



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**SEPARACIÓN DE MICROALGAS POR
OZOFLOTACIÓN EN UN REACTOR TIPO
ESPUMADOR PARA LA PRODUCCIÓN DE
BIODIESEL**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERA QUÍMICA**

PRESENTA

VERÓNICA RODRÍGUEZ MUÑIZ



MÉXICO, D.F.

2015



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor: José Landeros Valdepeña**
VOCAL: **Profesor: Alfonso Durán Moreno**
SECRETARIO: **Profesora: María Teresa Orta Ledesma**
1er. SUPLENTE: **Profesor: Óscar Hernández Meléndez**
2do. SUPLENTE: **Profesor: Carlos Alberto Sagredo Suazo**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO DE INGENIERÍA AMBIENTAL, EDIFICIO 5, INSTITUTO DE
INGENIERÍA, UNAM

ASESOR DEL TEMA:



DRA. MA. TERESA ORTA LEDESMA

SUPERVISOR TÉCNICO:



DR. IGNACIO MONJE RAMÍREZ

SUSTENTANTE:



VERÓNICA RODRÍGUEZ MUÑIZ

ÍNDICE

| | |
|--|------|
| ÍNDICE DE FIGURAS | V |
| ÍNDICE DE TABLAS | VI |
| ABREVIATURAS | VII |
| RESUMEN | VIII |
| OBJETIVOS | IX |
| HIPÓTESIS | IX |
| 1. MARCO TEÓRICO | 1 |
| 1.1 Problemática energética mundial | 1 |
| 1.2 Problemática energética en México | 2 |
| 1.3 Energías renovables | 4 |
| 1.4 Biocombustibles | 6 |
| 1.5 Microalgas | 13 |
| 1.6 Ventajas del uso de microalgas | 16 |
| 1.7 Producción de biodiesel a partir de microalgas | 17 |
| 1.7.1 Cultivo | 19 |
| 1.7.2 Cosecha | 24 |
| 1.7.2.1 Ozoflotación | 26 |
| 1.7.2.1.1 Reactor espumador | 29 |
| 2. METODOLOGÍA | 30 |
| 2.1 Muestreo y caracterización de agua residual | 31 |
| 2.2 Cultivo de microalgas | 31 |

| | | |
|-------|--|----|
| 2.3 | Diseño del reactor tipo espumador | 33 |
| 2.4 | Pruebas experimentales de ozoflotación | 34 |
| 3. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 38 |
| 3.1 | Obtención de biomasa microalgal mediante el cultivo de un consorcio del género <i>Scenedesmus</i> sp. en agua residual | 38 |
| 3.1.1 | Características fisicoquímicas del agua residual | 38 |
| 3.1.2 | Cultivo de microalgas | 40 |
| 3.2 | Separación de microalgas mediante ozoflotación en reactor espumador | 42 |
| 4. | CONCLUSIONES | 51 |
| 5. | REFERENCIAS | 53 |
| 6. | ANEXO ESTADÍSTICO | 62 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Producción mundial de energía primaria, 2011..... | 1 |
| Figura 2. Consumo final energético por sector y energético, 2012..... | 3 |
| Figura 3. Distribución del consumo mundial de energía renovable, 2010. | 5 |
| Figura 4. Producción de energía primaria en México, 2011 (9190.76 PJ). | 6 |
| Figura 5. Microalga del género <i>Chlorella vulgaris</i> | 13 |
| Figura 6. Esquema del proceso de generación de biodiesel a partir de microalgas. | 18 |
| Figura 7. Fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. a) Estanque tipo circuito b) Reactores de placa plana c) Reactores tubulares inclinados d) Reactores tubulares continuos..... | 20 |
| Figura 8. Mecanismo de asimilación del nitrógeno en las células de las microalgas. | 23 |
| Figura 9. Reacción del ozono con la microalga (Langlais, et al., 1991). 28 | |
| Figura 10. Espumador comercial..... | 29 |
| Figura 11. Metodología experimental..... | 30 |
| Figura 12. Cultivo <i>Scenedesmus</i> sp..... | 32 |
| Figura 13. Microalga del género <i>Scenedesmus</i> sp. | 32 |
| Figura 14. Sistema de oxidación. | 35 |
| Figura 15. Monitoreo del cultivo de microalgas. a) Gráfica en función a la absorbancia. b) Gráfica en función al pH. c) Gráfica en función a los SST. | 41 |
| Figura 16. Formación de espuma microalgal. | 42 |
| Figura 17. Desarrollo de una prueba de ozoflotación de microalgas. | 44 |
| Figura 18. Gráfica de Rendimiento vs Dosis de Ozono Aplicada (DOA). 50 | |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Oferta neta bruta por tipo de energético. | 2 |
| Tabla 2. Biocombustibles más empleados. | 8 |
| Tabla 3. Comparación entre distintas fuentes de materia prima para la producción de biodiesel en México (Garibay, et al., 2009). | 12 |
| Tabla 4. Composición química de microalgas expresada en porcentaje base seca (Becker, 1994). | 14 |
| Tabla 5. Contenido de lípidos en algunas especies de microalgas (Chisti, 2007). | 15 |
| Tabla 6. Características de cultivos abiertos y cerrados. | 20 |
| Tabla 7. Factores que influyen en el crecimiento de microalgas (Becker, 1988). | 21 |
| Tabla 8. Métodos más comunes para la cosecha de microalgas. | 25 |
| Tabla 9. Estudios de separación de microalgas por ozoflotación. | 27 |
| Tabla 10. Parámetros fisicoquímicos determinados en muestras de agua residual. | 31 |
| Tabla 11. Comparación de diferentes columnas usadas para la cosecha de microalgas. | 33 |
| Tabla 12. Diseño de experimentos. | 36 |
| Tabla 13. Caracterización fisicoquímica del agua residual. | 38 |
| Tabla 14. Resultados experimentales de pruebas de ozoflotación. | 45 |
| Tabla 15. Comparación de los resultados experimentales con otros autores. | 47 |
| Tabla 16. Intervalos de confianza de los coeficientes de la regresión. .. | 49 |

ABREVIATURAS

[Biomasa]₀: Concentración inicial de biomasa microalgal.

[O₃]: Concentración de ozono en fase gas.

μm: Micrómetros.

CO: Monóxido de carbono.

CO₂: Dióxido de carbono.

DOA: Dosis de ozono aplicada.

DOT: Dosis de ozono transferida.

MJ: Megajoules.

O₃: Ozono.

pH: Potencial de hidrógeno.

PJ: Pentajoules.

Q_{O₃}: Flujo de ozono.

SST: Sólidos suspendidos totales.

t: Tiempo de ozonación.

V: Volumen.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue separar microalgas cultivadas en agua residual mediante el proceso de ozoflotación en un reactor tipo espumador para la producción de biodiesel.

Para lograr dicho objetivo, se cultivó en agua residual microalgas del género *Scenedesmus* sp. obtenidas del lago Nabor Carrillo. Se diseñó el reactor tipo espumador y se realizó un diseño de experimentos 3^3 para determinar las condiciones de operación en las cuales se obtuviera la mayor cantidad de biomasa cosechada. Se aplicó una regresión multivariable, la cual relaciona la cantidad de biomasa cosechada como variable de respuesta contra la concentración de ozono en fase gas, el tiempo de ozonación y la concentración inicial de biomasa microalgal como variables independientes.

La máxima cantidad de biomasa cultivada fue de 520 mg/L al día 14, obteniéndose niveles de remoción de hasta 40% para nitrógeno y fósforo presentes en el agua residual.

El rendimiento máximo obtenido fue 21.12 mg biomasa/mg O_3 , el cual se obtuvo con las siguientes condiciones: $[O_3]$: 9.44 mg/L, t : 5 min, Q_{O_3} : 0.6 L/min, $[Biomasa]_0$: 758.33 mg/L y $V_{muestra}$: 1 L, siendo el tiempo de operación la variable que posee mayor importancia de acuerdo al análisis estadístico realizado.

De igual forma, se observó que a mayores concentraciones de biomasa microalgal inicial se necesitan aplicar bajas dosis de ozono para maximizar el rendimiento, lo cual favorece la ozoflotación como método de cosecha.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar la separación de microalgas cultivadas en agua residual mediante el proceso de ozoflotación en un reactor tipo espumador para la producción de biodiesel.

Objetivos específicos

- Implementar un reactor tipo espumador a escala laboratorio, para experimentar la separación de microalgas mediante el proceso de ozoflotación.
- Realizar pruebas de ozoflotación por lote, determinando las condiciones de operación del reactor (concentración de ozono en fase gas, tiempo de ozonación y concentración inicial de biomasa microalgal) en función del máximo rendimiento de biomasa cosechada.

HIPÓTESIS

Al realizar la cosecha de microalgas cultivadas en agua residual mediante el proceso de ozoflotación empleando un reactor tipo espumador, se mejorará la separación, aumentando el rendimiento de biomasa cosechada por miligramo de ozono aplicado.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Problemática energética mundial

En 2011, la producción mundial de energía primaria totalizó 13201.76 millones de toneladas equivalentes de petróleo (MMtep)¹, 2.6% mayor que en 2010 (Figura 1). Los países con mayor producción de energía primaria fueron China, Estados Unidos, Rusia, Arabia Saudita e India, con participaciones de 18.4%, 13.5%, 10.0%, 4.6% y 4.1%, respectivamente. México se situó en el duodécimo lugar, con 1.7% de la energía total producida en el mundo (SENER, 2012).

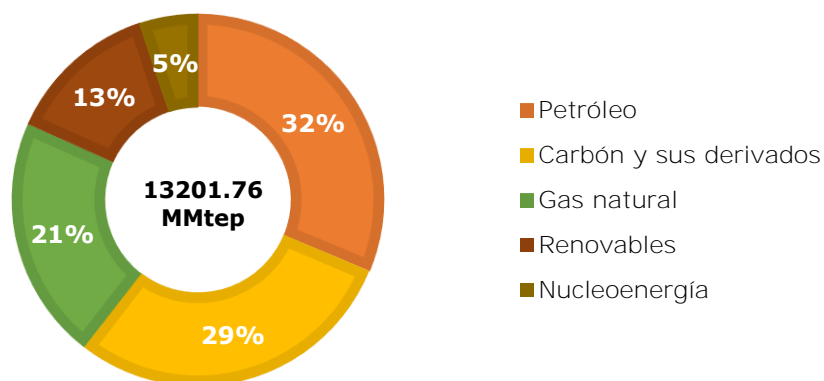


Figura 1. Producción mundial de energía primaria, 2011.

Los combustibles fósiles actualmente cubren el 80% de la demanda de energía primaria en el mundo, de la cual el 58% corresponde al sector transporte. Las fuentes de estos combustibles fósiles se están agotando,

¹ MMtep: Energía equivalente a la producida en la combustión de una tonelada de petróleo.

además de que su uso produce el aumento de emisiones de gases contaminantes, lo que conlleva a efectos negativos como el cambio climático, retroceso de los glaciares, aumento del nivel del mar y pérdida de biodiversidad (Nigam & Singh, 2011).

1.2 Problemática energética en México

El consumo de energía y la eficiencia energética son una creciente preocupación en México, ya que la generación de electricidad, las industrias y el transporte dependen principalmente de los combustibles fósiles. México cuenta solamente con el 0.8% de las reservas petroleras mundiales probadas, posicionándolo en el diecisieteavo lugar a nivel mundial (SENER, 2012).

Según datos de la Secretaría de Energía (SENER, 2012), de 2011 a 2012 el consumo nacional de energía incrementó aproximadamente 2% (Tabla 1).

Tabla 1. Oferta neta bruta por tipo de energético.

| | 2011 (PJ) | 2012 (PJ) | Variación porcentual (%) | Participación 2012 (%) |
|---------------------------|----------------------|----------------------|---|-----------------------------------|
| Carbón y coque de carbón | 605.71 | 566.38 | -6.49 | 6.42 |
| Gas natural y condensados | 3538.34 | 3624.09 | 2.42 | 41.11 |
| Petróleo y petrolíferos | 3752.47 | 3913.71 | 4.30 | 44.39 |
| Nucleoenergía | 106.39 | 91.32 | -14.16 | 1.04 |
| Renovables | 640.73 | 620.2 | -3.20 | 7.04 |
| TOTAL | 8643.64 | 8815.7 | 1.99 | 100.00 |

En la Tabla 1 se observa que el consumo de petróleo aumentó 4.3% en comparación con los demás combustibles fósiles, y posee la mayor participación respecto a las demás fuentes de energía.

El transporte es el sector que presenta mayor consumo energético, utilizando el 47% de la energía producida en 2012; sin embargo, mostró una disminución de 0.2% respecto a 2011 (Figura 2).

Por otro lado, el sector industrial presentó un aumento en el consumo de energía de 2.6% respecto a 2011, y es el segundo mayor consumidor de energía en el país.

Es importante destacar que los combustibles más empleados por todos los sectores son de origen petroquímico.

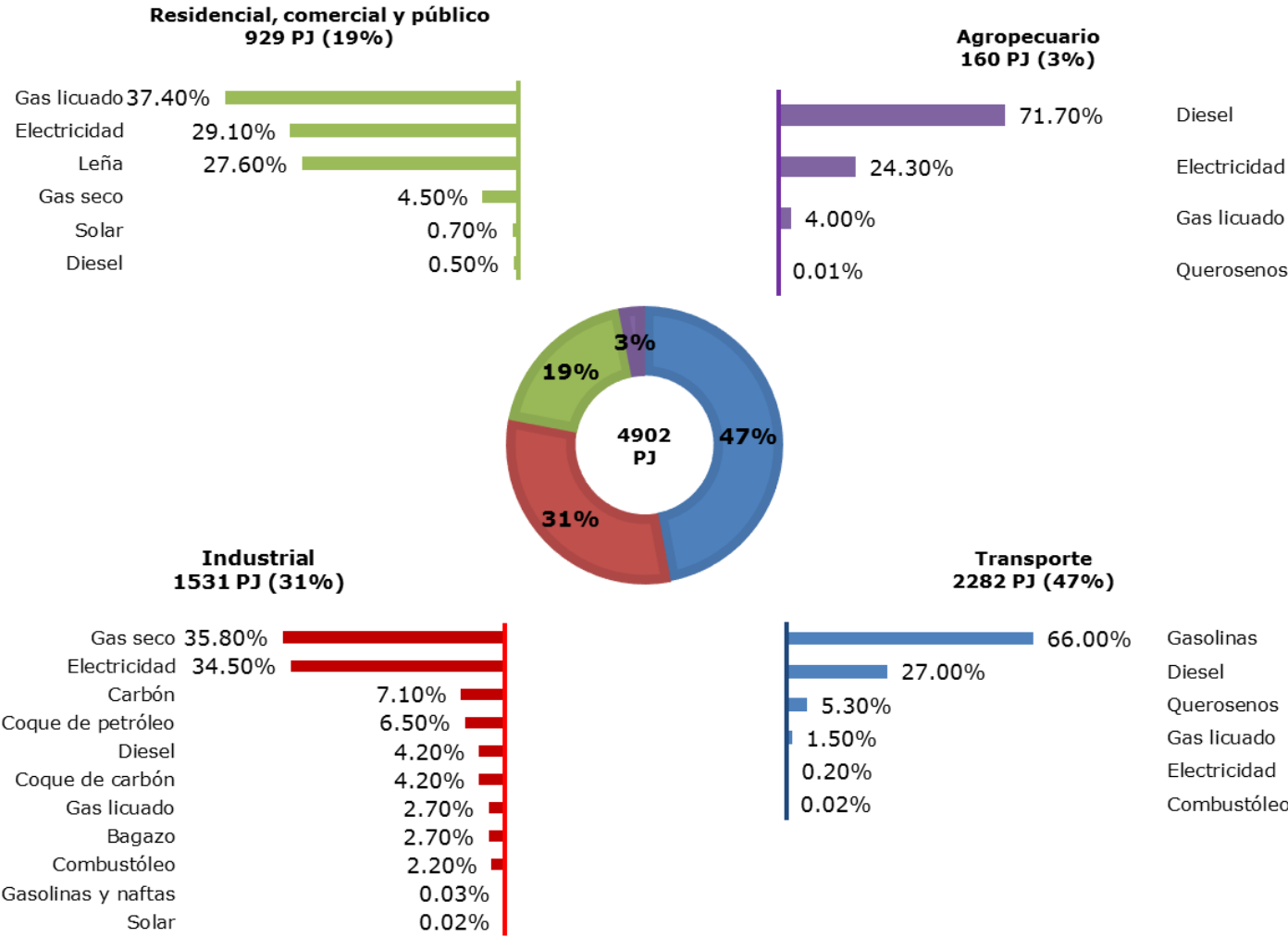


Figura 2. Consumo final energético por sector y energético, 2012.

1.3 Energías renovables

A pesar de que los combustibles fósiles atienden la mayor demanda de energía en el mundo (80.6% en 2010), las energías renovables cada vez juegan un papel más importante en la atención de estos requerimientos. La energía renovable consiste en energía que es producida o se deriva de fuentes que se renuevan indefinidamente, o de fuentes producidas de forma sostenible, tales como la biomasa.

De acuerdo a la fuente de la que provienen se clasifican en:

- a) Eólica: Energía del viento transformada en energía mecánica o eléctrica.
- b) Solar: Energía proveniente de la radiación solar.
- c) Geotérmica: Energía proveniente del núcleo de la Tierra en forma de calor.
- d) Hidráulica: Generación de electricidad a partir de energía producida por agua que fluye y cambia de nivel en forma natural o artificialmente.
- e) Biomasa: Son residuos que se obtienen de animales o vegetales, los cuales pueden ser aprovechados para su quema directa (generación de calor) o en su transformación a biocombustibles.

La energía solar es la de mayor potencial en el mundo con 60 terawatts (TW); en cambio, la hidráulica tiene 0.7 TW; la biomasa, 5 TW; la geotérmica, 0.6 TW, y la eólica de 2 a 4 TW (Gaceta UNAM, 2013).

Este tipo de energías tiene como ventaja la minimización del impacto ambiental, disminuyendo la generación de gases contaminantes y el cambio climático. Las energías renovables contribuyeron con el 16.7% del consumo mundial de energía primaria en 2010 (Figura 3), donde la biomasa y los residuos representan poco más del 10%, mientras que la

energía nuclear satisface tan sólo el 2.7% del consumo energético mundial (REN21, 2012).

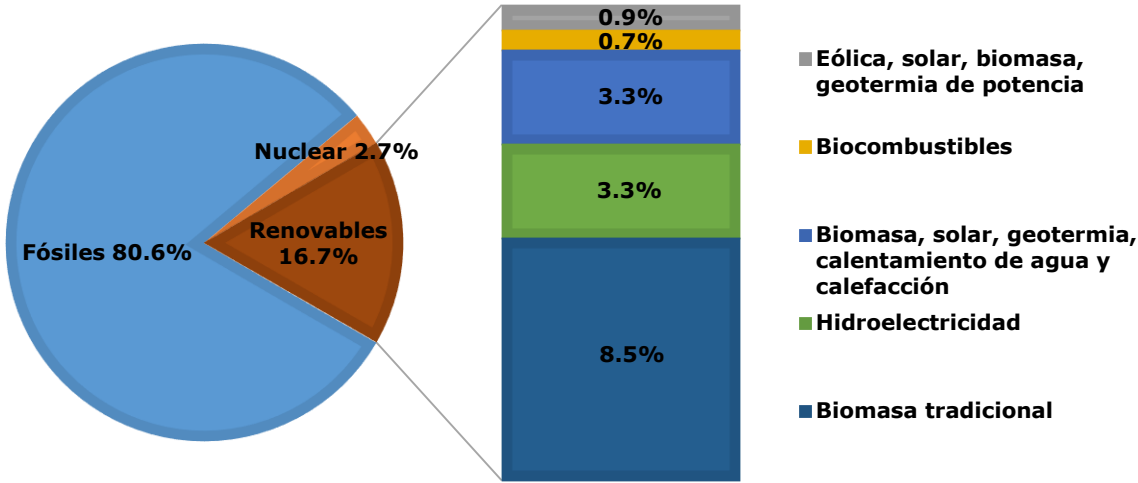


Figura 3. Distribución del consumo mundial de energía renovable, 2010.

Aproximadamente un 77% de toda la energía renovable en el mundo proviene de la biomasa; su mayor consumo se basa principalmente en usos tradicionales para la cocción de alimentos y calefacción en los países en desarrollo (leña y carbón vegetal), mientras que el 23% restante está destinado a la generación de bioenergía, como biocombustibles para el sector transporte, la generación eléctrica y la generación de calor en los procesos industriales (REMBIO, 2011).

En México, durante el año 2011, las energías renovables sólo aportaron el 7% de la producción de energía, representada principalmente por la biomasa y biogás (Figura 4).

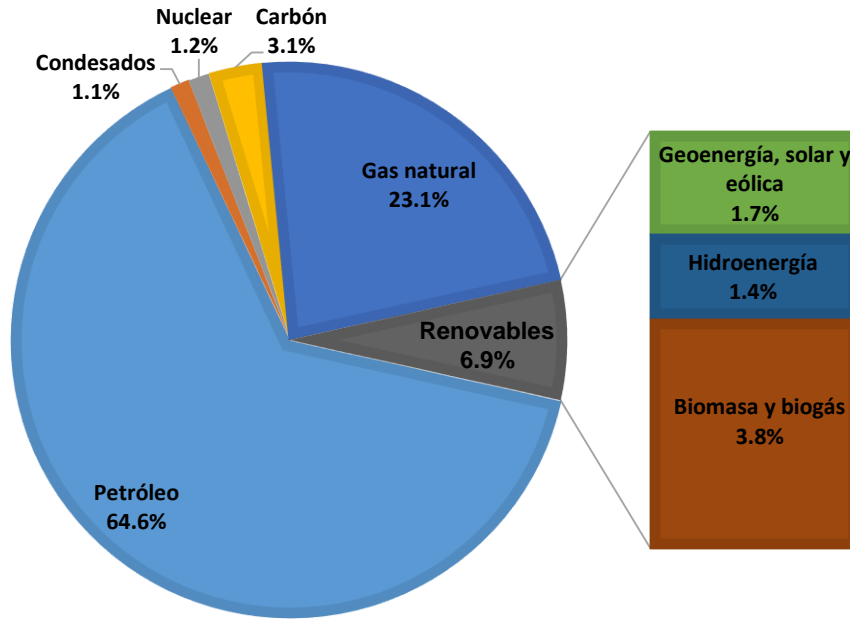


Figura 4. Producción de energía primaria en México, 2011 (9190.76 PJ).

1.4 Biocombustibles

Los biocombustibles son combustibles de origen biológico que se obtienen a partir de restos orgánicos. Actualmente se cuenta con una amplia gama de alcoholes, éteres, ésteres y otros compuestos químicos generados a partir de tejidos de plantas y animales, residuos de la agricultura y de la actividad forestal, y algunos desechos industriales, por ejemplo los de la industria de alimentos (Espinoza de Aquino, et al., 2009).

Para que el uso de los biocombustibles sea benéfico para la sociedad y el medio ambiente, es necesario garantizar que (Molina, 2010):

- Contribuyan al bienestar económico regional y nacional.
- No impacten indebidamente en la calidad del aire, el agua y el suelo.

- Reduzcan realmente la emisión neta de gases de efecto invernadero.
- No requieran cuantiosos subsidios.
- No compitan con la producción de alimentos o afecten negativamente a sus mercados.
- No afecten la biodiversidad ni contribuyan a la deforestación.
- No conlleven el uso excesivo de fertilizantes y plaguicidas que dañen a los ecosistemas.
- No degraden o agoten recursos naturales esenciales como el agua y los suelos fértiles.

En la actualidad, a nivel mundial, existen diferentes tipos de biocombustibles. Los más destacados se mencionan a continuación (Tabla 2).

Tabla 2. Biocombustibles más empleados.

| Biocombustible | Características | Referencia |
|-----------------------|--|------------------------------------|
| Biodiesel | <ul style="list-style-type: none"> • Biocombustible compuesto de ésteres monoalquílicos provenientes de aceites vegetales o grasas animales. • Se obtiene mediante reacciones de esterificación o transesterificación. • Puede ser mezclado con el diésel petroquímico para ser utilizado en cualquier motor diésel sin modificaciones. • Reduce las emisiones de hidrocarburos no quemados, CO₂, CO y azufre. • Posee una capacidad calorífica de 38 MJ/L contra 44.8 MJ/kg del diésel petroquímico. | (Atadashi, et al., 2012) |
| Bioetanol | <ul style="list-style-type: none"> • Alcohol de origen vegetal. • Se produce a través de la fermentación de diversos cultivos agrícolas (maíz, trigo, cebada, caña de azúcar) o compuestos lignocelulósicos (paja, madera, bagazo). • Puede ser mezclado con gasolina hasta en un 10% para ser utilizado en automóviles sin modificaciones. • Reduce las emisiones de CO₂ y azufre. • Posee una capacidad calorífica de 29.7 MJ/kg contra 47.3 MJ/kg de la gasolina. | (Espinoza de Aquino, et al., 2009) |
| Biogás | <ul style="list-style-type: none"> • Gas combustible compuesto principalmente por metano y • • CO₂. • Se obtiene a partir de la digestión anaerobia de materia orgánica. • Puede ser utilizado para generar energía calorífica o para la producción de energía eléctrica mediante turbinas. • Posee una capacidad calorífica de 50 MJ/kg contra 55.5 MJ/kg del gas natural. | (Álvarez, 2009) |
| Hidrógeno | <ul style="list-style-type: none"> • Gas incoloro, inodoro y muy reactivo, presente en forma de agua o de compuestos orgánicos. • Actualmente se obtiene principalmente de sustancias extraídas del petróleo como hidrocarburos gaseosos (metano y propano) o alcoholes (metanol o etanol). • Puede ser utilizado en forma de energía mecánica o térmica en motores de combustión interna, o en forma de energía eléctrica en celdas de combustible. • Su combustión produce únicamente vapor de agua. • Posee una capacidad calorífica de 141.8 MJ/kg. | (Gasque, 2006) |

Clasificación de biocombustibles

La clasificación de los biocombustibles, según la materia prima con la que se producen y la tecnología que se emplea se menciona a continuación.

Primera generación

Son biocombustibles que provienen de cultivos agrícolas para consumo humano con alto contenido de almidón, azúcares y aceites. Algunas de estas materias son la caña de azúcar, los granos de maíz, aceite de semilla de girasol, aceite de soya, aceite de palma, aceite de ricino, aceite de semilla de algodón, aceite de coco, aceite de cacahuete, entre otros. También se emplean como insumos grasas animales, grasas y aceites de desecho provenientes de la cocción y elaboración de alimentos, y desperdicios sólidos orgánicos.

Se producen empleando tecnología convencional como la fermentación (para azúcares y carbohidratos), transesterificación (para aceites y grasas), y la digestión anaerobia (para desperdicios orgánicos). De estos procesos se obtiene etanol, metanol, n-butanol (a partir de azúcares), biodiesel (a partir de aceites), y biogás (a partir de desperdicios orgánicos).

La ventaja de estos biocombustibles es la facilidad de su procesamiento, así como la baja emisión de gases de efecto invernadero que se genera, pero tienen como desventaja el desvío de recursos alimenticios hacia la producción de energéticos, ocasionando que enormes extensiones de tierras de cultivo, que antes se dedicaban a la producción para consumo humano, se destinen a cultivos comerciales para producir biocombustibles.

Segunda generación

La materia prima de este tipo de biocombustibles son los residuos agrícolas o forestales compuestos por celulosa, como el bagazo de la caña de azúcar, el rastrojo de maíz (tallos, hojas y olote), paja de trigo, aserrín, hojas y ramas secas de árboles, etc.

Los procesos de producción tienen un nivel de complejidad más alto que los de primera generación, como el proceso de sacarificación-fermentación para la producción de etanol o el Fischer-Tropsch para biogás.

La ventaja principal en la producción de estos biocombustibles es que no se generan desviaciones de alimentos provenientes de la agricultura hacia el sector energético, pero su desventaja es la poca ganancia en la disminución de las emisiones de gases de efecto invernadero durante el procesamiento de los insumos, respecto a los biocombustibles de primera generación.

Tercera generación

Los insumos utilizados son vegetales no alimenticios de crecimiento rápido y con una alta densidad energética almacenada en sus **componentes químicos, por lo que se les denomina "cultivos energéticos"**. Entre estos vegetales están los pastos perennes, árboles y plantas de crecimiento rápido, y las algas verdes (microalgas) y verdeazules (cianobacterias).

Estos biocombustibles tienen como principal ventaja el consumo de CO₂ para la producción de los insumos, lo que genera un balance positivo en

la emisión de gases de efecto invernadero, sin embargo, su desventaja es la utilización de tierras agrícolas de cultivo de alimentos para sembrar los insumos. Esta desventaja no es aplicable para microalgas y cianobacterias.

Cuarta generación

Estos biocombustibles son producidos a partir de bacterias genéticamente modificadas, las cuales emplean CO₂ o alguna otra fuente de carbono para la obtención de los biocombustibles.

A diferencia de las generaciones anteriores en las que también se pueden emplear bacterias y organismos genéticamente modificados como insumo o para realizar alguna parte de los procesos, en la cuarta generación, la bacteria es la que efectúa la totalidad del proceso de producción de los biocombustibles (Álvarez, 2009).

Actualmente, esta generación de biocombustibles se encuentra en fase experimental, y su producción está todavía muy lejos de ser comercial.

Ventajas del uso de biodiesel

El biodiesel es un combustible biodegradable y sustentable, que contribuye con la generación de energía a partir de fuentes renovables (Kent Hoekman, et al., 2012). Se puede utilizar sin modificar los motores existentes produciendo menos emisiones de gases de efecto invernadero, y es mezclado con diésel derivado del petróleo en cualquier proporción. Las ventajas con respecto al diésel petroquímico se enlistan a continuación (Biodiesel Handling and Use Guide, 2009):

- Disponibilidad (obtenido a partir de fuentes renovables).
- Energéticamente eficiente.
- Reducción de las emisiones globales de gases de efecto invernadero.
- Seguridad de almacenamiento (punto de inflamación más alto que el diésel).

Materias primas para la obtención de biodiesel

Se muestra a continuación una comparación entre distintas fuentes de materia prima para la producción de biodiesel en México. Se indican las proporciones de suelo fértil y de superficie total del país necesarias para reemplazar con biodiesel el 100% de la demanda de diésel en México. Las fracciones de superficie total sólo se señalan para materias primas que no requieren de suelos fértiles (Tabla 3) (CIA World Factbook, 2009; Schenk, et al., 2008).

Tabla 3. Comparación entre distintas fuentes de materia prima para la producción de biodiesel en México (Garibay, et al., 2009).

| Materia prima | Productividad de biodiesel (L/ha/año) | Superficie equivalente requerida (ha x 10⁶) | Porcentaje equivalente de la superficie fértil requerida | Porcentaje equivalente de la superficie total requerida |
|-------------------------|--|---|---|--|
| Palma | 5950 | 3.972 | 16.14 | --- |
| Jatropha | 1892 | 12.49 | 50.75 | 6.43 |
| Colza | 1190 | 19.859 | 80.69 | --- |
| Girasol | 952 | 24.823 | 100.9 | --- |
| Soya | 446 | 52.986 | 215.3 | --- |
| Microalgas ^a | 12000 | 1.969 | 8 | 1.01 |
| Microalgas ^b | 20000 | 1.181 | 4.8 | 0.61 |

^a Rendimiento conservador de productividad de biodiesel microalgal (Schenk, et al., 2008).

^b Productividad de biodiesel microalgal asequible a través de la tecnología actualmente disponible (Wijffels, 2008).

Estudios en donde se compara el uso de diferentes materias primas (cultivos alimenticios y no alimenticios) para producir biodiesel, indican que los biocombustibles de tercera generación, así como también los provenientes de microalgas cultivadas en agua residual, son hasta el momento las únicas alternativas que se tienen para producir biodiesel de manera renovable; sin embargo, existen pocos estudios sobre este tema (Christenson & Sims, 2011; Ahmad, et al., 2011).

1.5 Microalgas

Las microalgas (Figura 5) son organismos unicelulares que están compuestas básicamente por carbohidratos, lípidos y proteínas (Tabla 4) (Becker, 1994). La concentración de éstas biomoléculas puede modificarse alterando las condiciones ambientales como: concentración de nutrientes, temperatura, intensidad luminosa, así como el estado fisiológico: edad de la población, densidad de la población, desarrollo autotrófico o heterotrófico (Dubinsky, et al., 1978; Aaronson, et al., 1980; Ben-Amotz, et al., 1985; Becker, 1986; Gudín & Thepenier, 1986).



Figura 5. Microalga del género *Chlorella vulgaris*.

Tabla 4. Composición química de microalgas expresada en porcentaje base seca (Becker, 1994).

| Especie | Proteínas | Carbohidratos | Lípidos | Ácidos nucleicos |
|----------------------------------|------------------|----------------------|----------------|-------------------------|
| <i>Scenedesmus obliquus</i> | 50-60 | 10-17 | 12-14 | 3-6 |
| <i>Scenedesmus quadricauda</i> | 47 | --- | 1.9 | --- |
| <i>Scenedesmus dimorphus</i> | 8-18 | 21-52 | 16-40 | --- |
| <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> | 48 | 17 | 21 | --- |
| <i>Chlorella vulgaris</i> | 51-58 | 12-17 | 14-22 | 4-5 |
| <i>Chlorella pyrenoidosa</i> | 57 | 26 | 2 | --- |
| <i>Spirogyra</i> sp. | 6-20 | 33-64 | 11-21 | --- |
| <i>Dunaliella biculata</i> | 49 | 4 | 8 | --- |
| <i>Dunaliella salina</i> | 57 | 32 | 6 | --- |
| <i>Euglena gracilis</i> | 39-61 | 14-18 | 14-20 | --- |
| <i>Prymnesium parvum</i> | 28-45 | 25-33 | 22-38 | 1-2 |
| <i>Tetraselmis maculata</i> | 52 | 15 | 3 | --- |
| <i>Porphyridium cruentum</i> | 28-39 | 40-57 | 9-14 | --- |
| <i>Spirulina plantensis</i> | 46-63 | 8-14 | 4-9 | 2-5 |
| <i>Spirulina máxima</i> | 60-71 | 13-16 | 6-7 | 3-4.5 |
| <i>Synechococcus</i> spp. | 63 | 15 | 11 | 5 |
| <i>Anabaena cylindrica</i> | 43-56 | 25-30 | 4-7 | --- |

Es importante mencionar que las microalgas presentan un mayor rendimiento de aceite que cualquier otro cultivo convencional; se calcula que es aproximadamente de 10 a 20 veces mayor que el derivado del aceite de palma, y de 200 a 400 veces mayor que el derivado de soya (Loera-Quezada & Olguín, 2010) (Tabla 5).

Tabla 5. Contenido de lípidos en algunas especies de microalgas (Chisti, 2007).

| Microalga | Contenido de lípidos (% peso seco) |
|----------------------------------|---|
| <i>Botryococcus braunii</i> | 25-75 |
| <i>Crypthecodinium cohnii</i> | 20 |
| <i>Cylindrotheca</i> spp. | 16-37 |
| <i>Dunaliella primolecta</i> | 23 |
| <i>Isochrysis</i> spp. | 25-33 |
| <i>Monallanthussalina</i> | 20 |
| <i>Nannochloris</i> spp. | 20-35 |
| <i>Nannochloropsis</i> spp. | 31-68 |
| <i>Neochloris oleoabundans</i> | 35-54 |
| <i>Nitzschia</i> spp. | 45-47 |
| <i>Phaeodactylum tricornutum</i> | 20-30 |
| <i>Schizochytrium</i> spp. | 50-77 |
| <i>Tetraselmis suecica</i> | 15-23 |

La fracción lipídica puede dividirse en dos grupos principales: los lípidos polares, que incluyen glucolípidos y fosfolípidos; y los lípidos apolares, que incluyen a los triglicéridos, diglicéridos, hidrocarburos, alquenonas, esteroides y pigmentos (Brown, et al., 1989). La mayoría de los lípidos microalgales son lípidos polares componentes de membranas, mientras que los triglicéridos son una reserva de ácidos grasos para la división celular, energía metabólica, mantenimiento de la membrana, síntesis y una amplia variedad de funciones fisiológicas. Los triglicéridos pueden llegar a constituir hasta el 80% del total de lípidos en microalgas eucariotas.

Se ha estudiado que en condiciones de estrés (cambio de pH, temperaturas extremas, limitación de nutrientes), las microalgas producen mayores cantidades de lípidos (Rösch, et al., 2012; Hu, et al., 2008).

La composición de carbohidratos, en términos de azúcares específicos, puede variar considerablemente entre las especies de microalgas. Generalmente la glucosa se encuentra en concentraciones mayores,

seguida por galactosa, manosa y ribosa. Estas biomoléculas son producto de la fotosíntesis, y tienen como finalidad proveer y reservar energía.

Por otro lado, las proteínas presentes en las microalgas realizan funciones metabólicas y estructurales. Dentro de sus funciones metabólicas destaca el ser utilizadas como catalizadores enzimáticos en diversas vías, mientras que entre sus funciones estructurales está la formación del soporte para las moléculas de clorofila, las cuales realizan la captación de luz del cloroplasto. Cabe destacar que algunos de los aminoácidos que conforman las proteínas de las microalgas son de carácter surfactante (Becker, 2007; Brown & Jeffrey, 1995).

Los ácidos nucleicos (ADN y ARN) trabajan en conjunto con las proteínas, proporcionando la división y el crecimiento de las microalgas. Los ácidos nucleicos representan aproximadamente del 3 al 5% del total de la biomasa en peso seco, y es donde se encuentra la mayor cantidad de fósforo de la célula.

1.6 Ventajas del uso de microalgas

Las microalgas se han convertido en una materia prima prometedora para la producción de biocombustibles, debido a que presentan ventajas significativas en comparación con otros cultivos empleados en la producción de los mismos, entre las que destacan:

- Elevada eficiencia fotosintética.
- Capacidad de crecer tanto en aguas marinas, dulces, residuales y salobres.
- Capacidad de duplicar su biomasa en 24 horas.

- Reducción de las emisiones de efecto invernadero, fijando fotosintéticamente el CO₂ liberado en los procesos industriales (1 kg de biomasa fija 1.83 kg de CO₂).
- No competir con las tierras de cultivo.
- Funcionan como un tratamiento terciario de aguas residuales, removiendo nitrógeno y fósforo.
- Alto contenido en lípidos (pueden exceder 80% en peso seco).
- No requieren de productos químicos, tales como herbicidas o pesticidas para su crecimiento.
- Pueden producir subproductos de alto valor agregado como proteínas, pigmentos, biopolímeros e hidratos de carbono.

Además de las ventajas previamente mencionadas, las microalgas como materia prima permiten la producción de diferentes biocombustibles, por ejemplo, metano a través de digestión anaerobia de biomasa microalgal, biohidrógeno mediante el proceso de fotosíntesis, biodiesel a partir del aceite de microalgas y bioetanol a partir de la fermentación de los carbohidratos presentes en la biomasa microalgal (Chisti, 2007).

1.7 Producción de biodiesel a partir de microalgas

El proceso de producción de biodiesel a partir de microalgas incluye varias etapas, como son: crecimiento, separación o cosecha, extracción de los aceites de la biomasa del alga y conversión del aceite a biodiesel (Figura 6).

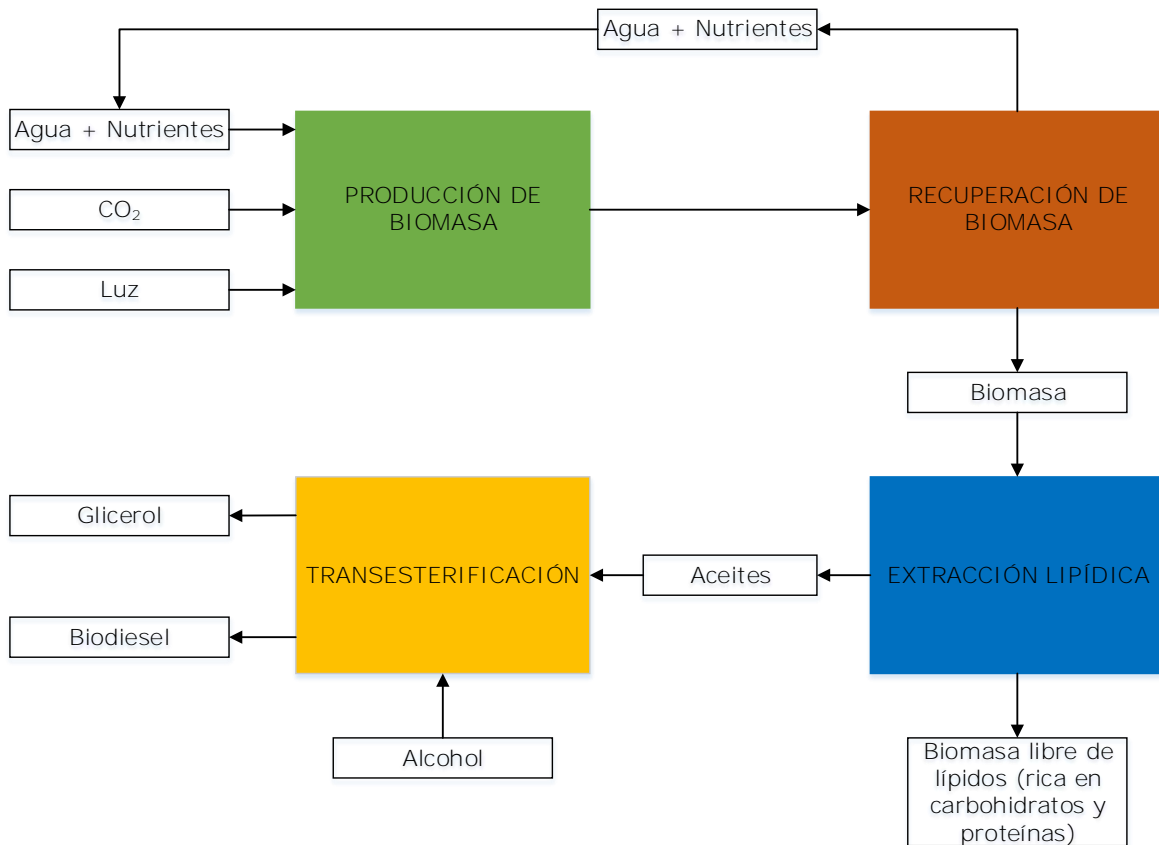


Figura 6. Esquema del proceso de generación de biodiesel a partir de microalgas.

El proceso de producción de biodiesel está conformado, en términos generales, por las etapas elementales indicadas en la Figura 6. El agua, los nutrientes, el CO₂ y la luz son proporcionados a los sistemas de cultivo (abierto, cerrado o híbrido) para la producción de biomasa de microalga rica en lípidos. El CO₂ suministrado puede provenir del aire, o bien, los sistemas de cultivo pueden ser acoplados a flujos ricos en este gas procedente de emisiones industriales, tales como las de las plantas generadoras de energía eléctrica. La biomasa producida es separada del agua, y los nutrientes residuales son recirculados hacia la etapa inicial de producción de biomasa. Los aceites son extraídos a partir de la pasta de microalgas, siendo después transformados en biodiesel y glicerol,

mediante la reacción de transesterificación alcalina, ácida o enzimática (Ma & Hanna, 1999; Fukuda, et al., 2001; Sharma, et al., 2008). Este esquema conceptual puede incluir etapas adicionales que posibiliten acoplar la producción de biodiesel al aprovechamiento de los co-productos, es decir, del glicerol y de la biomasa microalgal libre de lípidos, ya sea directamente como insumos industriales, en la alimentación humana, animal y/o acuícola, o indirectamente a través de su transformación en productos alternos tales como biogás o bioetanol, entre otros (Chisti, 2008; Schenk, et al., 2008).

El presente trabajo está enfocado principalmente en la etapa de recuperación de biomasa mediante el proceso de ozoflotación, del cual se profundizará más adelante.

1.7.1 Cultivo

Los sistemas empleados con mayor frecuencia en la producción de biomasa de microalgas son los de tipo abierto y cerrado (Figura 7). Los abiertos, a pesar de sus formas y diversos tamaños, destacan por ser semejantes al entorno natural de las microalgas. Los cultivos abiertos comprenden sistemas naturales (lagos, lagunas, estanques) y artificiales (superficie inclinada y estanques tipo circuito), siendo éstos últimos los de mayor uso. Los sistemas cerrados son también conocidos como fotobioreactores en los cuales es posible llevar a cabo la producción masiva de biomasa (Bajhaiya, et al., 2012).

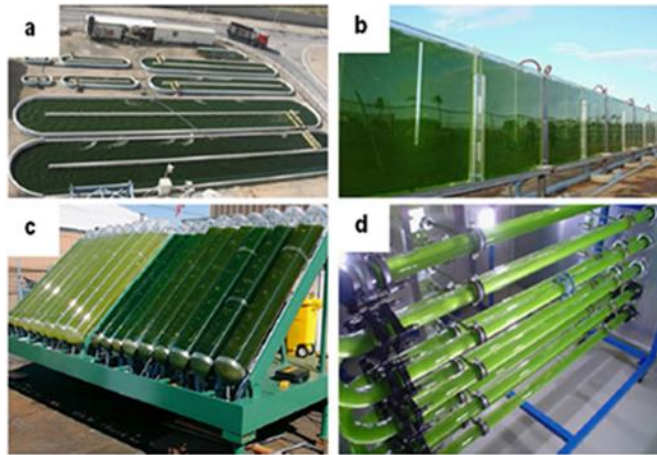


Figura 7. Fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. a) Estanque tipo circuito b) Reactores de placa plana c) Reactores tubulares inclinados d) Reactores tubulares continuos.

Las principales características de los sistemas abiertos y cerrados se enlistan a continuación (Tabla 6).

Tabla 6. Características de cultivos abiertos y cerrados.

| Cultivos abiertos | Cultivos cerrados |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Lagunas o estanques abiertos con agitación mediante paletas giratorias. • Tienen bajos costos de construcción, de operación y de producción de biomasa. • Se obtienen producciones entre 10 y 20 $\text{gm}^{-2}\text{día}^{-1}$ de biomasa (Christenson & Sims, 2011). • Requieren de grandes áreas de terreno, presentan importantes pérdidas de agua por evaporación y de CO_2. • Pueden presentar contaminación por otras algas y/o por microorganismos que se alimentan de microalgas (Shimamatsu, 2004). | <ul style="list-style-type: none"> • Son sistemas que permiten un control preciso de las condiciones de cultivo, el cultivo de una sola especie, la obtención de una alta productividad de biomasa y evitan la contaminación (Chisti, 2007; Ugwu, et al., 2008; Molina Grima, et al., 1999; Petrusevski, et al., 1995). • Se obtienen producciones entre 20 y 40 $\text{gm}^{-2}\text{día}^{-1}$ de biomasa (Christenson & Sims, 2011). • Presentan elevados costos de mantenimiento debido principalmente a la energía invertida en la agitación mecánica (Pulz & Scheibenbogen, 1998; Pulz, 2001; Carvalho, et al., 2006; Chisti, 2008; Rittmann, 2008). |

Por otro lado, existen factores bióticos, abióticos y operacionales que influyen en el crecimiento de las microalgas (Tabla 7).

Tabla 7. Factores que influyen en el crecimiento de microalgas (Becker, 1988).

| | |
|--|--------------------------------------|
| Factores abióticos (físicos y químicos) | Luz |
| | Temperatura |
| | Concentración de nutrientes |
| | O ₂ , CO ₂ |
| | pH |
| | Salinidad |
| | Agentes químicos |
| Factores bióticos | Patógenos (bacterias, hongos, virus) |
| | Depredación por el zooplancton |
| | Competencia entre especies |
| Factores operacionales | Mezclado |
| | Tasa de dilución |
| | Profundidad |
| | Adición de bicarbonato |
| | Frecuencia de recolección |

Factores abióticos

- Luz: Las microalgas son organismos fotosintéticos y sólo emplean la fracción del espectro de luz solar que es fotosintéticamente activa, la cual se encuentra entre 350 y 700 nm. El crecimiento de

los microorganismos fotosintéticamente activos es proporcional a la intensidad de luz recibida. La forma más fácil de prevenir la limitación de luz en los cultivos de microalgas es disminuyendo la profundidad del recipiente de cultivo

- Temperatura: Muchas microalgas pueden adaptarse fácilmente a temperaturas superiores a 15 °C; sin embargo, a temperaturas menores de 4 °C puede existir una pérdida total del cultivo.
- Nutrientes: Los principales nutrientes minerales que las microalgas necesitan y toman del medio para su desarrollo son:

A) Carbono: Las microalgas pueden emplear como fuente de carbono el CO₂ presente en la atmósfera así como también los iones bicarbonato. Debido a que la concentración atmosférica de CO₂ (0.0033%) no es la óptima para el crecimiento de las microalgas, algunos sistemas de cultivos incluyen la inyección de aire enriquecido con 1% a 5% de CO₂ (Becker, 1994).

B) Nitrógeno: El nitrógeno es un nutriente esencial para el crecimiento de todos los organismos siendo el segundo en importancia para las microalgas. El contenido de nitrógeno en la biomasa varía de 1% a 10% dependiendo de la disponibilidad y fuente de nitrógeno. El nitrógeno orgánico está presente en sustancias biológicas tales como péptidos, proteínas, clorofila, moléculas de transferencia de energía (ATP, ADP) y material genético (ARN, ADN) (Barsanti & Gualtieri, 2006). El nitrógeno inorgánico incluyen fuentes tales como nitratos (NO₃⁻), nitritos (NO₂⁻), amonio (NH₄⁺) y nitrógeno gas (N₂). Las microalgas tienen un papel esencial en la conversión de nitrógeno inorgánico a su forma orgánica mediante un proceso llamado asimilación. Además, las cianobacterias son capaces de convertir el nitrógeno de la atmósfera en amoniaco por medios de

fijación. La asimilación, que es llevada a cabo por todas las algas eucariotas, requiere únicamente nitrógeno en forma de nitratos, nitritos y amonio.

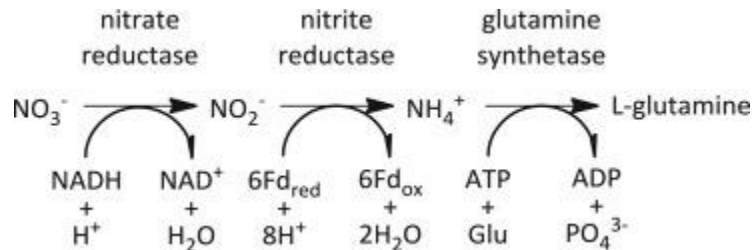


Figura 8. Mecanismo de asimilación del nitrógeno en las células de las microalgas.

Como se muestra en la Figura 8, todas las formas de nitrógeno inorgánico se reducen en última instancia en amonio; por tanto, el amonio es la forma preferida de nitrógeno ya que ninguna reacción redox se involucra en su asimilación, lo cual se ve reflejado en un menor requerimiento de energía. Algunos estudios han demostrado que el consumo de nitrato se produce hasta que el amonio se consume casi completamente (Maestrini, et al., 1986). La limitación de este nutriente juega un papel importante en el incremento de la acumulación de lípidos (Rodolfi, et al., 2009).

C) Fósforo: Es otro elemento esencial para el crecimiento de las microalgas, las cuales lo toman en forma de ortofosfato (HPO_4^{3-}). La captación de ortofosfato es un proceso activo que requiere energía. Las microalgas pueden captar fosfato orgánico y convertirlo a ortofosfatos cuando el fosfato inorgánico es escaso. Este compuesto interviene en muchos procesos celulares, como en la transferencia de energía y la biosíntesis de ácidos nucleicos.

- pH: El pH en la mayoría de cultivos de microalgas se encuentra entre 7 y 9, con un óptimo entre 8.2 y 8.7. El control de pH se consigue mediante aireación o adición de CO₂, ya que el proceso fotosintético de fijación de CO₂ provoca un aumento gradual de pH en el medio debido a la acumulación de radicales hidróxido (OH⁻).

1.7.2 Cosecha

La cosecha o recolección tiene como propósito remover el agua y concentrar la biomasa compuesta por las células microalgales para su posterior procesamiento.

Los costos de separación pueden contribuir del 20 al 30% en los costos de producción de biomasa microalgal (Molina Grima, et al., 2003), por lo que la selección de una técnica de recolección eficiente y de bajo costo es trascendental.

La filtración, centrifugación, floculación y flotación con aire disuelto, ya sea de forma individual o combinados, son los procedimientos de cosecha más comunes (Tabla 8) (Chen, et al., 1998; Dismukes, et al., 2008; Lee, et al., 2009).

El método de cosecha depende de la especie, de la densidad celular y de las condiciones del medio de cultivo. Generalmente la densidad celular utilizada en la aplicación industrial se encuentra entre 0.3 y 5 g/L, lo cual dificulta la separación y aumenta el costo (Wang, et al., 2008).

Tabla 8. Métodos más comunes para la cosecha de microalgas.

| Método de cosecha | Características |
|-----------------------------|--|
| Centrifugación | <ul style="list-style-type: none">• Aplicable en el caso de microalgas unicelulares con diámetros mayores a 5µm (Uduman, et al., 2010).• Proceso rápido, con eficiencia de recolección superior al 95%.• Se requiere un gran consumo de energía para recuperar la biomasa seca (3000 kWh por tonelada de biomasa seca) (Wiley, et al., 2011). |
| Filtración | <ul style="list-style-type: none">• Conveniente para especies de microalgas mayores a 70 µm.• A gran escala presenta varios inconvenientes, como la obstrucción de los filtros, formación de tortas de filtración compresibles y altos costos de mantenimiento. |
| Floculación | <ul style="list-style-type: none">• Método en el cual se adiciona una sustancia floculante, comúnmente una sal inorgánica (alúmina, cloruro férrico, óxido de calcio) para incrementar el tamaño de las partículas de las microalgas y que éstas sedimenten fácilmente (Molina Grima, et al., 2003).• Tiene como inconveniente la contaminación de la biomasa |
| Flotación con aire disuelto | <ul style="list-style-type: none">• Es un proceso de separación de gravedad que utiliza burbujas de aire que se adhieren a las partículas sólidas para hacerlas flotar (García, 2014).• Generalmente se necesita la adición de un floculante. |
| Ozoflotación | <ul style="list-style-type: none">• Proceso que combina las propiedades de oxidación del ozono y los principios físicos de la flotación (Langlais, et al., 1991).• Remoción de hasta el 98% (Betzer, et al., 1980; Cheng, et al., 2010).• No requiere la adición de ningún coagulante (Cheng, et al., 2010; García, 2014; Valeriano, 2013). |

Como ya se mencionó anteriormente, en el presente trabajo de investigación se utilizó la ozoflotación como método de cosecha, del cual se profundizará a continuación.

1.7.2.1 Ozoflotación

Desde 1886, el ozono ha sido utilizado para la desinfección de agua contaminada. Actualmente, el proceso de ozonación tiene múltiples aplicaciones (Langlais, et al., 1991):

- Desinfección y control de algas
- Oxidación de contaminantes inorgánicos (hierro y manganeso)
- Oxidación de microcontaminantes orgánicos (fenoles y pesticidas)
- Oxidación de macrocontaminantes orgánicos (trihalometanos)
- Mejoramiento en la coagulación

Recientemente, se han realizado investigaciones en las cuales se busca aplicar el proceso de ozoflotación para la recuperación de microalgas; sin embargo, estos estudios son aún limitados (Tabla 9), ya que como se mencionó, el ozono generalmente ha sido utilizado como oxidante y desinfectante en el tratamiento de agua residual (Ho Lee, et al., 2008).

Tabla 9. Estudios de separación de microalgas por ozoflotación.

| Suspensión de microalgas | Equipo | Condiciones de operación | Efecto resultante | Referencia |
|---|--|--|--|--------------------------------|
| Algas obtenidas del efluente de una laguna de oxidación | Reactor: h: 125 cm Ø _i : 9.5 cm Tamaño de poro del difusor: 30-60 µm | Q _{gas} : 2 a 4 L/min P _{gas} : 0.5 kg/cm ² Dosis de ozono: 15 a 50 mg/L V _{muestra} : 5 a 7.5 L | Líquido incoloro; 98% de remoción de sólidos suspendidos (algas) | (Betzer, et al., 1980) |
| <i>Microcystis aeruginosa</i> cultivada | Planta piloto | Q _{gas} : 1.5 a 5 L/h P _{gas} : 0.5 kg/cm ² Dosis de ozono: 0.055, 0.55, 1.1 y 2 mg/L Tiempo: 60 min [Biomasa] ₀ : 10 ⁸ -10 ¹⁰ algas/L | Reducción de turbiedad y algas | (Benoufella, et al., 1994) |
| <i>Chlorella vulgaris</i> cultivada, obtenida a partir de una cepa de agua dulce del sur de Taiwán | Reactor: h: 47 cm Ø _i : 5 cm Tamaño de poro del difusor: 30-60 µm | Q _{gas} : 0.6 L/min P _{gas} : 0.65 kg/cm ² Dosis de ozono: 0.005-0.03 mg O ₃ /mg biomasa | Reducción de turbiedad del 98%; células aglomeradas de aproximadamente 50 µm | (Cheng, et al., 2010) |
| <i>Scenedesmus obliquus</i> FSP-3 cultivada, obtenida a partir de una cepa de agua dulce del sur de Taiwán | Reactor: h: 47 cm Ø _i : 5 cm Tamaño de poro del difusor: 30-60 µm | Q _{gas} : 0.6 L/min P _{gas} : 0.65 kg/cm ² Dosis de ozono: 0.2-0.5 mg O ₃ /mg biomasa [Biomasa] ₀ : 1610 mg/L Concentración de ozono: 63, 98 y 135 mg/L Tiempo: 4 min Turbiedad: 1000, 400, 240 NTU | Reducción de turbiedad del 95%; células aglomeradas de 10 a 50 µm | (Cheng, et al., 2011) |
| <i>Desmodesmus</i> sp. y cultivo mixto con cianobacterias obtenidos de un lago artificial para tratamiento de agua residual | Reactor: h: 67 cm Ø _i : 4.9 cm Tamaño de poro del difusor: 30-60 µm | Q _{gas} : 0.6 L/min Dosis de ozono: 150 y 300 mg O ₃ /L [Biomasa] ₀ : 360, 580 y 450 mg/L | Evaluación del efecto del ozono en el perfil de ácidos grasos de microalgas | (Komolafe, et al., 2014) |
| Cultivo mixto de microalgas obtenidas de un lago artificial para tratamiento de agua residual | Reactor: h: 67 cm Ø _i : 4.9 cm Tamaño de poro del difusor: 30-60 µm | Q _{gas} : 0.4 L/min Dosis de ozono: 0.23 mg O ₃ /L [Biomasa] ₀ : 419 mg/L Concentración de ozono: 45 mg O ₃ /L Tiempo: 5 min V _{muestra} : 0.95 L Turbiedad: 712.5 NTU | Reducción de turbiedad del 97.8% y de 79.6% respecto a SST | (Velasquez Orta, et al., 2014) |

El proceso de ozoflotación para la recuperación de microalgas combina la floculación y flotación en una sola etapa del tratamiento, siendo ésta su principal ventaja, ya que no se contamina la biomasa recuperada porque no es necesaria la adición de ningún coagulante.

Por otro lado, el ozono, como cualquier otro oxidante (cloro o dióxido de cloro), tiene un efecto letal sobre las microalgas o limita su crecimiento; sin embargo, bajo ciertas condiciones, se puede lograr sólo un daño en la pared celular (lisis) que permita la liberación de biopolímeros (ácidos nucleicos, proteínas y polisacáridos) que actúan como surfactantes naturales. La liberación de surfactantes poliméricos naturales se presenta como la formación de espuma, en la cual se concentran las microalgas, dando como resultado la separación de las microalgas del medio líquido (Figura 9). Así mismo, el ozono funciona como pre-tratamiento para etapas posteriores, como la extracción de ácidos grasos (Cheng, et al., 2010; Hengfeng & Tao, 2009; García, 2014; Valeriano, 2013; Velasquez Orta, et al., 2014).

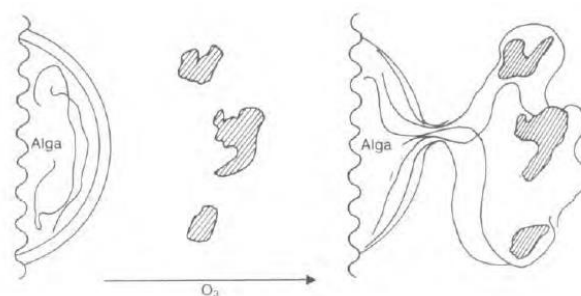


Figura 9. Reacción del ozono con la microalga (Langlais, et al., 1991).

De igual forma, es importante mencionar que en el presente trabajo se evaluará el efecto de utilizar un reactor espumador en lugar de columnas convencionales de flotación, así como también diferentes concentraciones

de biomasa microalgal cultivada en agua residual, variable que no ha sido analizada previamente.

1.7.2.1.1 Reactor espumador

Los espumadores de proteínas son dispositivos que se utilizan para eliminar sustancias que presentan actividad superficial, como proteínas y aminoácidos. De manera comercial, se utilizan para el tratamiento de aguas residuales y de acuarios (Figura 10).

En general los espumadores comerciales cuentan con una bomba que produce burbujas de aire pequeñas e impulsa el agua a tratar hacia una cámara donde se da la formación de espuma debido a la interacción en la interfase gas-líquido de los compuestos disueltos. Posteriormente, la espuma sube a través de la columna y se colecta en la parte superior.

Es importante mencionar que en el presente trabajo de investigación se adaptó el principio de funcionamiento de los espumadores comerciales para la cosecha de biomasa microalgal.



Figura 10. Espumador comercial.

2. METODOLOGÍA

La metodología experimental que se siguió en este trabajo se muestra en la Figura 11.

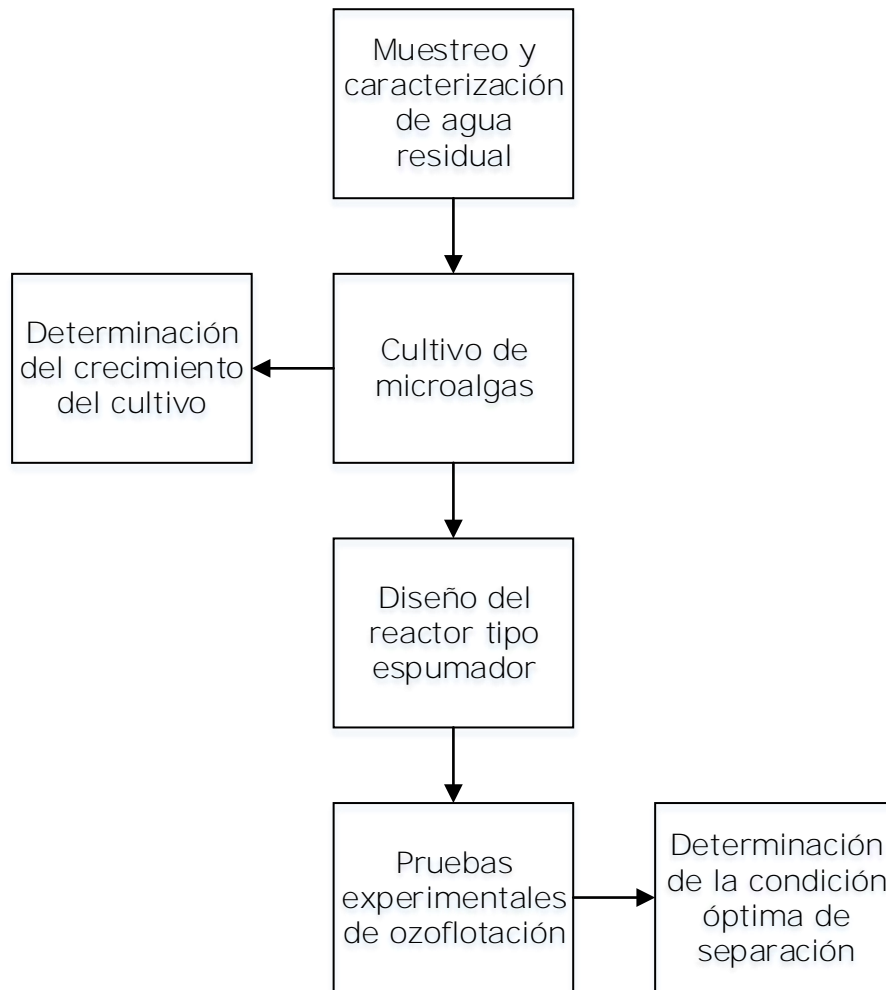


Figura 11. Metodología experimental.

2.1 Muestreo y caracterización de agua residual

La recolección de muestras de agua residual se obtuvo de la planta de tratamiento de Cerro del Agua en Ciudad Universitaria. Se recolectaron de acuerdo a las recomendaciones y criterios de la norma NMX-AA-003-1980 "Aguas residuales. Muestreo".

La caracterización fisicoquímica de las muestras de agua recolectadas comprendió el análisis de los siguientes parámetros (Tabla 10):

Tabla 10. Parámetros fisicoquímicos determinados en muestras de agua residual.

| Parámetro | Método analítico |
|---------------------|--|
| pH | *Método electrométrico 4500-H ⁺ B |
| Nitrógeno amoniacal | *Método titulométrico 4500-NH ₃ E |
| Nitritos | Método 8507 HACH |
| Nitratos | Método 8039 HACH |
| Ortofosfatos | Método 8178 HACH |
| SST | *Método 2540 D |

* Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales (APHA, 1992).

2.2 Cultivo de microalgas

Los cultivos de microalgas se llevaron a cabo en matraces de 1 L y en recipientes de PET de 3 L, los cuales simulan sistemas abiertos con iluminación continua suministrada por una lámpara y agitación una vez al día (Figura 12).

Para llevar a cabo las pruebas de ozoflotación se realizó la producción de más de 50 L de biomasa microalgal a tres diferentes concentraciones (baja, media y alta).



Figura 12. Cultivo *Scenedesmus* sp.

El cultivo se realizó mezclando agua residual como fuente de nutrientes e inóculo en una proporción 50: 50.

El inóculo utilizado fue un consorcio del género *Scenedesmus* sp., el cual fue aislado en trabajos anteriores de muestras de agua del lago Nabor Carrillo (Figura 13).

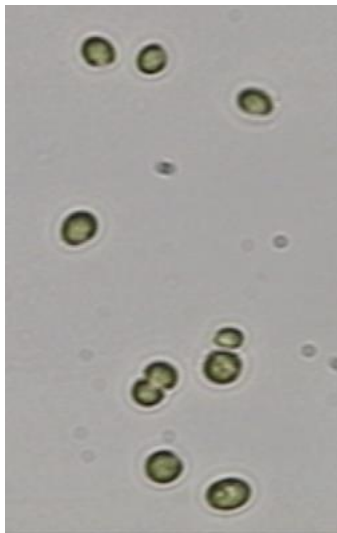


Figura 13. Microalga del género *Scenedesmus* sp.

2.3 Diseño del reactor tipo espumador

La mayor parte de los trabajos que previamente han usado la flotación como método de cosecha de microalgas se han llevado a cabo en sistemas batch a escala laboratorio, cosechando de 0.2 a 1.2 L y usando columnas convencionales de vidrio que van de 21 a 40 cm de altura.

El reactor utilizado para llevar a cabo la cosecha de microalgas mediante el proceso de ozoflotación fue un espumador, ya que es el sistema más empleado para la recolección de espuma.

Para el diseño del reactor espumador se llevaron a cabo pruebas experimentales de ozoflotación empleando una columna de flotación convencional para determinar la altura óptima; además, se consideraron las dimensiones de las columnas utilizadas por diferentes autores (Tabla 11).

Tabla 11. Comparación de diferentes columnas usadas para la cosecha de microalgas.

| Especie de microalga cosechada | Porcentaje de remoción (%) | Tamaño de la columna (cm x cm) | Volumen de algas cosechado (L) | Referencia |
|---------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| <i>Scenedesmus quadricauda</i> | 90 | 4 x 30 | 0.2 | (Poochinda, et al., 2004) |
| <i>Chlorella vulgaris</i> | 90 | 3 x 40 | 0.2 | (Chen, et al., 1998) |
| <i>Chlorella</i> sp. | 90 | 3 x 40 | 0.2 | (Liu, et al., 1999) |
| <i>Chlorella</i> y <i>Scenedesmus</i> | 76.6 | 8.9 x 21 | 1.2 | (Wiley, et al., 2009) |
| <i>Chaetoceros</i> sp. | 90 | 45.7 x 157 | 220 | (Csordas & Wang, 2004) |
| Cultivo mixto de microalgas | 79.6 | 4.9 x 67 | 0.95 | (Velasquez Orta, et al., 2014) |

El reactor fue hecho de vidrio y presenta una geometría cilíndrica, con una capacidad de 1 L. Consta de una entrada y una salida, además de un difusor poroso de vidrio en el fondo, por el cual se alimenta ozono. En la parte superior cuenta con un colector para la cosecha de la biomasa. Éste último forma parte de las modificaciones a evaluar en la presente tesis, con la cual se busca obtener una mayor eficiencia de recuperación de biomasa microalgal.

2.4 Pruebas experimentales de ozoflotación

Los estudios de separación de microalgas por ozoflotación se llevaron a cabo en una unidad de oxidación, compuesta por un separador de aire (Airsep modelo AS-12, USA) y un generador de ozono Labo 76 (Emery Trilligaz, USA) con capacidad de producción de 1.9 g de O₃/h. Como reactor se utilizó un reactor tipo espumador por lotes. El agua fue suministrada por la parte superior, mientras que por la base de la columna se alimentó ozono a través del difusor. La biomasa fue cosechada a través del colector, el cual está ubicado en la parte superior de la columna. A la salida del colector se conectaron un par de lavadores de gases en serie, el primero para la recolección de la biomasa microalgal y el segundo para la captación del ozono residual (Figura 14).



Figura 14. Sistema de oxidación.

Las pruebas de ozoflotación se realizaron con base en un diseño de experimentos 3^3 , el cual está compuesto por tres variables (concentración de O_3 en fase gas, tiempo de ozonación y concentración inicial de biomasa microalgal), y tres niveles por variable, codificados como 1, 0 y -1 (alto, medio y bajo). El flujo de ozono y el volumen de muestra a ozonar se mantuvieron constantes, teniendo como valores 0.6 L/min y 1 L, respectivamente. El diseño de experimentos se muestra en la Tabla 12.

Tabla 12. Diseño de experimentos.

| Prueba | Variables codificadas | | | Variables reales | | | DOA (mg/L) |
|--------|-----------------------|----------------|----------------|--------------------------|---------|-------------------------------|------------|
| | x ₁ | x ₂ | x ₃ | [O ₃] (mg/L) | t (min) | [Biomasa] ₀ (mg/L) | |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 30 | 15 | 700 | 270 |
| 2 | 1 | 1 | 0 | 30 | 15 | 500 | 270 |
| 3 | 1 | 1 | -1 | 30 | 15 | 300 | 270 |
| 4 | 1 | 0 | 1 | 30 | 10 | 700 | 180 |
| 5 | 1 | 0 | 0 | 30 | 10 | 500 | 180 |
| 6 | 1 | 0 | -1 | 30 | 10 | 300 | 180 |
| 7 | 1 | -1 | 1 | 30 | 5 | 700 | 90 |
| 8 | 1 | -1 | 0 | 30 | 5 | 500 | 90 |
| 9 | 1 | -1 | -1 | 30 | 5 | 300 | 90 |
| 10 | 0 | 1 | 1 | 20 | 15 | 700 | 180 |
| 11 | 0 | 1 | 0 | 20 | 15 | 500 | 180 |
| 12 | 0 | 1 | -1 | 20 | 15 | 300 | 180 |
| 13 | 0 | 0 | 1 | 20 | 10 | 700 | 120 |
| 14 | 0 | 0 | 0 | 20 | 10 | 500 | 120 |
| 15 | 0 | 0 | -1 | 20 | 10 | 300 | 120 |
| 16 | 0 | -1 | 1 | 20 | 5 | 700 | 60 |
| 17 | 0 | -1 | 0 | 20 | 5 | 500 | 60 |
| 18 | 0 | -1 | -1 | 20 | 5 | 300 | 60 |
| 19 | -1 | 1 | 1 | 10 | 15 | 700 | 90 |
| 20 | -1 | 1 | 0 | 10 | 15 | 500 | 90 |
| 21 | -1 | 1 | -1 | 10 | 15 | 300 | 90 |
| 22 | -1 | 0 | 1 | 10 | 10 | 700 | 60 |
| 23 | -1 | 0 | 0 | 10 | 10 | 500 | 60 |
| 24 | -1 | 0 | -1 | 10 | 10 | 300 | 60 |
| 25 | -1 | -1 | 1 | 10 | 5 | 700 | 30 |
| 26 | -1 | -1 | 0 | 10 | 5 | 500 | 30 |
| 27 | -1 | -1 | -1 | 10 | 5 | 300 | 30 |

Es importante mencionar que la dosis de ozono aplicada (DOA) se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$DOA = \frac{[O_3] * t * Q_{O_3}}{V}$$

Donde:

[O₃]: Concentración de O₃ en fase gas (mg/L).

t: Tiempo de ozonación (min).

Q_{0₃}: Flujo de O₃ (L/min).

V: Volumen de muestra a ozonar (L).

De igual forma, se realizó un balance de materia para determinar la cantidad de ozono que no reaccionó. De esta manera, se calculó la dosis de ozono transferida (DOT):

$$\mathbf{DOT = O_{3_0} - O_{3_f}}$$

Donde:

O₃: O₃ a la entrada (mg).

O_{3_f}: O₃ a la salida (mg).

Cabe destacar que cada prueba se realizó por triplicado y de manera aleatoria para disminuir el error experimental.

Por otro lado, con los datos obtenidos del diseño de experimentos se realizó un análisis estadístico, el cual incluyó una regresión lineal multivariable, la cual indica qué variable influye más durante el proceso de ozoflotación, la relación que existe entre ellas y si hay diferencia significativa entre éstas.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Obtención de biomasa microalgal mediante el cultivo de un consorcio del género *Scenedesmus* sp. en agua residual

3.1.1 Características fisicoquímicas del agua residual

Se determinaron las características fisicoquímicas del agua residual utilizada para el crecimiento de las microalgas, al inicio y final del periodo de cultivo (15 días), para conocer la cantidad de nutrientes presentes y la remoción de los mismos. Los resultados se presentan en la Tabla 13 y se comparan con lo reportado por Sacristán de Alva, et. al. (2013), quienes utilizaron agua residual para cultivar una especie de microalga del mismo género (*Scenedesmus acutus*) que el del consorcio utilizado en la presente tesis (*Scenedesmus* sp.).

Tabla 13. Caracterización fisicoquímica del agua residual.

| Parámetro | Este trabajo* | | | (Sacristán de Alva, et al., 2013) | | |
|-----------------------------------|---------------|--------------|--------------|-----------------------------------|-----------|--------------|
| | Inicial | Final | Remoción (%) | Inicial | Final | Remoción (%) |
| pH | 8.15 ± 0.12 | 10.24 ± 0.19 | --- | 8.3 | 7.84 | --- |
| Nitratos (mg/L) | 1.65 ± 2.07 | 0.98 ± 0.34 | 40.4 | 13.4 ± 0.4 | 3.9 ± 0.3 | 70.9 |
| Nitritos (mg/L) | 1.05 ± 1.79 | 2.01 ± 1.51 | --- | --- | --- | --- |
| Nitrógeno amoniacal (mg/L) | 25.35 ± 14.12 | 14.89 ± 10.4 | 41.25 | 49.4 ± 1.3 | 3.2 ± 2.3 | 93.52 |
| Ortofosfatos (mg/L) | 11.99 ± 0.9 | 7.23 ± 3.33 | 39.68 | 9.5 ± 0.2 | 3.2 ± 0.4 | 66.32 |

* Valor promedio de tres muestreos realizados en el periodo comprendido de septiembre de 2014 a enero de 2015.

En la Tabla 13 se observa un menor contenido y una menor remoción de nitrógeno (amoniaco, nitratos) en el agua utilizada con respecto a lo reportado por Sacristán de Alva, et. al. (2013). Los ortofosfatos se encontraron en mayor concentración, pero la remoción también fue menor. Las diferencias observadas en los niveles de remoción de los nutrientes es atribuible al uso de una especie de microalga específica (*Scenedesmus acutus*) lo cual resultó ser más eficiente que el consorcio microalgal.

Al final del cultivo se observó un incremento del pH (8.3 a 10.36) debido a que el agua residual presenta iones carbonato disueltos, los cuales se hidrolizan y forman iones bicarbonato (que son consumidos por las microalgas como fuente de carbono para llevar a cabo la fotosíntesis), y iones hidróxido, que son los responsables del aumento en el pH. El incremento en los valores de pH durante el cultivo es un indicativo del crecimiento de las microalgas; sin embargo, es conveniente controlar esta variable, porque se ha reportado que a valores mayores de 9, se favorece el crecimiento de cianobacterias, las cuales compiten con las microalgas (Andersen, 2005). En este trabajo no se llevó un control de esta variable pero sí se realizaron observaciones al microscopio para corroborar la presencia del género *Scenedesmus* sp.

Por otro lado, se observa que el nutriente que más se consumió fue el nitrógeno amoniaco, lo cual coincide con lo reportado en la literatura (Maestrini, et al., 1986). De igual forma, se observó el aumento en el nivel de nitritos debido a la nitrificación de nitrógeno amoniaco.

Así mismo, hubo remoción de ortofosfatos, debido a que las microalgas consumen éste nutriente como fuente de fósforo, el cual es de suma importancia porque ayuda a la formación de ácidos nucleicos (ADN y

ARN), fosfoproteínas, fosfolípidos, enzimas y compuestos fosfatados ricos en energía (ATP).

3.1.2 Cultivo de microalgas

El cultivo de microalgas del género *Scenedesmus* sp. se realizó durante los meses de septiembre de 2014 a enero de 2015. Durante el cultivo se monitoreó la absorbancia, el pH y los SST para evaluar el crecimiento y la concentración de las microalgas. El crecimiento de las microalgas se determinó midiendo la densidad óptica como indicador de la densidad celular a 680 nm en un espectrofotómetro HACH 3900. La concentración de biomasa se evaluó midiendo el contenido de SST (Método 2540 D; APHA, 1992).

En la Figura 15 se observa que la máxima cantidad de biomasa obtenida a partir de los cultivos del consorcio de microalgas del género *Scenedesmus* sp. fue de 520 mg SST/L, a los 14 días. Otros autores han reportado concentraciones de biomasa en agua residual de 730 mg/L y 1179 mg /L para las microalgas *Scenedesmus obliquus* y *Scenedesmus acutus*, respectivamente (Zhang, et al., 2014; Sacristán de Alva, et al., 2013).

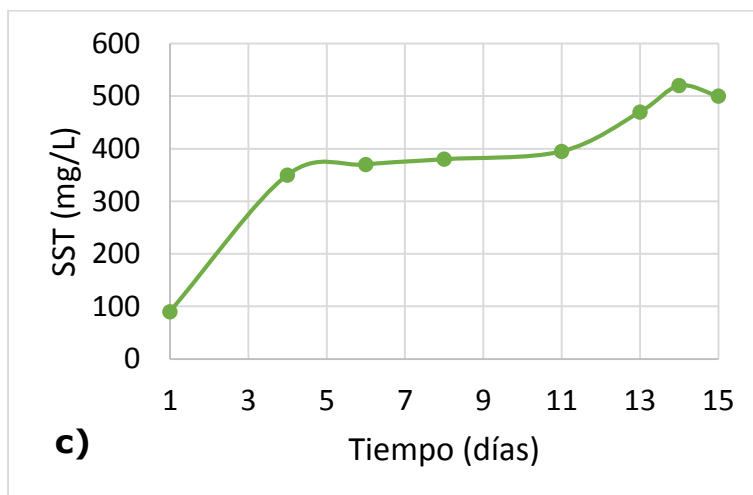
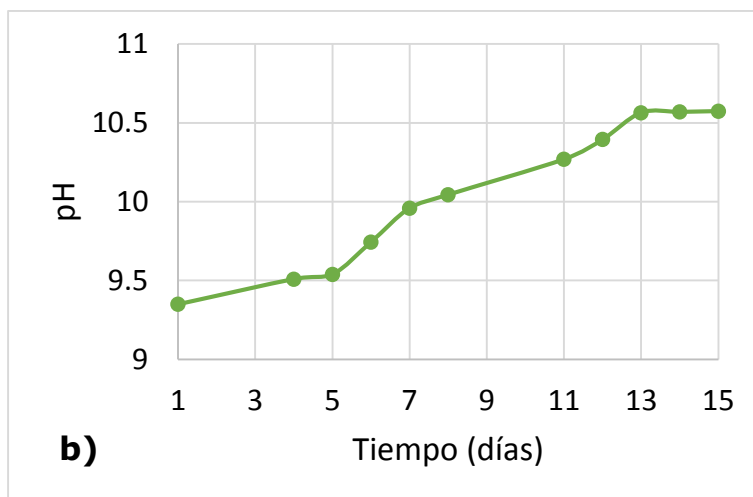
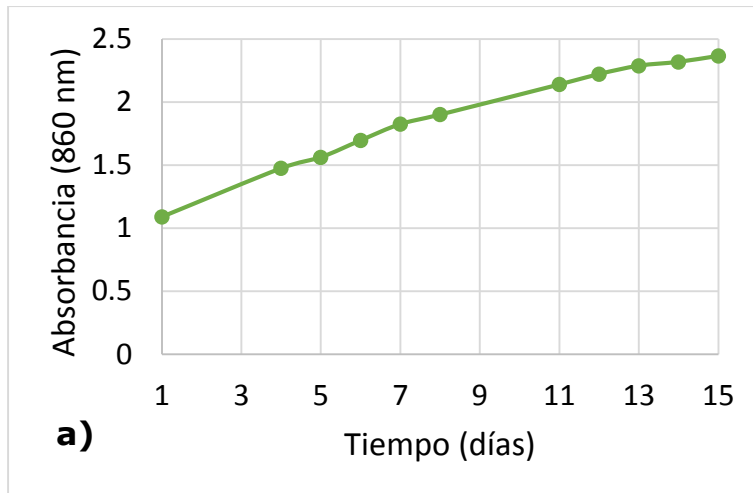


Figura 15. Monitoreo del cultivo de microalgas. a) Gráfica en función a la absorbancia. b) Gráfica en función al pH. c) Gráfica en función a los SST.

Es importante mencionar que para llevar a cabo las pruebas de ozoflotación con mayores concentraciones de microalgas a la obtenida, fue necesario concentrar muestras de cultivo mediante sedimentación natural y resuspensión en un menor volumen.

Por otro lado, se llevó a cabo un conteo de células en una cámara de Neubauer para determinar la proporción en la cual se encontraban presentes géneros de microalgas de interés. Del total de células contadas (9.4×10^5 células/mL), el 80.8% correspondió a *Scenedesmus* sp., mientras que el 19.2% restante perteneció al género *Micractinium*.

3.2 Separación de microalgas mediante ozoflotación en reactor espumador

En la Figura 16 se observa la formación de espuma durante el proceso de ozoflotación debido a la reacción que existe entre el ozono y las proteínas liberadas, lo que permite la separación y cosecha de microalgas.



Figura 16. Formación de espuma microalgal.

A continuación se muestra el desarrollo experimental de una prueba de ozoflotación de microalgas (Figura 17).

En la Tabla 14 se observan los resultados experimentales obtenidos para las variables independientes (concentración de O₃ en fase gas, tiempo de ozonación y concentración inicial de biomasa microalgal) y para la variable de respuesta (biomasa cosechada).

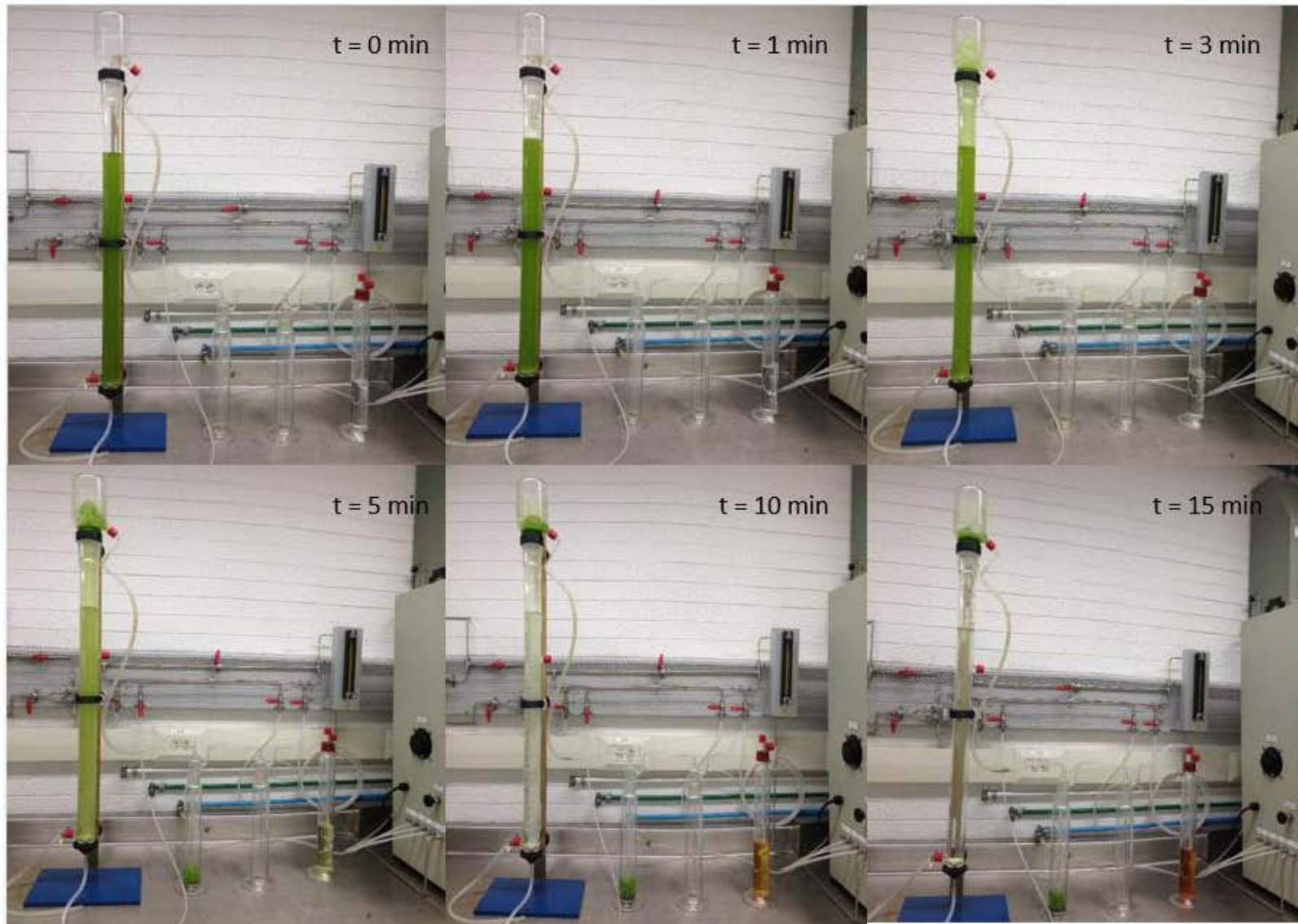


Figura 17. Desarrollo de una prueba de ozoflotación de microalgas.

Tabla 14. Resultados experimentales de pruebas de ozoflotación.

| Prueba | X ₁ | X ₂ | X ₃ | Y | DOA (mg/L) | DOT (mg/L) | Rendimiento (mg O ₃ /mg biomasa) | Rendimiento (mg biomasa/mg O ₃) | Remoción SST (%) |
|-----------|-----------------------------|----------------|----------------------------------|---------------|---------------|---------------|---|--|---------------------|
| | [O ₃] (mg/L) | t (min) | [Biomasa] ₀ (mg/L) | SST (mg) | | | | | |
| 1 | 30.08 | 15 | 768.33 | 744.33 | 270.72 | 164.16 | 0.22 | 4.62 | 96.92 |
| 2 | 29.76 | 15 | 468.33 | 454.83 | 267.84 | 161.28 | 0.35 | 2.82 | 97.13 |
| 3 | 30.56 | 15 | 320.00 | 313.50 | 275.04 | 210.72 | 0.66 | 1.58 | 97.91 |
| 4 | 28.72 | 10 | 768.33 | 720.83 | 172.32 | 130.80 | 0.18 | 5.52 | 93.92 |
| 5 | 28.40 | 10 | 468.33 | 457.03 | 170.40 | 125.28 | 0.27 | 3.64 | 97.5 |
| 6 | 30.56 | 10 | 320.00 | 312.00 | 183.36 | 132.48 | 0.42 | 2.39 | 97.39 |
| 7 | 28.72 | 5 | 768.33 | 596.33 | 86.16 | 72.48 | 0.12 | 8.23 | 78.21 |
| 8 | 28.40 | 5 | 468.33 | 404.33 | 85.20 | 78.48 | 0.19 | 5.15 | 86.27 |
| 9 | 30.56 | 5 | 320.00 | 287.50 | 91.68 | 73.44 | 0.25 | 3.94 | 90.27 |
| 10 | 19.36 | 15 | 758.33 | 728.83 | 174.24 | 131.04 | 0.18 | 5.55 | 96.02 |
| 11 | 19.36 | 15 | 468.33 | 391.33 | 174.24 | 127.20 | 0.33 | 3.05 | 82.96 |
| 12 | 20.64 | 15 | 320.00 | 310.00 | 185.76 | 124.32 | 0.41 | 2.51 | 96.79 |
| 13 | 19.36 | 10 | 758.33 | 714.33 | 116.16 | 96.00 | 0.13 | 7.43 | 94.21 |
| 14 | 19.36 | 10 | 468.33 | 440.33 | 116.16 | 99.84 | 0.23 | 4.41 | 94.04 |
| 15 | 20.64 | 10 | 320.00 | 309.50 | 123.84 | 93.12 | 0.30 | 3.32 | 96.67 |
| 16 | 19.36 | 5 | 758.33 | 596.33 | 58.08 | 54.12 | 0.09 | 11.06 | 78.89 |
| 17 | 19.84 | 5 | 476.67 | 387.67 | 59.52 | 52.80 | 0.14 | 7.45 | 81.43 |
| 18 | 20.64 | 5 | 320.00 | 293.50 | 61.92 | 52.32 | 0.18 | 5.63 | 91.75 |
| 19 | 9.12 | 15 | 768.33 | 714.33 | 82.08 | 69.60 | 0.10 | 10.26 | 92.91 |
| 20 | 9.28 | 15 | 476.67 | 423.17 | 83.52 | 70.80 | 0.17 | 6.09 | 88.98 |
| 21 | 8.96 | 15 | 301.67 | 282.67 | 80.64 | 67.20 | 0.24 | 4.21 | 93.77 |
| 22 | 9.44 | 10 | 758.33 | 676.67 | 56.64 | 51.96 | 0.08 | 13.14 | 89.28 |
| 23 | 9.28 | 10 | 476.67 | 408.67 | 55.68 | 50.04 | 0.12 | 8.25 | 85.97 |
| 24 | 8.96 | 10 | 301.67 | 282.17 | 53.76 | 45.12 | 0.16 | 6.26 | 93.6 |
| 25 | 9.44 | 5 | 758.33 | 521.67 | 28.32 | 25.20 | 0.05 | 21.12 | 69.33 |
| 26 | 9.28 | 5 | 476.67 | 282.67 | 27.84 | 24.72 | 0.09 | 11.56 | 59.38 |
| 27 | 8.96 | 5 | 301.67 | 190.33 | 26.88 | 23.04 | 0.12 | 8.26 | 63.36 |

De acuerdo a los datos experimentales, se observa que la condición óptima para la recuperación de biomasa es la prueba 25. Este resultado se comparó con el publicado por otros autores. Los resultados se muestran a continuación (Tabla 15):

Tabla 15. Comparación de los resultados experimentales con otros autores

| Suspensión de microalgas | Medio de cultivo | Tipo de reactor | Condiciones de operación | Rendimiento (mg biomasa/mg O₃) | Remoción (%) | Referencia |
|--|-------------------------|--|--|--|---------------------|--------------------------------|
| <i>Scenedesmus</i> sp. | Agua residual doméstica | Espumador h: 82 cm Øi: 4.5 cm Tamaño de poro del difusor: 10-16 µm | Q _{gas} : 0.6 L/min P _{gas} : 0.65 kg/cm ² [Biomasa] ₀ : 758.33 mg/L [O ₃]: 9.44 mg/L t: 5 min | 21.12 | 69.33 | Este trabajo |
| <i>Scenedesmus obliquus</i> FSP-3 cultivada, obtenida a partir de una cepa de agua dulce del sur de Taiwán | Medio sintético | Columna de flotación h: 47 cm Øi: 5 cm Tamaño de poro del difusor: 30-60 µm Columna de flotación | Q _{gas} : 0.6 L/min P _{gas} : 0.65 kg/cm ² [Biomasa] ₀ : 1610 mg/L [O ₃]: 63, 98 y 135 mg/L t: 4 min | 2.0-5.0 | 95.0 | (Cheng, et al., 2011) |
| Cultivo mixto de microalgas obtenidas de un lago artificial para tratamiento de agua residual | Agua residual doméstica | Columna de flotación h: 67 cm Øi: 4.9 cm Tamaño de poro del difusor: 30-60 µm | Q _{gas} : 0.4 L/min [Biomasa] ₀ : 419 mg/L [O ₃]: 45 mg/L t: 5 min | 4.35 | 79.6 | (Velasquez Orta, et al., 2014) |

Como se observa en la Tabla 15, el rendimiento que se obtuvo en el presente trabajo experimental es tres mayor que el reportado por Cheng et al. (2011) y Velásquez Orta, et al. (2014), ya que se obtienen 21.12 miligramos de biomasa por miligramo de ozono aplicado.

Es importante resaltar que la condición óptima obtenida en este trabajo no sólo es mejor en términos de recuperación de biomasa, ya que como medio de cultivo se utilizó agua residual en lugar de medio sintético, así como también una concentración de ozono siete y cuatro veces menor a la utilizada por Cheng et al. (2011) y Velásquez Orta, et al. (2014), respectivamente, lo que reduciría los costos de operación.

Por otro lado, en términos de porcentaje de remoción de biomasa, se obtuvo un 25% menos que Cheng et al. (2011) debido a que el agua residual contiene una mayor diversidad y contenido de constituyentes que son oxidados durante el proceso de ozoflotación y en consecuencia, la cosecha de microalgas. Se observa también que la remoción de biomasa es muy similar en los estudios en los que se utilizó agua residual como medio de cultivo.

Los resultados obtenidos a partir de diseño de experimentos fueron sometidos a un análisis estadístico. Se realizó una regresión multivariable mediante el programa estadístico SPSS (anexo estadístico), la cual relaciona la cantidad de biomasa cosechada como variable de respuesta contra la concentración de O₃ en fase gas, tiempo de ozonación y concentración inicial de biomasa microalgal, las cuales son variables independientes. La ecuación obtenida se muestra a continuación:

$$y = -121.26 + 2.43x_1 + 8.85x_2 + 0.84x_3$$

Donde:

y: Cantidad de biomasa cosechada (mg).

x₁: Concentración de O₃ en fase gas (mg/L).

x₂: Tiempo de ozonación (min).

x₃: Concentración inicial de biomasa microalgal (mg/L).

Es importante destacar que la ecuación anterior posee un intervalo de confianza del 95% y un coeficiente de correlación de 0.94. Los intervalos de confianza para cada coeficiente se muestran en la Tabla 16.

Tabla 16. Intervalos de confianza de los coeficientes de la regresión.

| Coeficiente | Intervalo de confianza de 95 % | |
|----------------|--------------------------------|-----------------|
| | Límite inferior | Límite superior |
| Constante | -173.31 | -69.211 |
| x ₁ | 1.033 | 3.836 |
| x ₂ | 5.962 | 11.739 |
| x ₃ | 0.788 | 0.911 |

De acuerdo a los coeficientes obtenidos en la ecuación anterior, se observa que la variable que influye más sobre la cantidad de biomasa cosechada es el tiempo de ozonación, seguido de la concentración de O₃ en fase gas y por último la concentración inicial de biomasa microalgal. Así mismo, los valores de las covarianzas entre los coeficientes, al ser menores que cero, indican que no existe ninguna relación entre x₁, x₂ y x₃.

Adicionalmente se encontró que los p-value obtenidos son menores al nivel de significancia, por lo que se concluye que existe diferencia significativa entre x₁, x₂ y x₃.

A partir de la regresión multivariable se hizo una extrapolación de los resultados manteniendo constante la cantidad de biomasa microalgal

inicial para conocer el comportamiento a mayores concentraciones de biomasa que los experimentados. Se realizó una gráfica con los valores obtenidos, los cuales son válidos si dicha ecuación mantiene su comportamiento lineal (Figura 18).

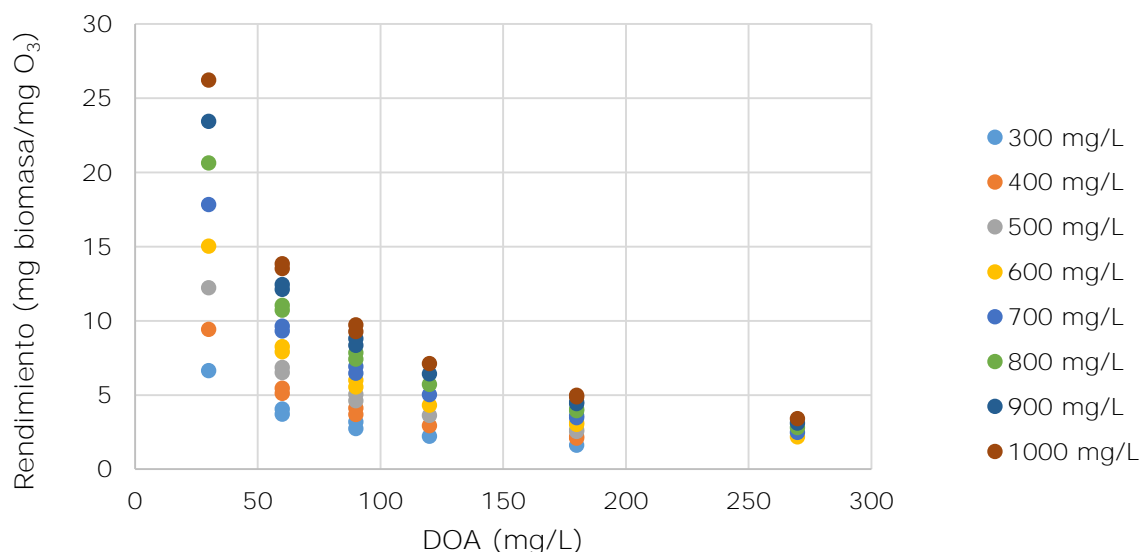


Figura 18. Gráfica de Rendimiento vs Dosis de Ozono Aplicada (DOA).

Se encontró que se obtienen mayores rendimientos de recuperación de biomasa por miligramo de ozono aplicado cuando se tienen suspensiones iniciales con alta concentraciones de microalgas y bajas dosis de ozono. A mayores dosis de ozono, la concentración inicial de biomasa ya no influye en el rendimiento. Estos resultados son importantes de considerar dado que indican que la ozoflotación resulta ser más eficiente cuando se trabaja con cultivos más concentrados, es decir, con mayor concentración de biomasa, lo cual es una ventaja con respecto al consumo de ozono.

4. CONCLUSIONES

- Se llevó a cabo la separación de microalgas con ozono en el reactor tipo espumador, concluyendo que es posible mejorar el rendimiento de cosecha con respecto a las columnas de flotación convencionales reportadas, reduciéndose significativamente los requerimientos de ozono por miligramo de biomasa cosechada.
- Las condiciones de operación que maximizaron la cantidad de biomasa cosechada son: concentración de ozono en fase gas, 9.44 mg/L; tiempo de ozonación 5 min; concentración de biomasa microalgal, 758.33 mg/L.
- En cuanto al proceso de ozoflotación, se concluye que la variable de mayor influencia en la separación de las microalgas es el tiempo de ozonación, seguido de la concentración de ozono en fase gas y en menor grado la concentración de biomasa microalgal.
- Mediante el diseño de experimentos fue posible obtener un modelo matemático con un coeficiente de correlación de 0.94, el cual describe adecuadamente la cosecha o separación de microalgas mediante el proceso de ozoflotación.
- De acuerdo a la regresión obtenida, se concluye que no existe relación entre las variables del proceso evaluadas.
- Se obtuvo un rendimiento tres veces mayor al reportado en la literatura en cuanto a la cantidad de biomasa cosechada por miligramo de ozono.

- La ozoflotación resulta ser más eficiente cuando se trabaja con mayor cantidad de biomasa microalgal.

5. REFERENCIAS

Aaronson, S., Berner, T. & Dubinsky, Z., 1980. Microalgae as a source of chemical and natural products. En: *Algae Biomass*. s.l.:Elsevier/North-Holland Biomedical Press, p. 852.

Ahmad, A. L., Mat Yasin, N. H., Derek, C. J. C. & Lim, J. K., 2011. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volumen 15, pp. 584-593.

Álvarez, C., 2009. Biocombustibles: desarrollo histórico-tecnológico, mercados actuales y comercio internacional. *Economía Informa*, Issue 359, pp. 63-89.

Andersen, R., 2005. *Algal culturing techniques*. San Diego, California: Elsevier.

APHA, A. W., 1992. *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*. Madrid: Díaz de Santos.

Atadashi, I. M., Aroua, M. K., Abdul, A. & Sulaiman, N. M. N., 2012. Production of biodiesel using high free fatty acid feedstock. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volumen 16, pp. 3275-3285.

Bajhaiya, A. K., Suseela, M. R. & Ramteke, P. W., 2012. Approaches and prospectives for algal fuel. En: *The Science of Algal Fuels*. USA: Springer, pp. 43-62.

Barsanti, L. & Gualtieri, P., 2006. *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology*. s.l.:CRC Press.

Becker, E. W., 1986. Nutritional properties of microalgae: potential and constraints. En: *Handbook of Microalgal Culture*. Florida: CRC Press, pp. 339-419.

Becker, E. W., 1988. Micro-algae for human and animal consumption. En: *Micro-algae biotechnology*. Great Britain: Cambridge University Press, pp. 222-256.

Becker, E. W., 1994. Chemical composition. En: ***Microalgae: Biotechnology and Microbiology***. Great Britain: Cambridge University Press, p. 178.

Becker, E. W., 2007. Microalgae as a source of protein. ***Biotechnology Advances***, Volumen 25, pp. 207-210.

Ben-Amotz, S., Tornabene, T. G. & Thomas, W. H., 1985. Chemical profile of selected species of microalgae with emphasis on lipids. ***Journal of Phycology***, 21(1), pp. 72-81.

Benoufella, F., Laplanche, A., Boisdon, V. & Bourbigot, M. M., 1994. Elimination of *Microcystis* cyanobacteria (blue-green-algae) by an ozoflotation process: a pilot plant study. ***Water Science and Technology***, 30(8), pp. 245-257.

Betzer, N., Argaman, Y. & Kott, Y., 1980. Effluent treatment and algae recovery by ozone-induced flotation. ***Water Research***, Volumen 14, pp. 1003-1009.

Biodiesel Handling and Use Guide, 2009. ***National Renewable Energy Laboratory***. [En línea]
Available at: <http://www.nrel.gov/vehiclesandfuels/pdfs/43672.pdf>
[Último acceso: 28 Marzo 2014].

Brown, M. & Jeffrey, S. W., 1995. The amino acid and gross composition of marine diatoms potentially useful for mariculture. ***Journal of Applied Phycology***, Volumen 7, pp. 521-527.

Brown, M. R., Jeffrey, S. W. & Garland, C. D., 1989. En: ***Nutritional aspects of microalgae used in mariculture: a literature review***. Australia: CSIRO Marine Laboratories Report, p. 44.

Carvalho, A. P., Meireles, L. A. & Malacata, F. X., 2006. Microalgal reactors: a review of enclosed system design and performances. ***Biotechnology Progress***, 22(6), pp. 1490-1506.

Cheng, Y. L. y otros, 2010. Dispersed ozone flotation of *Chlorella vulgaris*. ***Bioresource Technology***, Volumen 101, pp. 9092-9096.

Cheng, Y. L. y otros, 2011. Harvesting of *Scenedesmus obliquus* FSP-3 using dispersed ozone flotation. *Bioresource Technology*, Volumen 102, pp. 82-87.

Chen, Y. M., Liu, J. C. & Ju, Y. H., 1998. Flotation removal of algae from water. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Volumen 12, pp. 49-55.

Chisti, Y., 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, Volumen 25, pp. 294-306.

Chisti, Y., 2008. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends in Biotechnology*, Volumen 26, pp. 126-131.

Christenson, L. & Sims, R., 2011. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. *Biotechnology Advances*, Volumen 29, pp. 686-702.

CIA World Factbook, 2009. *CIA World Factbook*. [En línea] Available at: www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/ [Último acceso: 27 Marzo 2014].

Coward, T., Lee, J. & Caldwell, G., 2013. Development of a foam flotation system for harvesting microalgae biomass. *Algal Research*, Volumen 2, pp. 135-144.

Csordas, A. & Wang, J. K., 2004. An integrated photobioreactor and foam fractionation unit for the growth and harvest of *Chaetoceros* spp. in open systems. *Aquacultural Engineering*, Volumen 30, pp. 15-30.

Cvengroš, J. & Považanec, F., 1996. Production and treatment of rapeseed oil methyl esters as alternative fuels for diesel engines. *Bioresource Technology*, Volumen 55, pp. 145-152.

Dismukes, G. C. y otros, 2008. Aquatic phototrophs: efficient alternatives to land-based crops for biofuels. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(3), pp. 235-240.

Dubinsky, Z., Berner, T. & Aaronson, S., 1978. Potential of large scale algal culture for biomass and lipid production in arid lands. *Biotechnology and Bioengineering Symposium*, Volumen 8, pp. 51-68.

Espinoza de Aquino, W., Goddard, M., Gutiérrez, C. & Bonfil, C., 2009. Los biocombustibles. *Revista de divulgación científica de la UNAM ¿Cómo ves?*, Issue 123.

Freedman, B., Butterfield, R. O. & Pryde, E. H., 1986. Transesterification kinetics of soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 63(10), pp. 1375-1380.

Freedman, B., Pryde, E. H. & Mounts, T. L., 1984. Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(10), pp. 1638-1643.

Fukuda, H., Kondo, A. & Noda, H., 2001. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 92(5), pp. 405-416.

Gaceta UNAM, 2013. *Gaceta UNAM*, 25 Febrero, p. 7.

García, R., 2014. *Separación de microalgas presentes en agua residual tratada del lago Nabor Carrillo mediante ozoflotación*, México, D.F.: UNAM.

Garibay, A. y otros, 2009. Biodiesel a partir de microalgas. *Biotecnología y Bioingeniería A. C.*, 13(3), pp. 38-61.

Gasque, L., 2006. El hidrógeno, energético del futuro. *Revista de divulgación científica de la UNAM ¿Cómo ves?*, Issue 93.

Gryglewicz, S., 1999. Rapeseed oil methyl esters preparation using heterogeneous catalysts. *Bioresource Technology*, Volumen 70, pp. 249-253.

Gudin, C. & Thepenier, C., 1986. Bioconversion of solar energy into organic chemicals by microalgae. *Advanced Biotechnology Process*, Volumen 6, pp. 73-110.

Hengfeng, M. & Tao, W., 2009. The mechanisms of ozonation on cyanobacteria and its toxins removal. *Separation and Purification Technology*, Issue 1, pp. 187-193.

Ho Lee, B., Chul Song, W., Manna, B. & Kyu Ha, J., 2008. Dissolved ozone flotation (DOF) — a promising technology in municipal wastewater treatment. *Desalination*, Volumen 225, pp. 260-273.

Hu, Q. y otros, 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *The Plant Journal : for Cell and Molecular Biology*, 54(4), pp. 621-639.

Kent Hoekman, S. y otros, 2012. Review of biodiesel composition, properties and specifications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volumen 16, pp. 143-169.

Komolafe, O. y otros, 2014. Biodiesel production from indigenous microalgae grown in wastewater. *Bioresource Technology*, Volumen 154, pp. 297-304.

Langlais, B., Reckhow, D. & Brink, D., 1991. *Ozone in water treatment: Application and engineering*. Paris: Lewis Publishers.

Lee, A. K., Lewis, D. M. & Ashman, P. J., 2009. Microbial flocculation, a potentially low cost harvesting technique for marine microalgae for the production of biodiesel. *Journal of Applied Phycology*, Volumen 21, pp. 559-567.

Lee, J. Y. y otros, 2010. Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. *Bioresource Technology*, Volumen 101, pp. 575-577.

Liu, J. C., Chen, Y. M. & Ju, Y. H., 1999. Separation of algal cells from water by column flotation. *Separation Science and Technology*, 34(11), pp. 2259-2272.

Loera-Quezada, M. & Olguín, E., 2010. Las microalgas oleaginosas como fuente de biodiésel: retos y oportunidades. *Biotecnología Ambiental Algal*, Issue 1, pp. 91-116.

Maestrini, S. Y., Robert, J. M., Leftley, J. W. & Collos, Y., 1986. Ammonium thresholds for simultaneous uptake of ammonium and nitrate by oyster-pond algae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Volumen 102, pp. 75-98.

Ma, F. & Hanna, M. A., 1999. Biodiesel production: a review. *Bioresource technology*, Volumen 70, pp. 1-15.

Mittelbach, M., 1990. Lipase catalysed alcoholysis of sunflower oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 67(3), pp. 168-170.

Molina Grima, E., Acién Fernández, F. G., García Camacho, F. & Chisti, Y., 1999. Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. *Journal of Biotechnology*, Volumen 70, pp. 231-247.

Molina Grima, E. y otros, 2003. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnology Advances*, Volumen 20, pp. 491-515.

Molina, C. M., 2010. *Los biocombustibles*, s.l.: s.n.

Nelson, L. A., Foglia, T. A. & Marner, W. N., 1996. Lipase-catalyzed production of biodiesel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Volumen 73, pp. 1191-1195.

Nigam, P. S. & Singh, A., 2011. Production of liquid biofuels from renewable resources. *Progress in Energy and Combustion Science*, Volumen 37, pp. 52-68.

Peterson, G. R. & Scarrah, W. P., 1984. Rapeseed oil transesterification by heterogeneous catalysis. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(10), pp. 1593-1597.

Petrusevski, B., Bolier, G., Van Breemen, A. N. & Alaerts, G. J., 1995. Tangential flow filtration: a method to concentrate freshwater algae. *Water Research*, 29(5), pp. 1419-1424.

Poochinda, W., White, D. & Briscoe, B., 2004. An algal removal using a combination of flocculation and flotation processes. *Environmental Technology*, 25(12), pp. 1385-1395.

Pulz, O., 2001. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Volumen 57, pp. 287-293.

Pulz, O. & Scheibenbogen, K., 1998. Photobioreactors: design and performance with respect to light energy input. En: *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Germany: Springer Berlin-Heidelberg, pp. 123-152.

REMBIO, 2011. *Red Mexicana de Bioenergía, A. C. La bioenergía en México. Situación actual y perspectivas*. [En línea] Available at:

<http://www.rembio.org.mx/2011/Documentos/Cuadernos/CT4.pdf>
[Último acceso: 28 Marzo 2014].

REN21, 2012. *Renewables Global Status Report 2012*. [En línea]
Available at: http://www.map.ren21.net/GSR/GSR2012_low.pdf
[Último acceso: 28 Marzo 2014].

Rittmann, B. E., 2008. Opportunities for renewable bioenergy using microorganisms. *Biotechnology and Bioengineering*, 100(2), pp. 203-212.

Rodolfi, L. y otros, 2009. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 102(1), pp. 100-112.

Rösch, C., Skarka, J. & Wegerer, N., 2012. Materials flow modeling of nutrient recycling in biodiesel production from microalgae. *Bioresource Technology*, Volumen 107, pp. 191-199.

Sacristán de Alva, M., Luna-Pabello, V. M., Cadena, E. & Ortiz, E., 2013. Green microalgae *Scenedesmus acutus* grown on municipal wastewater to couple nutrient removal with lipid accumulation for biodiesel production. *Bioresource Technology*, Volumen 146, pp. 744-748.

Schenk, P. M. y otros, 2008. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. *Bioenergy Research*, Volumen 1, pp. 20-43.

Schuchardt, U., Sercheli, R. & Matheus Vargas, R., 1998. Transesterification of vegetable oils: a review. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 9(1), pp. 199-210.

SENER, 2012. *Prospectiva del petróleo crudo 2012-2026*. [En línea]
Available at: http://www.aiest.unam.mx/biblio/PPCI_2012_2026.pdf
[Último acceso: 3 Febrero 2015].

SENER, 2012. *Secretaría de Energía. Balance Nacional de Energía 2012*.
[En línea]
Available at:
[http://sener.gob.mx/res/PE_y_DT/pub/2012/Balance%20Nacional%20de%20Energia%202012%20\(Vf\).pdf](http://sener.gob.mx/res/PE_y_DT/pub/2012/Balance%20Nacional%20de%20Energia%202012%20(Vf).pdf)
[Último acceso: 5 Enero 2015].

Sharma, Y. C., Singh, B. & Upadhyay, S. N., 2008. Advancements in development and characterization of biodiesel: a review. *Fuel*, Volumen 87, pp. 2355-2373.

Shimamatsu, H., 2004. Mass production of Spirulina, an edible microalga. *Hydrobiologia*, Volumen 512, pp. 39-44.

Uduman, N. y otros, 2010. Dewatering of microalgal cultures: a major bottleneck to algae-based fuels. *Renewable and Sustainable Energy*, Volumen 2, pp. 012701-012715.

Ugwu, C., Aoyagi, H. & Uchiyama, H., 2008. Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource Technology*, Volumen 99, pp. 4021-4028.

Valeriano, M. T., 2013. *Efecto del ozono en la liberación de proteínas surfactantes y en ácidos grasos precursores de biodiesel durante la separación de microalgas mediante ozoflotación*, México, D.F.: UNAM.

Velasquez Orta, S. B. y otros, 2014. Microalgae harvesting using ozoflotation: effect on lipid and FAME recoveries. *Biomass and Bioenergy*, Volumen 70, pp. 356-363.

Wang, B., Li, Y., Wu, N. & Lan, W. C., 2008. CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Volumen 79, pp. 707-718.

Wijffels, R. H., 2008. Potential of sponges and microalgae for marine biotechnology. *Trends Biotechnology*, 26(1), pp. 26-31.

Wiley, P. E., Brennen, K. J. & Jacobson, A. E., 2009. Improved algal harvesting using suspended air flotation. *Water Environment Research*, 81(7), pp. 702-708.

Wiley, P. E., Campbell, J. E. & McKuin, B., 2011. Production of biodiesel and biogas from algae: a review of process train options. *Water Environment Research*, 83(4), pp. 326-338.

Zhang, C., Zhang, Y., Zhuang, B. & Zhou, X., 2014. Strategic enhancement of algal biomass, nutrient uptake and lipid through statistical optimization of nutrient supplementation in coupling

Scenedesmus obliquus-like microalgae cultivation and municipal wastewater treatment. *Bioresource Technology*, Volumen 171, pp. 71-79.

6. ANEXO ESTADÍSTICO

1. Desviaciones estándar de los resultados experimentales de las pruebas de ozoflotación.

| Prueba | x ₁ | x ₂ | x ₃ | y | DOA (mg/L) | DOT (mg/L) | Rendimiento (mg O ₃ /mg biomasa) | Rendimiento (mg biomasa/mg O ₃) | Eficiencia de remoción (%) |
|-----------|-----------------------------|----------------|----------------------------------|-------------|---------------|---------------|---|--|-------------------------------------|
| | [O ₃] (mg/L) | t (min) | [Biomasa] ₀ (mg/L) | SST (mg) | | | | | |
| 1 | 0.91 | 0.00 | 110.78 | 102.29 | 8.15 | 44.80 | 0.03 | 0.64 | 0.66 |
| 2 | 1.36 | 0.00 | 30.64 | 28.52 | 12.22 | 13.58 | 0.01 | 0.06 | 0.26 |
| 3 | 0.23 | 0.00 | 42.43 | 44.55 | 2.04 | 88.93 | 0.19 | 0.46 | 0.94 |
| 4 | 1.02 | 0.00 | 110.78 | 93.10 | 6.11 | 18.67 | 0.00 | 0.08 | 1.42 |
| 5 | 0.57 | 0.00 | 30.64 | 42.95 | 3.39 | 7.47 | 0.01 | 0.13 | 2.79 |
| 6 | 0.23 | 0.00 | 42.43 | 46.67 | 1.36 | 35.30 | 0.05 | 0.29 | 1.67 |
| 7 | 1.02 | 0.00 | 110.78 | 23.10 | 3.05 | 0.68 | 0.00 | 0.24 | 8.27 |
| 8 | 0.57 | 0.00 | 30.64 | 36.30 | 1.70 | 5.77 | 0.00 | 0.08 | 2.11 |
| 9 | 0.23 | 0.00 | 42.43 | 17.68 | 0.68 | 11.54 | 0.02 | 0.38 | 6.44 |
| 10 | 2.49 | 0.00 | 96.64 | 103.00 | 22.40 | 4.75 | 0.02 | 0.58 | 1.35 |
| 11 | 2.49 | 0.00 | 30.64 | 111.25 | 22.40 | 21.04 | 0.04 | 0.37 | 18.33 |
| 12 | 1.58 | 0.00 | 42.43 | 45.25 | 14.26 | 6.11 | 0.08 | 0.49 | 1.31 |
| 13 | 2.49 | 0.00 | 96.64 | 89.57 | 14.93 | 8.15 | 0.01 | 0.30 | 0.19 |
| 14 | 2.49 | 0.00 | 30.64 | 26.40 | 14.93 | 2.72 | 0.01 | 0.14 | 0.52 |
| 15 | 1.58 | 0.00 | 42.43 | 43.13 | 9.50 | 1.36 | 0.04 | 0.41 | 0.66 |
| 16 | 2.49 | 0.00 | 96.64 | 45.73 | 7.47 | 7.30 | 0.01 | 0.65 | 4.02 |
| 17 | 3.17 | 0.00 | 42.43 | 24.04 | 9.50 | 10.86 | 0.02 | 1.08 | 2.20 |
| 18 | 1.58 | 0.00 | 42.43 | 37.48 | 4.75 | 2.04 | 0.03 | 0.94 | 0.45 |
| 19 | 1.58 | 0.00 | 110.78 | 109.37 | 14.26 | 10.18 | 0.00 | 0.07 | 0.84 |
| 20 | 1.81 | 0.00 | 42.43 | 16.26 | 16.29 | 15.27 | 0.03 | 1.08 | 4.51 |
| 21 | 0.00 | 0.00 | 16.50 | 8.01 | 0.00 | 2.72 | 0.02 | 0.29 | 2.47 |
| 22 | 2.04 | 0.00 | 96.64 | 80.14 | 12.22 | 10.69 | 0.01 | 1.16 | 0.81 |
| 23 | 1.81 | 0.00 | 42.43 | 11.31 | 10.86 | 7.98 | 0.02 | 1.09 | 5.28 |
| 24 | 0.00 | 0.00 | 16.50 | 8.72 | 0.00 | 1.36 | 0.01 | 0.38 | 2.23 |
| 25 | 2.04 | 0.00 | 96.64 | 2.36 | 6.11 | 5.09 | 0.01 | 4.17 | 8.52 |
| 26 | 1.81 | 0.00 | 42.43 | 16.97 | 5.43 | 4.41 | 0.01 | 1.38 | 1.72 |
| 27 | 0.00 | 0.00 | 16.50 | 18.38 | 0.00 | 0.00 | 0.01 | 0.80 | 9.56 |

2. Resultados obtenidos del programa estadístico SPSS.

Estadísticos descriptivos

| | Media | Desviación típica | N |
|----------------|----------|-------------------|----|
| y | 453.5144 | 175.01282 | 54 |
| x ₁ | 19.52 | 8.49158 | 54 |
| x ₂ | 10.0 | 4.12082 | 54 |
| x ₃ | 516.2357 | 193.65717 | 54 |

Correlaciones

| | | y | x ₁ | x ₂ | x ₃ |
|----------------------------|----------------|-------|----------------|----------------|----------------|
| Correlación de Pearson | y | 1.0 | 0.121 | 0.21 | 0.941 |
| | x ₁ | 0.121 | 1.0 | 0.0100 | 0.001 |
| | x ₂ | 0.21 | 0.01 | 1.0 | 0 |
| | x ₃ | 0.941 | 0.001 | 0 | 1.0 |
| Significancia (unilateral) | y | | 0.191 | 0.064 | 0 |
| | x ₁ | 0.191 | | 0.47 | 0.497 |
| | x ₂ | 0.064 | 0.47 | | 0.499 |
| | x ₃ | 0 | 0.497 | 0.499 | |
| N | y | 54 | 54 | 54 | 54 |
| | x ₁ | 54 | 54 | 54 | 54 |
| | x ₂ | 54 | 54 | 54 | 54 |
| | x ₃ | 54 | 54 | 54 | 54 |

Resumen del modelo^b

| Modelo | R | R ² | R ² corregida | Error típico | Durbin-Watson |
|--------|--------------------|----------------|--------------------------|--------------|---------------|
| 1 | 0.971 ^a | 0.943 | 0.939 | 43.13939 | 1.658 |

a. Variables predictoras: Constante, x₁, x₂, x₃

b. Variable dependiente: y

ANOVA^b

| | GL | Suma de cuadrados | Promedio de los cuadrados | F | Valor crítico de F |
|-----------|----|-------------------|---------------------------|---------|--------------------------|
| Regresión | 3 | 1530302.52 | 510100.8398 | 274.101 | 5.04771E-31 ^a |
| Residuos | 50 | 93049.66209 | 1860.993242 | | |
| Total | 53 | 1623352.182 | | | |

a. Variables predictoras: Constante, x_1 , x_2 , x_3

b. Variable dependiente: y

Coeficientes

| | Coeficientes | Error típico | t | p-value | Intervalo de confianza de 95% | |
|-----------|--------------|--------------|---------|---------|-------------------------------|--------------|
| | | | | | Inferior 95% | Superior 95% |
| Constante | -121.26483 | 25.91648 | -4.6791 | 2.2E-05 | -173.3196141 | -69.21004521 |
| x_1 | 2.4349695 | 0.697862 | 3.48919 | 0.00102 | 1.033273205 | 3.836665726 |
| x_2 | 8.8508339 | 1.438052 | 6.15474 | 1.3E-07 | 5.962422397 | 11.73924542 |
| x_3 | 0.849884 | 0.030599 | 27.7752 | 4.7E-32 | 0.788424699 | 0.911343361 |

Correlaciones de los coeficientes^a

| | x_1 | x_2 | x_3 |
|---------------|-------|-----------|-----------|
| Correlaciones | x_1 | 1.0 | -0.01 |
| | x_2 | -0.01 | 1.0 |
| | x_3 | -0.001 | 0 |
| Covarianzas | x_1 | 0.487 | -2.24E-05 |
| | x_2 | -0.01 | 2.068 |
| | x_3 | -2.24E-05 | -1.68E-05 |

a. Variable dependiente: y