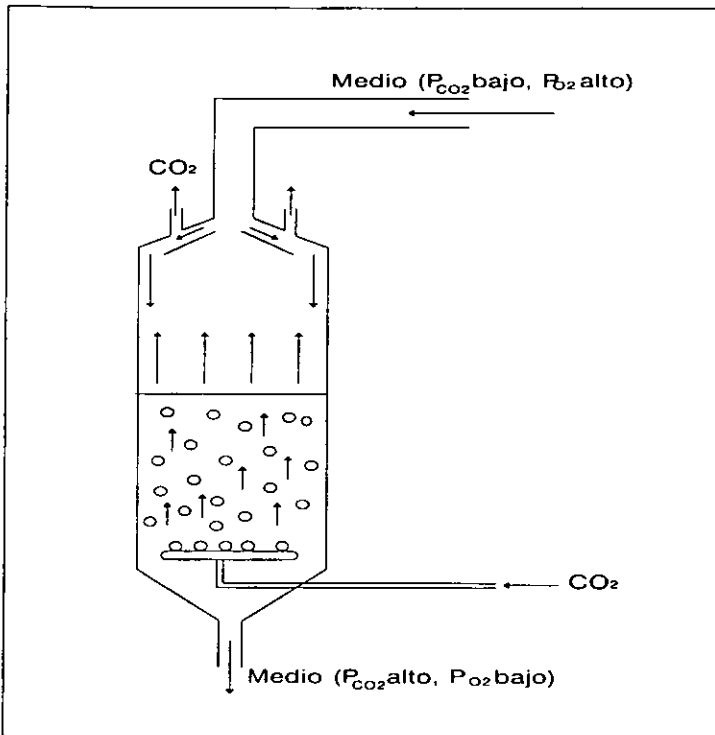
Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

IV.4 COLUMNA DE CARBONATACION

Otro método para incrementar la transferencia de CO_2 a través de una interfase neutra gas-líquido es proporcionando un tiempo de contacto extenso y a todo lo largo de la superficie requerida para maximizar la transferencia. La columna empacada de carbonatación, la cual a menudo se usa en la industria, no es apropiada porque su bajo pH frecuentemente dañan y lastiman las algas. Un método efectivo para la transferencia de CO_2 al cultivo algal es una carbonatación a contracorriente por medio de una columna de absorción. Con este sistema el gas se inyecta como miniscúlas burbujas hacia la columna de la suspensión algal; la velocidad del medio se ajusta de tal manera que las burbujas de gas se elevan contra de la corriente de agua, hasta que sea absorbida completamente, esta acción se aprecia en la figura 4.3. El sistema es fácil de construir y de operar, permite cubrir grandes rangos de condiciones. Una de las principales dificultades es la eficiencia de la transferencia de gas hacia la

columna, la cual no es usualmente alta, llevando a una considerable pérdida de energía de compresión y CO_2 . Se ha reportado que para regular la entrada de CO_2 según la intensidad de luz, se puede adquirir una reducción del 30% del gasto. En grandes plantas se tienen que instalar varios inyectores de CO_2 , pero tal maniobra resultaría muy costosa (Becker, 1994).

Figura 4.3. Diagrama esquemático de una columna de absorción de carbono.



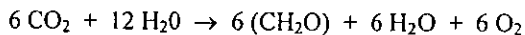
Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

IV.5 AGITACION

Sabiendo que las condiciones ambientales son favorables y el suministro de nutrientes es suficiente, la agitación del medio de cultivo es uno de los requerimientos más importantes en los cultivos de algas para obtener altos rendimientos de masa y de producción. La agitación implica una combinación de varios aspectos, una dispersión uniforme de la alga para asegurar la exposición frecuente a la luz y evitar asentamientos de algas en el fondo del biorreactor, distribución homogénea de nutrientes, mejor utilización del bióxido de carbono, y la prevención de estratificación térmica. En biorreactores poco profundos y que no son agitados, se han encontrado diferencias de temperatura hasta de 8°C en el fondo del biorreactor en días calurosos. Tales diferencias aumentan cuando la capa superior del cultivo absorbe y convierte mucho de la irradiación solar a calor, lo cual generalmente ocurre con una eficiencia más alta que la conversión de luz a energía química. A causa de su densidad específica, el agua caliente restante sobre la superficie y la alga en su capa disminuyen los iones bicarbonato así que el pH puede incrementar hasta el valor de 10. Bajo estas condiciones los nutrientes esenciales precipitan, llevándose consigo partes de la alga hacia el fondo. Hasta que casi toda la alga comienza a precipitar en el fondo del biorreactor en forma de grandes aglomeraciones, los cuales tienden a descarapelar el fondo y elevar esta hacia la superficie, donde estas pueden convertirse en anóxicos olorosos. En consecuencia, la función primaria de la agitación es mantener a la células de la alga en suspensión y periódicamente exponerlas a la luz a fin de asegurar el crecimiento fotoautótrofo y evitar depósitos sólidos. Si la velocidad de agitación es demasiado lenta, las células muertas y otras formas de escombros orgánicos se acumularían en el fondo del biorreactor, especialmente en áreas donde la turbulencia es pequeña. La formación de tales zonas estancadas llevarían a la formación de condiciones anaerobias, la que causarían un deterioro, que a su vez disminuiría el rendimiento y perjudicaría la calidad de la biomasa. Bajo ciertas circunstancias, se pueden

formar compuestos tóxicos a partir de la descomposición de material orgánico, causando la pérdida total del cultivo.

La necesidad de una distribución uniforme de minerales implica la prevención de gradientes nutricionales y de gas alrededor de las células del alga formadas durante el metabolismo. Tales gradientes imponen restricciones sobre el crecimiento y se aligeran con suficiente turbulencia. Como cualquier planta fotosintética, la alga produce oxígeno, creando altas concentraciones de O_2 disuelto en el medio. Durante horas picos de fotosíntesis y en un medio estancado, la supersaturación del oxígeno es de más de 400%. Puesto que el oxígeno es el producto final de la actividad fotosintética, es por ello que se escribe al lado derecho de la ecuación general fotosintética:



Como se puede ver, en relación al suministro de CO_2 , la acumulación de CO_2 también debe considerarse. Por cada mol de CO_2 mezclada se libera cerca de una mol de oxígeno. Cuando la tensión de O_2 en el cultivo aumenta más allá del equilibrio con la atmósfera (7.9 mg L^{-1}), lo cual comúnmente pasa en cultivos sanos durante las horas de la tarde, cuando el valor de O_2 es más alto que la saturación del aire, causando una inhibición en la eficiencia fotosintética, fotorrespiratoria y más aún a una muerte fotooxidativa.

Otro efecto importante que se adquiere mediante una buena agitación del cultivo es un rápido movimiento de las células de la alga de la zona superior iluminada del biorreactor a la zona inferior, primero llevándolas a etapas de obscuridad para posteriormente iluminarlas otra vez. El fenómeno de mutuo intercambio de periodos de luz y obscuridad, representa uno de los requerimientos básicos para una alta productividad de biomasa. En un cultivo denso, donde la alga recibe suficiente luz para la fotosíntesis, puede ser muy poco profunda (2-5 cm) así que una vigorosa agitación se requiere para proveer un porcentaje uniforme de

exposición a la luz de todas las células. En un biorreactor que mantiene una densidad de población óptima, se estima que cerca del 85% de las células no reciben suficiente radiación para facilitar una velocidad fotosintética más allá del punto de compensación. Muchas de las técnicas de agitación usadas son insuficientes para asegurar una obtención del máximo potencial fotosintético de las células de la alga, porque la turbulencia inducida es al azar, lo cual significa que no todas las células están sujetas a un movimiento uniforme dentro y fuera de la zona iluminada, esta exposición de luz al azar no es suficiente para tomar ventaja del período de luz a cualquier grado significativo, aún si el mezclado o bombeo es muy intenso.

Se ha reportado un incremento de la fotosíntesis por arriba de 87% modulando simplemente la irradiación sobre las células de las algas en un tiempo que va de minutos a horas. Indiferente de los mecanismos fisiológicos involucrados, parece claro que la eficiencia de la fotosíntesis puede mejorarse mediante a la incidencia de luz. Para el período es evidente que la duración máxima del centelleo de luz que produce una eficiencia mucho mayor será correlacionada negativamente con la intensidad de luz más grande o igual a aquella a la cual la eficiencia fotosintética comienza a disminuir bajo una iluminación constante. Se ha concluido que la duración de los períodos de obscuridad debe tener un rango de 0.1-10 s.

La velocidad de agitación, la velocidad de flujo del medio, necesario para asegurar todos los efectos requeridos para un crecimiento algal óptimo, varía dependiendo principalmente de la velocidad de asentamiento de algas específicas. Se asume que una velocidad de 10 cm s^{-1} generalmente es suficiente para evitar deposiciones de células. Sin embargo, un valor promedio de 20 cm s^{-1} a menudo se usa a causa de fluctuaciones inevitables de velocidad. Particularmente en las canales de los biorreactores tipo canales (raceway) horizontales. En la práctica muchos de los biorreactores se operan a una velocidad de 10 a 30 cm s^{-1} .

Dificultades sin solución para mantener una velocidad de agitación constante sobre el área total de biorreactores circulares fue una de las principales razones para discontinuar el empleo de este tipo de biorreactor. La agitación en estas construcciones se obtiene por medio de uno o dos brazos que giran en el centro del biorreactor como rayos de una rueda. Puesto que la velocidad angular aumenta con el incremento de la longitud del agitador, la velocidad y la turbulencia fueron óptimas en las orillas del biorreactor pero disminuyeron en dirección de las secciones interiores resultando un estancamiento de casi toda el agua en el centro. Varias construcciones auxiliares se construyeron para intentar un mejoramiento en la agitación pero todos los intentos fueron bastantes susceptibles a problemas, además de dar resultados no deseados.

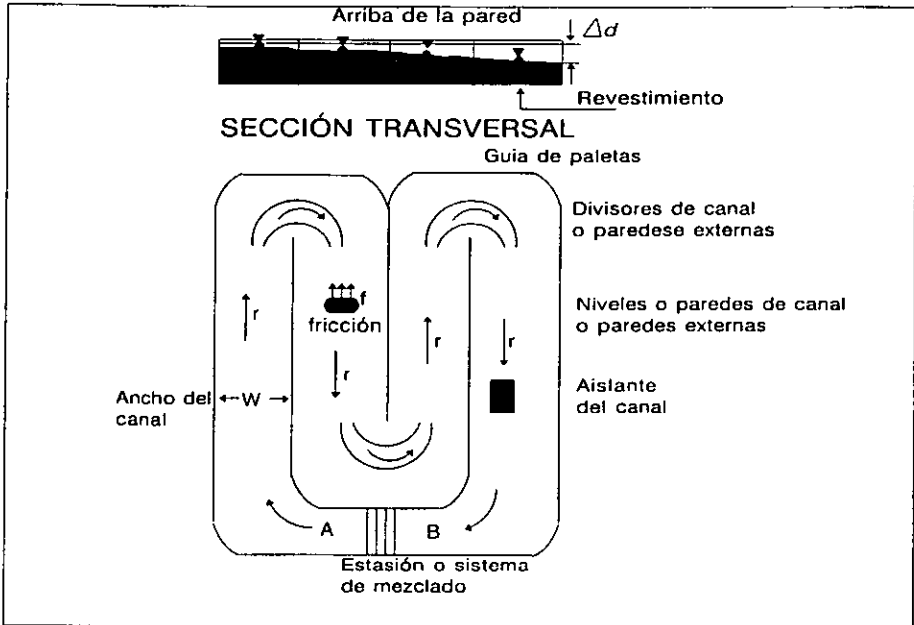
Aparte de este caso extremo, otros tipos de biorreactores que operan a una velocidad promedio de agitación encontraron dificultades con la sedimentación de las células de alga y otros sólidos en áreas particulares, especialmente en el final de las curvas de los biorreactores de forma oblonga (Becker, 1994).

Si la longitud del canal de un biorreactor recto excede un cierto límite, un biorreactor con el fondo inclinado se hace necesario para mantener una velocidad de flujo uniforme y una profundidad constante. Además, cuando se proponen grandes biorreactores, tiene que ser consideradas las dificultades técnicas de sujetar la construcción a pocas gradientes de pocos centímetros. Como la velocidad de flujo y área aumentan, la pérdida máxima en las rutas excederá la profundidad del cultivo. Esto llevaría a problemas de operación. Sí, por ejemplo, la diferencia de altura del fondo del biorreactor entre ambos extremos de un biorreactor inclinado excede dos veces la profundidad del cultivo, el paro del mecanismo de agitación causará al medio recogerse en la parte más baja. Sí esto pasa, la parte superior del biorreactor comenzará a secarse, además del riesgo de que el medio pueda inundar al biorreactor si la pared en la parte más baja no es bastante alta. En consecuencia, por razones prácticas parece aconsejable mantener la pérdida de potencia menor de dos veces a la profundidad del

cultivo. Para estas condiciones (Dodd, 1986) propone un modelo para aproximar la correlación entre el área del biorreactor, velocidad de agitación y profundidad del cultivo.

La inobjetable serie de eventos descritos anteriormente se evita con una agitación continúa en biorreactores que contengan canales poco profundos. Una simplificación de tales canales por los cuales el agua se fuerza a moverse como una corriente confinada por las paredes externas y por divisores del canal se muestra en la figura 4.4. El movimiento se desarrolla por un sistema de agitación. El flujo de agitación se induce fácilmente en el biorreactor canalizado por un impulsor o por medio de bombas, por bombas air-lift y por paletas. Las paletas diseñadas apropiadamente, son todavía más eficientes y durables para mezclar el biorreactor, porque involucran principalmente baja movilidad de partes lo que puede producir corrosión de los materiales del biorreactor. Las bombas air-lift utilizan compresores de aire o sopladores que tienden a usarse pocos años, a su vez son menos efectivos que las paletas. El impulsor y bombas no se consideran por tener una baja eficiencia para sistemas donde se cultivan algas, aunque hay varios sistemas que operan satisfactoriamente (Oswald, 1978).

Figura 4.4. Diagrama simplificado de un biorreactor usado para el cultivo de algas que muestra la nomenclatura principal.



Fuente: Borowitzka M.A. *Microalgae Biotechnology* (1988)

Con referencia a la figura 4.4 se considera un flujo de agua a una profundidad d del canal con una extensión finita w y con una longitud no especificada L . la fricción f tiende a impedir el flujo y el área del canal sobre el cual la fricción actúa se llama radio hidráulico R . Para la longitud del canal, R es igual al área de flujo dividido por el perímetro en contacto con el agua, para una longitud:

$$R=A/P \tag{4.5}$$

Pero

$$A=dw, \tag{4.6}$$

Y

$$P=w+2d \quad (4.7)$$

Por lo tanto

$$R=dw/(w+2d) \quad (4.8)$$

Y para canales extensos, y poco profundos el valor de R es aproximadamente a d .

Debido a que la energía hidráulica es baja debida a la fricción y a que la fricción aumenta con el cuadrado de la velocidad, la profundidad del flujo de agua en el canal disminuye como una función compleja de la longitud del canal; esto es:

$$\delta d/\delta L=f(V^2, R, f). \quad (4.9)$$

La ecuación de Manning es una solución empírica útil para estas funciones complejas:

$$V = \frac{1}{n} R^{2/3} s^{1/2} \quad (4.10)$$

En esta ecuación, el símbolo V representa la velocidad del canal ($m s^{-1}$), n el factor de fricción de Manning ($s m^{-1/3}$), representando la fricción debido a la rugosidad del canal, R es el radio hidráulico (m) definido anteriormente y s es la velocidad de pérdida de energía en el canal por unidad de longitud, esto es $\Delta d/L$.

Independiente que se evalúe $\delta d/\delta L$, es conveniente y satisfactorio asumir un valor finito para el cambio en la profundidad, Δd y para determinar la longitud finita L que corresponde al cambio que asume la profundidad a un factor de fricción dado, radio hidráulico y velocidad. Aplicando cuadrados a ambos lados se obtiene la siguiente ecuación para resolver s :

$$S = \frac{V^2 n^2}{R^{4/3}} \quad (4.11)$$

Y, puesto que $s = \Delta d/L$ y $R = dw / (w + 2d)$,

$$\Delta d = \frac{LV^2 n^2}{(dw / (w + 2d))^{4/3}} \quad (4.12)$$

$$L = \frac{\Delta d (dw / (w + 2d))^{4/3}}{V^2 n^2} \quad (4.13)$$

IV.6 RUGOSIDAD

El valor de n , el factor de fricción de Manning, varía según un factor conocido como rugosidad relativa, la cual se define como el grado del fondo discontinuo comparado con la profundidad del agua en un canal. De este modo:

$$n \propto \varepsilon / d, \quad (4.14)$$

En el cual ε representa el grado de discontinuidad y d es la profundidad del canal. Por ejemplo, una discontinuidad de 1 mm en un canal que contenga la profundidad de 10 cm tendría una rugosidad relativa de $0.1/10 = 0.01$. Valores de n determinados experimentalmente en canales de crecimiento de algas varía de 0.008 a 0.030, el primero por ser liso, canales forrados de plástico para el segundo caso, tierra áspera. Por comparación la solución de:

$$1/n^2 \text{ para } n = 0.010 \text{ (10000) y para } n = 0.030 \text{ (1111)}$$

Suponiendo que, otros factores sigan siendo iguales, n tiene un efecto profundo sobre la longitud de canal permisible para un Δd . Diferentes valores del factor de Manning para diferentes materiales (Oswald, 1988) se muestran en la tabla 4.2

Tabla 4.2 Valores estimados de n en canales al aire libre.

| Materiales para forrar el canal | Valor de n |
|--|--------------------------------|
| Plástico liso sobre concreto liso | 0.008 |
| Plástico con sobre tierra lisa | 0.010 |
| Plástico liso sobre tierra granular | 0.012 |
| Cemento portland liso (concreto) | 0.013 |
| Asfalto liso (concreto) | 0.015 |
| Concreto ordinario, envuelto con asfalto | 0.016 |
| Membranas pulverizadas | 0.020 |
| Tierra lisa compactada | 0.020 |
| Arena ordinaria, envuelta con asfalto | 0.025 |
| Tierra rugosa | 0.030 |

Fuente: Oswald (1988)

Con cultivos a gran escala una velocidad de 5 cm s^{-1} previene la estratificación térmica y mantiene desechos de algas o compuestos orgánicos en suspensión turbulenta. En canales poco profundos, sin embargo, es difícil mantener una velocidad uniforme cruzando los canales, y velocidades mínimas lineales de cerca

de 15 cm s^{-1} son necesarias para obtener por lo menos 5 cm s^{-1} en todos los lugares. Porque como se mostró anteriormente, la potencia requerida para mezclar los cultivos aumenta con el cubo de la velocidad, es por ello que se tiene que minimizar la velocidad para ahorrar energía en el proceso de agitación del biorreactor. Velocidades mayores de 30 cm s^{-1} resultan en grandes valores de Δd en canales largos y pueden requerir paredes altas y divisores altos, que llevaría a un aumento en el costo del diseño del biorreactor. De este modo, si se emplean velocidades de agitación mayores de 15 cm s^{-1} en biorreactores con una profundidad de 15-cm, solo se utilizarían dos paletas y estarían localizados a 500 m cada una. Velocidades de agitación altas requieren una construcción mucho más adecuada ya que deben de evitar asentamientos de cualquier tipo de material, incluyendo la alga misma, esta consideración aumentaría el costo de la construcción del biorreactor considerablemente. Aunque en algunos experimentos se ha observado que a velocidades por arriba de 62 cm s^{-1} mejora la productividad, es difícil imaginar que tal acción aumentaría el rendimiento, el cual es lineal con la velocidad que pueda equivaler al incremento en el costo del biorreactor y de la energía, la cual incrementa exponencialmente con el incremento de la velocidad.

Varios métodos de agitación ahora serán descritos, algunos de los cuales son usados comunmente en plantas piloto y a nivel comercial, mientras que otros estan en un proceso de experimentación. Los cuales son empleados particularmente en países en vías de desarrollo para disminuir el costo de la producción. Estos han mostrado muchas posibilidades de crear turbulencia en cultivos y pueden servir como sugerencias y estímulo para diseñar un biorreactor.

Las técnicas comunes son las siguientes:

1. Paletas manejadas por un motor eléctrico. Aunque relativamente caro, este método se sigue usando en muchos de los proyectos para cultivar algas. La demanda de potencia es de cerca de 600 W para una extensión de 100 m^2 .

2. Una combinación de bombas y gravedad, la cual se ha adoptado en unidades de gran producción. La demanda de potencia varia entre 100 y 200 W para un tamaño de 100 m². La aereación suministrada por bombas o aereadores diseñados para la agitación es de un valor limitado en grandes biorreactores a causa del bajo porcentaje del área que se agita mecánicamente. La máxima pérdida de potencia o de bombeo en biorreactores poco profundos se limita por la capacidad de mantener suficiente flujo al mecanismo de agitación, la cual controla la longitud máxima del canal entre los puntos de agitación.
3. Sistema air-lift. Un consumo de potencia de 195 W se estimo para un área de 85 m², basado en una eficiencia del compresor de 70% y una demanda de aire de 120 L s⁻¹.

Mecanismos experimentales:

- a) Impulsor autónomo con una demanda de potencia similar a la de una paleta. Apropriado solamente para biorreactores muy pequeños .
- b) Inyector. Con este método el medio es presurizado a través de una tobera. El CO₂ se añade en una cámara separada para adquirir alta turbulencia y altas velocidades de transferencia de CO₂. El chorro introduce un flujo hacia el biorreactor. Correspondiente al nivel de turbulencia alto, estableciendo la demanda de potencia del sistema a un valor alto (1000-2000 W 100 m²), lo cual disminuye la aplicación de este sistema.
- c) Agitación manual con bombas simples o escobas, estas técnicas no requieren prácticamente financiamiento pero son de baja eficiencia y aplicable solamente para áreas de cultivo pequeñas.
- d) Paletas sobre agitadores verticales manejadas por medios no convencionales tales como viento, celdas solares, de reloj, por animales o incluso hasta por el mismo hombre (Becker, 1994).

IV.7 PALETAS

El mecanismo más común para la agitación en cultivos de algas son las paletas, las cuales se desarrollaron inicialmente para la agitación de tanques pequeños y biorreactores experimentales. Estas paletas consisten de hojas simples parcialmente profundas o por rotores de alta velocidad. A causa del reflujo alrededor y bajo las hojas, que evita la creación de alturas significantes, el tipo original de paleta no es apropiado para la agitación de grandes biorreactores. La creación de más potencia por medio de rotores a alta velocidad no es práctica para el cultivo algal, ya que causaría daño a las células de las algas a altos esfuerzos cortantes.

Un diseño de paleta mejorada se probó y desarrolló exitosamente en biorreactores grandes por (Dodd, 1986). El principio de este tipo de diseño es que se necesita un bombeo de desplazamiento positivo, capaz de desarrollar la potencia necesaria para establecer un flujo en un biorreactor grande. La modificación esta al final de las hojas de la paleta ya que tienen un espacio muerto muy pequeño con las paredes y la curva formada en el fondo del biorreactor. Hojas flexibles y selladas pueden usarse para mejorar el desempeño del mecanismo. La longitud de arco es suficiente para prevenir el escape del agua entre hojas adyacentes, así que la velocidad de las hojas tiene que ser ligeramente más grande que la velocidad del medio.

Para incrementar la extensión del canal, se tiene que llevar a cabo un cuidado especial para prevenir el desalineamiento del mango de la paleta y desgaste del tornillo inferior del eje de rotación, y un doblez impuesto por la resistencia del agua sobre las hojas que rotan. Las hojas deben ceñirse a clavos sobre la flecha principal a fin de permitir un traslado fácil para limpiar y reparar el ajuste.

Se recomienda un mecanismo de paletas grandes con doble cadena manejado a baja velocidad a través de una flecha con un broche para la protección de un

sobrecarga. Unidades manejadas a velocidad variable se prefieren a causa de la posibilidad de variar la velocidad de agitación. Para una paleta moderadamente larga, la cual crea una diferencia de altura de más de 15 cm.

La eficiencia de la paleta, determinada experimentalmente en un biorreactor de 0.25 acres, estuvo en un rango de entre 25 y 87%, siendo directamente proporcional a la velocidad de agitación y profundidad del biorreactor. La potencia total requerida para una paleta en un biorreactor con un coeficiente de rugosidad de 0.025 se ha determinado a $20 \text{ kWh ha}^{-1} \text{ d}^{-1}$, a una velocidad de agitación de 15 cm s^{-1} , y $160 \text{ kWh ha}^{-1} \text{ d}^{-1}$ a una velocidad de 30 cm s^{-1} (Benemann, 1987).

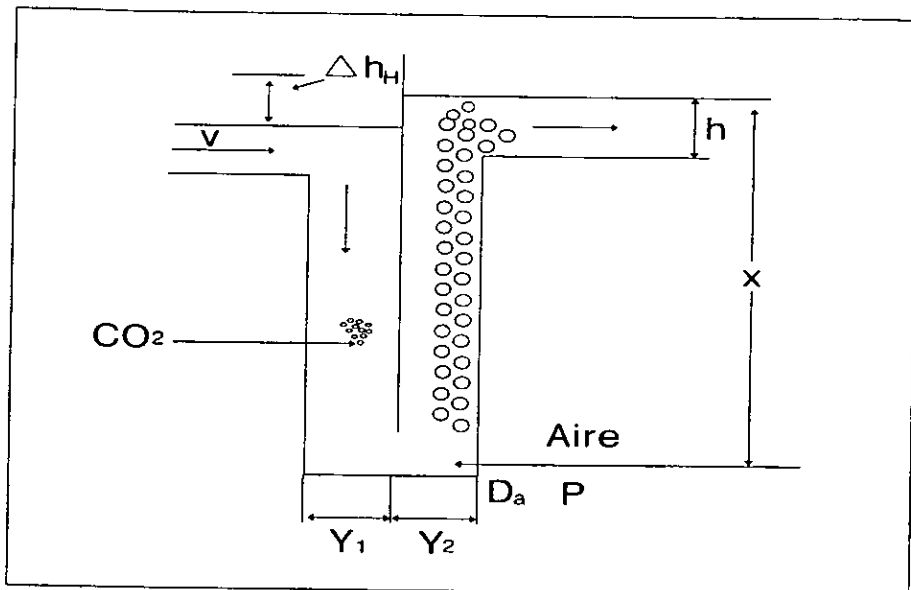
IV.8 SISTEMAS AIR-LIFT

El sistema air-lift consiste de un conducto vertical abierto en ambos extremos, en el que el gas se esparce para mover el líquido a través de un arreglo apropiado de entradas y salidas.

El principio del sistema air-lift se muestra en la figura 4.5. Como se puede ver, hay una circulación descendente y una circulación ascendente donde pasa el flujo. El volumen vacío fraccional del gas en la dispersión ascendente debe mínimo proveer bastante fluctuación para sobrellevar la potencia de bombeo. Se espera la máxima eficiencia de bombeo cuando el líquido aumenta de velocidad, aproximadamente igual al flujo de velocidad en el biorreactor. Análisis del desempeño de las bombas han demostrado que la sección de reflujo debe tener la misma área de sección que el biorreactor, para asegurar pérdidas mínimas de energía en la parte de elevación.

La eficiencia mayor de este sistema será a una velocidad de 30 cm s^{-1} . Aún a esta velocidad de agitación, la eficiencia puede llegar a ser del 50% y el requerimiento de potencia será casi dos veces a la que se utiliza en una paleta.

Figura 4.5. Principio del sistema air- lift.



Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

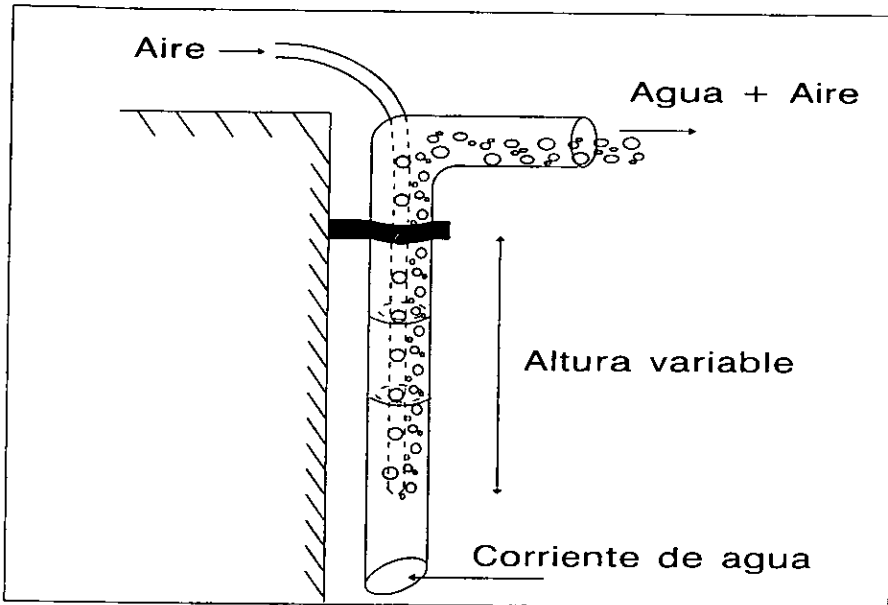
Si el CO_2 se introduce a contraflujo, la velocidad del medio será igual a la velocidad ascendente de las burbujas de CO_2 haciendo que el tiempo de residencia del gas sea mucho mayor. En sistemas técnicos, las burbujas con un diámetro de entre 3 y 6 mm se producen con una velocidad ascendente de aproximadamente 23 cm s^{-1} . Si la velocidad del medio ascendente se mantiene en un mismo rango, las burbujas de gas permanecerán en el mismo lugar y se harán más pequeñas hasta que éstas desaparezcan.

Los cálculos han mostrado que la cantidad de CO_2 desprendido al aire en la parte superior del flujo del sistema es solo de 5%. Se asume adicionalmente 10% de pérdida en la sección inferior y otro 5% en la superficie abierta del biorreactor, la utilización de CO_2 con este sistema es de 80% de eficiencia en la utilización del CO_2 . La cabeza repartida de la bomba se calcula con la adición de la cabeza hidráulica a las pérdidas de fricción del canal del

biorreactor. Para un modelo de biorreactor, los parámetros de diseño óptimos para disminuir la demanda de potencia son $y_1 = 0.15$ m, $y_2 = 0.1$ m, $x = 0.8$ m. La demanda de aire es $Da = 12$ L s⁻¹ a una presión de $P = 1.12$ bar. Aunque el sistema es simple y sencillo de operar, tiene la desventaja de ser difícil de limpiar. Las zanjas requieren de un diseño especial de biorreactor con excavaciones adicionales y establecimiento de trabajo que incrementa el costo de construcción del biorreactor.

El empleo de los sistemas air-lift fue introducido por Clement & Van Landeghem (1970) para el cultivo de *Spirulina*. Tal construcción, consistía en un biorreactor construido con zanjas que formaban depresiones en ambos lados del frente. Hacia estas secciones, el gas restante de CO₂ se esparce, causando una circulación continua del medio a causa del efecto del agua, cuando se elevan las burbujas de gas, este sistema se puede mejorar utilizando el air-lift mostrado en la figura 4.6. Este sistema se puede construir de tubos de PVC; la longitud de los tubos se puede ajustar a la altura de la columna de agua con un telescopio en las partes del tubo. El aire comprimido se dirige hacia el tubo por pequeños poros del tubo y de la manguera; la posición al final de la manguera determina la eficiencia del sistema. La flexibilidad del mecanismo, la simplicidad en su construcción, el desmantelamiento y adaptación a biorreactores de diferentes tamaños favorece este sistema, especialmente para biorreactores medianos, los cuales se usan comúnmente en la acuicultura para la producción de mariscos. Además del medio de agitación, el sistema también aerea efectivamente el cultivo algal y provee CO₂ atmosférico adicional.

Figura 4.6 Diseño de una bomba portátil air-lift



Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

IV.9 PROFUNDIDAD

En cultivos de algas a gran escala, éstas son dependientes de la luz solar como fuente primaria de energía, y la luz solar se absorbe fuertemente por las células. Las células cerca de la superficie reciben más luz de la necesaria por lo cual tienen una saturación fotosintética y en consecuencia alcanzan una baja eficiencia en la utilización de luz solar. Las células cerca del fondo del biorreactor reciben muy poca luz y aunque estas puedan usarlo con una eficiencia máxima, no pueden tener una síntesis suficiente para satisfacer sus demandas respiratorias. Las células en la zona intermedia usan la luz con eficiencia variable.

V. Bush (citado por Burlew, 1953) derivó una expresión teórica con la cual estima la fracción, f_m , de la eficiencia fotosintética máxima posible que se puede alcanzar en un cultivo. Según Bush:

$$f_m = (S_s / S_0) [\ln (S_0 / S_s) + 1], \quad (4.15)$$

En el cual S_s es la densidad de flux del fotón al cual la fotosíntesis se satura y S_0 es la densidad de flux de fotón a cualquier instante.

La eficiencia de Bush mencionada en la ecuación (4.15) no se puede llevar a cabo en cultivos reales porque también están limitados por la eficiencia de unidad cuántica de varias longitudes de onda. Siendo el máximo de 35% para la luz roja ($\lambda = 700 \text{ nm}$), 20% para luz azul ($\lambda = 400 \text{ nm}$). Un límite adicional sobre la eficiencia es la respiración nocturna que debe satisfacerse en cultivos para tener una eficiencia adecuada. La respiración del alga varía enormemente con la actividad de la fotosíntesis y de la temperatura. Oswald (1978) concluyó que la eficiencia máxima probable en la utilización de energía solar en cultivos agitados es cerca del 5% de la energía solar total.

La penetración de luz se determina fácilmente por observación visual usando un disco Secchi. Este mide la profundidad, d_s , es cerca de la mitad de la profundidad real de la penetración de la luz d_p , porque la luz debe entrar y golpear el disco y luego salir para observarse.

Observaciones experimentales indican que, en cultivos al aire libre, d_s y d_p están relacionados con la concentración del cultivo de la siguiente manera:

$$d_s = 3000 / C_c, \quad (4.16 \text{ a})$$

$$d_p = 6000 / C_c, \quad (4.16 \text{ b})$$

En las que C_c es la concentración del alga (mg L^{-1}), d_s es la profundidad de Secchi (cm), y d_p es la profundidad de penetración de luz (cm). Observaciones adicionales respecto al rendimiento indican que la concentración del cultivo en luz limitada, en cultivos continuamente agitados permite la penetración de la luz dos tercios de la profundidad real del cultivo. Según esta aproximación $d_p = (2/3)d$ y:

$$C_c = 1.5 \times 6000 / d = 9000 / d \quad (4.16 \text{ c})$$

Como un ejemplo, en un cultivo al aire libre mezclado y operando continuamente a una profundidad de 30 cm se obtendrá una concentración máxima de alga con luz limitada de aproximadamente $9000 / 30 = 300 \text{ mg L}^{-1}$. Esto sería sólo ligeramente más grande durante periodos de intensidad de luz alta, puesto que la penetración de luz es proporcional a la longitud de su intensidad, a altas concentraciones de alga, por lo tanto, sólo se puede llevar a cabo en biorreactores poco profundos. Las mayores desventajas de utilizar biorreactores poco profundos son que estos cultivos tienden a sobrecalentarse (Oswald, 1988).

IV.10 RELACIONES ENTRE AGITACION-PROFUNDIDAD

Para ilustrar las interrelaciones de profundidad y requerimientos de agitación se considera la siguiente ecuación 4.13 para varias profundidades 10, 20, y 30 cm, lo demás se mantiene igual. Para este ejercicio se asumirá un canal con una extensión de 6 m, una velocidad del medio de 15 cm s^{-1} , un valor de n de 0.015, y un Δd igual a $(1/2)d$.

Para $d = 10 \text{ cm}$ usando la ecuación 4.13

$$L = 493 \text{ m,}$$

Y sustituyendo $d = 20$ cm en la ecuación 4.13

$$L = 2120 \text{ m.}$$

Similarmente, si la profundidad incrementa a 30 cm, la longitud de agitación permisible L por medio de la ecuación 4.13, se convierte a 5240 m. Así que, con un incremento en la profundidad del canal de 10 cm a 30 cm se encuentra que la agitación hidráulicamente permisible se incrementa casi 12 veces (Oswald, 1988).

IV.11 AREAS AGITADAS

Entonces se puede integrar la extensión y área, porque el área total expuesta a los rayos solares A es igual a la longitud del canal, L , multiplicada por la extensión del canal W :

$$A = LW. \tag{4.17}$$

Usando las ecuaciones 4.16 y la variable de agitación con una extensión constante de 6 m se encuentran que las áreas mezcladas son las siguientes:

A 10 cm

$$\begin{aligned} A = LW &= 493 \times 6 = 2958 \text{ m}^2 \\ &= 0.296 \text{ ha} \end{aligned}$$

A 20 cm

$$\begin{aligned} A = LW &= 2120 \times 6 = 12720 \text{ m}^2 \\ &= 1.27 \text{ ha} \end{aligned}$$

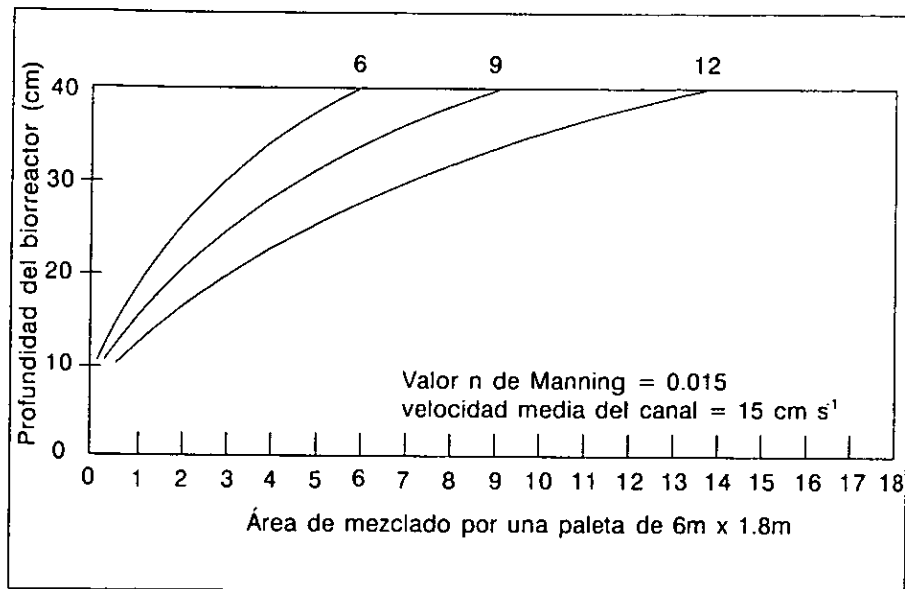
A 30 cm

$$\begin{aligned} A = LW &= 5420 \times 6 = 35520 \text{ m}^2 \\ &= 3.25 \text{ ha} \end{aligned}$$

Por lo tanto, cuando se usa un biorreactor a una profundidad de 10 cm de profundidad, una paleta de 6 m de ancho podría mezclar una área de 0.296 ha. Cuando se utiliza un biorreactor con una profundidad de 20 cm y 30 cm de profundidad se obtienen los siguientes valores, respectivamente, de 1.27 ha y de 3.25 ha.

Actualmente, usando un efecto de túnel, una sola paleta de 6 m de ancho puede mezclar un canal de 12 m en extensión y, siguiendo el procedimiento antes descrito, se puede construir una representación gráfica de las capacidades de agitación de una paleta de 6 m x 1.8 m como función de la profundidad y extensión del canal para una velocidad y rugosidad constante, ver gráfica 4.5.

Gráfica 4.5. Influencia de la profundidad y extensión del biorreactor, utilizando una paleta con las siguientes extensiones 6 m x 1.8 m (utilizando constantes de Manning)



Fuente: Borowitzka M.A. *Microalgae Biotechnology* (1988)

IV.12 POTENCIA

Para cumplir la agitación del canal, ilustrada en la gráfica 4.5, los requerimientos de potencia pueden determinarse sobre la base de Δd y las cantidades de agua en movimiento según la siguiente relación:

$$P = QW\Delta d / e; \tag{4.18}$$

En la que P es la potencia (kW); Q es la cantidad de agua en movimiento (m³ s⁻¹); W el peso específico del agua (kg m⁻³); Δd el rango de profundidad (m), y

e es la eficiencia de la paleta. A 15°C el peso específico del agua es aproximadamente de 1000 kg m^{-3} .

Para un canal de longitud w y profundidad d la cantidad de flujo Q ($\text{m}^3\text{ s}^{-1}$) está dada por:

$$Q = wdV, \quad (4.19)$$

En la que w y d están expresados en metros y V esta en m s^{-1} . Como un ejemplo, para un canal de 6 metros de ancho, 20 cm de profundidad, con una velocidad de flujo de 15 cm s^{-1} , la potencia requerida, asumiendo una eficiencia de la paleta de 0.5, es:

$$P = 6 \times 0.2 \times 0.15 \times 1000 \times 0.1 / (102 \times 0.5) = 0.35\text{ kW}.$$

Por lo tanto para 24 hr, el consumo de potencia sería de:

$$0.35 \times 24 = 8.4\text{ kW-h día}^{-1}$$

Por lo tanto un biorreactor de 1.27 ha se podría mezclar continuamente con sólo 8.4 kW-h día^{-1} .

Para ilustrar los problemas a velocidades más altas se regresa a la ecuación 4.10 y determinamos la longitud hidráulicamente permisible del canal involucrando una velocidad de 30 cm s^{-1} para un canal con una profundidad de 20 cm de profundidad:

$$L = 530\text{ m},$$

$$A = 0.318\text{ ha},$$

Y, usando la ecuación 4.18

$$P = 6 \times 0.2 \times 0.3 \times 1000 \times 0.1 / 102 \times 0.5 = 0.706 \text{ kW}$$

16.9 kW-h día⁻¹ operando las 24 horas del día. Debido a que el área mezclada es sólo de 0.318 ha, la energía requerida es 16.9 / 0.318 = 53.2 kW-h ha⁻¹ día⁻¹. Así que para un canal con una velocidad de 15 cm s⁻¹ y a 30 cm s⁻¹ ha aumentado la energía requerida para mezclar una hectárea de cultivo cerca de cien veces.

Con respecto al ahorro de energía, se deben diseñar biorreactores para operar a una velocidad máxima que prevengan la sedimentación, sobrecalentamiento y estratificación del sistema. Esta velocidad puede estimarse sólo en una planta piloto. Paletas de velocidad variable permiten día a día ajustar la velocidad sobre la base de la temperatura y experiencia (Oswald, 1988).

IV.13 TIEMPO DE RESIDENCIA

A una concentración inicial dada de alga y datos respecto a entrada de luz solar, eficiencia y contenido de calor, se puede estimar teóricamente el tiempo requerido para producir algas a cualquier concentración dada. Un balance de energía es quizá el método más apropiado.

Para un elemento de cultivo de 1 litro, y asumiendo crecimiento estrictamente autótrofo, el calor de combustión del alga multiplicada por el peso seco de la concentración del alga debe ser igual a la energía solar fijada a una eficiencia dada durante el tiempo de crecimiento del alga. De esta manera:

$$hC_c = FS\theta A, \quad (4.20)$$

En donde h es el calor de combustión del alga, caloría por miligramo de peso seco libre de cenizas (AFDW; 1 cal = 4.1845); C_c es la concentración del alga en términos de AFDW (mg l⁻¹); F es la eficiencia adimensional de convertir la energía solar a energía química expresada como una fracción decimal; S es el

flujo de energía solar ($\text{cal cm}^{-2} \text{dia}^{-1}$); θ Es el tiempo de exposición o tiempo de residencia en días; y A es el área (cm^2) ocupada en un litro de cultivo.

Para una profundidad dada, d , el área ocupada por un litro de cultivo es de $1000/d \text{ cm}^2$, en donde d esta expresado en cm. De esta manera:

$$hC_c = FS\theta \times 1000/d \quad (4.21)$$

El tiempo de residencia celular en un biorreactor a una C_c dada es:

$$\theta = hC_c d / 1000FS \quad (4.22)$$

Cada uno de los factores del lado derecho de la ecuación 4.22 está sujeto a algunos grados de cuantificación. Por ejemplo, el calor de combustión de algas microscópicas varía de $5 \text{ kcal (g AFDW)}^{-1}$ para cultivos de rápido crecimiento y a $7 \text{ kcal (g AFDW)}^{-1}$ para cultivos de crecimiento más lento o ricos en lípidos. Un valor de 5.5 kcal g^{-1} se usa a menudo en cálculos aproximados. En la ecuación (4.20), como se notó anteriormente, las unidades para h son kcal mg^{-1} .

Aunque las concentraciones de alga C_c varían con respecto a las variables del sistema de cultivo, este se presenta al diseñador como una salida específica por unidad de área para el producto deseado; así que es esencial conocer como la C_c responde a otras variables del sistema. Como se observó previamente en la ecuación 4.15, la profundidad y concentración son relaciones recíprocas en cultivos con luz limitada, y si se desea una concentración algal dada, se fija virtualmente la profundidad, o por lo menos se especifica dentro de pequeños límites indicados en la discusión de la ecuación 4.15.

La eficiencia fotosintética de cultivos mezclados es altamente variable, puesto que está influenciada por la duración e intensidad de luz, por la temperatura, composición de nutrientes y, por supuesto por la especie de alga. Como es de

esperarse, especies de crecimiento rápido tienen eficiencias más altas de las que tienen un crecimiento mucho más lento. Esto se ha observado en organismos grandes tales como *Euglena* que tienen un crecimiento mucho más lento que algas mucho más pequeñas, caso concreto la *Dunaliella sp.* (Oswald, 1988).

IV.14 PRODUCTIVIDAD

Si uno conoce la concentración de la alga, la hidráulica y tiempo de residencia de la célula y la profundidad del cultivo, la producción de células por unidad de área y tiempo puede calcularse usando la siguiente formula:

$$P_r = kdC_c / \theta \quad (4.23)$$

En la cual P_r es la productividad. Si la concentración de la célula se mide en mg L^{-1} , d en cm , y el tiempo de residencia en días, y si P_r se expresa en $\text{g m}^{-2} \text{ día}^{-1}$, el valor de k es 0.01. Si d se expresa en metros y el tiempo de residencia de la célula otra vez en días, C_c esta en mg L^{-1} y P_r esta en $\text{g m}^{-2} \text{ día}^{-1}$, el valor de k es 1.

Como ejemplos, un biorreactor operando a un estado estacionario con una profundidad de 30 cm , con un tiempo de residencia de 4 días y a una concentración de 300 mg l^{-1} tendrá una productividad de:

$$P_r = 0.01 \times 30 \times 300 / 4 = 22.5 \text{ g m}^{-2} \text{ día}^{-1},$$

O

$$P_r = 1 \times 0.3 \times 300 / 4 = 22.5 \text{ g m}^{-2} \text{ día}^{-1}.$$

Una productividad de $1 \text{ g m}^{-2} \text{ día}^{-1}$ es equivalente a:

$$1 \times 10000 \times 365 / 1000000 = 3.65 \text{ toneladas ha}^{-1} \text{ año}^{-1}.$$

Similarmente, puesto que hay 4047 m² por acre, 454 gramos por libra y 2000 libras por tonelada corta, una productividad de 1 g m⁻² día⁻¹ es igual a:

$$1 \times 4047 \times 365 / 454 \times 2000 = 1.63 \text{ toneladas cortas acre}^{-1} \text{ año}^{-1}.$$

Usando estos factores de conversión, la productividad anterior de 22.5 g m⁻² día⁻¹ mantenida durante un año sería de 82.1 ton ha⁻¹ año⁻¹ o 36.6 toneladas cortas acre⁻¹ año⁻¹. Tales productividades son alcanzables en sistemas localizados y diseñados apropiadamente (Oswald, 1988).

IV.15 EFECTO DEL pH

El pH del medio de cultivo es uno de los factores importantes en el cultivo de algas. Determina la solubilidad del bióxido de carbono y minerales en el medio y directa e indirectamente influye en el metabolismo de la alga. La alga exhibe clara dependencia del pH del medio de cultivo y varias especies varían grandemente su respuesta al pH. *Cyanidium*, por ejemplo, tiene su crecimiento óptimo a un pH 2, mientras que la *Spirulina* crece bien a valores de pH de entre 9 a 11.

El pH del medio de cultivo puede influenciarse por varios factores tal como la composición y capacidad amortiguadora del medio, cantidad de CO₂ disuelto, temperatura (el cual controla la solubilidad del CO₂) y actividad metabólica de las células. Se encontró que en un crecimiento activo de *Scenedesmus* sin adición de CO₂, el pH aumenta durante el día a valores por encima de 10, principalmente a causa del agotamiento de los aniones NO₃⁻ y de CO₂ del medio y la excreción de iones OH⁻.

En cultivos de *Spirulina*, los cuales no son aereados, ni con aire ni con CO_2 , el pH casi se mantiene estable a un valor de 9.5. Cualquier cambio en el pH más allá de 8.5 en el medio para *Scenedesmus* o *Chlorella* puede ajustarse con una adición apropiada de ácido fosfórico, o meramente adición de CO_2 .

La *Dunaliella sp.* tiene un amplio rango de pH que va de 7 a 9, pero aún a valores bajos o altos su crecimiento se mantiene a una velocidad aceptable.

Uno de los efectos comunes observados en medios de cultivo (especialmente en aquellos con concentraciones de $\text{Ca}^{2+} > 10 \text{ mM}$ o preparados con agua de mar) que tienen valores de pH por encima de 9, es la precipitación de varias sales de calcio, carbonatos, fosfatos y sulfatos, conduciendo a deficiencias en los nutrientes y retardos en el crecimiento o aún en una floculación, inducida por la precipitación de minerales. Se recomienda mantener un pH de 8 si la concentración de Ca^{2+} excede 1 mM. La adición de minerales ácidos al medio a alta alcalinidad necesita el reajuste de la alcalinidad a su nivel original con la adición de carbonatos en cantidades estequiométricas.

Un método más sofisticado para mantener el pH a un valor deseado es la introducción de controladores de pH, los cuales miden el valor real de pH del medio y, tan pronto se ha seleccionado un valor de pH y este se excede, se abre una válvula de solenoide que desprende CO_2 al medio hasta el valor de pH deseado. Una modificación de este método es la adición de HCl por medio del controlador de pH cuando el HCO_3^- sirve como fuente principal de carbono. Por otro lado, no se debe olvidar que altos valores de pH y alcalinidad evitan pérdidas de CO_2 por la respiración nocturna y siempre mantiene reservas considerables de este nutriente (Cresswell, 1989).

IV.16 TEMPERATURA

La microalga *Dunaliella sp.* tiene un alto rango de tolerancia, ya que puede crecer a temperaturas muy bajas hasta una temperatura de 45 °C. De hecho, estas se encuentran en áreas con temperaturas bajas en invierno Ucrania (Masyuk, 1961), y altas temperaturas en el verano en el sur de California (Klausner, 1986) o en el mar muerto en Israel (Nissenbaum, 1975) En condiciones controladas (laboratorio) la temperatura de crecimiento óptimo es de 32 °C, con un rango óptimo de 25 °C a 35 °C. En un medio que contenga concentraciones de sal altos, la tolerancia de la temperatura incrementa en pocos grados.

La retención de glicerol por las células es fuertemente dependiente de la temperatura. Debajo de 25 °C no hay o existe poco glicerol en el medio de cultivo. Arriba de 25 °C, la velocidad de desprendimiento de glicerol, hacia el medio incrementa gradualmente y arriba de 40 °C incrementa dramáticamente, así que a 50 °C la alga pierde todo su glicerol al medio dentro de pocos minutos (Wegmanm et al, 1980) Esta pérdida de glicerol en la *Dunaliella sp.* parece estar relacionado al efecto de la temperatura sobre la organización de la membrana, como lo mostró (Lynch y Thompson, 1982) que la composición de los fosfolípidos de la membrana fotosintética en la *Dunaliella sp.* cambia durante la adaptación del crecimiento de 30 °C a 12 °C.

El hecho que a altas temperaturas en el cultivo cause un desprendimiento de glicerol impone una dificultad en cultivos al aire libre. El glicerol extracelular libre puede servir como un sustrato de carbón orgánico a bacterias y hongos. De hecho, es bastante común la contaminación de bacterias y hongos filamentosos en cultivos de *Dunaliella sp.* cuando la temperatura excede 36 °C, particularmente cuando la salinidad se mantiene a un valor menor de 2.5 M por lo cual, las áreas más apropiadas para el crecimiento de *Dunaliella sp.* son las zonas áridas donde el aire caliente es seco, lo cual provoca una velocidad de evaporación significativa, provocando reducción en la temperatura del biorreactor.

Un ejemplo es en Eliat, Israel, donde la temperatura del aire en verano puede exceder 43°C , la alta velocidad de evaporación alrededor de 1 cm día^{-1} mantiene la temperatura del biorreactor debajo de 36°C (Cresswell, 1989).

CAPÍTULO V.
MÉTODOS DE COSECHA

V.1 INFORMACION GENERAL

La economía en la producción de microalgas depende de la tecnología empleada para cosechar y concentrar la suspensión algal, a fin de dar un proceso apropiado al cultivo. De las muchos métodos de cosecha que se desarrollaron y emplearon durante las pasadas tres décadas, solo pocos resultaron ser efectivos a un costo de operación razonable.

La separación de la alga del medio encara varias dificultades: aparte de concentrarla, muchas algas tienen un tamaño más pequeño que $30\mu\text{m}$ (con excepción de la alga *Spirulina*) y con densidad ligeramente por encima a la del valor del agua. En la práctica, esta concentración significa justamente el cultivo diluido ($200\text{-}600\text{ mg L}^{-1}$ o $0.02\text{-}0.06\%$ de sólidos secos). La elección de un método apropiado de cosecha depende de la especie de alga y del propósito para el cual la alga se requiera. Por ejemplo, una floculación químicamente inducida puede resultar en un producto contaminado con residuos del floculante, o con una centrifugación se dañaría a las algas altamente sensibles llevándolas al desprendimiento de material celular que pueda afectar la calidad del producto.

Antes de tomar una decisión para saber que método de cosecha es el más apropiado, se recomienda tomar en cuenta las siguientes preguntas:

- 1) ¿Qué tipo de alga se cosechará (unicelular en forma de cocos, unicelular con hilos, filamentosa)?
- 2) ¿El método de cosecha opera continuamente o discontinuamente?
- 3) ¿El mecanismo solo preconcentrará, concentrará en un solo paso o necesita una preconcentración anterior?
- 4) ¿Cual es el porcentaje de materia seca del concentrado?
- 5) ¿Cual es el costo de inversión?
- 6) ¿Cual es la demanda de energía por metro cúbico de suspensión algal?

Con relación al último punto se tiene que recordar que algunos procesos de microalgas, especialmente en el tratamiento de aguas, solo se requiere la separación de la biomasa y no necesariamente involucra la producción de un producto seco (Becker, 1994).

V.2 FILTRACION POR GRAVEDAD

El método más simple y barato para la separación de sólidos suspendidos de tamaño suficiente es por filtración por gravedad. Este método es muy usado en Ingeniería Química y también se aplica para la cosecha de algas. Este método se hace difícil si las partículas son compresibles o se extienden como muchas algas unicelulares tal como *Chlorella sp* o *Scenedemus sp*. Por lo tanto, la filtración por gravedad se restringe a algas filamentosas o formadoras de colonias tal como *Spirulina sp*, *Oscillatoria sp*, o *Micractinium sp*, a causa de las limitaciones en el tamaño de poros del tejido disponible. Estas últimas algas pueden levantar las entradas con tamaños de poro que van de 50 y 100 μm , así como el medio puede filtrarse para descargarse o para retomar nuevamente hacia el biorreactor. Es posible filtrar *Spirulina* aun con tejidos de algodón ordinario.

Diferentes modificaciones de telas simples usados como filtradores, trabajan con el principio de filtración por gravedad, las cuales son apropiadas para unidades de cultivo de proporciones pequeñas.

Para algas mucho más frágiles, caso concreto de la alga *Dunaliella sp.*, se han probado varias técnicas, por ejemplo pasando cultivo algal diluido a través de tierra de diatomeas y extrayendo el ingrediente de interés "β-caroteno" con un disolvente orgánico. La desventaja de este sistema es la baja eficiencia de filtración y la necesidad de lavar la tierra de los restos del alga.

V.3 MICROCOLADOR

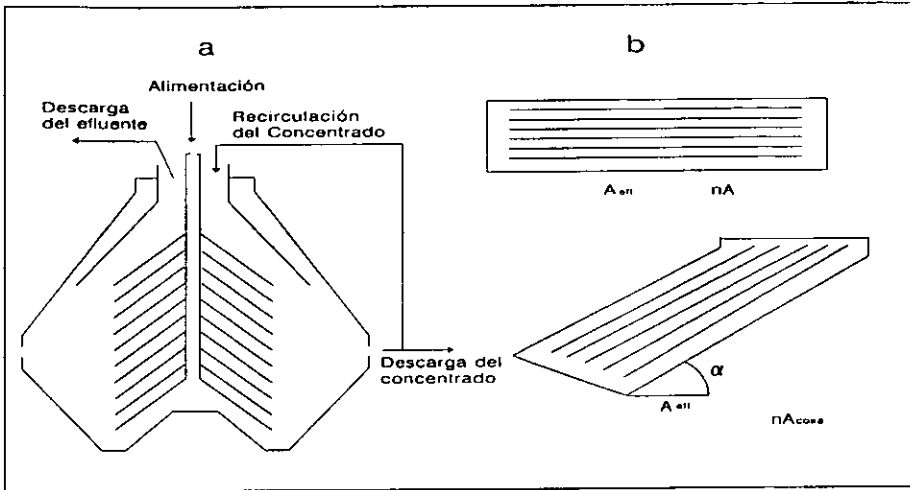
Los microcoladores, diseñados inicialmente para la eliminación de problemas particulares a partir de efluentes de plantas de tratamiento de agua, también se han usado para remover productos de interés algal. El método es rentable para la cosecha de algas filamentosas, pero no es eficaz para remover algas más pequeñas de 20 μm .

Una desventaja potencial asociada con este método de cosecha es el hecho que quitan preferentemente los filamentos más largos de la alga del biorreactor. Esta acción puede resultar en un enriquecimiento del medio con pequeñas especies de algas contaminantes, las cuales después de varios pasos de cosechamiento aún pueden crecer. Algas verdes tales como *Chlorella* y *Scenedesmus* pasan a través de estas mamparas sin quitar nada; solo las más pequeñas de 20 μm . se retienen como *Scenedesmus*, y se requieren aberturas de 5 μm para retener más especies de *Chlorella*. Por otro lado, estas finas mamparas tienen velocidades de penetración muy bajas como 10 $\text{L m}^{-2} \text{min}^{-1}$ así que se requieren lavadas continuas para evitar obstrucciones.

V.4 SEPARADOR DE LAMINILLA

Un método de cosecha avanzado basado en la sedimentación a través de una filtración por gravedad es la separación por medio de laminillas delgadas, las cuales ofrecen un incremento de área de establecimiento por la combinación de un número de platos inclinados, este mecanismo se muestra en la figura 5.1. Las inclinaciones aseguran un movimiento descendente del sedimento hacia un sumidero desde donde puede removerse. La suspensión algal se bombea continuamente, por lo que la suspensión se remueve discontinuamente. Este tipo de cosechador también es apropiado para algas filamentosas; para la cosecha de algas unicelulares tienen que añadirse varios floculantes, lo cual incrementa el costo de operación.

Figura 5.1 Diagrama esquemático de un separador de laminillas.



Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

Nuevos modelos que contienen un tamaño nominal de $1\mu\text{m}$ permiten la captura de pequeñas algas unicelulares, aunque a velocidades bajas de filtración.

V.5 FILTRO ROTATORIO

Para aplicaciones donde el objetivo es una recuperación completa de algas unicelulares se emplean filtros rotatorios, utilizando dicho filtro se adquieren concentraciones mayores a las que se obtiene ordinariamente por medio de los medios convencionales antes mencionados.

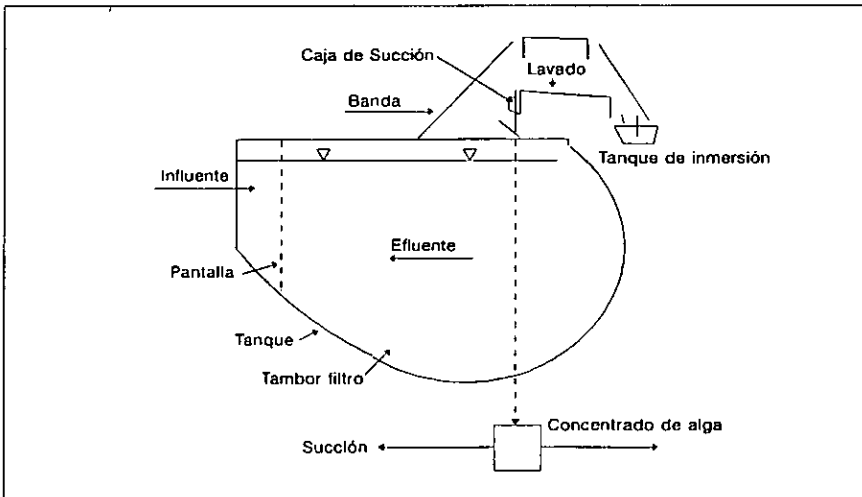
Para incrementar la eficiencia de concentración y también para retener pequeñas células algales, filtros rotatorios revestidos se probaron en varios lugares. Por ejemplo un papel filtro revestido se uso como medio filtrante, depositado sobre una malla de red de poliéster. La mayor limitación de este proceso es el hecho

de que el producto final, el cual es una mezcla de papel filtro y algas, solo es apropiado para el alimento de rumiantes.

Como un resultado de los experimentos con filtros revestidos, y la introducción de tejidos finos, un nuevo filtro rotatorio que usa tejidos finos se ha desarrollado, este mecanismo, trabaja como un colador en un modo inverso, está basado en el principio de filtración por gravedad, pero recupera las costras del sólido algal por succión.

El mecanismo consiste de un tambor grande de filtración, un tambor de separación mucho más pequeño para la succión que recupera los sólidos, una banda fabricada de poliéster con un tamaño de poro nominal de 12 a 5 μm , un tanque de almacenamiento, bandas giratorias y un sistema de lavado, un diagrama esquemático se presenta en la siguiente figura 5.2

Figura 5.2 Diagrama esquemático de un filtro rotatorio (Dodd, 1986)



Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

La suspensión que se va a separar fluye del exterior hacia el tambor grande cubierto con una tela filtrante rotatoria. Debido a que el nivel del líquido exterior del tambor es mayor que en el tambor grande, una presión diferencial resulta al forzar al medio a pasar a través de la tela filtrante. Por rotación del tambor, la tela filtrante con la alga adherida se absorbe por pequeñas ranuras. Para posteriormente limpiar la tela con agua mediante un lavado. El desempeño de este sistema fue bastante satisfactorio cuando ciertas circunstancias fueron previstas, por ejemplo una pérdida de penetración puede ocurrir si la banda no se limpia en cada corrida, pues podría sufrir un taponamiento de poros causado por la alga.

El problema más difícil que se encontró utilizando este mecanismo de cosecha está vinculado hacia el tamaño de la alga ha cosechar. Células filamentosas tal como *Spirulina sp.*, *Micractinium sp.* o *Scenedesmus sp.* son ideales para la separación con tales cosechadores, por lo cual formas unicelulares tal como *Chlorella* u *Oocystis* son más difíciles de retener sobre la banda. Bloquean fácilmente los poros de la tela y cualquier presión causaría que las células se fueran a través de los poros. Estos tipos de algas pueden cosecharse con una tela con un tamaño de poro de 5µm.

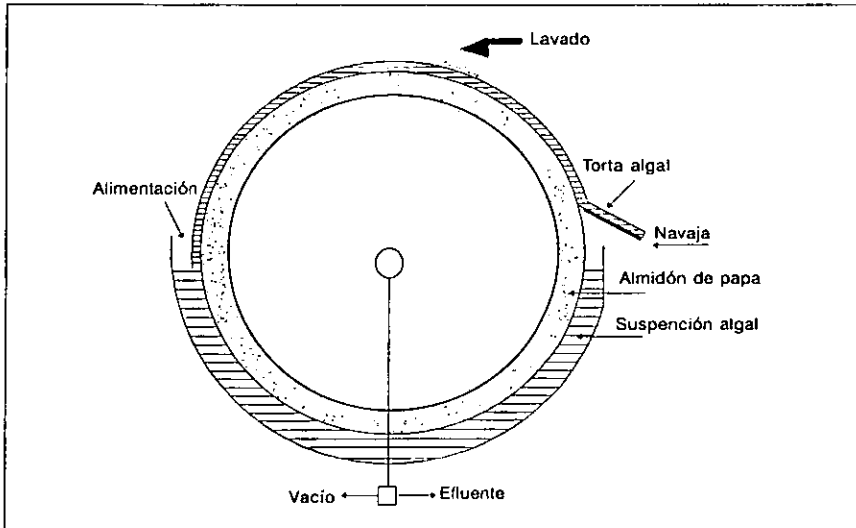
Además de varias técnicas de filtración que se basan en el principio de gravedad, se han desarrollado otros mecanismos para los que la eficiencia de filtración aumenta aplicando presión o presión a vacío.

V.6 FILTRO DE TAMBOR A VACIO

Las superficies revestidas son utilizadas frecuentemente para recuperar levaduras de cultivos de fermentación, este filtro se muestra en la figura 5.3 debido a que el tamaño de varias algas tal como *Chlorella* o *Scenedesmus* son del mismo orden de magnitud que las células de la levadura, este método de cosecha también es aplicable para estas algas, el principio operacional es el siguiente:

como paso inicial un abrevadero, que rodea la parte más baja del tambor del filtro se llena con una suspensión de almidón de papa o de maíz, para crear un vacío dentro del tambor y para hacerlo girar, un revestimiento de almidón de 2-3 cm de espesor se construye sobre la parte exterior de la superficie del filtro, después el abrevadero se llena con la suspensión algal así que se debe añadir un filtro entre el revestimiento. Por movimiento lento de una paleta en dirección del tambor rotatorio, la costra algal se remueve junto con pequeñas partes del revestimiento. Con este sistema las velocidades de penetración son cercanas a $0.5 \text{ m}^3 \text{ m}^{-2}$ filtrados por hora. Para obtener resultados óptimos es necesario usar suspensiones algales concentradas, la desventaja de este proceso es el hecho que el contenido algal es una cierta cantidad de material de revestimiento (15-30%), lo cual puede limitar la utilización posterior del producto.

Figura 5.3 Diseño esquemático de un filtro de tambor a vacío.



Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

V.7 FILTRO A PRESION

El mecanismo de filtración más común que usa presión adicional es el filtro a presión, para separar algas es necesario que el filtro se presione con orificios de cámara de por lo menos 10-15 mm y presión de filtrado por encima de 16×10^5 Pa, así como ciclos de filtración de 1-2 horas. Para una remoción más fácil de la costra del filtro, se desarrollo una presión en el diafragma, los diafragmas son elaboradas de plástico y son montadas detrás del filtro. Por lo cual en caso de presiones convencionales el material cosechado se remueve continuamente por medio de bombeo hacia la cámara, la costra formada se presiona por medio de aire, inflando el diafragma con aire comprimido por encima de 6×10^5 Pa. Estos filtros considerablemente más pequeños de las mencionados anteriormente se deben a que necesita ciclos de filtración más pequeños a las que trabajan los antes mencionados, pero también son más caros (Mohn, 1980).

V.8 FLOCULACION

Durante la fase de crecimiento logarítmico de las células, su carga de superficie negativa es alta y dificulta su neutralización así que la alga se dispersa. Durante tiempos de residencia muy grandes se reducen las velocidades de crecimiento, las cargas negativas son disminuidas y las células tenderán a establecerse resultando en un proceso llamado autofloculación. Este fenómeno puede acelerarse por medio de polímeros orgánicos excretados por la alga hacia el medio.

Las suspensiones de microalgas son demasiado estables bajo condiciones de crecimiento óptimas que las sedimentaciones espontáneas, sin embargo si las condiciones no son favorables, la velocidad de crecimiento disminuiría a causa aparente de una floculación espontánea con formación y sedimentación de la alga. El fenómeno por el cual se flocula y establece espontáneamente se conoce tanto en la ingeniería civil como en la ecológica. Los factores y procesos por las que

las algas se inducen a la floculación todavía no han sido entendidos satisfactoriamente; sin embargo la limitación de los nutrientes o alta actividad fotosintética con limitancia del suministro de CO_2 parecen ser los parámetros importantes. En algunos casos, esta autofloculación se asocia con elevados valores de pH suministrados por el CO_2 , la asimilación y coprecipitación de nitratos y fosfatos de magnesio, sales de calcio y carbonato. En contraste a este proceso comúnmente denominado autofloculación, el término biofloculación se usa para denotar floculación algal que no es causada por la coprecipitación con sales minerales.

La formación de agregados algales también puede inducirse por interacciones entre bacterias y algas que se excretan en forma de macromoléculas orgánicas. Estudios llevados a cabo sobre los mecanismos de autofloculación indican que este método puede iniciarse en ciertos pasos en el manejo del biorreactor algal. Parando la agitación del biorreactor y el suministro de CO_2 causa un incremento del pH lo cual facilita la formación de floculantes algales, los cuales se sedimentarán en el fondo del biorreactor. Experimentos llevados a cabo con *Scenedesmus sp.* con diferentes valores de pH mostraron que no hay floculación en valores de entre 5.0 a 7.5, en cambio en valores por encima de 8.5 el 95% de la biomasa algal puede removerse. Otro factor que contribuye la inducción de la biofloculación es la concentración de magnesio, calcio y fosfato en el medio. El precipitado de fosfato de calcio tiene una carga eléctrica de superficie positiva y por lo tanto podría absorberse por la alga para neutralizar la carga negativa de la superficie y de este modo promover la floculación algal.

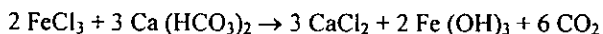
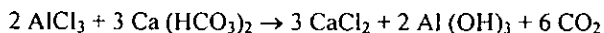
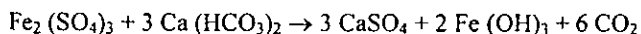
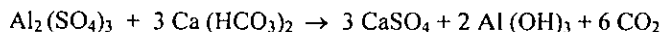
En Perú se reportó que el agua disponible en ese lugar es de una consistencia dura, por tal motivo se adicionó amonio en cantidades requeridas para suministrar el nitrógeno consumido por la biomasa algal, el cual fue suficiente para obtener una floculación completamente cercana a la obtenida para la alga *Scenedesmus* dentro de pocos minutos. La eficiencia de esta floculación se

mejoró cuando la cantidad de fosfato requerido para fertilizar el cultivo se suministro como ácido fosfórico, antes de la adición del amonio.

El ión efectivo de este proceso no es el ión amonio sino el ión calcio, presente en concentraciones de entre 100 y 1660 mg L⁻¹, algunos biorreactores experimentales se construyeron para utilizar este sistema simple de separación y permitir la cosecha de la alga sedimentada debido a la autofloculación. Estos biorreactores sin embargo, a menudo tienen la desventaja de requerir una construcción especial. Además no son apropiados para el cultivo algal durante la cosecha y resultan en requerimientos adicionales de espacios considerables.

Se han descritos unidades de cultivo de algas pequeñas, con tanques de sedimentación verticales con fondo cónico que dan fracciones de sólidos de 1.5%. Para evitar la penetración de la nata sobrenadante hacia el sedimento durante la remoción de la alga sedimentada, se recomienda un tubo de retiro, el cual alcanzaría a través del tanque o tubo hacia la parte del fondo, y a través del cual el sedimento puede succionarse por medio de una bomba.

Debido a que el proceso de autofloculación, como se describió anteriormente, ocurre bajo ciertas condiciones ambientales predispuestas y no siempre este método de preconcentración algal es confiable. Para sobrellevar este problema, se han desarrollado varias técnicas para iniciar la sedimentación algal con la aplicación de varios floculantes. Este método se utiliza altamente en tratamiento de aguas residuales, los floculantes comúnmente usados incluyen varios policationes tal como sales de aluminio y hierro, la reacción típica de estos componentes son:



Los hidróxidos metálicos formados son insolubles y tienden a juntarse atrapando las células algales mientras éstas se asientan o flotan. Además de estos floculantes metálicos, los residuos pueden crear problemas toxicológicos en la biomasa algal cosechada, se han recomendado otros agentes para una sedimentación inicial que se admiten generalmente para una seguridad toxicológica, tal como el almidón de la papa o sus derivados, quitosana o floculantes producidos sintéticamente.

Con la intención de encontrar el coagulante más económico para la floculación algal, fueron probados varios químicos por McGarry & Tonykasame en 1971 incluyendo componentes de aluminio, sulfato ferroso, cloruro férrico y 50 polielectrolitos disponibles comercialmente. Considerando el tamaño de dosis, pH, condiciones de agitación y tiempo de adición, se encontró que entre los coagulantes inorgánicos primarios, la alúmina se ubicó por ser el más apropiado. La aplicación más económica fue la adición de 150 mg de alúmina por litro a un pH de 6.5, aún en mejores asentamientos y en la claridad obtenida del sobrenadante a un valor de pH de 5.5. Sin embargo esto es más caro a causa del ácido adicional requerido para la disminución del pH. El pH óptimo para la floculación utilizando alúmina fue de 5.3 a 5.6 y la dosis óptima entre el rango de 80-250 mg L⁻¹. Los polielectrolitos se sustrajeron como coagulantes primarios o en combinación con alúmina. Varios componentes catiónicos fueron efectivos, por lo cual varios componentes aniónicos y no aniónicos indujeron solamente la

floculación en altas dosis. Los mejores resultados se obtuvieron con policaciones, pero las cantidades fueron equivalentes a las de alúmina. En mezclas de alúmina y polielectrolitos por encima de 3 mg L^{-1} , el tratamiento del anterior disminuye el costo y redujo la cantidad de alúmina requerido a 60 mg L^{-1} . A causa de los residuos de alúmina (valor promedio de 4% peso/volumen) en el producto final pueden originarse efectos tóxicos, el uso de polielectrolitos proveería beneficios en los términos del bajo contenido de alúmina en el alga cosechada.

Fueron reportados en diferentes experimentos sobre la precipitación artificial de algas en China (Yu et. Al. 1959) en un cultivo de *Scenedesmus obliquuos* HCl, KOH, NaOH, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, CaO y agua de cal $\text{Ca}(\text{OH})_2$ se probaron como floculantes, la floculación con cal es una técnica común para el tratamiento de aguas residuales que involucran el incremento del pH a un punto en el cual el $\text{Mg}(\text{OH})_2$ se forma para actuar como un floculante.

Entre los floculantes probados, el HCl y NaOH no fueron muy efectivos, la alga precipitó muy lentamente y comenzó a ponerse amarillo. El tratamiento con alúmina a 0.03-0.05% o con 6% de materia de cal precipitó completamente la alga en 2 horas. Con varias microalgas, la alúmina a concentraciones promedio de 150 mg L^{-1} se encontró ser el floculante químico más eficiente para la alga. *Dunaliella sp.*

En general la alga floculada no puede usarse directamente para propósitos alimenticios, a menos que el floculante sea absolutamente inofensivo o removido para una utilización posterior.

El floculante adherido sobre la superficie de las células de *Dunaliella sp.* no causa problemas muy serios, si la alga se cultiva para la producción de "β-caroteno", el cual se remueve por extracción con disolventes orgánicos, quitando de esta manera el floculante contaminado de la alga cosechada.

A fin de superar estos problemas en una forma general, un nuevo principio de cosecha de la alga *Dunaliella sp.*, desarrollado en Australia, mencionado por Borowitzka en 1989. El método está basado en si esta alga se cultiva en un medio con concentraciones salinas por encima de 4 M, adquiere una capa de superficie hidrofóbica desde donde puede extraerse. La mayor limitación de esta posibilidad de cosecha es la observación de que este proceso no trabaja con células en crecimiento activo, sólo durante la fase de transición de una célula móvil a un quiste no móvil, la cual parece estar vinculada con la formación de una cubierta celular hidrofóbica.

Se ha investigado una nueva técnica de floculación usando gas coloidal (pequeñas burbujas) en el rango de 25µm de diámetro encapsuladas en una película surfactante para la cosecha de algas unicelulares (Honeycutt, Walls & Sebba 1983). El método dio resultados alentadores a nivel laboratorio pero no se ha probado todavía en biorreactores a gran escala.

Las alternativas de floculantes mencionados anteriormente pueden derivarse de almidón de la papa o del polímero catiónico quitosana (polímero desacetilado de β-N-acetil-De-glucamina) preparado por hidrólisis ácida a partir del esqueleto de crustáceos marinos. Este carbohidrato marino se usa frecuentemente para la clarificación de agua potable en la industria alimenticia y no presenta ninguna toxicidad hacia los productos. Concentraciones de 50 mg de quitosana por litro son suficientes para obtener una sedimentación casi completa (96%) de *Scenedesmus Obliquus* entre el pH de 7.5 a 8.5. El floculante no es efectivo en concentraciones de *Spirulina*, pero esto es irrelevante ya que esta alga puede cosecharse fácilmente por filtración.

La utilización de quitosana ofrece algunas ventajas en comparación con aquellos floculantes convencionales. No ha habido evidencia de efectos tóxicos cuando se utiliza quitosana; Puede utilizarse a concentraciones muy bajas y puede producirse fácilmente. Los residuos de la cubierta se separan de los residuos

proteínicos por tratamiento con 2% de NaOH a 65 °C, los componentes cálcicos se remueven por extracción con ácido clorhídrico y la quitina resultante se convierte en quitosana por desacetilación con 50% de NaOH a 130-150 °C.

Se encontró una relación lineal entre la fuerza iónica del medio y las dosis óptimas de alúmina para la floculación algal. La fuerza iónica (I) de un medio dado se calcula por la ecuación.

$$I = 0.5 \times \sum C_i Z_i^2$$

Donde C_i es la concentración molar de un ión dado y Z_i su valencia. Los resultados indican que a concentraciones de sal altas inhibe el proceso de floculación, evidentemente tanto por la reducción de la actividad química del floculante como por ocultar sus sitios activos funcionales. Consecuentemente, la floculación inorgánica demanda aumento, conforme aumenta la consistencia del medio.

Un efecto similar también puede observarse con floculantes orgánicos tal como la quitosana. La quitosana es efectiva como floculante solo cuando la fuerza iónica del medio de cultivo es más baja que 0.1. Conforme la concentración salina aumenta, la viscosidad intrínseca de quitosana disminuye rápidamente de 2000 ml g⁻¹ a un valor constante de 100 ml g⁻¹.

Se ha sugerido que un pretratamiento oxidativo reduciría la movilidad algal, cambiando las características superficiales y mejorando su floculación. El pretratamiento con ozono fue efectivo y mejor para el proceso de floculación tanto para el incremento de la eficiencia en la remoción algal y la reducción del tamaño de dosis de floculante. Se sugirió que este efecto es causado por las modificaciones de las características superficiales de la alga.

Finalmente debe mencionarse un comentario con respecto al uso de los floculantes. Se ha reportado especialmente en la floculación inducida por alúmina,

que la capa desarrolla una alta capacidad de retención de agua del coloide, el escurrimiento algal no puede filtrarse fácilmente por decantación o filtración. Por otro lado una deshidratación directa de tales escurrimientos diluidos son demasiados costosos. Experimentos preliminares indican la posibilidad del rompimiento del coloide por calentamiento a 90-100 °C; la acidificación a un pH de 3.5 posterior a un calentamiento mejora la velocidad de filtración que resulta en costras con un producto seco de 14-19% de materia seca (Becker, 1994).

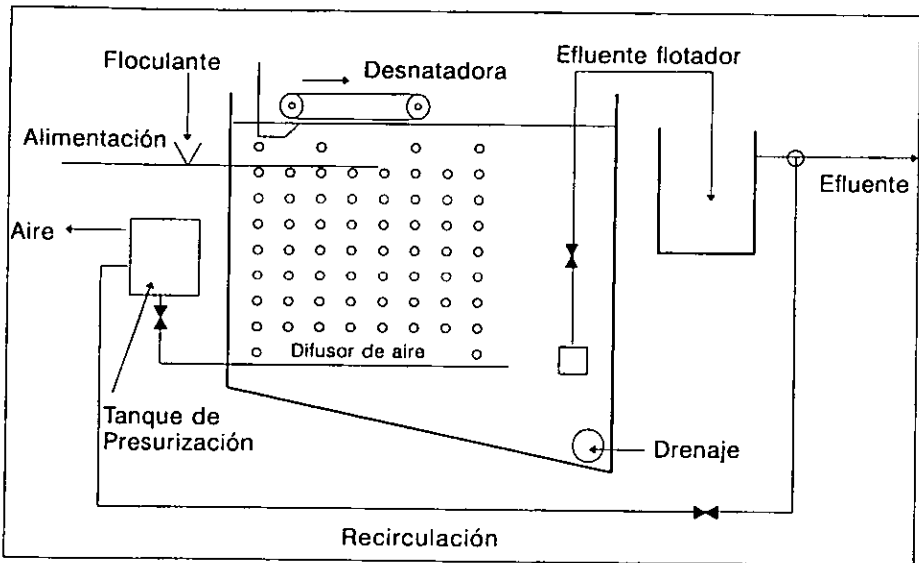
V.9 FLOTACION

El principio de flotación es permitir que pequeñas burbujas de aire transporten partículas sólidas (alga) de la suspensión hacia la superficie de un tanque normalmente abierto, donde posteriormente pueden removerse por desnatación o por otros medios. Generalmente partículas de alga pueden hacerse flotar más rápidamente de las que se asientan en la parte inferior del tanque, así que las partículas que flotan en la superficie son más eficientes que los obtenidos por precipitación, los cuales se sedimentan en el fondo del tanque. Además, los procesos de flotación obtienen fracciones de sólidos más altos (por arriba de 7%) en el concentrado.

Estas partículas pueden separarse efectivamente atacándolas con burbujas de gas, las cuales causarán la flotación hacia la superficie. Las burbujas deben ser lo más pequeñas posibles y su introducción no debe de incrementar la turbulencia del fluido. Sin embargo, para una flotación eficiente es necesario que cada partícula adquiera una cierta cantidad de aire alrededor para reducir su masa específica hasta un punto donde ascenderán hacia la superficie. Todo este procedimiento se asegura creando burbujas *in situ*, ya sea por efervescencia de soluciones supersaturadas o por electrólisis, donde pequeñas burbujas de hidrógeno y oxígeno se generan para llevar a cabo la floculación algal hacia la superficie. Para una clarificación satisfactoria el tiempo de residencia nominal puede ser menor que 10 min. En flotación utilizando aire con presión de reciclado de 3

atm. y suministrándolo con una relación de peso aire/sólido cercano al 0.01. Utilizando la desnatación se puede obtener un porcentaje de 4 a 6% de sólidos solo de la parte que no esta sumergida en el medio. U diagrama esquemático de un cosechador basado sobre el principio de flotación de aire disuelto se da en la figura 5.4.

Figura 5.4 Diagrama esquemático de un cosechador, basado en los principios de flotación.



Para concentraciones mayores, la nata que flota, que contiene de 40-60% en volumen de aire, tiene que someterse a una flotación secundaria. Después de sedimentarse durante 2-4 horas, los sólidos aumentan en un 6-8%. Para estos procesos se recomiendan tanques con una relación altura/diámetro cercano a la unidad.

El modelo de flujo hidráulico del flotador de aire disuelto es de importancia principal para un funcionamiento eficiente de los sistemas. El siguiente modelo

matemático simplificado puede formar la base del diseño de un sistema de flotación utilizando aire.

$$A/S = R C_s (F(P+1)-1) / Q S_i$$

donde:

A/S = relación aire/sólido (kg de aire por kg de sólido)

Q/R = Relación de recirculación; velocidad del flujo de la recirculación ($m^3 h^{-1}$)/
velocidad del flujo de suspensión algal ($m^3 h^{-1}$)

C_s = Concentración de saturación de aire en el agua ($L m^{-3}$)

P = Presión de operación (atm)

F = Factor de proporcionalidad, el cual está en función del tanque de saturación

S_i = Concentración del sólido suspendido ($mg L^{-1}$)

V.10 CENTRIFUGACION

El método más directo para remover completamente casi todos los tipos de alga, es la centrifugación. La centrifugación es aplicable tanto para algas filamentosas como para no filamentosas. Algunas algas tal como *Spirulina sp.* las cuales son ricas en vesículas de aire, tienden a subir en una centrifuga sedimentándose, en consecuencia se recomienda utilizar otros métodos para su cosecha. Aunque la centrifugación es confiable y simple con rendimientos aceptables a su vez de que se obtiene un producto libre de floculantes u otros químicos tóxicos, los altos costos para la inversión y mantenimiento así como una alta demanda de energía eléctrica parecen restringir el empleo de centrifugas, solo en casos particulares donde la cosecha de la alga tuviera un precio factible en el mercado.

Hay varios tipos de centrifugas, 4 son las importantes: cámara de centrifugación, centrifuga de platos autolimpiables, centrifugas de tobera y decantadores.

V.10.1 CAMARA DE CENTRIFUGACION

Las centrifugas de cámara son apropiadas donde tienen que purificarse pequeñas cantidades con fracciones de sólidos bajos, ya que este tipo de centrifuga requiere grandes intervalos de descarga cercanos a 2 horas, con velocidades de penetración relativamente bajas.

V.10.2 CENTRIFUGA DE PLATOS

Las centrifugas de plato de auto escurrimiento se usan en muchos procesos industriales. Estas máquinas se emplean satisfactoriamente para la cosecha de la alga *Scenedesmus sp* y otros tipos de microalgas en suspensiones que contienen de 0.05 a 0.1% de materia algal seca, dando un concentrado cercano al 12% de materia algal. Los separadores de plato pueden operarse continuamente por largos períodos. La descarga discontinua de los sólidos concentrados pueden controlarse en forma manual o automáticamente.

V.10.3 CENTRIFUGAS DE TOBERA

Las centrifugas de tobera, las cuales son comunes en la industria de la levadura, asemejan al separador de platos en muchos aspectos. La descarga del lodo, sin embargo es continua a través de toberas instaladas periféricamente, resultando en un producto más homogéneo. Si partículas grandes están presentes en la suspensión que se debe cosechar, deben instalarse coladeras enfrente de la entrada para remover estas partículas, ya que si no se hace esto trabarían las toberas. La concentración de los sólidos suspendidos sólo es de un 10-20 (2% de sólidos secos) lo cual es aceptable si el separador se usa para una preconcentración. Para obtener factores de concentración mayores, parte del concentrado primario tiene que reciclarse sin pasar por los platos otra vez. Las ventajas de este mecanismo comparado con el separador de platos, son de una inversión más baja para una de una misma capacidad, y un contenido de materia

seca más alto del concentrado final reciclado. Un factor de reciclado de 12 a una concentración de 15-20% de materia seca puede obtenerse para *Scenedesmus sp.*

V.10.4 DECANTADOR

Los decantadores, los cuales obtienen la fracción de sólidos más altas en el concentrado, usados a menudo para la concentración de lodos en plantas de residuos industriales. Requieren poco mantenimiento y pueden operar por grandes períodos. Operan con una alimentación continua de suspensión y descarga de sólidos. Sin embargo es necesario alimentar suspensiones preconcentradas (1.5-2% de sólidos secos) si se quieren obtener factores de concentración mayores. Este tipo de mecanismo no es apropiado para todos los tipos de algas, caso concreto para la alga *Chlorella sp.*

Al comparar los diferentes métodos para cosechar la alga *Dunaliella sp.*; se puede apreciar que los mejores mecanismos, es la centrifugación y la floculación/flotación, es por ello que se hace una comparación de tales mecanismos, considerando sugerencias generales para el calculo de los costos de cosecha, involucrando el equipo tanto el mecanismo de centrifugación como el de floculación/flotación, en el caso de floculación/flotación se tomarán en cuenta diferentes floculantes.

Tomando en cuenta la información anterior, se comenzará con que el costo del equipo y energía contribuyen substancialmente en los costos de producción de la biomasa algal. Aunque los porcentajes exactos de cada factor tienen que calcularse basándose en las condiciones locales respectivas, la siguiente fórmula es una herramienta muy útil para estimar costos aproximados del equipo, incluyendo la depreciación, intereses, mantenimiento y energía:

$$Y = \frac{(0.5 \times I + M) \times C}{100} + \frac{C}{A} + R$$

donde:

Y = Costo anual del equipo

I = Interés porcentual por año

M = Mantenimiento en por ciento del costo del capital

A = Amortización en años

R = costos corrientes

Para que se lleve a cabo este cálculo se sugieren las siguientes variables:

Tabla 5.1 Variables generales, para calcular costos cuando se realiza una cosecha.

| VARIABLE | UNIDADES |
|----------------------------------|-----------------------------------|
| Producción de biomasa por año | Ton |
| Superficie total del biorreactor | M ² |
| Penetración del cosechador | M ³ h ⁻¹ |
| Periodo de operación por año | Días |
| Horas trabajando | H d ⁻¹ |
| Velocidad de crecimiento | G d ⁻⁴ m ⁻² |
| Densidad de la cosecha | G L ⁻¹ |
| Costos de energía | Kw h ⁻¹ |
| Capital de interés por inversión | % por año |
| Mantenimiento | % de inversión por año |

Para elegir cual mecanismo es el más adecuado se deben especificar diferentes aspectos, en el caso de utilizar un sistema de centrifugación se debe indicar si se utilizan canales cerrados o al aire libre, ya que si se utiliza un sistema de canales abiertos, este mecanismo es menos efectivo.

Por otro lado, en el sistema de floculación/flotación se deben indicar las combinaciones y concentraciones de diferentes floculantes, para lo cual se mencionan a continuación diferentes floculantes indicando su efectividad con relación a su cantidad.

Tabla 5.2 Diferentes floculantes, mostrando su efectividad conforme a su cantidad

| FLOCULANTE | Cantidad (ppm) | Efectividad |
|---------------------------|----------------|-------------|
| $Al_2(SO_3)_4$ | 400 | + |
| Sachtoklar | 200 | + |
| Sachtoklar | 400 | ++ |
| Sachtoklar | 900 | +++ |
| $Al_2(SO_3)_4$ + praestol | 200 + 20 | +++ |
| $Al_2(SO_3)_4$ + praestol | 150 + 20 | +++ |
| $Al_2(SO_3)_4$ + praestol | 100 + 15 | +++ |
| $Al_2(SO_3)_4$ + praestol | 50 + 15 | ++ |
| $Al_2(SO_3)_4$ + praestol | 100 + 10 | ++ |
| Quitosana | 200 | + |
| Quitosana | 400 | ++ |

Nota:

+= Efectividad

Sachtoklar: Cloruro de polialuminio

Praestol: Floculante anionico permitido para procesos de elaboración de agua potable.

Quitosana: Obtenida de crustáceos.

Conforme a la tabla anterior, se muestra que una combinación de $Al_2(SO_3)_4$ y el polímero anionico "praestol" realizó una mejor floculación y su reproducción fue buena: El sulfato de aluminio puede remplazarse por $FeCl_3$, siendo éste menos tóxico (Becker, 1994).

Además de una selección adecuada del floculante también se debe incluir la energía utilizada en la unidad de flotación, la descompresión del aire, la bomba de reciclado y la remoción de los sólidos flotantes, pero estos problemas se minimizan elaborando tanques adecuados para la cosecha.

El problema principal, si se utiliza el mecanismo de floculación/flotación es encontrar un sistema de agitación adecuado para asegurar una distribución homogénea del floculante, un agitador en línea, también llamado un mezclador estático, puede recomendarse para optimizar la agitación. Este debe instalarse entre el primer tanque de agitación al cual se le debe de añadir sulfato de aluminio con una unidad de flotación. Un flotador trabaja satisfactoriamente solo si una unidad de descompresión de aire se instala, en este aspecto se debe tomar en cuenta la velocidad, presión y tamaño de la burbuja para obtener resultados satisfactorios.

Otros puntos de vista, además de los costos que deben considerarse para elegir entre un sistema u otro, es que una centrífuga es fácil de arrancar y siempre proporciona la misma calidad de producto, su eficiencia no estará influenciada por diferencias en el medio de cultivo, cambio de clima, falla del suministro de CO₂ u otros factores que afectan las propiedades fisico-químicas y de superficie de la alga. Sin embargo se debe mencionar que una centrífuga, especialmente cuando se arranca con un valor alto de penetración, no clarifica en un 100%. Además, muchas de las algas tienen un cierto grado de rompimiento o rupturas cuando se cosechan con el sistema de centrifugación.

A diferencia de la centrifugación, la floculación/flotación pueden llevarse a cabo en cualquier lugar, las células algales no se destruyen y por lo tanto pueden almacenarse durante largo tiempo después de su procesamiento. También puede ser posible drenar la parte flotante utilizando filtros o coladeras o por medio de un decantador. Si se corre apropiadamente, la eficiencia del sistema de floculación/flotación es más alta que la del sistema de centrifugación. La mayor

desventaja del sistema floculación/flotación es que este método es más complicado de manejar. La calidad fluctúa a influencias exteriores, lo que causa varios problemas, por lo cual se requiere tener un equipo experimentado y con intuición para manejar dichos sistemas, ya que frecuentemente es necesario encontrar una concentración o combinación óptima del floculante. Otro problema de este método de cosecha es la contaminación química de la biomasa concentrada, así como del filtrado. Por ejemplo, el uso de 150 ppm de floculante, llevará a una porción química del 35% del total, si el cultivo tiene una concentración de peso seco de 400 mg L^{-1} .

Finalmente, otro punto, el cual a menudo no se toma en cuenta, necesita una atención especial, la cantidad que persiste de los floculantes de aquella porción del medio que es reciclado hacia el cultivo después de la separación del alga. Además de los componentes de aluminio y hierro, otros floculantes son sustancias orgánicas que a menudo están compuestas de polisacáridos, los cuales son fácilmente degradables por microorganismos. En plantas de grandes proporciones, con pasos de cosecha repetidos que utilizan el mismo cultivo, cantidades considerables de floculantes se acumularán en el medio, esto proporciona un substrato apropiado para el crecimiento de bacterias y otros microorganismos heterótrofos no deseables en el medio inicialmente inerte. Este riesgo puede minimizarse, más no evitado, por medio de reemplazar por lo menos una parte del medio. Sin embargo, este procedimiento representa un factor de costo adicional, porque el agua y todos los nutrientes tienen que reemplazarse. Basándose en los anteriores puntos de vista, se puede apreciar que se tienen más problemas utilizando el sistema de floculación/flotación, es por ello que en este momento la centrifugación es el método más confiable para la cosecha de la alga *Dunaliella sp.*

CAPÍTULO VI.
DISEÑO DEL BIORREACTOR

VI.1 ESPECIFICACIONES GENERALES

Aunque en el diseño de un biorreactor se parte de las siguientes variables: estequiometría y cinética de la reacción, variables importantes para entender el comportamiento del biorreactor, en este trabajo se partirá del siguiente valor:

250 mg/m² día de β-caroteno

Valor que indica la productividad máxima de “β-caroteno”, este valor lo propone (Borowitzka, 1988; Cresswell, 1989). Tal proposición se hace con la finalidad de realizar un cálculo más preciso, ya que este valor se ha comprobado a nivel industrial (Particularmente en Australia).

Aclarado lo anterior, también se dan valores adicionales a fin de entender o saber que variables están relacionados con el valor que se propuso y que proponen (Borowitka, 1988; Cresswell, 1989).

- El contenido de pigmento en la microalga *Dunaliella sp.* es de 5 %.
- Una eficiencia de conversión de luz de 3%.
- Tomando el valor de 250 mg/m² día se tiene de 10 g y 5 g de peso seco de alga /m² día.
- Productividad máxima de 20 g de *Dunaliella sp.* m⁻² día⁻¹
- Concentración algal de 300 a 500 mg/litro.
- La profundidad recomendada para el cultivo de *Dunaliella sp.*, esta en el rango de 10 a 20 cm (Borowitzka, 1988), para este proyecto se tomará el valor de 20 cm.

- El material de construcción será cemento liso, para darle forma al biorreactor tanto en la longitud como en lo ancho, así como las paredes.
- Para recubrir el biorreactor se utilizará PVC resistente a los rayos UV, este material se utilizará por ser resistente a la corrosión causado por el cultivo, así como el recubrimiento del fondo del biorreactor, factor importante para evitar formación de lodo y una posible contaminación del cultivo que tiene un valor de $n = 0.008$.
- Comparando los distintos tipos de biorreactores presentados en el capítulo III, se propone utilizar el siguiente biorreactor: el biorreactor de forma oblonga tipo laberinto (meander), el cual se muestra en la figura 3.14 (Elaborado por Märk & Matern). Se elige este tipo de biorreactor ya que se puede controlar mejor, porque se puede convertir a una sola unidad evitando la posible contaminación a todo el biorreactor.
- La alimentación del sustrato carbono será como CO_2 ambiental en forma gaseosa, esta alimentación se llevará a cabo con la ayuda de un inyector modificado. El cual se muestra en la figura 4.2.
- La temperatura adecuada para el cultivo de la microalga será entre el siguiente rango $25\text{ }^\circ\text{C} - 35\text{ }^\circ\text{C}$, siendo la temperatura óptima de $32\text{ }^\circ\text{C}$.
- El pH óptimo de crecimiento de la microalga *Dunaliella sp.* se encuentra en el rango de 7-9.

VI.2 DIMENSIONAMIENTO DEL BIORREACTOR

El diseño del biorreactor se llevará a cabo en la Península de Baja California, ya que esta zona cuenta con todos los medios para que la microalga *Dunaliella sp.* crezca en

una forma apropiada. En la figura 6.1 se muestra una propuesta de la ubicación de cada equipo en una planta que realizará la producción de “ β -caroteno”.

El diseño del biorreactor se basa en la producción de 1000 kg de “ β -caroteno” al año, y el tipo de biorreactor que se diseñará es de forma oblonga y de tipo laberinto (meander) como el que se muestra en la figura 3.14 del capítulo III. Ya que este tipo de biorreactor puede utilizarse tanto para cultivar la microalga *Dunaliella sp.* en forma industrial, como posibles experimentos para obtener mayor rendimiento del cultivo, porque este tipo de biorreactor se puede convertir en una sola unidad tipo canal, esta ventaja también se puede aprovechar para un posible escalamiento a nivel industrial de un nuevo medio de cultivo porque cada biorreactor tiene 5 unidades tipo canal para llevar a cabo el escalamiento.

Primeramente, se calculará el volumen total requerido, para cultivar la microalga *Dunaliella sp.* para obtener 1000 kg de “ β -caroteno”. Partiendo de este valor de 1000 kg de “ β -caroteno” se realizan los siguientes cálculos:

1000 kg de β -caroteno/año

250 mg de β -caroteno/m² día

Realizando factores de conversión quedan de la siguiente manera:

1000 Kg/año (1000 g/1 kg) = 1 X 10⁶ g/año

250 mg/m² día (1 g/1000 mg) (365 días/año) = 91.25 g/ m² año

Dividiendo la productividad que se desea entre la productividad máxima de “ β -caroteno” se obtienen los m² del biorreactor.

$$\frac{1 \times 10^6 \text{ g/año}}{91.25 \text{ g/m}^2 \text{ año}} = 10\,958.9 \text{ m}^2$$

Proponiendo un biorreactor con las siguientes dimensiones:

- 100 m de longitud
- 20 m de ancho
- 20 cm de profundidad (propuesta por Borowitzka)

Entonces el área del biorreactor tendría 2000 m^2 , y si se toma en cuenta la profundidad (20 cm o 0.2 m) para calcular el volumen del biorreactor entonces se tendría un biorreactor de 400 m^3 , para una unidad. Por lo tanto se necesitan otros 5 biorreactores para satisfacer los m^2 que se calcularon. Por consiguiente se necesita construir 6 biorreactores de 2000 m^2 cada uno.

El dimensionamiento del biorreactor se muestra en la figura 6.2.

VI.3 SUMINISTRO DE CO_2

El suministro de CO_2 , se realizará con CO_2 ambiental por medio de un inyector modificado, como el que se muestra en la figura 4.2. Este inyector llevara a cabo una transferencia activa de gas a través de pequeñas burbujas (1 mm de diámetro promedio) hacia el medio de cultivo, no tendrá el caparazón de plástico transparente ya que el suministro de CO_2 se realizará en el fondo del biorreactor y se colocarán en cada extremo de cada canal del biorreactor para evitar la deposición y sedimentación de la alga, ver figura 6.3.

Además el suministro de CO_2 se realizara asumiendo una productividad máxima de 20 g de *Dunaliella sp.* $\text{m}^{-2} \text{ día}^{-1}$ de β -caroteno, la demanda de CO_2 para mantener esta productividad (asumiendo que las cantidades de carbono a 50 % del peso seco algal

libre de cenizas, ver Goldman, 1979b; Lee, 1984) será de $20 \times 0.5 \times 29/12 = 24.2$ g de aire $\text{m}^{-2} \text{ día}^{-1}$, o 24.2 kg día^{-1} , para un biorreactor comercial de 1000 m^2 . Por lo tanto si tenemos un biorreactor de 2000 m^2 (área del biorreactor que se calculó anteriormente) se tiene que suministrar 48.4 kg día^{-1} de aire a cada biorreactor, si tenemos 6 biorreactores entonces se necesitarán $290.4 \text{ Kg de aire día}^{-1}$, la presión a la que el aire debe salir es de 0.5 bar para evitar el daño a las células, el diámetro de la burbuja debe de ser de 1 mm (Cresswell, 1989; Borowitzka, 1989; Ben-Amotz, 1989).

El suministro de aire se realizará mediante 2 compresores, cada uno de los cuales suministrará aire a tres biorreactores por medio de un cabezal principal.

En la figura 6.3 se muestra un posible establecimiento de los sistemas hidráulicos y mecánicos de un sólo biorreactor.

VI.4 MATERIALES DE CONSTRUCCION

Los materiales de construcción del biorreactor son las siguientes:

Cemento: sólo para dar forma exterior del biorreactor, lados, extensión y paredes del mismo.

PVC resistente a rayos UV: para el recubrimiento del biorreactor en su área total, este recubrimiento debe de ser de tipo membranoso, que evite la pérdida del medio y la formación de lodos durante la agitación, resistente a químicos, duro pero elástico y no tóxico.

VI.5 SUMINISTRO DE NUTRIENTES

La *Dunaliella sp.* crece bien en un medio estrictamente inorgánico, sin requerimientos de ningún factor orgánico. A continuación se dan los principales nutrientes que se necesitan para el cultivo de la microalga *Dunaliella sp.*

Nitrógeno

La *Dunaliella sp.* puede usar ya sea nitrato, amoníaco o urea como una fuente de nitrógeno, ya que el amoníaco es tóxico cuando se usa a concentraciones que exceden los 5mM, particularmente cuando el pH excede de 8 (ver Abeliovich y Azov, 1976; Azov y Goldman, 1982), y una fuente de carbono orgánico como el suministro de urea estimula el crecimiento de heterótrofos, es por ello que se prefiere la fuente de nitrógeno a partir de nitratos en el medio de cultivo, alrededor de 5mM de nitrato se requieren para el crecimiento máximo de *Dunaliella sp.* bajo condiciones específicas.

La producción máxima de “ β -caroteno” en la *Dunaliella sp.* se observa cuando la intensidad de luz es máxima y la velocidad de crecimiento se limita, un medio conveniente para limitar la velocidad de crecimiento para maximizar la producción de “ β -caroteno” es limitando el suministro de nitrógeno.

Fósforo

Se requieren concentraciones relativamente bajas de fosfato inorgánico, por debajo de 0.1 mM, para el crecimiento óptimo de la *Dunaliella sp.*

La presencia combinada de calcio y fosfato en los biorreactores de cultivo, particularmente cuando el pH excede de 8, puede realizarse con una precipitación de Ca_3PO_4 y floculación algal (Sunenik y Shelef, 1984). De este modo la concentración de fosfato se debe de mantener relativamente bajo en los biorreactores y su nivel se debe de monitorear en una forma frecuente.

Sulfato

La *Dunaliella sp.* requiere de una concentración de sulfato relativamente alto para el crecimiento máximo, alrededor de 2mM. Ya que esta presente en el agua de mar (aproximadamente 30 mM), rara vez se necesita añadirse al medio de cultivo.

Magnesio

Se requiere de magnesio para el crecimiento óptimo en aproximadamente 1mM, pero no es tóxico aún a 300mM. El magnesio está presente en el agua de mar en una concentración de 50 mM. Si el pH aumenta por encima de 9 tienden a precipitar tanto el $Mg(OH)_2$ como el $MgCO_3$.

Otros

Se requiere potasio para el crecimiento óptimo a un valor de aproximadamente de 1mM. El agua de mar contiene aproximadamente 10 mM de K^+ , por lo tanto no se requiere suministrar potasio al medio de cultivo.

Se necesita 0.1 mM de calcio para el crecimiento óptimo. El agua de mar contiene aproximadamente 10 mM de calcio, por lo tanto no se necesita suministrar calcio al medio de cultivo.

El medio de cultivo de *Dunaliella sp.* usualmente contiene $FeCl_3$ en un complejo quelado, usualmente con EDTA en alrededor de 1 mM. La necesidad básica de hierro para la alga es para los distintos procesos metabólicos. El exceso de $FeCl_3$ por encima de 50 μM se encontró no ser tóxica hacia la *Dunaliella sp.* bajo concentraciones diferentes de NaCl (0.5-4 M).

Cuatro micronutrientes son necesarios para el crecimiento de *Dunaliella sp.* manganeso, cinc, cobalto y cobre. Estos normalmente se adicionan en el rango micromolar (alrededor de 5, 1, 0.1, y 0.01, respectivamente). En muchos medios que contienen agua de mar la adición de estos micronutrientes son innecesarios ya que esta los contiene.

Con base a lo anterior se puede modificar el agua de mar para que esta contenga los principales elementos para que la microalga *Dunaliella sp.* crezca en forma apropiada.

La siguiente tabla muestra un medio de cultivo simplificado para la microalga *Dunaliella sp.*

Tabla 6.1 Medio de cultivo simplificado para la *Dunaliella sp.*

| | |
|----------------------------|--|
| Agua de mar | 1 L ⁻¹ |
| NaCl | 150 g L ⁻¹ |
| Guano | 20 mg L ⁻¹ (como PO ₄ ³⁻) |
| Salitre | 450 mg L ⁻¹ (como NO ₃ ⁻) |
| Bicarbonato de sodio | 500 mg L ⁻¹ (como HCO ₃ ⁻) |
| Solución al 10% de Fe EDTA | 0.1 ml L ⁻¹ |

Fuente: Becker E.W. *Microalgae Biotechnology and Microbiology* (1994)

Con base a la tabla y con los m³ del biorreactor se puede modificar el medio de cultivo de la siguiente manera, ya que este medio de cultivo simplificado tiene el siguiente valor de M:

$$M = \frac{\text{mol de soluto}}{\text{L de solución}} = \frac{\frac{\text{g soluto}}{\text{g/mol}}}{\text{L de solución}} \quad (6.1)$$

Realizando las operaciones correspondientes se obtiene el valor de 2.5 M

Comparando este valor con la de la gráfica 1.1, se observa que no se tiene ni la concentración ni el % de sal adecuados para llevar a cabo el crecimiento de la *Dunaliella sp.* en el medio de cultivo. Por lo tanto, se realiza un despeje de los gramos que se necesitan de la fórmula 6.1 y realizando las operaciones se obtiene un valor de 58 g de NaCl para que el medio de cultivo este a un valor de 1M. tomando este valor de 58 g, se observa que se tiene un valor de 5.8 % de sal en el medio de cultivo. Valores que son los adecuados para llevar a cabo el crecimiento de la microalga *Dunaliella sp.*

Por consiguiente el medio de cultivo simplificado para la *Dunaliella* sp. queda de la siguiente manera:

- 58 g L⁻¹ de NaCl
- 20 mg L⁻¹ de Guano (como PO₄³⁻)
- 450 mg L⁻¹ de Salitre (como NO₃⁻)
- 500 mg L⁻¹ de Bicarbonato de sodio (como HCO₃⁻)
- 0.1 ml L⁻¹ de solución al 10% de FeEDTA.

Por lo tanto para un solo biorreactor con un volumen de 400 m³ se necesitan las siguientes cantidades de nutrientes:

- NaCl = 23 200 kg = 23.2 toneladas
- Guano = 8 kg
- Salitre = 180 kg
- Bicarbonato de sodio = 200 kg
- Fe EDTA = 40 litros

Multiplicado por 6, que son el número de biorreactores, se tienen las siguientes cantidades:

- 139.2 toneladas de agua con NaCl
- 48 kg de guano
- 1080 kg de salitre
- 1200 kg de bicarbonato de sodio
- 240 litros de Fe EDTA

Estas cantidades son tomando en cuenta el tiempo de residencia de 10 días para una concentración de (1 M NaCl \approx 6 %) ver gráfica 6.1, utilizando un día para limpieza del biorreactor y otro para el ajuste del pH, temperatura y nutrientes para el nuevo cultivo, se tiene que utilizar 12 días para obtener un cultivo completo de la microalga *Dunaliella*

sp. Por lo tanto este período de tiempo se debe de dividir entre 365 días para obtener el número de cultivos que se obtendrían al año, el número de cultivos es de 30, esta cantidad se multiplica por las cantidades individuales de los nutrientes para obtener la cantidad anual de nutrientes que se va a necesitar. Obteniendo las siguientes cantidades:

4176 toneladas de NaCl

1440 kg de guano

32 400 kg de salitre

36 000 kg de bicarbonato de sodio

7200 litros de Fe EDTA

VI.6 AGITACIÓN

Aunque en un medio de cultivo se necesita una agitación moderada, en este proyecto se omite tal mecanismo ya que si se toma en cuenta aumentaría el costo del diseño del biorreactor con la instalación de varias paletas, a cambio de esto se aprovechará el impulso que suministra el aire que sale del inyector, a su vez también se aprovechará la capacidad de movilidad de la célula, ya que cuenta con dos flagelos para llevar a cabo tal movimiento.

VI.7 BOMBEO DE AGUA DE MAR

El bombeo de agua de mar hacia el biorreactor se realizará mediante una bomba centrífuga, ya que esta suministra líquido a presiones uniformes, además de poder manejar líquidos con grandes cantidades de sólidos en suspensión.

El sistema hidráulico (en la periferia del biorreactor) contará con un filtro, el cual se encargará de no dejar pasar los sólidos en suspensión que contiene el agua de mar. Los tanques donde se almacenara el agua de mar (de 420 m³), así como las tuberías estarán elaborados de plástico (caso concreto PVC) debido a que el agua de mar contiene un

alto contenido de sales, las cuales deteriorarían las tuberías y tanques si son de otro material que no resista la corrosión provocada por las sales.

Los tanques se ubicarán con una pendiente positiva con respecto a los biorreactores, ya que esta colocación servirá para aprovechar la fuerza de gravedad para suministrar el agua de mar, así como el medio de cultivo. En general, el tanque para almacenar el agua de mar, tanque de ajuste (pH y concentración), tanque de almacenamiento de la cepa y tanque de medio de cultivo tendrán una pendiente positiva para aprovechar la fuerza de gravedad, realizando esta ubicación se pretende ahorrar energía (especialmente en el bombeo).

Figura 6.1 Propuesta de la ubicación de cada equipo en una planta que realizará la producción de “β-caroteno”.

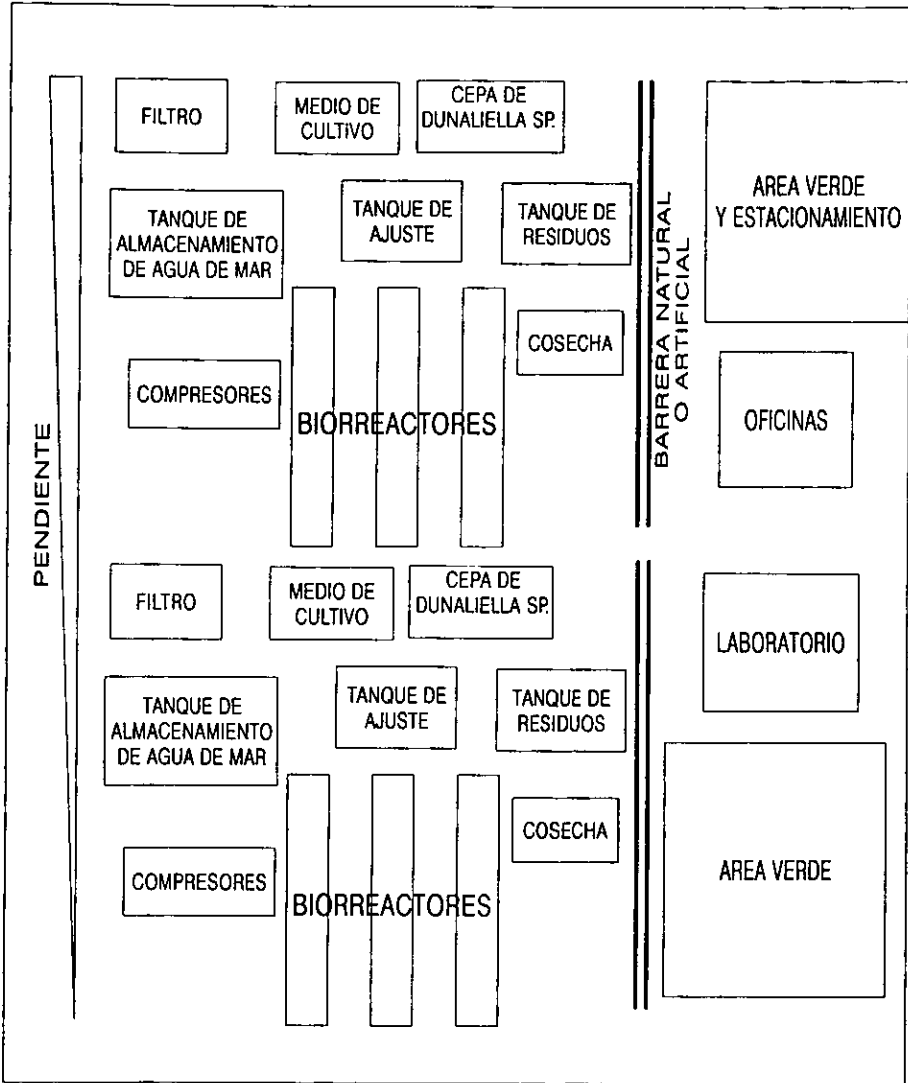


Figura 6.2 Dimensiones del Biorreactor (ancho, longitud y profundidad), en una vista superior y en una vista que muestra la profundidad del mismo.

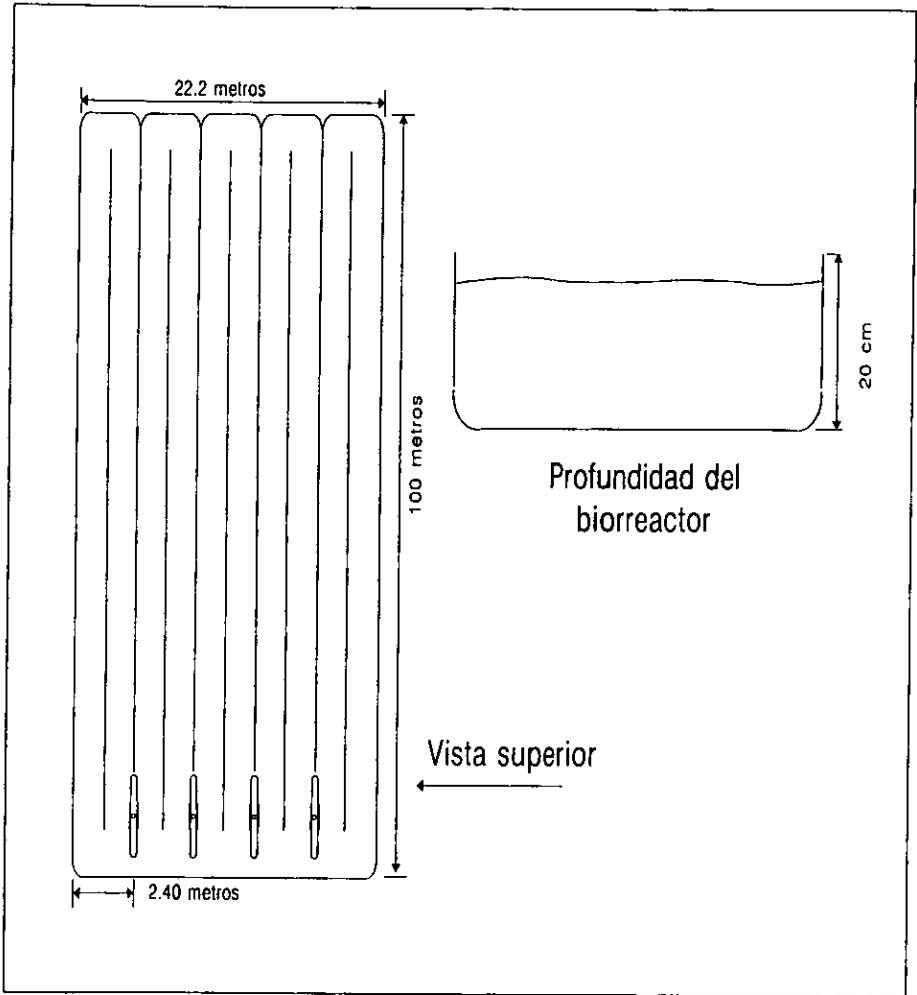
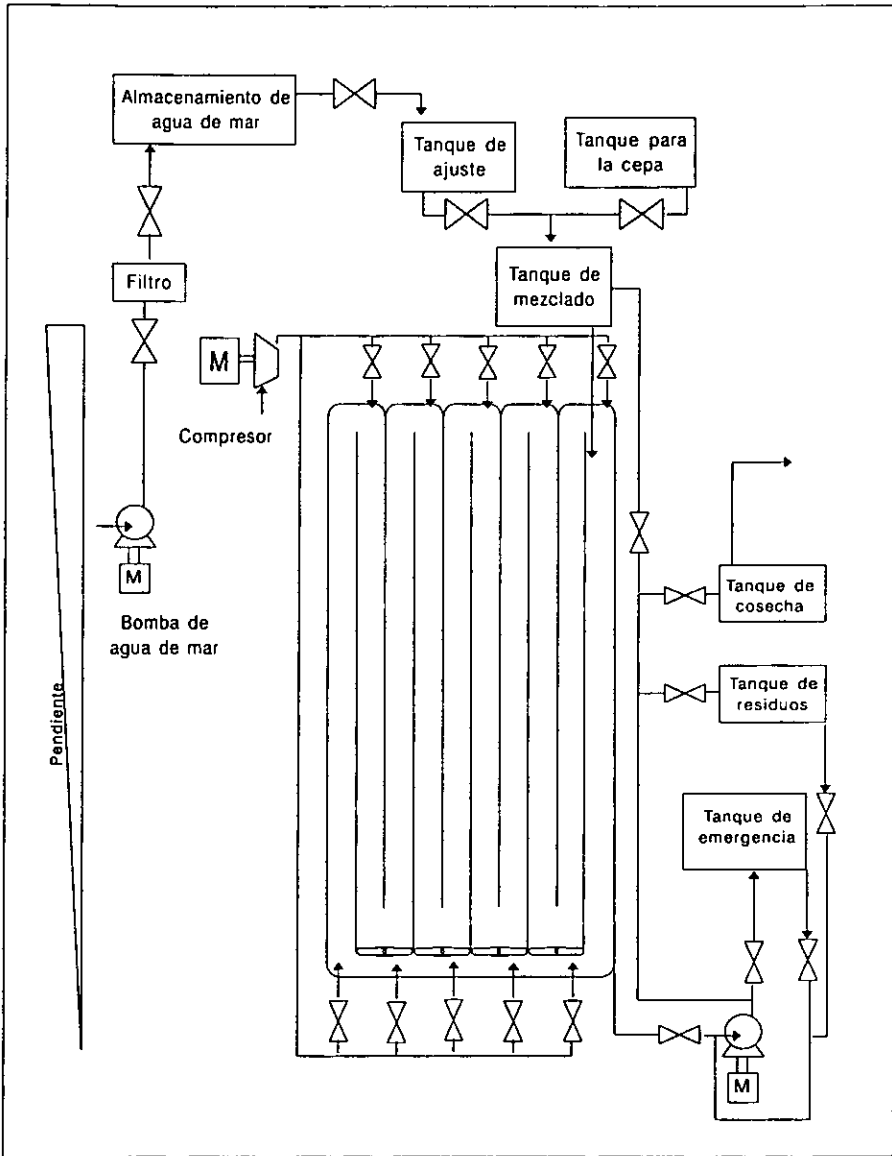


Figura 6.3 Establecimiento de los sistemas hidráulicos y mecánicos de un solo biorreactor



CONCLUSIONES

Con base al trabajo realizado, se propone utilizar el diseño del biorreactor de forma oblonga, tipo laberinto (meander) en la Península de Baja California para producir 1000 kg de "β-caroteno" por año, ya que esta zona cuenta con todos los medios climáticos para la producción de la microalga *Dunaliella sp.*, además de ofrecer ventajas tanto en lo económico como en lo operacional.

Utilizando una productividad máxima de β-caroteno de 250 mg/m² para obtener 1000 kg de "β-caroteno" por año se debe de tener un biorreactor de 10 958.9 m², esta extensión es extremadamente grande para construir un solo biorreactor, ya que los problemas técnicos para suministrar el CO₂ así como los problemas hidráulicos serían una gran limitante para cultivar la microalga, es por ello que se proponen .6 biorreactores, cada uno de los cuales con las siguientes dimensiones: 100 m de longitud, 20 m de ancho y 0.2 m de profundidad. Para tener un volumen de 400 m³ para cada biorreactor.

La construcción del biorreactor es de bajo costo, ya que se puede construir con materiales que existen en el mercado: cemento, tabiques etc. materiales que sólo darán la geometría del biorreactor, ya que el recubrimiento o lineamiento se realizará con un plástico de PVC ya que previene la pérdida del medio y evita la formación de lodo durante la agitación, es resistente a químicos y a rayos UV, es duro pero elástico a varias temperaturas, no es tóxico y es fácil de juntar y sellar.

En este proyecto no son necesarias bombas como medio de agitación porque en ocasiones fallan, lo que provocaría pérdida del medio en forma de inundaciones, es por ello que el medio de agitación que se utilizara será por medio de un inyector modificado. Además se ahorrará la energía que se proporcionaría si se utilizan paletas para llevar a cabo la agitación, ya que se aprovechará la ventaja de que la microalga *Dunaliella sp.* tiene flagelos, lo que le permite una gran movilidad en toda la extensión del biorreactor.

Un aspecto importante en la obtención de "β-caroteno" es el método de cosecha, etapa fundamental para disminuir los costos de obtención del "β-caroteno" en una forma pura, esta etapa se puede realizar por medio de diferentes métodos: filtración, floculación, flotación, centrifugación o por medio de un decantador.

Analizando cada uno de estos métodos de cosecha se concluye que el más apropiado para cosechar la microalga *Dunaliella sp.* es la centrifugación, método ya establecido a nivel industrial. Por lo tanto si se tiene un buen método de cosecha se beneficiaría la venta del pigmento a un precio mucho mayor que el que se obtiene de una forma impura, el precio podría variar hasta en un 100 %, pero desafortunadamente estos métodos de cosecha sólo se realizan en países industrializados.

Es por ello que se hace la sugerencia de llevar a cabo un desarrollo de proyectos enfocados a métodos de cosecha de la microalga *Dunaliella sp.*

Otro aspecto a subrayarse es que este tipo de producción puede ser continuo, a diferencia de otros medios de extracción que son por temporada: tuna roja (su tiempo de cultivo es en promedio de tres meses) y aceite de palma (el cual contiene un 0.1 % de β-caroteno) haciéndolo de esta manera más atractivo para su producción, si a esto le agregamos que a últimas fechas los carotenoides son cada vez más usados en tecnología alimentaria, especialmente ante las presiones ciudadanas contra los colorantes artificiales. Esto es especialmente notable en el caso de bebidas refrescantes, por lo cual se llega a la conclusión que sería de gran utilidad la obtención de β-caroteno utilizando este tipo de biorreactor.

BIBLIOGRAFIA

1. Becker E. W. (1994) **Microalgae Biotechnology and Microbiology**. Ed, Cambridge *Studies in Biotechnology*. pp. 63-127, 142,-160, 177-180
2. Ben-Amotz, A., and Avron, M., (1989) **The Biotechnology of mass culturing Dunaliella for products of commercial interest**, *Algal and Cyanobacterial Biotechnology*, Longman, New York pp. 91-114
3. Ben-Amotz, A., and Avron, M., (1990) **The Biotechnology of cultivating the halotolerant algae Dunaliella**, *Trends Biotechnology* 8: 121-26Oswald, W. J. (1988) **Large scale algal culture systems (Engineering aspects)** *Micro-algal Biotechnology*, Cambridge University press pp. 357-394
4. Ben-Yakov, Guterman, S. H. Vonsahk, A. and Richmond A. (1985) **An automatic method for on-line estimation of the photosynthetic rate in open algal ponds algal**, *Biotechnology Bioeng.* 27. 1136-1145
5. Benemann, J. R., Tillett D. M. Weissman, J. C. (1987) **Microalgae biotechnology**. *Trends Biotechnol.* 5: 47-53
6. Borowitzka, L.J., Borowitzka, M.A. and Moulton, T.P. (1984) **The mass culture of Dunaliella salina for fine chemicals: from laboratory to pilot plant**, *Hydrobiology*, 116/117, 115-121
7. Borowitzka, L.J., and Borowitzka, M. A., (1988) **Dunaliella, Microalgal Biotechnology**, Cambridge University press, pp. 27-58

8. Carrillo et. al. (1994) Tesis: **Efecto de algunos factores ambientales sobre el cultivo de *Dunaliella sp.*** Tesis CINVESTAP, México, Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. pp. 2-20
9. Cresswell R.C., Rees T.A. Shah V. N., (1989) **The Biotechnology of mass culturing *Dunaliella* for products of comercial interest.** *Algal and Cyanobacterial Biotechnology.* Longman Scientific and Technical. pp. 91-114
10. Dodd J.C. (1986) **Some design appoches to microalgae culture ponds,** *Applied Phycol.* Forum 2: 121-126
11. Ghazi, A., de Lumen, B.O & Ostwald, W.K. (1985) **Comparative bioavailability of beta-caroteno from *Dunaliella salina*, *Dunaliella bardawil*, carrot extract and synthetic beta-caroteno.** *Agriculture and Food Chemistry.*
12. Goldman, J. C. (1979b) **Outdoor algal mass culture.** II. Photosynthetic yield limitations, *Wat. Res.* 13: 119-36
13. Gordon, H, T., Bouernfeind, J.C. (1982). **Carotenoids as food colorants.** Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 18, 59.
14. Laws E.A. Terry K.L. Wickman J. Chalup M.S. (1983) **A simple algal production system designet to utilize the flashing light effect.** *Biotechnology. Bioeng* 25:2319-35
15. Lazar B, Starnok A, Sass E, Ben-Yaakov S (1983) **The carbonate system in hipersaline solutions: alkalinity and CaCO_3 solubility of evaporated sea water,** *Limno, Oceanogr.* 28:978-86
16. Lee, Y K and Pirt, S.J. (1984) **CO_2 Absortion rate in an algal culture; effect of Ph** *J. Chem. Technol. Bioetecnology* 34B: 28-32

17. Loeblich, L.A. (1982) **Photosynthesis and pigments influenced by light intensity and salinity in the halophile *Dunaliella salina*** (Chlorophyta) *Journal of the marine Biological Association*, UK, 62 493-508
18. Mohn, F.H. (1980) **Experiences and strategies in the recovery of biomass from mass cultures of microalgae.** In *Algae Biomass*, ed. G. Shelef & C.J. Soeder, pp. 547-71, Amsterdam: Elsevier/North Holland Biomedical Press
19. Moulton, T. P., Borowitzka, L. J. And Vincent, D. J., (1987) **The mass culture of *Dunaliella salina* for beta-caroteno: from pilot plant to production plant,** *Hidrobiología*
20. Oswald, W.J. (1978) **The engineering aspects of microalgae.** *CRC Handbook of Microbiology*, ed. A.L. Lasking, pp 519-52. Boca Ratón.
21. Oswald W.J. (1988) **Large scale algal culture systems (Engineering aspects)** *Microalgal Biotechnology*, Cambridge. University Press pp 357-94
22. Park -DH, Ruy-HW, Lee-KY, Kang-CH, Kim-TH, Lee-HY (1998) **The production of hydrocarbons from photoautotrophic growth of *Dunaliella salina*-1650,** *Applied Biochemistry and Biotechnology* 70, pp 739-746
23. Pirt S.J. (1983) **Maximum photosynthetic: a problem to be resolved,** *Biotechnology Bioeng* 24: 1915-22
24. Wilson, PDG. Hilton, M.G. Waspe, C.R. Steer, D.C. Wilson D.R. (1997) **Production of C-13 labelled β -caroteno from *Dunaliella salina*** *Biotechnology letters*, 401.

-
25. Richmond, A., (1986) **Outdoor mass culture of microalgal.** In *CRC Hanbook of microalgal mass cultures*, CRC press, Boca Ratón, pp. 285-329

 26. Silva, H. Cortiñas, J. T. and Ertola, R.J. (1987) **Efecct of hidrodynamic stress on Dunaliella growth,** *Journal Chem. Technology. Biotechnology* 40: 41-49

 27. Yamaoka, Y. Takimura, O. Fuse, H. Kamimura, K, Murakami, Veda, KS. Saiki, M. (1997) **β -caroteno production by Dunaliella salina using boron-glass powder conteining iron,** *Journal of the Ssociety for Fermentation and Bioengineering*