



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
AMBIENTAL – AGUA

**RECUPERACIÓN DE BIOMASA MICROALGAL EN UN REACTOR PROTOTIPO DE
OZONO-FLOTACIÓN**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:
I.C. ERICK VIELMA HERNÁNDEZ

TUTOR PRINCIPAL
DR. IGNACIO MONJE RAMÍREZ, INSTITUTO DE INGENIERÍA

COMITÉ TUTOR
DR. JESÚS GRACIA FADRIQUE, FACULTAD DE QUÍMICA
DRA. SHARON BELINDA VELÁSQUEZ ORTA, NEWCASTLE UNIVERSITY

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., NOVIEMBRE 2020



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: Dr. Armando González Sánchez

Secretario: Dr. Jesús Gracia Fadrique

1 er. Vocal: Dr. Alejandro Vargas Casillas

2 do. Vocal: Dra. Sharon Belinda Velásquez Orta

3 er. Vocal: Dr. Ignacio Monje Ramírez

Lugar o lugares donde se realizó la tesis:

Laboratorio de Ingeniería Ambiental, Instituto de Ingeniería, UNAM

Laboratorio de Superficies, Facultad de Química, UNAM

TUTOR DE TESIS

Dr. Ignacio Monje Ramírez

FIRMA

El trabajo experimental fue realizado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM que cuenta con certificado de conformidad otorgado por el organismo acreditado Certificación Mexicana, S.C., por haber implementado y mantener un Sistema de Gestión de la Calidad de conformidad con los requisitos de la norma internacional ISO 9001:2015

No. de Certificado CMX C SGC 155 2017, válido en el período del 09 de noviembre de 2017 al 09 de noviembre de 2020



Resumen

El interés en el uso de microalgas para el tratamiento de aguas y la posterior recuperación de la biomasa a fin de obtener productos de valor agregado ha aumentado en los últimos años. Sin embargo, uno de los principales desafíos para la comercialización de estos procesos es encontrar un método de cosechado eficiente y económico que permita mayores rendimientos, factores de concentración elevados y por lo tanto, menores volúmenes de cosecha. De los métodos estudiados, la ozono-flotación ha sido considerada como una alternativa con gran potencial debido a que combina la parte física de la flotación con las propiedades oxidativas del ozono. En la búsqueda de optimizar el proceso de ozono-flotación con la obtención de mayores porcentajes de cosecha y eficiencias de transferencias de masa, se operó en lote un reactor prototipo con una nueva configuración para la cosecha de un consorcio mixto de microalgas cultivadas en agua residual, se evaluó la concentración inicial de biomasa y la relación de flujos (Q_G/Q_L), con flujos de recirculación de líquido de 0.17, 0.25 y 0.5 $L \cdot min^{-1}$. Con la menor relación de flujos (Q_G/Q_L) y la mayor concentración de biomasa inicial ($1800 \text{ mg} \cdot L^{-1}$) se logró recuperar el 78.8%, 74.4%, 79.4% y 72.3%, de la biomasa, proteínas, lípidos y carbohidratos, respectivamente y se obtuvo una eficiencia en la transferencia de masa del 64.2%. Las moléculas del cosechado al tener actividad de superficie, abatieron la tensión superficial a valores de $45.26 \pm 0.73 \text{ mN} \cdot m^{-1}$.

Finalmente se evaluó el comportamiento de la presión superficial en función de la composición de tres muestras de cosechado, las cuales se tomaron en tres tiempos distintos del proceso de ozono-flotación (18.5, 37 y 56 min). El ajuste de los datos obtenidos al modelo de Langmuir, indicaron que las moléculas experimentaron un decremento en sus regiones hidrofóbicas a mayor tiempo de exposición al ozono y debido a que las magnitudes del parámetro hidrofóbico (β) se encontraron en un rango de 10^1 a 10^2 , podrían indicar que existen interacciones antagónicas entre las distintas moléculas que conforman la muestra, es decir, la presencia de moléculas con menor actividad superficial podría interferir en el efecto que tienen otros componentes presentes en la superficie, ocasionando que el parámetro hidrofóbico sea menor a lo reportado para tensoactivos puros. A partir de los parámetros de la ecuación de Gibbs integrada, se calculó la concentración micelar crítica para las muestras 1 y 3; los datos indicaron una disminución en la eficiencia de los anfifilos presentes en la muestra 3, debido a que se requiere el equivalente a 2.9 veces la concentración de los anfifilos en la muestra 1 para obtener la misma presión superficial de saturación.

Abstract

The use of microalgae for water treatment and the subsequent recovery of biomass to obtain value-added products, has increased in recent years. One of the main challenges for the commercialization of these processes is to find an efficient and economic harvesting method that allows the highest yields, high concentration factors and therefore, lower harvest volumes. Of the methods studied, ozone-flotation has been considered a good alternative because it combines the physical part of flotation with the oxidative properties of ozone. In this study a prototype ozone flotation reactor with a new configuration was operated for the harvest of a mixed consortium of microalgae cultivated in wastewater in order to optimize the ozone-flotation process and obtain higher harvest percentages and mass transfer efficiencies, the initial biomass concentration and the flow ratio (Q_G/Q_L), with liquid recirculation flows of 0.17, 0.25 and 0.5 L.min⁻¹. 78.8%, 74.4%, 79.4% and 72.3%, of the biomass, proteins, lipids and carbohydrates was harvested, with the combination of the lowest flow ratio (Q_G/Q_L) and the highest initial biomass concentration (1800 mg.L⁻¹), 64.2% mass transfer efficiency was obtained. The harvested molecules, which have surface activity, reduced the surface tension to values of 45.26 ± 0.73 mN.m⁻¹.

Finally, the behavior of surface pressure was evaluated as a function of the composition of three harvest samples, which were taken at three different times of the ozone float process (18.5, 37 and 56 min). The adjustment of the data obtained to the Langmuir model, indicated that the molecules experienced a decrease in their hydrophobic regions at a longer time of exposure to ozone and because the magnitudes of the hydrophobic parameter (β) were between 10^1 to 10^2 , They could indicate that there are antagonistic interactions between the different molecules that make up the sample, that is, the presence of molecules with less surface activity could interfere with the effect that other components present on the surface have, causing the hydrophobic parameter to be lower than reported for pure surfactants. From the parameters of the integrated Gibbs equation, the critical micellar concentration for samples 1 and 3 was calculated; the data indicated a decrease in the efficiency of the amphiphiles present in sample 3, because the equivalent of 2.9 times the concentration of the amphiphiles in sample 1 is required to obtain the same saturation surface pressure.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	IV
ABSTRACT	V
GENERALIDADES	12
1.1 INTRODUCCIÓN.....	13
1.2 JUSTIFICACIÓN	14
1.3 HIPÓTESIS.....	15
1.4 OBJETIVOS.....	15
1.4.1 OBJETIVO GENERAL.....	15
1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
MARCO TEÓRICO	16
2.1 COSECHA DE BIOMASA MICROALGAL	17
2.2 OZONO-FLOTACIÓN	17
2.2.1 ANTECEDENTES DEL PROCESO.....	17
2.2.1.1 REACTORES MULTIFASE.....	20
2.2.2 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO.....	22
2.3 TENSOACTIVOS.....	24
2.3.1 ADSORCIÓN	25
2.3.1.1 ISOTERMAS DE ADSORCIÓN.....	27
2.4 TEORÍA DE ESPUMAS	31
2.4.1 ESTABILIDAD DE LAS ESPUMAS	33
2.4.2 DRENAJE EN ESPUMAS TRIFÁSICAS.....	34
2.5 TRANSFERENCIA DE MASA.....	35
2.6 BASES DE DISEÑO DEL REACTOR PROTOTIPO	36
METODOLOGÍA	38
3.1 OBTENCIÓN DE MICROALGAS	39
3.2 IMPLEMENTACIÓN DEL ARREGLO EXPERIMENTAL	39
3.2.2 CONSTRUCCIÓN E IMPLEMENTACIÓN DEL REACTOR PROTOTIPO.....	39
3.3 CARACTERIZACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE LA OPERACIÓN DE REACTOR PROTOTIPO	42
3.3.1 ENSAYOS PRELIMINARES DE OZONO-FLOTACIÓN EN OPERACIÓN POR LOTE.	42
3.3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA OPTIMIZACIÓN DE LAS VARIABLES DE OPERACIÓN DEL REACTOR	43
3.3.3 EFICIENCIAS DE RECUPERACIÓN DE SST Y COMPUESTOS DE INTERÉS	44
3.3.4 BALANCE DE MASA DE OZONO.....	45
3.3.5 CÁLCULO DE VELOCIDADES Y DETERMINACIÓN DE RÉGIMENES DE FLUJO	46
3.3.6 FACTOR DE CONCENTRACIÓN	46
3.3.6 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD SUPERFICIAL EN MUESTRAS DEL COSECHADO	46
3.3.6.1 ENSAYOS DE TENSIÓN SUPERFICIAL EN MUESTRAS DEL COSECHADO	46
3.3.6.2 ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO DE LA PRESIÓN SUPERFICIAL RESPECTO A LA COMPOSICIÓN DE LOS COMPONENTES PRESENTES EN LA MEZCLA (PROTEÍNAS, LÍPIDOS Y CARBOHIDRATOS).....	47
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
4.1 IDENTIFICACIÓN Y COMPOSICIÓN DEL CONSORCIO DE MICROALGAS	50
4.2 PRUEBAS PRELIMINARES	50
4.3 COSECHADO DE BIOMASA Y COMPUESTOS DE INTERÉS	51
4.3.1 COSECHA DE BIOMASA	51
4.3.2 COSECHA DE COMPUESTOS DE INTERÉS (PROTEÍNAS, LÍPIDOS Y CARBOHIDRATOS)	53

4.3.2 EFICIENCIA DE COSECHADO.....	59
4.4 TRANSFERENCIA DE MASA.....	64
4.5 COMPORTAMIENTO DE LA PRESIÓN SUPERFICIAL EN FUNCIÓN DE LA COMPOSICIÓN	70
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	73
5.1 CONCLUSIONES.....	74
5.2 RECOMENDACIONES.....	75
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
ANEXO A.....	84
A.1 SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES.....	85
A.2 LÍPIDOS TOTALES. MÉTODO DE SULFOFOSFOVAINILLINA.....	85
A.3 CARBOHIDRATOS TOTALES. MÉTODO FENOL - ÁCIDO SULFÚRICO.....	85
A.4 PROTEÍNAS TOTALES. MÉTODO ALCALINO Y MÉTODO DE BIURET	86
A.5 OZONO RESIDUAL EN FASE GAS. MÉTODO YODOMÉTRICO	86
A.6 OZONO RESIDUAL EN FASE LÍQUIDA. MÉTODO COLORIMÉTRICO DE ÍNDIGO	87
A.7 TENSIÓN SUPERFICIAL	87
A.8 ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO DE LA PRESIÓN SUPERFICIAL RESPECTO A LA COMPOSICIÓN	88
ANEXO B.....	90

Índice de figuras

Figura 1. Reactores de ozono-flotación. a) Columna de flotación tipo "reactor espumador" con capacidad de 1 L. b) Reactor prototipo de 1.6 L, utilizado en este trabajo.	14
Figura 2. Reactores más importantes en la industria, de acuerdo al número de fases presentes en el proceso. Adaptado de (Pohorecki et al., 2010).....	21
Figura 3. Etapas de la ozono-flotación para la cosecha de microalgas. Adaptado de (Zhang and Zhang, 2019)	22
Figura 4. Zonas de interacción entre burbuja - partícula. Adaptado de (Ralston, 2000).....	23
Figura 5. Efecto del ozono en la estabilidad microalgal y liberación de compuestos celulares. Adaptado de (Valeriano, 2018).....	24
Figura 6. Proceso de adsorción de las proteínas en la interfase gas-líquido. Adaptado de (Germain and Aguilera, 2014).....	25
Figura 7. Fotografía de una espuma y representación de sus elementos en la región lamelar. Elaboración propia.....	32
Figura 8. Espuma en la cual el proceso de drenado está dominado por la hidrodinámica del sistema. Elaboración propia	33
Figura 9. Ruta del gas al microorganismo. Adaptado de (Chisti, 1989).....	35
Figura 10. Diagrama del modelo de doble capa. Adaptado de (Bin and Roustan, 2000).....	36
Figura 11. Diagrama de la unidad de ozono-flotación (Bourbigot and Faivre, 1986).....	37
Figura 12. Diagrama conceptual de la metodología planteada	39
Figura 13. Esquema y fotografía del reactor utilizado en este proyecto.....	40
Figura 14. Arreglo experimental del sistema de ozono-flotación operado por lote	41
Figura 15. Fotografía del arreglo experimental implementado para las pruebas de ozono-flotación por lote	42
Figura 16. Micrografía de las especies de microalgas presentes (40X).....	50
Figura 17. A) Efecto de la concentración de SST iniciales y relaciones de flujos en la cosecha de biomasa. B) Gráfico de interacción de variables para la oxidación utilizando valores medios	52
Figura 18. Porcentajes obtenidos de biomasa cosechada, en agua de proceso y oxidada, del arreglo experimental.....	53
Figura 19. Gráficas de interacciones de los efectos analizados (Concentración inicial de biomasa y relación de flujos). A) Recuperación de proteínas. B) Recuperación de carbohidratos.....	54
Figura 20. Gráfico de efectos principales en la recuperación de lípidos.	54
Figura 21. Efecto de la concentración inicial y la relación de flujos en la recuperación de biomasa y compuestos de interés.....	55
Figura 22. Relación entre la biomasa recuperada y la proteína cosechada	56
Figura 23. Porcentaje de recuperación de proteínas (A), lípidos (B) y carbohidratos (C) en función del tiempo. Para los experimentos realizados con concentraciones de biomasa inicial de 600 mg.L ⁻¹ (negro), 1200 mg.L ⁻¹ (verde) y 1800 mg.L ⁻¹ (rojo); así como las relaciones de flujo 1 (●), 2 (■) y 3 (◆).	57
Figura 24. Porcentaje de biomasa y biomoléculas presentes en el agua de proceso al término de las pruebas de ozono-flotación.....	57
Figura 25. Concentración de biomoléculas en el flujo de recirculación durante el proceso de ozono-flotación para los experimentos realizados con concentración inicial de 600 mg.L ⁻¹ (A), 1200 mg.L ⁻¹ (B) y 1800 mg.L ⁻¹ (C).....	58
Figura 26. Efecto de la concentración de biomasa inicial y la relación de flujos en la eficiencia de recuperación.....	59
Figura 27. Relación entre el porcentaje de cosechado de biomasa y el factor de enriquecimiento.....	60
Figura 28. Relación entre volúmenes de cosechado y factores de enriquecimiento.....	60
Figura 29. Abatimiento de la tensión superficial en función de las biomoléculas presentes en la espuma. Para los experimentos con concentraciones iniciales de 600 mg.L ⁻¹ (A), 1200 mg.L ⁻¹ (B) y 1800 mg.L ⁻¹ (C).....	63
Figura 30. Relación entre los volúmenes de cosechado y la proteína total recuperada	64

Figura 31. Velocidades de los flujos para cada condición experimental asociadas al número de Reynolds	65
Figura 32. Concentraciones de ozono cuantificadas en cada condición experimental	65
Figura 33. Concentración de ozono residual en función del tiempo y de la dosis de ozono transferida .	66
Figura 34. Relación entre la transferencia de masa obtenida en cada experimento y la velocidad de flujo	67
Figura 35. Concentración de proteínas, lípidos y carbohidratos en las muestras a analizar	70
Figura 36. Presión superficial en función de la fracción masa de los componentes presentes en el cosechado. Ajuste al modelo de Langmuir con $A = \Gamma sRT$ y $B = \beta$	70
Figura 37. Presión superficial en función del logaritmo natural de la fracción masa de los componentes presentes en el cosechado. Ajuste de la ecuación de adsorción de Gibbs integrada , la ordenada es $\pi s - \Gamma sRT \ln x_{CMC}$ y la pendiente es ΓsRT	71
Figura 38. Logaritmo natural del cociente de la presión reducida y la fracción mol del soluto contra uno menos la presión superficial reducida. Ajuste a la ecuación de Volmer en donde la recta con ordenada al origen será $-\ln x_{CMC}$ y pendiente z^0	72
Figura 39. Diagramas de pareto de las variables de respuesta. A) Sólidos Suspendidos Totales cosechados. B) Sólidos Suspendidos Totales oxidados. C) Proteínas cosechadas. D) Lípidos cosechados. E) Carbohidratos cosechados.....	91

Índice de tablas

Tabla 1. Métodos más comunes para la cosecha de biomasa microalgal	18
Tabla 2. Casos de estudio para cosecha de biomasa microalgal en reactores de burbuja fina (1/2).....	19
Tabla 3. Parámetros de diseño para el reactor de ozono-flotación proyectado por Wells	37
Tabla 4. Flujos de operación de la etapa experimental	41
Tabla 5. Matriz de experimentos para las pruebas de ozono flotación	43
Tabla 6. Porcentajes de recuperación para la prueba experimental elegida	47
Tabla 7. Composición bioquímica de consorcios microalgales.....	50
Tabla 8. Resultados de transferencia de masa obtenidos en las pruebas preliminares.....	51
Tabla 9. Resultados de cosecha en las pruebas preliminares	51
Tabla 10. Importancia experimental de las variables estudiadas de acuerdo al análisis de varianza.....	52
Tabla 11. Importancia experimental de las variables estudiadas de acuerdo al análisis de varianza.....	53
Tabla 12. Comparación de factores de concentración obtenidos en estudios enfocados a la cosecha de microalgas.....	61
Tabla 13. Importancia experimental de las variables estudiadas de acuerdo al análisis de varianza.....	64
Tabla 14. Casos de estudio enfocados a la recuperación de microalgas utilizando la ozono-flotación como método de cosecha (1/2)	68
Tabla 15. Parámetros de la ecuación superficial de Langmuir	71
Tabla 16. Parámetros de la ecuación superficial de Gibbs.....	72

Nomenclatura

Abreviaturas y simbología

A	Área específica
A_0	Constante de la ecuación de Volmer
P_G	Presión del gas ($\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$)
d	Diámetro de burbuja (m)
DO	Dosis de ozono ($\text{mg}_{\text{O}_3}\cdot\text{mg}_{\text{Biomasa}}^{-1}$) o ($\text{mg}_{\text{O}_3}\cdot\text{L}^{-1}$)
DOC	Dosis de ozono consumida ($\text{mg}_{\text{O}_3}\cdot\text{L}^{-1}$)
DOT	Dosis de ozono transferida ($\text{mg}_{\text{O}_3}\cdot\text{L}^{-1}$)
ER	Eficiencia de recuperación de biomasa o compuestos de interés (%)
ET	Eficiencia de transferencia de ozono (%)
FE	Factor de enriquecimiento (-)
G_L	Flujo másico del líquido ($\text{kg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$)
G_G	Flujo másico del gas ($\text{kg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$)
Q_{Le}	Caudal del líquido a la entrada del reactor ($\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$)
Q_{Ls}	Caudal del líquido a la salida del reactor ($\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$)
H	Altura de la columna (m^{-1})
R	Constante universal de los gases ($\text{J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$)
Re	Número de Reynolds (-)
T	Temperatura (K)
t	Tiempo de contacto (min)
U	Velocidad del fluido ($\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$)
x	Concentración del soluto
x_{CMC}	Concentración micelar crítica
z^0	Factor de compresibilidad bidimensional referido a A_0
$[\text{O}_3]_{Ge}$	Concentración de ozono en fase gas a la entrada del reactor ($\text{mg}_{\text{O}_3}\cdot\text{L}^{-1}$)
$[\text{O}_3]_{Lr}$	Concentración de ozono residual en el líquido ($\text{mg}_{\text{O}_3}\cdot\text{L}^{-1}$)
$[\text{O}_3]_{Gs}$	Concentración de ozono en fase gas a la salida del reactor ($\text{mg}_{\text{O}_3}\cdot\text{L}^{-1}$)
$[\text{O}_3]_t$	Concentración de ozono transferida ($\text{mg}_{\text{O}_3}\cdot\text{L}^{-1}$)
$[\text{SST}]_e$	Concentración de biomasa al inicio del proceso ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
$[\text{SST}]_f$	Concentración de biomasa cosechada ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
\varnothing_i	Diámetro interno del reactor (m)

α	Constante de la ecuación de Van der Waals bidimensional (-)
β	Parámetro liofóbico (-)
Γ_0	Recíproco de A_0 ($\text{m}^2 \cdot \text{mol}$)
Γ	Concentración superficial ($\text{moles} \cdot \text{m}^{-2}$)
Γ_s	Concentración superficial de saturación del tensoactivo ($\text{moles} \cdot \text{m}^{-2}$)
ε	Modulo de elasticidad de Gibbs
θ	Fracción de espacios ocupados (-)
μ^0	Potencial químico en condiciones estándar
μ^b	Potencial químico del bulto
$\mu^{0,b}$	Potencial químico de referencia de bulto
μ^s	Potencial químico de superficie
$\mu^{0,s}$	Potencial químico de referencia de superficie
π_{ref}	Presión superficial de referencia ($\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$)
π_{sat}	Presión superficial de saturación ($\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$)
π^0	Presión superficial máxima en mezcla de líquidos simples ($\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$)
π^*	Presión superficial reducida ($\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$)
σ_o	Tensión superficial del solvente ($\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$)
σ	Tensión superficial de la solución ($\text{mN} \cdot \text{m}^{-1}$)
φ_g	Fracción volumétrica (-)
ζ	Potencial zeta (mV)

Capítulo 1

Generalidades

1.1 Introducción

La biomasa microalgal ha sido considerada como materia prima para la obtención de una amplia gama de productos de valor agregado, que abarcan desde el sector alimenticio hasta el energético.

Las investigaciones enfocadas al desarrollo de productos a partir de biomasa microalgal han estudiado diversas especies y han utilizado condiciones controladas de cultivo para mejorar los rendimientos de la producción. Sin embargo, estos procesos aún no son comercialmente viables debido a que los costos asociados a la producción resultan ser más elevados en comparación con los procesos convencionales (Chisti, 2008; Garibay-Hernández, 2009; Mata et al., 2010).

Dentro de las propuestas para conseguir un proceso económicamente viable, surgen estudios dirigidos al cultivo de microalgas en agua residual. Se ha demostrado que las microalgas representan sistemas biológicos con gran potencial para tratar distintos efluentes residuales, mostrando como principales ventajas la disminución de patógenos, remoción de nutrientes (N y P) y metales pesados, reducción de emisiones de CO₂ y recuperación de nutrientes en forma de biomasa con gran potencial para la obtención de bioproductos como proteínas, pigmentos, biofertilizantes y ácidos grasos. Se ha reportado que los factores ambientales y fisiológicos, pueden influir en el contenido bioquímico de las microalgas, pero de forma general, las principales macromoléculas (proteínas, lípidos y carbohidratos) pueden representar hasta el 99% de la biomasa total seca (López Rocha et al., 2020; Markou and Georgakakis, 2011; Molazadeh et al., 2019; Wollmann et al., 2019; Zhai et al., 2017).

En este contexto, las microalgas presentan gran capacidad para generar efluentes con menor grado de contaminación y a su vez, producir altas cantidades de biomasa aprovechables para la generación de bioenergía como el biodiesel o bioetanol. De esta forma, se contribuye a dar solución a dos problemáticas actuales: el tratamiento de aguas residuales y reducir las emisiones de CO₂ en la atmósfera; además si la biomasa se destina a la producción de biocombustibles, se puede mitigar el impacto negativo que se tiene por parte de los combustibles fósiles (como el petróleo y el carbón) sobre el cambio climático (Álvarez, 2009; Maser et al., 2011).

Otro de los principales costos en la producción de los biocombustibles microalgales se enfoca en la etapa de cosechado, ya que representa del 20-30% del costo total. Es por esto que uno de los principales desafíos para pasar a la producción a escala comercial es encontrar un método efectivo para la mayoría de los géneros de microalgas, que permita altas concentraciones de biomasa, y requiera costos moderados de operación, energía y mantenimiento (Mata et al., 2010; Molina Grima et al., 2003; Vyas et al., 2010).

1.2 Justificación

La ozono-flotación se ha considerado como un método ventajoso para la cosecha de biomasa microalgal, por la combinación de las propiedades físicas de la flotación con las propiedades químicas oxidativas del ozono. La oxidación de la membrana celular promueve la liberación de biopolímeros que actúan como coagulantes naturales, mejorando la cosecha de la biomasa y evitando la adición de tensoactivos (Cheng et al., 2011, 2010a; Valeriano González et al., 2016). Estudios previos han analizado aspectos relacionados con la dosis de ozono, flujos de operación, concentraciones iniciales de biomasa y efecto del tamaño de la burbuja en el proceso, demostrando que mayores concentraciones de biomasa inicial favorecen la ozono-flotación (Orta Ledesma de Velásquez et al., 2017), otros autores reportan recuperaciones superiores al 70% y 65% de transferencia de ozono (Alves-Oliveira et al., 2019; Alves Oliveira et al., 2018; Valeriano González et al., 2016). En dichos estudios se han utilizado reactores de burbuja fina (Figura 1a) con relaciones H/\varnothing_i en un rango de 9.4 a 18.2. Dentro de las limitaciones que se han presentado en estas columnas de ozono-flotación es una baja eficiencia en transferencia de masa y la dificultad que representa su escalamiento, debido a la relación altura/diámetro que deben mantener para su operación.

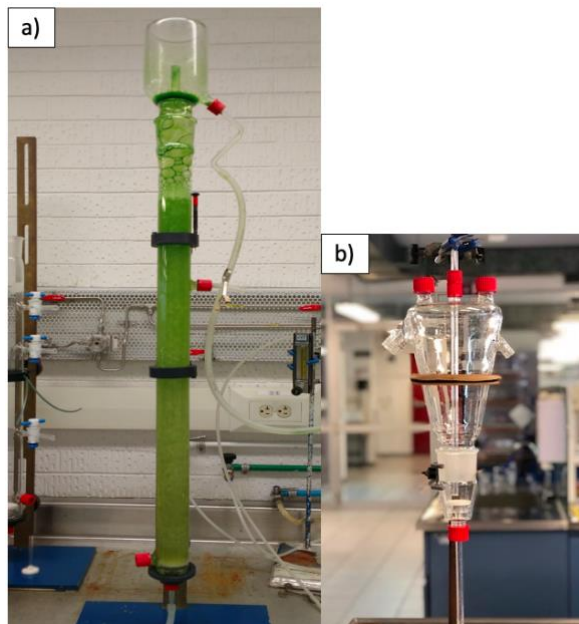


Figura 1. Reactores de ozono-flotación. a) Columna de flotación tipo "reactor espumador" con capacidad de 1 L. b) Reactor prototipo de 1.6 L, utilizado en este trabajo.

Atendiendo a las limitaciones antes mencionadas, la Universidad de Newcastle, en colaboración con el Instituto de Ingeniería-UNAM buscaron diseñar y operar un reactor trifásico prototipo de ozono-flotación para la recuperación de biomasa microalgal y productos de interés (lípidos, proteínas y carbohidratos), cuyas bases de diseño parten de la patente francesa "Dispositif de transfert de gaz et flottation dans le traitement d'eau à épurer" (Bourbigot and Faivre, 1986) en donde se utiliza la flotación con ozono para la eliminación

de microalgas presentes en agua de abastecimiento, debido a que estos microorganismos otorgaban olor y sabor.

La geometría cónica del reactor prototipo (Wells, 2018) (ver Figura 1b) tiene como finalidad que el flujo turbulento presente en la parte inferior del reactor mejore la transferencia gas-líquido, y el cambio a un régimen laminar debido al incremento gradual de diámetro impide que los remolinos destruyan la capa de espuma que transporta la biomasa y compuestos de interés. A diferencia de las columnas de burbuja fina, utilizadas comúnmente en estudios de ozono-flotación, se espera que el diseño más compacto de este reactor permita trabajar con mayores volúmenes, manteniendo (o superando) los porcentajes de recuperación y transferencia de ozono reportados en los estudios previos.

1.3 Hipótesis

La implementación y operación del reactor prototipo de ozono-flotación de acuerdo a los parámetros de su diseño, permitirá obtener resultados similares o mejores a los reportados con reactores tipo columna, respecto a la cosecha de biomasa microalgal, compuestos de interés (lípidos, proteínas y carbohidratos) y transferencia de masa de ozono.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Evaluar el desempeño de un reactor prototipo de ozono-flotación a escala laboratorio, para la cosecha de biomasa microalgal y compuestos de interés, empleando microalgas procedentes de un sistema piloto de tratamiento de aguas residuales y estudiando la actividad superficial de la espuma recuperada durante el proceso.

1.4.2 Objetivos específicos

- Implementar el reactor prototipo para la cosecha de biomasa microalgal mediante el proceso de ozono-flotación en operación por lote.
- Evaluar el efecto de los parámetros de operación (relación Q_G/Q_L , concentración de microalgas y transferencia de masa) sobre el desempeño de cosecha de biomasa y recuperación de bioproductos (lípidos, proteínas, carbohidratos).
- Evaluar la actividad superficial en muestras de cosechado durante el proceso de ozono-flotación, mediante la medición de la tensión superficial y su relación con la recuperación de compuestos de interés (lípidos, proteínas, carbohidratos).

Capítulo 2

Marco Teórico

2.1 Cosecha de biomasa microalgal

La etapa de cosecha hace referencia al proceso de separación de las algas de su medio de crecimiento. Aspectos como la densidad, tamaño y especificaciones finales del producto definirán cuál es el método más conveniente, por lo que no se ha llegado a un método universal para todas las microalgas. Debido a esto se recomienda que los procedimientos de cosechado no contaminen la biomasa, además de que es deseable que el método de cosecha seleccionado permita el reciclaje del medio de cultivo utilizado (Flotats and Bonmati, 2011; Uduman et al., 2010).

Los métodos de cosecha que han sido objeto de estudio en los últimos años se muestran en la Tabla 1, con el consumo energético, las ventajas y desventajas asociadas a cada uno de ellos. De los métodos presentados, se ha considerado a la ozono-flotación como un proceso con gran potencial, por los porcentajes de recuperación reportados (Alves-Oliveira et al., 2019; Alves Oliveira et al., 2018; Aranda, 2019; Valeriano González et al., 2016; Velasquez-Orta et al., 2014).

2.2 Ozono-flotación

2.2.1 Antecedentes del proceso

Debido a que el ozono actúa con gran eficacia como oxidante y desinfectante, su uso ha sido ampliamente estudiado y aplicado en el tratamiento de aguas para desinfección y degradación de compuestos orgánicos tóxicos.

Los primeros estudios sobre la ozono-flotación surgen para dar una solución a la presencia de estos microorganismos en aguas eutrofizadas, debido a que otorgaban aroma y sabor al agua por la liberación de metabolitos (Bourbigot and Faivre, 1986; Langlais et al., 1991). A partir de 2010 las investigaciones se centran en la recuperación de biomasa microalgal; Cheng et al. (2010) concluyen que la dosis de ozono aplicada está en función de la concentración inicial de microalgas, Komolafe et al. (2014) reportan que el proceso de ozono-flotación promueve la saturación de los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMEs), lo cuál es benéfico para mejorar la estabilidad oxidativa de un biocombustible; otros autores han reportado porcentajes de recuperación mayores al 70% de la concentración inicial, lo cual se resume en la Tabla 2.

En las investigaciones dirigidas al desarrollo y optimización del proceso de ozono-flotación para la cosecha de biomasa microalgal, mostradas en la Tabla 2, se realizaron las pruebas experimentales en sistemas batch a escala laboratorio (a excepción de Aranda (2019), quien operó en continuo su sistema de flotación con ozono) y utilizaron columnas de flotación con relaciones H/\varnothing_i en un intervalo de 9.4 a 18.2.

Tabla 1. Métodos más comunes para la cosecha de biomasa microalgal

Método de cosecha	Recuperación	Consumo energético (kWh. m ⁻³) ¹	Ventajas	Desventajas
Coagulación / Floculación	≥ 80 %	0.15	<ul style="list-style-type: none"> - Método simple y rápido. - Bajo consumo de energía. 	<ul style="list-style-type: none"> - Los floculantes pueden ser costosos y su presencia puede contaminar la biomasa microalgal. - El reciclado del medio de cultivo es limitado.
Sedimentación por gravedad	10-90 %	0.1 para una concentración final de 1-3 % SST	<ul style="list-style-type: none"> - Método simple y económico. - Energéticamente eficiente. - Útil para diversas especies de microalgas. - Bajo consumo de energía. 	<ul style="list-style-type: none"> - Tiempos prolongados. - Posibilidad del deterioro de la biomasa. - Mayor presencia de agua en el concentrado de biomasa.
Flotación por aire disuelto	50-90 %	7.6	<ul style="list-style-type: none"> - Factible para aplicaciones de gran escala. - Método económico. - Bajo requerimiento de espacio. - Tiempos de operación bajos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Generalmente requiere el uso de floculantes químicos. - No es factible para la cosecha de microalgas marinas.
Filtración	95 %	0.27-5.9	<ul style="list-style-type: none"> - Altas eficiencias de recuperación de células grandes como <i>Spirulina</i>. - Permite la separación de especies vulnerables a romperse. 	<ul style="list-style-type: none"> - No es viable para especies de menor tamaño como <i>Chlorella</i> y <i>Scenedesmus</i>. - La posibilidad de incrustaciones/ obstrucciones aumenta los costos operativos. - Las membranas deben limpiarse regularmente. - El reemplazo de las membranas y el bombeo representa el mayor costo.
Centrifugación	80-90 %	8	<ul style="list-style-type: none"> - Método rápido. - Alta eficiencia de recuperación. - Adecuado para casi todas las especies de microalgas. 	<ul style="list-style-type: none"> - Método caro. - Altos requerimientos energéticos. - Adecuado solo para la recuperación de productos de alto valor. - Posibilidad de daño celular debido a las altas fuerzas presentes en el proceso. - No es viable para la recolección a gran escala.
Ozono-flotación	60-89 %	1.83 – 9.7	<ul style="list-style-type: none"> - Combina las propiedades de oxidación del ozono y los principios físicos de la flotación. - No requiere la adición de algún coagulante. - Tiempos de operación bajos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Altos requerimientos energéticos (0.17 kWh. kg⁻¹_{Biomasa}). - Deterioro de biomoléculas con exposición prolongada al ozono.

¹El consumo energético reportado solo considera la concentración inicial de las microalgas

Fuente: tomado de (Beach et al., 2012; Bilad et al., 2012; Gerardo et al., 2015; Molina Grima et al., 2003; Nava Bravo, 2014; Uduman et al., 2010; Valeriano, 2018)

Tabla 2. Casos de estudio para cosecha de biomasa microalgal en reactores de burbuja fina (1/2)

Supensión de microalgas	Características del reactor	Condiciones de operación	Efecto resultante	Referencia
Algas obtenidas del efluente de una laguna de oxidación	H: 125 cm Ø _i : 9.5 cm Poros del difusor: 30-60 µm	Q _G : 2 a 4 L.min ⁻¹ P _G : 0.5 kg.cm ⁻² DO: 15-50 mg _{O₃} · mg _{Biomasa} ⁻¹	Líquido incoloro, 98% de remoción de algas.	(Betzer et al., 1980)
<i>Microcystis aeruginosa</i>	SD	DO: 0.05-2 mg _{O₃} · mg _{Biomasa} ⁻¹	Reducción de turbiedad y algas.	(Benoufella et al., 1994)
<i>Chlorella vulgaris</i> , obtenida a partir de una cepa de agua dulce del sur de Taiwán	H: 47 cm Ø _i : 5 cm Poros del difusor: 30-60 µm	Q _G : 0.6 L.min ⁻¹ P _G : 0.65 kg.cm ⁻² DO: 0.005-0.03 mg _{O₃} · mg _{Biomasa} ⁻¹	Reducción de turbiedad del 98%; células aglomeradas de aproximadamente 50 µm	(Cheng et al., 2010b)
<i>Scenedesmus obliquus</i> FSP-3, obtenida a partir de una cepa de agua dulce del sur de Taiwán	H: 47 cm Ø _i : 5 cm Poros del difusor: 30-60 µm	Q _G : 0.6 L.min ⁻¹ P _G : 0.65 kg.cm ⁻² DO: 0.2-0.5 mg _{O₃} · mg _{Biomasa} ⁻¹ [SST] _e : 1610 mg.L ⁻¹ [O ₃]: 63, 98, y 135 mg.L ⁻¹ t: 4 min	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	H: 67 cm Ø _i : 4.9 cm Poros del difusor: 30-60 µm	Q _G : 0.6 L.min ⁻¹ DO: 150-300 mg _{O₃} · mg _{Biomasa} ⁻¹ [SST] _e : 350, 450 y 580 mg.L ⁻¹	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	H: 67 cm Ø _i : 4.9 cm Poros del difusor: 30-60 µm	Q _G : 0.4 L.min ⁻¹ DO: 0.23 mg _{O₃} · mg _{Biomasa} ⁻¹ [SST] _e : 419 mg.L ⁻¹ [O ₃]: 45 mg.L ⁻¹ t: 5 min	Reducción de turbiedad del 97.8% y de 79.6% respecto a SST. Concentrado de biomasa: 48 veces	(Velasquez-Orta et al., 2014)
<i>Scenedesmus obliquus</i> cultivada en agua residual doméstica	H: 82 cm Ø _i : 4.5 cm Poros del difusor: 10-16 µm	Q _G : 0.6 L.min ⁻¹ [SST] _e : 758 mg.L ⁻¹ [O ₃]: 9.44 mg.L ⁻¹ t: 5 min	70% recuperación de microalgas; 21.12 mg _{Biomasa} · mg _{O₃} ⁻¹	(Rodríguez, 2015)
<i>Scenedesmus obliquus</i> cultivada en agua residual doméstica	H: 82 cm Ø _i : 4.5 cm Poros del difusor: 10-16 µm	Q _G : 0.2, 0.6 y 1 L.min ⁻¹ [SST] _e : 800 y 1200 mg.L ⁻¹ DO: 0.16 mg _{O₃} · mg _{Biomasa} ⁻¹	62% de recuperación de biomasa	(Alves Oliveira et al., 2018)

SD Sin Determinar

Tabla 2. Casos de estudio para cosecha de biomasa microalgal en reactores de burbuja fina (2/2)

Supensión de microalgas	Características del reactor	Condiciones de operación	Efecto resultante	Referencia
<i>Scenedesmus obliquus</i> cultivada en agua residual doméstica	H: 82 cm Ø _i : 4.5 cm Poro del difusor: 10-16 µm	Q _G : 1.5 L.min ⁻¹ DO: 0.028 mg _{O₃} ·mg ⁻¹ _{Biomasa} [SST] _e : 750 mg.L ⁻¹ [O ₃]: 15 mg.L ⁻¹	85% de recuperación de biomasa y recuperación de 0.2 mg _{Lípidos} ·mg ⁻¹ _{Biomasa}	(Valeriano, 2018)
Cultivo mixto de microalgas, cultivadas en agua residual doméstica	H: 82 cm Ø _i : 4.5 cm Poro del difusor: 10-16 µm	Q _G : 0.5 L.min ⁻¹ Q _G : 0.16 L.min ⁻¹ DO: 0.14 mg _{O₃} ·mg ⁻¹ _{Biomasa} [SST] _e : 300 mg.L ⁻¹ Operación en continuo	69% biomasa cosechada; 21% proteínas 73% carbohidratos 87 % transferencia de masa de ozono	(Aranda, 2019)

2.2.1.1 Reactores multifase

Los fenómenos de contacto gas-líquido, gas-líquido-sólido, son de los mas representativos en contextos industriales, debido a la amplia variedad de aplicaciones que se han encontrado en el desarrollo de distintos procesos. Estos procesos, se llevan a cabo en reactores multifásicos, en los cuales reactantes y productos pueden hallarse en fase gas, líquido o sólido.

A diferencia de los reactores monofásicos, en donde el único proceso físico que influye en la eficiencia de la conversión química es la mezcla de componentes que reaccionan entre sí; en los reactores multifásicos la situación es mucho más compleja. Los componentes involucrados en la reacción no solo deben mezclarse de manera eficiente, sino que también se deben crear las condiciones para transportar esos componentes a través de las interfases, como la superficie de una burbuja de gas o la superficie de un sólido (Hosseini et al., 2020; Iborra et al., 2013; Pohorecki et al., 2010)

Los reactores multifase se clasifican de acuerdo a aspectos geométricos, la presencia o ausencia de catalizadores sólidos y las direcciones de flujo. En el esquema de la Figura 2 se pueden identificar algunos de los reactores más utilizados en la industria, de acuerdo a las fases presentes en el proceso (Conesa and Font, 2001; Iborra et al., 2013).

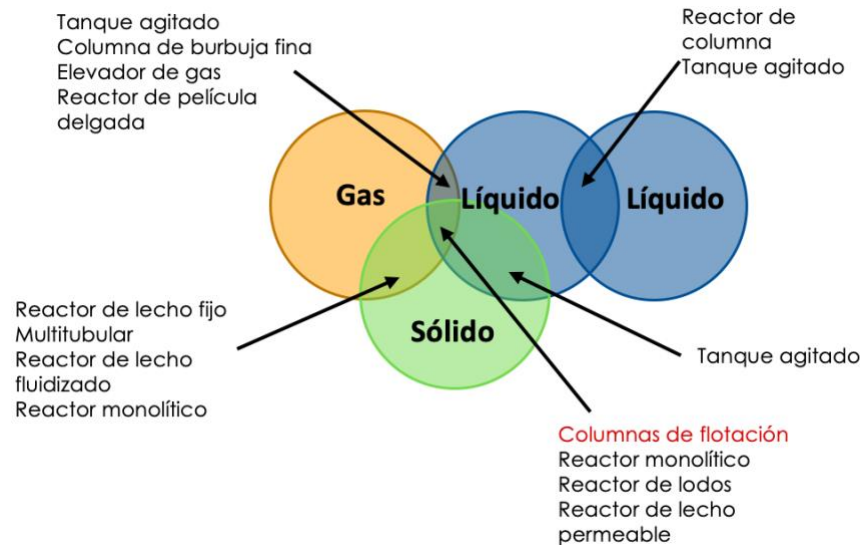


Figura 2. Reactores más importantes en la industria, de acuerdo al número de fases presentes en el proceso. Adaptado de (Pohorecki et al., 2010).

Las columnas de flotación utilizadas para la cosecha de biomasa microalgal, se pueden clasificar como un caso particular de las columnas de burbuja fina; en ambos casos el gas es distribuido desde el fondo del reactor en forma de burbujas. Su creciente campo de aplicación se debe a las ventajas que proporcionan tanto en diseño como en funcionamiento en comparación con otros reactores. Han mostrado excelentes características de transferencia de calor y masa, su operación requiere poco mantenimiento y se asocian bajos costos operativos debido a la falta de piezas móviles (Degaleesan et al., 2004; Kantarci et al., 2005).

Las investigaciones recientes en este tipo de reactores se centran con frecuencia en características de las burbujas, régimen de flujo y estudios de dinámica de fluidos computacional, así como en estudios de transferencia de masa. De igual forma, se han estudiado los efectos de las dimensiones de la columna, las condiciones de operación relacionadas a la presión y la temperatura, el efecto de la velocidad superficial del gas, el tipo de sólido, etc. (Buwa and Ranade, 2002; Dhotre et al., 2004; Prakash et al., 2001; Ruzicka et al., 2001).

La dinámica del fluido para los reactores de columna de burbuja tiene un efecto significativo en la operación y el rendimiento de dichos reactores. De acuerdo con la literatura, los resultados experimentales obtenidos durante investigaciones de parámetros dependen estrictamente del régimen que prevalece en la columna. Los regímenes de flujo en las columnas de burbujas se clasifican y mantienen de acuerdo a la velocidad del gas superficial empleada en la columna (Hyndman et al., 1997).

Se han identificado dos tipos de regímenes de flujo en columnas de burbujas. El primero es el régimen homogéneo; se obtiene a bajas velocidades superficiales del gas (menos de $5 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$) y se caracteriza por burbujas de tamaños pequeños relativamente uniformes con distribución uniforme de burbujas y prácticamente no hay coalescencia o ruptura de la burbuja. El régimen heterogéneo se mantiene a velocidades de gas superficiales más altas

(mayores de $5 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$), se caracteriza por la inestabilidad de los patrones de flujo y burbujas grandes con tiempos de residencia cortos debido a su coalescencia. En el régimen heterogéneo también se ha estudiado un flujo denominado “slug flow”, observado en columnas de laboratorio de pequeño diámetro a altas tasas de flujo de gas. Toma su nombre por la forma que presentan las burbujas más grandes al estabilizadas por la pared de la columna (Hyndman et al., 1997; Miller, 1980; Thorat and Joshi, 2004).

2.2.2 Descripción del proceso

Benoufella et al. (1994) definen a la ozono-flotación como el proceso que combina las propiedades físicas de la flotación con los efectos oxidativos del ozono y de acuerdo con lo reportado, la parte física del proceso se puede clasificar como una variante de la flotación por aire disperso (DiAF), debido a que la formación de burbujas se realiza a través de la inyección de ozono mediante un medio poroso.

Durante el proceso de ozono-flotación se pueden observar dos etapas (Figura 3). Una vez formadas las burbujas, comenzará la **colisión y adhesión** entre burbujas y partículas (etapa 1); posteriormente se generará una capa de **espuma** (etapa 2), en la cual se transportarán las partículas a la parte superior del reactor en donde se recuperarán. Los aspectos teóricos de la segunda etapa se discutirán en el apartado 2.4 Teoría de espumas.

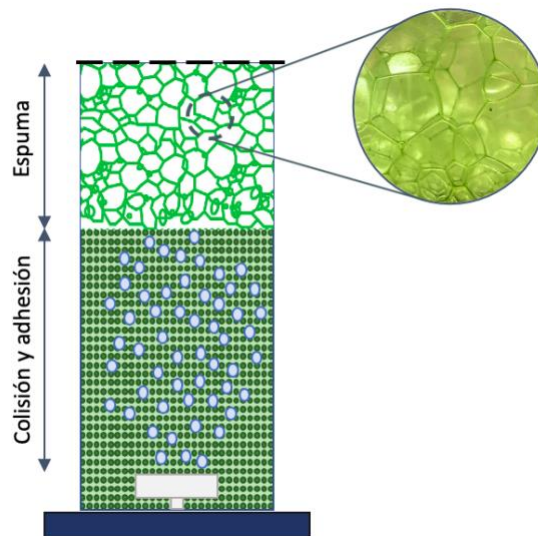


Figura 3. Etapas de la ozono-flotación para la cosecha de microalgas. Adaptado de (Zhang and Zhang, 2019)

En la primera fase, la partícula (en este estudio, la microalga) deberá atravesar las películas líquidas que rodean a la burbuja (Figura 4). En la zona 1, también conocida como zona de flujo principal, la hidrodinámica del sistema dominará las perturbaciones burbuja – partícula; la zona 2 (zona de corte) será una región asimétrica, en donde se absorberán los iones en la parte superior de la burbuja por el efecto del flujo tangencial, en esta zona las fuerzas de inercia y de repulsión electrostática será las responsables de la interacción burbuja – partícula. La zona 3 será la región de adhesión, conforme se acerca la célula a la burbuja, las películas de líquido se van comprimiendo hasta cientos de nanómetros hasta llegar a su

ruptura, lo que favorece que la célula se adhiera. En esta zona estarán presentes las fuerzas repulsivas de Van der Waals, fuerzas eléctricas de la doble capa y fuerzas atractivas (Derjaguin and Dukhin, 1993; Ralston, 2000).

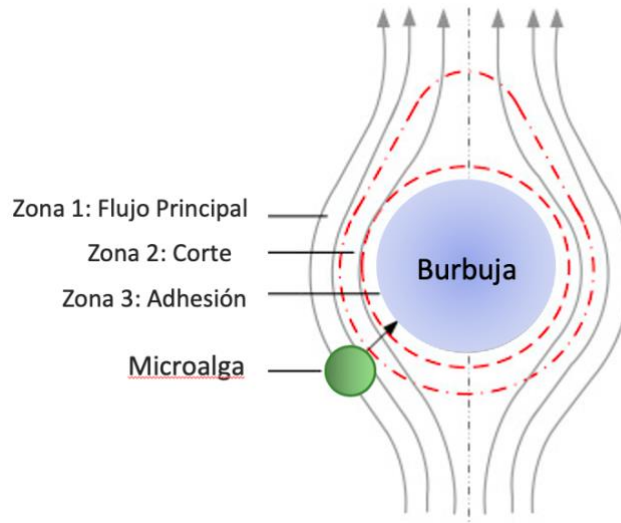


Figura 4. Zonas de interacción entre burbuja - partícula. Adaptado de (Ralston, 2000)

En este proceso, al igual que en otros como la coagulación, es necesario desestabilizar a las microalgas, para disminuir la repulsión que existe entre ellas, y favorecer el contacto entre burbuja – partícula, ya que ambas se encuentran cargadas negativamente.

Uno de los parámetros que nos permiten conocer la estabilidad de la microalga, es la carga superficial a través de su potencial zeta (ζ); este parámetro nos indica el grado de repulsión de las partículas cargadas que se encuentran en suspensión. Cuando el potencial zeta es cercano a cero, las partículas podrán acercarse unas con otras hasta que su atracción sea favorecida por las fuerzas de Van der Waals, lo que permitirá su aglomeración (Figura 5a y 5b) (Vandamme et al., 2013).

En el caso de las microalgas, se asocia un potencial zeta negativo que se encuentra en el rango de -2 a -75 mV, este potencial estará en función de las condiciones de cultivo, tales como la edad del cultivo, grupos funcionales presentes en la pared celular (carboxilos, fosforilo, hidroxilo y amino) y la especie de microalga (Gerardo et al., 2015; Xia et al., 2016). Estudios han demostrado que al utilizar ozono se tiene una disminución del potencial zeta de las partículas. De acuerdo con Wang et al. (2016), después de 30 minutos de exposición de ozono, el potencial zeta de las microalgas disminuyó de -18 a -14 mV.

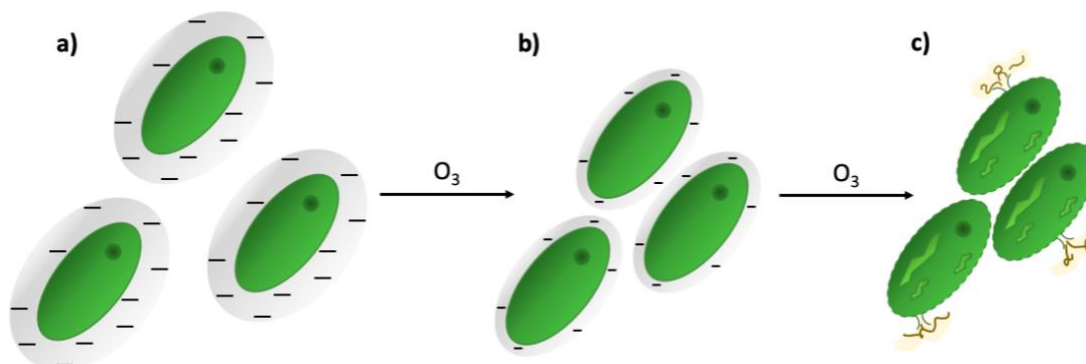


Figura 5. Efecto del ozono en la estabilidad microalgal y liberación de compuestos celulares. Adaptado de (Valeriano, 2018)

Cardaña et al. (2017) reportan el efecto oxidante que tiene el ozono en la célula. Mencionan que al oxidar la membrana celular se produce la lisis de las células de las microalgas, lo que ocasiona la liberación de biopolímeros (Figura 5c) que actúan como coagulantes naturales, además de reducir la tensión superficial, mejorando la cosecha de biomasa microalgal en columnas de burbujeo. También se ha demostrado que una partícula con una superficie hidrófoba tiene más probabilidades de unirse a una burbuja, por lo que la presencia de anfífilos (para este caso, los biopolímeros liberados de la membrana celular), ayudarán al incremento de la hidrofobicidad de la partícula y como consecuencia, al aumento de la flotabilidad (Coward et al., 2014; Valeriano, 2018).

2.3 Tensoactivos

Los tensoactivos son sustancias químicas que se caracterizan por su carácter anfifílico (la estructura molecular tiene una parte polar y otra apolar) y liofóbico (hace referencia a la repulsión que presenta la molécula con su entorno), dichas características otorgan la capacidad de alterar las propiedades de interfase al ser absorbidas en el límite de dos fases inmiscibles y la posibilidad de su remoción con mecanismos que involucran una superficie. Otra característica de los tensoactivos es que su presencia a bajas concentraciones en la fase volumétrica, es decir, en un sistema diluido, generará cambios en la tensión superficial (García, 2018; Yamashita et al., 2017).

Las proteínas son polímeros constituidos por aminoácidos, unidos por enlaces amida. Su naturaleza anfifílica les permite actuar como tensoactivos poliméricos con múltiples sitios de anclaje. Sin embargo, para que puedan disminuir la tensión superficial y contribuir a la estabilidad de la espuma, deberán reorientarse en la interfase y formar una película viscoelástica (Sánchez et al., 2005; Zayas, 1997).

En comparación con otras moléculas, como el caso de monoglicéridos y fosfolípidos con cabezas hidrofílicas y colas hidrofóbicas bien definidas, la estabilización de la interfase por las proteínas se considera un proceso más complejo. Las proteínas tienen grupos hidrofóbicos e hidrofílicos distribuidos irregularmente y en estructuras terciarias, solo una pequeña fracción de las regiones hidrofóbicas se encuentran expuestas, por lo que deberán

reconfigurarse para mostrar mayor número de regiones (Damodaran, 2006; Razumovsky and Damodaran, 1999).

Para entender la adsorción y estabilización de las proteínas en la interfase gas/líquido se ha descrito el proceso en cuatro pasos (Figura 6). Las proteínas se difunden desde la fase volumétrica a la interfase con ayuda de la viscosidad y el tamaño de la proteína. Cuando se encuentre cercana a la interfase, la proteína se adsorberá; la adsorción estará controlada por barreras de energía cinética, las cuales determinarán la relación entre moléculas adsorbidas y desorbidas. Posteriormente, las proteínas experimentarán cambios para exponer sus grupos hidrofóbicos a la fase gaseosa; en este paso, la cinética de despliegue es controlada por la energía de activación necesaria para romper las interacciones intramoleculares. Finalmente, la reactividad química y la actividad fisicoquímica controlarán la agregación de las proteínas en la interfase, para formar una red (Germain and Aguilera, 2014; Wierenga and Gruppen, 2010).

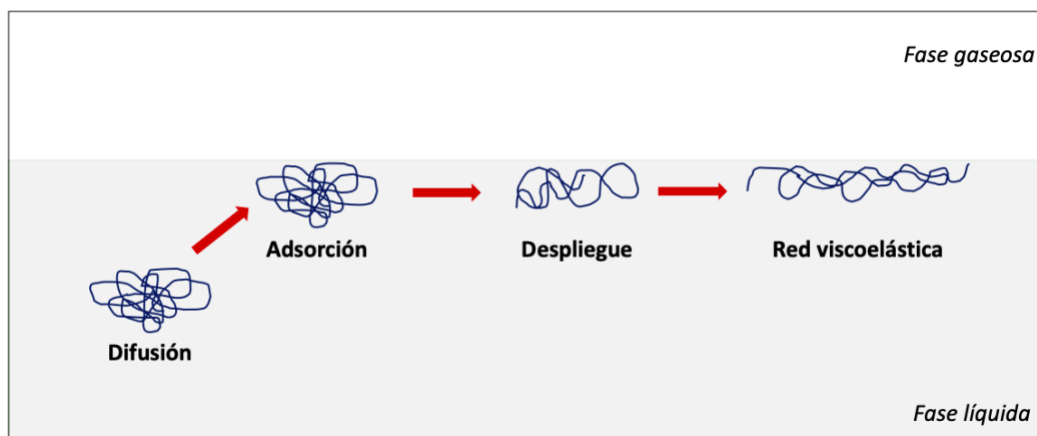


Figura 6. Proceso de adsorción de las proteínas en la interfase gas-líquido. Adaptado de (Germain and Aguilera, 2014)

2.3.1 Adsorción

Como se vio en el apartado anterior, el valor de la tensión superficial estará controlado por dos procesos: el primero se relaciona con la difusión de las moléculas de surfactante a la superficie y el segundo con la adsorción de dichas moléculas en la interfase, lo que alterará las propiedades de interfase y como consecuencia las propiedades la espuma (Buzzacchi et al., 2006).

La adsorción se puede definir como el proceso de superficie en el que un componente del sistema (adsorbato) tiende a concentrarse en la interfase, siendo la composición interfacial diferente a la composición del seno de las fases.

Por medio de la ecuación de adsorción de Gibbs, ecuación (1), se puede cuantificar la adsorción o concentración de solutos en la superficie de contacto entre fases (interfase líquido-gas o líquido-líquido), mediante la variación de la tensión superficial con respecto a la concentración de soluto (Novelo Torres and Gracia Fadrique, 2018a).

$$d\pi = \sum_{i=1}^n \Gamma_i d\mu_i; \quad T = cte \quad (1)$$

donde Γ_i es la concentración superficial, la cual es definida como la cantidad de especies participantes en el proceso de adsorción y se expresa en mol.cm⁻², μ_i es el potencial químico del componente i en el sistema, π es la presión superficial y se define como la diferencia entre la tensión del solvente (σ_o) y la tensión superficial de la solución (σ), ecuación (2).

$$\pi = \sigma_o - \sigma \quad (2)$$

En caso particular de un sistema binario como los acuosos en donde hay un disolvente y un soluto, la expresión (1) puede expresarse como:

$$d\pi = \Gamma_1 d\mu_1 + \Gamma_2 d\mu_2 \quad (3)$$

Es común que los tensoactivos se encuentren en concentraciones entre 10⁻⁵ a 10⁻⁷, expresada como fracción mol, por lo que estos sistemas pertenecen a la región de dilución infinita. El estudio de esta región permite obtener características moleculares y estructurales de la región superficial. Teniendo en cuenta lo anterior, la ecuación (3) se reduce a la expresión (4).

$$d\pi = \Gamma_2 d\mu_2 \quad (4)$$

Al expresar la ecuación (4) en términos del potencial químico ideal, ecuación (5), toma la forma más común de la ecuación de adsorción de Gibbs en fases fluidas, ecuación (6), la cual indica que Γ depende de la concentración de la disolución (x) y de la variación local de la presión superficial con respecto a la composición de la disolución, bajo condiciones isotérmicas.

$$\mu = \mu^0 + RT \ln x \quad (5)$$

$$\Gamma = \frac{x}{RT} \left(\frac{d\pi}{dx} \right)_T \quad (6)$$

El proceso de adsorción se podrá confirmar al evaluar la concentración de superficie (Γ) en la ecuación (6), siempre y cuando el incremento de la concentración del tensoactivo produzca un aumento en la presión superficial, ya que esto indicará un aumento en la concentración superficial. En caso de que ambos disminuyan (concentración y presión), será indicio de un proceso de desorción.

2.3.1.1 Isotermas de adsorción

Se define a una isoterma de adsorción como la función que relaciona la concentración volumétrica y superficial del soluto con distintos parámetros. Para representar la concentración del soluto adsorbido se recurre al concepto de concentración superficial (Γ), y debido a que se analiza una superficie finita, existirá una condición en la que dicha superficie ya no pueda recibir más material y estará asociada a una concentración superficial máxima a saturación (Γ_s) (García, 2018; Sandoval-Ibarra et al., 2015).

La fracción de espacios ocupados, ecuación (7), será el cociente entre una concentración menor a la de saturación y la concentración máxima de saturación.

$$\theta = \frac{\Gamma}{\Gamma_s} \quad (7)$$

Isoterma de adsorción ideal

Si se considera un sistema en donde la velocidad de adsorción solo depende de la concentración en la fase volumétrica y la velocidad de desorción de la fracción de espacios ocupados, ecuación (8) y ecuación (9), respectivamente.

$$v_{ads} = k_{ads}x \quad (8)$$

$$v_{des} = k_{des}\theta \quad (9)$$

Ambas velocidades podrán igualarse en un estado de equilibrio dinámico, debido a que serán iguales, ecuación (10).

$$k_{ads}x = k_{des}\theta \quad (10)$$

El cociente de las constantes (k_{ads}, k_{des}) se denominará parámetro liofóbico o constante de Henry, el cuál indicará la tendencia de las moléculas de estar en la fase volumétrica o en la superficie, ecuación (11).

$$\beta = \frac{k_{ads}}{k_{des}} \quad (11)$$

Al sustituir el parámetro β en la ecuación (10), se obtiene la isoterma de adsorción, ecuación (12), que describe el comportamiento tipo Henry, que presentan los sistemas a dilución infinita.

$$\theta = \beta x \quad (12)$$

Al sustituir la ecuación (12) en la ecuación (7) e igualar con la ecuación (6), se obtiene la expresión (13). Al integrar (13) con límite inferior del disolvente puro, $\pi = 0$ cuando $x = 0$, a un límite superior arbitrario, se genera la ecuación de estado superficial ideal tipo Henry, ecuación (14).

$$\theta = \beta x = \frac{x}{\Gamma_s RT} \left(\frac{d\pi}{dx} \right) \quad (13)$$

$$\pi = RT\Gamma = RT\Gamma_s \beta x \quad (14)$$

Isoterma de adsorción tipo Langmuir

Langmuir establece tres postulados para describir el proceso de adsorción del anfifilo en la superficie.

- 1) Las moléculas adsorbidas en la superficie formarán una monocapa.
- 2) Las moléculas adsorbidas no tendrán interacción entre sí.
- 3) Los sitios en la superficie tendrán la misma probabilidad de ser ocupados.

Teniendo como referencia los anteriores postulados, se puede establecer que los factores que intervienen en la adsorción serán la concentración del soluto disponible (x) y el espacio libre en la superficie para ser ocupado ($1 - \theta$). La desorción solo dependerá de los espacios ocupados en la interfase (θ).

Si consideramos el equilibrio en el sistema, las velocidades de adsorción y desorción se podrán igualar, llegando a la ecuación (15).

$$k_{ads}\theta = k_{des}(1 - \theta)x \quad (15)$$

A partir de la ecuación (15), se obtiene la isoterma de adsorción de Langmuir, ecuación (16).

$$\theta = \frac{\beta x}{1 + \beta x} \quad (16)$$

Al seguir el mismo procedimiento planteado para la ecuación de estado ideal, se puede llegar a la ecuación de estado superficial de Langmuir, ecuación (17).

$$\pi = \Gamma_s RT \ln(1 + \beta x) \quad (17)$$

Isoterma de adsorción de Gibbs integrada

Con base en la ecuación (1), expresada en términos del $\ln x$ y datos experimentales, Novelo Torres & Gracia Fadrique (2018a) notaron que en las fronteras de la concentración micelar crítica (CMC) se presentaba una pendiente máxima y los puntos cercanos mostraban un comportamiento lineal, lo que indicó que la concentración de superficie en las vecindades de CMC corresponde a la concentración de saturación (Γ_s). La ecuación (1) considerando las condiciones anteriores se expresa como la ecuación (18).

$$\Gamma_s = \frac{1}{RT} \left(\frac{d\pi}{d\ln x} \right)_{x \rightarrow CMC} \quad (18)$$

Al integrar la ecuación (18) considerando como límites las vecindades de la CMC, obtenemos la Ecuación de adsorción de Gibbs integrada, ecuación (19), donde π_s será la presión superficial máxima y x_{CMC} representa la CMC.

$$\pi = \pi_s - \Gamma_s RT \ln(x_{CMC}) + \ln(x) \quad (19)$$

Isoterma de adsorción de Volmer

El modelo de disolución-superficie reportado por Alanis-García & Gracia-Fadrique (2018) se construyó a partir de la ecuación de estado de Volmer (ecuación 20), la cual es una analogía de la ecuación de Van der Waals en dos dimensiones y carece del término α , que hace referencia a las interacciones atractivas en la superficie.

$$\pi(A - A_0) = RT \quad (20)$$

La anterior ecuación puede ser expresada en términos de presión bidimensional, haciendo uso de las series de potencias del área específica A , se llega a la ecuación (21).

$$\frac{\pi A}{RT} = 1 + \frac{A_0}{RT} \pi \quad (21)$$

Será necesario conocer los potenciales químicos de cada componente en cada fase cuando en los sistemas binarios, el soluto se encuentra en equilibrio entre la fase superficial y la disolución. Para la región superficial el potencial químico ($d\mu^s$) depende de la ecuación de estado seleccionada (en este caso la ecuación de Volmer, ecuación (22) y de su acoplamiento a la Ecuación de Adsorción de Gibbs, ecuación (23), llegando a la forma del potencial químico de la superficie, expresada con la ecuación (24).

$$\frac{1}{\Gamma} = \frac{RT}{\pi} + \frac{1}{\Gamma_0} \quad (22)$$

$$d\mu^s = \frac{d\pi}{\Gamma} \quad (23)$$

$$d\mu^s = \frac{d\pi}{\Gamma} = RT \frac{d\pi}{\pi} + \frac{1}{\Gamma_0} d\pi \quad (24)$$

Integrando la expresión (24) considerando un estado de referencia para el potencial químico de superficie ($\mu^{0,s}$) referido a un valor conveniente de presión superficial (π_{ref}), se obtiene la ecuación (25).

$$\mu^s - \mu^{0,s} = RT \ln \frac{\pi}{\pi_{ref}} + \frac{\pi - \pi_{ref}}{\Gamma_0} \quad (25)$$

Considerado la misma referencia en la fase volumétrica, la ecuación del potencial químico será:

$$\mu^b = \mu^{0,b} + RT \ln \frac{x}{x_{ref}} \quad (26)$$

El equilibrio entre las fases volumétrica y superficial implicará que ambos potenciales químicos sean los mismos ($\mu^b = \mu^s$), obteniendo la ecuación (27) que relaciona la composición de la fase volumétrica con la presión superficial.

$$\mu^{0,b} + RT \ln \frac{x}{x_{ref}} = \mu^{0,s} + RT \ln \frac{\pi}{\pi_{ref}} + \frac{\pi - \pi_{ref}}{\Gamma_0} \quad (27)$$

Considerando el estado de referencia a dilución infinita para ambas fases, en donde el soluto se encuentra altamente diluido ($x \rightarrow 0$) y a su vez $\pi \rightarrow 0$ y reagrupando los términos, la ecuación (27) se expresa como:

$$\ln \left(\frac{\pi}{x} \right) = \ln \left(\frac{\pi}{x} \right)_{x \rightarrow 0} - \frac{\pi}{\Gamma_0 RT} \quad (28)$$

Los sistemas que sigan la ecuación de estado de Volmer (28), tendrán un comportamiento lineal en todo o una parte del intervalo de composición al ser representados con el logaritmo natural del cociente de la presión y la composición versus la presión superficial. Siendo la ordenada al origen $\ln \left(\frac{\pi}{x} \right)_{x \rightarrow 0}$ y la pendiente contendrá al término $\Gamma_0 RT$.

Para la región de saturación se pueden presentar dos sistemas: líquidos simples y tensoactivos. El primero está formado por disolvente y soluto, siendo ambos líquidos no iónicos de relativo bajo peso molecular y miscibles. Mientras que los tensoactivos son anfífilos de alto peso molecular que generalmente no se describen por generar una curva suave en presión superficial-logaritmo de la composición en todo el intervalo.

Para los líquidos simples, en la región de saturación se considerarán los siguientes estados de referencia $\pi \rightarrow \pi^0$ y $x \rightarrow 1$ para la ecuación (27).

$$\mu^{0,b} + RT \ln x = \mu^{0,s} + RT \ln \frac{\pi}{\pi^0} + \frac{\pi - \pi^0}{\Gamma_0} \quad (28)$$

donde $\mu^{0,b} = \mu^{0,s}$ y que la presión superficial reducida (π^*) se definirá como la presión adimensional normalizada a la presión superficial máxima, ecuación (29). La ecuación (28) se expresará como la ecuación (30)

$$\pi^* = \frac{\pi}{\pi_{max}} = \frac{\pi}{\pi^0} \quad (29)$$

$$\ln \left(\frac{\pi^*}{x} \right) = \frac{A_0 \pi^0}{RT} (1 - \pi^*) \quad (30)$$

donde $\frac{A_0 \pi^0}{RT}$ es el coeficiente de compresibilidad bidimensional (z^0) evaluado en A_0 . La ecuación (30) se representaría como:

$$\ln \left(\frac{\pi^*}{x} \right) = z^0 (1 - \pi^*) \quad (31)$$

Al representar el sistema con el logaritmo natural del cociente de la presión reducida y la fracción mol del soluto versus uno menos la presión superficial, se obtiene una recta con ordenada al origen cero y pendiente z^0 .

Para los sistemas de tensoactivos, la presión superficial máxima corresponde a la presión de saturación (π_{sat}) y la concentración volumétrica de saturación es la x_{CMC} . Con estas consideraciones en la ecuación (25) se expresa a continuación:

$$\mu^{0,b} + RT \ln \frac{x}{x_{CMC}} = \mu^{0,s} + RT \ln \frac{\pi}{\pi_{sat}} + \frac{\pi}{\Gamma_0} \quad (32)$$

Recordando que en la saturación se cumple $\mu^{0,b} = \mu^{0,s}$ y reacomodando términos, la ecuación (32) toma la forma:

$$\ln \left(\frac{\pi^*}{x} \right) = z^0 (1 - \pi^*) - \ln x_{CMC}; \quad x \leq x_{CMC} \quad (33)$$

El sistema representado con $1 - \pi^*$ contra $\ln \left(\frac{\pi^*}{x} \right)$ tendrá un comportamiento lineal, la ordenada al origen será $-\ln x_{CMC}$ y la pendiente z^0 .

2.4 Teoría de espumas

La espuma se define como un sistema disperso, formado por burbujas de gas separadas por capas de líquido. La cantidad de gas presente propiciará la expansión del líquido, teniendo como consecuencia el aumento de superficie del sistema. En los casos en los que la energía externa aplicada para generar dicha espuma sea constante, el área superficial será inversamente proporcional a la tensión superficial, es decir, desde la perspectiva de la energía superficial, la tensión superficial más baja aumentará la espumabilidad de la solución.

Al analizar la estructura de la espuma se podrán identificar una serie de elementos que participarán en el transporte de las moléculas a remover. Las caras de la espuma son películas delgadas que forman una red de membranas, las cuales se curvan suavemente debido a las diferencias de presión entre las burbujas, estos canales reciben el nombre de lamelas, cuya función será proporcionar nuevo material anfílico a la superficie. La región donde convergen 3 burbujas se conoce como borde de Plateau o triángulo de Gibbs, la intercepción de 4 bordes de Plateau se llamará nodo; en la Figura 7 el nodo está representado a través del rectángulo azul, en la región con mayor curvatura de la lamela, con radios característicos r_1 y r_2 , de la curvatura de la lamela, se encuentran los puntos A y B, y en la región plana con radios característicos r_3 y r_4 , se localizan los puntos C y D.

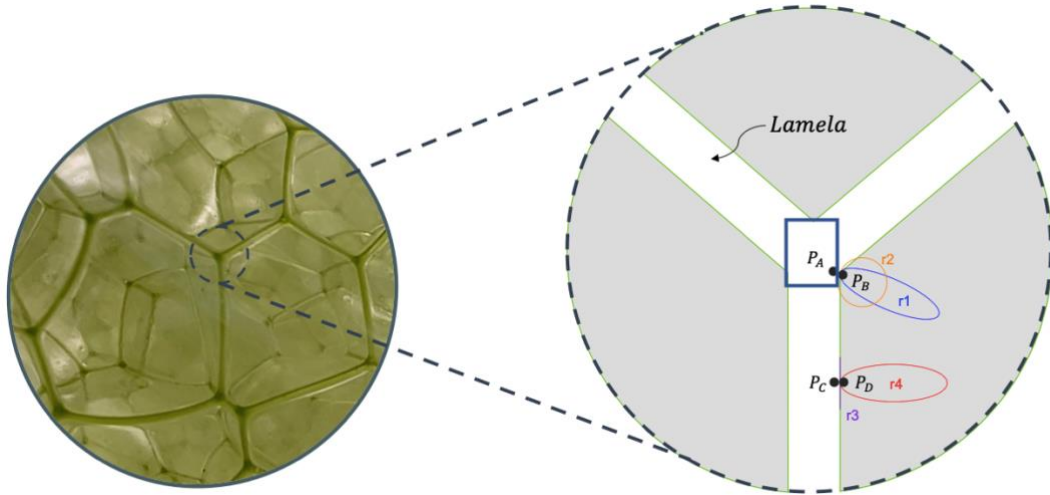


Figura 7. Fotografía de una espuma y representación de sus elementos en la región lamelar. Elaboración propia

El proceso de formación de una espuma involucra varios cambios que inician desde la generación de burbujas. Las burbujas pequeñas se disuelven, mientras que las grandes pueden crecer en tamaño mediante la difusión de gas a través del líquido (fenómeno conocido como maduración de Ostwald); las burbujas ascienden rápidamente provocando su segregación en una capa de espuma sobre la fracción volumétrica, posteriormente la interacción entre las burbujas ocasiona su deformación dando lugar a una espuma poliédrica. Parte del líquido presente en las lamelas drena desde la espuma hacia la fracción volumétrica, cuando el grosor de la lamela llega a un mínimo crítico, esto ocasiona que la espuma colapse (Exerowa and Kruglyakov, 1998; Lyklema, 2005; Wilson, 1989).

La cantidad de líquido presente en las lamelas permitirá clasificar las espumas de acuerdo a su composición volumétrica. Las lamelas de mayor grosor propician que la morfología de las celdas de gas sea esférica, este tipo de espuma se considera húmeda, mientras que en las espumas secas el líquido lamelar se ha drenado bajo la fuerza de la gravedad, formando estructuras poliédricas separadas por delgadas películas líquidas de espesor relativamente uniforme (Figura 8). La relación entre gas y líquido presente en la espuma es típicamente cuantificado a través de la fracción volumétrica de gas (φ_g), y se expresa por medio de la ecuación (34), siempre que la fracción volumétrica sea constante. Las espumas con una fracción volumétrica baja (0.63) se considerarán húmedas, mientras que fracciones altas refieren a espumas secas (0.8) (García, 2018; Lyklema, 2005).

$$\varphi_g = \frac{V_{gas}}{V_{espuma}} \quad (34)$$

De acuerdo al tiempo de vida, existen las espumas permanentes o metaestables cuya duración es de horas a días debido a que los tensoactivos presentes propician que sean muy elásticas. Las espumas transitorias o inestables son poco elásticas y su duración es de segundos a minutos, en este caso los anfifilos presentes serán líquidos ordinarios, además

este tipo de espumas requiere de un flujo constante de gas a través del líquido para evitar el colapso.

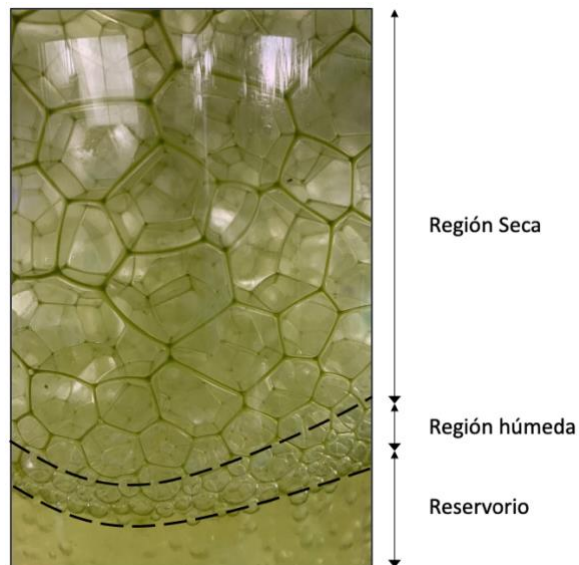


Figura 8. Espuma en la cual el proceso de drenado está dominado por la hidrodinámica del sistema.
Elaboración propia

No es posible obtener espumas en líquidos puros, las espumas se forman con la presencia de anfifilos, lo que indica que la introducción de estos compuestos anfifílicos cambian significativamente las propiedades del gas de dispersión y del líquido, siendo esenciales para crear y estabilizar una espuma, por lo que se ha definido a la espumabilidad y la estabilidad como propiedades principales de la espuma de las soluciones tensoactivas. La espumabilidad es la capacidad general de la solución de surfactante para producir espumas, lo que implica la creación y deformación de la interfase gas-líquido, la estabilidad de la espuma hace referencia a la vida útil de una columna de espuma, y se define como la tasa de pérdida de la estructura de la espuma una vez formada y dependerá de la capacidad de la proteína para formar una película fuerte, flexible y cohesiva, a fin de reducir la permeabilidad a los gases y evitar la fusión de burbujas (Bhakta and Ruckenstein, 1997; Cantat et al., 2013; Wang et al., 2016).

Así mismo, la formación de espuma depende del suministro constante de energía debido a la presencia de fuerzas que favorecen la reducción del grosor de las lamelas, disminuyendo el tiempo de la espuma. Se ha reportado que en dicha disminución del grosor, intervienen dos tipos de drenado; el primero es el drenado hidrodinámico en el cual el líquido drenará de acuerdo a su peso en la lamela, mientras que el drenado capilar se relaciona con la fracción volumétrica de la espuma, siendo variable de acuerdo a la altura de la espuma (García, 2018).

2.4.1 Estabilidad de las espumas

Como se mencionó anteriormente, si la lamela llega a un mínimo crítico, la burbuja coalescerá, por lo cual la estabilidad de la película es un aspecto importante en la estabilidad de la espuma. Sin embargo, los mecanismos que intervienen, propiciando o previniendo, la

ruptura de la película es muy diferente para el caso de lamelas jóvenes y gruesas que para lamelas viejas delgadas (es decir, en una espuma drenada).

En el caso de lamelas jóvenes, la superficie se expandirá hacia los sitios en donde se encuentren los puntos más delgados (puntos con mayor tensión superficial), la presencia de un gradiente de tensiones propicia que el líquido fluya hacia el punto de mayor tensión, acarreando anfifilos para evitar el adelgazamiento. La tensión superficial del sistema disminuirá hasta alcanzar el equilibrio, esta teoría fue propuesta por Carlo Marangoni. Una segunda teoría desarrollada por Josiah Willard Gibbs, indica que la resistencia de la película al adelgazamiento también dependerá de la elasticidad, debido a que permitirá el acarreo instantáneo de material cuya función será oponerse a los cambios en el grosor de la lamela; en este caso cualquier disminución en la concentración de los anfifilos, provocará un aumento en la tensión superficial. Las teorías antes mencionadas son complementarias y es conocido como el efecto Gibbs-Marangoni (García, 2018; Kohli and Mittal, 2008; Wilson, 1989).

Gibbs define la elasticidad de una película a través del aumento de la tensión causada por un pequeño aumento del área A , ecuación (35), donde el factor 2 hace referencia a que la película posee dos superficies y la tensión superficial actúa en cada una de ellas.

$$E_{Gibbs} = 2 \frac{d\sigma}{d\ln A} \quad (35)$$

La elasticidad de Gibbs se observa en el proceso de extensión (o contracción) de la película cuando hay un equilibrio entre la superficie de la película y el seno volumétrico. A partir de la ecuación (4), se establece una forma para calcular la deformación de la superficie, la cual se expresa en la ecuación (36), dicha ecuación se refiere al módulo de elasticidad y relaciona el aumento del área con el aumento de la tensión superficial (Exerowa and Kruglyakov, 1998; Lucassen-Reynders et al., 2001).

$$\varepsilon = \frac{d\sigma}{d\ln A} \quad (36)$$

2.4.2 Drenaje en espumas trifásicas

El drenaje de espuma es un proceso hidrodinámico físico-químico complejo regido por muchos factores simultáneos. Inmediatamente a la formación de la espuma, el contenido de líquido presente en ella es mayor en comparación con la cantidad de líquido en equilibrio hidrostático. Debido a esto, durante la generación de espuma, el líquido drena a los bordes de Plateau hasta que el gradiente de la presión capilar iguala la fuerza gravitacional (Exerowa and Kruglyakov, 1998; Garret, 2014).

Se ha reportado que la presencia de partículas sólidas en la espuma podría provocar un retraso en el drenaje, debido a que los bordes de Plateau se vuelven más estrechos, sus paredes se vuelven más ásperas y las partículas forman capas locales (Wilson, 1989). La fase sólida causa un cambio en la tasa de drenaje que puede explicarse con la disminución en la concentración de surfactante en la solución, como resultado de su adsorción en las partículas sólidas (primer factor). Esto se expresa principalmente en bajas concentraciones de

surfactante. Por otro lado, la disminución en la concentración de surfactante aumenta la tensión superficial de la solución y reduce la dispersión de la espuma, lo que conduce a un aumento en la tasa de drenaje. La presencia de fase sólida provoca un cierto estrechamiento de los bordes de espuma y, a veces, incluso su bloqueo (segundo factor). A baja concentración de tensoactivo, el factor primero ejerce una influencia más fuerte.

2.5 Transferencia de masa

Una de las limitaciones a esta tecnología radica en la baja solubilidad del ozono ($K_H = 7.83 \times 10^{-3} \text{ mol.atm}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ a 25°C)¹, lo que exige grandes caudales de gas o mayores tiempos de contacto gas-líquido dentro del reactor, implicando reactores de grandes dimensiones (Graça et al., 2020).

Para lograr que el ozono interactúe con la membrana celular de la microalga, debe superar determinadas barreras que se serán un impedimento para llegar a su destino. Se ha reportado que la transferencia de ozono de la fase gaseosa al microorganismo suspendido en la dispersión gas-líquido debe tener lugar a lo largo de una determinada vía. La ruta de transporte más general se muestra en la Figura 9, en donde se observa que pueden existir ocho resistencias a la transferencia de ozono (Chisti, 1989):

- En una película de gas dentro de la burbuja
- En la interfase gas-líquido
- En una película líquida en la interfase gas-líquido
- En el volumen de líquido
- En la película líquida alrededor de la célula
- La resistencia interna de la célula
- La resistencia en el sitio de la reacción bioquímica

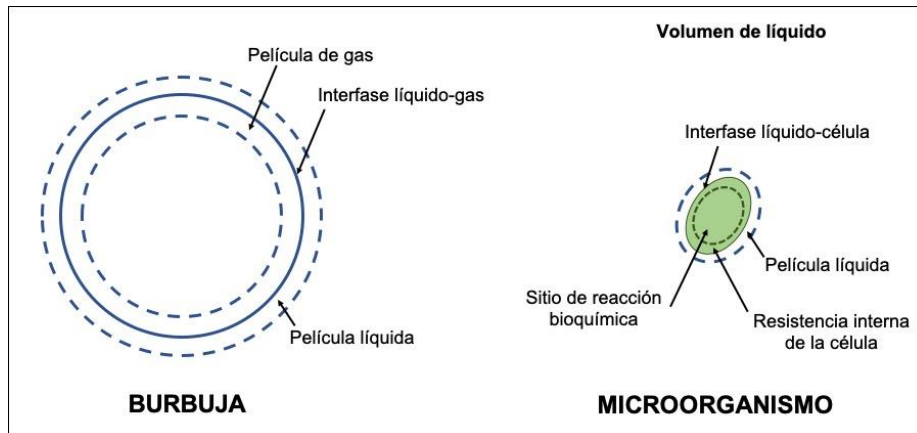


Figura 9. Ruta del gas al microorganismo. Adaptado de (Chisti, 1989)

¹La constante de la Ley de Henry (K_H) fue calculada a partir de la expresión para solubilidad de ozono en agua de la International Ozone Association (IOA) (Biñ, 2006) y se realizó la conversión de unidades a $\text{mol.atm}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ por medio de tablas reportadas por (Sander, 2015).

No todas estas resistencias son significativas. En la práctica, los reactores operan a ciertos niveles de turbulencia que propician que el transporte por convección domine en el cuerpo del líquido y, por lo tanto, la resistencia asociada al volumen del líquido puede ser ignorada. De manera similar, para células individuales o micelios dispersos, la resistencia debida a la película líquida en la superficie de la célula puede ser despreciada, debido a que las diminutas dimensiones celulares y su gran área superficial son la razón de la insignificante resistencia de la película célula-líquido. La resistencia del sitio de reacción química se ignora por las grandes velocidades de las reacciones bioquímicas (Chisti, 1989).

El problema del transporte del gas se reduce a la transferencia de masa de la interfase gas-líquido. La región en la vecindad de la interfase gas-líquido se puede visualizar como un par de películas de gas y líquido adyacentes, de espesor finito. De acuerdo con el modelo de la doble capa de Lewis-Whitman (1924), la resistencia a la transferencia en cada fase se localiza en las películas delgadas cercanas a la interfase (Figura 10). Se supone que la interfase en sí no ofrece resistencia a la transferencia de masa, por lo tanto, las concentraciones interfaciales están determinadas por la relación de equilibrio. Es decir, en la superficie de contacto hay equilibrio y se suman las resistencias a la transferencia de materia en las dos fases para obtener una resistencia global.

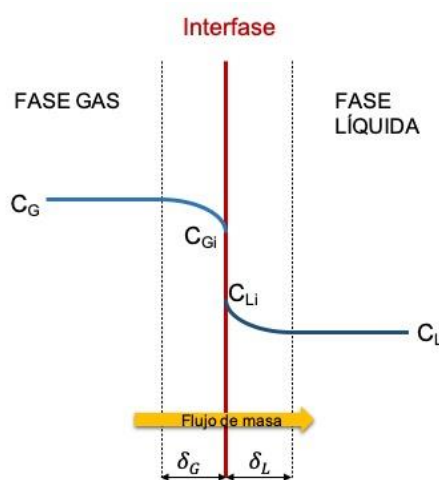


Figura 10. Diagrama del modelo de doble capa. Adaptado de (Bin and Roustan, 2000)

donde C_G y C_L , son las concentraciones de ozono en el seno de cada fase, C_{Gi} y C_{Li} hacen referencia a las concentraciones de ozono en la fase gaseosa y fase líquida al equilibrio, respectivamente.

2.6 Bases de diseño del reactor prototipo

El reactor utilizado en esta investigación, desarrollado por Wells (2018), tiene sus bases de diseño en la patente francesa “Dispositif de transfert de gaz et flottation dans le traitement d’eau à épurer” (Bourbigot and Faivre, 1986). En dicha patente se menciona la utilidad de la ozono-flotación para la eliminación de microalgas presentes en agua, debido a que estos microorganismos otorgaban olor y sabor.

Como se observa en la Figura 11, el caudal de agua ingresa por la parte superior de la unidad al compartimento de difusión (A). En el fondo del mismo compartimento, el ozono es suministrado por medio de un difusor de poro fino (C) ocasionando un mezclado a contra corriente. Por medio de una corriente de barrido (D), la mezcla de agua a tratar con las burbujas de ozono es obligada a trasladarse a los compartimentos de flotación (B). Los sólidos suspendidos se adhieren a las burbujas de ozono y como resultado se observaba la formación de espuma en la parte superior de los compartimentos (B). Esta espuma es captada por medio de canales y el efluente de agua libre de algas es recuperado en los laterales de la unidad de ozono-flotación (G).

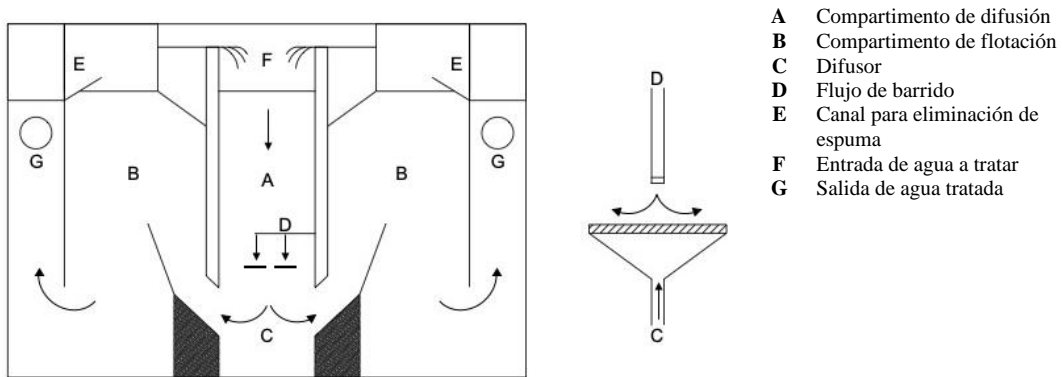


Figura 11. Diagrama de la unidad de ozono-flotación (Bourbigot and Faivre, 1986)

A partir del principio de operación mencionado en la patente, Wells diseña un reactor de geometría cónica con capacidad total de 0.43 m³ y volumen de trabajo de 0.30 m³, proyectado para la cosecha en continuo de *Desmodesmus* sp., con una eficiencia de transferencia de masa del 88%. Los parámetros de diseño de dicho reactor se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Parámetros de diseño para el reactor de ozono-flotación proyectado por Wells

Parámetro		Valor estimado	Unidad
Velocidad superficial	U	≤0.05	m.s ⁻¹
Diámetro de burbuja	d	4.73x10 ⁻³ a 4.92x10 ⁻³	m
Concentración de microalgas	[SST] _e	388	mg.L ⁻¹
Dosis de ozono	DO	0.24	mg _{O₃} · mg _{Biomasa} ⁻¹
Relación de flujos	Q _G /Q _L	1	-

Capítulo 3

Metodología

En este capítulo se presenta la metodología que permitió cumplir el objetivo planteado para este estudio. Como parte de la estrategia experimental se dividió en tres etapas; las actividades realizadas en cada etapa se resumen en el siguiente diagrama.

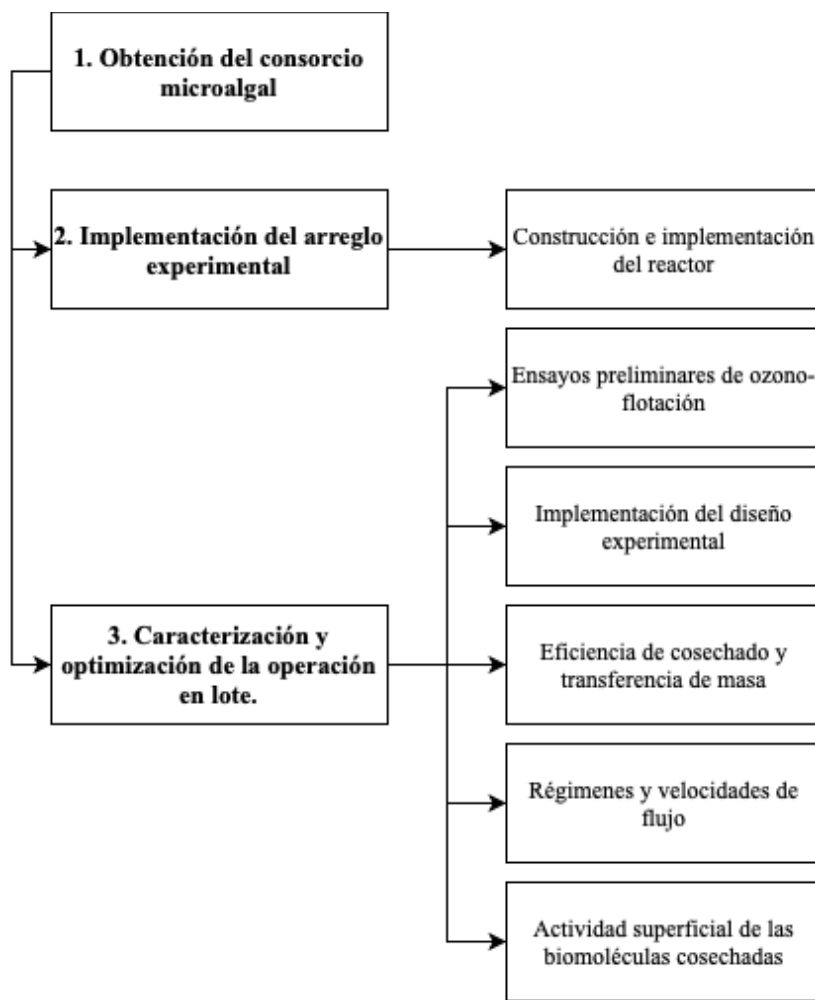


Figura 12. Diagrama conceptual de la metodología planteada

3.1 Obtención de microalgas

Las microalgas utilizadas en la etapa experimental se obtuvieron del sistema piloto de tratamiento de agua residual “ATZINLTI”.

El cultivo de microalgas, conformadas por un consorcio mixto con *Scenedesmus* sp. como género dominante, se llevó a cabo en un reactor de alta tasa con volumen de trabajo de 1.2 m³ con un TRH de 25 días. Posteriormente las microalgas pasaron a una etapa de sedimentación con duración de 5 días, para concentrar la biomasa.

3.2 Implementación del arreglo experimental

3.2.2 Construcción e implementación del reactor prototipo

El reactor prototipo de ozono-flotación escala laboratorio, fue fabricado en el Taller de Soplado de la Facultad de Química y fue construido en vidrio, con capacidad máxima de 1.6 L y volumen de operación de 1.2 L (Figura 13).

El diámetro superior, de 14 cm, consta de dos salidas para gas y una entrada central por donde se alimentará el agua a tratar. El caudal de entrada de agua a tratar (Q_{Le}) es impulsado a la parte superior de reactor por una bomba peristáltica Masterflex L/S (7518-02), y descende hasta el fondo a través de un tubo central para ser descargado en una zona muy próxima a un difusor de vidrio con tamaño de poro entre 10 y 15 μm , en donde ocurre la mezcla del gas ozono y el agua, esperando que el mezclado cause un flujo turbulento ($Re > 4000$) que favorezca el contacto entre fases (gas-líquido) y por lo tanto, la transferencia de masa (Kantarci et al., 2005). El incremento gradual del diámetro permite que la velocidad de flujo disminuya, pasando a un régimen laminar ($Re < 2300$), evitando que los remolinos de la zona turbulenta destruyan la capa de espuma formada durante el proceso de ozonoflotación. Muy cerca de la parte superior del reactor se cuenta con dos salidas laterales, una de ellas utilizada para recuperar el concentrado y/o cosechado de biomasa, mientras que la segunda es utilizada para la salida del agua tratada (Q_{Ls}). El caudal de salida de suspensión de microalgas fue regulado y conducido por una bomba Masterflex L/S (HV-77916-10) a un tanque reservorio. Debido a que la operación del reactor se realizó por lote fue necesario recircular la suspensión con microalgas para propiciar el mezclado de los caudales de gas y líquido en el fondo del reactor.

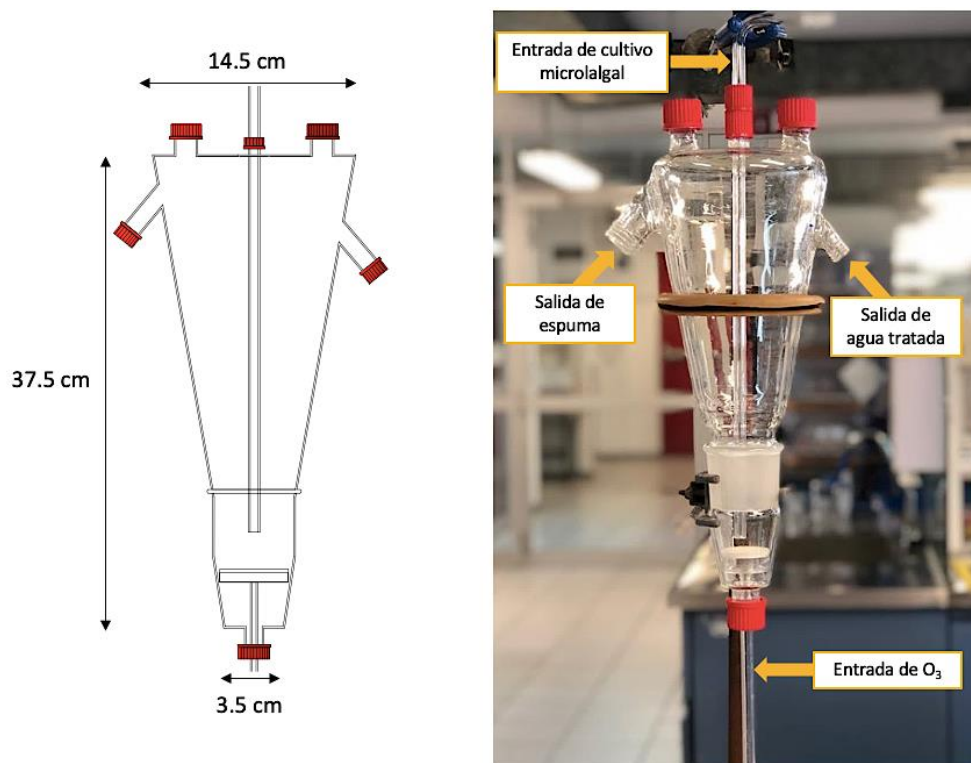


Figura 13. Esquema y fotografía del reactor utilizado en este proyecto

El sistema experimental implementado se muestra en la Figura 14 y Figura 15. De manera general, el aire del medio ambiente pasa a través de un separador (Airsep modelo AS-12, Corporation, USA) produciendo una corriente gaseosa libre de humedad y enriquecida con

oxígeno (hasta en un 90% (v/v)). El flujo de gas pasa a un generador de ozono Labo 76 (Emery Trailgaz, EE. UU.) con capacidad de producción de $1.9 \text{ g}_{\text{O}_3} \cdot \text{h}^{-1}$, cuyo flujo de salida es inyectado en la parte inferior del reactor, a través de un difusor de vidrio de placa porosa (tamaño de poro de $10\text{-}15 \mu\text{m}$). La espuma formada es dirigida a un matraz kitasato de 0.5 L, el cual está conectado a un lavador de gases con solución de yoduro de potasio (KI) al 2% para la captura y cuantificación de ozono en fase gas a la salida del reactor.

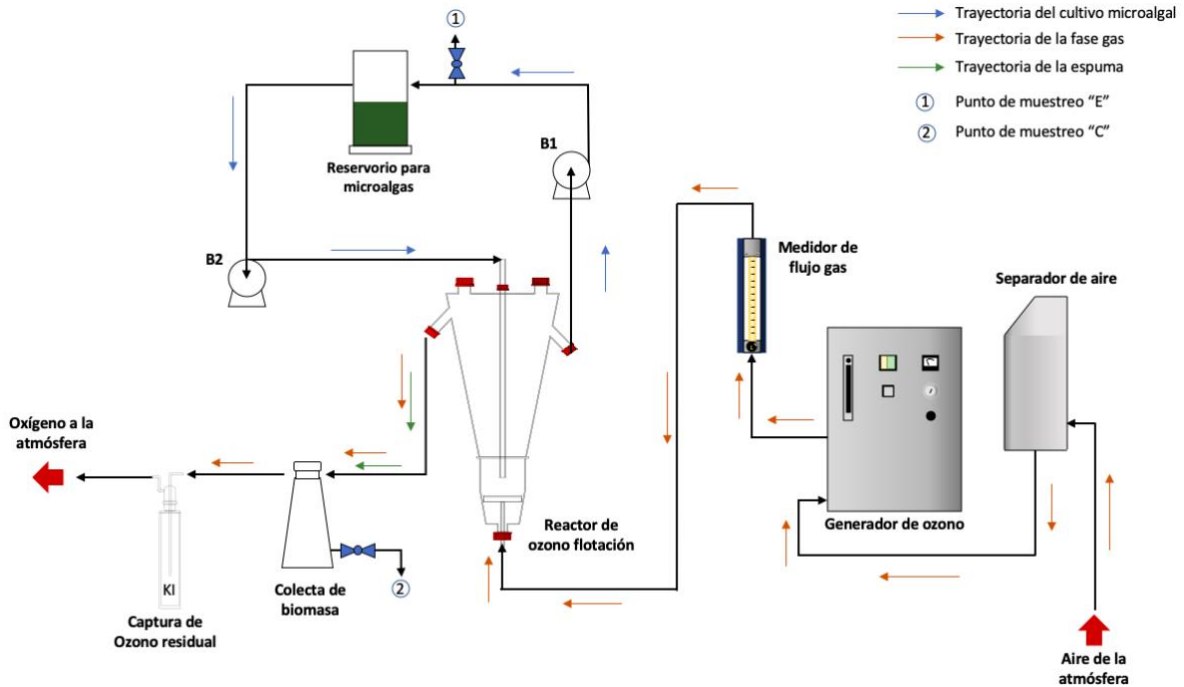


Figura 14. Arreglo experimental del sistema de ozono-flotación operado por lote

El punto de muestreo “E” y “C” indicados en la Figura 14, corresponden a los sitios para la toma de la muestra de efluente y del cosechado, respectivamente. Pruebas durante la implementación del reactor, permitieron establecer que la relación de los caudales de las bombas Q_{Le}/Q_{Ls} debía ser 1.4, para garantizar estabilidad del nivel de agua durante la prueba de ozono-flotación. Los caudales manejados por las bombas “B1” y “B2” para la operación del sistema se indican en la Tabla 3.

Tabla 4. Flujos de operación de la etapa experimental

Bomba (B2)	$Q_{Le} \text{ (L}\cdot\text{min}^{-1}\text{)}$	Bomba (B1)	$Q_{Ls} \text{ (L}\cdot\text{min}^{-1}\text{)}$
	0.50		0.69
Masterflex L/S (7518-02)	0.25	Masterflex L/S (HV-77916-10)	0.35
	0.17		0.23
	2.00		2.80



Figura 15. Fotografía del arreglo experimental implementado para las pruebas de ozono-flotación por lote

3.3 Caracterización y optimización de la operación de reactor prototipo

3.3.1 Ensayos preliminares de ozono-flotación en operación por lote.

Tomando en cuenta los datos teóricos de diseño y lo reportado en otros estudios del grupo de trabajo (Alves-Oliveira et al., 2019; Aranda, 2019; Valeriano, 2018; Wells, 2018), se realizaron cuatro pruebas experimentales por duplicado, manteniendo para cada una de ellas la misma dosis de ozono ($DO = 0.16 \text{ mg}_{\text{O}_3} \cdot \text{mg}_{\text{Biomasa}}^{-1}$). Como variables independientes se consideraron la concentración inicial de cultivo ($[SST]_e$: 600 y 1800 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) y la relación entre el flujo de gas y flujo de líquido ($Q_G/Q_L = 1$ y 3). Las variables de respuesta establecidas fueron la eficiencia de cosechado (biomasa, lípidos, carbohidratos y proteínas) y la eficiencia de transferencia de ozono.

Los experimentos se realizaron con un volumen de operación de 1.9 L de suspensión homogénea de microalgas. Se consideraron tres tipos de muestra para el seguimiento del proceso:

- 1) Inicial (I), corresponde al cultivo antes de ser procesado.

2) Cosechado o concentrado microalgal (C), el cual contenía la biomasa celular y los compuestos de interés (carbohidratos, lípidos y proteínas) que migraron y fueron recuperados a través de la espuma.

3) Agua de proceso (AP), muestra con biomasa y compuestos residuales que quedan en el volumen total del reactor al terminar la prueba de ozono-flotación.

3.3.2 Diseño experimental para la optimización de las variables de operación del reactor

Para seguir con las pruebas de laboratorio, se consideraron los ensayos preliminares que dieron los mejores resultados de cosecha y transferencia de ozono, con los cuales se planteó un diseño de experimentos con un modelo tipo factorial 3^2 . Las variables independientes seleccionadas fueron la concentración inicial del cultivo microalgal y la relación entre el flujo de gas y el flujo de líquido (Q_G/Q_L). Se establecieron como variables de respuesta a la eficiencia de cosechado (biomasa, lípidos, carbohidratos y proteínas) y la eficiencia de transferencia de ozono. A partir de los resultados obtenidos en las pruebas experimentales, se determinó mantener como parámetro constante la concentración de ozono en fase gas a la entrada del reactor ($[O_3]_e=19 \text{ mg}_{O_3}\cdot L^{-1}$).

Los niveles reales fueron codificados como -1, 0 y 1, con lo cual se generó un diseño de experimentos factorial 3^2 , dando un total de 9 experimentos. Se realizaron dos réplicas por condición analizada. En la Tabla 3 se resumen los factores, niveles codificados y reales a evaluar.

Tabla 5. Matriz de experimentos para las pruebas de ozono flotación

No. de Corrida	Valores codificados		Valores reales	
	A	B	A: [SST] _e mg.L ⁻¹	B: Q _G /Q _L
1	-1	-1	600	1
2	0	-1	1200	1
3	+1	-1	1800	1
4	-1	0	600	2
5	0	0	1200	2
6	+1	0	1800	2
7	-1	+1	600	3
8	0	+1	1200	3
9	+1	+1	1800	3

La dosis de ozono fue de $DO= 0.16 \text{ mg}_{O_3}\cdot \text{mg}_{Biomasa}^{-1}$ y el volumen de operación fue de 1.9 L de suspensión homogénea de microalgas. Las variables independientes consideradas

fueron la concentración inicial de cultivo ($[SST]_e = 600, 1200$ y 1800 mg.L^{-1}) y la relación entre el flujo de gas y flujo de líquido ($Q_G/Q_L = 1, 2$ y 3) con $Q_G = 0.5 \text{ L.min}^{-1}$.

Para la evaluación de los resultados obtenidos se empleó el programa estadístico MINITAB® 19, con el cual se realizó un análisis de varianza (ANOVA) considerando un nivel de significancia del 5%. El método se utilizó para determinar si existía diferencia significativa entre los diferentes tratamientos. Si $p\text{-value} \leq 0.05$, se rechazó la hipótesis nula, lo que significa que hubo diferencia significativa entre tratamientos.

Una de las metas para esta etapa fue evaluar la migración de los compuestos de interés con su actividad superficial durante el proceso de ozono flotación. Por tal motivo se consideró seccionar el tiempo total de la prueba en cuatro intervalos, permitiendo tener muestras del cosechado y del agua de proceso en función del tiempo. Las muestras fueron las siguientes:

1) Inicial (I), corresponde al cultivo antes de ser procesado en las pruebas de ozono flotación.

2) C1, C2, C3 y C4 fueron las muestras del cosechado que contenía la biomasa celular y los compuestos de interés que migraron a la espuma. La espuma generada en cada intervalo de tiempo se retiró en su totalidad.

3) FR1, FR2, FR3 y FR4, corresponden a las muestras tomadas del flujo de recirculación en cada intervalo de tiempo.

4) Agua de proceso (AP), muestra con los compuestos que quedaron en el volumen total del proceso al terminar la prueba de ozono-flotación.

3.3.3 Eficiencias de recuperación de SST y compuestos de interés

La concentración de microalgas como sólidos suspendidos totales (SST) en cada una de las muestras, fue determinada gravimétricamente (APHA-AWWA-WPCF, 1992) utilizando papel filtro GF/A (Whatman). El contenido de lípidos totales y carbohidratos totales se determinó mediante las técnicas sulfo-fosfovainillina (Knight et al., 1972) y fenol-sulfúrico (Dubois et al., 1956), respectivamente.

Para la cuantificación de proteínas totales, las muestras se sometieron a extracción de las proteínas presentes en la biomasa, utilizando el método alcalino siguiendo el procedimiento reportado por (Valeriano, 2018). Posteriormente las muestras fueron filtradas utilizando una membrana Millipore de 0.22 mm (GWP02500) y la concentración de proteína se determinó mediante el método de Biuret (Gornall et al., 1949).

Se realizó un balance de materia para conocer la cantidad de biomasa y compuestos de interés que se perdieron por oxidación en el proceso de ozono-flotación. El balance queda definido por la ecuación (37).

$$X_{i \text{ reactor}} = X_{f \text{ c}} + X_{f \text{ AP}} + P \quad (37)$$

donde X_i representa a la cantidad de biomasa, lípidos, carbohidratos o proteínas al inicio de cada prueba, X_f la cantidad de biomasa o compuestos de interés al finalizar la prueba, ya sea en el cosechado o en el agua de proceso y P las pérdidas por oxidación. Cada término

de la ecuación (37) está expresado en mg, por lo que las concentraciones determinadas para la biomasa y compuestos de interés se multiplicaron por el volumen de cada muestra.

La eficiencia de recuperación (ER) se obtuvo con la ecuación (38).

$$ER (\%) = \frac{Xf_{cosechado}}{Xi_{reactor}} * 100\% \quad (38)$$

Para las pruebas experimentales en donde se realizó el seguimiento de la cosecha en función del tiempo se hizo la consideración mostrada en la ecuación (39) para realizar el balance de materia.

$$Xf_c = X_{C1} + X_{C2} + X_{C3} + X_{C4} \quad (39)$$

3.3.4 Balance de masa de ozono

El ozono gas que sale del reactor se capturó en un lavador de gases que contenía 200 mL de solución de yoduro de potasio al 2%. Las concentración de ozono en fase gas se determinó de acuerdo al método yodométrico (Birdsall et al., 1952).

Para la cuantificación del ozono residual en agua ($[O_3]_{Lr}$), se tomaron 25 mL de la muestra “agua de proceso” y se filtraron utilizando papel filtro GF/A (Whatman) para evitar interferencias debido al color que otorgan los sólidos suspendidos. Posteriormente se midió la concentración del ozono residual siguiendo el método colorimétrico de índigo (Bader and Hoigné, 1981). La descripción detallada de cada técnica se muestra en el Anexo 1.

De acuerdo a las ecuaciones de balance de masa para un reactor operado por lote, se determinaron las dosis de ozono aplicada (DOA), de ozono transferida (DOT) y de ozono consumida (DOC), ecuaciones (40) a (42) respectivamente.

$$DOA = \frac{[O_3]_{Ge} * Q_G * t}{V_r} \quad (40)$$

$$DOT = \frac{Q_G * ([O_3]_{Ge} - [O_3]_{Gs}) * t}{V_r} \quad (41)$$

$$DOC = \frac{Q_G * ([O_3]_{Ge} - [O_3]_{Gs}) * t}{V_r} - [O_3]_{Lr} \quad (42)$$

donde V_r es el volumen de cada prueba en L, $[O_3]_{Ge}$ es la concentración de ozono en fase gas calculada al inicio de la prueba, $[O_3]_{Lr}$ es la concentración de ozono residual en fase acuosa y $[O_3]_{Gs}$ es la concentración de ozono en fase gas ($[O_3]_{Lr}$ y $[O_3]_{Gs}$ fueron calculadas al finalizar cada prueba). Todas las concentraciones y las dosis están expresadas en $mg_{O_3} \cdot L^{-1}$. La eficiencia de transferencia (ET) se calculó con la ecuación (43).

$$ET(\%) = \frac{[O_3]_{Ge} - [O_3]_{Gs}}{[O_3]_{Ge}} * 100\% \quad (43)$$

3.3.5 Cálculo de velocidades y determinación de regímenes de flujo

Para verificar que el flujo dentro del reactor presentara la transición de un régimen turbulento ($Re > 4000$) a uno laminar ($Re < 2300$) se calculó el número de Reynolds (Re) con la ecuación (44) reportada por Awad (2012).

$$Re = \frac{(G_L + G_G)\emptyset}{\mu_L} \quad (44)$$

donde G_L y G_G , son los flux máscicos del líquido y del gas, respectivamente en $\text{kg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$, \emptyset el diámetro de la sección transversal de estudio (diámetro inferior o diámetro superior) del reactor en m y μ_L la viscosidad dinámica del cultivo en $\text{kg}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$. El flux máscico es igual a la velocidad media del fluido (U_M) en $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$, multiplicado por la densidad del fluido (ρ_M) en $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$ como se indica en la ecuación (45).

$$G_L + G_G = U_M \rho_M \quad (45)$$

El valor de la velocidad de la mezcla (U_M) se determinó con la ecuación (46).

$$U_M = \frac{Q_L + Q_G}{A} = U_{SL} + U_{SG} \quad (46)$$

donde A es el área transversal de la región de estudio (inferior o superior) del reactor, U_{SL} y U_{SG} son las velocidades medias del líquido y del gas, respectivamente.

3.3.6 Factor de concentración

El factor de concentración o enriquecimiento se definió como la relación entre la concentración de microalgas cosechadas y la concentración de microalgas al inicio de la prueba, como lo indica la ecuación (47).

$$FE = \frac{[SST]_f}{[SST]_e} \quad (47)$$

3.3.6 Determinación de la actividad superficial en muestras del cosechado

Con la finalidad de estudiar la actividad superficial que presentan los compuestos de interés que migraron a la espuma se llevaron a cabo pruebas de tensión superficial y se analizó el comportamiento de la presión superficial respecto a la composición. Dichas pruebas se realizaron en el Laboratorio de Superficies de la Facultad de Química bajo la supervisión del Dr. Jesús Gracia Fadrique y el M.C.Q. Arturo García Figueroa.

3.3.6.1 Ensayos de tensión superficial en muestras del cosechado

Las pruebas de tensión superficial se realizaron utilizando el método del anillo de Du Noüy y a las muestras inicial (I) y las obtenidas durante el cosechado de la biomasa (C1, C2, C3 y C4).

Previo a realizar las mediciones de tensión superficial, las muestras fueron filtradas utilizando una membrana Millipore de $0.22 \mu\text{m}$ (GWP02500) y se colocaron en recipientes de polipropileno de 10 mL. Con la finalidad de analizar el comportamiento de la tensión

superficial dinámica se dejó que la muestra llegara a un equilibrio térmico y mecánico durante 2 horas a temperatura ambiente (26 ± 1 °C), y pasando este tiempo se efectuaron las mediciones por duplicado.

El equipo utilizado consistía en una balanza analítica OHAUS Pioneer con una sensibilidad de 10^{-4} g, con un gancho en la parte inferior para colocar el anillo de platino-iridio de 1 cm de diámetro. El procedimiento para medir la tensión superficial fue similar al descrito por Pardo-Cervantes et al. (2011) y se detalla en el Anexo 1. De forma general, el recipiente con la muestra se coloca sobre un elevador mecánico, el cual desciende al girar manualmente un tornillo que ajusta la altura. El anillo se introduce en la muestra de líquido y al ir descendiendo, la balanza registra la masa adherida al anillo. La masa empleada para calcular la tensión superficial, ecuación (48), será la masa máxima

$$\sigma = \frac{Mg}{4\pi R} * F \quad (48)$$

donde M es el peso máximo soportado por el anillo, g es la gravedad local (977.94 cm.s^{-2} , CU-UNAM (Pardo-Cervantes et al., 2011)), R es el radio del anillo y F un factor de corrección por ajuste del tamaño del anillo.

3.3.6.2 Análisis del comportamiento de la presión superficial respecto a la composición de los componentes presentes en la mezcla (proteínas, lípidos y carbohidratos).

Para el análisis del comportamiento de la presión superficial respecto a la composición, se eligió la prueba experimental del bloque de 1800 mg.L^{-1} de concentración de microalgas, que presentó los menores porcentajes de recuperación (Tabla 5), con la finalidad de obtener información sobre los cambios que ocurren en los elementos que conforman la mezcla del cosechado, durante las pruebas de ozono-flotación.

Las condiciones de operación fueron las siguientes: $DO = 0.16 \text{ mgO}_3 \cdot \text{mg}^{-1}_{\text{Biomasa}}$, $Q_G/Q_L = 1$ con $Q_G = 0.5 \text{ L.min}^{-1}$ y $Q_L = 0.5 \text{ L.min}^{-1}$ y el volumen de operación de 1.9 L. El tiempo total de la prueba se dividió en tres intervalos de tiempo (18.5, 37 y 56 min) para tomar tres muestras (M1, M2 y M3).

Tabla 6. Porcentajes de recuperación para la prueba experimental elegida

Eficiencia de Transferencia %	Recuperación			
	SST %	Proteínas %	Lípidos %	Carbohidratos %
63	64.02	64.28	54.69	53.54

Debido a que el tiempo de este análisis solo permite procesar una muestra por día, se optó por liofilizar las muestras para preservarlas y evitar la desnaturalización de las proteínas. Para ello se tomaron 35 mL de las muestras del cosechado y se mantuvieron en ultracongelación durante un periodo de 8h. Después pasaron por el proceso de liofilización que duró 24 h a 0.576 torr, en una liofilizadora Labconco (7750020).

Previo al análisis, las muestras se resuspendieron en agua mili-Q, con la mitad del volumen inicial y se mantuvieron en agitación constante durante 2 h, posteriormente se filtraron con una membrana Millipore de $0.22\ \mu\text{m}$ (GWP02500) y se colocaron en recipientes de polipropileno de 10 mL.

El análisis comenzó en la región concentrada hasta llegar a la región diluida. En cada muestra, la medición de todo el intervalo de composiciones se efectuó en un periodo máximo de 33 h. Cada punto de las curvas obtenidas se midió por duplicado.

El procedimiento detallado se muestra en el Anexo 1.

Capítulo 4

Resultados y discusión

4.1 Identificación y composición del consorcio de microalgas

En este estudio, se utilizó un consorcio mixto de microalgas. Géneros como *Scenedesmus* sp., *Desmodesmus* sp. y *Diatomeae* sp. fueron identificados a través de la observación al microscopio (Figura 16).

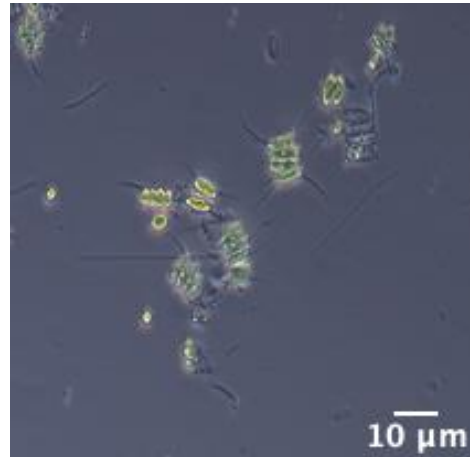


Figura 16. Micrografía de las especies de microalgas presentes (40X)

La composición bioquímica con respecto al contenido de carbohidratos, lípido y proteínas del consorcio utilizado se muestra en la Tabla 7 y se compara con lo reportado en otros estudios. Es importante mencionar que la variación que se observa en cada composición se debe a factores como el tipo de microalga, medio de cultivo utilizado y estimulantes físicos o químicos, como la limitación de nutrientes, que promueven la acumulación de carbohidratos y lípidos (Hernández, 2017).

Tabla 7. Composición bioquímica de consorcios microalgales

Microalga	Medio de cultivo	Proteínas g.kg ⁻¹	Lípidos g.kg ⁻¹	Carbohidratos g.kg ⁻¹	Referencia
Consorcio mixto	Agua residual	374.1 ± 22.9	69.9 ± 7.1	242.9 ± 14.4	Este estudio (Romero, 2019)
Consorcio <i>Scenedesmus</i> sp.	Agua residual	SD	123.3 ± 0.5	68.9 ± 0.2	
<i>Scenedesmus obliquus</i>	BG11 modificado	336.3 ± 40.4	253.4 ± 6.4	459.0 ± 45	(de Farias Silva et al., 2018)
<i>Desmodesmus</i> sp.	Agua residual	SD	365.5 ± 23.1	207.6 ± 40.5	(Fournier, 2015)

SD Sin Determinar

4.2 Pruebas preliminares

El propósito de las pruebas preliminares fue ajustar los flujos Q_G , Q_L , con los que operaría el reactor, considerando como parámetros de respuesta la eficiencia de cosechado de biomasa y compuestos de interés, así como la eficiencia de transferencia de masa.

Como se mencionó anteriormente, el diseño considera la transición de régimen turbulento en la zona de mezclado ($Re = 3,719$), a un régimen laminar en la parte superior ($Re = 1,270$). Al calcular el caudal mínimo con el cual debía operar el reactor para tener un número de

Reynolds correspondiente al régimen turbulento, se determinó que era necesario un flujo de 6.9 L min^{-1} . Debido a la disponibilidad de bombas con capacidad máxima de 3.4 L min^{-1} , y tomando en cuenta que la bomba del efluente (B1) debía operar con un caudal 1.4 veces mayor al caudal de la bomba B2, se optó por realizar pruebas con un caudal (Q_{Le}) máximo de 2 L.min^{-1} . Los resultados de recuperación y transferencia de masa se muestran en las Tablas 8 y 9.

Se puede observar que los experimentos con el número de Reynolds más grande no coincidieron con la máxima transferencia de masa. A pesar de que se obtuvo la mayor recuperación de lípidos y carbohidratos, la cosecha de biomasa y proteínas no fue la mayor.

El experimento con la mayor transferencia de masa fue del 64.2 %, coincidiendo con las mayores cosechas de biomasa (66 %) y proteínas (67.4 %).

Tabla 8. Resultados de transferencia de masa obtenidos en las pruebas preliminares

Condiciones de operación						Transferencia de masa		
[SST] _e mg.L ⁻¹	Q _G /Q _L -	Q _G L.min ⁻¹	Q _L L.min ⁻¹	Re ¹ -	DOA mg _{O₃} ·mg ⁻¹ Biomasa	DOA mg _{O₃} ·L ⁻¹	DOT mg _{O₃} ·L ⁻¹	ET %
1800	1	2.0	2.0	493.9		288	169.3 ± 1.8	58.8 ± 0.6
1800	1	0.5	0.50	164.5	0.16	288	184.9 ± 2.9	64.2 ± 1.0
600	1	0.5	0.50	164.5		96	59.6 ± 0.7	52.0 ± 0.9
600	3	0.5	0.17	54.9		96	55.3 ± 1.1	57.6 ± 1.1

¹Número de Reynolds calculado en la zona inferior del reactor (zona de mezclado).

En las pruebas realizadas con una concentración inicial de biomasa de 600 mgSST.L^{-1} , se observa que al incrementar la relación de flujos también hay un incremento en la recuperación de biomasa y compuestos de interés.

Tabla 9. Resultados de cosecha en las pruebas preliminares

Condiciones de operación			Recuperación			
[SST] _e mg.L ⁻¹	Q _G /Q _L -	Re ¹ -	Biomasa %	Proteínas %	Lípidos %	Carbohidratos %
1800	1	493.9	59.7 ± 1.7	43.3 ± 2.4	63.3 ± 0.6	58.2 ± 0.1
1800	1	164.5	66.0 ± 0.9	67.4 ± 3.2	57.8 ± 0.7	55.4 ± 0.9
600	1	164.5	21.8 ± 1.1	9.1 ± 2.3	24.6 ± 1.3	15.4 ± 0.5
600	3	54.9	37.7 ± 1.5	39.1 ± 3.4	44.8 ± 2.5	24.2 ± 2.8

¹Número de Reynolds calculado en la zona inferior del reactor (zona de mezclado).

Con base en los resultados obtenidos, se consideró que el caudal de líquido (Q_L) mínimo y máximo, para el desarrollo del diseño de experimentos fuera, 0.17 L.min^{-1} y 0.50 L.min^{-1} , respectivamente.

4.3 Cosechado de biomasa y compuestos de interés

4.3.1 Cosecha de biomasa

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) a los datos obtenidos con un intervalo de confianza del 95%. Como lo indica la Tabla 10, los factores estadísticamente significativos

para las variables de respuesta fueron la concentración de sólidos suspendidos iniciales (A) y la relación de flujos (B) con un valor P de 0.000. En el caso de la oxidación, la interacción entre ambos factores (AB) también fue significativo.

Tabla 10. Importancia experimental de las variables estudiadas de acuerdo al análisis de varianza.

Factor/ Interacción	Recuperación SST (%)		Oxidación (%)	
	Relación F	Valor P	Relación F	Valor P
A: [SST] _e	256.43	0.000	79.71	0.000
B: Q _G /Q _L	37.83	0.000	51.16	0.000
AB	2.24	0.144	6.47	0.010

En la gráfica de efectos principales (Figura 17. A) se observa que el mayor porcentaje de recuperación se obtiene con el incremento de la concentración de biomasa inicial y la relación de flujos de operación (Q_G/Q_L). Por otra parte, la Figura 17. B muestra que el menor porcentaje de oxidación, se obtiene en los experimentos realizados con 1800 mg.L⁻¹ de concentración inicial de microalgas medida como SST. La influencia de los factores también se puede corroborar con los diagramas de Pareto mostrados en el Anexo 2.

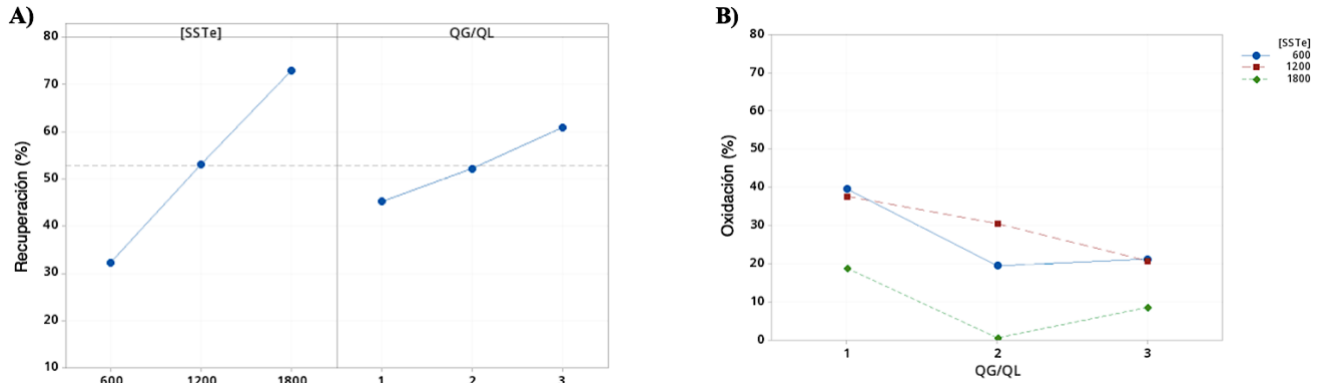


Figura 17. A) Efecto de la concentración de SST iniciales y relaciones de flujos en la cosecha de biomasa. B) Gráfico de interacción de variables para la oxidación utilizando valores medios

Como se indica en el análisis estadístico, la concentración de biomasa inicial tuvo una gran influencia en el porcentaje de cosechado. En la Figura 18, se observa que con la concentración de microalgas de 1800 mg.L⁻¹ y una relación de flujos igual a 3 se obtiene el porcentaje de recuperación más alto (78.8%) y un porcentaje oxidación del 9.6%. La menor recuperación (23.9%) se obtiene con la concentración inicial de 600 mg.L⁻¹ y relación de flujos igual a 1. Alves et al. (2019) reportan un porcentaje de oxidación del 31.6 % para la mejor condición de cosecha (88.5 %), con la misma dosis de ozono utilizada en este estudio (0.16 mg_{O₃} · mg_{Biomasa}⁻¹) y una concentración inicial de biomasa igual a 500 mg.L⁻¹.

Se observa que la menor recuperación para cada bloque de concentraciones de biomasa se obtiene con la relación de flujo igual a 1, asociados a las velocidades más altas. Se ha descrito

que la velocidad de elevación de las burbujas es una característica clave en la cosecha de microalgas, debido a que está ligada al tiempo de contacto en el que se dará la colisión y fijación entre la partícula y la burbuja en el reactor, es decir, a mayores velocidades de flujo se tendrán tiempos de contacto más cortos. De igual forma, se ha reportado que altas velocidades de flujo pueden ocasionar cambios rápidos en la trayectoria de la burbuja, provocando desprendimientos inerciales de las partículas (Coward et al., 2015; Edzwald, 2010; Wang et al., 2017).

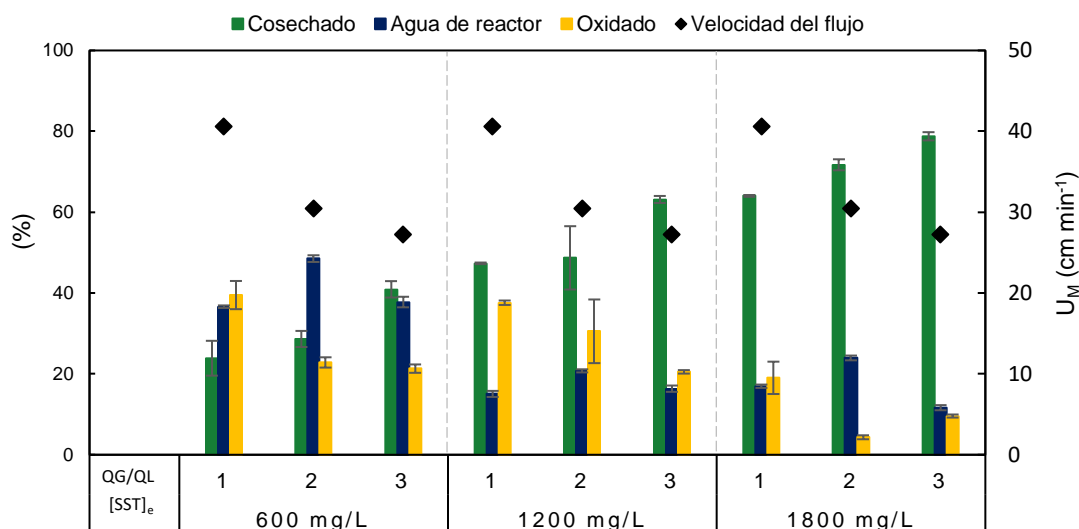


Figura 18. Porcentajes obtenidos de biomasa cosechada, en agua de proceso y oxidada, del arreglo experimental

4.3.2 Cosecha de compuestos de interés (Proteínas, lípidos y carbohidratos)

Al analizar estadísticamente la eficiencia del proceso de cosechado en la recuperación de los compuestos de interés (Tabla 11), se observa que el porcentaje de recuperación de proteínas y carbohidratos es influenciado por tres factores importantes: la concentración inicial de biomasa (A), la relación de flujos (B) y la interacción entre ambos factores (AB). En cambio, la cosecha de lípidos es afectada por el efecto independiente de los factores (A) y (B).

Tabla 11. Importancia experimental de las variables estudiadas de acuerdo al análisis de varianza

Factor/ Interacción	Recuperación (%)					
	Proteínas		Lípidos		Carbohidratos	
	Relación F	Valor P	Relación F	Valor P	Relación F	Valor P
A: [SST] _e	190.66	0.000	46.06	0.000	450.22	0.000
B: Q _G /Q _L	47.56	0.000	29.19	0.000	28.34	0.000
AB	9.07	0.003	0.32	0.857	3.96	0.040

La interacción de la condiciones: mayor concentración con máxima relación de flujos, favorece la recuperación de proteínas (Figura 19. A). La Figura 19. B indica que el efecto que tiene una concentración inicial de biomasa de 1200 mg.L⁻¹ en la recuperación de los carbohidratos es prácticamente el mismo que para una concentración de 1800 mg.L⁻¹.

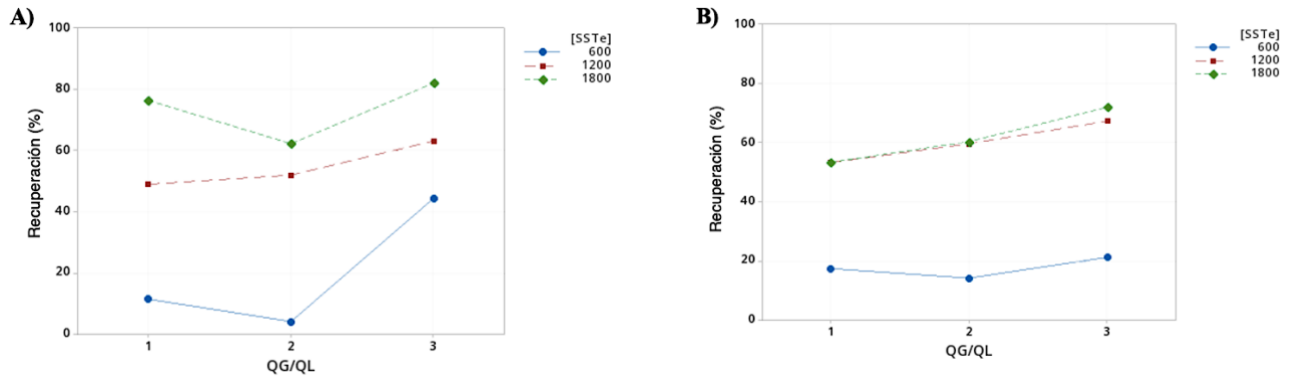


Figura 19. Gráficas de interacciones de los efectos analizados (Concentración inicial de biomasa y relación de flujos). A) Recuperación de proteínas. B) Recuperación de carbohidratos.

En el gráfico de efectos principales (Figura 20), se observa que la mayor recuperación de lípidos se obtiene con 1200 mg.L⁻¹ de biomasa inicial; con 1800 mg.L⁻¹ hay un decaimiento en la cantidad de lípidos recuperados. El incremento en la relación de flujos muestra un efecto positivo en la recuperación.

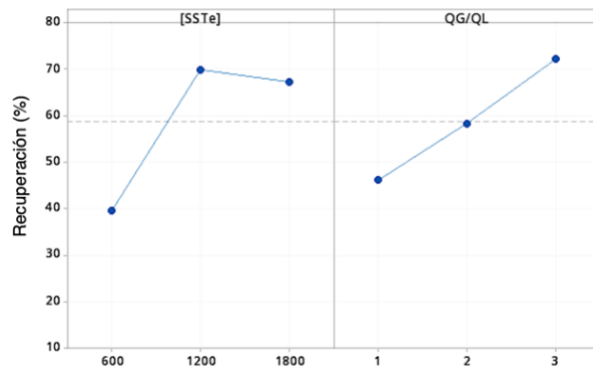


Figura 20. Gráfico de efectos principales en la recuperación de lípidos.

La Figura 21 muestra que al aplicar la misma dosis de ozono, la recuperación de biomasa y compuestos de interés tendrá un comportamiento creciente al incrementar la concentración de biomasa inicial y la relación de flujos. Se puede observar que con la condición QG/QL=1 y concentración inicial de 600 mg.L⁻¹ se recuperó 23.9% de biomasa, 11.6% de proteínas, 27.3% de lípidos y 17.7% de carbohidratos, mientras que con la condición QG/QL=3 y 1800 mg.L⁻¹ de concentración inicial, los porcentajes de recuperación incrementan a 78.8%, 74.6%, 79.4% y 72.3%, respectivamente.

En estudios previos, Velasquez-Orta et al. (2014) reportan la recuperación del 79.6 % de biomasa y 12% de lípidos, utilizando una dosis más alta de ozono ($0.23 \text{ mg}_{\text{O}_3} \cdot \text{mg}_{\text{Biomasa}}^{-1}$) y menor concentración de microalgas (420 mg.L⁻¹). Valeriano González et al. (2016) obtuvieron una recuperación de biomasa del 75 % con una concentración menor de microalgas (400 mg.L⁻¹) y una dosis de $0.14 \text{ mg}_{\text{O}_3} \cdot \text{mg}_{\text{Biomasa}}^{-1}$. De acuerdo con Aranda (2019), al implementar un proceso en continuo de cosecha microagal, reporta el 68.9 %, 21 % y 73 %

de recuperación de biomasa, proteínas y carbohidratos, respectivamente; utilizando una dosis de ozono de $0.15 \text{ mg}_{\text{O}_3} \cdot \text{mg}_{\text{Biomasa}}^{-1}$ $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ como concentración inicial y una relación de flujos $Q_G/Q_L=3$.

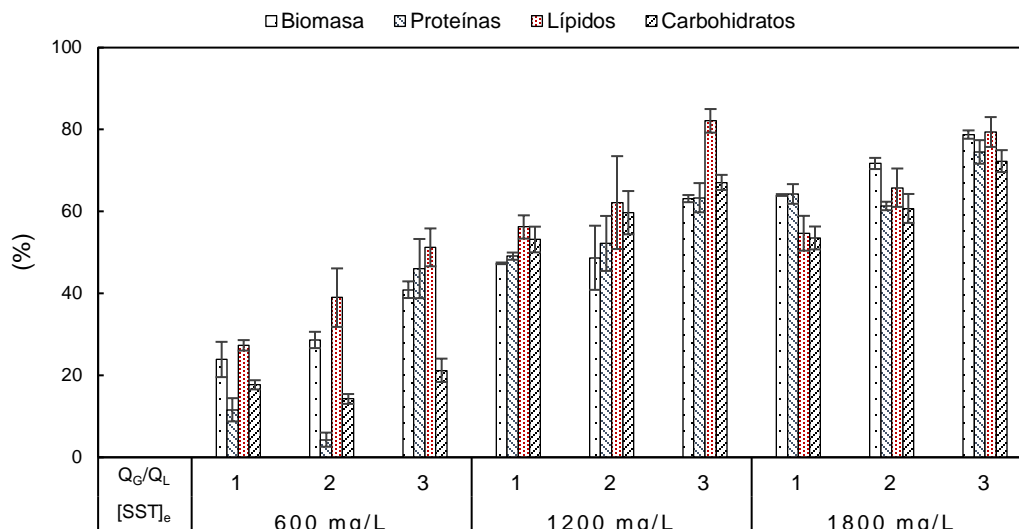


Figura 21. Efecto de la concentración inicial y la relación de flujos en la recuperación de biomasa y compuestos de interés

Como se observa en la Figura 22, existe una relación directa entre el porcentaje de biomasa cosechada y la proteína total recuperada durante el proceso de ozono-flotación, este comportamiento coincide con lo reportado en investigaciones previas. Se ha analizado que la presencia de tensoactivos en el medio tendrá dos efectos principales. Al unirse a la superficie de la microalga, favorecerá su hidrofobicidad y su adherencia con la burbuja. En cambio, el segundo efecto será el de estabilizar la espuma al obstruir la coalescencia de la burbuja. La combinación de ambos mecanismos contribuyen al cosechado de la biomasa (Coward et al., 2013; Garg et al., 2012; Kurniawati et al., 2014; Valeriano González et al., 2016).

Kurniawati et al. (2014) reportan un cambio significativo en el potencial zeta al triplicar la cantidad inicial del tensoactivo catiónico (CTAB), dando como resultado un mayor porcentaje de cosecha. Garg et al. (2015) observaron que al aumentar la cantidad de tensoactivo utilizado (DN_2), reportan un 93.5% de recuperación de microalgas y un incremento del 55% en la hidrofobicidad de la muestra cosechada, en comparación a la muestra inicial de microalgas. Valeriano González et al. (2016) reportan que la concentración de proteína recuperada y la biomasa cosechada aumentan de forma proporcional a la dosis de ozono, obteniendo un porcentaje de cosecha cercano al 70% con $2.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de proteína recuperada. En este estudio, la máxima recuperación de biomasa (79%) se obtuvo con una concentración de proteína de $2.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$

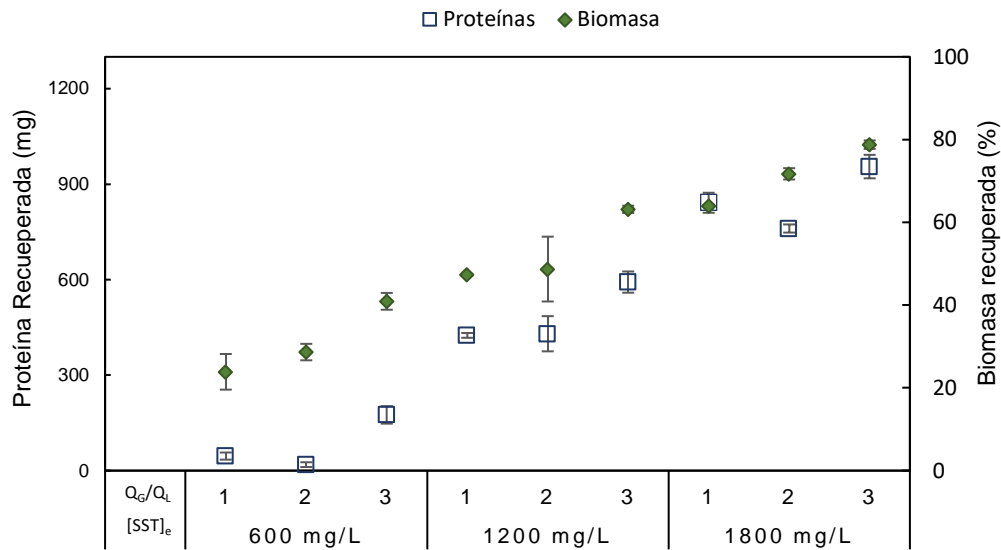


Figura 22. Relación entre la biomasa recuperada y la proteína cosechada

De acuerdo a la caracterización del cosechado en función del tiempo (Figura 23) se destaca lo siguiente. Para las pruebas con $[SST]_e = 600 \text{ mg.L}^{-1}$ y $Q_G/Q_L = 1, 2$ la recuperación de espuma en el cosechado comenzó posterior a los 5 minutos de iniciar la prueba, en ambos casos se obtuvo menor volumen de cosechado. Al cuantificar las biomoléculas presentes en el reactor (Figura 24) se puede observar que el contenido en el agua de proceso es superior al 45%, esto nos indica que la oxidación a causa del ozono no fue el efecto dominante para obtener un bajo porcentaje de cosechado.

En general, para el primer bloque de experimentos ($[SST]_e = 600 \text{ mg.L}^{-1}$) gran parte de los compuestos de interés permanecieron en el reactor; también se observa que el incremento en la concentración inicial de biomasa y la relación de flujos, favorecen la disminución de la presencia de dichos compuestos en el agua de proceso.

En las pruebas con $[SST]_e = 1200 \text{ mg.L}^{-1}$ y $Q_G/Q_L = 1$, se observa que a los 19 minutos se recuperó 48.8%, 53.8% y 49.7% de proteínas, lípidos y carbohidratos, respectivamente. En el tiempo restante de la prueba (19 minutos) la recuperación de los componentes fue de 0.3%, 2.8% y 3.5%. La cosecha con la condición $[SST]_e = 1800 \text{ mg.L}^{-1}$ y las tres relaciones de flujos tuvieron un comportamiento similar; a los 28 minutos se obtuvo el mayor porcentaje de recuperación para cada una de las biomoléculas.

Para el resto de las condiciones, la recuperación de biomoléculas fue creciente en todo el intervalo de tiempo, sin presentar cambios tan importantes en la pendiente de cosechado.

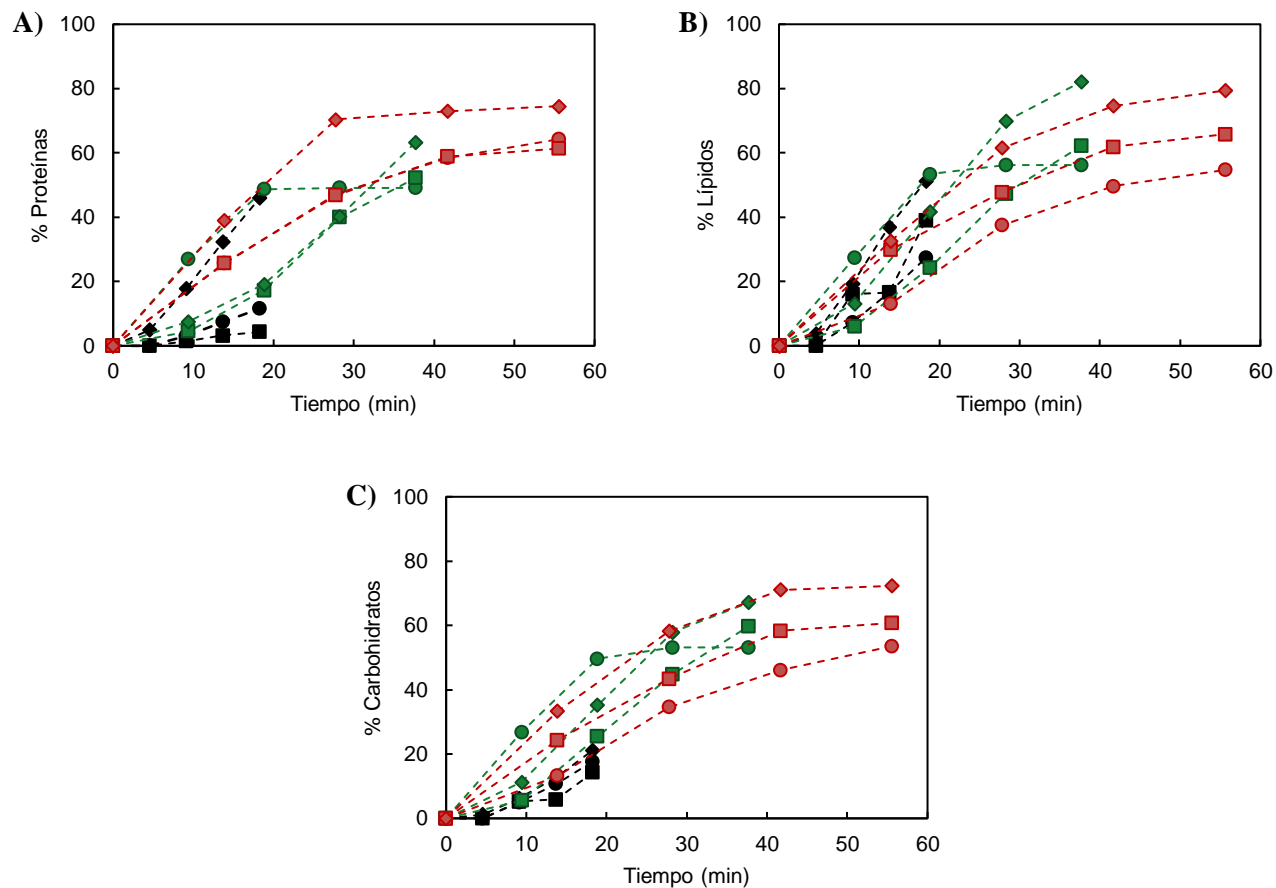


Figura 23. Porcentaje de recuperación de proteínas (A), lípidos (B) y carbohidratos (C) en función del tiempo. Para los experimentos realizados con concentraciones de biomasa inicial de 600 mg.L⁻¹ (negro), 1200 mg.L⁻¹ (verde) y 1800 mg.L⁻¹ (rojo); así como las relaciones de flujo 1 (●), 2 (■) y 3 (◆).

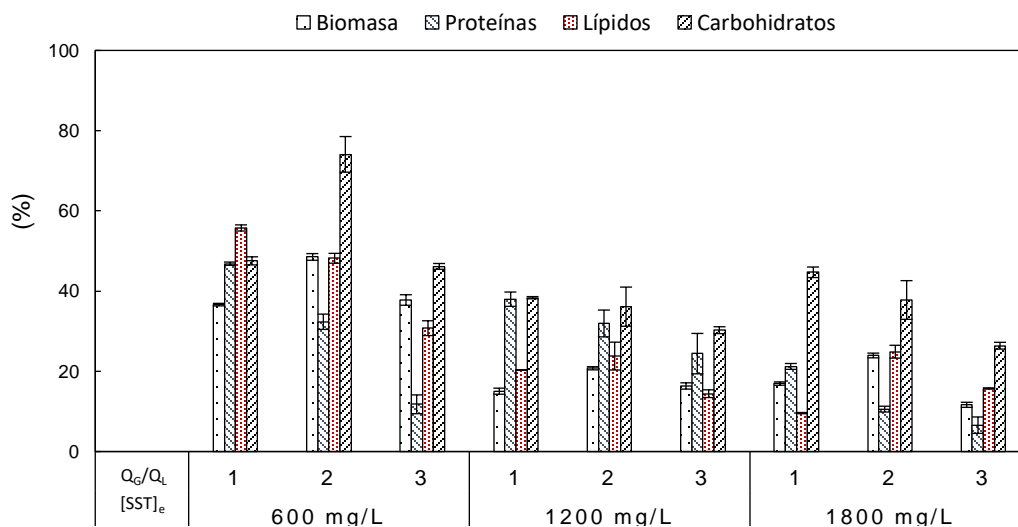


Figura 24. Porcentaje de biomasa y biomoléculas presentes en el agua de proceso al término de las pruebas de ozono-flotación

Al analizar las muestras del flujo de recirculación (Figura 25), se observa que la concentración total de las biomoléculas en el agua tiende a disminuir. Esto es un comportamiento esperado como consecuencia de dos efectos: la migración de las biomoléculas a la interfase y la oxidación por efecto del ozono.

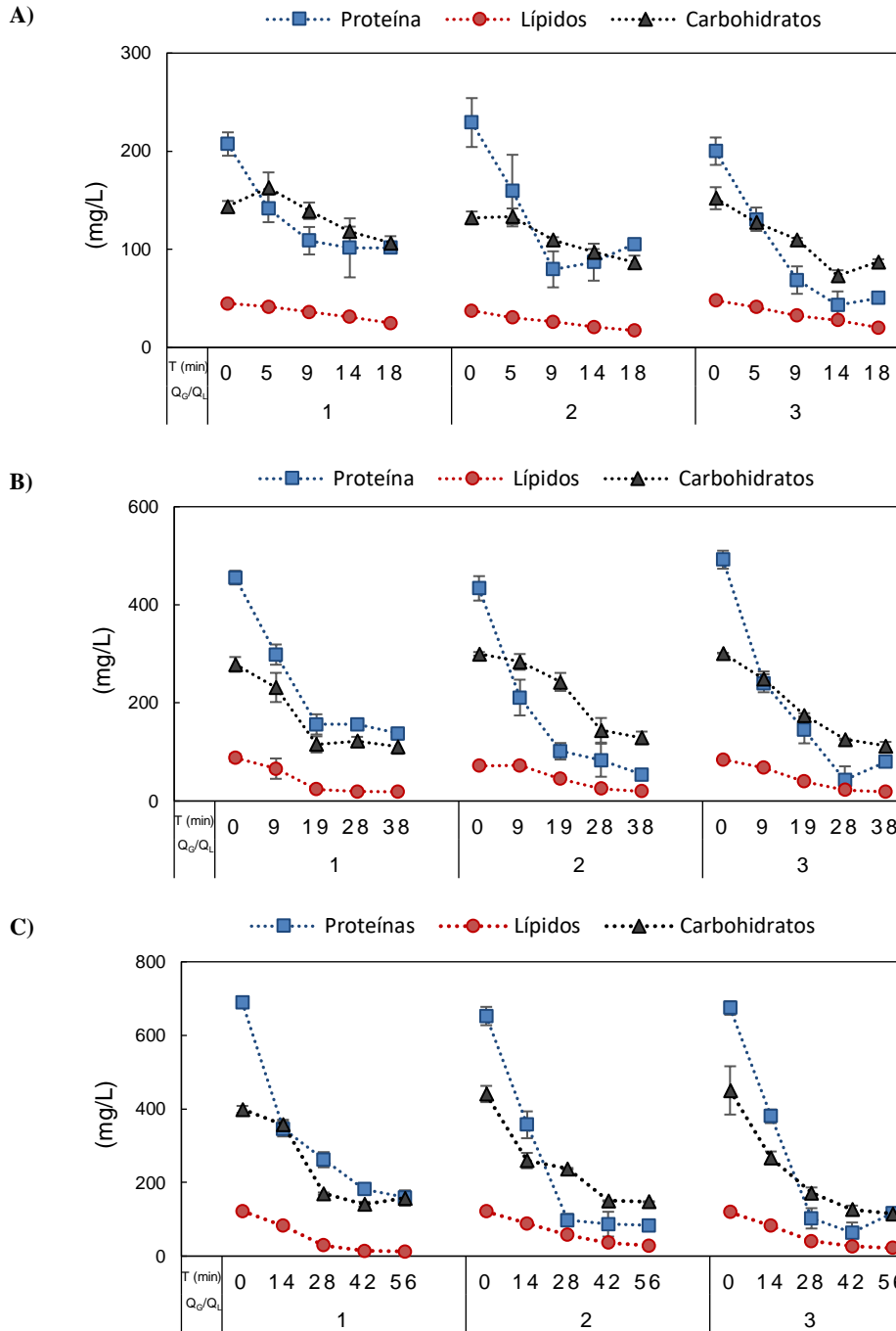


Figura 25. Concentración de biomoléculas en el flujo de recirculación durante el proceso de ozonoflotación para los experimentos realizados con concentración inicial de 600 mg.L⁻¹ (A), 1200 mg.L⁻¹ (B) y 1800 mg.L⁻¹ (C).

4.3.2 Eficiencia de cosechado

La cosecha ideal debe tener un alto rendimiento de biomasa, un factor de concentración alto y un volumen total de cosechado bajo (Coward et al., 2013). De acuerdo a las características mencionadas, se deberá analizar cada una de ellas para conocer qué tan eficiente fue el proceso. En la Figura 26 se observa que el mejor rendimiento de biomasa obtenido fue de $7.6 \text{ mg}_{\text{Biomasa}} \cdot \text{mg}_{\text{O}_3}^{-1}$ para una concentración de biomasa de $1800 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ y una relación de flujos $Q_G/Q_L = 3$. La condición de operación que dio como resultado el mayor rendimiento de las proteínas ($2.83 \text{ mg}_{\text{Proteína}} \cdot \text{mg}_{\text{O}_3}^{-1}$), lípidos ($0.63 \text{ mg}_{\text{Lípidos}} \cdot \text{mg}_{\text{O}_3}^{-1}$) y carbohidratos ($1.84 \text{ mg}_{\text{Carbohidratos}} \cdot \text{mg}_{\text{O}_3}^{-1}$), fue con $1200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ y una relación de flujos $Q_G/Q_L = 3$.

Los menores rendimientos se obtuvieron para el bloque de experimentos que utilizó una concentración inicial de biomasa de $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Estos resultados nos indican que a pesar de que se transfiere una parte importante de ozono (56.3, 62.9 y 61.6 %, para relaciones de flujo 1, 2 y 3), el porcentaje de biomasa y biomoléculas recuperadas fue bajo.

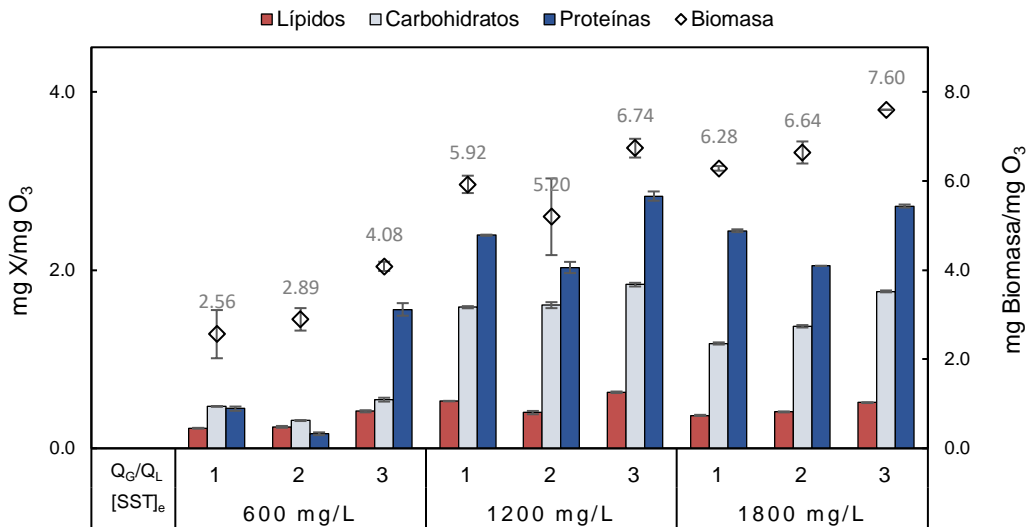


Figura 26. Efecto de la concentración de biomasa inicial y la relación de flujos en la eficiencia de recuperación

Como se mencionó anteriormente, la cosecha de microalgas representa un porcentaje importante en el costo total para el procesamiento de la biomasa. La naturaleza diluida de los cultivos microalgales hace necesario el suministro de grandes aportes energéticos que se traducen en altos costos operativos. Es por esto que se busca el uso de tecnologías que permitan una alta concentración en el cosechado para simplificar los posteriores pasos en el tratamiento de la biomasa. Debido a esto, otro parámetro de gran importancia a considerar en la eficiencia del proceso, relacionado con la cantidad de agua en el cosechado, es la capacidad de enriquecimiento expresada a través del factor de concentración (Hoseinian et al., 2019; Polat and Erdogan, 2007; Shelef et al., 1984; Uduman et al., 2010; Zheng et al., 2006).

Los factores de concentración, también conocidos como factores de enriquecimiento, se muestran en la Figura 27. Como se observa, el mayor factor de concentración obtenido fue de 20.4, pero no corresponde a la mayor eficiencia de cosecha de biomasa. Esto nos indica que un alto porcentaje de cosecha no siempre estará asociado a un volumen bajo de recuperación como lo sería un proceso de cosechado ideal.

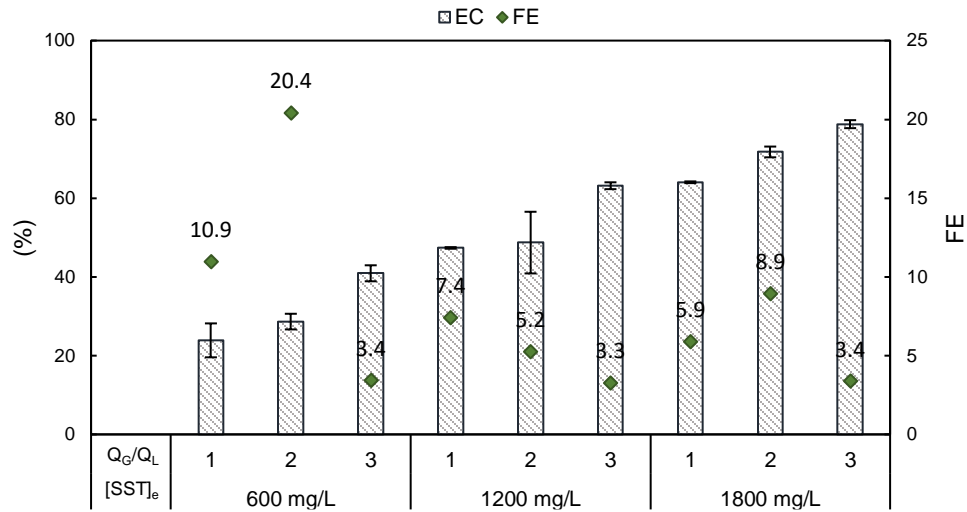


Figura 27. Relación entre el porcentaje de cosechado de biomasa y el factor de enriquecimiento

Csordas y Wang (2004) afirman que la eficiencia de cosecha es una función creciente del volumen de la espuma, mientras que el factor de concentración es una función decreciente del volumen de espuma, es decir, la relación entre el factor de concentración y los volúmenes será inversamente proporcional. En este estudio se observó que el menor volumen obtenido (29.0 mL) estaba asociado al mayor factor de concentración (22.5), mientras que el mayor volumen (443.4 mL) tuvo un factor de 3.35, Figura 28.

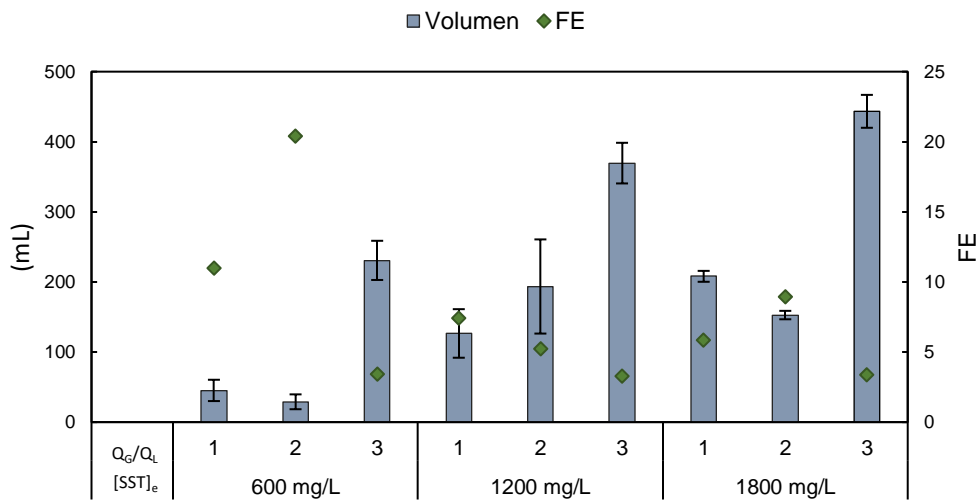


Figura 28. Relación entre volúmenes de cosechado y factores de enriquecimiento

Velásquez-Orta, et al. (2014), utilizando una columna de ozono-flotación tipo espumador, obtuvieron un factor de concentración de 47.8 y una eficiencia de cosecha de 75.4, con una dosis de $0.23 \text{ mg}_{\text{O}_3} \cdot \text{mg}_{\text{Biomasa}}^{-1}$ y una concentración menor de microalgas ($388.5 \pm 19.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). En la Tabla 12 se muestran otras investigaciones en donde el gas de dispersión utilizado es aire, y se hace uso de tensoactivos comerciales para la recuperación de microalgas. El uso de bio-tensoactivos, como las proetinas, pueden ser una alternativa que ayude a reducir costos del proceso de cosecha, sin necesidad de la adición de sustancias químicas. Las microalgas son fuentes de tensoactivos naturales, aunque es importante tener en mente que su producción estará en función de la especie, la edad y las condiciones del cultivo (Žutić et al., 1981).

Tabla 12. Comparación de factores de concentración obtenidos en estudios enfocados a la cosecha de microalgas

Microalga	Gas de dispersión	Medio de cultivo	Tensoactivo	Concentración de tensoactivo $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	Eficiencia de cosecha %	Factor de concentración -	Referencia
Cultivo mixto	Ozono	Agua residual	Proteína liberada	SD	78.8	3.4	Este estudio
Cultivo mixto	Ozono	Agua residual	Proteína liberada	SD	79.6	47.5	(Velásquez-Orta et al., 2014)
<i>Tetraselmis</i> sp. M8	Aire	f/2	DAH	25	97.4	11.4	(Garg et al., 2014)
<i>Tetraselmis</i> sp. M8	Aire	f/2	DN2 DPC	25	93.2	11	(Garg et al., 2015)
				15	99.0	23	
<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Anabaena vasriabilis</i>	Aire	BG-11	CTAB	50	90.1	3.1 – 10.2	(Hao et al., 2017)
		ASP-M			94.5		

SD Sin Determinar

La recuperación o volumen de agua en la sección del concentrado será el resultado de un proceso de transferencia en dos pasos. La transferencia de agua de la fase volumétrica a la fase espuma y la transferencia del agua de la espuma al colector. La espuma que no se logre recuperar en el concentrado regresará a la fase volumétrica mediante el proceso de drenaje, con la espuma colapsada o con la combinación de ambos fenómenos (Zheng et al., 2006). Se ha reportado que factores como la velocidad de flujo de gas, el tamaño de burbuja, la presencia de sólidos y de tensoactivos tendrán influencia en la cantidad de agua que ingrese a la espuma.

Respecto a la velocidad del flujo, una mayor velocidad en el ascenso favorecerá la coalescencia de las burbujas y el incremento en el tamaño de la burbuja hasta llegar a un diámetro final. En la práctica se busca que el diámetro final sea el diámetro estable que resulta del equilibrio entre la ruptura y la coalescencia (Coward et al., 2013; Schäfer et al., 2002).

Las burbujas de menor diámetro tendrán mayores tiempos de residencia en el reactor, además de favorecer la mayor saturación de la burbuja con los componentes a remover y proporcionar una mayor área superficial, lo que resultará en un aumento en la recuperación de agua, generando espuma caracterizada por su geometría esférica y mayor cantidad de líquido en las lamelas (Coward et al., 2013; Hoseinian et al., 2019). El tamaño de burbuja, desde su salida del difusor hasta llegar a la superficie, será influenciado por los tensoactivos presentes en el medio y la velocidad del flujo. De acuerdo a la ecuación de Young-Laplace ($\Delta P = \frac{2\sigma}{R}$), la disminución en la tensión superficial, propiciada por los tensoactivos presentes en el medio, se verá compensada con la reducción del diámetro de la burbuja.

La Figura 29 muestra el efecto de la concentración de los componentes presentes en la mezcla, en el abatimiento de la tensión superficial. Las muestras comenzaron con una tensión superficial de $54.03 \pm 1.75 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ y disminuyó hasta valores de $45.26 \pm 0.73 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$. Se puede observar que a pesar de que el incremento de biomasa inicial para cada bloque de experimentos implicó una mayor liberación de biomoléculas, esto no produjo un efecto significativo en la tensión superficial.

Valeriano González et al. (2016) reportan un abatimiento de la tensión superficial hasta $42.73 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ con una dosis de ozono de $0.14 \text{ mgO}_3 \cdot \text{mg}_{\text{Biomasa}}^{-1}$ y una concentración de proteína de $2500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, también observan que una mayor concentración de tensoactivos no producen efectos significativos en la tensión superficial. Es posible que debido a la ocupación total de la superficie por la presencia de las moléculas anfifílicas y la manifestación de fuerzas atractivas entre ellas, comience la formación de agregados moleculares, por lo que la adición de anfifilos ya no tiene efecto en la tensión superficial (García, 2018; Nagarajan and Ruckenstein, 1977; Novelo Torres and Gracia Fadrique, 2018b).

Uno de los factores que favorece la estabilidad de la espuma, es la presencia de tensoactivos. Estudios indican que estas moléculas anfifílicas reducen la coalescencia de las burbujas (Farrokhpay, 2011; Sobhy and Tao, 2013). También se ha reportado que la presencia de partículas sólidas ocasiona que los bordes del Plateau se vuelvan más estrechos y sus paredes más ásperas, lo que propicia un retraso en el drenaje del líquido (Wilson, 1989).

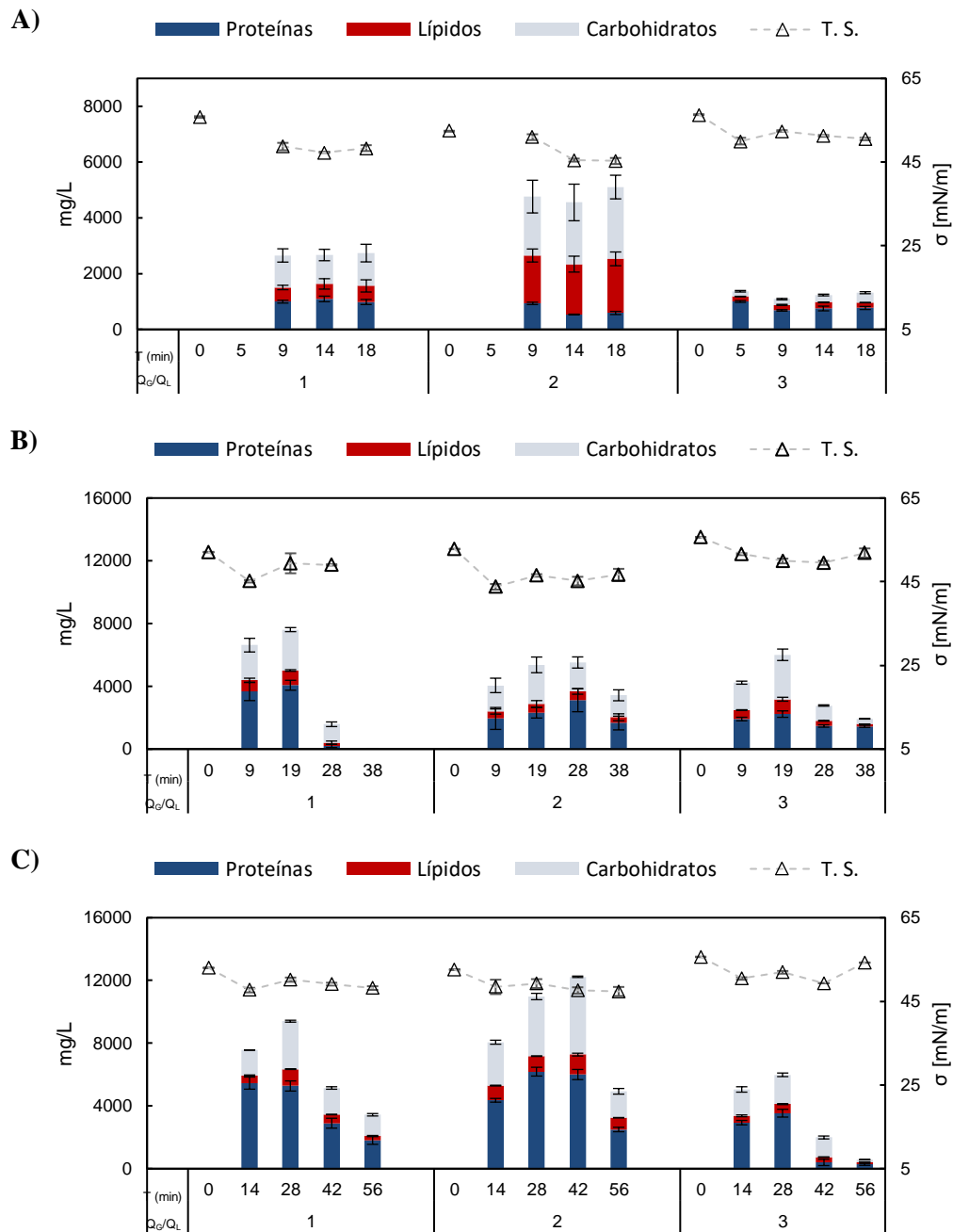


Figura 29. Abatimiento de la tensión superficial en función de las biomoléculas presentes en la espuma. Para los experimentos con concentraciones iniciales de 600 mg.L⁻¹ (A), 1200 mg.L⁻¹ (B) y 1800 mg.L⁻¹ (C)

Al cuantificar los volúmenes de cosechado obtenidos en cada experimento, se observa un incremento en la recuperación de agua con las relaciones de flujos igual a 3 (Figura 30). La menor cantidad de agua para $Q_G/Q_L=1$, se puede deber a que hay un mayor colapso de espuma como consecuencia de mayores velocidades de flujo ($U_M= 40.60 \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$), en comparación con las relaciones de flujo igual a tres, en donde la velocidad de flujo es $U_M= 27.20 \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$. De igual forma, se observa que para la mayoría de los casos, el volumen del recuperado aumenta de forma directa con la cantidad de proteína presente en el cosechado.

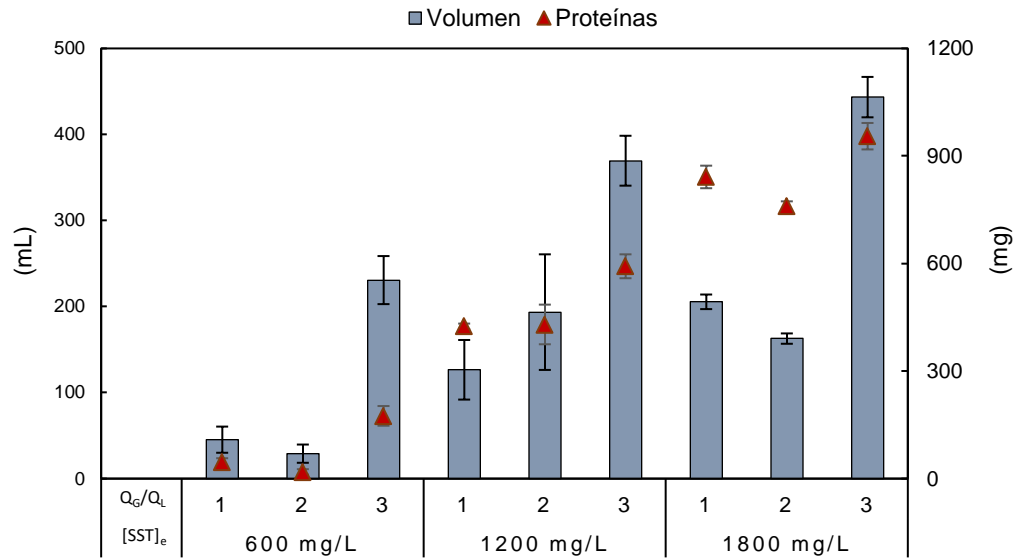


Figura 30. Relación entre los volúmenes de cosechado y la proteína total recuperada

4.4 Transferencia de masa

Se realizó el análisis estadístico para la variable de respuesta transferencia de masa de ozono (ET). Los datos del análisis de varianza (Tabla 13), indican que el efecto de la concentración inicial de biomasa (factor A) tuvo diferencias significativas en la transferencia de ozono (valor $p < 0.05$).

Tabla 13. Importancia experimental de las variables estudiadas de acuerdo al análisis de varianza.

Factor/ Interacción	Transferencia de masa	
	Relación F	Valor P
A: [SST] _e	133.99	0.000
B: Q _G /Q _L	48.32	0.113
AB	2.85	0.072

Como se mencionó en el apartado de metodología, las condiciones evaluadas de acuerdo a los criterios del diseño original en este estudio, no permitieron analizar el efecto del mezclado en la transferencia de masa. Se observa en la Figura 31 que el número de Reynolds, asociado a cada una de las velocidades, se encuentra en la región de flujo laminar.

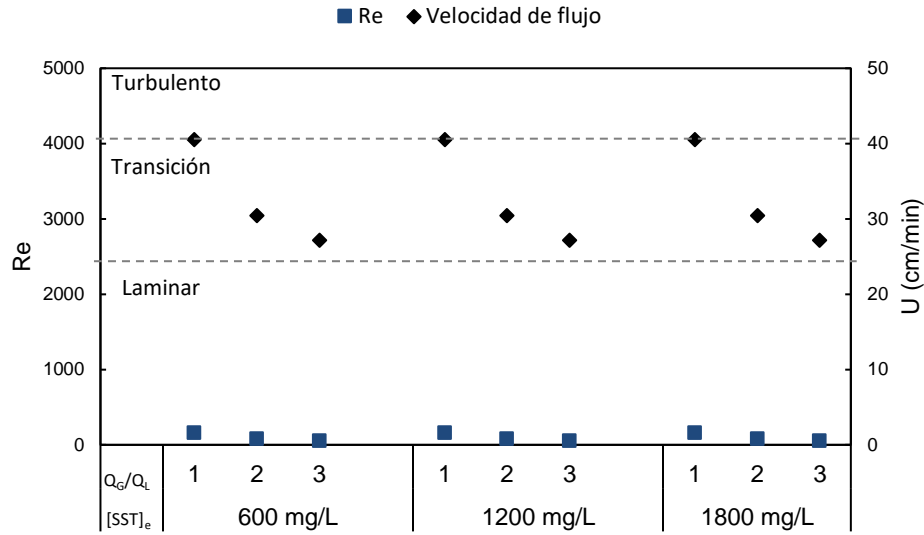


Figura 31. Velocidades de los flujos para cada condición experimental asociadas al número de Reynolds

En la Figura 32 se observan las concentraciones de ozono (de entrada, transferidas, de salida y residuales) obtenidas en cada condición experimental. Las concentraciones de ozono transferidas estuvieron en un rango de 9.00 a 13.69 mg_{O₃}.L⁻¹, las mayores transferencias se obtuvieron en el bloque de experimentos con la mayor concentración de biomasa inicial (1800 mg.L⁻¹).

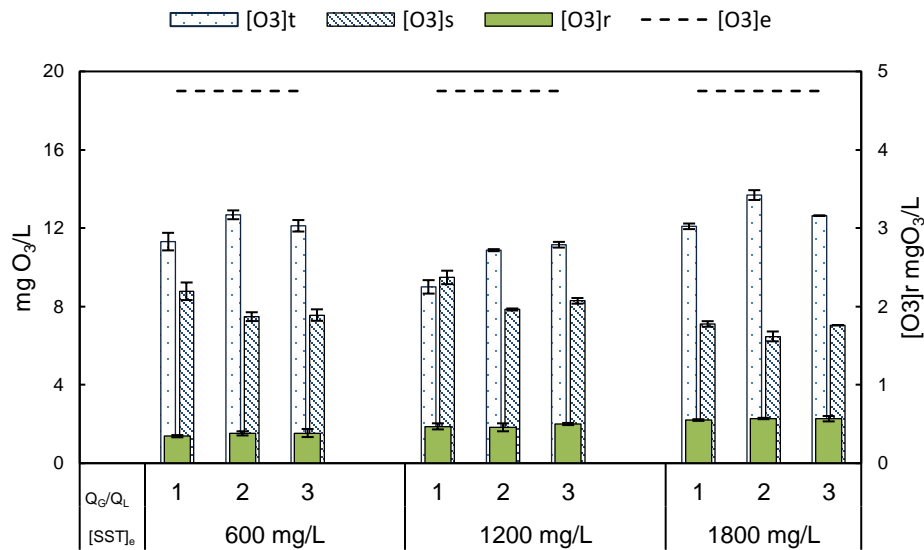


Figura 32. Concentraciones de ozono cuantificadas en cada condición experimental

Estudios previos han reportado que la transferencia de masa es favorecida con la presencia de reacciones químicas entre el ozono y los compuestos orgánicos presentes en el agua (Beltrán et al., 1995; Rajalo et al., 2001; Zhou and Smith, 2000, 1997). Zhou y Smith (1997) proponen dos regímenes cinéticos para la absorción del ozono en presencia de reacción química. Se tendrá un régimen cinético lento cuando las reacciones químicas del

ozono den como resultado solo una disminución de la concentración de ozono disuelto en el seno del líquido. A medida que se de un aumento en la velocidad de las reacciones químicas (relacionado con mayor presencia de materia orgánica), la transferencia de masa de ozono puede cambiar al régimen cinético rápido o instantáneo en el cual, el ozono disuelto se agota completamente dentro de la película líquida al lado de la interfase gas-líquido. Lo anterior podría explicar porque se obtuvo una mayor transferencia de masa cuando se utilizó la mayor concentración de biomasa inicial en los experimentos.

El ozono residual cuantificado al finalizar la prueba se encontró en un rango de 0.34 y 0.57 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. En la Figura 33 se muestra que con el incremento del tiempo de contacto y la dosis de ozono transferido, se presenta una mayor concentración de ozono residual. De acuerdo con lo citado en la literatura, el ozono podrá reaccionar de dos formas: reacción directa o indirecta. La reacción directa se da a través del ozono molecular, siendo un mecanismo de reacción selectiva debido a que reacciona rápidamente con materia orgánica que contiene enlaces dobles, grupos aromáticos activados o aminas. Mientras que la forma indirecta, se basa en las reacciones por radicales libres, caracterizados por ser especies químicas de corta vida y poseer un poder de oxidación mayor que el del ozono (Langlais et al., 1991). Durante los primeros minutos del proceso no habría presencia de ozono residual en el líquido porque está reaccionando con la materia orgánica. Cuando la concentración de materia a oxidar en el agua disminuye, la demanda de ozono también disminuirá, y por lo tanto aumentará la concentración de ozono residual hasta llegar al equilibrio.

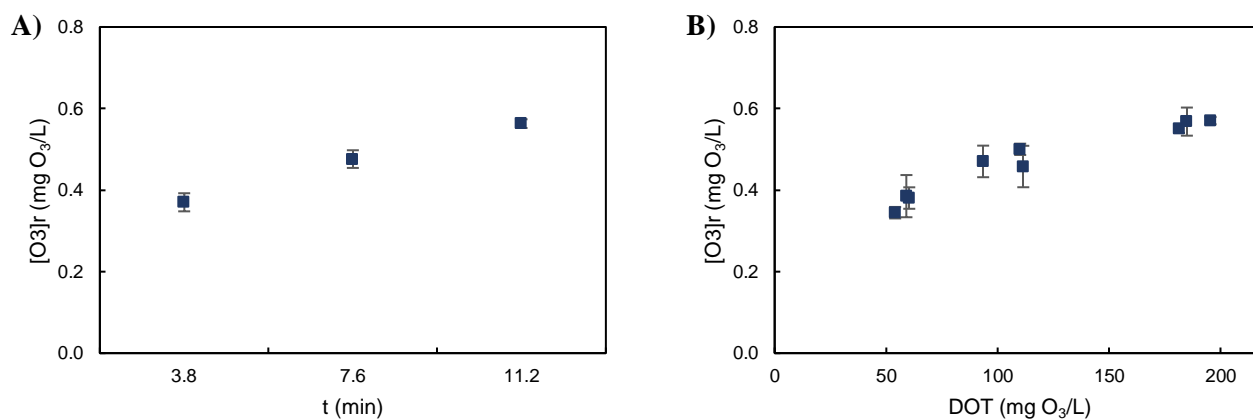


Figura 33. Concentración de ozono residual en función del tiempo y de la dosis de ozono transferida

A pesar de que el factor “relación de flujos” no indica diferencias significativas en la transferencia, en la Figura 34 se observa que las eficiencias más bajas en cada bloque de concentración de biomasa inicial, se encontraron en las relaciones de flujos $Q_G/Q_L=1$, es decir, las velocidades de flujos más altas. Se ha reportado que los principales factores que afectan la transferencia de ozono son la velocidad de ascenso, el diámetro de la burbuja, la calidad del agua. Mayores velocidades de ascenso se relacionan con menor transferencia debido a que es menor el tiempo en el que podrá reaccionar el ozono con el medio. Menores

diámetros de burbuja implican mayores áreas de contacto y mayores tiempos de residencia, como ya se explicó en secciones anteriores, altas velocidades de ascenso también influyen en la coalescencia de las burbujas, incrementando su diámetro (Alves-Oliveira et al., 2019; Zhou and Smith, 2000).

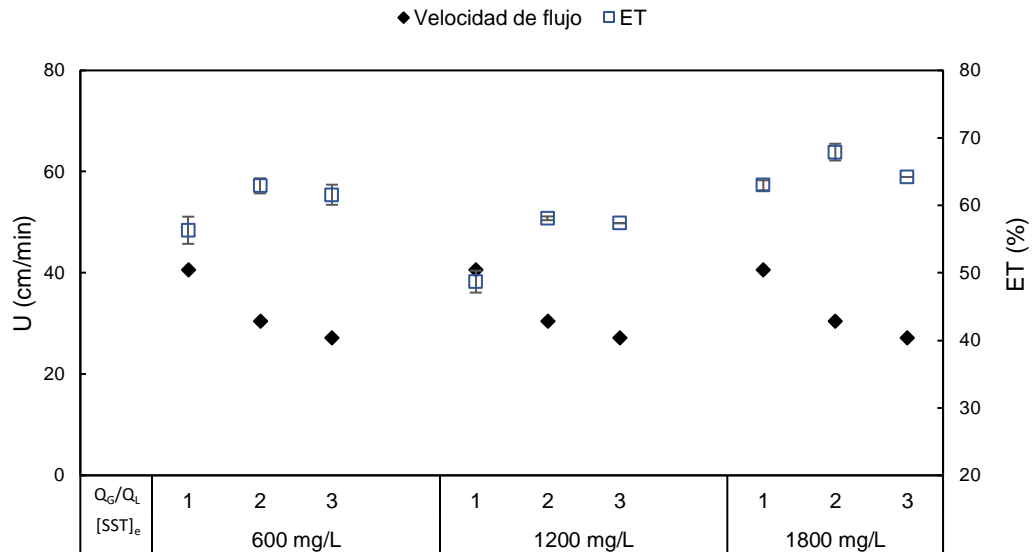


Figura 34. Relación entre la transferencia de masa obtenida en cada experimento y la velocidad de flujo

En la Tabla 14, se muestran los resultados obtenidos en este estudio y se comparan con otras investigaciones enfocadas en la cosecha de microalgas mediante ozono-flotación. Es importante mencionar que en los estudios citados, el medio de cultivo también fue agua residual.

Tabla 14. Casos de estudio enfocados a la recuperación de microalgas utilizando la ozono-flotación como método de cosecha (1/2)

Suspensión de microalgas	Condiciones de operación	Efecto resultante			Referencia	
		Cosechado (%)	Transferencia (%)	Rendimiento		
Cultivo mixto	[SST] _e : 1200 y 1800 mgSST L ⁻¹			7.6	mgBiomasa · mg _{O₃} ⁻¹	Este estudio
	DO: 0.16 mgO ₃ · mg _{Biomasa} ⁻¹			2.83	mgProteína · mg _{O₃} ⁻¹	
	[O ₃] _e : 19 mg · L ⁻¹	SST:	78.8	0.63	mgLípidos · mg _{O₃} ⁻¹	
	Q _G : 0.5 L · min ⁻¹	Proteínas:	74.5	1.84	mgCarbohidratos · mg _{O₃} ⁻¹	
	Q _L : 0.17 L · min ⁻¹	Lípidos:	79.4			
	Vol: 1.9 L	Carbohidratos:	72.3	0.42**	mgProteína · mg _{Biomasa} ⁻¹	
			0.1**	mgLípidos · mg _{Biomasa} ⁻¹		
			0.31**	mgCarbohidratos · mg _{Biomasa} ⁻¹		
Cultivo mixto	[SST] _e : 419 mgSST L ⁻¹					(Velasquez-Orta et al., 2014)
	DO: 0.23 mgO ₃ · mg _{Biomasa} ⁻¹	SST:	79.6			
	[O ₃] _e : 45 mg · L ⁻¹	Proteínas:	-	3.5*	mgBiomasa · mg _{O₃} ⁻¹	
	Q _G : 0.4 L · min ⁻¹	Lípidos:	12	0.3*	mgLípidos · mg _{O₃} ⁻¹	
	Q _L : -	Carbohidratos:	-			
Cultivo mixto	[SST] _e : 400 mgSST L ⁻¹					(Valeriano González et al., 2016)
	DO: 0.14 mgO ₃ · mg _{Biomasa} ⁻¹	SST:	75			
	[O ₃] _e : 7.5 mg · L ⁻¹	Proteínas:	-	8	mgBiomasa · mg _{O₃} ⁻¹	
	Q _G : 0.2 L/min	Lípidos:	16	1.25	mgLípidos · mg _{O₃} ⁻¹	
	Q _L : -	Carbohidratos:	-			
<i>Scenedesmus</i> sp.	[SST] _e : 1200 mgSST L ⁻¹					(Alves Oliveira et al., 2018)
	DO: 0.14 mgO ₃ · mg _{Biomasa} ⁻¹	SST:	62	0.58	mgProteína · mg _{Biomasa} ⁻¹	
	[O ₃] _e : 9.8 mg · L ⁻¹	Proteínas:	58	0.32	mgLípidos · mg _{Biomasa} ⁻¹	
	Q _G : 0.6 L · min ⁻¹	Lípidos:	32	0.33	mgCarbohidratos · mg _{Biomasa} ⁻¹	
	Q _L : -	Carbohidratos:	33			
Vol: 1 L						

Continuación Tabla 14. Casos de estudio enfocados a la recuperación de microalgas utilizando la ozono-flotación como método de cosecha (2/2)

Suspensión de microalgas	Condiciones de operación	Efecto resultante			Referencia		
		Cosechado (%)	Transferencia (%)	Rendimiento			
<i>Scenedesmus</i> sp.	[SST] _e : 500 mgSST L ⁻¹	SST:	88.5	79	7* 0.57	mg _{Biomasa} · mg _{O₃} ⁻¹ mg _{Proteína} · mg _{Biomasa} ⁻¹	(Alves-Oliveira et al., 2019)
	DO: 0.16 mg _{O₃} · mg _{Biomasa} ⁻¹	Proteínas:	40				
	[O ₃] _e : 6.67 mg · L ⁻¹	Lípidos:	-				
	Q _G : 0.6 L · min ⁻¹	Carbohidratos:	-				
	Q _L : -						
Cultivo mixto	Vol: 1 L			87.5	5.16*	mg _{Biomasa} · mg _{O₃} ⁻¹	(Aranda, 2019)
	[SST] _e : 400 mgSST L ⁻¹	SST:	68.9				
	DO: 0.14 mg _{O₃} · mg _{Biomasa} ⁻¹	Proteínas:	21				
	[O ₃] _e : 20.9 mg L ⁻¹	Lípidos:	-				
	Q _G : 0.2 L · min ⁻¹	Carbohidratos:	73				
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Q _L : -			80	0.5 0.18 0.14	mg _{Proteína} · mg _{Biomasa} ⁻¹ mg _{Lípidos} · mg _{Biomasa} ⁻¹ mg _{Carbohidratos} · mg _{Biomasa} ⁻¹	(Valeriano González et al., 2020)
	Vol: 1 L						
	[SST] _e : 750 mgSST L ⁻¹	SST:	95-100				
	DO: 0.09-0.16 mg _{O₃} · mg _{Biomasa} ⁻¹	Proteínas:	-				
	[O ₃] _e : 13-25 mg · L ⁻¹	Lípidos:	> 25				
Q _G : 0.6 L · min ⁻¹	Carbohidratos:	-					
Q _L : -							
Vol: 1 L							

*Datos calculados a partir de lo reportado por los autores

**Datos reportados con el máximo rendimiento calculado y no pertenecen a la misma condición experimental

4.5 Comportamiento de la presión superficial en función de la composición

Las muestras analizadas se tomaron en tres intervalos de tiempo durante la prueba de ozono-flotación y se realizó la cuantificación de biomoléculas recuperadas en la espuma, las concentraciones obtenidas se observan en la Figura 35.

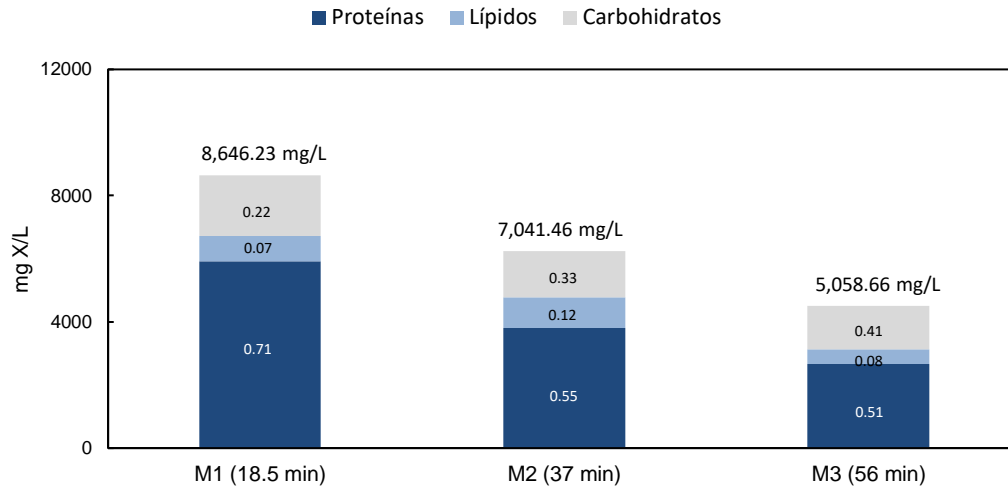


Figura 35. Concentración de proteínas, lípidos y carbohidratos en las muestras a analizar

En la Figura 36 se muestra el comportamiento superficial del conjunto de componentes presentes en la mezcla del cosechado a diferentes tiempos del proceso. Las tres muestras se ajustaron al modelo de Langmuir y de acuerdo a los datos mostrados en la Tabla 15, tienen un parámetro de reparto o hidrofóbico (β) con magnitudes de 10^1 a 10^2 , dichas magnitudes son menores al rango reportado para tensoactivos (10^4 a 10^7). Los valores obtenidos para el parámetro hidrofóbico, podrían indicar la presencia de interacciones antagónicas entre las distintas moléculas que conforman la muestra, pudiendo interferir en el efecto que tienen otros componentes presentes en la superficie.

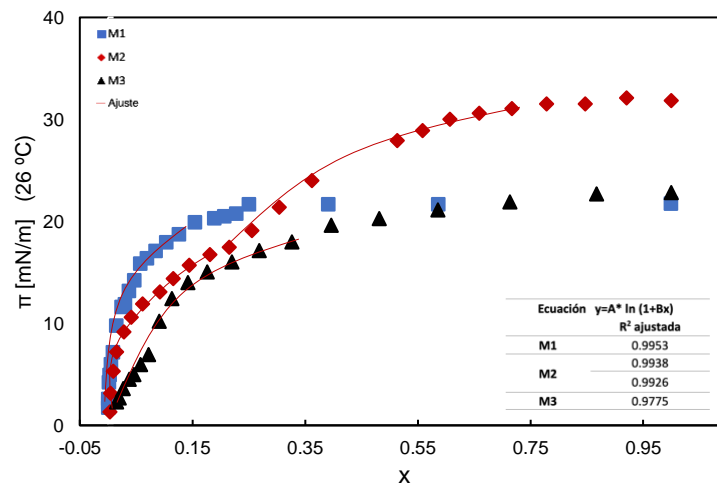


Figura 36. Presión superficial en función de la fracción masa de los componentes presentes en el cosechado. Ajuste al modelo de Langmuir con $A = \Gamma_s RT$ y $B = \beta$

Se ha reportado la disminución de la presión superficial por la presencia de lípidos; dicha disminución es mayor conforme aumenta la cantidad de lípidos adsorbidos en la interfase. Este comportamiento se atribuye a la inestabilidad de la monocapa formada por el diacildigalactosilglicerol, uno de los principales lípidos presentes en la membrana fotosintética de plantas y algas (Chronakis et al., 2000).

Tabla 15. Parámetros de la ecuación superficial de Langmuir

Muestra	$\Gamma_s RT$	β	π
M1	4.21 ± 0.11	640.13 ± 63.23	22
M2	4.31 ± 0.17	251.23 ± 32.46	16
M3	14.47 ± 0.74	11.16 ± 1.24	15
M3	9.53 ± 1.02	18.99 ± 3.95	22

En la Figura 36 también se observa que para la muestra 2, hay una región de saturación intermedia, representada por la inflexión en la curva. Este comportamiento ya se ha reportado con otras moléculas anfifílicas, en donde se observan discontinuidades en las isothermas antes de alcanzar la CMC final y se atribuye a cambios en el patrón de agregación a medida que aumenta su concentración (O'Connor et al., 1983; Pabois et al., 2019).

La disminución en el valor del parámetro β señala un decremento en las regiones hidrofóbicas de los compuestos presentes en el cosechado. Esto nos indica que a mayores tiempos de exposición al ozono, se ven afectadas las zonas hidrófobas de las moléculas. De acuerdo con Roshchina y Roshchina (2003), el ozono al reaccionar con los lípidos de cadena insaturada, se forman ozónidos y posteriormente radicales libres. Los radicales libres pueden iniciar el proceso de peroxidación lipídica, obteniendo malondialdehído, hidrocarburos y aldehídos. Se ha descrito que los cambios en la estructura del anfifilo tienen influencia en la CMC, la cual tiende a aumentar con la disminución de la cadena de hidrocarburos del anfifilo (Lyon, 2002; Thomaier, 2009).

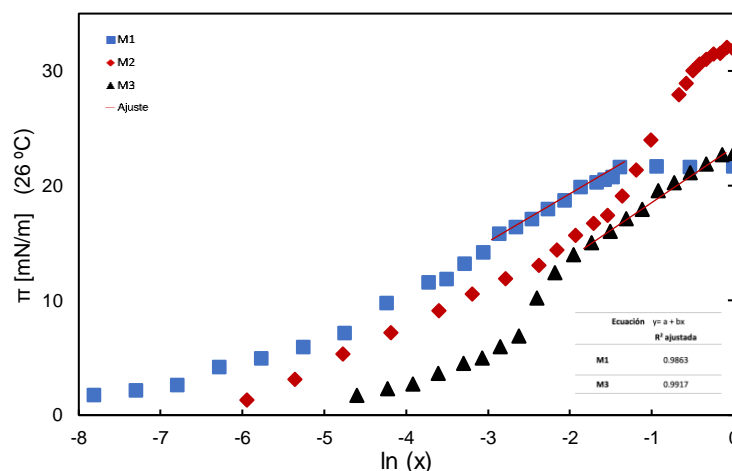


Figura 37. Presión superficial en función del logaritmo natural de la fracción masa de los componentes presentes en el cosechado. Ajuste de la ecuación de adsorción de Gibbs integrada, la ordenada es $\pi_s - \Gamma_s RT \ln(x_{CMC})$ y la pendiente es $\Gamma_s RT$

De acuerdo al ajuste de la ecuación de adsorción de Gibbs integrada (Figura 37), se observa que el aumento de la concentración (x) causa un aumento en la presión (π) hasta llegar a un punto de inflexión. En el caso de los tensoactivos, la inflexión corresponde a la concentración micelar crítica.

A partir de los datos obtenidos del modelo de adsorción de Gibbs integrada (Tabla 16), se calculó la concentración micelar crítica para las muestras M1 y M3. Los resultados indican que para la muestra 1 es necesaria una concentración de anfifilos de 534.72 mg.L^{-1} para saturar la superficie y comenzar un proceso de agregación, mientras que para la muestra 3 es necesaria una concentración de $1542.45 \text{ mg.L}^{-1}$. Valeriano González et al. (2016) indican que a partir de proteínas de microalgas se obtiene una CMC de $550 \pm 17 \text{ mg.L}^{-1}$. La eficiencia del tensoactivo estará relacionada con una baja concentración micelar, debido a que con menor cantidad del agente tensoactivo se podrá lograr el mayor abatimiento de la tensión superficial. Se ha reportado que la CMC de algunos biosurfactantes obtenidos de bacterias y hongos generalmente varía de 1 a 200 mg.L^{-1} (Lang and Wagner, 1987; Mulligan, 2005).

Tabla 16. Parámetros de la ecuación superficial de Gibbs

Muestra	$\Gamma_s RT$	$\pi_s - \Gamma_s RT \ln(x_{CMC})$	π
M1	3.85 ± 0.15	26.702 ± 0.33	22
M3	4.93 ± 0.16	23.666 ± 0.17	22

Otra alternativa para calcular la CMC es utilizando la ecuación de Volmer para la región saturada. Como se observa en la Figura 38, solo la muestra M1 se ajustó al modelo con un R^2 de 0.985; con este modelo se obtuvo que con una concentración de 530.33 mg.L^{-1} de anfifilos se llega a la presión máxima de saturación. El valor obtenido de CMC es muy cercano al calculado con la ecuación de adsorción de Gibbs integrada.

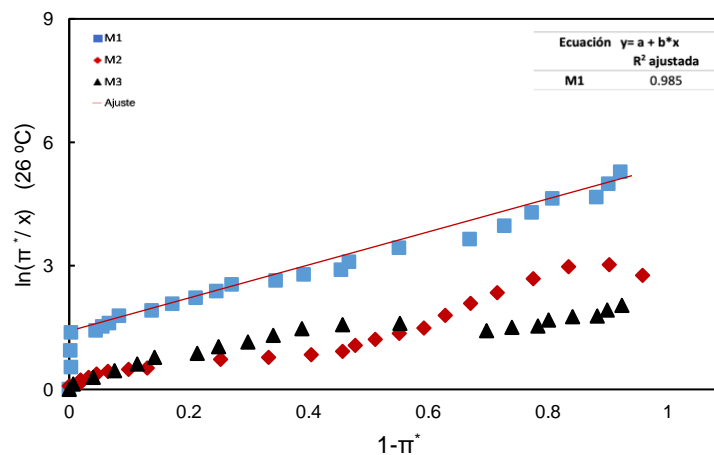


Figura 38. Logaritmo natural del cociente de la presión reducida y la fracción mol del soluto contra uno menos la presión superficial reducida. Ajuste a la ecuación de Volmer en donde la recta con ordenada al origen será $-\ln x_{CMC}$ y pendiente z^0

Capítulo 5

Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

Se establecieron las condiciones de operación para el reactor prototipo de ozono-flotación a escala laboratorio, obteniendo porcentajes de recuperación de biomasa y productos de valor agregado superiores al 70%. Aún cuando no se replicaron las condiciones de operación de diseño en la escala laboratorio, los resultados obtenidos con el reactor prototipo, fueron similares o superiores, para el caso de proteínas y lípidos, a los reportados en columnas de ozono-flotación tipo espumador. Con esto, se posiciona como un sistema factible para la cosecha de biomasa de microalgas.

- Se llevó a cabo la implementación y la operación en lote del reactor prototipo a escala laboratorio, para llevar a cabo la cosecha de biomasa microalgal y compuestos de interés, mediante el proceso de ozono-flotación con resultados satisfactorios.
- Bajo las mejores condiciones de operación (dosis de ozono de $0.16 \text{ mg}_{\text{O}_3} \cdot \text{mg}_{\text{Biomasa}}^{-1}$, $Q_G/Q_L=3$ y $[\text{O}_3]_e=19 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), se recuperaron 79% de biomasa, 74% de proteínas, 79% de lípidos y 72% de carbohidratos.
- A pesar de que no se estableció una condición única óptima que permitiera obtener los mayores rendimientos de biomasa y compuestos de interés, así como el mayor factor de concentración y transferencia de masa, se concluye que la relación de flujo $Q_G/Q_L=3$ (asociada a la velocidad superficial más baja de flujo), resulto ser la más conveniente para obtener los mayores porcentajes de recuperación.
- De los resultados obtenidos para la transferencia de masa, se concluye que mayores concentraciones de biomasa favorecen la eficiencia de transferencia; en cambio, altas velocidades de flujo impactan negativamente.
- El análisis de la tensión superficial respecto a la composición de los componentes de interés en el cosechado (carbohidratos, lípidos y proteínas), reveló que las muestras analizadas tienen un parámetro hidrofóbico (β) que se encuentran en el intervalo de 11 a 641; valores bajos comparados a los de un tensoactivo puro ($10^4 < \beta < 10^7$).
- Un mayor tiempo de exposición al ozono puede propiciar un decremento en el carácter hidrofóbico de los compuestos de interés, afectando su migración a la interfase y por lo tanto su recuperación, aunado a la posible presencia de interacciones antagónicas entre los tensoactivos y el resto de los elementos presentes en la mezcla.

5.2 Recomendaciones

Con base en los resultados obtenidos y la experiencia adquirida durante la elaboración de este trabajo se mencionan algunas propuestas a implementar en futuros estudios.

- Analizar el sistema considerando el uso de ozono y aire como gases de dispersión. Valeriano González (2018) reporta que al utilizar ozono para desestabilizar las microalgas y liberar proteínas, seguido de flotación con aire, es posible obtener el mismo rendimiento de biomasa cosechada con una dosis de ozono 35% menor en comparación con la ozono-flotación convencional.
- La desventaja que presenta el actual diseño del reactor, es la cercanía de alturas entre la salida de agua y la salida de espuma, siendo un posible factor adicional de la obtención de mayores volúmenes de cosechado en comparación con las columnas de ozono-flotación. Por lo cual se recomienda que en futuros escalamientos se considere una mayor diferencia de alturas entre las salidas antes mencionadas.
- Implementar la operación del reactor en modo continuo con la finalidad de acoplar esta tecnología a una planta de tratamiento de aguas residuales.
- Estimar el consumo energético de este sistema con la finalidad de comparar con lo reportado para columnas de ozono-flotación y otros métodos de cosecha.

Referencias Bibliográficas

- Alanis-García, M.A., Gracia-Fadrique, J., 2018. Ecuación de estado superficial de Volmer líquidos simples y tensoactivos. *Educ. Química* 29, 36. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2018.1.63704>
- Álvarez, C., 2009. Biocombustibles: desarrollo histórico-tecnológico, mercados actuales y comercio internacional. *Econ. Inf.* 63–89.
- Alves-Oliveira, G., Monje-Ramirez, I., Carissimi, E., Rodrigues, R.T., Velasquez-Orta, S.B., Mejía, A.C.C., Orta Ledesma, M.T., 2019. The effect of bubble size distribution on the release of microalgae proteins by ozone-flotation. *Sep. Purif. Technol.* 211, 340–347. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.10.005>
- Alves Oliveira, G., Carissimi, E., Monje-Ramírez, I., Velasquez-Orta, S.B., Rodrigues, R.T., Ledesma, M.T.O., 2018. Comparison between coagulation-flocculation and ozone-flotation for *Scenedesmus* microalgal biomolecule recovery and nutrient removal from wastewater in a high-rate algal pond. *Bioresour. Technol.* 259, 334–342. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.072>
- APHA-AWWA-WPCF, 1992. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Madrid.
- Aranda, C., 2019. Cosecha de biomasa microalgal mediante un proceso continuo de ozonoflotación en un reactor tipo espumador (Tesis de maestría). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Awad, M.M., 2012. Two-phase flow, in: Kazi, M.S.N. (Ed.), *An Overview of Heat Transfer Phenomena*. IntechOpen, Rijeka, Croatia, pp. 251–340. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.12.014>
- Bader, H., Hoigné, J., 1981. Determination of ozone in water by the indigo method. *Water Res.* 15, 449–456. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(81\)90054-3](https://doi.org/10.1016/0043-1354(81)90054-3)
- Barnes, H., Blackstock, J., 1973. Estimation of lipids in marine animals and tissues: Detailed investigation of the sulphophosphovainillin method for “total” lipids. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 12, 103–118.
- Beach, E.S., Eckelman, M.J., Cui, Z., Brentner, L., Zimmerman, J.B., 2012. Preferential technological and life cycle environmental performance of chitosan flocculation for harvesting of the green algae *Neochloris oleoabundans*. *Bioresour. Technol.* 121, 445–449. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.06.012>
- Beltrán, F.J., Encinar, J.M., García-Araya, J.F., Muñoz, M.G., 1995. Modelling industrial wastewater ozonation in bubble contactors. 1. Rate coefficient determination. *Ozone Sci. Eng.* 17, 355–378. <https://doi.org/10.1080/01919519508547344>
- 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 30, 245–257.
- Betzer, N., Argaman, Y., Kott, Y., 1980. Effluent treatment and algae recovery by ozone-induced flotation. *Water Res.* 14, 1003–1009. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(80\)90144-X](https://doi.org/10.1016/0043-1354(80)90144-X)
- Bhakta, A., Ruckenstein, E., 1997. Decay of standing foams: drainage, coalescence and collapse. *Adv. Colloid Interface Sci.* 70, 1–124. [https://doi.org/10.1016/s0001-8686\(97\)00031-6](https://doi.org/10.1016/s0001-8686(97)00031-6)

- Bilad, M.R., Vandamme, D., Foubert, I., Muylaert, K., Vankelecom, I.F.J., 2012. Harvesting microalgal biomass using submerged microfiltration membranes. *Bioresour. Technol.* 111, 343–352. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.009>
- Biñ, A., 2006. Ozone solubility in liquids. *Ozone Sci. Eng.* 28, 67–75. <https://doi.org/10.1080/01919510600558635>
- Bin, A.K., Roustan, M., 2000. Mass transfer in ozone reactors, in: *Fundamental and Engineering Concepts for Ozone Reactor Design*. Toulouse, pp. 1–33.
- Birdsall, C.M., Jenkins, A.C., Spandinger, E., 1952. Iodometric determination of ozone. *Anal. Chem.* 24, 662–664. <https://doi.org/10.1021/ac60064a013>
- Bourbigot, M.-M., Faivre, M., 1986. Dispositif de transfert de gaz et flottation dans le traitement d'eau a epurer. FR2600323B1.
- Buwa, V. V., Ranade, V. V., 2002. Dynamics of gas-liquid flow in a rectangular bubble column: experiments and single/multi-group CFD simulations. *Chem. Eng. Sci.* 57, 4715–4736. [https://doi.org/10.1016/S0009-2509\(02\)00274-9](https://doi.org/10.1016/S0009-2509(02)00274-9)
- Buzzacchi, M., Schmiedel, P., Von Rybinski, W., 2006. Dynamic surface tension of surfactant systems and its relation to foam formation and liquid film drainage on solid surfaces. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 273, 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2005.06.074>
- Cantat, I., Cohen-Addad, S., Florence, E., Graner, F., 2013. *Foams: structure and dynamics*. Oxford University Press.
- Cardeña, R., Moreno, G., Bakonyi, P., Buitrón, G., 2017. Enhancement of methane production from various microalgae cultures via novel ozonation pretreatment. *Chem. Eng. J.* 307, 948–954. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.09.016>
- Cheng, Y., Juang, Y., Liao, G., Tsai, P., Ho, S., Yeh, K., 2011. Harvesting of *Scenedesmus obliquus* FSP-3 using dispersed ozone flotation. *Bioresour. Technol.* 102, 82–87. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.04.083>
- Cheng, Y.L., Juang, Y.C., Liao, G.Y., Ho, S.H., Yeh, K.L., Chen, C.Y., Chang, J.S., Liu, J.C., Lee, D.J., 2010a. Dispersed ozone flotation of *Chlorella vulgaris*. *Bioresour. Technol.* 101, 9092–9096. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.016>
- Cheng, Y.L., Juang, Y.C., Liao, G.Y., Ho, S.H., Yeh, K.L., Chen, C.Y., Chang, J.S., Liu, J.C., Lee, D.J., 2010b. Dispersed ozone flotation of *Chlorella vulgaris*. *Bioresour. Technol.* 101, 9092–9096. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.016>
- Chisti, M.Y., 1989. *Airlift Bioreactors*, First. ed. Elsevier Applied Science, London.
- Chisti, Y., 2008. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends Biotechnol.* 26, 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.12.002>
- Chronakis, I.S., Galatanu, A.N., Nylander, T., Lindman, B., 2000. The behaviour of protein preparations from blue-green algae (*Spirulina platensis* strain Pacifica) at the air/water interface. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 173, 181–192. [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(00\)00548-3](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(00)00548-3)
- Conesa, J.A., Font, R., 2001. *Reactores heterogéneos*. Publicaciones, Universidad de Alicante, Alicante.
- Coward, T., Lee, J.G.M., Caldwell, G.S., 2015. The effect of bubble size on the efficiency and economics of harvesting microalgae by foam flotation. *J. Appl. Phycol.* 27, 733–742. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0384-5>
- Coward, T., Lee, J.G.M., Caldwell, G.S., 2014. Harvesting microalgae by CTAB-aided foam flotation increases lipid recovery and improves fatty acid methyl ester characteristics. *Biomass and Bioenergy* 67, 354–362. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.05.019>

-
- Coward, T., Lee, J.G.M., Caldwell, G.S., 2013. Development of a foam flotation system for harvesting microalgae biomass. *ALGAL* 2, 135–144. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2012.12.001>
- Csordas, A., Wang, J.K., 2004. An integrated photobioreactor and foam fractionation unit for the growth and harvest of *Chaetoceros* spp. in open systems. *Aquac. Eng.* 30, 15–30. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2003.07.001>
- Damodaran, S., 2006. Protein stabilization of emulsions and foams. *J. Food Sci.* 70, 54–66.
- de Farias Silva, C.E., Meneghello, D., Bertucco, A., 2018. A systematic study regarding hydrolysis and ethanol fermentation from microalgal biomass. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 14, 172–182. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.02.016>
- Degaleesan, S., Dudukovic, M., Pan, Y., 2004. Experimental study of gas-induced liquid-flow structures in bubble columns. *Fluid Mech. Transp. Phenom.* 47, 1913–1931.
- Derjaguin, B. V., Dukhin, S.S., 1993. Theory of flotation of small and medium-size particles. *Prog. Surf. Sci.* 43, 241–266. [https://doi.org/10.1016/0079-6816\(93\)90034-S](https://doi.org/10.1016/0079-6816(93)90034-S)
- Dhotre, M.T., Ekambara, K., Joshi, J.B., 2004. CFD simulation of sparger design and height to diameter ratio on gas hold-up profiles in bubble column reactors. *Exp. Therm. Fluid Sci.* 28, 407–421. <https://doi.org/10.1016/j.expthermflusci.2003.06.001>
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28, 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Edzwald, J.K., 2010. Dissolved air flotation and me. *Water Res.* 44, 2077–2106. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.12.040>
- Exerowa, D., Kruglyakov, P., 1998. Foam and foam films. Theory, experiment, application. Elsevier Ltd. [https://doi.org/10.1016/S1383-7303\(13\)60003-4](https://doi.org/10.1016/S1383-7303(13)60003-4)
- Farrokhpay, S., 2011. The significance of froth stability in mineral flotation - A review. *Adv. Colloid Interface Sci.* 166, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2011.03.001>
- Flotats, X., Bonmati, A., 2011. Inventory of manure processing activities in Europe. Technical report no. 1 to the European Commission. Tjele.
- Fournier, P.A., 2015. Obtención de biomasa microalgal y remoción de nutrientes de aguas residuales mediante el cultivo de microalgas (*Desmodesmus* sp. y *Scenedesmus* sp) con potencial uso en la producción de biocombustibles (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México.
- García, A.A., 2018. Remoción de compuestos con actividad superficial por rectificación en espuma en medio acuoso: orina humana (Tesis de maestría). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Garg, S., Li, Y., Wang, L., Schenk, P.M., 2012. Flotation of marine microalgae: Effect of algal hydrophobicity. *Bioresour. Technol.* 121, 471–474. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.06.111>
- Garg, S., Wang, L., Schenk, P.M., 2015. Flotation separation of marine microalgae from aqueous medium. *Sep. Purif. Technol.* 156, 636–641. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.10.059>
- Garg, S., Wang, L., Schenk, P.M., 2014. Effective harvesting of low surface-hydrophobicity microalgae by froth flotation. *Bioresour. Technol.* 159, 437–441. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.030>
- Garibay-Hernández, A., 2009. Biodiesel a partir de microalgas. *BioTecnología* 13, 38–61.
- Garret, P.R., 2014. The science of defoaming. Theory, experiment and applications. Taylor

- & Francis Group, LLC.
- Gerardo, M.L., Van Den Hende, S., Vervaeren, H., Coward, T., Skill, S.C., 2015. Harvesting of microalgae within a biorefinery approach: A review of the developments and case studies from pilot-plants. *Algal Res.* 11, 248–262. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.06.019>
- Germain, J.C., Aguilera, J.M., 2014. Multi-scale properties of protein-stabilized foams. *Food Struct.* 1, 55–70. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2014.01.001>
- Gornall, A.G., Bardawill, C.J., David, M.M., 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 177, 751–766.
- Graça, C.A.L., Lima, R.B., Pereira, M.F.R., Silva, A.M.T., Ferreira, A., 2020. Intensification of the ozone-water mass transfer in an oscillatory flow reactor with innovative design of periodic constrictions: Optimization and application in ozonation water treatment. *Chem. Eng. J.* 389, 124412. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.124412>
- Hao, W., Yanpeng, L., Zhou, S., Xiangying, R., Wenjun, Z., Jun, L., 2017. Surface characteristics of microalgae and their effects on harvesting performance by air flotation. *Int. J. Agric. Biol. Eng.* 10, 125–133. <https://doi.org/10.3965/j.ijabe.20171001.2698>
- Hernández, A., 2017. Efecto de las condiciones de cultivo en la composición bioquímica y producción de biomasa de un consorcio de microalgas cultivadas en agua residual (Tesis de maestría). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hoseinian, F.S., Rezai, B., Safari, M., Deglon, D., Kowsari, E., 2019. Effect of hydrodynamic parameters on nickel removal rate from wastewater by ion flotation. *J. Environ. Manage.* 244, 408–414. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.05.067>
- Hosseini, A., Mereu, R., Canu, S., Zeigenhein, T., Lucas, D., Inzoli, F., 2020. Multiphase numerical modeling of a pilot-scale bubble column with a fixed poly-dispersity approach. *Int. J. Multiph. Flow* 128, 103287. <https://doi.org/10.1016/j.ijmultiphaseflow.2020.103287>
- Hyndman, C.L., Larachi, F., Guy, C., 1997. Understanding gas-phase hydrodynamics in bubble columns: a convective model based on kinetic theory. *Chem. Eng. Sci.* 52, 63–77. [https://doi.org/10.1016/S0009-2509\(96\)00387-9](https://doi.org/10.1016/S0009-2509(96)00387-9)
- Iborra, M., Tejero, J., Cunill, F., 2013. Reactores Multifásicos. ERQ, Universitat de Barcelona, Barcelona.
- Kantarci, N., Borak, F., Ulgen, K.O., 2005. Bubble column reactors. *Process Biochem.* 40, 2263–2283. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.10.004>
- Knight, J.A., Anderson, S., Rawle, J.M., 1972. Chemical basis of the sulfo-phospho-vanillin reaction for estimating total serum lipids. *Clin. Chem.* 18, 199–202.
- Kohli, R., Mittal, K.L. (Eds.), 2008. Developments in surface contamination and cleaning. Fundamentals and applied aspects, Second. ed. Elsevier Inc.
- Komolafe, O., Velasquez Orta, S.B., Monje-Ramirez, I., Noguez, I.Y., Harvey, A.P., Orta Ledesma, M.T., 2014. Biodiesel production from indigenous microalgae grown in wastewater. *Bioresour. Technol.* 154, 297–304. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.048>
- Kurniawati, H.A., Ismadji, S., Liu, J.C., 2014. Microalgae harvesting by flotation using natural saponin and chitosan. *Bioresour. Technol.* 166, 429–434.
- Lang, S., Wagner, F., 1987. Structure and properties of biosurfactants, in: Kosaric, N., Cairns, W., Gray, N.C. (Eds.), *Biosurfactants and Biotechnology*. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 21–45.

-
- Langlais, B., Reckhow, D.A., Brinck, D.R., 1991. Ozone in water treatment: application and engineering.pdf.
- Lewis, W.K., Whitman, W.G., 1924. Principles of gas absorption. *Ind. Eng. Chem.* 16, 1215–1220. <https://doi.org/10.1021/ie50180a002>
- López Rocha, C.J., Álvarez-Castillo, E., Estrada Yáñez, M.R., Bengoechea, C., Guerrero, A., Orta Ledesma, M.T., 2020. Development of bioplastics from a microalgae consortium from wastewater. *J. Environ. Manage.* 263. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110353>
- Lucassen-Reynders, E.H., Cagna, A., Lucassen, J., 2001. Gibbs elasticity , surface dilational modulus and diffusional relaxation in nonionic surfactant monolayers Gibbs elasticity, surface dilational modulus and diffusional. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng.* 186, 63–72. [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(01\)00483-6](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(01)00483-6)
- Lyklema, J., 2005. *Fundamental of interface and colloid science*, First. ed. Elsevier Ltd., The Netherlands.
- Lyon, L.A., 2002. *Handbook of applied surface and colloid chemistry*, John Wiley. ed. West Sussex.
- Markou, G., Georgakakis, D., 2011. Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: A review. *Appl. Energy* 88, 3389–3401. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.12.042>
- Masera, O., Coralli, F., García, C., Riegelhaupt, E., 2011. La bioenergía en México. *Red Mex. Bioenergía* 44.
- Mata, T.M., Martins, A.A., Caetano, N.S., 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 14, 217–232. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.07.020>
- Miller, D.N., 1980. Gas holdup and pressure drop in bubble column reactors. *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.* 19, 371–377.
- Molazadeh, M., Ahmadzadeh, H., Pourianfar, H.R., Lyon, S., Rampelotto, P.H., 2019. The use of microalgae for coupling wastewater treatment with CO₂ biofixation. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 7. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00042>
- Molina Grima, E., Belarbi, E.H., Ación Fernández, F.G., Robles Medina, A., Chisti, Y., 2003. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnol. Adv.* 20, 491–515. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(02\)00050-2](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(02)00050-2)
- Mulligan, C.N., 2005. Environmental applications for biosurfactants. *Environ. Pollut.* 133, 183–198. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.06.009>
- Nagarajan, R., Ruckenstein, E., 1977. Critical micelle concentration: a transition point for micellar size distribution. A statistical thermodynamical approach. *J. Colloid Interface Sci.* 60, 221–231. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(77\)90282-X](https://doi.org/10.1016/0021-9797(77)90282-X)
- Nava Bravo, I., 2014. Balance energético de producción de biodiesel a partir de microalgas separadas del medio acuoso (Tesis de maestría). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Nielsen, S.S., 2010. *Food Analysis Laboratory Manual*, Second. ed. Springer-Verlang, New York.
- Novelo Torres, A.M., Gracia Fadrique, J., 2018a. Idealidad en superficies fluidas. *Educ. Química* 14, 220. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2003.4.66229>
- Novelo Torres, A.M., Gracia Fadrique, J., 2018b. Concentración micelar crítica mediante la ecuación de adsorción de Gibbs. *Educ. Química* 16, 63.

- <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2005.1.66139>
- O'Connor, C.J., Ch'ng, B.T., Wallace, R.G., 1983. Studies in bile salt solutions. Surface tension evidence for a stepwise aggregation model. *J. Colloid Interface Sci.* 95, 410–419. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(83\)90200-X](https://doi.org/10.1016/0021-9797(83)90200-X)
- Orta Ledesma de Velásquez, M.T., Monje-Ramírez, I., Velásquez-Orta, S.B., Rodríguez, V., Yáñez-Noguez, I., 2017. Ozone for microalgae biomass harvesting from wastewater. *Ozone Sci. Eng.* 39, 264–272. <https://doi.org/10.1080/01919512.2017.1322488>
- Pabois, O., Lorenz, C.D., Harvey, R.D., Grillo, I., Grundy, M.M.L., Wilde, P.J., Gerelli, Y., Dreiss, C.A., 2019. Molecular insights into the behaviour of bile salts at interfaces: a key to their role in lipid digestion. *J. Colloid Interface Sci.* 556, 266–277. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.08.010>
- Pardo-Cervantes, A., Viades-Trejo, J., Gracia-Fadrique, J., 2011. Activity coefficients at infinite dilution and critical micelle concentrations of poly (oxy-1, 2-ethanediyil), r-tridecyl- ω -hydroxy ethers (C 13 E i = 6, 10, 18) in aqueous media by the Volmer surface equation of state and group contributions. *J. Chem. Eng. Data* 56, 2812–2817. <https://doi.org/10.1021/je1012795>
- Pohorecki, R., Bridgwater, J., Molzahn, M., Gani, R., Gallegos, C., 2010. Chemical engineering and chemical process technology, in: *Encyclopedia of Life Support Systems*. Eolss Publishers Co. Ltd.
- Polat, H., Erdogan, D., 2007. Heavy metal removal from waste waters by ion flotation. *J. Hazard. Mater.* 148, 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.02.013>
- Prakash, A., Margaritis, A., Li, H., Bergougnou, M.A., 2001. Hydrodynamics and local heat transfer measurements in a bubble column with suspension of yeast. *Biochem. Eng. J.* 9, 155–163. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(01\)00137-1](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(01)00137-1)
- Przic, D., Ruzic, N., Petrovic, S., 2004. Lyophilization: the process and industrial use. *Hem. Ind.* 58, 552–562. <https://doi.org/10.2298/hemind0412552p>
- Rajalo, G., Petrovskaya, T., Glushko, M., 2001. Mass transfer in a liquid–liquid ozonation process. pp. 18–27.
- Ralston, J., 2000. Flotation: bubble–particle capture. *Encycl. Sep. Sci.* II, 1464–1471. <https://doi.org/10.1016/b0-12-226770-2/01301-6>
- Razumovsky, L., Damodaran, S., 1999. Surface activity–compressibility relationship of proteins at the air–water interface. *Langmuir* 15, 1392–1399.
- Rodríguez, V., 2015. Separación de microalgas por ozoflotación en un reactor tipo espumador para la producción de biodiesel (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Romero, E., 2019. Generación de biomasa microalgal crecida en agua residual doméstica para la producción de bioetanol empleando levaduras silvestres (Tesis de maestría). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Roshchina, V. V., Roshchina, V.D., 2003. *Ozone and plant cell*. Springer-Science+Business Media B.V., Rusia.
- Ruzicka, M.C., Zahradník, J., Drahoš, J., Thomas, N.H., 2001. Homogeneous-heterogeneous regime transition in bubble columns. *Chem. Eng. Sci.* 56, 4609–4626. [https://doi.org/10.1016/S0009-2509\(01\)00116-6](https://doi.org/10.1016/S0009-2509(01)00116-6)
- Sánchez, C.C., Niño, M.R.R., Caro, A.L., Patino, J.M.R., 2005. Biopolymers and emulsifiers at the air-water interface. Implications in food colloid formulations. *J. Food Eng.* 67, 225–234. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.05.065>
- Sander, R., 2015. *Compilation of Henry's law constants (version 4.0) for water as solvent*.

-
- Atmos. Chem. Phys. 15, 4399–4981. <https://doi.org/10.5194/acp-15-4399-2015>
- Sandoval-Ibarra, F.D., López-Cervantes, J.L., Gracia-Fadrique, J., 2015. Ecuación de Langmuir en líquidos simples y tensoactivos. *Educ. Quim.* 26, 307–313. <https://doi.org/10.1016/j.eq.2015.03.002>
- Schäfer, R., Merten, C., Eigenberger, G., 2002. Bubble size distributions in a bubble column reactor under industrial conditions. *Exp. Therm. Fluid Sci.* 26, 595–604. [https://doi.org/10.1016/S0894-1777\(02\)00189-9](https://doi.org/10.1016/S0894-1777(02)00189-9)
- Shelef, G.A., Sukenik, A., Green, S.M., 1984. Microalgae harvesting and processing: a literature review. Golden Colorado.
- Sobhy, A., Tao, D., 2013. Nanobubble column flotation of fine coal particles and associated fundamentals. *Int. J. Miner. Process.* 124, 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.minpro.2013.04.016>
- Thomaier, S., 2009. Formulation and characterization of new innovative colloidal systems involving ionic liquids for the application at high temperatures. Universität Regensburg.
- Thorat, B.N., Joshi, J.B., 2004. Regime transition in bubble columns: experimental and predictions. *Exp. Therm. Fluid Sci.* 28, 423–430. <https://doi.org/10.1016/j.expthermflusci.2003.06.002>
- Uduman, N., Qi, Y., Danquah, M.K., Forde, G.M., Hoadley, A., 2010. Dewatering of microalgal cultures: a major bottleneck to algae-based fuels. *J. Renew. Sustain. Energy* 2. <https://doi.org/10.1063/1.3294480>
- Valeriano González, M.T., Monje-Ramírez, I., Orta Ledesma, M.T., Gracia Fadrique, J., Velásquez-Orta, S.B., 2016. Harvesting microalgae using ozoflotation releases surfactant proteins, facilitates biomass recovery and lipid extraction. *Biomass and Bioenergy* 95, 109–115. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.09.020>
- Valeriano González, M.T., Orta Ledesma, M.T., Velasquez-Orta, S.B., Monje Ramírez, I., 2020. Harvesting microalgae using ozone-air flotation for recovery of biomass, lipids, carbohydrates, and proteins. *Environ. Technol. (United Kingdom)* 0, 1–18. <https://doi.org/10.1080/09593330.2020.1725144>
- Valeriano, M.T., 2018. Cosecha de microalgas mediante flotación por ozono-aire para la producción potencial de biodiesel (Tesis de doctorado). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Vandamme, D., Foubert, I., Muylaert, K., 2013. Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production. *Trends Biotechnol.* 31, 233–239. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.12.005>
- Velasquez-Orta, S.B., Garcia-Estrada, R., Monje-Ramirez, I., Harvey, A., Orta Ledesma, M.T., 2014. Microalgae harvesting using ozoflotation: effect on lipid and FAME recoveries. *Biomass and Bioenergy* 70, 356–363. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.08.022>
- Vyas, A.P., Verma, J.L., Subrahmanyam, N., 2010. A review on FAME production processes. *Fuel* 89, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2009.08.014>
- Wang, G., Evans, G.M., Jameson, G.J., 2017. Bubble movement in a rotating eddy: the implications for particle-bubble detachment. *Chem. Eng. Sci.* 161, 329–340. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2016.12.034>
- Wang, J., Nguyen, A. V., Farrokhpay, S., 2016. A critical review of the growth, drainage and collapse of foams. *Adv. Colloid Interface Sci.* 228, 55–70. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.11.009>

- Wells, S., 2018. Pilot Scale Wastewater Treatment and Biorefinery (Master). Newcastle upon Tyne.
- Wierenga, P.A., Gruppen, H., 2010. New views on foams from protein solutions. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 15, 365–373. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2010.05.017>
- Wilson, A.J. (Ed.), 1989. *Foams: physics, chemistry and structure*. Springer-Verlang.
- Wollmann, F., Dietze, S., Ackermann, J.U., Bley, T., Walther, T., Steingroewer, J., Krujatz, F., 2019. Microalgae wastewater treatment: biological and technological approaches. *Eng. Life Sci.* 19, 860–871. <https://doi.org/10.1002/elsc.201900071>
- Xia, L., Li, H., Song, Z., 2016. Cell surface characterization of some oleaginous green algae. *J. Appl. Phycol.* 28, 2323–2332.
- Yamashita, Y., Miyahara, R., Sakamoto, K., 2017. Emulsion and emulsification technology, in: *Cosmetic Science and Technology: Theoretical Principles and Applications*. Elsevier Inc., pp. 489–506. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802005-0.00028-8>
- Zayas, J.F., 1997. *Functionality of Proteins in Food*. Springer-Verlang, Berlin.
- Zhai, J., Li, X., Li, W., Rahaman, M.H., Zhao, Y., Wei, B., Wei, H., 2017. Optimization of biomass production and nutrients removal by *Spirulina platensis* from municipal wastewater. *Ecol. Eng.* 108, 83–92. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.07.023>
- Zhang, H., Zhang, X., 2019. Microalgal harvesting using foam flotation: a critical review. *Biomass and Bioenergy* 120, 176–188. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.11.018>
- Zheng, X., Franzidis, J.P., Johnson, N.W., 2006. An evaluation of different models of water recovery in flotation. *Miner. Eng.* 19, 871–882. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2005.07.021>
- Zhou, H., Smith, D.W., 2000. Ozone mass transfer in water and wastewater treatment: experimental observations using a 2D laser particle dynamics analyzer. *Water Res.* 34, 909–921. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(99\)00196-7](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00196-7)
- Zhou, H., Smith, D.W., 1997. Process parameter development for ozonation of kraft pulp mill effluents. *Water Sci. Technol.* 35, 251–259. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(96\)00938-9](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(96)00938-9)
- Žutić, V., Čosović, B., Marčenko, E., Bihari, N., Kršinić, F., 1981. Surfactant production by marine phytoplankton. *Mar. Chem.* 10, 505–520. [https://doi.org/10.1016/0304-4203\(81\)90004-9](https://doi.org/10.1016/0304-4203(81)90004-9)

Anexo A

Técnicas analíticas

Las técnicas analíticas mencionadas en el Capítulo 3: Metodología, se detallan a continuación.

A.1 Sólidos suspendidos totales

La concentración de microalgas como sólidos suspendidos totales (SST) en cada una de las muestras, fue determinada gravimétricamente (APHA-AWWA-WPCF, 1992) utilizando papel filtro GF/A (Whatman) puesto a peso constante previamente, 5 mL de muestra homogénea se hicieron pasar por el filtro. El filtro con la muestra se secaron a 100 °C durante 2 horas. El incremento en el peso del filtro representa la cantidad de sólidos suspendidos totales.

A.2 Lípidos totales. Método de sulfo-fosfovainillina

En los tubos de ensayo con tapa roscada se adicionó 1 mL de la muestra a analizar y 2 mL de H₂SO₄. La muestra se homogeneizó mediante agitación y se colocó en un digestor HACH modelo DRB200-02, precalentado a 100 °C durante 15 minutos, transcurrido el tiempo, los tubos se colocaron en un baño de hielo por 5 minutos. Posteriormente, se agregó a la mezcla 5 mL de sulfo-fosfovainillina y se homogeneizó. Los tubos se colocaron en un baño con agua a 37 °C durante 15 minutos (en este periodo de tiempo se agitaron manualmente cada 3 minutos). Finalmente, la absorbancia fue determinada a una longitud de onda de 530 nm en un espectrofotómetro HACH modelo DR3900.

La concentración de lípidos se obtuvo a partir de la ecuación (49) de la curva de calibración elaborada por Hernández (2017), cuyo coeficiente de correlación es de 0.9974.

$$y = 0.00947x - 0.0559 \quad (49)$$

Donde y es la concentración de lípidos expresada en mg.L⁻¹ y x la absorbancia medida.

En este método, el ácido sulfúrico a altas temperaturas reacciona con los lípidos y forma iones carbonio, estos a su vez reaccionan con el grupo carbonilo de la fosfovainillina formando un compuesto estable de color rosado (Barnes and Blackstock, 1973).

A.3 Carbohidratos totales. Método fenol - ácido sulfúrico

En tubos de ensayo con tapa roscada se adicionó 1 mL de la muestra a analizar, 1 mL de fenol al 5% y 5 mL de H₂SO₄ concentrado al 98%, mediante agitación se homogeneizó la mezcla. Los tubos se dejaron en reposo durante 10 minutos, pasando el tiempo se colocaron en un baño con agua a temperatura ambiente durante 15 minutos. Finalmente se determinó la absorbancia en un espectrofotómetro HACH modelo DR3900 a una longitud de onda de 490 nm.

Para obtener la concentración de carbohidratos, se introdujo el valor de la absorbancia en la ecuación (50), dicha ecuación es resultado de la curva de calibración elaborada por Hernández (2017), cuyo coeficiente de correlación es de 0.9927.

$$y = 0.0095x + 0.2322 \quad (50)$$

Donde y es la concentración de carbohidratos expresada en mg.L^{-1} y x la absorbancia medida.

El ácido sulfúrico concentrado hidroliza los polisacáridos, oligosacáridos y disacáridos, para transformarlos en monosacáridos. Las pentosas son deshidratadas a furfurales y las hexosas a hidroximetil furfural; estos compuestos reaccionan con el fenol para producir un color amarillo-oro (Nielsen, 2010).

A.4 Proteínas totales. Método alcalino y método de Biuret

La extracción de proteínas se realizó de acuerdo con el procedimiento informado por Safi (2014), con algunas modificaciones. La muestra de cultivo se ajustó a pH 11 con NaOH 2N, posteriormente la muestra se agitó durante 1 hora a 40 °C. La muestra se dejó en reposo durante 30 minutos y el sobrenadante se filtró utilizando una membrana Millipore de 0.22 mm (GWP02500), se tomó 1 mL del filtrado para agregarlo a un tubo de ensayo con tapa rosca.

La solución madre para la muestra “Blanco” fue preparada con 500 mL de agua destilada y se ajustó a pH 11 con NaOH 2N, de la cual se tomó 1 mL que fue añadido en un tubo de ensayo con tapa rosca.

A cada una de las muestras se agregaron 4 mL de solución Biuret y se homogeneizó la muestra. Finalmente se determinó la absorbancia en un espectrofotómetro HACH modelo DR3900 a una longitud de onda de 540 nm.

Los gramos de proteína se obtuvieron a partir de la ecuación (51) de la curva de calibración, cuyo coeficiente de correlación es de 0.9977.

$$x = \frac{y - 0.0013}{0.0685} \quad (51)$$

Donde y es la absorbancia obtenida, la concentración de proteína se obtuvo considerando el volumen del sobrenadante.

El Cu^{+2} , en solución alcalina, reacciona con el enlace peptídico de las proteínas dando un color purpúreo. El tartrato de sodio y potasio presente en el reactivo inhibe la formación de hidróxido de cobre, evitando así su precipitación. El yoduro de potasio previene la reducción del ión cúprico a óxido cuproso.

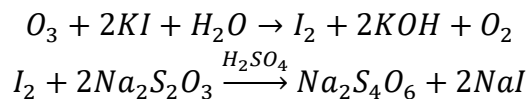
A.5 Ozono residual en fase gas. Método yodométrico

De acuerdo con lo reportado por Birdsall et al. (1952), se colocó un lavador de gases con 200 mL de yoduro de potasio 2%, en el cual se capturó el ozono residual que salió del proceso de ozono flotación, se acidificó la solución que contiene el ozono absorbido con 10 ml de ácido sulfúrico 1N. Posteriormente se tituló con tiosulfato de sodio 0.1 N y se registró el volumen gastado. Finalmente, la concentración de ozono residual se obtuvo utilizando la ecuación (52).

$$[O_3] = \frac{T * N * 24}{V_{Gas}} \quad (52)$$

Donde $[O_3]$, es la concentración de ozono a la salida del proceso, T son los mL de tiosulfato de sodio ($Na_2S_2O_3$) consumidos en la titulación, N es la normalidad de $Na_2S_2O_3$, 24 es un factor de corrección (1 mL de $Na_2S_2O_3$ equivale a 24 mg de O_3) y V_{Gas} es el volumen de gas que se dejó pasar durante el proceso.

Las reacciones de oxido-reducción del proceso son las siguientes:



A.6 Ozono residual en fase líquida. Método colorimétrico de Índigo

Previo a la cuantificación de ozono residual, la muestra se filtró utilizando papel filtro GF/A (Whatman) para evitar interferencias debido al color que otorgan los sólidos suspendidos. En un matraz aforado de 100 mL, se añadieron 10 mL de reactivo de índigo I y 10 mL de la muestra filtrada y se aforó con agua destilada. Dicha mezcla se agitó y se determinó la absorbancia en un espectrofotómetro HACH modelo DR3900 a una longitud de onda de 600 nm. Finalmente se calculó la concentración de ozono utilizando la ecuación (53). Para obtener el blanco de esta técnica, en el matraz aforado de 100 mL se agregaron 10 mL de reactivo índigo I y se aforó con agua destilada.

$$[O_3]_r = \frac{(A_b - A_m) * 100}{0.42 * V_m * C} \quad (53)$$

Donde A_b y A_m son las absorbancias del blanco y la muestra, respectivamente. 0.42 es un factor de sensibilidad de 20,000/cm para el cambio de absorbancia por mol de ozono añadido por litro, V_m es el volumen de la muestra en mL y C es el recorrido de la luz en la celda en cm, este caso $C = 2.54$.

Este método relaciona la disminución de la absorbancia con el incremento de la concentración de ozono, debido a que el oxidante actúa sobre el reactivo índigo decolorando la solución, pasando de azul a incolora (Bader and Hoigné, 1981).

A.7 Tensión superficial

El procedimiento para medir la tensión superficial fue similar al descrito por Pardo-Cervantes et al. (2011). La medición de la tensión superficial se realizó con el método del anillo de Du Noüy. El equipo utilizado consistía en una balanza analítica OHAUS Pioneer asociada a un anillo de Platino-Iridio de 1 cm de diámetro. La muestra colocó en un elevador mecánico y milímetros antes de que el anillo toque la superficie de la muestra se realiza la tara. Posteriormente se introduce el anillo y la muestra se deja en reposo durante 10 minutos. Al descender la celda, la balanza registrará un aumento en la masa debido al líquido que se adhiere al anillo. El descenso continuará al igual que el aumento de la masa registrada en la balanza, la masa máxima fue utilizada para calcular la tensión superficial de la muestra, utilizando la ecuación (47).

$$\sigma = \frac{Mg}{4\pi R} * F \quad (47)$$

Donde M es el peso máximo soportado por el anillo, g es la gravedad local (977.94 cm s⁻², CU-UNAM), R es el radio del anillo y F un factor de corrección por ajuste del tamaño del anillo, expresado en la ecuación (54).

$$F = -0.2645 \frac{R^3}{V} + 1.1419 \quad (54)$$

Donde V es el volumen asociado a la masa del líquido levantado por el anillo.

A.8 Análisis del comportamiento de la presión superficial respecto a la composición

Para realizar este análisis, el tiempo total de ozono-flotación fue seccionado en 3 intervalos de tiempo iguales, obteniendo 3 muestras de cosechado.

Se tomaron 35 mL de cada una de las muestras, se vertieron en vasos de precipitado de 50 mL y se sometieron a ultracongelación durante 4 horas. Posteriormente, se colocaron en el colector de secado, y se dio inicio al proceso de liofilización de acuerdo con las condiciones establecidas en el grupo de investigación (0.576 torr, -103 °C durante 27 horas), con el fin de obtener un producto seco y preservable, que permitiera el análisis de presión vs composición en distintos días sin comprometer la muestra.

El objetivo de la liofilización es separar el agua de una disolución mediante congelación y posterior sublimación del hielo a presión reducida. El tratamiento de la muestra se realiza a vacío para eliminar el aire y otros vapores no condensables de la cámara a fin de facilitar la migración del vapor. La principal ventaja de esta técnica es permitir la conservación de las características de la muestra al rehidratarla con la mínima pérdida de calidad debidas al deterioro de la muestra por reacciones químicas y/o por degradación enzimática (Przic et al., 2004).

La muestra liofilizada se rehidrató con agua milli-Q utilizando la cuarta parte del volumen inicial y se colocó en agitación durante 3 horas a temperatura ambiente. Una vez hidratada y sin apariencia uniforme se filtraron 10 mL utilizando una membrana Millipore de 0.22 mm (GWP02500), de los cuales 6 mL fueron colocados en recipientes de polipropileno de 10 mL y se introdujo una barra magnética de agitación. Con la finalidad de analizar el comportamiento de la tensión superficial dinámica se dejó que la muestra llegara a un equilibrio térmico y mecánico durante 2 horas a temperatura ambiente (26 ± 1 °C).

La medición se realizó con el método del anillo de Du Noüy. El equipo utilizado consistía en una balanza analítica OHAUS Pioneer asociada a un anillo de platino-iridio de 1 cm de diámetro. La muestra colocó en un elevador mecánico y milímetros antes de que el anillo toque la superficie de la muestra se realiza la tara. Posteriormente se introdujo el anillo y la muestra se dejó en reposo durante 10 minutos. Al descender la celda, la balanza registrará un aumento en la masa debido al líquido que se adhiere al anillo. El descenso continuará al igual que el aumento de la masa registrada en la balanza, la masa máxima fue utilizada para

calcular la tensión superficial de la muestra, utilizando la ecuación (47). Esto se realizó por duplicado.

$$\sigma = \frac{Mg}{4\pi R} * F \quad (47)$$

Donde M es el peso máximo soportado por el anillo, g es la gravedad local (977.94 cm.s⁻², CU-UNAM), R es el radio del anillo y F un factor de corrección por ajuste del tamaño del anillo, expresado en la ecuación (54).

$$F = -0.2645 \frac{R^3}{V} + 1.1419 \quad (54)$$

Donde V es el volumen asociado a la masa del líquido levantado por el anillo.

Una vez registrada la masa máxima, ascendió la muestra a su posición inicial y se retiró el recipiente de polipropileno con el anillo introducido en la muestra, para evitar la pérdida de material con actividad superficial que pudiera seguir adherido. La muestra se trasladó a una parrilla de agitación (Cole-Parmer Stable Temp) en donde tuvo un mezclado constante durante 5 minutos, con ayuda de una micropipeta se retiró determinado volumen que posteriormente fue compensado con agua milli-Q y se mantuvo en agitación 5 minutos más.

Pasando el tiempo, la muestra se colocó en el elevador y se colocó el anillo en el gancho de la balanza, se dejó en reposo durante 10 minutos y se repitió el proceso hasta que la tensión superficial calculada se acercara a la del agua.

Anexo B

Diagramas de Pareto

Los diagramas de Pareto (Figura 39), ayudan a identificar las variables significativas en el proceso. La longitud de la barra es proporcional al valor absoluto de su coeficiente de regresión y se ordenan de acuerdo con el efecto. La línea vertical representa el límite del 95%, cualquier barra que cruce la línea es estadísticamente significativa.

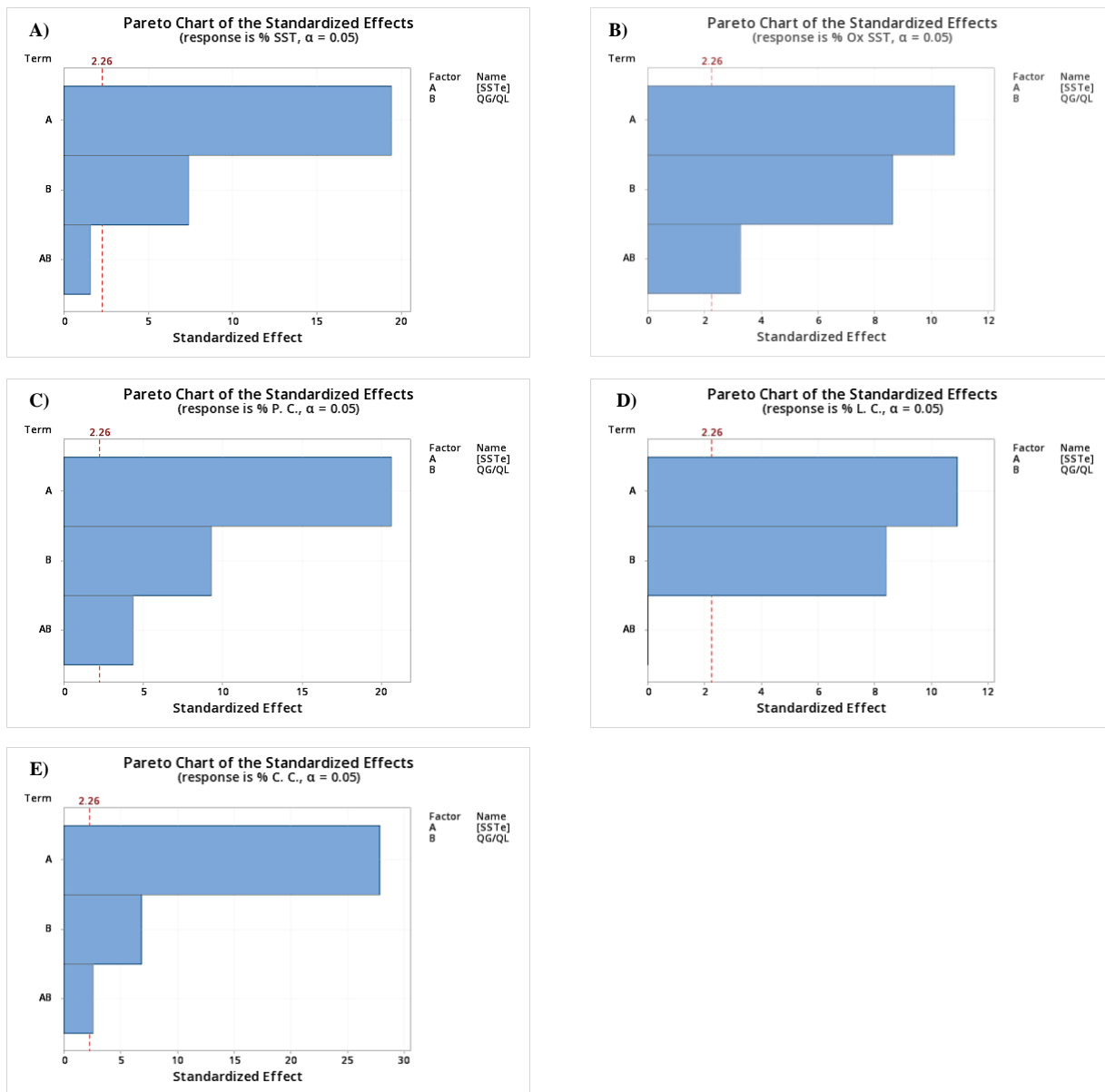


Figura 39. Diagramas de pareto de las variables de respuesta. A) Sólidos Suspendidos Totales cosechados. B) Sólidos Suspendidos Totales oxidados. C) Proteínas cosechadas. D) Lípidos cosechados. E) Carbohidratos cosechados.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería por abrirme sus puertas y enriquecer mi formación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACyT), por la beca otorgada para realizar los estudios de posgrado, CVU: 86908.

A mi tutor, el Dr. Ignacio Monje Ramírez por la confianza, el tiempo e incondicional apoyo durante la desarrollo de esta investigación y sobretodo por su valiosa amistad.

A los miembros del comité tutor: Dra. Sharon Velásquez Orta, Dr. Jesús Gracia Fadrique, Dr. Alejandro Vargas Casillas y al Dr. Armando González Sánchez por el tiempo dedicado en la revisión del documento y contribuir a la mejora del presente trabajo con sus comentarios.

Al Dr. Jesús Gracia Fadrique por permitirme hacer uso de las instalaciones del Laboratorio de Superficies y al M. en C. Q. Arturo García Figueroa por toda la ayuda brindada y las horas de asesoría durante mi estancia en la Facultad de Química.

A la Dra. María Teresa Orta Ledesma por permitirme formar parte de su grupo de investigación y a la M. en C. Isaura Yáñez Noguez por el apoyo durante mi estancia en el Insituto de Ingeniería.

A mis padres y mi hermana por siempre estar presentes, por brindarme su amor y por apoyarme incondicionalmente para alcanzar cada una de las metas que me he propuesto. Saben que son el motor e inspiración en mi vida.

A mis amigos por escucharme, por los consejos y todas las risas, sin ustedes los momentos difíciles hubieran sido menos llevaderos. Gracias por ser parte importante de este proceso.