



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**TESIS**

**OPERACIÓN DE UNA COLUMNA PILOTO DE OZONO-FLOTACIÓN  
PARA LA RECUPERACIÓN DE BIOMASA MICROALGAL  
VALORIZABLE CULTIVADA EN AGUA RESIDUAL**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
INGENIERO QUÍMICO**

**PRESENTA**

**VICTOR ALBERTO, LOPEZ GARCIA**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX, 2023**





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. DURÁN MORENO ALFONSO  
**VOCAL:** DR. GARCÍA GONZÁLEZ SERGIO ADRIÁN  
**SECRETARIO:** DR. MONJE RAMÍREZ IGNACIO  
**1er. SUPLENTE:** DR. LUNA PABELLO VÍCTOR MANUEL  
**2do. SUPLENTE:** DRA. MONTIEL PACHECO CARMINA

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

INSTITUTO DE INGENIERÍA, LABORATORIOS DE INGENIERÍA AMBIENTAL (LIA).

MODELO DIDÁCTICO ATZINTLI UBICADO EN PTAR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS  
POLÍTICAS Y SOCIALES, UNAM.

**ASESOR DEL TEMA:**

DR. IGNACIO MONJE RAMÍREZ

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

DRA. MARÍA TERESA ORTA LEDESMA

**SUSTENTANTE:**

VÍCTOR ALBERTO LÓPEZ GARCÍA

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 209 2020, válido en el período del 12 de noviembre de 2020 al 11 de noviembre de 2023



## **Agradecimientos**

Al Programa de Apoyo a Proyectos para Innovar y Mejorar la Educación (PAPIME) por otorgarme la beca con clave PE102220 y folio 060621 para realizar esta tesis de licenciatura.

A la Facultad de Química por darme las herramientas y conocimientos para desarrollarme como ingeniero químico.

Al Instituto de Ingeniería por permitirme terminar mi formación en sus instalaciones.

Al Dr. Ignacio Monje por su tutela y orientación durante la realización de mi tesis.

A la Dra. Orta por supervisar mi tesis y permitirme trabajar en su grupo de investigación.

A los miembros del jurado por hacerme las correcciones pertinentes y ayudar a mejorar la calidad de este escrito.

## **Dedicatoria**

A mis padres sin los cuales no podría haber llegado tan lejos, gracias por siempre confiar y apoyarme incondicionalmente.

A Paty por ser la fuerza y la calma en mi vida, le das color a mi existencia.

A mis compañeros de laboratorio, que con el tiempo se convirtieron en mis amigos, por hacer de este proceso de tesis uno lleno de risas y alegrías, especialmente a Karina y Daniela por enseñarme con una sonrisa muchas de las técnicas utilizadas en este trabajo.

A mis amigos que siempre están presentes cuando los necesito.

## Resumen

El modelo didáctico Atzintli, es un modelo escala piloto para el tratamiento de aguas residuales con microalgas, captura de CO<sub>2</sub> y flotación con ozono, que emplea un consorcio microalgal predominante de los géneros *Scenedesmus* sp. y *Desmodesmus* sp., ubicado en la Planta de Tratamiento de Agua Residual de la Facultad de Ciencias Políticas y Sociales de Ciudad Universitaria UNAM (PTAR FCPyS-UNAM). Está conformado por un reactor de alta tasa tipo "Raceway" de 1.2m<sup>3</sup> de volumen de operación para el tratamiento terciario de agua residual, un sedimentador de alta tasa para concentrar las microalgas producidas durante proceso de tratamiento y un sistema de flotación con ozono como método de cosechado y acondicionamiento de la biomasa microalgal. La ozono-flotación o flotación con ozono es un proceso fisicoquímico que combina las propiedades oxidativas del ozono con las propiedades físicas de la flotación para la remoción de partículas suspendidas en agua, que al entrar en contacto con el cultivo de microalgas provoca un fenómeno de espumación, que favorece la separación de la biomasa.

Esta tesis se centra en la operación por lote de una columna piloto de ozono-flotación como continuación de los estudios realizados en columnas de 1L escala laboratorio (Aranda Alvarado, 2019; Orta Ledesma de Velásquez et al., 2017; Rodríguez, 2015; Velasquez-Orta et al., 2014; Vielma Hernández, 2020), en los cuales se ha estudiado el cosechado y la valorización de la biomasa. El objetivo de este trabajo fue determinar las condiciones de operación de una columna piloto de 12 L para recuperar biomasa microalgal cultivada en agua residual y comparar los resultados obtenidos con los reportados a escala laboratorio.

Se evaluaron tres variables en operación por lote: concentración de biomasa inicial, medida como SST iniciales; concentración de ozono gas a la entrada del reactor o columna, C<sub>ge</sub>; y el volumen de trabajo del reactor, V<sub>r</sub>. Los resultados fueron evaluados midiendo como variables de respuesta, el porcentaje de recuperación de biomasa y biomoléculas (proteínas, lípidos y carbohidratos) en el cosechado, y la transferencia de masa de ozono, mediante un diseño de experimentos 3x2x2, para encontrar la condición óptima de operación. Para la medición experimental de las variables de respuesta se utilizaron los métodos de Biuret, sulfo-fosofvaina, fenol-ácido sulfúrico para la determinación de las biomoléculas (proteínas, lípidos y carbohidratos totales) en la biomasa cosechada, al igual que se cuantificó el ozono en el proceso.

Las mejores condiciones de cosecha de biomasa microalgal y biomoléculas bajo el diseño propuesto, fueron: 1400 mgSSTo/L; 44mgO<sub>3</sub>/L; 11.5L de volumen de trabajo, logrando recuperar 72% de biomasa y entre el 45-55% de las biomoléculas, teniendo una eficiencia de transferencia de 80% y removiendo los parámetros del 92% de DQO, 72% nitratos, 33% ortofosfatos en efluente de tratamiento.

# Índice

RESUMEN.....	5
ÍNDICE.....	6
NOMENCLATURA.....	8
LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE TABLAS.....	10
LISTA DE GRÁFICAS.....	11
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	12
2. JUSTIFICACIÓN.....	13
3. HIPÓTESIS.....	14
4. OBJETIVOS.....	14
5. MARCO TEÓRICO.....	15
5.1 CULTIVO DE MICROALGAS.....	15
5.1.1 <i>Sistemas de Cultivo</i> .....	15
5.1.2 <i>Medios de cultivo</i> .....	16
5.1.2.1 Sintético.....	16
5.1.2.2 Agua residual.....	16
5.2 COSECHA.....	17
5.3 FLOTACIÓN.....	20
5.4 OZONO-FLOTACIÓN.....	20
5.4.2 <i>Transferencia de masa</i> .....	23
5.4.2.1 Presión.....	25
5.4.2.2 Tamaño de burbuja.....	25
5.4.2.3 Temperatura.....	26
5.4.3 DISEÑO DEL EQUIPO DE FLOTACIÓN.....	26
5.4.3.1 <i>Columna de flotación</i> .....	26
5.4.3.2 <i>Resultados a escala laboratorio</i> .....	28
5.4.3.3. Escalamiento de una columna.....	29
5.4.3.4. <i>Unidad de flotación piloto</i> .....	31
5.4.3.5 <i>Celda de Jameson</i> .....	32
5.4.3.6. <i>Resultados flotación microalgas a nivel piloto e industrial</i> .....	33
6. METODOLOGÍA.....	34
6.1. OBTENCIÓN DE MICROALGAS.....	35
6.2. IMPLEMENTACIÓN DEL ARREGLO EXPERIMENTAL.....	36
6.3. OPERACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE LA OPERACIÓN EN LOTE.....	37
6.3.1. <i>Pruebas preliminares de operación por Lote</i> .....	37
6.3.2. <i>Diseño experimental para la optimización de la operación por lote</i> .....	37
6.3.3. <i>Ozono transferido</i> .....	38
6.3.4. <i>Eficiencia de cosechado y biomoléculas de interés</i> .....	39

6.3.5. Cuantificación de biomoléculas .....	39
6.4. CARACTERIZACIÓN DEL EFLUENTE .....	39
<b>7. RESULTADOS .....</b>	<b>41</b>
7.1. BIOMASA MICROALGAL .....	41
7.2. PRUEBAS PRELIMINARES .....	41
7.3. RESULTADOS DISEÑO DE EXPERIMENTOS .....	44
7.3.1. Resultados cosecha de biomasa .....	45
7.3.2. Resultados Factor de concentración .....	46
7.3.3. Resultados recuperación de biomoléculas .....	47
7.3.4. Resultados transferencia de masa de ozono .....	49
7.3.7. Repetición de mejores condiciones con microalgas cultivada en agua residual .....	51
7.4 SÍNTESIS DE RESULTADOS .....	53
<b>8. CONCLUSIONES .....</b>	<b>55</b>
<b>9. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>55</b>
<b>10. REFERENCIAS .....</b>	<b>56</b>
<b>11. ANEXOS .....</b>	<b>61</b>
11.1 CURVAS DE CALIBRACIÓN .....	61
11.1.1 Lípidos .....	61
11.1.2. Proteínas .....	61
11.1.3. Carbohidratos .....	62

## Nomenclatura

Abreviatura	Significado	Unidades
SST	Sólidos suspendidos totales iniciales	$\frac{mg_{biomasa}}{L_{cultivo}}$
Cge	Concentración de ozono en el gas de entrada	$\frac{mg_{O_3}}{L_{gas}}$
Vr	Volumen de operación reactor	$L_{cultivo}$
Qg	Flujo de gas en entrada	$\frac{L_{gas}}{min}$
TRH	Tiempo de retención hidráulica	min
DO	Dosis de ozono	$\frac{mg_{O_3}}{mg_{biomasa}}$
FC	Factor de concentración	Adimensional
ET	Eficiencia de transferencia del ozono	Porcentaje
%SST	Porcentaje de recuperación de SST	Porcentaje
%PROT	Porcentaje de recuperación de proteínas	Porcentaje
%CARB	Porcentaje de recuperación de carbohidratos	Porcentaje
%LIP	Porcentaje de recuperación de lípidos	Porcentaje
DQO	Demanda química de oxígeno	$\frac{mg_{O_3}}{L}$
ND	No determinado	-

## Lista de figuras

Figura 1 Diagrama de sistemas cerrados para el cultivo de microalgas. ....	15
Figura 2 Reactor de alta tasa industrial.....	16
Figura 3 Sistema de flotación con ozono (Bourgibot y Faivre, 1986).....	21
Figura 4 Mecanismo de acción de las proteínas como tensoactivos. (Germain y Aguilera,2014)....	22
Figura 5 Entradas y salidas del proceso de ozono-flotación Adaptado de (Yañez,2022).....	23
Figura 6 Ruta de transporte de fase gaseosa a un microorganismo (Vielma,2020) .....	24
Figura 7 Modelo de la doble capa (Bin & Roustan, 2000).....	25
Figura 8 Columna de flotación con ozono. Adaptado de (Yianatos, 1989).....	27
Figura 9 Diferentes modos de operación (Narsimhan, 1987) .....	27
Figura 10 Régimen de operación en columna, traducido de (Yianatos, 1989). .....	29
Figura 11 Unidad de flotación piloto, traducido de (Sim et al., 1988) .....	31
Figura 12 Celda de Jameson (Glencore technology, 2014) .....	32
Figura 13 Planteamiento del diseño experimental .....	34
Figura 14 Modelo didáctico ATZINTL .....	35
Figura 15 Columna piloto de ozono-flotación.....	36
Figura 16 Arreglo experimental implementado.....	37

## Lista de tablas

Tabla 1 Valorización de las microalgas y sus componentes.....	17
Tabla 2 Eficiencia de cosechado y requerimientos energéticos de diferentes métodos de cosechado. ....	19
Tabla 3 Resultados reportados ozono-flotación .....	28
Tabla 4 Resultados reportados flotación de algas a nivel piloto.....	33
Tabla 5 Diseño de experimentos propuesto .....	38
Tabla 6 Métodos analíticos usados para determinar la calidad del agua. ....	40
Tabla 7 Volumen y concentración de biomasa de microalgas obtenidas después de 31 días de cultivo .....	41
Tabla 9 Resultados experimentales de las pruebas de ozono-flotación.....	45
Tabla 10 Resumen de interacciones encontradas en el diseño de experimentos.....	50
Tabla 11 Condiciones de operación óptimas para la operación por lote de la columna piloto de flotación con ozono.....	50
Tabla 12 Resultados obtenidos bajo condiciones de operación óptimas en un proceso por lote en la columna piloto .....	51
Tabla 14 Biomoléculas presentes en microalgas .....	52
Tabla 15 Comparación de la biomasa utilizada en las pruebas bajo las mejores condiciones de cosechado .....	52
Tabla 16 Remoción de parámetros de calidad del agua en la prueba de ozono-flotación.....	53
Tabla 17 Resultados obtenidos de las pruebas de flotación con ozono .....	54

## Lista de gráficas

Gráfica 1 Solubilidad del ozono a diferentes temperaturas .....	26
Gráfica 2 Velocidad superficial vs diámetro de columna .....	30
Gráfica 4 Influencia de la concentración de O <sub>3</sub> del gas de entrada en el cosechado y transferencia de ozono imagen del generador. ....	42
Gráfica 5 Influencia de los SST iniciales en el cosechado.....	42
Gráfica 6 Influencia del volumen de operación de la columna piloto en el cosechado. ....	43
Gráfica 7 Influencia de la dosis de ozono aplicada en el cosechado y transferencia de masa. ....	44
Gráfica 8 Gráficas de efectos principales de la cosecha de biomasa.....	46
Gráfica 9 Gráfica de efectos principales del factor de concentración .....	47
Gráfica 10 Gráficas de efectos principales para la recuperación de proteínas, carbohidratos y lípidos .....	48
Gráfica 11 Gráfica de efectos principales para la eficiencia de transferencia de masa del ozono ...	49
Gráfica 13 Curva de calibración Lípidos .....	61
Gráfica 14 Curva de calibración carbohidratos .....	62
Gráfica 15 Curva de calibración DQO .....	63
Gráfica 16 Contorno de %CARB vs. SST, Vr. ....	63
Gráfica 17 Contorno de %CARB vs. SST, Cge.....	64
Gráfica 18 Contorno de %LIP vs. SST, Vr .....	64
Gráfica 19 Contorno de %LIP vs. SST, Cge.....	65
Gráfica 20 Contorno de %SST vs. SST, Vr .....	65
Gráfica 21 Contorno de %SST vs. SST, Cge .....	66
Gráfica 22 Contorno de %PROT vs. SST, Vr .....	66

## 1. Planteamiento del problema

Las microalgas han sido estudiadas como alternativa renovable a los combustibles fósiles gracias a su capacidad de generar cantidades significativas de biomasa rica en lípidos y carbohidratos. Los compuestos generados por las microalgas también se pueden convertir en otros productos valorizables como bioplásticos, fertilizantes o alimento para animales (Abdel-Raouf et al., 2012).

La producción de biomasa microalgal utilizando agua residual ofrece ventajas porque se aprovechan los nutrientes para el crecimiento de las microalgas, disminuyendo así los insumos del proceso de producción. Estos organismos absorben compuestos inorgánicos para su crecimiento (principalmente N y P), y reducen la carga orgánica presente en las aguas residuales (Markou & Georgakakis, 2011), además de otras ventajas como la disminución de patógenos, remoción de metales pesados y reducción de emisiones de CO<sub>2</sub>, gracias al proceso de fotosíntesis que realizan las microalgas.

En los estudios de (Markou & Georgakakis, 2011; Rawat et al., 2011) reportaron la remoción de >96% de nutrientes en aguas residuales tratadas mediante el cultivo de un consorcio de 15 algas nativas, y un potencial de producción de biomasa y contenido de lípidos de 9.2-17.8 Ton/ha.año y 6.82%, respectivamente.

El procesado de las microalgas involucra diferentes etapas: crecimiento, cosecha, desaguado, disrupción celular y extracción de lípidos. Uno de los mayores obstáculos en el cosechado de las microalgas es su tamaño micro y desarrollo en suspensión diluida. Como resultado una gran cantidad de energía es requerida para cosechar grandes cantidades de biomasa microalgal lo que puede llegar a representar hasta un tercio del costo total del procesamiento de las microalgas (Rawat et al., 2013).

Se usan diferentes métodos para el cosechado de las microalgas algunos de los más usados son: coagulación-floculación, sedimentación, centrifugación, filtración y flotación. Los métodos preferidos son los que consumen menos energía y no contaminan la biomasa para los siguientes subprocesos.

## 2. Justificación

La ozono-flotación es un proceso fisicoquímico que combina las propiedades oxidativas del ozono con las propiedades físicas de la flotación para la remoción de partículas suspendidas en agua, que al aplicarse a cultivos de microalgas provoca un fenómeno de espumación, promoviendo la recuperación de biomasa y biocompuestos por fenómenos de superficie (Valeriano, et al., 2016; Vielma et al. 2022). La completa separación de las algas es obtenida sin la necesidad de adicionar un agente químico, dejando solo como residuo agua con oxígeno. Adicionalmente se tienen beneficios tales como: tratamiento y desinfección del agua residual (para su reúso), pretratamiento de la biomasa que mejora los procesos de extracción de biocompuestos (carbohidratos, lípidos y proteínas) así como biocombustibles de mejor calidad, debido al efecto del ozono sobre el grado de insaturación de los lípidos (Komolafe et al., 2014; Orta Ledesma de Velásquez et al., 2017; M. T. Valeriano González et al., 2016; Velasquez-Orta et al., 2014).

En este marco se desenvuelve el modelo didáctico de tratamiento de aguas residuales con microalgas y flotación con ozono (Atzintli) ubicado en la PTAR de la FCPyS de Ciudad Universitaria UNAM, la cual procesa alrededor de 1.2m<sup>3</sup> de agua residual en un reactor de alta tasa en la que crece un consorcio de microalgas que remueve contaminantes progresivamente del agua residual y después pasa por un proceso de sedimentación en el cual la biomasa es separada del agua tratada, el proyecto contempla la implementación de una columna piloto para que se experimenten los tres procesos de manera simultánea.

### 3. Hipótesis

Al implementar la columna piloto de ozono-flotación en sus bases de operación, se obtendrán resultados similares a los reportados en escala laboratorio, respecto a la eficiencia de cosechado, biomoléculas de interés y transferencia de masa de ozono.

### 4. Objetivos

General:

- Operar una columna piloto de ozono-flotación para la recuperación de biomasa microalgal cultivada en agua residual y comparar los resultados obtenidos con los reportados a escala laboratorio y piloto.

Objetivos particulares:

- Mediante un diseño de experimentos factorial 3x2x2 determinar las condiciones de operación (flujo y concentración de gas ozono, tiempo de retención hidráulica, concentración inicial de biomasa) en un proceso por lote para el cosechado eficiente de biomasa microalgal y biomoléculas de interés.
- A través de la cuantificación del ozono gaseoso suministrado y restante en la corriente de gas, determinar la eficiencia de transferencia de ozono.
- Evaluar parámetros de la calidad del efluente de agua tratada (SST, turbidez, nitrógeno total y DQO) para determinar la remoción de contaminantes con el proceso de flotación con ozono.

## 5. Marco Teórico

### 5.1 Cultivo de Microalgas

#### 5.1.1 Sistemas de Cultivo

Las microalgas se pueden cultivar en sistemas abiertos o cerrados. Los sistemas cerrados, también llamados fotobiorreactores, tiene ventajas como lo son un mejor control sobre las variables de operación, evitar la contaminación de cultivos, al igual que pueden operarse tanto en interiores como exteriores, suelen utilizarse en aplicaciones cosméticas y farmacéuticas, un ejemplo de estos sistemas se observa en la Figura 1. Sin embargo, la construcción es más costosa y suelen ser más complejos y de menor escala que los sistemas abiertos (Kumar & Singh, 2020).



*Figura 1 Diagrama de sistemas cerrados para el cultivo de microalgas.*

Los sistemas abiertos como los reactores de alta tasa (HRAP) suelen operar en escalas industriales, debido a su facilidad de operación, menor costo de construcción y mayor generación de biomasa comparada con sistemas cerrados. Sin embargo, son susceptibles de contaminación y afectaciones por las condiciones climatológicas (E. Posadas et al., 2017) En la Figura 2 se observa un sistema a escala industrial.



*Figura 2 Reactor de alta tasa industrial.*

## 5.1.2 Medios de cultivo

### *5.1.2.1 Sintético*

El medio Bg11 tiene todos los elementos y compuestos fundamentales para el crecimiento óptimo de las microalgas. Este consiste en varias sales orgánicas y metales traza a una concentración fija. Algunos de los ingredientes son esenciales ya que son fuente de nitrógeno/fósforo para las microalgas, otros componentes se usan para diversificar los nutrientes disponibles y los elementos restantes actúan como agentes buffer (Yang, 2015). Se han utilizado algunas variaciones de la fórmula para emular las condiciones del agua residual, para cultivo en condiciones de “agua residual sintética” (Habibi,2019). En esta tesis se cultivaron microalgas en un medio Bg11, debido a que las condiciones del efluente de la PTAR FCPyS se vieron afectadas por la pandemia.

### *5.1.2.2 Agua residual*

Al cultivarse en agua residual se aprovechan los nutrientes presentes para el crecimiento de las algas, reduciendo los insumos necesarios para el cultivo, a la vez que actúa como un tratamiento terciario del agua residual. La desventaja es que la biomasa y sus componentes no podrían usarse en aplicaciones nutricionales y/o farmacéuticas. Sin embargo, los usos potenciales de los componentes en las microalgas siguen generando una variedad de productos de valor agregado como se observa en la Tabla 1.

<b>Componentes de las microalgas</b>	<b>Usos</b>	<b>Referencia</b>
Biomasa	Bio fertilizantes	(Kumar & Singh, 2020)
Carbohidratos	Bioplásticos	(Cheng et al., 2015)
	Bioetanol	Romero-Frasca et al., 2021
Proteínas	Bioplásticos	(Sari et al., 2021)
Lípidos	Biodiesel (transesterificación)	(Pragya et al., 2013)

*Tabla 1 Valorización de las microalgas y sus componentes.*

El tipo de agua residual determina la eficiencia de los sistemas alga-bacteria para el tratamiento de agua y el crecimiento de la biomasa, algunas de las características principales son:

- La proporción Carbono/Nitrógeno/Fósforo, siendo la óptima 100:18:2(g), la cual se relaciona con la biodegradabilidad y la composición de la biomasa microalgal.(Esther Posadas et al., 2014)
- Las concentraciones de N-NH<sub>4</sub> mayores a 100mg/L y pH mayor a 8 que pueden inhibir la actividad fotosintética en algunas especies de microalgas y cianobacterias. (E. Posadas et al., 2017)
- Desechos orgánicos tóxicos como fenol, salicilato e hidrocarburos disminuyen la actividad de las microalgas y bacterias. (E. Posadas et al., 2017)

Algunos de los beneficios en el agua tratada con estos sistemas son los siguientes:

- Captura de dióxido de carbono para su conversión en biomasa (Arbib et al., 2014)
- Remoción de nutrientes principalmente C, N y P (E. Posadas et al., 2017)
- Remoción de metales pesados (Ozturk et al., 2014)
- Desinfección patogénica (Muñoz & Guieysse, 2006)
- Remoción de contaminantes emergentes (Norvill et al., 2016)
- Remoción de antibióticos presentes en aguas residuales (Leng et al., 2020)

## 5.2 Cosecha

Después del cultivo la siguiente etapa es el cosechado, el cual se estima que contribuye al costo total de producción de biocombustibles basados en algas en un 20-30%. Algunos factores que afectan el cosechado son la morfología y la materia orgánica extracelular de las microalgas, generalmente las microalgas de mayor tamaño son más

susceptibles a un cosechado eficiente en procesos como la sedimentación (Henderson et al., 2008).

Se recomiendan los procesos que usen la menor cantidad de sustancias químicas, para evitar la contaminación de la biomasa en los siguientes subprocesos, además de favorecer la liberación o la extracción de los materiales intracelulares (Pragya et al., 2013).

En la tabla 2 se observan los métodos de cosecha más utilizados a escala industrial y piloto junto a sus resultados de cosechado y la energía requerida en KWh para cosechar un m<sup>3</sup> de cultivo.

Con estos resultados se denota que la cosecha por gravedad es la que menos energía utiliza, mientras que la flotación y la centrifugación son de los métodos más demandantes, esto afecta directamente en el costo para la elaboración de productos de valor agregado (Nava, 2016).

La ozono-flotación se sitúa en un rango medio-alto de uso energético en el cosechado, comparando con todos los métodos, aunque cabe resaltar que este proceso tiene ventajas como una mayor disponibilidad de las biomoléculas para procesos subsecuentes (Valeriano, 2020).

<b>Método</b>	<b>Medio</b>	<b>Densidad del cultivo (g/L)</b>	<b>Eficiencia (%)</b>	<b>Concentración microalga (%)</b>	<b>Energía requerida kWh/m<sup>3</sup></b>	<b>Referencia</b>
Sedimentación por gravedad	Medio sintético	0.5	10-90 60-65	1.5 1.5	0.05 0.10	(Collet et al., 2011; Hattab & Hammouda, 2015; Uduman et al., 2010)
Floculación química	Agua industrial	0.6	97 80-90	3 15	0.12 14.8	(Danquah et al., 2009; Ventura et al., 2013)
Electro-coagulación	Medio sintético	0.3	90.9	ND	1.39	(Hawari et al., 2020;
Electro-floculación	Medio sintético	0.25	≥ 94	3-4	0.32	Lee et al., 2003)
Bio- floculación	Medio sintético	0.5	43-98	3-12	0.25-1.92	(Salim et al., 2012)
Filtración	Agua residual	1	93 20-90	5 5-18	0.59 0.1-5.9	(Hattab & Hammouda, 2015; L. Wang et al., 2019)
Centrifugación	Medio sintético	0.1 0.4	94 90-96	ND 2 - 25	20 0.53 - 8.0	(Dassey & Theegala, 2013) (Hattab & Hammouda, 2015)
Flotación por aire disuelto	Agua residual	0.13	95	5-7	7.6	(Wiley et al., 2009)
Flotación con ozono	Agua residual	0.35 0.9	60-89 70	ND 2	1.8 - 9.7 1	(Nava Bravo, 2014) (Nava Bravo, 2020)

*Tabla 2 Eficiencia de cosechado y requerimientos energéticos de diferentes métodos de cosechado.*

### 5.3 Flotación

La flotación tiene su origen en el procesado de minerales, la separación del mineral se basa en la incorporación de burbujas de gas en un medio de transporte. Las partículas suspendidas, siendo hidrofóbicas o condicionadas a serlo, se pegan a las burbujas de gas y se dirigen a la superficie del medio líquido. (Kyzas & Matis, 2018) La flotación ha tenido diversas aplicaciones, una de ellas es la de eliminar las algas presentes en el agua tratada y más recientemente la cosecha de estas. Depende de la interacción entre las microalgas y las burbujas, ambas al estar cargadas negativamente no interactúan, por lo que se necesita la adición de surfactantes. Es un método de separación rápido a comparación de la sedimentación, por esa razón tiene menor riesgo de deteriorar la biomasa al cosecharla.

Con base en el tamaño de las burbujas de aire los métodos de flotación se dividen en:

- Flotación por aire disuelto (DAF), con un tamaño de burbuja entre 10-100 micrómetros. (Pragya et al., 2013)
- Flotación por aire disperso (DiAF), con un tamaño de burbuja de 700 a 1500 micrómetros. (Pragya et al., 2013)

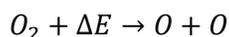
En ambos procesos es necesario la adición de un floculante el cual puede ser químico como el sulfato de aluminio o natural como el quitosano (Ndikubwimana et al., 2016).

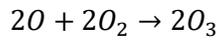
Los flóculos producidos pueden romperse y disolverse debido a tamaños de burbujas grandes, por lo cual suele tener una mejor eficiencia la flotación por aire disuelto al tener menores tamaños de burbuja.

### 5.4 Ozono-flotación

El ozono es un gas inestable con una vida media muy corta, debido a esto no puede ser acumulado y se tiene que producir in situ de manera continua por un generador de ozono (Joseph et al., 2021).

El ozono se produce de una corriente gaseosa de oxígeno puro o de aire que contenga oxígeno mediante diversos métodos, siendo la vía más común la descarga en corona (eléctrica). En este método una corriente de gas seco, libre de polvo, concentrada en oxígeno, se hace pasar por un campo eléctrico de alta energía (corona) entre dos electrodos separados por un material dieléctrico. (García et al., 2002) A continuación se encuentra las reacciones que generan el ozono a partir del oxígeno y la energía a través de la corona.





Debido a la presencia de condiciones favorables en las instalaciones de tratamiento de agua por las cantidades de nutrientes presentes, principalmente nitrógeno y fósforo, al igual que calor y luz solar, suelen aparecer blooms (crecimientos exponenciales) de algas cada cierto tiempo.

En 1986 Bourgibot y Faivre patentaron un contactor para remoción de algas en plantas de tratamiento de aguas residuales. La cámara de contacto se encuentra dividida en dos celdas, (A) es el compartimento de ozonación donde el agua y el gas fluyen a contracorriente, el gas ozono se dispersa mediante placas porosas ubicadas al fondo de la cámara de contacto. En la segunda (B) se lleva a cabo la flotación de las partículas. El agua posteriormente se descarga al colector de agua (G) y las microalgas se remueven en los colectores en forma de espuma (E).

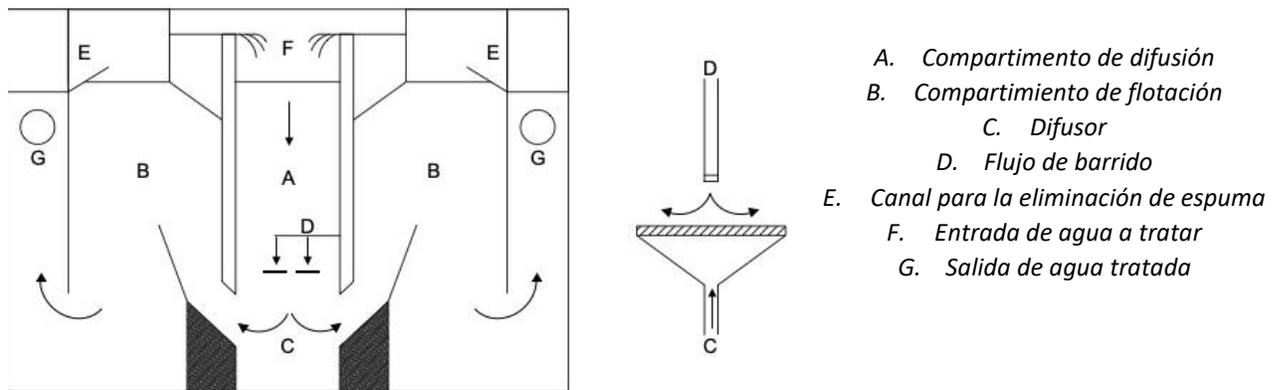


Figura 3 Sistema de flotación con ozono. (Bourgibot y Faivre, 1986)

El ozono en sistemas biológicos destruye la pared celular, dañando el ADN y ARN, rompe los enlaces C-N, oxida las glucoproteínas, glucolípidos, aminoácidos y grupos sulfhídricos de las enzimas (Mc Christian 2016).

La reacción global es la siguiente (Davis y Rao 2001)



El ozono en las células de microalgas provoca una lisis liberando las proteínas, moléculas anfífilas contenidas que actúan como surfactantes, teniendo un efecto coagulante y reduciendo la tensión superficial, promoviendo la formación de espuma, a través de la cual se lleva a cabo la separación de las microalgas en medio acuoso (Cheng.,

et al, 2011). En la siguiente figura se observa por pasos el mecanismo de acción de las proteínas como tensoactivos.

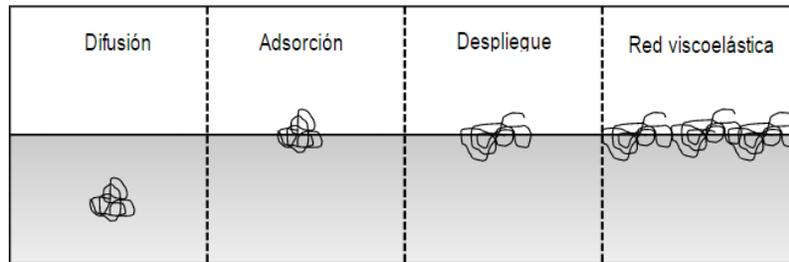


Figura 4 Mecanismo de acción de las proteínas como tensoactivos. (Germain y Aguilera,2014)

Las ventajas del proceso son:

- ❖ Funciona como pretratamiento de la biomasa microalgal, mejorando la extracción de lípidos en la generación de biodiesel (Velasquez Orta., et al, 2014).
- ❖ No requiere la adición de compuestos químicos
- ❖ No contamina la biomasa para procesos subsecuentes
- ❖ Los insumos se preparan in situ a partir del aire de la atmosfera.

Es importante destacar que (M. Valeriano González, 2018) concluyo que la utilización de un sistema de flotación de ozono junto con la flotación con aire, disminuía el ozono utilizado hasta en un 40%.

En la figura 5 se observa la entrada al proceso de flotación con ozono, que consta de las microalgas cultivadas ya que el ozono se genera in situ, reacciona una parte en el proceso y el resto se elimina a través de un destructor de ozono para que no afecte al ambiente. En la salida se encuentra por un lado el efluente de agua tratada, que puede ser usada para diferentes propósitos dependiendo de los parámetros de calidad que tenga y por el otro lado está la biomasa concentrada a la que se cuantifican sus biomoléculas.

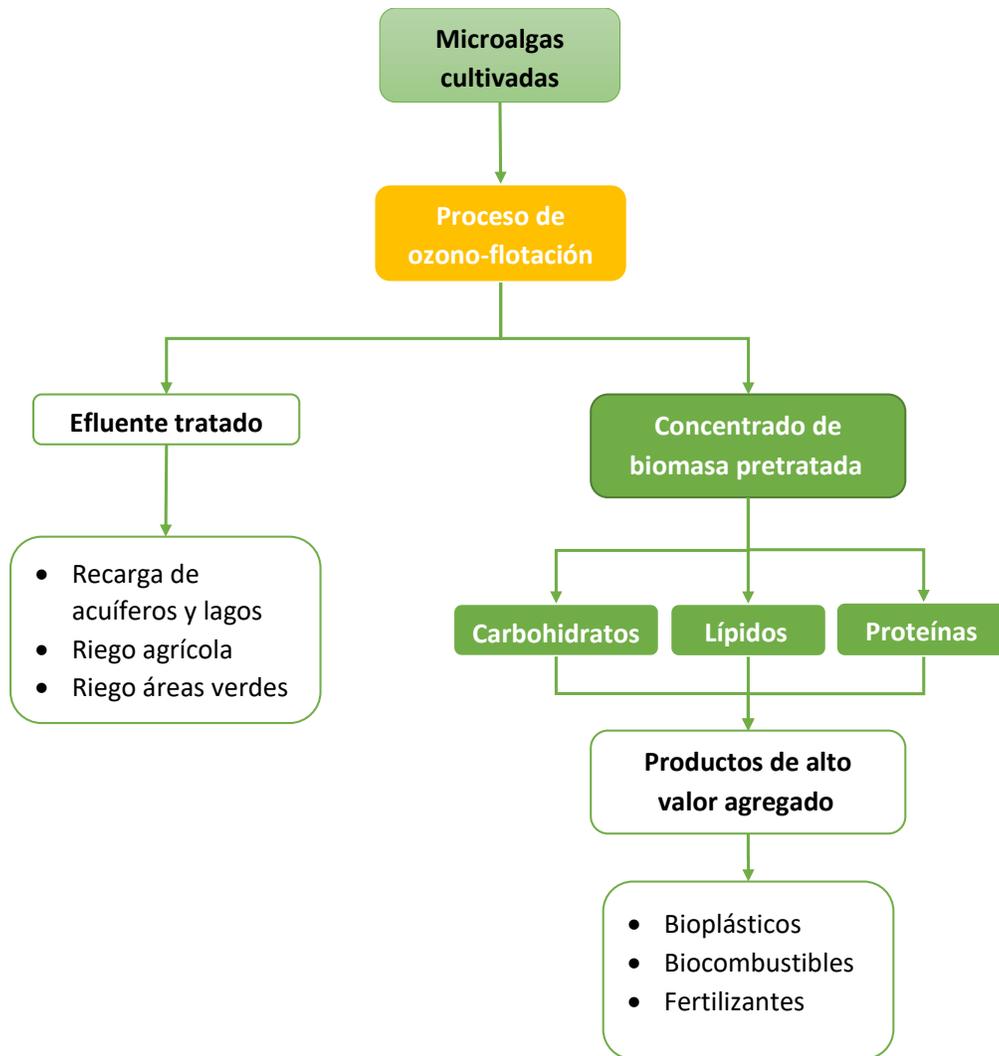


Figura 5 Entradas y salidas del proceso de ozono-flotación Adaptado de (Yañez,2022).

#### 5.4.2 Transferencia de masa

La transferencia de ozono es un factor determinante, debido a que la producción de ozono es intensiva energéticamente se optimiza el proceso para que la mayoría del ozono suministrado sea aprovechado

La transferencia de masa de ozono es influenciada por diversos factores que se pueden dividir en hidrodinámicos y fisicoquímicos. En la figura 6 se observan todas las resistencias presentes en la transferencia del gas ozono hasta la microalga.

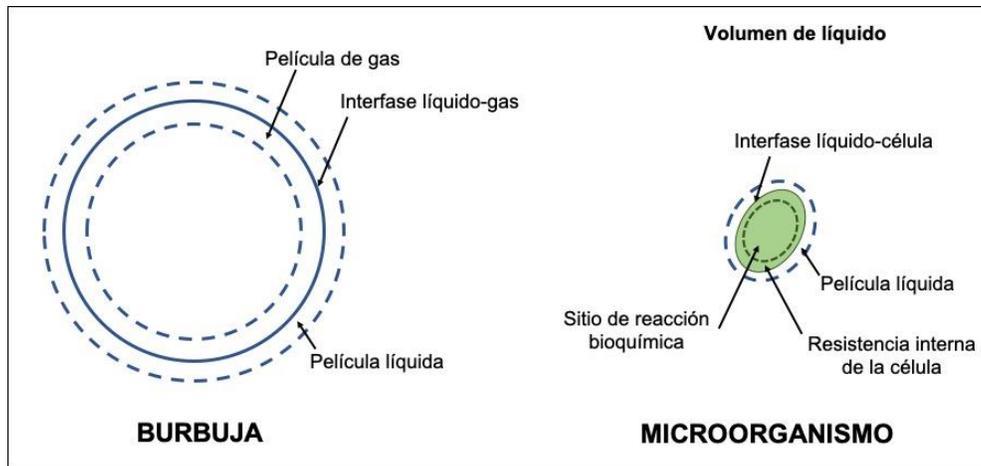


Figura 6 Ruta de transporte de fase gaseosa a un microorganismo (Vielma,2020).

Sin embargo, no todas las resistencias son significativas, gracias a la turbulencia presente en los reactores que propician la convección, la resistencia asociada al volumen del líquido puede ser despreciada. Debido a la gran área superficial presente en los microorganismos, resulta insignificante la resistencia célula-líquido. Las altas velocidades de las reacciones bioquímicas hacen que la resistencia de sitio de reacción química pueda ser ignorada. (Christi, 1989)

Reduciendo el transporte del gas a la transferencia en la interfase gas-líquido. Que puede ser descrita por la teoría de doble capa.

Descrita por Lewis y Whitman en 1973 la teoría propone que existe una película de gas estática y una película líquida en los dos lados de la interfase líquido-gas. La resistencia a la transferencia de masa se da principalmente en las películas estáticas y el soluto es transferido de la fase gaseosa a la líquida por difusión molecular.

Consideraciones:

- No hay resistencia en la interfase.
- El tiempo para alcanzar el equilibrio es despreciable.
- No hay gradiente de concentración en el seno de la fase gas y fase líquida.

Por lo tanto, la teoría de la doble capa simplifica la transferencia en un proceso en estado estacionario, predominante en difusión molecular de un soluto en dos películas estáticas (B. Wang et al., 2021). La figura 7 representa este modelo de manera gráfica con la disminución de la concentración en la película de gas, pasando por la interfase gas-líquido y luego en la película líquida.

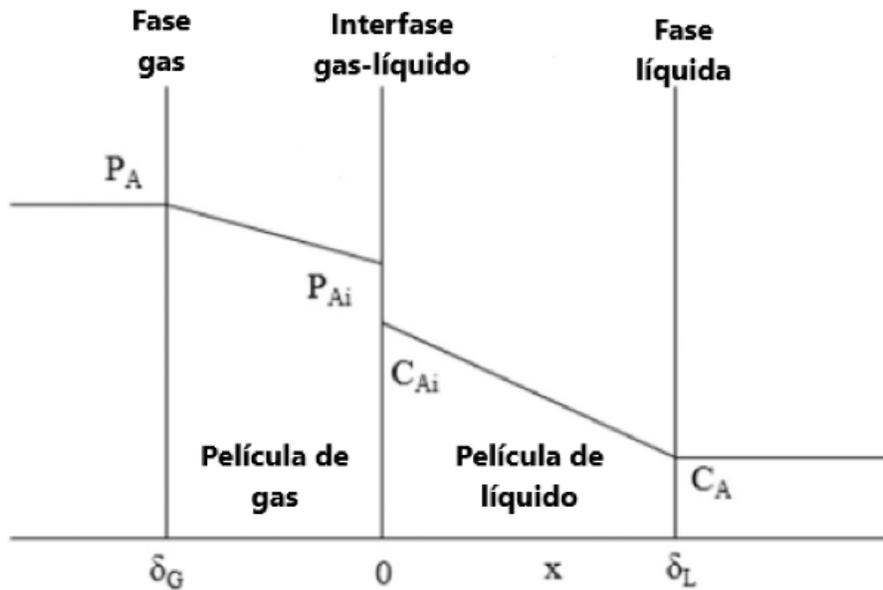


Figura 7 Modelo de la doble capa (Bin & Roustan, 2000).

#### 5.4.2.1 Presión

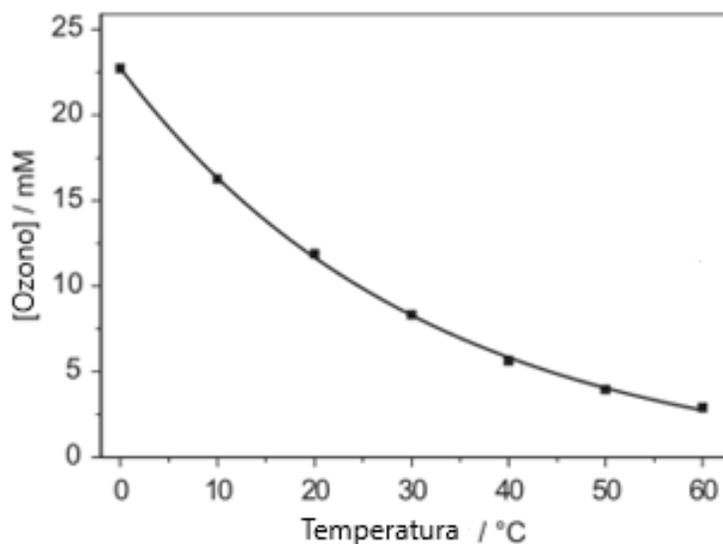
La máxima concentración en fase acuosa es dada por la proporción de mezcla en el gas de ozono/ oxígeno. Puede ser calculada por la ley de Henry con la presión parcial del ozono que es alcanzada por el sistema de generación.

#### 5.4.2.2 Tamaño de burbuja

Las burbujas más pequeñas tienen una mayor área de contacto gas-líquido y su velocidad de ascenso suele ser menor que las burbujas grandes. También pueden presentar mayor reactividad química.

El tamaño es definido por la presión en el tanque de saturación en el caso de la flotación por aire disuelto, y por el tamaño de poro en la placa para la flotación por aire disperso.

### 5.4.2.3 Temperatura



Gráfica 1 Solubilidad del ozono a diferentes temperaturas (von Sonntag & von Gunten, 2012).

La solubilidad del ozono en agua es fuertemente dependiente de la temperatura. La solubilidad es el doble a 0°C que a temperatura ambiente, por lo que se suele disminuir la temperatura con hielo para mejorar la concentración de ozono en fase acuosa en experimentos que lo requieran (von Sonntag & von Gunten, 2012).

## 5.4.3 Diseño del equipo de flotación

### 5.4.3.1 Columna de flotación

Constan de tres zonas distintas, la zona de colisión- adhesión, de espuma y de recolección de concentrado. En el fondo de la columna se encuentra un medio poroso por el que pasa el gas y se generan las burbujas que pasaran a través de las microalgas suspendidas en agua, en un principio va a estar la zona de colisión- adhesión entre las burbujas y partículas suspendidas; posteriormente las partículas hidrofóbicas adheridas a las burbujas generarán espuma que transportará las partículas a la parte superior de la columna, hasta la zona de recolección por gravedad donde se obtendrá el concentrado de las partículas cosechadas del medio acuoso. En la siguiente figura se observa un diagrama simplificado del funcionamiento de la columna.

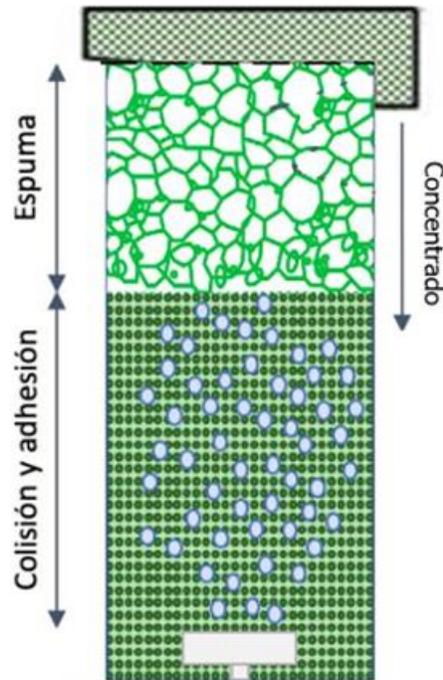


Figura 8 Columna de flotación con ozono. Adaptado de (Yianatos, 1989).

La relación de la altura y el diámetro de la columna ( $H/D$ ) tiene un impacto importante en el desempeño de la flotación. Se recomiendan  $H/D$  de 10 para velocidades de flujo de 150-600L/min (Yianatos, 1989).

La altura de la zona de colisión y adhesión afecta directamente la recuperación de las partículas suspendidas, entre mayor sea esta altura se recuperará un mayor porcentaje de las partículas iniciales pero, tendrá una menor concentración como lo reportan en los estudios (Ityokumbul, 1993; Yianatos et al., 1988) en columnas para recuperar minerales.

Existen diferentes modos de operar de las columnas de flotación en la Figura 9 se muestran algunos esquemas que los ejemplifican, en el caso de esta tesis la columna de ozono flotación operará por lote.

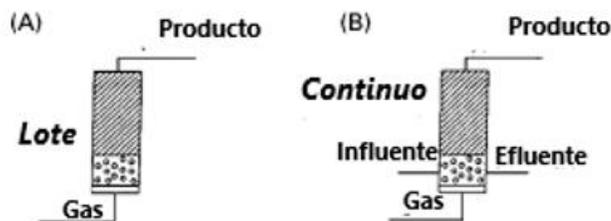


Figura 9 Diferentes modos de operación (Narsimhan, 1987).

Las condiciones de operación que pueden modificarse en una columna de flotación son la velocidad superficial del gas, el tamaño de burbuja, la concentración de entrada del gas y el modo de operación (Narsimhan, 1987).

#### 5.4.3.2 Resultados a escala laboratorio

Microalga/ medio	Vr	Condiciones	Cosechado	Eficiencia de transferencia	Referencia
Cultivo mixto BG11	1.9	DO: 0.16 SST: 1200 y 1800 Qg: 0.5L/min Cge: 45mg/L	SST 78.8% Proteínas 74.5% Lípidos 79.4% Carbohidratos 72.3%	64.2%	(Vielma Hernández, 2020)
Cultivo mixto	1 En continuo	DO: 0.14 SST: 400 Qg: 0.2L/min Cge: 20.9 mg/L	SST 68.9% Proteínas 21% Lípidos ND Carbohidratos 73%	87.5%	(Aranda Alvarado, 2019)
<i>Scenedesmus sp</i> <i>Agua residual</i>	1	DO: 0.16 SST: 500 Qg: 0.6L/min Cge: 6.67 mg/L	SST 88.5% Proteínas 40% Lípidos ND Carbohidratos ND	79.0%	(Alves et al., 2019)
<i>Scenedesmus sp</i> <i>Agua Residual</i>	1	DO: 0.16 SST: 1200 Qg: 0.6L/min Cge: 9.8 mg/L	SST 62% Proteínas 58% Lípidos 32% Carbohidratos 33%	95.0%	(Alves et al., 2018)
Cultivo mixto Lago Nabor Carrillo	0.95	DO: 0.23 SST: 419 Qg: 0.4L/min Cge: 45 mg/L	SST 79.6% Proteínas ND Lípidos 12% Carbohidratos ND	ND	(M. T. Valeriano González et al., 2016)
Cultivo mixto Lago Nabor Carrillo	0.95	DO: 0.14 SST: 400 Qg: 0.2L/min Cge: 7.2 mg/L	SST 75% Proteínas ND Lípidos 16% Carbohidratos ND	ND	(Velasquez- Orta et al., 2014)
<i>Scenedesmus</i> <i>obliquus</i> <i>Agua residual</i>	0.95	DO: 0.16 SST: 750 Qg: 1.5 L/min Cge: 25mg/L Aire: 4 min	SST 85% Proteínas 23% Lípidos 74% Carbohidratos 43%	ND	(M. Valeriano González, 2018)

Tabla 3 Resultados reportados ozono-flotación

En la tabla 3 se observa que:

- La DO usada en los estudios tiene un rango entre los 0.14 y los 0.23 mgO<sub>3</sub>/mg biomasa y los SST iniciales valores que oscilan entre los 400 a los 1800 mg biomasa/L cultivo.
- Se han reportado recuperación de biomasa mayor al 60% en todos los casos, siendo el mejor caso un 88.5% (Alves, 2019).
- No todos reportan la eficiencia de transferencia de ozono, aunque es importante notar que Alves 2018 obtuvo la mayor eficiencia con 95%, sin embargo, es la peor recuperación de biomasa con un 62%.

#### 5.4.3.3. Escalamiento de una columna

Para realizar un escalamiento exitoso de una columna de flotación convencional, es necesario observar la relación de la velocidad superficial del gas respecto al diámetro de la columna empleada, para generar un régimen definido de burbujas.

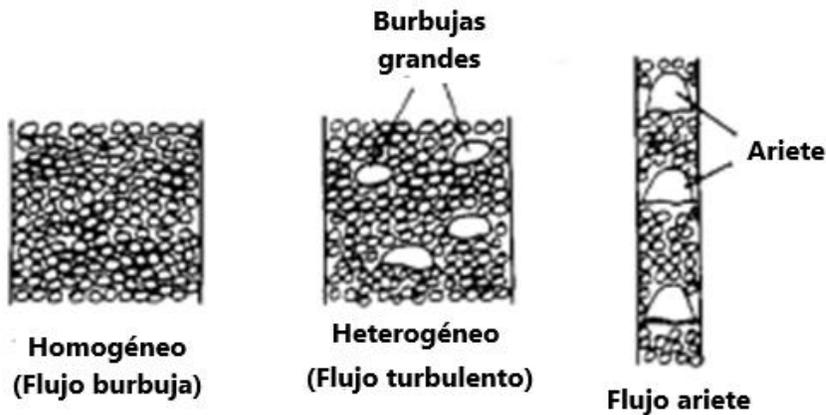
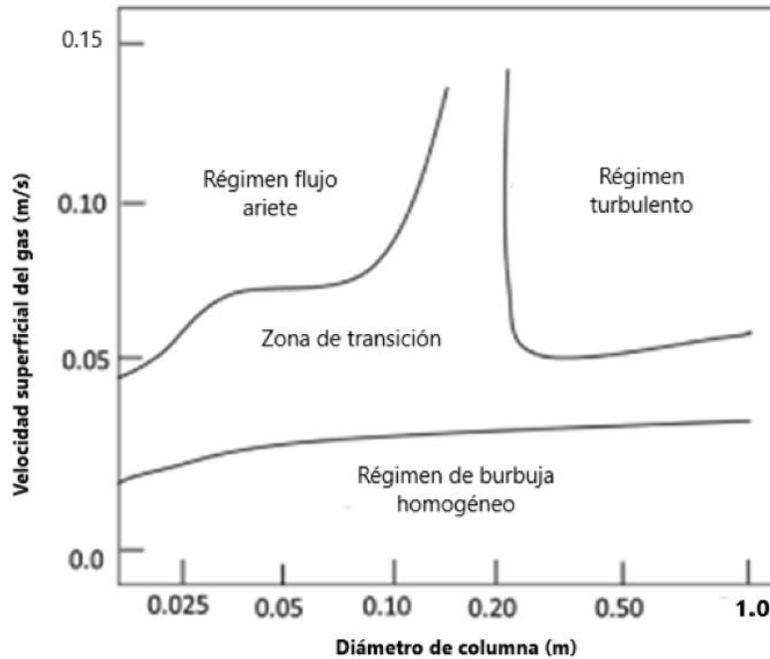


Figura 10 Régimen de operación en columna, traducido de (Yianatos, 1989).

A una baja velocidad superficial el flujo de gas se caracteriza por burbujas no perturbadas, la interacción entre burbujas es mínima, con diámetro pequeño y homogéneo. Este régimen hidrodinámico es llamado homogéneo o flujo burbuja ideal.

Si la velocidad del gas se incrementa y el reactor tiene un diámetro específico, por ejemplo, menor a un metro, la coalescencia entre burbujas empieza a ocurrir. Por lo tanto, aparecen burbujas con mayor tamaño y con geometría diferentes a esferas de manera dispersa. Sin embargo, no crecen de manera indefinida ya que se genera un equilibrio entre la coalescencia y el rompimiento. Esto lleva a un flujo denominado turbulento o heterogéneo.

Hay un comportamiento especial que ocurre en diámetros pequeños y velocidades de gas altas, las burbujas generadas pueden llegar a ocupar todo el diámetro de la columna y formar arietes. La gráfica 2 indica en un rango de 0-0.15 m/s de velocidad superficial y de 0-1m de diámetro de columna, el régimen donde se encuentra el gas.



Gráfica 2 Velocidad superficial vs diámetro de columna, traducido de (Prakash et al., 2018).

Las transiciones entre los diferentes regímenes no son exactas, ya que hay otros factores a considerar como la altura de dispersión de las burbujas, la velocidad del líquido en sistemas continuos y las propiedades fisicoquímicas de la fase líquida (Prakash et al., 2018).

Existen diferentes diseños a escala piloto e industrial que difieren de la columna de flotación tradicional, que se han utilizado para la remoción y recolección de biomasa microalgal. A continuación, se presentan algunos de los diagramas de los modelos utilizados y sus resultados de cosecha.

#### 5.4.3.4. Unidad de flotación piloto

El diseño en la figura 10 se utilizó para eliminar las algas presentes en el drenaje mediante la técnica de flotación por aire disuelto.

Cuenta con una zona de floculación para mejorar el mezclado de los sólidos suspendidos con el floculante, que contiene una paleta que trabaja a 25rpm promoviendo un mezclado homogéneo, la dosis de floculante se añade manualmente. Para alcanzar el tamaño deseado de las burbujas, es necesario un tanque de saturación para obtener una solución súper saturada de aire en agua. Los flóculos de microalgas flotan hasta la superficie donde la paleta removedora los lleva a la rampa de lodos para después dirigirlos a una zona de cosechado. Hay una salida para el clarificado libre de algas (Sim et al., 1988).

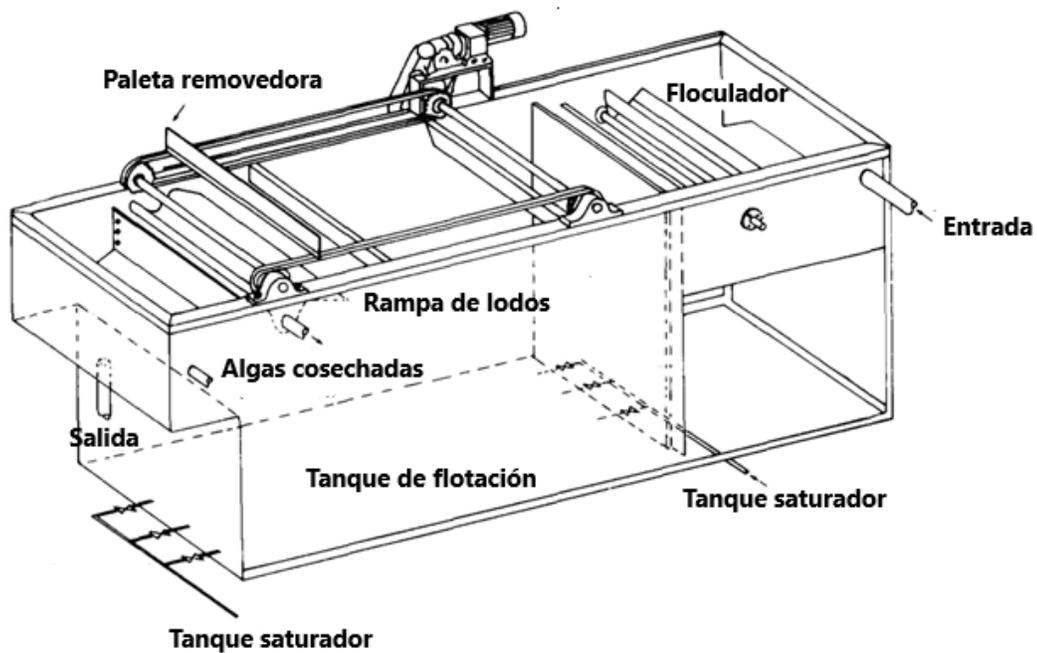


Figura 11 Unidad de flotación piloto, traducido de (Sim et al., 1988).

#### 5.4.3.5 Celda de Jameson

La celda de Jameson es una tecnología patentada de flotación por aire disuelto. Algunas de sus ventajas son que cuenta con un diseño más compacto y un menor costo de capital, al igual que mínimo mantenimiento y la posibilidad de operar a temperaturas elevadas.

Consta de dos secciones, el estanque de separación y el tubo de descenso o downcomer.

El downcomer o tubo de descenso es la principal característica que define a la celda de Jameson, consiste en un tubo vertical con dos líneas de entrada en la parte superior, la alimentación y la succión de aire, mientras la base se conecta con el tanque de separación.

En esta sección ocurre un contacto entre las partículas a separar y las burbujas de aire. La alimentación es impulsada por una bomba a través de una tobera con un diámetro pequeño creando un flujo jet de alta presión (Glencore technology, 2014).

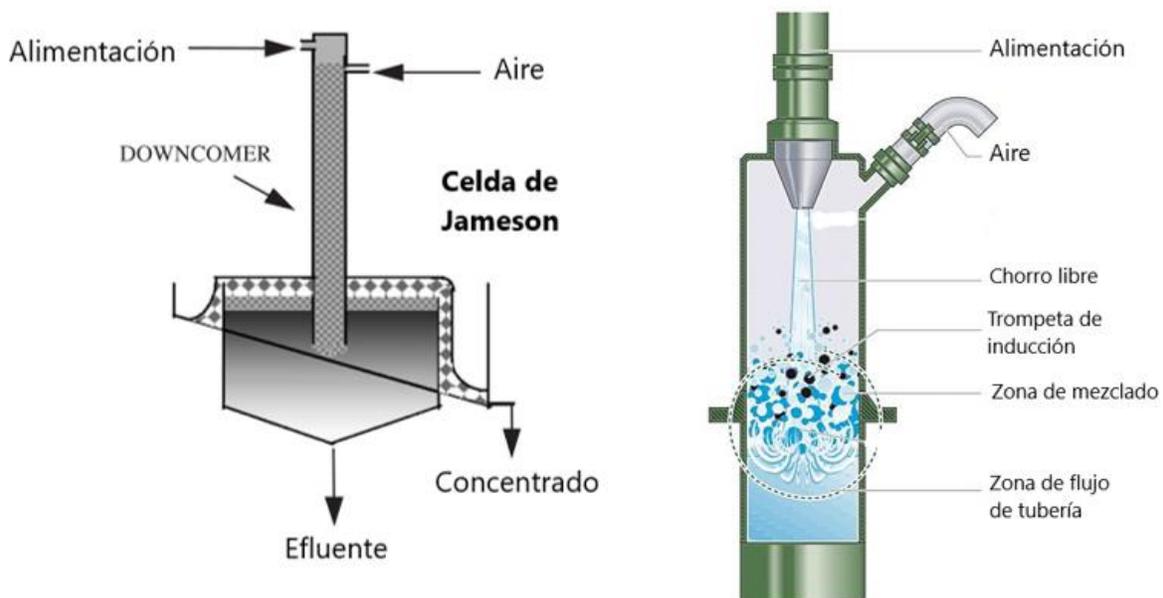


Figura 12 Celda de Jameson (Glencore technology, 2014).

El estanque de separación cuenta con dos secciones la zona de pulpa y la zona de espuma, con un tamaño menor al 30% de las columnas de flotación convencionales, utilizando el estanque principalmente como zona de calma para la separación de fases.

#### 5.4.3.6. Resultados flotación microalgas a nivel piloto e industrial

Como se observa en la tabla 4 la eficiencia de estos sistemas se ha evaluado con la capacidad de remoción de SST y nutrientes en el efluente tratado de agua, en vez de enfocarse en la biomasa cosechada y las biomoléculas presentes en ella, sin embargo, es importante comparar estos datos ya que son resultados a escala piloto e industrial, además el objetivo del proceso de ozono flotación es también tratar el efluente.

<b>Condiciones</b>	<b>Equipo/Volumen</b>	<b>Resultados</b>	<b>Referencia</b>
SST 685 mg/L TRH flotación 16h Consortio mixto obtenido de planta de tratamiento	Fotobioreactor + Flotación por aire disuelto  No reportado  65L	Remoción SST 59.2% Remoción DQO 56.4%  Remoción Nitrógeno total 48.3%  Remoción Fósforo total 51.7%	(Badawi et al., 2022)
SST 30mg/L Clorofila 73 mg/m <sup>3</sup> Algas del río Han	Unidad de flotación por aire disuelto  Floculante: policloruro de aluminio  0.72m <sup>3</sup>	Remoción SST 83% Remoción DQO 83%  Remoción Nitrógeno total 98%  Remoción Fósforo total 92%  Remoción clorofila 99%	(Nguyen et al., 2019)
SST 71 mg/L M. aeruginosa obtenidas de reservorio de agua potable	Celda de Jameson escala piloto  Floculante polimérico catiónico  1.2 kL/h	Remoción SST 92.8% Remoción Nitrógeno total 64.7%  Remoción Ortofosfatos 97.3%	(Yan & Jameson, 2004)
SST 1055 mg/L Consortio mixto obtenido de agua residual cruda	Unidad de flotación de aire disuelto piloto  Aluminio  9.75m <sup>3</sup>	Remoción SST 60%	(Sim et al., 1988)

Tabla 4 Resultados reportados flotación de algas a nivel piloto.

## 6. Metodología

En esta sección se detalla el proceso para alcanzar los objetivos planteados, compuesta de cuatro partes principales detalladas en el siguiente diagrama.

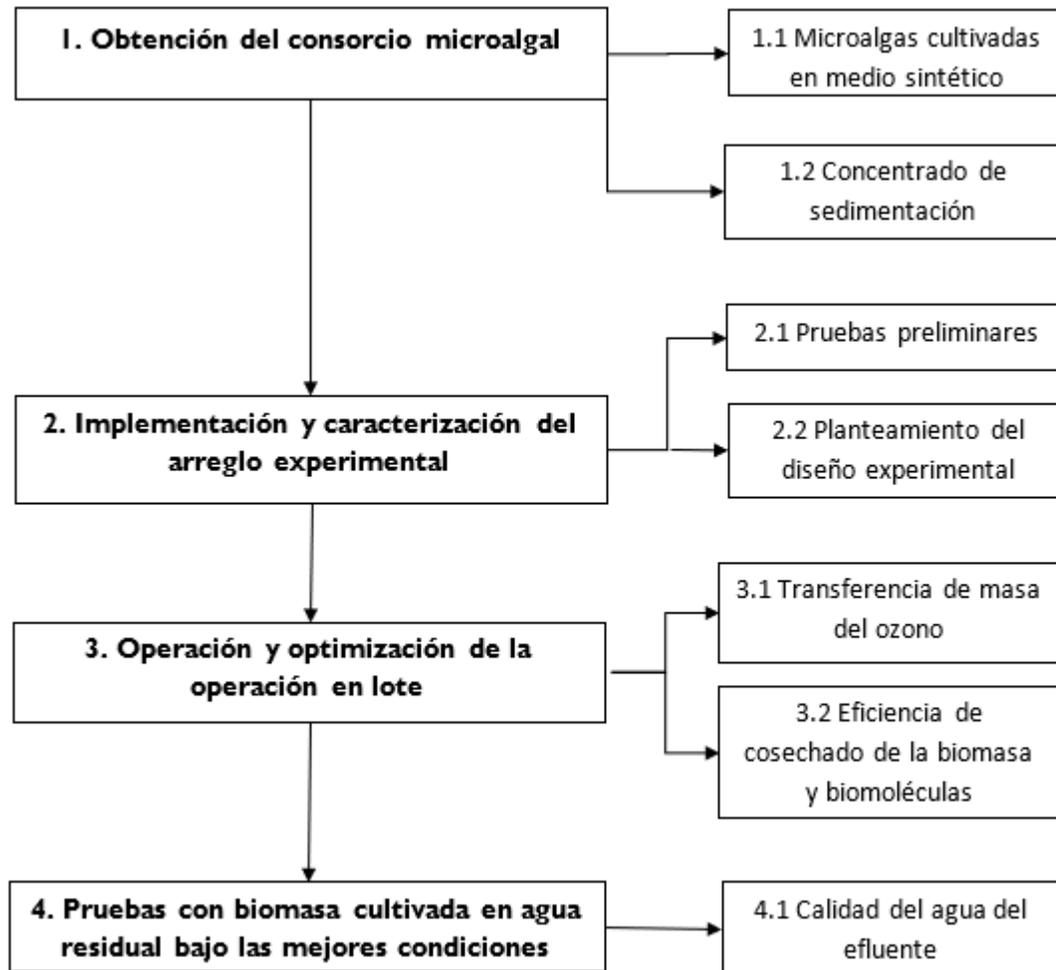


Figura 13 Planteamiento del diseño experimental.

## 6.1. Obtención de microalgas

Las microalgas se obtuvieron del sistema piloto de tratamiento de agua residual “Atzintli”, en el que se cultiva un consorcio mixto de microalgas, con predominancia de los géneros *Scenedesmus* y *Desmodesmus*, en un reactor de alta tasa con un volumen de trabajo de 1.2m<sup>3</sup>. Después, el cultivo resultante pasa a un sedimentador de alta tasa para obtener un concentrado de biomasa. Una simplificación del proceso se observa en la Figura 13.

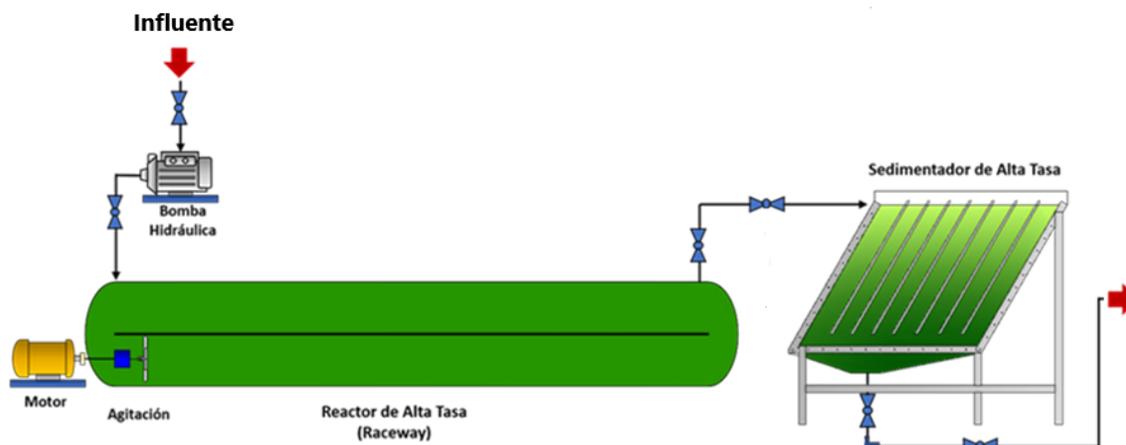


Figura 14 Modelo didáctico ATZINTL.

Debido a las condiciones de la pandemia la planta de la FCPyS no pudo operar de manera regular, por lo tanto, las microalgas aclimatadas para crecer en agua residual fueron cultivadas en medio sintético BG11 para disponer de microalgas para la realización de pruebas preliminares y la aplicación de un diseño de experimentos. Posteriormente, las mejores condiciones de cosechado fueron replicadas con microalgas cultivadas en agua residual, una vez que las condiciones de la PTAR FCPyS se reanudaron.

Las muestras concentradas se diluyeron con agua de la llave para alcanzar la concentración en SST deseada en las diferentes pruebas en la columna de ozonoflotación.

## 6.2. Implementación del arreglo experimental

El reactor piloto de ozono-flotación, fue fabricado en el Taller de soplado de vidrio de la Facultad de Química, con una capacidad máxima de 12L.

La columna cuenta con un diámetro de 30 cm y una altura total de 135 cm. En la parte superior de la columna, tiene adaptaciones para entrada y salida del gas, y cuenta además puntos de muestreo como se indica en la Figura 15.

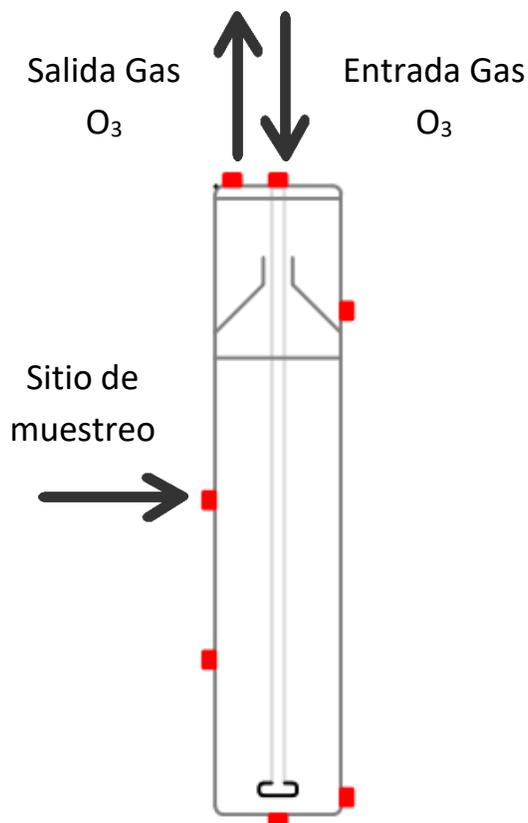


Figura 15 Columna piloto de ozono-flotación.

El sistema experimental de la Figura 16 muestra como el aire del medio ambiente pasa a través de un separador de aire, generando una corriente gaseosa libre de humedad y enriquecida con oxígeno. Este flujo es dirigido a un generador de ozono (Pacific Ozone), cuyo flujo alimenta la columna piloto de ozono flotación a través de un difusor de placa porosa, donde se generan las burbujas de gas que interactuando con el cultivo de microalgas generan el fenómeno de espumación. La espuma se concentra por gravedad en el reservorio durante la operación de la columna, el cual se vacía al término de la operación. La salida del gas se dirige a un lavador de gases con una solución de 200ml de yoduro de potasio (KI) al 2% para la cuantificación de ozono en fase gas a la salida del reactor.

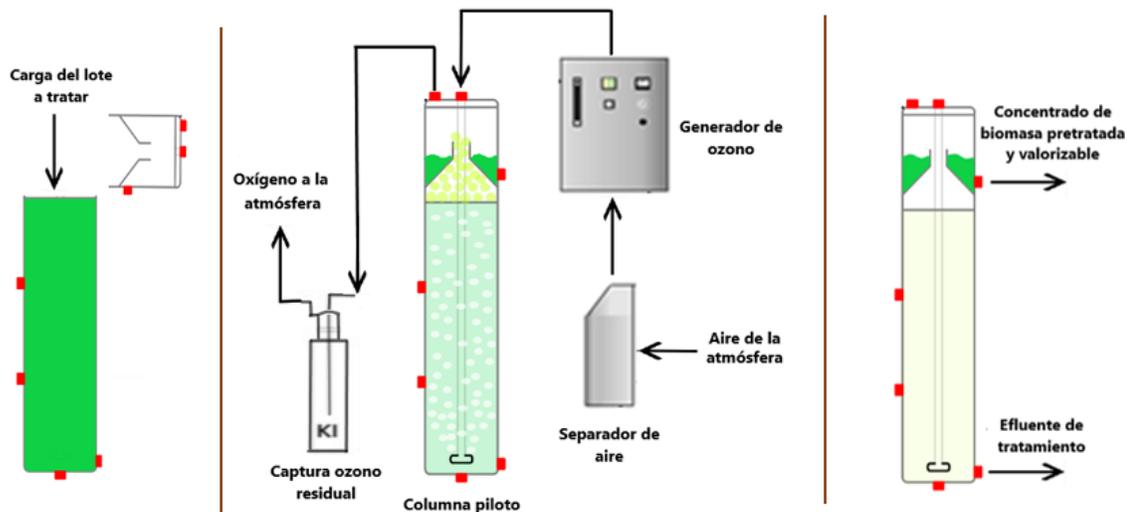


Figura 16 Arreglo experimental implementado.

### 6.3. Operación y optimización de la operación en lote

#### 6.3.1. Pruebas preliminares de operación por Lote

Como base de la operación se tomaron en cuenta la  $DO=0.16 \text{ mg}_{O_3}/\text{mg}_{\text{biomasa}}$  reportadas por otros estudios del grupo de trabajo (Alves-Oliveira et al., 2019; Aranda, 2019; Valeriano 2018), también se realizaron pruebas de cosechado con una  $DO:0.23 \text{ mg}_{O_3}/\text{mg}_{\text{biomasa}}$  como los reporto (Velásquez Orta 2014), teniendo como variables independientes la concentración inicial de microalgas como SST (500mg SST/L cultivo, 750mg/L, 1000mg/L, 1250 mg/L), la concentración del gas  $O_3$  de entrada del reactor (24mg $O_3$ /L gas, 44mg $O_3$ /L y 90 mg $O_3$ /L), el volumen de operación del reactor (10.5, 11 y 11.5 L) y como variables de respuesta se obtuvieron el porcentaje de cosechado de biomasa, biomoléculas y la eficiencia de transferencia de ozono.

#### 6.3.2. Diseño experimental para la optimización de la operación por lote

Se consideraron las condiciones de operación de los ensayos preliminares que arrojaron los mejores resultados de cosecha y transferencia de masa de ozono, para elaborar un diseño de experimentos. Como variables independientes se seleccionó la concentración inicial de microalgas como SST, la concentración del gas  $O_3$  de entrada y el volumen de operación del reactor.

Teniendo como parámetros de respuesta a la eficiencia de cosechado de biomasa y la transferencia de ozono. Con los resultados de las pruebas preliminares se determinó mantener una dosis de ozono en todas las pruebas experimentales de  $DO=0.23 \text{ mg}_{O_3}/\text{mg}_{\text{biomasa}}$ . En todas las pruebas se mantuvo al finalizar la aplicación de ozono un flujo de aire por 15 min para combinar el efecto de cosechado ozono-aire, como lo reporta (Valeriano, 2020).

Corrida	SST	Cge	Vr
1	700	44	11
2	1000	44	11
3	1400	44	11
4	700	89	11
5	1000	89	11
6	1400	89	11
7	700	44	11.5
8	1000	44	11.5
9	1400	44	11.5
10	700	89	11.5
11	1000	89	11.5
12	1400	89	11.5

Tabla 5 Diseño de experimentos propuesto

El diseño de experimentos propuesto es un diseño factorial 3x2x2 teniendo como parámetros de respuesta la eficiencia de cosechado, recuperación de biomoléculas (carbohidratos, lípidos y proteínas totales), factor de concentración y eficiencia de la transferencia de masa de ozono.

### 6.3.3. Ozono transferido

Para medir las concentraciones de O<sub>3</sub> en el gas a la entrada y salida del reactor se utilizó el método yodométrico que consta de burbujear la corriente gaseosa en 200ml de yoduro de potasio al 2% (Birdsall et al., 1952).

Se aplicaron las siguientes ecuaciones para el balance de masa de ozono en un reactor operado por lote.

$$DO = \frac{C_{ge} * Q_G * TRH}{V_r * SST}$$

Donde:

$DO$  es la dosis de ozono aplicada en  $\frac{mg_{O_3}}{mg_{biomasa}}$

$C_{ge}$  es la concentración de gas ozono a la entrada de la columna en  $mg_{O_3}/L$

$SST$  en  $mg_{biomasa}/L_{cultivo}$   $Q_G$  es el flujo de gas de entrada a la columna en  $L/min$

$V_r$  es el volumen de operación de la columna en  $L$

$TRH$  es el tiempo de retención hidráulica en  $min$

La dosis de ozono indica la cantidad de ozono que suministramos al sistema en la experimentación.

La eficiencia de transferencia de ozono se calculó de la siguiente manera:

$$ET(\%) = \frac{C_{ge} - C_{gs}}{C_{ge}} * 100$$

$C_{ge}$  es la concentración de  $O_3$  en el gas de entrada  $\frac{mg_{O_3}}{L}$

$C_{gs}$  es la concentración de  $O_3$  en el gas de salida en  $\frac{mg_{O_3}}{L}$

#### 6.3.4. Eficiencia de cosechado y biomoléculas de interés

Se calcularon los SST iniciales y finales para determinar la remoción en la columna, al igual que se determinaron en el cosechado para el cálculo de la eficiencia de cosechado de biomasa y el factor de concentración (FE). Se utilizó el método 2540 D normalizado para el análisis de agua residual (APHA,1992).

$$Factorconcentración = \frac{SST_{cosechado}}{SST_{iniciales}}$$

#### 6.3.5. Cuantificación de biomoléculas

El contenido de lípidos totales se determinó mediante la técnica sulfo-fosfovainilina (Knight et al., 1972). Mientras que el contenido de carbohidratos se realizó con el método fenol-ácido sulfúrico (Nielsen, 2003), por último, las proteínas se cuantificaron mediante el método alcalino y el método de Biuret (Safi et al., 2014).

### 6.4. Caracterización del efluente

En el agua del efluente de los experimentos con el mejor resultado de cosecha se determinaron los siguientes parámetros:

<b>Parámetro</b>	<b>Método analítico/Instrumento</b>
<i>DQO</i>	Método de digestión 8000 HACH
<i>Turbidez</i>	Turbidímetro 2100Q
<i>Nitratos</i>	Método 8039 HACH
<i>Nitrógeno amoniacal</i>	Método titulométrico 4500 NH3E APHA
<i>Ortofosfatos</i>	Método 8178 HACH
<i>Alcalinidad</i>	Método 8203 HACH

*Tabla 6 Métodos analíticos usados para determinar la calidad del agua.*

## 7. Resultados

### 7.1. Biomasa microalgal

La biomasa utilizada para las pruebas de ozono-flotación de microalgas fue cultivada en medio BG11 del 16 de abril al 17 de mayo del 2021. Se llevó registro de la cantidad de sólidos suspendidos totales en este periodo, alcanzando los 950 mg/L de biomasa seca medidos como sólidos suspendidos totales (SST).

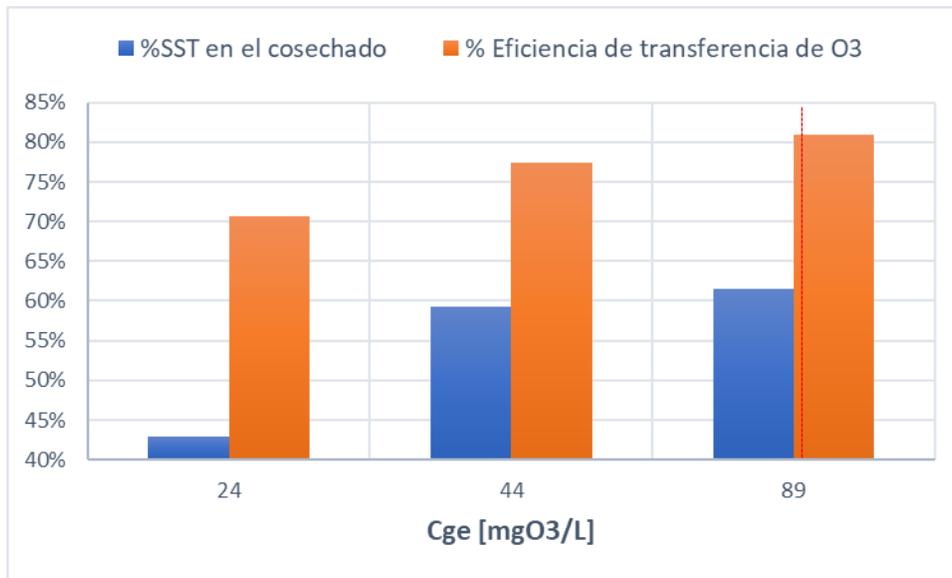
<b>Parámetro</b>	<b>Concentración Inicial (Reactor de alta tasa)</b>	<b>Concentración Final (Reactor de alta tasa)</b>	<b>Concentrado en Sedimentador de alta tasa</b>
SST (mg/L)	200	950	16,000
Volumen (L)	1200	1200	50

*Tabla 7 Volumen y concentración de biomasa de microalgas obtenidas después de 31 días de cultivo*

La concentración de biomasa obtenida tras el proceso de sedimentación fue de 16,000mg SST/L como se observa en la tabla 7. Se usaron 25L para reinocular el reactor de alta tasa y el volumen restante se utilizó en las pruebas de ozono-flotación.

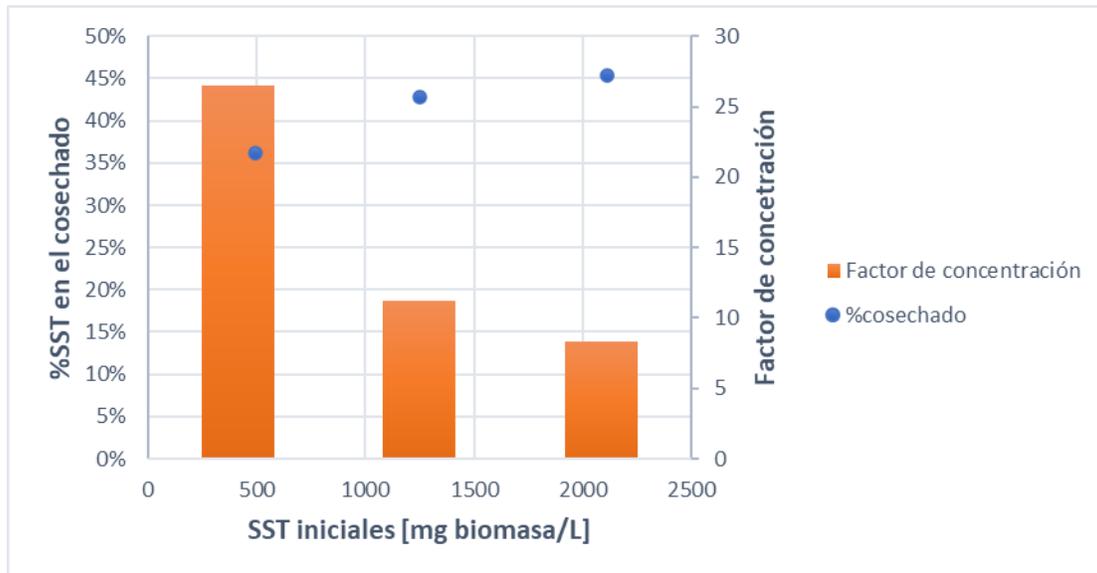
### 7.2. Pruebas preliminares

Se realizaron pruebas preliminares de cosechado de biomasa y recuperación de biomoléculas para tres variables de operación; la concentración de gas ozono ( $C_{ge}$ ; mgO<sub>3</sub>/L gas), la concentración inicial de microalgas medida como SST iniciales (mg SST/L cultivo), la dosis de ozono (DO, mg O<sub>3</sub>/mg microalgas inicial) y el volumen de operación (L), teniendo como parámetro de respuesta principal el porcentaje de biomasa cosechada y la eficiencia de transferencia del ozono. El flujo de gas ozono del equipo de generación PACIFIC OZONE, se mantuvo en 1.82 L/min.



Gráfica 3 Influencia de la concentración de O<sub>3</sub> del gas de entrada en el cosechado y transferencia de ozono imagen del generador.

La Cge de entrada de 22 mg/L fue descartada ya que el tiempo de ozonación resultaba demasiado largo para aplicar la misma DO, lo que compromete la calidad y porcentaje de lípidos recuperados (M. Valeriano González, 2018) además de presentar el menor porcentaje de recuperación de biomasa, como se muestra en la Gráfica 4.



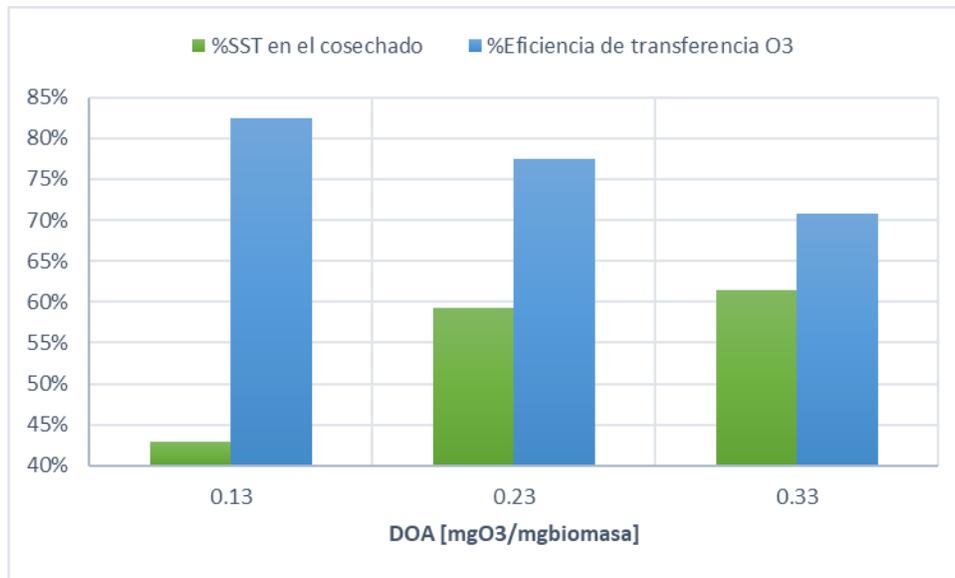
Gráfica 4 Influencia de los SST iniciales en el cosechado.

Por otra parte, también se determinó que el límite inferior de concentración de biomasa inicial fuera de 700 mg SST/L, considerando el rendimiento de microalgas que se obtiene en el reactor de alta tasa, y como límite superior 1400 mg SST/L.



*Gráfica 5 Influencia del volumen de operación de la columna piloto en el cosechado.*

El volumen de operación afecta la altura del nivel del líquido en la columna, y con ello la zona de colisión del gas de dispersión. De los volúmenes de trabajo seleccionados, se observa que hay un incremento en el porcentaje de SST cosechados con la altura del nivel del líquido (Gráfica 6); el volumen de 11 L(87.7cm) y 11.5L (92cm), mostraron los mejores resultados.



Gráfica 6 Influencia de la dosis de ozono aplicada en el cosechado y transferencia de masa.

La dosis de ozono escogida fue de 0.23 mgO<sub>3</sub>/mg ya que presenta un equilibrio entre la eficiencia de transferencia y los sólidos suspendidos totales cosechados. También se tomó en cuenta lo reportado por (M. Valeriano González, 2018) que refiere que entre mayor sea la DO la recuperación de lípidos puede llegar a disminuir.

### 7.3. Resultados diseño de experimentos

A partir de las pruebas preliminares se propusieron 12 corridas por duplicado, todas con una DO de 0.23mgO<sub>3</sub>/mg biomasa inicial y un flujo volumétrico gas de 1.82L/min. Ya que es el flujo menor que se puede suministrar lo que favorece la transferencia de masa de ozono, también se dejaron 15 min de aire en todas las pruebas para favorecer la recuperación de biomasa como lo reporta (M. Valeriano González, 2018; M. T. Valeriano González et al., 2016). Todas las pruebas fueron realizadas a temperatura ambiente entre 16-19°C en los meses de octubre a diciembre del año 2021, a una presión de operación entre 7-8 psi.

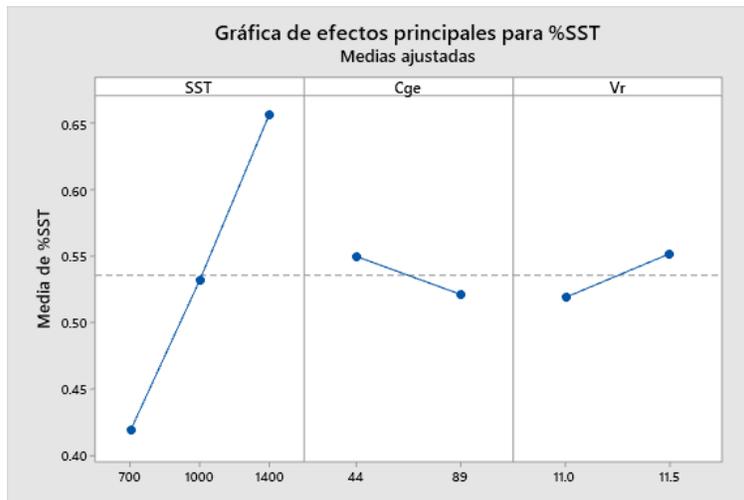
Corrida	SST mg/L	Cge mgO <sub>3</sub> /L	Vr(L)	%SST	ET	%PROT	%LIP	%CARB	FC
1	700	44	11	47.6%	82.2%	31.4%	30.3%	33.1%	30.8
2	700	44	11.5	41.2%	84.4%	28.3%	25.7%	32.1%	31.6
3	700	89	11	46.3%	79.8%	29.8%	29.2%	37.6%	30.9

4	700	89	11.5	40.8%	82.5%	26.3%	26.6%	29.0%	30.3
5	1000	44	11	53.3%	84.0%	24.5%	41.7%	41.6%	23.0
6	1000	44	11.5	55.3%	81.4%	30.2%	20.3%	43.2%	24.9
7	1000	89	11	51.4%	82.6%	34.5%	31.7%	47.0%	22.6
8	1000	89	11.5	52.1%	84.1%	37.9%	27.1%	46.8%	23.5
9	1400	44	11	63.2%	83.8%	35.6%	48.5%	46.5%	15.4
10	1400	44	11.5	73.6%	79.5%	39.6%	53.7%	51.6%	16.1
11	1400	89	11	60.5%	84.5%	35.8%	42.0%	62.8%	14.8
12	1400	89	11.5	66.2%	82.7%	37.4%	40.4%	46.4%	14.8
13	700	44	11	40.3%	83.5%	27.9%	29.1%	30.0%	32.3
14	700	44	11.5	42.1%	82.0%	33.4%	28.8%	31.1%	32.4
15	700	89	11	35.4%	80.2%	26.5%	29.9%	38.7%	31.1
16	700	89	11.5	41.0%	81.9%	27.1%	28.3%	30.1%	31.2
17	1000	44	11	52.2%	83.2%	31.3%	40.5%	39.3%	22.4
18	1000	44	11.5	57.0%	80.1%	33.8%	22.4%	44.7%	23.6
19	1000	89	11	50.1%	81.3%	33.7%	29.9%	45.1%	23.7
20	1000	89	11.5	54.0%	80.2%	36.7%	26.4%	45.3%	22.9
21	1400	44	11	63.0%	82.7%	34.8%	49.3%	46.1%	15.9
22	1400	44	11.5	71.0%	81.2%	40.5%	52.4%	50.7%	15.7
23	1400	89	11	59.5%	82.9%	35.6%	40.2%	60.8%	14.3
24	1400	89	11.5	68.0%	81.9%	38.4%	42.0%	48.1%	13.7

*Tabla 8 Resultados experimentales de las pruebas de ozono-flotación.*

En la tabla 9 se observan los resultados obtenidos, con los cuales se realizó el análisis de las variables de respuesta en el diseño de experimentos 3x2x2.

### 7.3.1. Resultados cosecha de biomasa



Gráfica 7 Gráficas de efectos principales de la cosecha de biomasa

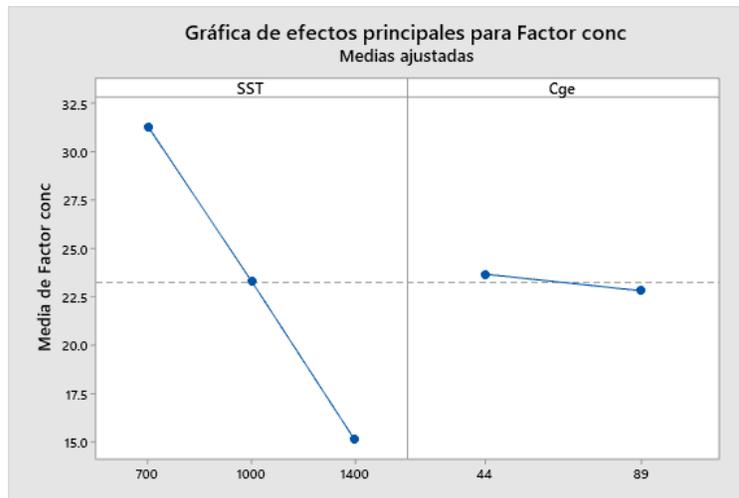
Se determinó que la variable que más influye en el cosechado de biomasa microalgal es la concentración inicial de microalgas medida como SST, seguido por el volumen del reactor y por último la Cge como la variable que influye en menor medida en la cosecha.

Se observa una relación directamente proporcional entre el aumento en los SST iniciales y el porcentaje de biomasa recuperado en el cosechado.

La concentración de ozono a la entrada tiene una relación inversa con la recuperación de biomasa. Ambas interacciones también son reportadas por (Rodríguez, 2015) que refiere que la concentración de SST y la Cge son variables determinantes en la recuperación de biomasa.

El volumen de operación que afecta el nivel del líquido en la columna, favorece la recuperación de SST siendo consistente con lo observado en las pruebas preliminares al igual que lo reportado por (Ityokumbul, 1993; Yianatos et al., 1988) en columnas de flotación. Recordando la diferencia de altura en la zona de colisión es de 4.3cm, 92 cm en el volumen de 11.5L y 87.7 cm en el volumen de 11L.

### 7.3.2. Resultados Factor de concentración



Gráfica 8 Gráfica de efectos principales del factor de concentración.

En el caso del factor de concentración solo es afectado por la concentración inicial de biomasa medido como SST y la Cge, mientras que el volumen del reactor no mostró un efecto significativo.

Entre mayor es la concentración inicial de microalgas (SST iniciales) menor es el factor de concentración. Esto tiene sentido ya que el concentrado de biomasa cosechado alcanza una concentración promedio en todas las corridas de  $21.7 \pm 1.0$  g biomasa/L en las condiciones estudiadas, por lo tanto, a través de la definición del factor de concentración observamos que entre más aumente el denominador, en este caso los SST, será menor el factor de concentración.

$$Factorconcentración = \frac{SST_{cosechado}}{SST_{iniciales}} \approx \frac{21,700}{SST_{iniciales}}$$

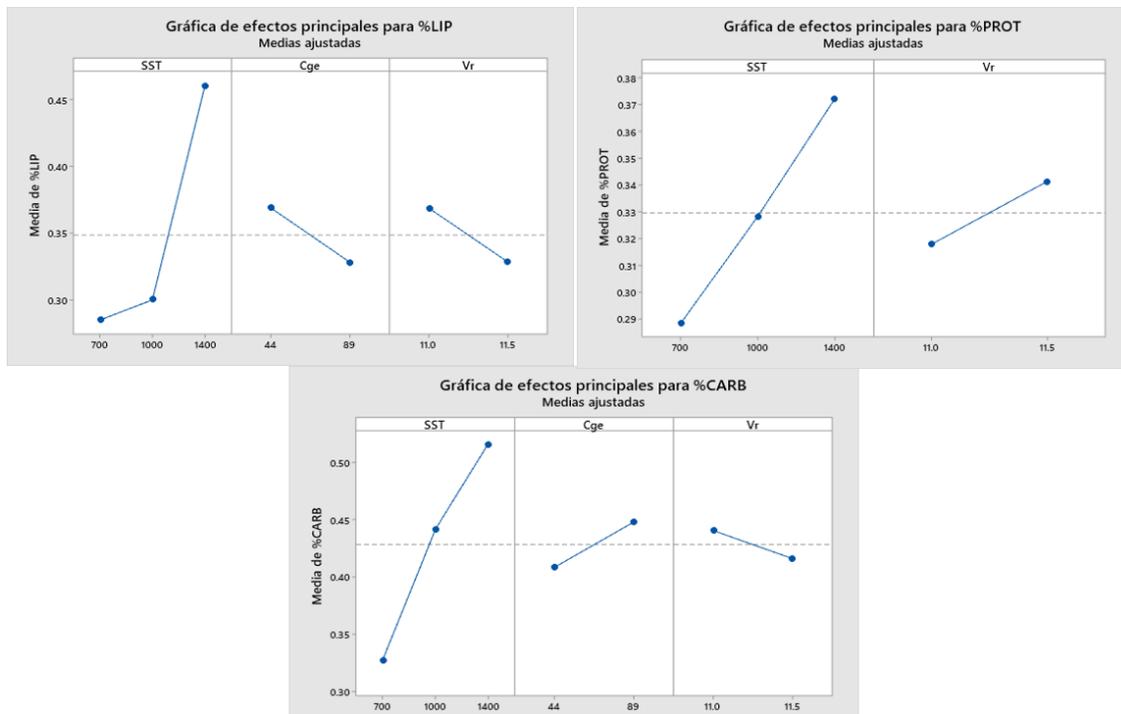
$$Factorconcentración_{700} \approx 31$$

$$Factorconcentración_{1000} \approx 21.7$$

$$Factorconcentración_{1400} \approx 15.5$$

El otro factor que influye es la concentración del gas ozono de entrada, entre mayor sea menor será el factor de concentración.

### 7.3.3. Resultados recuperación de biomoléculas



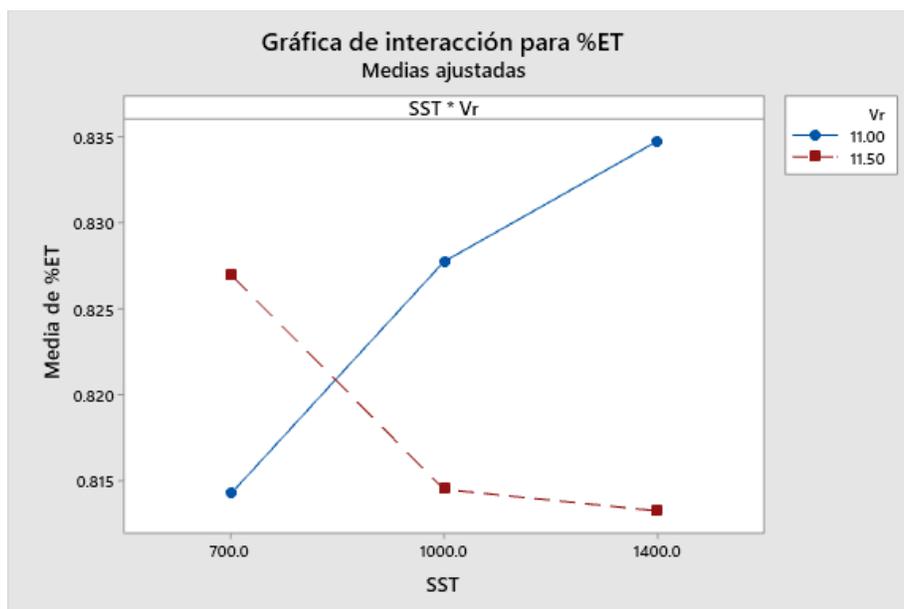
Gráfica 9 Gráficas de efectos principales para la recuperación de proteínas, carbohidratos y lípidos.

La variable con mayor impacto son los SST, mientras sean mayores es mayor la recuperación de lípidos, carbohidratos y proteínas. Haciendo énfasis en las proteínas es también reportado por (Aranda Alvarado, 2019; M. T. Valeriano González et al., 2016; Vielma Hernández, 2020) que indican que hay una relación directa entre la recuperación de biomasa y la recuperación de proteínas, puesto que el proceso de ozono-flotación se genera por las proteínas liberadas por las microalgas, actuando como surfactantes que generan la espuma que es acarreada por el gas.

(Valeriano,2020) llegó a la conclusión que una mayor recuperación de biomasa microalgal no implica necesariamente un aumento en la recuperación de lípidos, en nuestro diseño la mejor condición de cosechado de biomasa sí coincide con la mayor recuperación de lípidos.

También explica que concentraciones de ozono en fase gas más altas, se puede relacionar con la peroxidación lipídica que ocurre en ácidos grasos insaturados, algo que se ve reflejado en los resultados que el aumento de la Cge afecta negativamente la recuperación de lípidos.

### 7.3.4. Resultados transferencia de masa de ozono



Gráfica 10 Gráfica de efectos principales para la eficiencia de transferencia de masa del ozono.

La única variable que afecta la transferencia de masa del ozono en el diseño propuesto son los efectos combinados de la concentración inicial de SST con el volumen del reactor, teniendo una relación directa. Esto se puede deber a hay una mayor cantidad inicial de materia orgánica con que reaccionar y mayor tiempo de interacción entre las burbujas y el cultivo.

### 7.3.5. Resumen interacciones

Condición de operación/Variable de respuesta	SST iniciales	Concentración de O <sub>3</sub> en gas de entrada C <sub>ge</sub>	Volumen de operación del reactor Vr
<i>Recuperación de SST</i>	Relación directa	Relación inversa	Relación directa
<i>Recuperación de lípidos</i>	Relación directa	Relación inversa	Relación inversa

<i>Recuperación de carbohidratos</i>	Relación directa	Relación directa	Relación inversa
<i>Recuperación de proteínas</i>	Relación directa	Relación directa	Relación directa
<i>Eficiencia de transferencia de ozono</i>	Efecto combinado Vr	No impacta	Efecto combinado SST iniciales
<i>Factor de concentración</i>	Relación inversa	Relación inversa	No impacta

Tabla 9 Resumen de interacciones encontradas en el diseño de experimentos.

La variable más importante encontrada en este análisis es la concentración inicial de SST, ya que afecta a todas las variables de respuesta, entre más SST mayor será el porcentaje cosechado y la eficiencia de transferencia. Estos resultados concuerdan con lo reportado por (Orta Ledesma de Velásquez et al., 2017; Rodríguez, 2015; Vielma Hernández, 2020).

### 7.3.6. Mejores condiciones de cosechado

Las mejores condiciones de operación para la recuperación de biomasa microalgal en operación por lote, se resumen en la Tabla 11:

<b>SST iniciales</b>	<b>Flujo de gas de entrada</b>	<b>Concentración de <math>O_3</math> en gas</b>	<b>Volumen de trabajo</b>
$1400 \frac{mg_{biomasa}}{L}$	$1.8 \frac{L}{min}$	$44 \frac{mg_{O_3}}{L}$	11.5 L
<b>TRH</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Presión de operación</b>	<b>DO</b>
46 min $O_3$ + 15 min aire	17 °C	7-8 psi	$0.23 \frac{mg_{O_3}}{mg_{biomasa}}$

Tabla 10 Condiciones de operación óptimas para la operación por lote de la columna piloto de flotación con ozono.

Con estas condiciones obtenemos los siguientes resultados:

<b>SST cosechados</b>	<b>Carbohidratos cosechados</b>	<b>Lípidos cosechados</b>	<b>Proteínas cosechadas</b>
72%	51%	53%	40%
<b>ET de <math>O_3</math></b>	<b>SST en el clarificado</b>	<b>SST en el cosechado</b>	<b>Factor de concentración</b>
80%	$100 \frac{mg_{biomasa}}{L_{clarificado}}$	$22 \frac{g_{biomasa}}{L_{cosechado}}$	16

Tabla 11 Resultados obtenidos bajo condiciones de operación óptimas en un proceso por lote en la columna piloto.

Bajo las condiciones óptimas se logró aprovechar el 80% del ozono suministrado, recuperando más del 70% de la biomasa inicial en un cosechado con una concentración de 22 g/L, 16 veces más que la concentración original de 1,400 mg/L.

### 7.3.7. Repetición de mejores condiciones con microalgas cultivada en agua residual

Se cultivaron microalgas por 30 días con agua residual diluida al 50% con agua de la red en los meses de noviembre-diciembre del año 2021, como parte del proceso de adaptación del consorcio al efluente secundario de la planta.

El contenido de biomoléculas presentes en la biomasa se compara con otros estudios en la siguiente tabla 14:

Microalga	Medio de cultivo	Proteínas	Lípidos	Carbohidratos	Referencia
		mg Proteínas/ g biomasa	mg Lípidos/ g biomasa	mg proteínas/ g biomasa	
Consortio mixto	Agua residual (Efluente secundario)	110	75	214	Este trabajo
Consortio mixto	BG 11	114	92	171	Este trabajo
Consortio mixto	Agua residual (Efluente secundario)	374	69.9	242.9	(Vielma Hernández, 2020)
<i>Scenedesmus sp.</i>	Agua residual (Efluente secundario)	ND	123.3	68.9	(Frasca, 2019)
<i>Scenedesmus obliquus</i>	BG11	336.3	253.4	459	(de Farias Silva et al., 2018)
<i>Scenedesmus sp.</i>	Agua residual (Efluente secundario)	85	108	189	(M. Valeriano)

					González, 2018)
<i>Desmodesm us sp.</i>	Agua residual (Efluente secundario)	ND	365.5	207.6	(Fournier, 2015)

Tabla 12 Biomoléculas presentes en microalgas.

En la tabla 14 se observa que la cantidad de biomoléculas presentes después del proceso de cultivo se encuentra dentro de lo reportado por otros autores, al igual que el contenido de biomoléculas fue similar entre los dos medios de cultivo utilizados (BG11 y agua residual).

Se repitieron pruebas con las mejores condiciones de cosechado por duplicado con ambos medios y se obtuvieron los siguientes resultados:

<b>Parámetros</b>	<b>BG11</b>	<b>Agua residual</b>	<b>Diferencia porcentual</b>
%SST	72%	71%	1%
Factor conc	16.1	15.7	1%
%ET	80%	83%	3%
%PROT	40%	39%	2%
%LIP	53%	54%	2%
%CARB	51%	63%	18%
Remoción SST	94%	83%	12%

Tabla 13 Comparación de la biomasa utilizada en las pruebas bajo las mejores condiciones de cosechado.

Los resultados en el cosechado no difieren más del 5% a excepción en el clarificado donde se observa menor remoción de SST y en la cosecha de carbohidratos. Lo que refiere que las condiciones de operación encontradas en el diseño de experimentos generan resultados comparables en la cosecha de biomasa y la transferencia de ozono, independientemente del medio de cultivo utilizado para la obtención de la biomasa.

	<b>DQO</b>	<b>Nitratos</b>	<b>Alcalinidad</b>	<b>Ortofosfatos</b>	<b>Nitrógeno amoniacal</b>
Inicial mg/L	85.7	1.1	124	0.48	No detectable
Final mg/L	6.8	0.3	49.6	0.32	No detectable
Remoción	92%	73%	60%	33%	

Tabla 14 Remoción de parámetros de calidad del agua en la prueba de ozono-flotación.

El mayor porcentaje de remoción lo presenta la DQO debido a la separación de la biomasa y en menor medida al efecto del ozono como oxidante, el porcentaje de los demás parámetros refleja un impacto positivo del proceso de ozono flotación en la calidad de agua del efluente. El nitrógeno amoniacal no fue detectable desde un inicio imposibilitando observar el efecto del proceso en este parámetro.

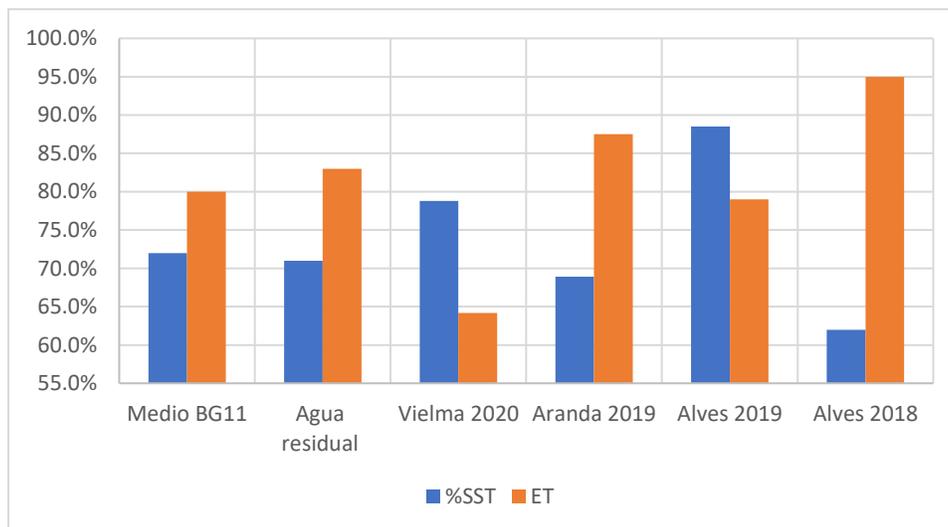
## 7.4 Síntesis de resultados

<b>Microalga/ medio</b>	<b>Volumen</b>	<b>Condiciones</b>	<b>Cosechado</b>	<b>Eficiencia de transferencia</b>	<b>Referencia</b>
Cultivo mixto Agua residual	11.5L	DO: 0.23 SST: 1400 mg/L Qg: 1.8L/min Cge: 44mg/L Aire: 15min	SST 71% Proteínas 39% Lípidos 54% Carbohidratos 63%	83%	Este trabajo
Cultivo mixto BG11	11.5L	DO: 0.23 SST: 1400 mg/L Qg: 1.8L/min Cge: 44mg/L Aire: 15min	SST 72% Proteínas 40% Lípidos 53% Carbohidratos 51%	80%	Este trabajo
Cultivo mixto BG11	1.9	DO: 0.16 SST: 1200 y 1800 Qg: 0.5L/min Cge: 45mg/L	SST 78.8% Proteínas 74.5% Lípidos 79.4% Carbohidratos 72.3%	64.2%	(Vielma Hernández, 2020)
Cultivo mixto Agua residual	1L En continuo	DO: 0.14 SST: 400 Qg: 0.2L/min Cge: 20.9 mg/L	SST 68.9% Proteínas 21% Lípidos ND Carbohidratos 73%	87.5%	(Aranda Alvarado, 2019)
<i>Scenedesmus</i> <i>sp</i> Agua residual	1L	DO: 0.16 SST: 500 Qg: 0.6L/min Cge: 6.67 mg/L	SST 88.5% Proteínas 40% Lípidos ND Carbohidratos ND	79%	(Alves et al., 2019)
<i>Scenedesmus</i> <i>sp</i> Agua Residual	1L	DO: 0.16 SST: 1200 Qg: 0.6L/min Cge: 9.8 mg/L	SST 62% Proteínas 58% Lípidos 32% Carbohidratos 33%	95%	(Alves et al., 2018)

Cultivo mixto Lago Nabor Carrillo	0.95	DO: 0.23 SST: 419 Qg: 0.4L/min Cge: 45 mg/L	SST 79.6% Proteínas ND Lípidos 12% Carbohidratos ND	ND	(M. T. Valeriano González et al., 2016)
Cultivo mixto Lago Nabor Carrillo	0.95	DO: 0.14 SST: 400 Qg: 0.2L/min Cge: 7.2 mg/L	SST 75% Proteínas ND Lípidos 16% Carbohidratos ND	ND	(Velasquez-Orta et al., 2014)
<i>Scenedesmus obliquus</i> Agua residual	0.95	DO: 0.16 SST: 750 Qg: 1.5 L/min Cge: 25mg/L Aire: 4 min	SST 85% Proteínas 23% Lípidos 74% Carbohidratos 43%	ND	(M. Valeriano González, 2018)

Tabla 15 Resultados obtenidos de las pruebas de flotación con ozono.

En la tabla 17 se anexa los resultados obtenidos en la realización de este trabajo junto con los resultados reportados a escala laboratorio en los que se basó el trabajo para realizar el escalamiento.



Gráfica 11 Resultados de %SST recuperados y eficiencia de transferencia de este trabajo vs diferentes autores.

En la gráfica 13 se presentan por medio de gráficas de barra los resultados obtenidos de la eficiencia de transferencia de ozono(naranja) y de la recuperación de biomasa(azul) en la experimentación y por los autores que reportaron ambos resultados a escala laboratorio (Vielma, 2020; Aranda, 2019; Alves, et al 2018; Alves, et al 2019). Se observa que los resultados obtenidos presentan valores dentro del rango de lo reportado a escala laboratorio.

Se puede concluir que el escalamiento del proceso a un volumen de operación 11.5 L fue exitoso, basándonos en que los resultados de recuperación de SST, biomoléculas y la eficiencia de transferencia son comparables a los alcanzados a escala laboratorio.

## 8. Conclusiones

Al implementar la operación de la columna piloto de ozono-flotación, se obtuvieron resultados dentro del rango reportado en escala laboratorio, respecto a la eficiencia de cosechado de biomasa, biomoléculas de interés y transferencia de masa de ozono, logrando un escalamiento exitoso de las condiciones de operación del proceso escala laboratorio a la columna de 12L.

De los resultados del diseño de experimentos se concluye que la concentración inicial de biomasa, fue la variable de operación del proceso de ozono-flotación que más influye en la cosecha de biomasa microalgal, recuperación de biomoléculas y transferencia de ozono.

Las mejores condiciones de operación obtenidas para la columna piloto de ozono-flotación en operación por lote fueron las siguientes: SST iniciales, 1400 mg/L; Cge 44mgO<sub>3</sub>/L; Vr 11.5L; con un flujo de gas de 1.82 L/min , a una presión de operación de 7-8 psi y para una temperatura entre 16-19°C.

Las eficiencias del proceso de ozono-flotación, obtenidas con microalgas cultivadas en medio BG11 y en agua residual respectivamente, fueron las siguientes: 72 y 71% de biomasa microalgal; 40 y 39% de proteínas; 53 y 54% de lípidos; 51 y 63% de carbohidratos, con una eficiencia de transferencia de masa de ozono del 80 y 83%, respectivamente. Adicionalmente, se lograron remociones del 92% de DQO (con una concentración final de 6.8 mg/L), 72% nitratos (con una concentración final de 0.3 mg/L), 33% ortofosfatos (con una concentración final de 0.32 mg/L), en el efluente final de agua residual.

## 9. Recomendaciones

Caracterizar y optimizar más variables cuando se implemente su operación en continuo como lo es la relación volumétrica gas-líquido ( $Q_G/Q_L$ ).

Reportar las variables de respuesta en diferentes estaciones y horas del día a la intemperie, ya que la solubilidad del ozono en fase acuosa es dependiente de la temperatura y para su implementación en la planta Atzintli, va a enfrentar diversas condiciones meteorológicas.

## 10. Referencias

- Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A. A., & Ibraheem, I. B. M. (2012). Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *19*(3), 257–275. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005>
- Alves, G., Carissimi, E., Monje-Ramírez, I., Velasquez-orta, S. B., Teixeira, R., Teresa, M., & Ledesma, O. (2018). Bioresource Technology Comparison between coagulation- flocculation and ozone- flotation for *Scenedesmus* microalgal biomolecule recovery and nutrient removal from wastewater in a high-rate algal pond. *Bioresource Technology*, *259*(January), 334–342. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.072>
- Alves, G., Monje-Ramírez, I., Carissimi, E., Teixeira, R., Velasquez-orta, S. B., Concepción, A., Mejía, C., Teresa, M., & Ledesma, O. (2019). Separation and Purification Technology The effect of bubble size distribution on the release of microalgae proteins by ozone- flotation. *Separation and Purification Technology*, *211*(September 2018), 340–347. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.10.005>
- Aranda Alvarado, C. (2019). *Cosecha de biomasa microalgal mediante un proceso continuo de ozoflotación en un reactor tipo espumador* [Universidad Nacional Autónoma de México].
- Arbib, Z., Ruiz, J., Álvarez-Díaz, P., Garrido-Pérez, C., & Perales, J. A. (2014). Capability of different microalgae species for phytoremediation processes: Wastewater tertiary treatment, CO<sub>2</sub> bio-fixation and low cost biofuels production. *Water Research*, *49*, 465–474. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.10.036>
- Badawi, A. K., Ismail, B., Baaloudj, O., & Abdalla, K. Z. (2022). Advanced wastewater treatment process using algal photo-bioreactor associated with dissolved-air flotation system: A pilot-scale demonstration. *Journal of Water Process Engineering*, *46*(October 2021), 102565. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2022.102565>
- Birdsall, C. M., Jenkins, A. C., & Spadinger, E. (1952). Iodometric Determination of Ozone. *Analytical Chemistry*, *24*(4), 662–664. <https://doi.org/10.1021/ac60064a013>
- Cheng, Y. S., Labavitch, J. M., & Vandergheynst, J. S. (2015). Elevated CO<sub>2</sub> concentration impacts cell wall polysaccharide composition of green microalgae of the genus *Chlorella*. *Letters in Applied Microbiology*, *60*(1), 1–7. <https://doi.org/10.1111/lam.12320>
- Collet, P., Hélias, A., Lardon, L., Ras, M., Goy, R., & Steyer, J. (2011). Bioresource Technology Life-cycle assessment of microalgae culture coupled to biogas production. *Bioresource Technology*, *102*(1), 207–214. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.154>
- Danquah, M. K., Gladman, B., Moheimani, N., & Forde, G. M. (2009). *Microalgal growth characteristics and subsequent influence on dewatering efficiency*. *151*, 73–78. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.01.047>
- Dassey, A. J., & Theegala, C. S. (2013). Bioresource Technology Harvesting economics and strategies using centrifugation for cost effective separation of microalgae cells for biodiesel applications. *Bioresource Technology*, *128*, 241–245.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.061>

- de Farias Silva, C. E., Meneghello, D., & Bertucco, A. (2018). A systematic study regarding hydrolysis and ethanol fermentation from microalgal biomass. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 14(November 2017), 172–182. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.02.016>
- 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*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Frasca, E. R. (2019). *Generación de biomasa microalgal crecida en agua residual doméstica para la producción de bioetanol empleando levaduras silvestres*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- García, M., Fuster, A., Perrone, R., & Sustersic, P. (2002). *Ozono ¿ De Qué Se Trata ?*
- Gómez, D. C. (2022). *Uso de un consorcio microalgal para el tratamiento de agua residual y remoción de metales*. [Universidad Nacional Autónoma de México]. [https://amyd.quimica.unam.mx/pluginfile.php/4025/mod\\_resource/content/10/Analisis\\_Dimensional.pdf](https://amyd.quimica.unam.mx/pluginfile.php/4025/mod_resource/content/10/Analisis_Dimensional.pdf)
- Hattab, M. Al, & Hammouda, A. G. and A. (2015). Al hattab et al 2015 Microalgae Harvesting methods for industrial production of biodiesel - critical review and comparative analysis.pdf. *Journal of Fundamentals of Renewable Energy and Applications*. <https://doi.org/10.4172/2090-4541.1000154>
- Henderson, R., Parsons, S. A., & Ā, B. J. (2008). *The impact of algal properties and pre-oxidation on solid – liquid separation of algae*. 42, 1827–1845. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.11.039>
- Ityokumbul, M. T. (1993). Selection of recovery zone height in flotation column design. *Chemical Engineering and Processing*, 32(2), 77–82. [https://doi.org/10.1016/0255-2701\(93\)85017-A](https://doi.org/10.1016/0255-2701(93)85017-A)
- Joseph, C. G., Farm, Y. Y., Taufiq-Yap, Y. H., Pang, C. K., Nga, J. L. H., & Li Puma, G. (2021). Ozonation treatment processes for the remediation of detergent wastewater: A comprehensive review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(5), 106099. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106099>
- 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. *Bioresource Technology*, 154, 297–304. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.048>
- Kumar, A., & Singh, J. S. (2020). Microalgal bio-fertilizers. In *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products: Fundamentals and Advances in Energy, Food, Feed, Fertilizer, and Bioactive Compounds*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818536-0.00017-8>
- Kyzas, G. Z., & Matis, K. A. (2018). Flotation in water and wastewater treatment. In *Processes* (Vol. 6, Issue 8). <https://doi.org/10.3390/pr6080116>

- Leng, L., Wei, L., Xiong, Q., Xu, S., Li, W., Lv, S., Lu, Q., Wan, L., Wen, Z., & Zhou, W. (2020). Use of microalgae based technology for the removal of antibiotics from wastewater: A review. *Chemosphere*, 238, 124680. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124680>
- Markou, G., & Georgakakis, D. (2011). Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: A review. *Applied Energy*, 88(10), 3389–3401. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.12.042>
- Muñoz, R., & Guieysse, B. (2006). Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. *Water Research*, 40(15), 2799–2815. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.011>
- Narsimhan, G. (1987). Foam Fractionation of Proteins. *American Institute of Chemical Engineers, National Meeting*, 1513–1521. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1996.tb40576.x>
- Nava Bravo, I. (2020). Producción de bio-crudo a partir del craqueo hidrotérmico, empleando zeolita HSZSM-5, de microalgas cultivadas en agua residual y cosechadas mediante ozono-flotación [UNAM]. In *Akrab Juara* (Vol. 5, Issue 1). <http://www.akrabjuara.com/index.php/akrabjuara/article/view/919>
- Ndikubwimana, T., Chang, J., Xiao, Z., Shao, W., Zeng, X., Ng, I. S., & Lu, Y. (2016). Flotation: A promising microalgae harvesting and dewatering technology for biofuels production. *Biotechnology Journal*, 11(3), 315–326. <https://doi.org/10.1002/biot.201500175>
- Nguyen, H. V. M., Kim, J. K., & Chang, S. W. (2019). A case study of low pressure air flotation ferryboat for algae removal in Korean rivers and lakes. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 69, 32–38. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2018.09.011>
- Nielsen, S. S. (2003). *Phenol-Sulfuric Acid Method for Total Carbohydrates*. 39–44. [https://doi.org/10.1007/978-1-4757-5250-2\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4757-5250-2_6)
- Norvill, Z. N., Shilton, A., & Guieysse, B. (2016). Emerging contaminant degradation and removal in algal wastewater treatment ponds: Identifying the research gaps. *Journal of Hazardous Materials*, 313, 291–309. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.03.085>
- Orta Ledesma de Velásquez, M. T., Monje-Ramírez, I., Velasquez-Orta, S., Rodríguez-Muñiz, V., & Yáñez-Noguez, I. (2017). Ozone for Microalgae Biomass Harvesting from Wastewater. *Ozone: Science and Engineering*, 39(4), 264–272. <https://doi.org/10.1080/01919512.2017.1322488>
- Ozturk, S., Aslim, B., Suludere, Z., & Tan, S. (2014). Metal removal of cyanobacterial exopolysaccharides by uronic acid content and monosaccharide composition. *Carbohydrate Polymers*, 101, 265–271. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.040>
- Posadas, E., Alcántara, C., García-Encina, P. A., Gouveia, L., Guieysse, B., Norvill, Z., Acién, F. G., Markou, G., Congestri, R., Koreiviene, J., & Muñoz, R. (2017). Microalgae cultivation in wastewater. *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts: From Feedstock Cultivation to End-Products*, 67–91. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101023-5.00003-0>
- Posadas, Esther, García-Encina, P. A., Domínguez, A., Díaz, I., Becares, E., Blanco, S., & Muñoz, R. (2014). Enclosed tubular and open algal–bacterial biofilm photobioreactors for carbon and

- nutrient removal from domestic wastewater. *Ecological Engineering*, 67, 156–164. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.03.007>
- Pragya, N., Pandey, K. K., & Sahoo, P. K. (2013). A review on harvesting , oil extraction and biofuels production technologies from microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 24, 159–171. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.03.034>
- Prakash, R., Majumder, S. K., & Singh, A. (2018). Flotation technique: Its mechanisms and design parameters. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 127(March), 249–270. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2018.03.029>
- Rawat, I., Ranjith Kumar, R., Mutanda, T., & Bux, F. (2011). Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy*, 88(10), 3411–3424. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.11.025>
- Rawat, I., Ranjith Kumar, R., Mutanda, T., & Bux, F. (2013). Biodiesel from microalgae: A critical evaluation from laboratory to large scale production. *Applied Energy*, 103, 444–467. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.10.004>
- Rodríguez, V. (2015). *Separación de microalgas por ozoflotación en un reactor tipo espumador para la producción de biodiesel*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Safi, C., Ursu, A. V., Laroche, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P. Y., & Vaca-Garcia, C. (2014). Aqueous extraction of proteins from microalgae: Effect of different cell disruption methods. *Algal Research*, 3(1), 61–65. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.12.004>
- Salim, S., Vermuë, M. H., & Wijffels, R. H. (2012). Ratio between autoflocculating and target microalgae affects the energy-efficient harvesting by bio-flocculation. *Bioresource Technology*, 118, 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.007>
- Sari, Y. W., Kartikasari, K., Widyaning, I., & Lestari, D. (2021). Techno-economic assessment of microalgae for biofuel, chemical, and bioplastic. In *Microalgae*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821218-9.00013-x>
- Sim, T. S., Goh, A., & Becker, E. W. (1988). Comparison of centrifugation, dissolved air flotation and drum filtration techniques for harvesting sewage-grown algae. *Biomass*, 16(1), 51–62. [https://doi.org/10.1016/0144-4565\(88\)90015-7](https://doi.org/10.1016/0144-4565(88)90015-7)
- Uduman, N., Qi, Y., Danquah, M. K., Forde, G. M., & Hoadley, A. (2010). *Dewatering of microalgal cultures : A major bottleneck to algae-based fuels*. <https://doi.org/10.1063/1.3294480>
- Valeriano González, M. (2018). *Cosecha de microalgas mediante flotación por ozono-aire para la producción potencial de biodiesel*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- 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>

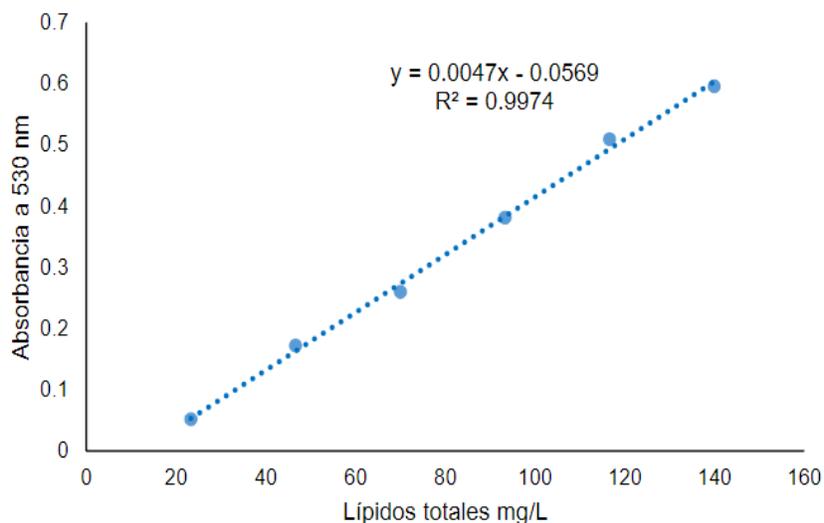
- Velasquez-Orta, S. B., Garcia-Estrada, R., Monje-Ramirez, I., Harvey, A., & Orta Ledesma, M. T. (2014). Microalgae harvesting using ozoflotation: Effect on lipid and FAME recoveries. *Biomass and Bioenergy*, *70*, 356–363. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.08.022>
- Ventura, J. S., Yang, B., Lee, Y., Lee, K., & Jahng, D. (2013). Bioresource Technology Life cycle analyses of CO<sub>2</sub>, energy, and cost for four different routes of microalgal bioenergy conversion. *Bioresource Technology*, *137*, 302–310. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.02.104>
- Vielma Hernández, E. (2020). *Recuperación de biomasa microalgal en un reactor prototipo de ozono-flotación*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- von Sonntag, C., & von Gunten, U. (2012). *Chemistry of Ozone in Water and Wastewater Treatment: From Basic Principles to Applications*. IWA Publishing. <https://doi.org/10.2166/9781780400839>
- Wang, B., Shi, W., Zhang, H., Ren, H., & Xiong, M. (2021). Promoting the ozone-liquid mass transfer through external physical fields and their applications in wastewater treatment: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *9*(5), 106115. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106115>
- Wang, L., Pan, B., Gao, Y., Li, C., Ye, J., & Yang, L. (2019). *Efficient membrane microalgal harvesting : Pilot-scale performance and techno-economic analysis*. *218*, 83–95.
- Wiley, P. E., Brenneman, K. J., & Jacobson, A. E. (2009). Improved Algal Harvesting Using Suspended Air Flotation. *Water Environment Research*, *81*(7), 702–708. <https://doi.org/10.2175/106143009x407474>
- Yan, Y. de, & Jameson, G. J. (2004). Application of the Jameson Cell technology for algae and phosphorus removal from maturation ponds. *International Journal of Mineral Processing*, *73*(1), 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.minpro.2003.07.002>
- Yianatos, J. B., Espinosa-Gomez, R., Finch, J. A., Laplante, A. R., & Dobby, G. S. (1988). Effect of Column Height on Flotation Column Performance. *Minerals and Metallurgical Processing*, *5*(1), 11–14.

## 11. Anexos

### 11.1 Curvas de calibración

#### 11.1.1 Lípidos

Para la determinación de lípidos se utilizó la metodología descrita anteriormente y los resultados se determinaron a partir de la curva de calibración reportada por (Hernández, 2017).



Gráfica 12 Curva de calibración Lípidos.

Donde  $y$  es la absorbancia obtenida,  $x$  es la concentración de lípidos en mg/L.

#### 11.1.2. Proteínas

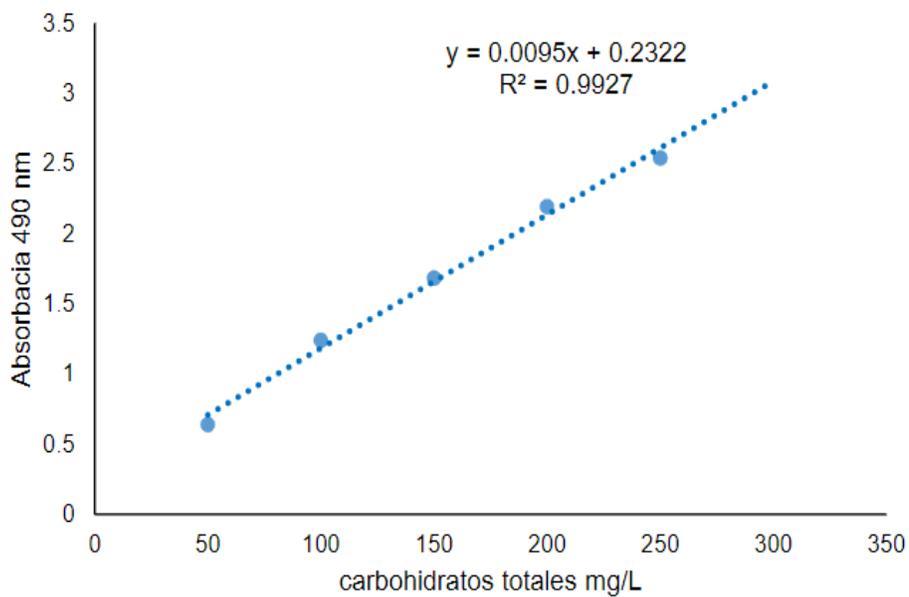
Los gramos de proteína se obtuvieron a partir de la ecuación de la curva de calibración, con un coeficiente de correlación de 0.9977.

$$x = \frac{y - 0.0013}{0.0685}$$

Donde  $y$  es la absorbancia obtenida, la concentración de proteína se obtuvo considerando el volumen de sobrenadante, reportado en (Vielma Hernández, 2020).

### 11.1.3. Carbohidratos

Para la determinación de carbohidratos se utilizó la metodología descrita anteriormente y los resultados se determinaron a partir de la curva de calibración.

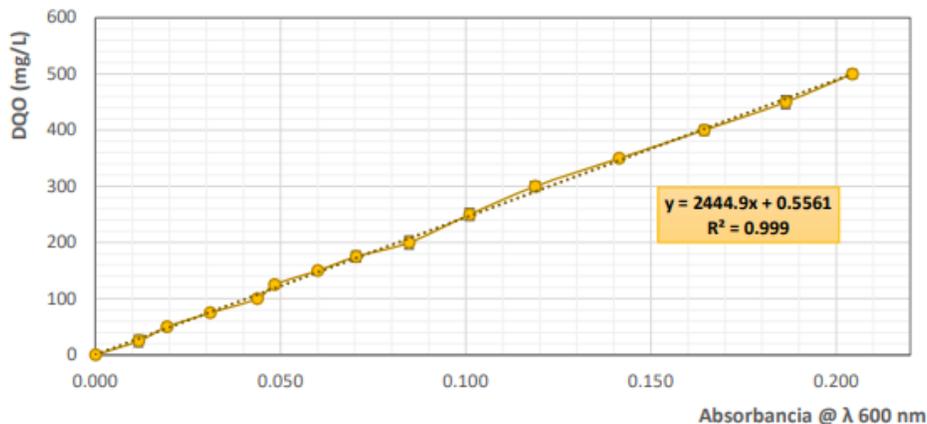


Gráfica 13 Curva de calibración carbohidratos.

Donde y es la absorbancia obtenida, x es la concentración de carbohidratos en mg/L.

#### 11.1.4. Curva de calibración (DQO)

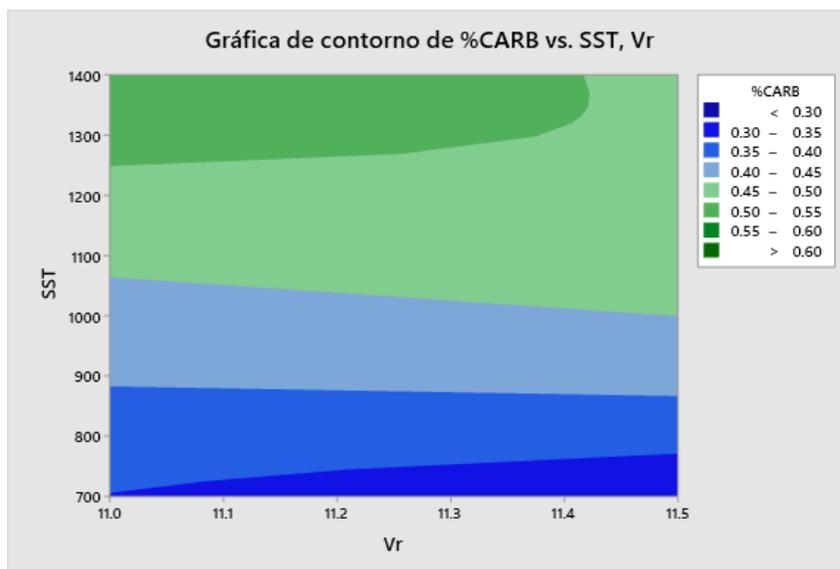
Para la determinación de DQO se utilizó el método y la curva de calibración reportada por (Gómez, 2022).



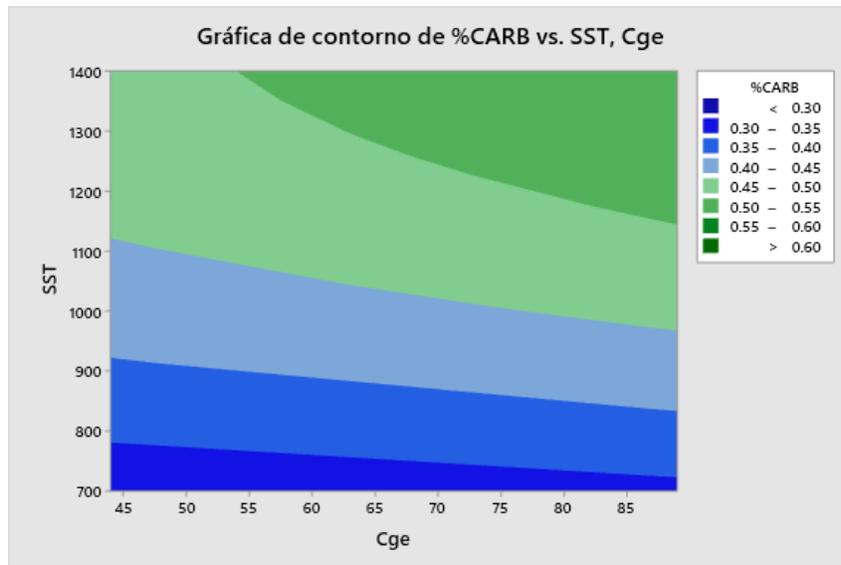
Gráfica 14 Curva de calibración DQO.

Donde X es la absorbancia media en el espectrofotómetro, y es la DQO en mg/L.

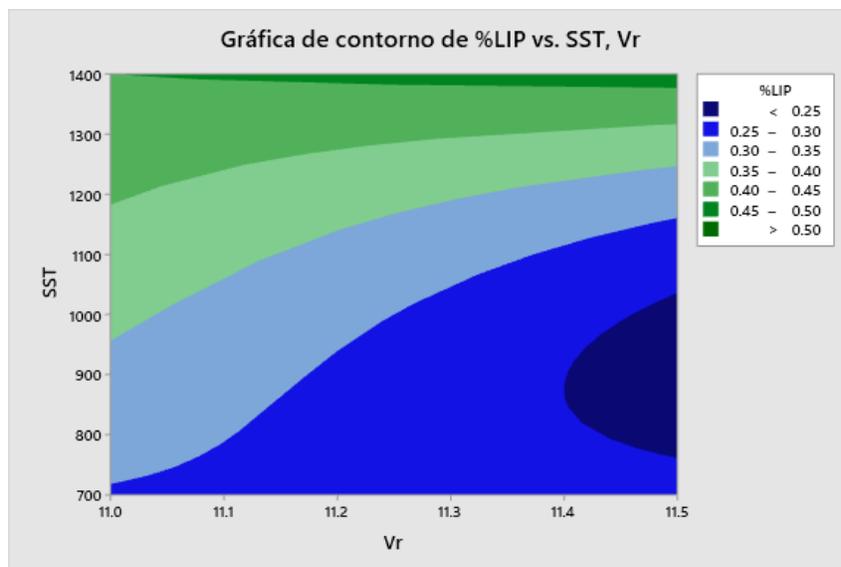
A continuación, se anexan las gráficas de contorno de las variables significativas de cada variable de respuesta, al igual que los diagramas de Pareto resultantes del diseño de experimentos.



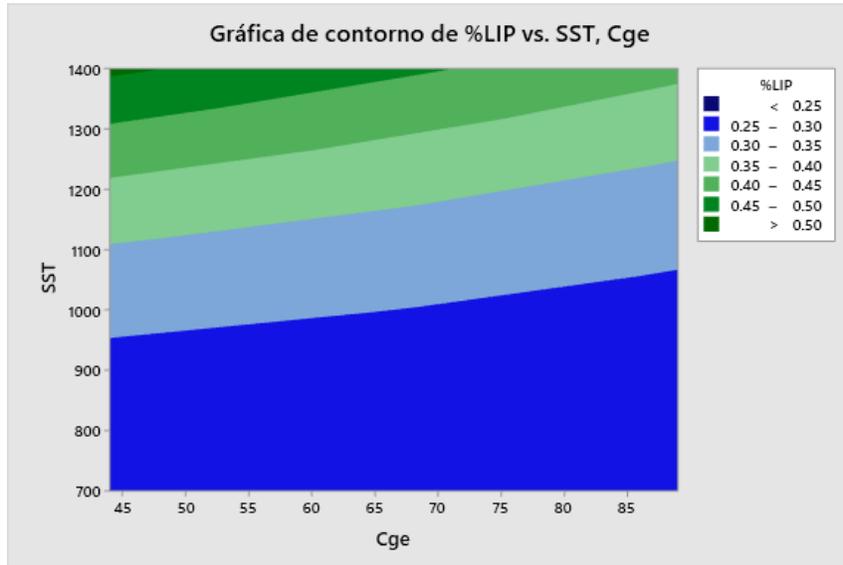
Gráfica 15 Contorno de %CARB vs. SST, Vr.



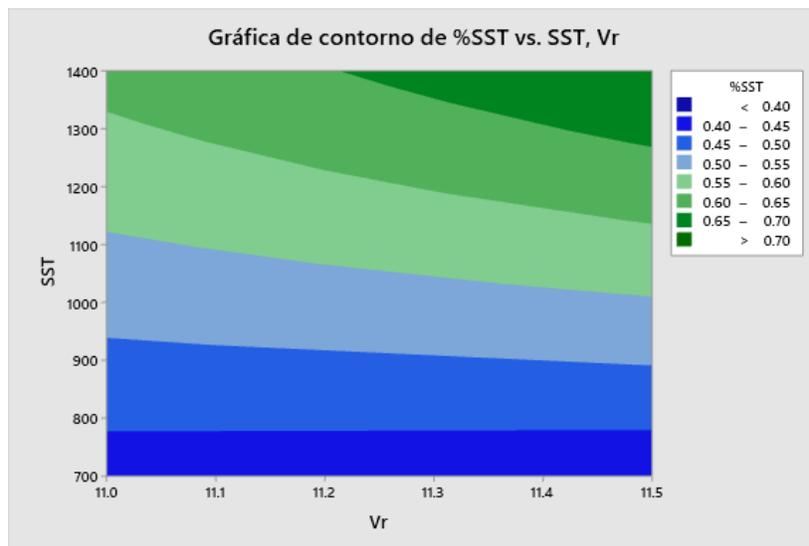
Gráfica 16 Contorno de %CARB vs. SST, Cge.



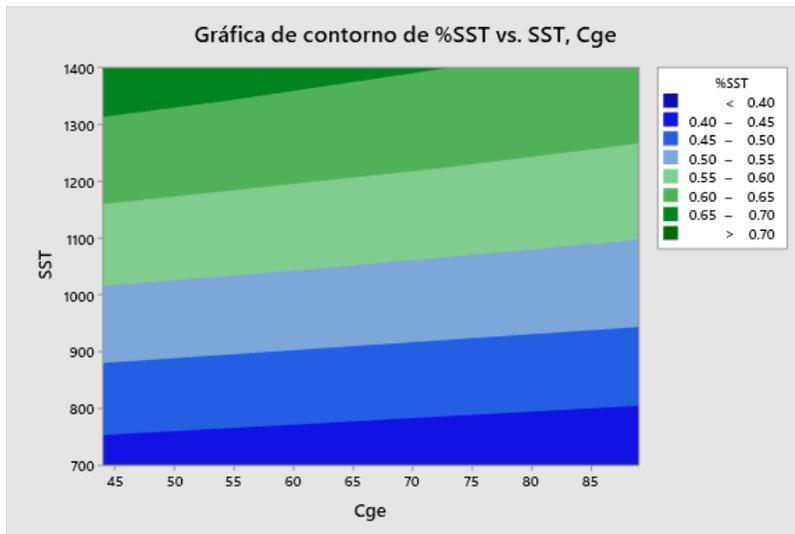
Gráfica 17 Contorno de %LIP vs. SST, Vr.



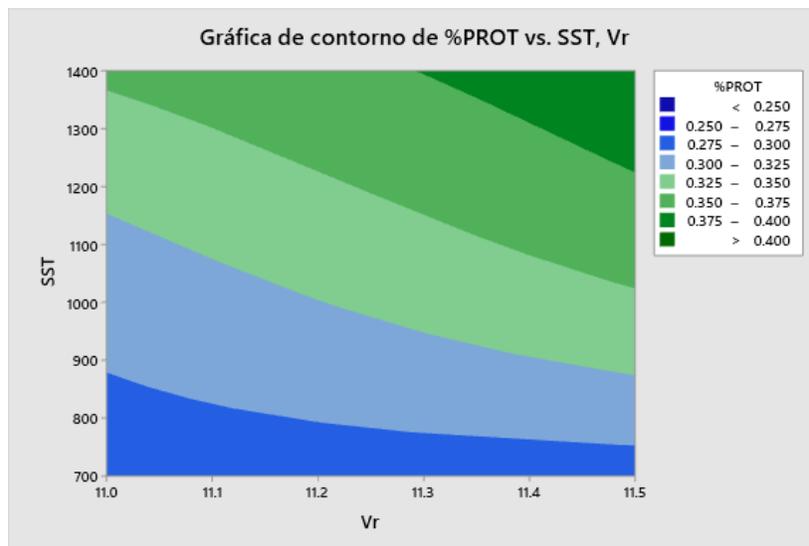
Gráfica 18 Contorno de %LIP vs. SST, Cge.



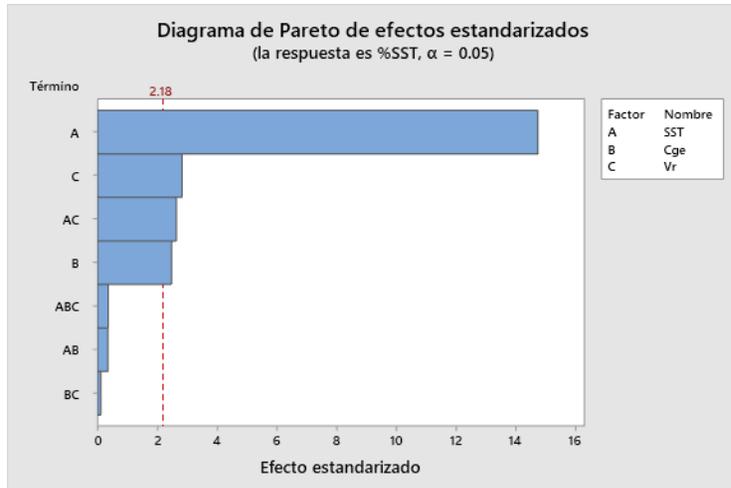
Gráfica 19 Contorno de %SST vs. SST, Vr.



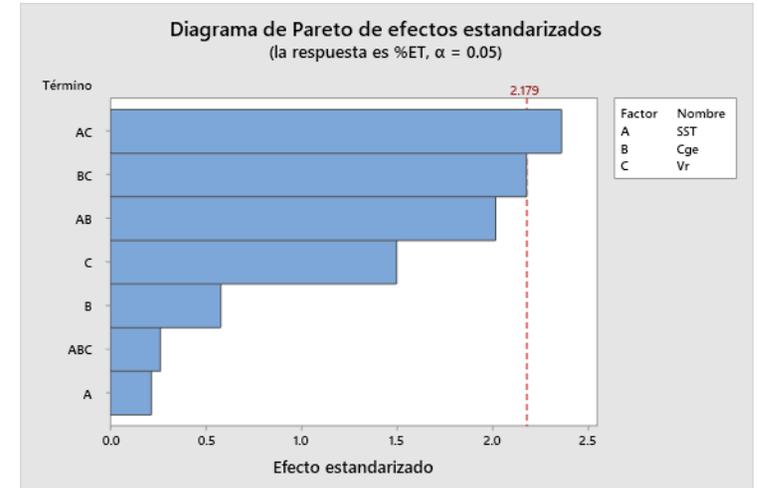
Gráfica 20 Contorno de %SST vs. SST, Cge.



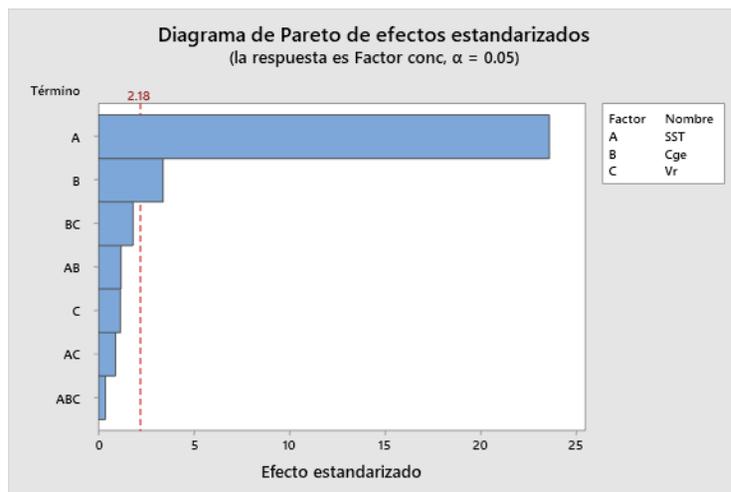
Gráfica 21 Contorno de %PROT vs. SST, Vr.



*Diagrama 1 Pareto de la cosecha de biomasa.*



*Diagrama 2 Pareto de la transferencia de masa de ozono.*



*Diagrama 3 Pareto del factor de concentración.*

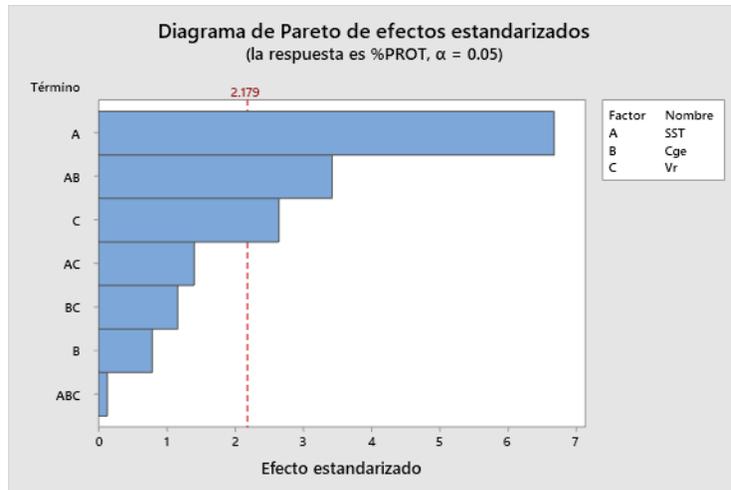


Diagrama 4 Pareto de recuperación de proteínas.

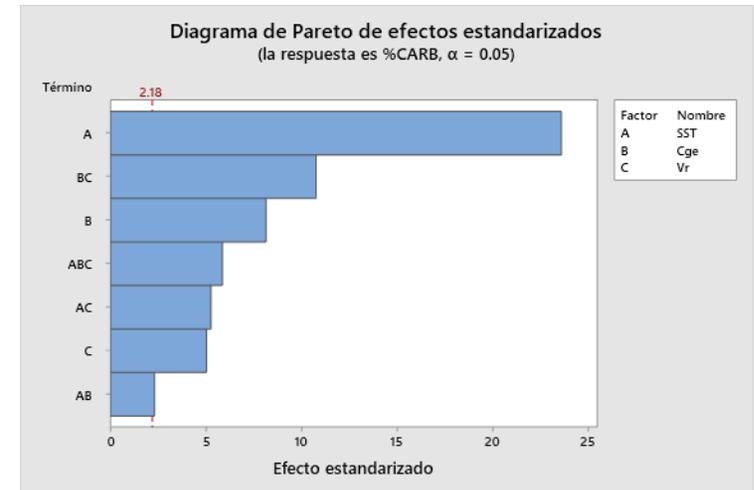


Diagrama 5 Pareto de recuperación de carbohidratos.

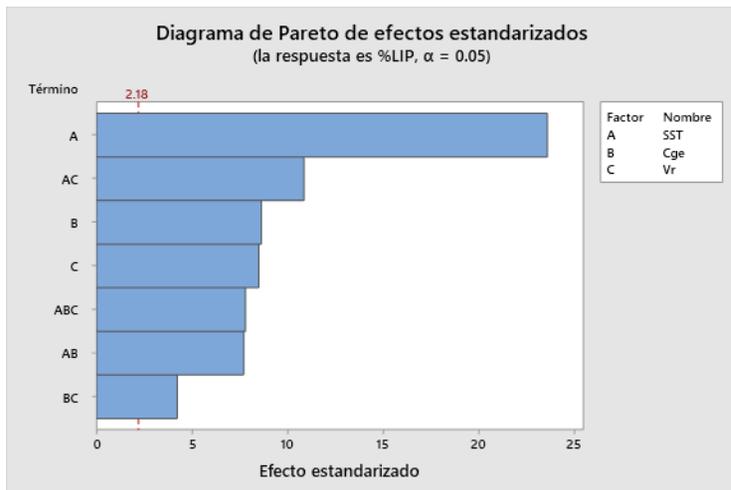


Diagrama 6 Pareto de recuperación de lípidos.