



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

EVALUACIÓN CINÉTICA DE UN SISTEMA ALCALINO-MICROALGAL
APLICADO EN EL TRATAMIENTO DE BIOGÁS

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

PRESENTA:
ARNOLD RAMIREZ RUEDA

TUTOR PRINCIPAL
DR. ARMANDO GONZÁLEZ SANCHEZ
INSTITUTO DE INGENIERÍA

COMITÉ TUTOR

DRA. MARÍA TERESA ORTA LEDESMA
INSTITUTO DE INGENIERÍA

DR. PANDIYAN THANGARASU
FACULTAD DE QUÍMICA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX. NOVIEMBRE 2018



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: Dra. María Teresa Orta Ledesma

Secretario: Dr. Alejandro Vargas Casillas

Vocal: Dr. Sergio Revah Moiseev

1 er. Suplente: Dr. Pandiyan Thangarasu

2 do. Suplente: Dr. Armando González Sánchez

Lugar donde se realizó la tesis: LABORATORIO DE INGENIERÍA AMBIENTAL DEL INSTITUTO DE INGENIERÍA DE LA UNAM QUE CUENTA CON CERTIFICADO DE CONFORMIDAD OTORGADO POR EL ORGANISMO ACREDITADO CERTIFICACIÓN MEXICANA, S.C., POR HABER IMPLEMENTADO Y MANTENER UN SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE CONFORMIDAD CON LOS REQUISITOS DE LA NORMA INTERNACIONAL ISO 9001:2015 No. DE CERTIFICADO CMX C SGC 155 2017, VÁLIDO EN EL PERÍODO DEL 09 DE NOVIEMBRE DE 2017 AL 09 DE NOVIEMBRE DE 2020.

TUTOR DE TESIS:

Dr. Armando González Sánchez

FIRMA

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada CVU 779918.

Al proyecto CEMIEBIO 247006 del fondo SENER-CONACyT.

Al proyecto PAPIIT IT-100317 por su financiamiento parcial.

Al Dr. Armando González por su apoyo, asesoría, y recomendaciones durante la maestría y elaboración de la tesis.

Al comité tutorial integrado por la Dra. Maria Teresa Orta Ledesma, el Dr. Pandiyan Thangarasu, Dr. Alejandro Vargas Casillas y el Dr. Sergio Revah Moiseev por sus correcciones, comentarios y recomendaciones para el enriquecimiento de este trabajo.

A México, por el gran orgullo que me llena ser parte de él y me motiva para ser más profesional día tras día contribuyendo con su transformación en una gran potencia mundial.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Instituto de Ingeniería que nuevamente me abrió sus puertas para desarrollarme académicamente.

A la Facultad de Química de la UNAM, por la formación académica que recibí y que he puesto en práctica todos los conocimientos adquiridos durante estos 5 años.

A Denise Reyes, Diana García, Tonantzin Ramírez, Daniel de los Cobos por su apoyo técnico durante la capacitación y manejo de equipo para llevar a cabo la experimentación.

A Roberto Briones y Margarita Cisneros por las facilidades otorgadas para el préstamo de material, equipo y asesoría durante la experimentación.

A mi madre Norma Dalia Rueda Aguado y a Oskar Tobby Rueda Austria por todo su apoyo, esfuerzo y confianza en mí.

A mis abuelos Arnoldo Rueda Aguado y Guadalupe Aguado Ramírez, a mis tíos Elsa Rueda Aguado y Arnoldo Rueda Aguado por su confianza y apoyo incondicional.

A Rodolfo Cortés, Diana Romero, Diego Santiago, José Antonio Tapia, Sunashi Monroy, Paola Molina, Elena Villalba, Edna Sánchez y Juan Carlos Diosdado por su amistad y apoyo incondicional en todo momento.

A Mariana Franco, Tania Tobaco, Elisa Sánchez, Abdiel Olmedo, Claudia Granada, Magdalena Murillo, Ilse Huitrón, Dora Ruíz, Oscar Arroyo, Ashanti Martínez, Mónica Pérez, Rebeca Pérez, Karina Atengueño, Ángel Santiago y demás personas por su amistad, apoyo o asesoría durante estos dos años.

Índice

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	2
3. Introducción	3
4. Marco teórico	4
4.1 Problemática actual	4
4.2 Energía solar	4
4.3 Fotosíntesis	4
4.3.1 Fase luminosa y oscura	5
4.3.2 Ciclo de Calvin	5
4.4 Mitigación de la concentración de CO ₂	5
4.5 Algas y microalgas	6
4.5.1 Usos y ventajas	7
4.5.2 Factores para el crecimiento de las microalgas	7
4.5.3 Cultivo de microalgas	14
4.6 Transferencia de masa	17
4.7 Tratamiento de aguas residuales	18
4.8 Tratamiento de biogás	18
4.9 Modelización	20
4.10 Modelos cinéticos para el crecimiento de microalgas	20
4.10.1 Calibración del modelo	21
4.10.2 Validación del modelo	21
4.11 Diseño de experimentos tipo Taguchi	22
5. Justificación	23
5.1 Técnico-medioambiental	23
5.2 Académica	23
6. Hipótesis y Objetivos	24
6.1 Hipótesis	24
6.2 Objetivo general	24
6.3 Objetivos particulares	24
6.4 Metas	24
7. Materiales y métodos	25
7.1 Microorganismos y condiciones de cultivo	25

7.2 Configuración experimental.....	26
7.3 Aproximación experimental.....	26
7.3.1 Efecto de la irradiancia.....	26
7.3.2 Efecto de la temperatura	27
7.3.3 Efecto del sulfuro	27
7.3.4 Medición de la actividad fotosintética.....	27
7.4 Diseño experimental	27
7.5 Procedimientos analíticos	29
7.6 Cálculo de la actividad fotosintética microalgal.....	29
7.7 Modelo cinético de la actividad fotosintética microalgal y calibración del modelo.....	30
7.7.1 Irradiancia promedio (I_{av}).....	31
7.7.2 Temperatura.....	32
7.7.3 pH	32
7.7.4 Sulfuro	32
7.8 Modelo cinético general y su validación	32
7.8.1 Sistema experimental empleado para la validación del modelo cinético general	33
8. Resultados.....	35
8.1 Consorcio microalgal.....	35
8.2 Caracterización cinética experimental de la actividad fotosintética del consorcio microalgal.....	36
8.2.1 Efecto de la temperatura, irradiancia, pH y sulfuro disuelto.....	36
8.2.2 Tasa de producción específica de oxígeno.....	39
8.3 Parámetros de seguimiento asociados al crecimiento y asimilación de nutrientes	40
8.3.1 Biomasa	40
8.3.2 Carbono inorgánico (IC) y nitrógeno total (N_T)	41
8.3.3 Sulfato (SO_4^{2-})	42
8.3.4 Fosfato (PO_4^{2-})	43
8.3.5 Nitrato (NO_3^-).....	44
8.4 Parámetros de seguimiento asociados a la oxidación de sulfuro y producción de intermediarios.....	44
8.4.1 Hidrosulfuro (HS^-) y tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$)	44
8.5 Efecto de la temperatura, pH y adiciones consecutivas de sulfuro disuelto	46
8.5.1 Tasa de producción específica de oxígeno.....	50
8.5.2 Formación de tiosulfato	52

8.5.3 Consumo de oxígeno.....	53
8.5.4 Carbono inorgánico (IC) en pruebas consecutivas.....	54
8.5.5 Tasa de fijación de CO ₂	55
8.6 Calibración del modelo.....	58
8.7 Validación del modelo.....	60
8.7.1 Seguimiento y desempeño del HRAP-ABC.....	61
9. Conclusiones.....	64
10. Recomendaciones.....	65
11. Perspectivas.....	65
12. Bibliografía.....	66
13. Apéndices.....	74
13.1 Apéndice I. Curvas de calibración para determinaciones analíticas.....	74
13.2 Apéndice II. Valores experimentales de rO _{spec}	75
13.2.1 Valores de rO _{2spec} bajo condiciones controladas.....	75
13.2.2 Valores de rO _{2spec} bajo condiciones recurrentes a la intemperie y 120 μE m ⁻² s ⁻¹	75
13.3 Apéndice III. Valores interpolados a 120 μE m ⁻² s ⁻¹	76
13.4 Apéndice IV. Metodología para la determinación de rO _{2exp}	77
13.5 Apéndice V. Análisis estadístico.....	79
13.5.1 Factores que influyen en la rO _{2spec}	79
13.5.2 Prueba de hipótesis y ANOVA en determinaciones analíticas.....	79
13.5.3 Factores que influyen en la rO _{2spec} a irradiancia de 120 PAR [μE m ² s ⁻¹].....	81
13.6 Apéndice VI. Archivo Fotográfico.....	82

Lista de figuras

Figura 1 Efecto de la solubilidad de CO ₂ vs T, P y salinidad.....	11
Figura 2 Mecanismo de oxidación de H ₂ S/HS ⁻ y su efecto en las microalgas (González-Sánchez y Posten, 2017).....	20
Figura 3 Fotobiorreactor tubular cerrado (TCP).....	26
Figura 4 Esquema del sistema HRAP-Columna de absorción para el tratamiento del biogás.....	34
Figura 5 Consorcio microalgal (<i>Picochlorum sp.</i> y <i>Pseudoanabaena sp.</i>) a 40x.....	35
Figura 6 Perfiles de OD (■), temperatura (●) y pH (▲); sin adición de sulfuro a diferente PAR [μE m ² s ⁻¹].....	36
Figura 7 Perfiles de OD (■), temperatura (●) y pH (▲) con 3.2 mgL ⁻¹ de sulfuro a diferente PAR [μE m ² s ⁻¹].....	38
Figura 8 Perfiles de OD (■), temperatura (●) y pH (▲) con 16 mgL ⁻¹ de sulfuro a diferente PAR [μE m ² s ⁻¹].....	38

Figura 9 Valores promedio de la concentración de biomasa y rO_{2spec}	40
Figura 10 Concentración de SST al inicio y final en cada prueba experimental.....	41
Figura 11 Concentraciones de IC (a) y N_T (b) al inicio y final en cada prueba experimental	42
Figura 12 Concentraciones de sulfato al inicio y final en cada prueba experimental	43
Figura 13 Concentraciones de fosfato al inicio y al final en cada prueba experimental	43
Figura 14 Concentraciones de nitrato al inicio y al final en cada prueba experimental.....	44
Figura 15 Balance de masa de hidrosulfuro (a) y tiosulfato (b) en las pruebas con sulfuro.....	45
Figura 16 Rendimiento a tiosulfato y rO_{2spec} en las pruebas con sulfuro.....	46
Figura 17 Perfiles de OD (■), temperatura (●) y pH (▲) de la Prueba J a 120 PAR [$\mu E m^2 s^{-1}$]	47
Figura 18 Perfiles de OD (■), temperatura (●) y pH (▲) de la Prueba K a diferente 120 PAR [$\mu E m^2 s^{-1}$]	48
Figura 19 Perfiles de OD (■), temperatura (●) y pH (▲) de la Prueba L a diferente a 120 PAR [$\mu E m^2 s^{-1}$].....	49
Figura 20 Perfiles de OD (■), temperatura (●) y pH (▲) de la Prueba M a diferente a 120 PAR [$\mu E m^2 s^{-1}$]	49
Figura 21 Valores de rO_{2spec} en las pruebas J, K, L y M a diferente a 120 PAR [$\mu E m^2 s^{-1}$]	50
Figura 22 Efecto de la rO_{2spec} a diferente temperatura, $pH_{inicial}$ y concentración de sulfuro a 120 PAR [$\mu E m^2 s^{-1}$]	51
Figura 23 Rendimiento a tiosulfato en pruebas bióticas y abióticas con 3.2 (a) y 16 (b) mgS^2-L^{-1} a 120 PAR [$\mu E m^2 s^{-1}$].....	52
Figura 24 Efecto del rendimiento a tiosulfato con diferente temperatura, $pH_{inicial}$ y concentración de sulfuro	53
Figura 25 Consumo de O_2 en pruebas bióticas y abióticas con 3.2 (a) y 16 (b) mgS^2-L^{-1} a 120 PAR [$\mu E m^2 s^{-1}$]	54
Figura 26 Concentración de IC promedio en pruebas continuas a 120 PAR [$\mu E m^2 s^{-1}$]	54
Figura 27 Perfiles de OD (■), DCO_2 (●) y pH (▲) a 120 PAR [$\mu E m^2 s^{-1}$].....	56
Figura 28 Perfiles de OD (■), DCO_2 (●) y pH (▲) a 120 PAR [$\mu E m^2 s^{-1}$].....	57
Figura 29 Tasa de desorción (a) y de consumo (b) de CO_2 a pH de 8.5 a 120 PAR [$\mu E m^2 s^{-1}$].....	57
Figura 30 Curvas de ajuste de a) rO_2^{nlz} vs I_{av} ($30^\circ C$, 8.5, 3.2 mgS^2-L^{-1}) y b) rO_2^{nlz} vs T (8.5, 0 mgS^2-L^{-1})	58
Figura 31 Curvas de ajuste de a) rO_2^{nlz} vs pH (120, $30^\circ C$, 0 mgS^2-L^{-1}) y b) rO_2^{nlz} vs $[S^{2-}]$ (120, $30^\circ C$, 8.5)	59
Figura 32 Perfiles de rO_{2exp} (□) vs simulaciones a) rO_{2sim1} (—) y b) rO_{2sim2} (—) en HRAP-ABC	61
Figura 33 Perfiles de a) Irradiancia y b) Oxígeno disuelto (OD)	62
Figura 34 Perfiles de a) pH y b) Temperatura	63
Figura 35 Curvas para la determinación de a) sulfato, b) nitrato, c) tiosulfato y d) fosfato.....	74
Figura 36 Curvas para la determinación de a) carbono inorgánico (IC) y b) nitrógeno total (N_T)	74

Lista de tablas

Tabla 1 Composición del medio mineral sintético (Franco-Morgado <i>et al.</i> , 2017; Sorokin <i>et al.</i> , 2001)	25
Tabla 2 Diseño experimental para la evaluación cinética de la actividad fotosintética de un consorcio alcalófilo microalgal.....	27
Tabla 3 Matriz experimental	28

Tabla 4 Matriz experimental complementaria con las condiciones más recurrentes durante el tratamiento de biogás en un fotobiorreactor HRAP expuesto a la intemperie	28
Tabla 5 Parámetros de seguimiento experimental	29
Tabla 6 Condiciones en el sistema HRAP-ABC.....	35
Tabla 7 Valores de rO_{2spec} a diferentes condiciones de irradiancia, temperatura, pH y concentración de sulfuro	40

Lista de ilustraciones

Ilustración 1 Muestra del consorcio microalgal antes y después de la centrifugación	82
Ilustración 2 Sistema de control y adquisición de datos acoplado con el TCP (pruebas preliminares)	82
Ilustración 3 Operación del TCP a diferente intensidad luminosa.....	82
Ilustración 4 Equipo Shimadzu TOC-LSH y TLM-L (izquierda) y cromatógrafo DIONEX ICS-2000 RFIC (derecha)	83
Ilustración 5 Sistema HRAP (izquierda) y Columna de absorción ABC (derecha)	83

1. RESUMEN

La presente tesis describe la evaluación cinética de un sistema alcalino microalgal llevada a cabo en un fotobiorreactor tubular cerrado (TCP, por sus siglas en inglés). La actividad fotosintética de las microalgas alcalófilas fue determinada bajo diferentes condiciones de irradiancia, temperatura, pH y concentraciones de sulfuro disuelto; condiciones representativas registradas durante el proceso de tratamiento de biogás utilizando biotecnología microalgal bajo condiciones alcalinas.

El desarrollo de la tesis consistió en tres etapas. En la primera se determinó la actividad fotosintética de un consorcio microalgal extraído de un sistema de tratamiento de biogás que consiste en un fotobiorreactor de alta tasa (HRAP, por sus siglas en inglés) y una columna de absorción. El consorcio microalgal fue acondicionado a un medio mineral sin limitación de nutrientes y evaluado por 2 horas en lote dentro del TCP bajo una serie de combinaciones de los factores mencionados anteriormente. La actividad fotosintética específica fue favorecida a irradiancias externas de 50 y 120 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ con pH de 8.5 y 9.2 y concentración de 3.2 $\text{mgS}^{2-}\text{L}^{-1}$; mientras que a 15 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y un pH de 7.3 fue inhibida. Además, se detectó el tiosulfato como especie oxidada del sulfuro disuelto con rendimientos que oscilaron entre 0.3 a 1.

En la segunda etapa se realizaron pruebas cinéticas evaluando la adición consecutiva de sulfuro disuelto a diferentes pH y temperaturas, pero manteniendo una irradiancia externa de 120 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Se observó que a concentraciones de 3.2 $\text{mgS}^{2-}\text{L}^{-1}$ y temperatura de 30°C la actividad fotosintética es favorecida a pH de 8.5 y 9.2, mientras que concentraciones de 16 $\text{mgS}^{2-}\text{L}^{-1}$ la disminuye sin llegar a inhibir la producción de O_2 , al mismo tiempo que temperaturas de 40 °C también la reducen. Por otra parte, se obtuvieron rendimientos mayores de tiosulfato con respecto a las pruebas en lote de la etapa 1, debido a la mayor cantidad de oxígeno producido dentro del TCP.

La tercera etapa incluyó la calibración y validación de un modelo cinético general de la actividad fotosintética de las microalgas alcalófilas en función de los factores estudiados. El modelo empírico obtenido se utilizó para predecir la actividad fotosintética específica en el sistema HRAP y columna de absorción durante el tratamiento continuo de biogás. Durante 8.5 días de funcionamiento en estado estacionario, valores de pH, temperatura, irradiancia externa y oxígeno disuelto fueron registrados y utilizados con el modelo calibrado para calcular la actividad fotosintética específica del consorcio microalgal. La validación del modelo fue exitosa, pero su aplicación está limitada a periodos con iluminación continua.

2. ABSTRACT

This thesis describes the kinetic evaluation of a microalgal alkaline system carried out in a closed tubular photobioreactor (TCP). The photosynthetic activity of the alkalophilic microalgae was determined under different conditions of irradiance, temperature, pH and dissolved sulfur concentrations; representative conditions recorded during the biogas treatment process using microalgal biotechnology under alkaline conditions.

The development of the thesis consisted of three stages. The first stage was determined the photosynthetic activity of a microalgal consortium extracted from a biogas treatment system consisting of a high-rate photobioreactor (HRAP) and an absorption column. The microalgal consortium was conditioned to a mineral medium without nutrient limitation and evaluated for 2 hours in batch within the TCP under a series of combinations of the factors mentioned above. The specific photosynthetic activity was favored at external irradiances of 50 and 120 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ with a pH of 8.5 and 9.2 and a concentration of 3.2 $\text{mgS}^{2-} \text{L}^{-1}$; while at 15 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and a pH of 7.3 it was inhibited. In addition, thiosulfate was detected as an oxidized species of dissolved sulfur with yields ranging from 0.3 to 1.

In the second stage, kinetic tests were carried out evaluating the consecutive addition of dissolved sulfur at different pH and temperatures but maintaining an external irradiance of 120 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. It was observed that at concentrations of 3.2 $\text{mgS}^{2-} \text{L}^{-1}$ and temperature of 30 °C, photosynthetic activity is favored at pH of 8.5 and 9.2, while concentrations of 16 $\text{mgS}^{2-} \text{L}^{-1}$ decrease it without inhibiting O_2 production, at the same time temperatures of 40 °C also reduce it. On the other hand, higher yields of thiosulfate were obtained with respect to the batch tests of stage 1, due to the greater amount of oxygen produced within the TCP.

The third stage included the calibration and validation of a general kinetic model of the photosynthetic activity of alkalophilic microalgae according to the factors studied. The empirical model obtained was used to predict the specific photosynthetic activity in the HRAP system and the absorption column during the continuous biogas treatment. During 8.5 days of steady-state operation; values of pH, temperature, external irradiance and dissolved oxygen values were recorded and used with the calibrated model to compute the specific photosynthetic activity of the microalgal consortium. The validation of the model was successful, but its application is limited to continuous lighting periods.

3. Introducción

La emisión a la atmósfera del biogás en forma descontrolada y sin aprovechamiento energético puede acentuar el cambio climático actual, donde el metano $\text{CH}_4(\text{g})$ y dióxido de carbono $\text{CO}_2(\text{g})$ son considerados gases de efecto invernadero; sin embargo, otro componente del biogás como el sulfuro de hidrógeno gaseoso ($\text{H}_2\text{S}(\text{g})$) genera corrosión, malos olores y puede ser tóxico bajo cierta condición. Cuando el biogás quiere ser aprovechado energéticamente, el sulfuro de hidrógeno gaseoso, constituye el principal contaminante en combustibles gaseosos como el gas natural y el biogás (González-Sánchez y Revah, 2007); por ello existe la necesidad de ser controlado debido a su impacto en la salud y en el ambiente. Al mismo tiempo, el alto contenido de CO_2 en el biogás reduce su capacidad calorífica específica e incrementa los costos de almacenamiento y distribución.

Los tratamientos biológicos surgen como una opción fácil y económica para removerlos utilizando sistemas biotecnológicos acoplados con uno físico. Tal es el caso de los fotobiorreactores donde cultivos microalgales se encuentran adaptados bajo condiciones controladas de temperatura, iluminación y pH mayores a 8, que junto con columnas de absorción permiten una mayor transferencia de H_2S y CO_2 en la fase líquida. En ésta, las microalgas son capaces de utilizar el carbono inorgánico disuelto para luego producir oxígeno mediante la fotosíntesis en un medio con los nutrientes necesarios como nitrógeno (N) y fósforo (P) para luego oxidar el $\text{H}_2\text{S}(\text{L})$ y el HS^- a través de reacciones químicas en compuestos menos tóxicos como lo son el tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) y el sulfato (SO_4^{2-}), que también son utilizados para el metabolismo de las microalgas (Bahr *et al.*, 2014). Sin embargo, el sulfuro ha sido reportado como inhibidor de la fotosíntesis de las microalgas, debido a que reduce el flujo de electrones entre el fotosistema II y el fotosistema I (Miller y Bebout, 2004). Küster *et al.* (2005) estudiaron la toxicidad de la microalga del género *Scenedesmus*, encontrando que existió el 50% de inhibición celular al utilizar una concentración de $2 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$. González-Sánchez y Posten (2017) mostraron inhibición en un cultivo de *Chorella sp.* a una concentración de $16 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$ y González-Camejo *et al.* (2017) encontraron que una concentración de $5 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$ provoca una reducción del 43% en la tasa oxigénica de un cultivo principalmente conformado por *Scenedesmus sp.* El uso de fotobiorreactores cerrados permite realizar ensayos cinéticos en tiempos cortos, y la tasa oxigénica es un parámetro útil para caracterizar la actividad fotosintética (Cabello *et al.*, 2015) de cualquier cultivo microalgal bajo condiciones definidas como la irradiancia, la temperatura y el mezclado (de los Cobos-Vasconcelos *et al.*, 2016) y como es el caso bajo concentraciones de sulfuro disuelto. Lo anterior tiene la finalidad de obtener valores y modelos que tomen a consideración una respuesta rápida de las microalgas a las variaciones de condiciones en el cultivo. Estos modelos son obligados para el desarrollo de estrategias de control de fotobiorreactores de escala mayor (Fernández *et al.*, 2012) y para evitar condiciones perjudiciales que se llevan a cabo en períodos breves a lo largo del día (Costache *et al.*, 2013).

4. Marco teórico

4.1 Problemática actual

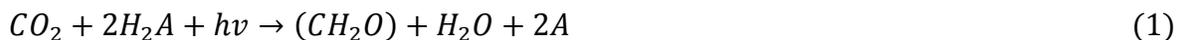
El uso excesivo de combustibles fósiles en las actividades antropogénicas durante los últimos años contribuye mundialmente a la emisión de gases de efecto invernadero (GEI), en particular el dióxido de carbono (CO₂), proveniente de dos fuentes globales: electricidad y calor (32%) y transporte (17%) según Solangi *et al.*, (2011). Las actividades de las compañías del sector de servicio contribuyen con dichas fuentes a través del uso de la electricidad, enfriamiento y calentamiento en sus actividades, así como la transportación de insumos y productos involucrados en las mismas. Adicionalmente los GEI también provienen del cambio de uso de la tierra y la deforestación (24%), manufactura y construcción (13%). Aunque un grado de calentamiento global es vital, ya que sin él, nuestro planeta sería demasiado frío para el sustento de la vida, la descarga de toneladas de CO₂ a la atmósfera incrementa sustancialmente el desbalance natural (Solangi *et al.*, 2011).

4.2 Energía solar

La energía solar es uno de los recursos de energía más limpio que no compromete o aumenta el calentamiento global; es altamente disponible, con un peligro mínimo ambiental y ecológico asociado con su producción y uso, siendo uno de los factores para mejorar la calidad de vida de las personas. Además, tiene un potencial de empleo en el futuro; sin embargo, en el presente cubre una pequeña porción de la demanda de la energía global debido a que es considerada como la energía renovable más costosa dentro de las que existen. Dentro de las aplicaciones tecnológicas se encuentra el uso de sistemas con celdas fotovoltaicas capaces de almacenar la energía solar para la producción de energía eléctrica, pero se requieren grandes extensiones de terreno para alcanzar la demanda de electricidad que requieren las poblaciones. Por otra parte, la energía solar también se puede utilizar para la obtención de energía calorífica a través de calentadores solares, los cuales pueden ser utilizados en la industria para disminuir sus altos consumos energéticos, pero su uso es limitado de acuerdo con la ubicación geográfica en el planeta.

4.3 Fotosíntesis

Es uno de los procesos biológicos más importantes en la Tierra; es la conversión de la energía luminosa en química. Los organismos que realizan la fotosíntesis se denominan fotótrofos y la mayor parte de estos organismos son autótrofos, ya que son capaces de crecer con CO₂ como única fuente de carbono. La energía de la luz se utiliza para la reducción del CO₂ a compuestos orgánicos. La capacidad de realizar fotosíntesis depende de la presencia de pigmentos fotosensibles llamadas clorofilas, que se encuentran en las plantas, algas y algunas bacterias. La luz llega a los organismos fototróficos en unidades concretas de energía denominadas fotones (Madigan *et al.*, 2004). La ecuación generalizada para este proceso es:



en la cual H_2A significa agua o alguna sustancia cuyos electrones pueden ser donados por A.

4.3.1 Fase luminosa y oscura

El crecimiento de los organismos fotoautótrofos se caracteriza por dos tipos de reacciones: las reacciones de la fase luminosa, por las que la energía de la luz se convierte a energía química y las reacciones de la fase oscura, en las que la energía química se usa para reducir el CO_2 a compuestos orgánicos. En el crecimiento fotoautotrófico la energía se produce en forma de trifosfato de adenosina (ATP), mientras que los electrones para la reducción de CO_2 proceden de la nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) o de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH). Éstos últimos son producidos por la reducción de NAD^+ o $NADP^+$. Por lo tanto, las reacciones de la fase luminosa conservan una parte de la energía contenida en la luz en una forma química, ATP, que las células utilizan. Para impulsar las reacciones fotoautotróficas, algunas bacterias fototróficas requieren poder reductor de los donadores de electrones de su ambiente, generalmente fuentes de azufre reducido (H_2S , S^0 , $S_2O_3^{2-}$) o H_2 . Por el contrario, las plantas verdes, las algas y las cianobacterias usan H_2O , por sí mismo un donador de electrones débil, como fuente de poder reductor para reducir $NADP^+$ a NADPH, produciendo oxígeno molecular (O_2) como subproducto. Puesto que hay producción de O_2 , la fotosíntesis en estos organismos se denomina oxigénica, mientras donde no hay producción se llama anoxigénica (Madigan *et al.*, 2004).

4.3.2 Ciclo de Calvin

En las reacciones de fijación de carbono, el NADPH y el ATP, producidos en las reacciones de captura de energía, se usan para reducir un compuesto de tres carbonos, el gliceraldehído fosfato, en el ciclo de Calvin. En él, la enzima RuDP carboxilasa combina una molécula de dióxido de carbono con el material de partida, un azúcar de cinco carbonos llamado ribulosa difosfato. Por cada vuelta del ciclo, entra en él un átomo de carbono. Tres vueltas del ciclo producen, el gliceraldehído fosfato. Dos moléculas de gliceraldehído fosfato (seis vueltas del ciclo) pueden combinarse para formar una molécula de glucosa. En cada vuelta del ciclo se regenera RuDP. El gliceraldehído fosfato también puede ser utilizado como material de partida para otros compuestos orgánicos necesarios para la célula (Curtis y Barnes, 2001).

4.4 Mitigación de la concentración de CO_2

El incremento desmedido de los gases de efecto invernadero (GEI) en la atmósfera debido a las actividades antropogénicas ha disminuido la capacidad natural de ser transformados en compuestos que no alteren el equilibrio ecológico del planeta.

Uno de ellos, el CO_2 , en concentraciones adecuadas en la atmósfera contribuye a la regulación de la temperatura superficial en el planeta. Sin embargo, en años recientes un desmedido incremento en ella provoca el aumento de la temperatura media de la tierra, fenómeno denominado como calentamiento global.

Por otra parte, la absorción de grandes cantidades de CO₂ en los océanos induce a que su concentración sea elevada a pesar de su gran superficie presente en el planeta, reduciendo la capacidad de ser capturado por el fitoplancton y provocando su acidificación, que trae como consecuencia la alteración de la vida y el equilibrio químico dentro de ellos.

Con el fin de reducir la acumulación de CO₂ en la atmósfera, se ha planteado el uso de organismos autótrofos, como las plantas, debido a su capacidad de fijar CO₂ utilizando agua (H₂O) y energía solar a través de la fotosíntesis. Se ha considerado una reforestación a larga escala, pero tiene la limitante de que no puede ser aplicada en todas las áreas del planeta; el agua que se requiere debe ser de alta calidad proveniente de lluvias o de irrigación, por ello se descarta considerar las áreas áridas sin desarrollar en el mundo. Así mismo, el terreno es una limitante, ya que se requieren grandes extensiones de éste para que los árboles puedan desarrollarse comparándose con territorios de varios países. Por ello se dificulta el uso de esta alternativa como potencial de captura de CO₂; no obstante, se busca compensar con reforestación y protección de las zonas existentes para regular en la manera de lo posible la captura de este gas. Por otra parte el uso de tecnologías biológicas amigables con el ambiente contribuyen al control de las emisiones gaseosas, e incluso la remoción de las mismas, ya que son sistemas competitivos caracterizados por su capacidad de tratar altos caudales y concentraciones bajas de contaminantes tales como biofiltros, filtros biopercoladores y biolavadores; los cuales utilizan microorganismos contenidos en un material de soporte o una fase líquida para la remoción de los compuestos indeseados (Le Cloirec *et al.*, 2005).

4.5 Algas y microalgas

Dentro de los organismos fotosintéticos, las algas son las que tienen mayor capacidad de fijar el CO₂ en grandes cantidades comparadas con otras, tales como árboles y caña de azúcar. Las plantas se desarrollan en un ambiente aerobio y están sujetas a altas pérdidas evaporativas de humedad que inhiben la fotosíntesis. Las microalgas utilizadas en cultivos masivos no están sujetas a la inhibición debido a que se puede controlar a través del uso de ingeniería adecuada. Adicionalmente el CO₂ puede ser capturado en estanques de algas sin cubiertas mientras que las plantas más altas requieren toldos para contener el CO₂ para un crecimiento eficiente (Chelf *et al.*, 1993). Las algas eucariontes se encuentran agrupadas bajo el dominio *Eukarya* mientras que las algas procariontes tales como cianobacteria o alga verde-azul pertenecen al dominio *Bacteria*. Las algas incluyen formas microscópicas (microalgas) y formas macroscópicas (macroalgas). En términos de su tamaño varían desde el picoplancton de 0.2-2.0 µm de diámetro hasta kelps con frondas que llegan alcanzar 60 m de longitud (Barsanti y Gualtieri, 2014). El número de especies de algas ha sido estimado en uno a diez millones, de los cuales la mayoría son microalgas. Las cianobacterias son diferenciadas de otras bacterias por la capacidad de llevar a cabo la fotosíntesis; éstas fueron la primera forma de vida en colonizar la Tierra y a través de la fotosíntesis, liberaron oxígeno, el cual permitió el desarrollo de otras nuevas formas de vida en el planeta (Wan-Loy, 2012).

Las microalgas también pueden ser clasificadas en verdes, cafés y rojas de acuerdo con su pigmentación. Éstas pueden ser encontradas en ambientes acuáticos y terrestres, incluso en ambientes extremos como puede ser nieve y glaciares, así como presentes en el aire ya que son arrastradas del suelo y esparcidas por la lluvia o el viento (Wong Chu *et al.*, 2007).

4.5.1 Usos y ventajas

Las algas representan un grupo importante de organismos para explotación biotecnológica, en especial para productos de valor agregado, procesos y servicios con impacto importante en la industria alimentaria y farmacéutica. Un diverso rango de metabolitos producidos por ellas con varias bioactividades aún está por ser explotado. Microalgas, como *Spirulina* y *Chlorella* han sido consumidas como suplementos alimenticios por humanos y han sido utilizados como alimento para animales (Belay, 2008; Iwamoto, 2004). Adicionalmente, las microalgas han sido utilizadas para el tratamiento de aguas residuales (García *et al.*, 2000) y su uso como herramienta biológica para la valoración de tóxicos ambientales (de-Bashan y Bashan, 2010). El uso potencial de microalgas como materia prima para la producción de biodiesel (Chisti, 2007) ha estado recibiendo un mayor interés en los últimos años debido a que resultan favorables en la producción de biodiesel comparado con el uso de otras plantas de cultivo, ya que no se compromete la producción de alimento, forraje y otras materias primas derivados de estos cultivos (Wan-Loy, 2012). Dentro de las microalgas, *Chlorella* tiene un gran potencial en la producción de biodiesel, el cual se produce con una alta calidad, viscosidad y valor calorífico (Xu *et al.*, 2006; Velasquez-Orta *et al.*, 2014). Así mismo se pueden extraer sustancias para la producción de fármacos, colorantes y proteínas (Borowitzka, 1995; Spolaore *et al.*, 2006; Valeriano-González *et al.*, 2016).

4.5.2 Factores para el crecimiento de las microalgas

Los factores que influyen en el crecimiento de las microalgas son variados; sin embargo, cada especie de microalgas presenta sus características propias respecto a las condiciones óptimas de crecimiento, así como las productividades máximas alcanzadas en diferentes configuraciones de sistemas de cultivo. La productividad de las microalgas está determinada por parámetros fisicoquímicos tales como la intensidad y tipo de luz, la temperatura, el pH del medio, la salinidad, el oxígeno disponible, la disponibilidad y concentración de nutrientes.

4.5.2.1 Intensidad y tipo de luz

La disponibilidad de luz es el principal factor limitante de los cultivos fotoautótrofos de microalgas, ya que debe ser continuamente suministrada al cultivo debido a que la energía radiante no se puede acumular (Molina-Grima *et al.*, 1996) como los nutrientes inorgánicos en el medio.

El problema del control de la luz como factor de vital influencia en el crecimiento de las microalgas radica en la imposibilidad de definirlo mediante un único parámetro, ya que

entran en juego intensidades, frecuencia de los cambios de luz-oscuridad, duración de los ciclos, configuración del reactor o estanque, hidrodinámica etc.

Los organismos fotosintéticos sólo emplean una fracción del espectro de luz solar que es fotosintéticamente activa, es decir entre 350 y 700 nm. La mayor parte de los ecosistemas naturales vegetales presentan una eficiencia de conversión de energía lumínica en biomasa de alrededor del 1%. Sin embargo, en el caso de las microalgas se han demostrado eficiencias de conversión luz-biomasa entre 1 y 4 % en sistemas abiertos como estanques y aún mayores en fotobiorreactores cerrados (Stephens *et al.*, 2010).

El crecimiento de los microorganismos fotosintéticos es proporcional a la intensidad de la luz recibida siempre que ésta se sitúe por debajo de un cierto valor máximo. A partir de este valor máximo, el crecimiento se ve fotoinhibido debido a que los sistemas fotosintéticos se ven dañados y la fotosíntesis, por tanto, inhibida. En la mayoría de las microalgas la fotosíntesis se ve saturada a niveles lumínicos por arriba del 30% de la radiación máxima solar fotosintéticamente activa (PAR, por sus siglas en inglés), es decir unos 1,700 a 2,000 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Las microalgas se adaptan a los cambios de luz variando el contenido de clorofila A de sus células, de modo que las microalgas adaptadas a bajos niveles de luminosidad tienen una respuesta más rápida a cambios en la intensidad luminosa ya que tienen más clorofila que las que están adaptadas a intensidades de luz altas. La producción de microalgas al aire libre está condicionada generalmente a la luz recibida como factor limitante (Pulz y Scheibenbogen, 1998). Por otro lado, las microalgas deben adecuarse a los cambios en la biomasa a lo largo del día debido a que las concentraciones óptimas de biomasa son diferentes para distintos niveles de irradiación solar.

Por tal motivo, la iluminación artificial puede contribuir a una producción continua, pero con un mayor costo económico y energético. Debido a lo anterior, es importante conocer el espectro de absorción de las microalgas cultivadas, antes de la elección de luz artificial; dicho espectro depende de los pigmentos presentes en ellas. Un estudio realizado por (Kommareddy & Anderson, 2003) donde se utilizaron lámparas fluorescentes, incandescentes, halógenas y LEDS (emitiendo en 643 nm); se determinó que los LEDS son la fuente más eficiente y económica, ya que emiten más del 98% de su luz entre 600 y 700 nm.

4.5.2.2 Temperatura

En el crecimiento de las microalgas, la temperatura influye en los coeficientes de velocidad de las reacciones biosintéticas (Richmond y Soeder, 1986). La relación entre temperatura y velocidad de crecimiento aumenta hasta que se alcanza la temperatura óptima. Grandes variedades de microalgas son capaces de desarrollarse en un rango amplio de temperaturas; sin embargo, fuera de éste se ven inhibidas e incluso mueren.

4.5.2.3 pH

El pH del medio influye en la proporción de las especies en equilibrio químico presentes y, por tanto, en la alcalinidad del medio y en la forma química en que se encuentran algunos nutrientes y micronutrientes necesarios. Cada especie de microalga tiene un rango de pH en el cual su crecimiento es óptimo, dependiendo de las especies químicas a las que estén más habituadas para ser asimiladas por ellas. El pH en la mayoría de los cultivos de microalgas se encuentra entre 7 y 9, con un óptimo entre 8.2-8.7.

El proceso fotosintético de fijación de CO₂ provoca un aumento gradual de pH en el medio debido a la acumulación de OH⁻, lo que puede promover la eliminación de nitrógeno en forma de amoníaco por desorción a la atmósfera y la eliminación de fósforo por su precipitación como ortofosfatos. El control de pH se consigue mediante la inyección controlada de CO₂, pero también mediante la adición de ácidos o bases.

4.5.2.4 Salinidad

La salinidad del medio de cultivo tiene una gran influencia en el crecimiento de las microalgas, así como en la acumulación de lípidos para producir después sustancias de valor agregado. Una baja concentración de salinidad o ausencia de ésta puede provocar un aumento en el tamaño de la célula; de lo contrario la presencia de una concentración alta provoca una reducción o inhibición del tamaño celular esto como respuesta al estrés en el que se están sometiendo y a la incapacidad de resistir a estas condiciones, ya que no pueden regular sus cambios osmóticos bajo estas alteraciones (Molina *et al.*, 2007). Lo anterior provoca el aumento de lípidos, principalmente ácidos triacilglicéridos (Hernández-García, 2017), así como de carbohidratos en microalgas halófilas y halotolerantes como *Dunaliella sp.*, *Amphora sp.* y *Tetraselmis sp.* (Ishika *et al.*, 2018).

4.5.2.5 Oxígeno disuelto

El nivel de oxígeno disuelto es un parámetro que debe ser controlado en el cultivo de microalgas, ya que altas concentraciones de oxígeno disuelto pueden inhibir la fijación de carbono por parte de la enzima RuBisCO. Esta inhibición se ve favorecida por un déficit de CO₂ y por la alta radiación y temperatura. Muchas especies de microalgas no son capaces de sobrevivir en un medio sobresaturado de oxígeno más de 2 o 3 horas. El nivel de saturación varía para algunas especies en 120% mientras que para otras en 200%.

En cultivos de alta densidad, la producción fotosintética de oxígeno puede alcanzar hasta los 40 mg L⁻¹, de forma que con la radiación adecuada pueden llegar a desarrollarse radicales de oxígeno libres. Estos radicales son tóxicos para las células y causan daños en sus membranas. La presión parcial del oxígeno en el cultivo puede disminuirse aumentando la turbulencia y desorción por el burbujeo el aire.

4.5.2.6 Agitación

La agitación facilita la eficiencia en el transporte, impidiendo la sedimentación de las algas y su adherencia a las paredes del reactor, homogeniza el pH y asegura la distribución de los gases y de la luz. Con una correcta agitación se somete a las algas a ciclos rápidos de mezclado, con el fin de pasar de una zona oscura a una iluminada.

El flujo turbulento es de gran importancia en cultivos de alta densidad debido a que permite una distribución homogénea del cultivo reduciendo la distancia entre las células promoviendo el aumento de la densidad del cultivo en el medio. El flujo laminar provoca una distribución heterogénea de la luz y gradientes de difusión. Sin embargo, no todas las especies toleran una agitación fuerte que suponga un buen mezclado en el reactor, ya que son sensibles al estrés hidrodinámico; por ejemplo, las microalgas verdes como *Picochlorum sp.* son resistentes al esfuerzo provocado por la agitación debido al espesor que tiene su pared celular mientras que las cianobacterias como *Pseudoanabaena sp.* no lo son (Wang y Lan, 2018).

4.5.2.7 Nutrientes

Las microalgas durante la fotosíntesis utilizan nutrientes esenciales y energía solar para sintetizar compuestos requeridos para su metabolismo y multiplicación de sus células. Sin embargo, la deficiencia de estos causa la disminución de su crecimiento de acuerdo con la ley del mínimo de Leibig que establece que el crecimiento de las algas estará limitado por el nutriente que se encuentra menos abundante con relación a sus necesidades (Masters y Wendell, 2008).

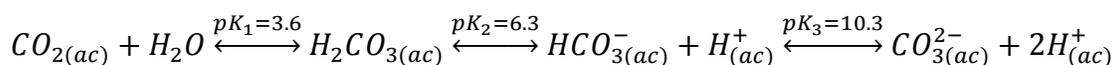
Conforme a la relación Redfield C:N:P de 106:16:1 de la composición elemental del fitoplacton, todos los elementos esenciales deben estar presentes en cantidades adecuadas y disponibles en el medio de cultivo para que el crecimiento de las microalgas no se encuentre limitado (Spaargaren, 1996).

Los nutrientes que las microalgas toman del medio y que necesitan para su desarrollo generalmente son capturados en la forma inorgánica pero también pueden ser asimilados a partir de compuestos orgánicos. Algunos nutrientes no muestran un efecto perjudicial en el crecimiento de las microalgas, mientras que otros sí lo tienen a altas concentraciones, como el NO₂ y NH₃. Los nutrientes en forma gaseosa muestran una mayor limitación, la cual está relacionada principalmente con la transferencia de masa de la fase gaseosa a la líquida (Markou *et al.*, 2014).

Los nutrientes más significativos para el crecimiento y producción de microalgas son:

Carbono (C). El carbono es el principal elemento que constituye la biomasa de las microalgas hasta un 65% de su peso en base seca; aunque su contenido puede variar significativamente entre las distintas especies y condiciones de cultivo entre 17.5 y 65% de su peso en seco. No obstante, la mayoría de las especies contienen un 50% de carbono (Grobelaar, 2004).

Las microalgas autótrofas pueden emplear como fuente de carbono el CO_2 presente en la atmósfera o de los gases provenientes de una combustión, así como los iones bicarbonato (HCO_3^-) mediante la enzima anhidrasa carbónica. Son capaces de tolerar entre 150,000-400,000 ppm. Cuando se provee a las microalgas de carbonato, se hace generalmente en forma de Na_2CO_3 y NaHCO_3 . Debido a que las microalgas son organismos acuáticos que prosperan en medio acuático, el CO_2 se disuelve en agua (H_2O) y reacciona con ella para formar un sistema buffer ácido-base, teniendo el siguiente equilibrio:



El equilibrio anterior depende del pH del medio, lo que significa que la cantidad relativa de especies de carbono inorgánico disuelto (DIC, por sus siglas en inglés) está estrictamente relacionado con el pH del medio.

Los compuestos orgánicos proporcionan para las microalgas heterótrofas tanto la energía como la fuente de carbono. En cambio, las algas mixotróficas son capaces de crecer bajo procesos autótrofos como heterótrofos, de manera que la fuente de energía es tanto la luz como la materia orgánica, obteniendo el carbono de compuestos orgánicos y del CO_2 . Cuando el CO_2 es suministrado al medio, su presencia en éste es limitada por la solubilidad y la tasa de transferencia de masa. La solubilidad en agua a 25°C y 1 atm es de alrededor de 1.5 g/L y depende del pH, la salinidad, la presión y la temperatura. La solubilidad del CO_2 en agua aumenta cuando se incrementa la presión y disminuye cuando la salinidad y temperatura se incrementa de acuerdo con la Figura 1.

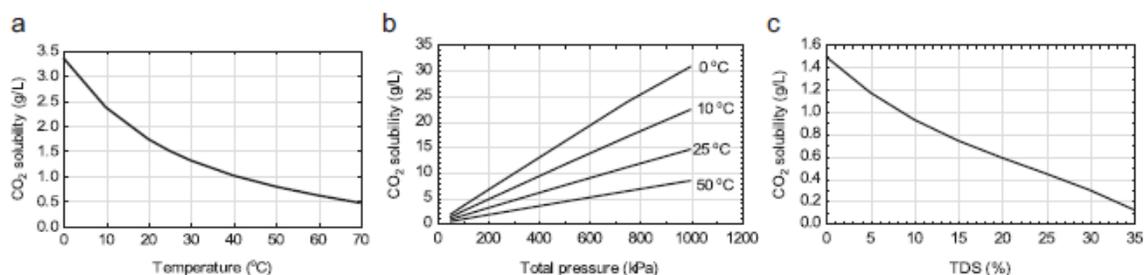


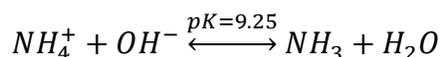
Figura 1 Efecto de la solubilidad de CO_2 vs T, P y salinidad (Markou *et al.*, 2014).

El pH no sólo afecta las especies DIC en equilibrio, también la cantidad total de DIC que está disponible en el medio. En medios alcalinos, los iones OH^- en exceso reaccionan con CO_2 para la formación de HCO_3^- , resultando una elevada alcalinidad de bicarbonato-carbonato y por ende una mayor disponibilidad de carbono total (Münkel *et al.*, 2013). Adicionalmente la transferencia de CO_2 es más rápida con pH elevados en lugar de valores bajos debido a que la reacción de CO_2 y OH^- es más rápida que la hidratación de CO_2 a H_2CO_3 (Van Den Hende *et al.*, 2012).

Nitrógeno (N). Es el segundo elemento más abundante en la biomasa microalgal y su contenido varía entre 1% y 14% (intervalo típico de 5-10%) de su peso en seco (Grobbelaar, 2004). El N participa en la conformación de compuestos bioquímicos tales como ácidos nucleicos, aminoácidos y pigmentos.

Las microalgas pueden tomar nitrógeno del medio generalmente en forma de nitrato, óxidos de nitrógeno (NO_x), nitrito, amonio, nitrógeno gas y urea. El nitrato (NO₃⁻) es el compuesto mineral nitrogenado más utilizado para el cultivo de microalgas en medio sintético, no muestra efecto tóxico en las células y las microalgas pueden tolerar concentraciones hasta de 100 mM (Jeanfils *et al.*, 1993). El óxido nítrico (NO) tiene una baja solubilidad en el medio, por lo que es considerado como factor limitante en cultivos de microalgas (Jin *et al.*, 2008). El nitrito (NO₂⁻) se encuentra frecuentemente en ambientes naturales como un producto intermediario del proceso de nitrificación, pero a altas concentraciones tiene efectos tóxicos (Chen *et al.*, 2012).

El amoniaco (NH₃) es una molécula volátil, pero al contrario del CO₂, su solubilidad es muy alta (alrededor de 35% w/w a 25°C) y se encuentra presente en soluciones acuosas. Cuando el amoniaco es disuelto en agua reacciona con ella para formar el sistema buffer amonio/amoniaco:



Este equilibrio también depende del pH del medio, por lo que a valores mayores de 9.25 la especie dominante es el amoniaco (NH₃). La temperatura también tiene un efecto en el equilibrio, debido a que el valor de pK disminuye al aumentar la temperatura dando como resultado que el amonio sea la especie dominante con valores bajos de pH cuando la temperatura es alta. El NH₄⁺ es el preferido por las microalgas ya que su captura y asimilación consume menos energía comparada con otras fuentes de nitrógeno. Una restricción durante el uso del NH₃ es el potencial tóxico debido a que tiene un efecto perjudicial en las microalgas en bajas concentraciones de 2 mM (Azov y Goldman, 1982). El principal factor que afecta la toxicidad es atribuido al pH del medio, el cual determina si la forma tóxica de amoniaco es dominante o la no tóxica con el amonio. Debido a lo anterior se afecta el sistema fotosintético de las microalgas y en particular induce daño al fotosistema II, ya que desacopla el transporte electrónico y compite con el agua en las reacciones de oxidación que generan el O₂.

El nitrógeno molecular (N₂) puede ser asimilado por cianobacterias y diatomeas mediante la reducción de N₂ a NH₄⁺; sin embargo, es un proceso de alto costo energético debido al consumo de varias moléculas de ATP. Es un proceso con una tasa de reacción muy baja y es considerado inadecuado para la producción de cianobacterias en cultivos de alta tasa (Grobbelaar, 2004).

Las microalgas pueden utilizar nitrógeno proveniente de compuestos orgánicos como urea ($(\text{NH}_2)_2\text{CO}$), que tiene una influencia positiva en algunas especies y sus tasas de crecimiento son equivalentes o incluso mayores comparadas con otros cultivos que utilizan otra fuente de nitrógeno (Perez-Garcia *et al.*, 2011). La presencia simultánea de más de una forma de nitrógeno en el medio de cultivo afecta la captura del mismo y se prefiere la forma más reducida en que se encuentre el nitrógeno en el medio. El orden de preferencia del mismo es $\text{NH}_4^+ > \text{NO} > \text{NO}_2^- > \text{NO}_3^- > \text{urea}$ (Perez-Garcia *et al.*, 2011).

Fósforo (P). Elemento que constituye entre 0.05% y hasta un 3.3% (Grobbelaar, 2004) de la biomasa microalgal; es un componente de varias moléculas orgánicas que son esenciales para el metabolismo, como los ácidos nucleicos (ARN y ADN), la membrana fosfolipídica y el ATP (Geider y La Roche, 2002). El fósforo es un nutriente limitante para las microalgas, especialmente en ambientes naturales (Oliver y Ganf, 2000). El fósforo es capturado del medio en forma de ortofosfatos (P-PO_4^{3-}), cuya concentración en equilibrio con las formas protonadas depende del pH del medio. Para el caso en que otros compuestos de fósforo inorgánico puedan ser asimilados por las microalgas, éstos deben ser transformados en ortofosfatos. Así mismo, la mayoría de compuestos de fósforo orgánico disueltos tienen que ser mineralizados (Dyhrman y Ruttenberg, 2006). Factores como un pH excesivamente alto o bajo, o la ausencia de iones como potasio, sodio o magnesio, disminuyen la captura de fosfatos por parte de las microalgas.

Magnesio (Mg). Es un elemento esencial para la producción de microalgas, el contenido en ellas varía entre 0.35% y 0.7% (Tokuşoglu & Ünal, 2003); no obstante, en algunas especies puede llegar hasta el 7.5% (Grobbelaar, 2004). El magnesio participa en procesos vitales de la célula tales como las reacciones de ATP para la fijación del carbono y es el promotor para la mayoría de las enzimas. También es un constituyente del aparato fotosintético y en particular de la clorofila (Hopkins y Hüner, 2009). El magnesio en soluciones acuosas se presenta como catión Mg^{2+} por lo que cuando el pH del medio es alto, éste puede precipitar como hidróxido o fosfato de magnesio e inducir la floculación de la biomasa microalgal cuyo efecto es indeseable. Sin embargo, los complejos microalga-mineral solo son formados cuando el pH es más alto que 11 (Vandamme *et al.*, 2012); a esos niveles, solo pocas especies alcalofílicas pueden subsistir.

Azufre (S). El contenido de este elemento en la biomasa varía de 0.15% a 1.6% (Grobbelaar, 2004). Es un componente de la bicapa lipídica de la membrana celular, compuestos reguladores y de algunos metabolitos. El azufre puede ser encontrado en diferentes formas, aunque las microalgas principalmente lo asimilan a través de la captura en la forma de sulfato (SO_4^{2-}), mientras que formas como el sulfuro pueden ser tóxicas (Oren *et al.*, 1979).

Calcio (Ca). Es un elemento necesario para el crecimiento de las microalgas, debido a que es constituyente de la pared celular. También afecta la división celular y es un mensajero secundario que afecta la morfogénesis (Kylin y Das, 1967; Plieth *et al.*, 1997). El contenido de calcio en la biomasa microalgal varía de 0.2% a 1.4% (Tokuşoglu y Unal, 2003) pero puede

alcanzar 8% (Grobbelaar, 2004). En ambientes acuáticos, el calcio se encuentra en forma de Ca^{2+} y puede ser capturado por transporte pasivo o activo. Altas concentraciones en el medio de cultivo junto con altos valores de pH resultan en la formación de CaCO_3 y de otras sales que precipitan, disminuyendo la alcalinidad del medio y la concentración de otros minerales como hierro (Fe) y fósforo (P) (Shimamatsu, 2004).

Hierro (Fe). Como elemento de transición es asociado con enzimas a través de la formación de varios aminoácidos. Participa en procesos enzimáticos como el metabolismo del oxígeno, en transferencia de electrones, en la asimilación de nitrógenos, en los ácidos nucleicos y en la síntesis de la clorofila (Naito *et al.*, 2005; Straus, 1994). Sin embargo, el hierro tiene varias características fisicoquímicas que reducen su biodisponibilidad debido a su facilidad de oxidarse a Fe^{3+} promoviendo la formación de óxidos e hidróxidos que son insolubles. Además, es fácilmente adsorbido sobre superficies particuladas provocando su baja disponibilidad. Cultivos deficientes de hierro disminuyen las tasas de crecimiento (Sandmann, 1985), mientras que con alta concentración incrementa su contenido en la biomasa (Yeesang y Cheirsilp, 2011).

Adicionalmente las microalgas requieren para su crecimiento micronutrientes o elementos traza como: boro (B), cobre (Cu), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), zinc (Zn), vanadio (V) y selenio (Se), tal como se observa en la composición elemental de las microalgas. Además, son relevantes en reacciones enzimáticas y en la biosíntesis de compuestos necesarios para el metabolismo. Al igual que el fósforo, estos iones traza muestran cierta afinidad por otros compuestos del medio y precipitan. Para evitar este problema, se añaden al medio agentes quelantes de metales, como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), que es de fácil disolución.

4.5.3 Cultivo de microalgas

Las microalgas se pueden cultivar de manera fotoautótrofa, fotoheterótrofa o en condiciones de mixotrofia. Actualmente la producción fotoautótrofa es hoy en día el único método de producción de microalgas a gran escala que resulta económicamente rentable y técnicamente viable para la producción no energética (Brennan, 2010). Los sistemas de cultivo suelen clasificarse según su configuración y el tipo de funcionamiento.

4.5.3.1 Sistemas abiertos

El sistema de cultivo abierto ha sido utilizado desde los años 50 (Borowitzka, 1999) y es el más común para la producción comercial de microalgas (Pulz, 2001). Se pueden clasificar en: aguas superficiales naturales como estanques, lagunas, lagos y estanques artificiales. Los sistemas artificiales presentan diferentes diseños: inclinados, circulares y los estanques de carrusel o canales (raceway ponds).

Los “raceway ponds” suelen ser canales de concreto poco profundos en forma de circuito cerrado donde el cultivo es recirculado y mezclado mediante rodets, hélices, inyectoros de

aire u otros, que favorecen la estabilización del crecimiento y la productividad de las microalgas con el fin de que el inóculo y los nutrientes se integren al inicio del sistema y que las microalgas se recirculen hasta el punto de extracción, además de evitar la sedimentación de éstas.

Debido a la poca profundidad de los canales, la difusión desde la atmósfera permite a las algas obtener el CO₂ necesario para su crecimiento. No obstante, se pueden instalar difusores en el fondo del estanque y reflectantes de luz para aumentar la profundidad de éstos. Debido a su configuración, las piscinas inclinadas crean turbulencia por la propia gravedad; sin embargo, presentan una fuerte evaporación, una ineficiente utilización del terreno y la sedimentación de las microalgas en sectores en los que la velocidad de flujo es menor, así como mayor costo energético por utilizar equipo mecánico para llevar el cultivo a la parte superior. Los tanques circulares para el cultivo de microalgas presentan inconvenientes tales como la ineficiente utilización del terreno, elevado costo de construcción, y alto consumo de energía. La agitación se realiza mediante una pala que gira recorriendo toda la superficie. La producción mediante estanques o lagunas es el método más barato en comparación con los fotobiorreactores, tanto en inversión, como en mantenimiento y consumo energético durante el funcionamiento.

Las desventajas de los sistemas abiertos son: dificultad para mantener una sola especie de microalga debido a la facilidad de contaminación biológica, el control de temperatura es complejo, cambios en la composición iónica del medio de cultivo debido a la evaporación, dificultad de mezclado eficiente, falta de CO₂ y limitación de la luz en capas inferiores. Para maximizar la productividad de biomasa se requiere la optimización del mezclado y la profundidad del estanque.

4.5.3.2 Sistemas cerrados

Los sistemas cerrados para el cultivo de microalgas surgieron para solucionar la problemática de los sistemas de cultivo abiertos. Aunque son más caros, permiten suplir algunas carencias de los sistemas tradicionales. Estos sistemas se encuentran en total aislamiento con el ambiente exterior, sin contacto directo con la atmósfera; por lo tanto, suponen una reducción total de la contaminación, un mayor control de las condiciones de cultivo y una mayor rentabilidad.

4.5.3.2.1 Cámaras de microalgas

Las cámaras de algas son sistemas cerrados de pequeña escala de producción, donde se llevan a cabo cultivos de microalgas y el volumen del cultivo va aumentando. Existen recipientes de tamaños muy diversos en los que se mantiene el cultivo bajo condiciones controladas. El control de la temperatura se realiza con una combinación de termostatos y calefactores, mientras que la luz aplicada es artificial y se suele aportar por medio de tubos fluorescentes que permiten una distribución homogénea de la luz, así como el control de la temperatura debido a que emiten poca cantidad de calor. Además, en función del tipo de

cultivo se pueden elegir diferentes tipos de materiales con distintas características del espectro lumínico.

4.5.3.2.2 Fotobiorreactores

Un fotobiorreactor es un sistema donde se busca el crecimiento de microalgas. Éste se caracteriza por la regulación y control de la mayoría de los parámetros de crecimiento importantes, al mismo tiempo que reducen el riesgo de contaminación y las pérdidas de CO₂ por difusión. Además, permiten condiciones de cultivo reproducibles, el control de la temperatura y un diseño flexible (Pulz, 2001). En estos equipos, la luz no incide directamente en las células, sino que atraviesa unas paredes transparentes para llegar hasta ellas. Por ello en los fotobiorreactores cerrados el intercambio directo de gases entre el medio y la atmósfera suele estar limitado. La principal consecuencia es la acumulación de oxígeno (O₂) en su interior.

Fotobiorreactores tubulares. Los reactores tubulares son uno de los fotobiorreactores más adecuados para cultivos en el exterior, debido a su alta relación área iluminada/volumen reactor. La transferencia de masa, así como el grado de agitación en los fotobiorreactores tubulares son limitados, causando altas concentraciones de O₂. Los problemas de fotoinhibición también son comunes ya que si no existe la mezcla, las células de la superficie reciben grandes cantidades de luz mientras que a las interiores no les llega suficiente (Ugwu *et al.*, 2008).

Fotobiorreactores de paredes. Formado por dos láminas de materiales transparentes generalmente de plástico vertical o inclinado, entre las que se agita el cultivo mediante sistemas mecánicos o neumáticos. Tienen la ventaja de posibilitar grandes superficies de cultivo expuestas a la luz por unidad de superficie de terreno, aunque resulta difícil mantener las turbulencias adecuadas. Las concentraciones de O₂ disuelto son bajas y las eficiencias fotosintéticas son altas. Tienen ciertos problemas, como la dificultad de escalado, la imposibilidad de controlar la temperatura y un posible estrés hidrodinámico de ciertas especies (Ugwu *et al.*, 2008).

Fotobiorreactores de columna vertical. Estos constan de un tubo vertical de altura generalmente entre 1 y 3 m, y un diámetro que oscila entre 5 y 50 cm, en el que se burbujea aire desde el fondo como sistema de agitación. La desorción de gases tiene lugar en la parte alta de la columna. Por su posición vertical absorben menos radiación que los expuestos horizontalmente, pero no acumulan oxígeno. Estos sistemas suelen utilizarse como sistemas de producción de inóculos debido al elevado control de las condiciones de operación que se alcanzan en los mismos

Fotobiorreactores iluminados interiormente. La iluminación interior de éstos puede ser natural, a través de colectores solares que permitan transferir la luz al interior del mismo, pero generalmente es artificial. Poseen un gran potencial de productividad porque se

reducen los problemas de accesibilidad a la luz y la fotoinhibición; por ello están siendo investigados actualmente. La iluminación usualmente se hace con lámparas fluorescentes; sin embargo, el consumo de energía es muy elevado para ser utilizados en producciones comerciales, y por ello su uso se considera con fines de investigación.

4.6 Transferencia de masa

Los sistemas mencionados anteriormente deben ser diseñados para proveer el mezclado requerido mediante un flujo turbulento en un sistema multifase, a fin de mejorar la transferencia de masa, alcanzar luz, temperatura, pH y la homogeneidad de nutrientes, remover O₂ y prevenir los conglomerados de microalgas y su sedimentación. Más allá de lo económico, el mezclado toma relevancia debido al excesivo esfuerzo cortante que puede llegar a dañar las células de las microalgas (Sánchez Mirón *et al.*, 2003; Gallardo-Rodríguez *et al.*, 2012). La transferencia de gas-líquido puede convertirse en el paso limitante para un desempeño óptimo de los sistemas de microalgas bajo dos situaciones principales, ambas involucrando la solubilidad de gases en el medio. En primer lugar, el CO₂ requiere ser constante y suficientemente suministrado debido a la limitada disponibilidad de éste que afecta el crecimiento celular y formación de producto. En segundo lugar, el O₂ producido fotosintéticamente, que es disuelto en el medio debe ser removido debido a que su acumulación puede llegar a inhibir el crecimiento. En cambio, la mayoría de los nutrientes requeridos para las microalgas son altamente solubles en agua, por lo que su suministro es fácilmente controlable (Morales *et al.*, 2015).

La tasa de transferencia de gas-líquido puede ser expresada como $dC_x/dt = K_L a_x (C_x^* - C_x)$. En esta ecuación, K_L es el coeficiente de transferencia de masa basado en la fase líquida y a_x es el área específica de transferencia, mientras que C_x^* y C_x son las concentraciones de CO₂ y/o O₂ en la saturación y en el medio de cultivo, respectivamente. Como se puede observar, la transferencia de masa gas-líquido volumétrica depende tanto del producto $K_L a_x$ y el gradiente, el cual está relacionado con la solubilidad (absorción o desorción) del gas, que a su vez depende también de sus variaciones con la temperatura. Los factores que influyen en el coeficiente global de transferencia de masa ($K_L a_x$) en los fotobiorreactores comprenden el mezclado, la velocidad de líquido, la velocidad de la burbuja y la retención de gas. Los procesos físicos como la transferencia de masa del tipo interfase, interpartícula e intrapartícula que ocurren al interior de un reactor multifase depende significativamente sobre las características del mezclado en las diversas fases involucradas. El proceso de mezclado es convencionalmente clasificado en macromezclado, el cual ocurre a una escala macroscópica que corresponde a los procesos de flujo a gran escala que causan distribuciones de los elementos de fluido representados por la distribución del tiempo de residencia hidráulico (TRH) y el micromezclado que corresponde a los fenómenos a escala celular y molecular (Morales *et al.*, 2015).

4.7 Tratamiento de aguas residuales

Las aguas residuales presentan elevadas concentraciones de contaminantes que son consideradas una amenaza a la salud pública por lo que deben eliminarse antes de que sean vertidas a un cuerpo de agua o alcantarillado municipal con el fin de evitar problemas que lleven a la degradación de la calidad ambiental de una zona.

Actualmente, existen procesos eficaces para la eliminación de contaminantes presentes en las aguas residuales, pero estos procesos tecnológicos presentan una serie de inconvenientes derivados de su elevado costo y complejidad de operación, la generación de residuos (lodos) o su alto consumo energético. Debido a lo anterior, se ha utilizado la biorremediación que implica el uso de organismos vivos, para la depuración de los contaminantes. En un caso específico de su aplicación, se encuentra la fitodepuración que consiste en el uso de microalgas para el tratamiento de efluentes líquidos. Ésta permite la eliminación de los contaminantes presentes en las aguas residuales, que para las microalgas pueden ser nutrientes necesarios adicionales al CO₂ en la atmósfera y la luz solar, los cuales son utilizados en su metabolismo. Como resultado, se ocasiona una velocidad de producción de biomasa denominada productividad expresada en g L⁻¹ d⁻¹.

La productividad de los cultivos de microalgas depende de las condiciones a las que están expuestos. En cultivos presentes en condiciones externas o a la intemperie, la ubicación del sistema determina el valor de irradiancia solar y temperatura disponible, mientras que el pH y la concentración de oxígeno disuelto es función del diseño y de las condiciones de operación del mismo (Costache *et al.*, 2013). No obstante, en la actualidad el uso de las microalgas para el tratamiento de aguas residuales se emplea a pequeña escala. Uno de los principales motivos es la dificultad y costo de separación de la biomasa generada del agua depurada, debido al pequeño tamaño de microalgas y su baja densidad.

Por ello los sistemas de estanque microalgal de alta tasa (HRAP, por sus siglas en inglés: high rate algal ponds) han demostrado ser un sistema eficiente para tratar el agua residual. Este sistema consiste en un estanque poco profundo mezclado por una rueda de paletas que aumenta la transferencia de nutrientes y su exposición a la luz, para controlar el crecimiento de las algas. El uso de HRAP es adecuado en climas tropicales con gran cantidad de luz solar durante el año. Además de reducir contaminantes como: demanda química de oxígeno (DQO), demanda biológica de oxígeno (DBO), nitrógeno y fósforo, se genera biomasa que puede ser utilizada en otros procesos, como los mencionados anteriormente (Hoffmann, 1988; Oliveira *et al.*, 2018).

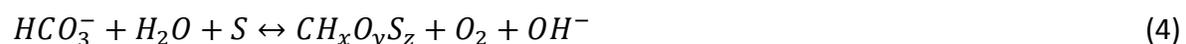
4.8 Tratamiento de biogás

El uso de biogás proveniente de la digestión anaerobia de residuos sólidos y aguas residuales constituye una fuente valiosa de bioenergía con potencial en disminuir la dependencia de combustibles fósiles. El biogás debido a su composición alta en metano (CH₄) con menores proporciones de dióxido de carbono (CO₂) y ácido sulfhídrico (H₂S) posee

un alto potencial energético; sin embargo, se requiere disminuir el contenido de CO₂ y del H₂S para un manejo eficiente y adecuado, en particular este último debido a que es altamente corrosivo, tóxico y fétido.

El uso de fotobiorreactores en los que exista una simbiosis de alga-bacteria representa una oportunidad para remover los contaminantes del biogás a un costo de energía e impacto ambiental bajo. En estos sistemas las microalgas usan la energía solar para fijar el CO₂ del biogás a través de la fotosíntesis aunado a la producción de O₂; éste último puede ser utilizado por bacterias sulfoxidantes para oxidar el H₂S en sulfato (SO₄²⁻). La operación de este consorcio de microorganismos es llevada a pH elevados (utilizando bacterias alcalófilas y microalgas tolerantes a pH altos) con el fin de aumentar el transporte de masa de los gases ácidos H₂S y CO₂ contenidos en el biogás hacia el caldo de cultivo bacteriano, permitiendo así el tratamiento eficiente del biogás (Bahr *et al.*, 2014).

El biogás es enriquecido en sistemas de absorción (operados a pH>8), donde el CO₂ y el H₂S es eficientemente transferido en la fase líquida (Bahr *et al.*, 2014) y si el pH del medio acuoso se mantiene cercano a 8, se puede formar bicarbonato (HCO₃⁻) e hidrosulfuro (HS⁻) respectivamente (ecuación 2 y 3). El HCO₃⁻ (ecuación 4) puede ser una fuente de carbono que promueva el crecimiento de microalgas, si las células conservan tasas de fijación de carbono adecuadas bajo ambientes alcalinos y de sulfuro de hidrógeno (H₂S_(L)) (de los Cobos-Vasconcelos *et al.*, 2016).



El H₂S puede ser un sustrato limitante o inhibidor del crecimiento para algunas cepas de cianobacterias (Ohki *et al.*, 2012), mientras que para el género *Chlorella* puede ser tolerado e incluso promover altas productividades durante el proceso de tratamiento del biogás (Kao *et al.*, 2012).

Chlorella vulgaris, puede utilizar el H₂S como sustrato, su uso depende del pH, alcanzando altas tasas de consumo a valores bajos de pH (Spedding *et al.*, 1980). Por lo contrario, Kao *et al.* (2012) mencionan que el H₂S inhibe el crecimiento microalgal en lugar de pH ácidos; no obstante, se observó que el H₂S es transformado a sulfato reduciéndose así la toxicidad de la célula. El sulfato es fácilmente asimilable y también puede ser un sustrato limitante del crecimiento microalgal (Mera *et al.*, 2016). La influencia de otros compuestos en el crecimiento de las microalgas tales como el tiosulfato, tetracionato, tiocianato y azufre elemental es menos favorable que el efecto reportado por el sulfato (Krauss y Schmidt, 1987).

A pH mayores a 8 el H₂S_(L) y el (HS⁻) son fácilmente oxidables en presencia de oxígeno por reacciones químicas y bioquímicas. Gun *et al.* (2000) encontraron pentasulfuro como

principal subproducto en la oxidación del sulfuro. González-Sánchez y Revah, (2007) describieron la cinética de la oxidación de sulfuro en presencia de un consorcio de bacterias sulfo-oxidantes, donde procesos bióticos y abióticos fueron evaluados, adicionalmente González-Sánchez y Posten (2017) evaluaron el crecimiento cinético de *Chlorella sp.* en función de las concentraciones predominantes de bicarbonato y H_2S disuelto durante el tratamiento de biogás a un pH de 8.5 y desarrollaron un modelo químico-biológico de la cinética de consumo y formación de subproductos del H_2S (Figura 2), además de la asimilación de sulfato durante el cultivo de microalgas bajo condiciones ligeramente alcalinas.

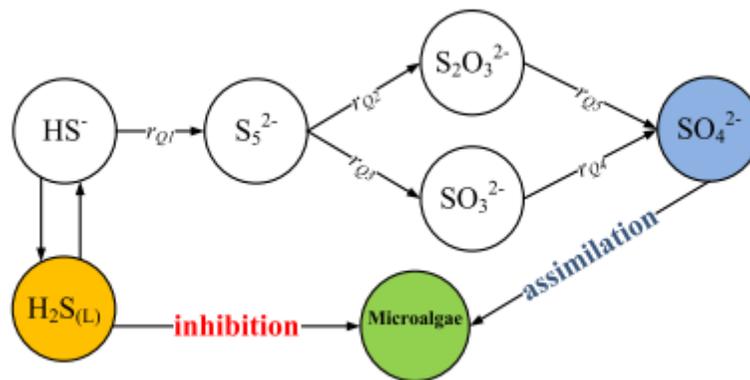


Figura 2 Mecanismo de oxidación de $\text{H}_2\text{S}/\text{HS}^-$ y su efecto en las microalgas (González-Sánchez y Posten, 2017)

4.9 Modelización

Un modelo matemático de un proceso es un conjunto de ecuaciones que relacionan las variables del sistema de modo que la solución de estas ecuaciones describe su comportamiento. La manipulación del modelo busca obtener la información que se necesita para conseguir un objetivo específico

El modelo es una herramienta que describe el proceso de forma cualitativa y cuantitativa, de manera que puede ser utilizado tanto para el análisis de los datos experimentales obtenidos, como para obtener, a partir de unos valores iniciales de ciertas variables, las tendencias y evoluciones de éstas durante el proceso (Gòdia-Casablanca y López-Santín, 1998). La resolución del modelo para obtener predicciones de las variables más importantes del proceso y su posible comparación con datos experimentales se le conoce como simulación. La elaboración de un modelo, juntamente con su aplicación en la simulación permite determinar el comportamiento de un sistema, el diseño de experimentos, la operación y control de un proceso, así como su optimización.

4.10 Modelos cinéticos para el crecimiento de microalgas

En general, los modelos cinéticos describen la dependencia de la rapidez con respecto a variables ambientales medibles. En el caso de las microalgas, son la irradiancia,

temperatura, pH, CO₂, O₂ y nutrientes. Tanto ecuaciones empíricas como cinéticas han sido desarrolladas para describir el crecimiento de microalgas, consumo de CO₂ y el O₂ producido por fotosíntesis o la acumulación de un producto. La actividad de las microalgas puede ser descrita por ecuaciones lineales, exponenciales, de saturación, logísticas y de rápida aceleración o lenta desaceleración. La cinética de Monod es el modelo empírico más utilizado para describir el crecimiento de las células y la inhibición por luz, sustrato o producto. El efecto de la temperatura y del pH puede ser representado por la expresión de Arrhenius (Costache *et al.*, 2013; Cabello *et al.*, 2015) . No obstante, datos experimentales de crecimiento de las microalgas pueden ser ajustados mediante ecuaciones empíricas a través de regresiones no lineales. Modelos logísticos como la ecuación modificada de Gompertz y modelos de saturación simple (Monod) también son utilizados para ajustar datos experimentales de crecimiento o curvas de formación del producto a fin de estimar tasas de producción o crecimientos máximos, fase de latencia y máxima concentración de células o productos (Béchet *et al.*, 2013).

4.10.1 Calibración del modelo

Al plantear las ecuaciones que configuran el modelo aparecen diferentes parámetros que deben ser evaluados de forma tal que permitan una solución del modelo lo más ajustada al comportamiento del sistema en estudio. Estos parámetros son evaluados comparando los valores calculados por el modelo con los valores experimentales.

Uno de los mecanismos de calibración se basa en el uso de métodos de optimización que obtienen un conjunto de parámetros que minimizan el error cuadrático entre los valores obtenidos por simulación y los determinados experimentalmente. El criterio más utilizado es del sumatorio de errores cuadráticos, que a diferencia del error absoluto acumulado considera mucho más importante una contribución de error grande que un error pequeño debido a su forma cuadrática (Gòdia-Casablanca y López-Santín, 1998). Si el problema que se plantea es de optimización sin restricciones, la mayoría de los métodos existentes son aplicables, especialmente aquellos que no requieren el uso de derivadas.

4.10.2 Validación del modelo

En el proceso de calibración los parámetros obtenidos habrán sido ajustados según algunos datos experimentales. Sin embargo, ello no implica que con los mismos parámetros se simule correctamente una situación no incluida en la etapa de calibración. Al proceso de comparar los datos obtenidos mediante simulación, con nuevos datos experimentales se le denomina validación del modelo.

En esta etapa no es posible modificar los valores de los parámetros para obtener un mejor ajuste, si fuese así, el proceso de calibración del modelo ha sido incorrecto o el modelo no es capaz de describir la situación. Es necesario que las condiciones de trabajo se lleven a cabo en el rango de valores en que se calibró el modelo, ya que variaciones importantes no incluidas en el mismo pueden alterar el comportamiento de éste. En caso de que no sea

posible realizar la validación de un modelo, se requiere volver a efectuar la calibración de éste con nuevos experimentos incorporados al conjunto seleccionado o reformular el modelo cambiando su estructura para repetir el proceso de calibración. Lo anterior dependerá de cuánto se alejen en el proceso de validación los resultados experimentales de los predichos por el modelo propuesto (Gòdia-Casablanca y López-Santín, 1998).

4.11 Diseño de experimentos tipo Taguchi

Un diseño de Taguchi permite elegir un producto o proceso que funciona con mayor consistencia en el entorno operativo. Los diseños de Taguchi reconocen que no todos los factores que causan variabilidad pueden ser controlados.

Estos factores que no se pueden controlar se denominan factores de ruido. Los diseños de Taguchi intentan establecer factores de control que minimicen el efecto de los factores de ruido. Durante el experimento, se utilizan los factores de ruido para producir un cambio en el proceso que permita determinar el mejor conjunto de factores de control haciéndolo robusto o resistente ante la variación causada por los factores de ruido; un proceso diseñado con esta meta producirá una salida más consistente (Minitab, 2018).

Los diseños de Taguchi utilizan arreglos ortogonales, los cuales estiman los efectos de los factores en la media de respuesta y en la variación. Un arreglo ortogonal significa que el diseño está balanceado, de manera que los niveles de los factores se ponderan equitativamente. Debido a eso, cada factor se puede evaluar sin considerar todos los demás factores, de manera que el efecto de un factor no afecta la estimación de otro factor. Los arreglos ortogonales representan una fracción del total de experimentos a realizar de acuerdo con el número de variables y sus niveles (Escalante-Vázquez, 2014); esto puede reducir el tiempo y el costo asociados al experimento cuando se utilizan diseños fraccionados.

5. Justificación

5.1 Técnico-medioambiental

El uso de la digestión anaerobia en el tratamiento de residuos orgánicos presenta ventajas económicas pues reduce los costos de inversión, operación y mantenimiento con respecto a métodos aerobios, además genera un gas con alto poder calorífico denominado biogás. Éste está compuesto en su mayor parte por metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2) y ácido sulfhídrico (H_2S) en mínimas cantidades. Sin embargo, los dos primeros gases al ser liberados en la atmósfera potencializan el efecto global de invernadero. Así mismo cuando el biogás es recolectado en contenedores de gran tamaño, el equipo, tuberías y accesorios que integran el sistema de distribución de éste puede ser afectado por la corrosión provocada por el H_2S . Con el fin de disminuir esta problemática ambiental y alentar el aprovechamiento energético de biogás, se propone su tratamiento o purificación. Para esto se han desarrollado sistemas capaces de capturar y depurar el biogás (eliminación de CO_2 y H_2S). A partir de la depuración del biogás se obtendría “biometano” (biogás enriquecido), lo cual permitiría su manejo a menores costos de operación y mantenimiento mediante el uso de contenedores de menor tamaño además de evitar de manera recurrente la corrosión en los sistemas de manejo, distribución y combustión del biogás. Adicionalmente, el sistema fotobiorreactor permite la generación de biomasa con potencial de reutilización para producir más energía, fertilizantes orgánicos y complementos alimenticios entre otros.

5.2 Académica

Con la finalidad de contribuir al estudio global del tratamiento de biogás, se propone en la presente tesis de maestría, el empleo de fotobiorreactores colonizados por microalgas, que utilizan la luz solar como fuente de energía junto con los nutrientes contenidos en el agua residual (específicamente el digestato). El comportamiento de los sistemas microalgales depende de las condiciones ambientales y del medio a los cuales son expuestos, por ello la necesidad de determinar la influencia de las variaciones de éstas en tiempos cortos a través de un modelo cinético que relacione la actividad fotosintética del consorcio microalgal de manera más rápida que los métodos tradicionales. Posteriormente el modelo es validado mediante la comparación de datos obtenidos con los resultados experimentales durante la operación de un fotobiorreactor en condiciones externas o de intemperie. Lo anterior tiene la finalidad que el modelo pueda ser utilizado para predecir el desempeño y las posibilidades de optimización de las condiciones de operación de los fotobiorreactores.

6. Hipótesis y Objetivos

6.1 Hipótesis

La actividad fotosintética de un sistema alcalino-microalgal evaluada en un fotobiorreactor bajo condiciones controladas permitirá determinar el efecto de los factores ambientales, pH y concentraciones de especies químicas sobre el desempeño de un fotobiorreactor abierto expuesto a la intemperie y empleado para el tratamiento de biogás.

6.2 Objetivo general

Evaluar un sistema alcalino-microalgal bajo diferentes condiciones de irradiancia, temperatura, pH y concentraciones de sulfuro prevalecientes durante el tratamiento de biogás dentro de un fotobiorreactor.

6.3 Objetivos particulares

1. Evaluar cinéticamente la actividad fotosintética de un consorcio microalgal bajo condiciones controladas como función de la adición de sulfuro.
2. Desarrollar un modelo cinético de la actividad fotosintética del sistema alcalino-microalgal que incluya el efecto de las condiciones evaluadas.
3. Validar el modelo cinético de la actividad fotosintética del consorcio microalgal en un sistema columna de absorción acoplado a un fotobiorreactor de estanque (HRAP).

6.4 Metas

Realizar la evaluación cinética del consorcio microalgal bajo condición alcalina utilizando un fotobiorreactor especializado de escala laboratorio.

Evaluar el potencial de aplicación del modelo cinético para la simulación de la actividad fotosintética en el tratamiento de biogás del sistema columna de absorción alcalina y HRAP.

7. Materiales y métodos

7.1 Microorganismos y condiciones de cultivo

La biomasa microalgal utilizada en los ensayos cinéticos, se encuentra adaptada a crecer bajo condiciones alcalinas; ésta proviene de un consorcio microalgal del Lago de Texcoco, México y ha sido cultivada en un fotobiorreactor de laguna HRAP (Apéndice VI) por 3 años (Franco-Morgado, 2018).

La biomasa microalgal en suspensión fue extraída del HRAP funcionando en cultivo continuo en estado estacionario (Franco-Morgado, 2018), en alícuotas de volumen entre 600-800 mL. La biomasa en suspensión fue separada a través de una centrifuga (Beckman Coulter Aranti J-265XPI) a una velocidad rotacional de 5000 G y una temperatura de 4°C, posteriormente fue resuspendida en la misma cantidad de volumen recolectado del HRAP, La resuspensión se realizó usando un medio mineral sintético compuesto por las sustancias que se muestran en la Tabla 1, seguido de un mezclado moderado con una parrilla de agitación magnética a 350 rpm durante veinte minutos, con la finalidad de que la biomasa se adapte a las condiciones de su nuevo medio, previo a ser introducido al reactor TCP.

Tabla 1 Composición del medio mineral sintético (Franco-Morgado *et al.*, 2017; Sorokin *et al.*, 2001)

Compuesto	Concentración (g L ⁻¹) @ pH 9.2	Concentración (g L ⁻¹) @ pH 8.4
Na ₂ CO ₃	4.03	0.081
NaHCO ₃	13.61	13.61
NaCl	1.0	1.0
K ₂ HPO ₄	1.0	1.0
K ₂ SO ₄	1.0	1.0
CaCl ₂ ·H ₂ O	0.04	0.04
KNO ₃	2.52	2.52
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0.2	0.2
Solución de micronutrientes	2 mL	2 mL

Debido a la necesidad de evaluar la actividad fotosintética del consorcio microalgal a diferentes condiciones de pH, fue necesario modificar la concentración del par HCO₃⁻/CO₃²⁻ mostrada en la Tabla 1 a una proporción molar de 1:0.0047 con el fin de obtener un pH de 8.4 en el medio mineral. Por otra parte, se burbujeó CO₂ puro en forma gaseosa en el medio sintético para disminuir el pH de éste hasta alcanzar un valor de 7.3, el CO₂ estuvo contenido en una bolsa Tedlar® con capacidad de 10 L.

7.2 Configuración experimental

La evaluación de la actividad fotosintética del consorcio microalgal a diferentes condiciones se realizó a escala laboratorio utilizando un fotobiorreactor tubular (TCP) mostrado en la Figura 3, con un volumen útil de 520 mL y un espacio vacío de 30 mL. Está compuesto por dos tubos de borosilicato interconectados entre sí y con forma de “U” con un diámetro interno de 2 cm y una longitud total de 154 cm.

Mediante el uso de una bomba peristáltica (@205 rpm) se realizó la recirculación neumática del fluido en el interior del TCP mediante el burbujeo en circuito cerrado del gas contenido en el TCP, esto para garantizar el mezclado homogéneo del consorcio microalgal con el medio reduciendo al máximo el daño mecánico sobre las células microalgales.

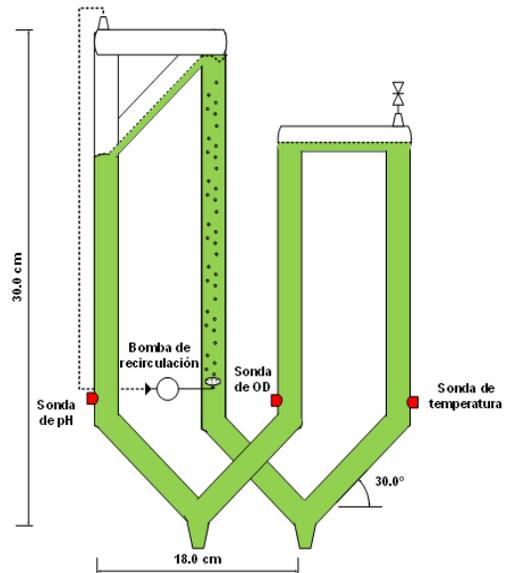


Figura 3 Fotobiorreactor tubular cerrado (TCP)

7.3 Aproximación experimental

Para evaluar el efecto de una condición deseada sobre la actividad fotosintética del consorcio microalgal, se realizaron los siguientes pasos: El fotobiorreactor se llenó con la biomasa en suspensión, previamente adaptada a las condiciones de pH del medio mineral sintético seguido del ajuste a las condiciones de temperatura e irradiancia que se muestran en la Tabla 2. Después, se puso en marcha la bomba peristáltica para recircular el fluido interno del fotobiorreactor, una vez que la temperatura y el pH se mantuvieron relativamente constantes, el sistema se cerró o en su caso se introdujo la concentración de sulfuro deseada para luego, cerrarlo, y por último se procedió con la medición en línea de los cambios en la concentración de oxígeno disuelto y pH. Lo anterior conlleva a una operación en lote del fotobiorreactor con un tiempo de duración de una hora en el cual no se considera el crecimiento de biomasa. A continuación, se describe con más detalle cómo se controló cada condición evaluada.

7.3.1 Efecto de la irradiancia

El TCP fue irradiado mediante luz fría proveniente de LEDs, la irradiancia fue controlada a través de un potenciómetro o dimmer y medida a través de un medidor de luz (LI-COR LI250A, EUA).

7.3.2 Efecto de la temperatura

Un calefactor de aire (Everheat 120193) permitió mantener la temperatura constante en el TCP; éste fue controlado mediante una rutina programada en DAQFactory que utiliza una tarjeta de adquisición de datos Labjack para registrar las variaciones de temperatura, las cuales son traducidas a voltaje mediante un termopar. Por lo tanto, el programa responde a las variaciones de temperatura encendiendo o apagando (control on-off) el calefactor mediante un circuito eléctrico con relevador para controlar la temperatura en el interior del fotobiorreactor.

7.3.3 Efecto del sulfuro

Las concentraciones de sulfuro disuelto fueron ajustadas a partir de la dilución de una solución stock ($2 \text{ gS}^2 \cdot \text{L}^{-1}$) en el volumen útil del TCP. Ésta fue elaborada a partir de $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ al 98% de pureza en agua destilada, previamente tratada en un baño ultrasónico para eliminar el oxígeno disuelto contenido en ella y evitar la oxidación del sulfuro disuelto.

7.3.4 Medición de la actividad fotosintética

El seguimiento del parámetro de respuesta se realizó a través de una sonda polarográfica de oxígeno disuelto OD (Orion 081010MD) y de pH (Oakton WD-358801-00) conectadas a un medidor multiparamétrico (Orion Star A329), que se colocaron en dos puertos que tiene el TCP y mediante el software Orion Star Com permitió la adquisición de datos en línea para luego ser registrados en una hoja de cálculo.

7.4 Diseño experimental

La actividad fotosintética depende de varios factores, siendo los más relevantes durante el tratamiento de biogás: irradiancia externa, temperatura, pH inicial y concentración de sulfuro disuelto (Tabla 2). Debido al gran número de combinaciones posibles entre los factores antes mencionados, y con el fin de optimizar la experimentación y el ahorro de recursos, se utilizó un arreglo ortogonal de los factores de acuerdo al método Taguchi, el cual indica el número de pruebas y las combinaciones de variables necesarias, junto a sus niveles en dichas pruebas (Escalante-Vázquez, 2014).

Tabla 2 Diseño experimental para la evaluación cinética de la actividad fotosintética de un consorcio alcalófilo microalgal

FACTOR	NOMBRE FACTOR	NO. NIVELES	VALOR DE NIVELES	UNIDAD	PARÁMETRO DE RESPUESTA	NO. EXP.
1	Irradiancia (I_{ext})	3	15, 50, 120	$\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$	OD	2
2	Temperatura (T)	3	25, 30, 40	$^{\circ}\text{C}$	OD	2
3	pH inicial	3	7.3, 8.5, 9.2	---	OD	2
4	Sulfuro	3	0, 3.2, 16	mg L^{-1}	OD	2

El formato general de un arreglo ortogonal se muestra de la forma $L_n(a^k)$ donde n es igual al número de pruebas o filas de una matriz, mientras que k es igual al número de factores que

corresponde a las columnas de ésta con “a” niveles. En el caso estudiado, se cuenta con k=4 factores y a=3 niveles para cada uno, y el arreglo ortogonal de Taguchi corresponde a un arreglo $L_9(3^4)$ que resulta en nueve pruebas con dos repeticiones cada una, obteniendo 18 ensayos experimentales en total. La matriz experimental que muestra la combinación de factores y niveles para cada prueba se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3 Matriz experimental

Prueba	Irradiancia_{ext} ($\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	pH_{inicial}	[S²⁻]_{inicial} (mg L^{-1})
A	15	25	7.3	0
B	15	30	8.5	3.2
C	15	40	9.2	16
D	50	25	8.5	16
E	50	30	9.2	0
F	50	40	7.2	3.2
G	120	25	9.2	3.2
H	120	30	7.3	16
I	120	40	8.5	0

Con el fin de evaluar la actividad fotosintética del consorcio microalgal como función de las condiciones más recurrentes durante el tratamiento de biogás en un fotobiorreactor HRAP a la intemperie; se complementó al diseño experimental ensayos donde la irradiancia fue constante, variando la temperatura y pH en las pruebas (J, K, L y M) cuyos subíndices 1, 2 y 3 corresponden a adiciones de un pulso de sulfuro concentrado para obtener una concentración de 0, 3.2 y 16 $\text{mgS}^{2-} \text{L}^{-1}$ respectivamente al interior del mismo TCP, tal y como se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4 Matriz experimental complementaria con las condiciones más recurrentes durante el tratamiento de biogás en un fotobiorreactor HRAP expuesto a la intemperie

Prueba	Irradiancia_{ext} ($\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	pH_{inicial}
J₁	120	30	9.2
K₁	120	30	8.5
L₁	120	40	9.2
M₁	120	40	8.5
J₂	120	30	9.2
K₂	120	30	8.5
L₂	120	40	9.2
M₂	120	40	8.5
J₃	120	30	9.2
K₃	120	30	8.5
L₃	120	40	9.2
M₃	120	40	8.5

Para comparar la cantidad de sulfuro que puede ser oxidado a tiosulfato a concentraciones de 3.2 y 16 mg L⁻¹; se realizaron pruebas en lote y en condiciones abióticas, es decir, sin la adición de biomasa dentro del TCP, replicando las mismas condiciones de irradiancia, temperatura, pH y sulfuro de acuerdo con la Tabla anterior.

7.5 Procedimientos analíticos

Al inicio y al final de cada ensayo se realizaron las determinaciones de los parámetros en muestras líquidas conforme a la Tabla 5, con el fin de conocer el efecto de cada condición sobre otros parámetros asociados a la actividad del consorcio microalgal, como la fijación de carbono inorgánico, asimilación de nitrógeno, crecimiento de biomasa microalgal además de la oxidación de sulfuro y generación de subproductos. Para la medición de especies azufradas en solución, se utilizó un cromatógrafo de iones equipado con una columna de 0.11 mm (AS11 HC Dionex) y una rutina programada en el software Chromaleon 6.8 utilizando una temperatura de 30°C, supresión de conductividad de 70 mA, concentración de eluyente (NaOH) 20 mM y 40 minutos de tiempo de retención; así se pudo detectar los iones sulfito, sulfato y tiosulfato.

Tabla 5 Parámetros de seguimiento experimental

<i>Parámetro</i>	<i>Principio</i>	<i>Técnica/ Equipo</i>
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	Gravimetría	Métodos Standard A.P.H.A., 2012
Sulfuro (S ²⁻)	Espectrometría	HACH, EE. UU.
Tiosulfato (S ₂ O ₃ ²⁻)	Cromatografía de iones	Dionex ICS 2000, EE. UU.
Sulfito (SO ₃ ²⁻)		
Sulfato (SO ₄ ²⁻)		
Fósforo (PO ₄ ³⁻)	Espectrometría	Analizador CSH y módulo quimiluminescente Shimadzu, Japón
Carbono inorgánico (IC)		
Nitrógeno total (N _T)		

7.6 Cálculo de la actividad fotosintética microalgal

Cuando las condiciones en el TCP (cada uno de los valores de pH y temperatura considerados en las Tablas 3 y 4) fueron estables durante cada prueba experimental, se procedió a cerrar el sistema para que no existiera intercambio de gases con el exterior y como se indicó anteriormente se midió y grabó en línea la concentración de oxígeno disuelto como función del tiempo.

Debido a la necesidad de determinar la concentración de oxígeno disuelto con respecto al tiempo, se realizó una regresión lineal (ecuación 5) en cada uno de los perfiles de OD en

función del tiempo tomando en consideración un período de 30 minutos en la región de estado estable de pH y temperatura:

$$OD = mt + b \quad (5)$$

El tratamiento de datos fue similar para los perfiles obtenidos a partir de la adición de sulfuro al fotobiorreactor, en el cual se consideró el tiempo posterior a la oxidación en un intervalo de 20-30 minutos en los ensayos donde existió un aumento de OD. Para un sistema cerrado, la pendiente obtenida dOD/dt es igual a la tasa de producción de oxígeno o actividad fotosintética del consorcio microalgal. Lo anterior se demuestra mediante un balance de masa del oxígeno disuelto dentro del fotobiorreactor, que incluye la transferencia gas-líquido y la producción o consumo del oxígeno (ecuación 6).

$$\frac{dDO}{dt} = K_L a \left(\frac{O_{2\text{aire}}}{H_{O_2}} - DO \right) \pm rO_2^{TCP} \quad (6)$$

Cuando el sistema se encuentra cerrado, el término de transferencia del líquido al gas (desorción de O_2 hacia el aire) es cero y se obtiene la ecuación 7.

$$\frac{dDO}{dt} = \pm rO_2^{TCP} \quad (7)$$

La pendiente obtenida se considera la tasa de producción de oxígeno del TCP o rO_2^{TCP} ; cuyo valor, al ser dividido entre la biomasa microalgal determinada a partir de la concentración promedio de SST obtenida al inicio y al final de cada ensayo experimental, se obtiene la tasa de producción de oxígeno específica ($rO_{2\text{spec}}$) de acuerdo con las ecuaciones 8 y 9.

$$m = \frac{dOD}{dt} = rO_2^{TCP} [mgL^{-1}min^{-1}] \quad (8)$$

$$\frac{rO_2^{TCP}}{[SST]} \times \frac{1mmolO_2}{32mg} \times \frac{1000\mu molO_2}{1molO_2} = rO_{2\text{spec}} [\mu molO_2L^{-1}g_{biomasa}^{-1}min^{-1}] \quad (9)$$

7.7 Modelo cinético de la actividad fotosintética microalgal y calibración del modelo

Para modelar la influencia de las condiciones de cultivo a la intemperie sobre la actividad fotosintética del consorcio microalgal mediante la rO_2 se consideró que, bajo condiciones suficientes de nutrientes, los factores más influyentes sobre la actividad fotosintética de fotobiorreactores utilizados para el tratamiento de biogás fueron la irradiancia, temperatura, pH y concentración de sulfuro disuelto conforme a la ecuación 10.

$$rO_2 = rO_2^{max} \cdot f_{(I_{av})} \cdot f_{(T)} \cdot f_{(pH)} \cdot f_{(S^{2-})} \quad (10)$$

En el caso de pH y temperatura se interpolaron los valores de rO_{2spec} en los rangos de 8.5 a 9.2 y 30 a 40°C respectivamente a concentraciones de 0, 3.2 y 16 mgS²-L⁻¹ a través de la interpolación kriging utilizando el software estadístico Origin Pro SR1 (Apéndice III).

Con el fin de calibrar el modelo, los valores de rO_{2spec} fueron normalizados para cada condición de cultivo de tal manera que éstos se encuentren dentro del intervalo de 0 a 1 representados como rO_2^{nlz} . La determinación de las constantes que conforman las expresiones de rO_2^{nlz} en función de los factores más influyentes fueron calculadas a través del método de mínimos cuadrados utilizando la herramienta Solver de Microsoft Excel 2016.

7.7.1 Irradiancia promedio (I_{av})

Debido a que la irradiancia externa (I_{ext}) proveniente de sol sobre la superficie terrestre puede alcanzar hasta 2000 $\mu E m^{-2} s^{-1}$. En la superficie de los cultivos, la intensidad efectiva en cultivos densos de microalgas se evalúa como la irradiancia promedio (I_{av}) que recibe todo el volumen del cultivo, y puede llegar a valores de entre 100 a 300 $\mu E m^{-2} s^{-1}$ (Acién *et al.*, 1998; 1999). Por ello para estimar el valor de I_{av} dentro del fotobiorreactor considerando una geometría cilíndrica, se utilizó la ecuación 11 para calcular la I_{av} a partir de I_{ext} (Acién *et al.*, 1997; de los Cobos-Vasconcelos *et al.*, 2016):

$$I_{av} = \frac{2I_{ext}}{r^2} \left[\frac{1 - [(r \cdot Cb \cdot k_{att} + 1)e^{(-r \cdot Cb \cdot k_{att})}]}{Cb^2 \cdot k_{att}^2} \right], \quad (11)$$

donde r es el radio interno del fotobiorreactor (dm), Cb es la concentración de la biomasa ($g L^{-1}$) y k_{att} es la constante de atenuación ($dm^2 g^{-1}$).

Los modelos tipo Monod derivados por analogía del crecimiento autótrofo de las bacterias han sido utilizados para la estimación de rO_2^{nlz} en función de una irradiancia promedio, donde ésta se considera como sustrato para la fotosíntesis de tal manera que el modelo sea como la ecuación 12 sin considerar el efecto por fotoinhibición que ocurre con valores de I_{av} mayores a 400 $\mu E m^{-2} s^{-1}$ (Costache *et al.*, 2013):

$$f(I_{av}) = rO_{2(I_{av})}^{nlz} = \frac{I_{av}}{k_{I_{av}} + I_{av}}, \quad (12)$$

donde I_{av} es la irradiancia promedio y $k_{I_{av}}$ es la constante de saturación.

Al utilizar valores de r de 0.2 dm, un Cb promedio de 0.26 $g L^{-1}$ y k_{att} de 3.2 $dm^2 g^{-1}$ (de los Cobos-Vasconcelos *et al.*, 2016) y la ecuación 20 para I_{ext} de 15, 50 y 120, donde se obtuvieron I_{av} de 13.44, 44.78 y 107.48 $\mu E m^{-2} s^{-1}$ respectivamente, los cuales se relacionaron con las rO_{2spec} obtenidas experimentalmente a concentraciones menores de 3.2 mgS²-L⁻¹ donde no existe limitación por los otros factores e inhibición por sulfuro; el valor de la constante $k_{I_{av}}$ se determinó mediante mínimos cuadrados.

7.7.2 Temperatura

El modelo de Arrhenius fue propuesto para modelar la rO_2^{nlz} en función de la temperatura. Esta ecuación se conforma por dos factores preexponenciales (A_1 , A_2) y las energías de activación (Ea_1 y Ea_2) de acuerdo con la ecuación 13.

$$f_{(T)} = rO_{2(T)}^{nlz} = A_1 e^{\frac{-Ea_1}{RT}} - A_2 e^{\frac{-Ea_2}{RT}} \quad , \quad (13)$$

donde Ea_1 y Ea_2 son adimensionales mientras que A_1 y A_2 ($J \text{ mol}^{-1}$), R es la constante de los gases ideales ($8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) y T (K). El valor de las constantes se determinó mediante mínimos cuadrados.

7.7.3 pH

Un modelo similar al de Arrhenius fue propuesto para modelar la rO_2^{nlz} en función del pH. Esta ecuación se conforma por los factores preexponenciales (B_1 y B_2) y la energía de activación C_2 de acuerdo con la ecuación 14.

$$f_{(pH)} = rO_{2(pH)}^{nlz} = B_1 - B_2 e^{\frac{-C_2}{pH}} \quad , \quad (14)$$

donde B_1 , B_2 y C_2 son adimensionales y el valor de éstos fue determinado por mínimos cuadrados.

7.7.4 Sulfuro

El modelo propuesto para modelar la rO_2^{nlz} en función de la concentración de sulfuro fue el de Andrews-Haldane, ya que éste describe la inhibición por sustrato de un cultivo en un reactor de mezcla completa, donde K_s es la constante de saturación para el sulfuro y K_i es la constante de inhibición por el mismo de acuerdo con la ecuación 15.

$$f_{(S^{2-})} = rO_{2(S^{2-})}^{nlz} = \frac{1}{1 + \frac{K_s}{[S^{2-}]} + \frac{[S^{2-}]}{K_i}} \quad , \quad (15)$$

donde K_s (mg L^{-1}) y K_i (mg L^{-1}) fueron determinados por mínimos cuadrados.

7.8 Modelo cinético general y su validación

Al considerar que las interacciones entre los diferentes factores no se llevan a cabo, un modelo general se obtiene a partir de la multiplicación de las ecuaciones modeladas anteriormente de acuerdo con la ecuación 16.

$$rO_2 = rO_2^{max} \cdot \left[\frac{I_{av}}{k_{I_{av}} + I_{av}} \right] \cdot \left[A_1 e^{\frac{-Ea_1}{RT}} - A_2 e^{\frac{-Ea_2}{RT}} \right] \cdot \left[B_1 - B_2 e^{\frac{-C_2}{pH}} \right] \cdot \left[\frac{1}{1 + \frac{K_s}{[S^{2-}]} + \frac{[S^{2-}]}{K_i}} \right] \quad (16)$$

En la ecuación anterior, rO_2^{max} es igual al valor más alto obtenido de rO_{2spec} en las pruebas experimentales que, corresponde a $8.8 \mu\text{mol g}_{\text{biomasa}}^{-1} \text{min}^{-1}$.

En esta etapa de validación, se calcularon las rO_2 mediante el modelo cinético general (ecuación 16) en función de las diferentes condiciones (factores) que se midieron en un sistema independiente de cultivo del mismo tipo de microalgas alcalófilas, que previamente fueron evaluadas cinéticamente bajo condiciones controladas. A partir de este sistema independiente se obtuvo la biomasa evaluada mediante los ensayos cinéticos descritos en la sección 7.1.

7.8.1 Sistema experimental empleado para la validación del modelo cinético general

El sistema que se muestra en la Figura 4 comprende un HRAP interconectado con una columna de absorción, ubicado en el techo del Edificio 5 del Instituto de Ingeniería de la UNAM, donde se ubica la Coordinación de Ingeniería Ambiental; por lo tanto, está expuesto a condiciones de intemperie. Fue utilizado para remover CO_2 y H_2S presente en el biogás sintético alcanzando remociones de 90 y 100 % respectivamente (Franco-Morgado, 2018; Tabaco-Angoa, 2018).

Medio mineral sintético es alimentado continuamente al interior del fotobiorreactor (HRAP) mediante una bomba peristáltica; éste cuenta con un agitador de paletas que permite promover la agitación necesaria para mantener en contacto el medio mineral con la biomasa. El efluente del HRAP se distribuye a través de una columna empacada (CC) con el fin de disminuir la concentración de oxígeno disuelto generado por la actividad fotosintética de la biomasa. Posteriormente el líquido es recolectado en un envase para luego ser alimentado a la columna de absorción (ABC). A su vez, el biogás sintético, que contiene CH_4 , CO_2 y H_2S a una composición de 67.1, 25 y 0.38 %v/v, respectivamente, fue alimentado a una columna de absorción ABC, con una relación volumétrica líquido de recirculación/biogás (L/G) de 1. El líquido es alimentado a la columna ABC y debido a su propiedad alcalina, se favorece la transferencia de masa selectiva de los gases CO_2 y H_2S al líquido alcalino, donde el primero es utilizado como sustrato por la biomasa microalgal y el segundo es oxidado a sulfato. Posteriormente el biogás compuesto de metano en su mayoría sale por la parte de arriba de la columna ABC y es recolectado en su totalidad en bolsas Tedlar® para su cuantificación y análisis de su composición (para mayores detalles revisar la tesis de Franco-Morgado, 2018).

El sistema completo se encuentra instrumentado de tal manera que un sensor de OD polarográfico (*Applikon*), pH (*Van-London Phoenix*) y T (*termopar*) tanto en el HRAP como en la columna ABC determinan el valor de los parámetros cada cinco minutos, así como la irradiancia externa (*LI-190/R*) que incide sobre el HRAP a lo largo del día. Las señales provenientes de los sensores son procesadas en una tarjeta de adquisición de datos (*Labjack*) para luego ser mostradas en línea por el programa *DAQFactory* en una computadora portátil; los cuales en conjunto se consideran como un sistema de

supervisión, control y adquisición de datos (SCADA, por sus siglas en inglés). Los datos de oxígeno disuelto registrados fueron utilizados para determinar la rO_{2exp} mediante la metodología reportada por Franco-Morgado (2018), que se muestra en el Apéndice IV. Cabe señalar que la duración de adquisición de datos fue en el período que comprende del 21 al 29 de mayo del 2018.

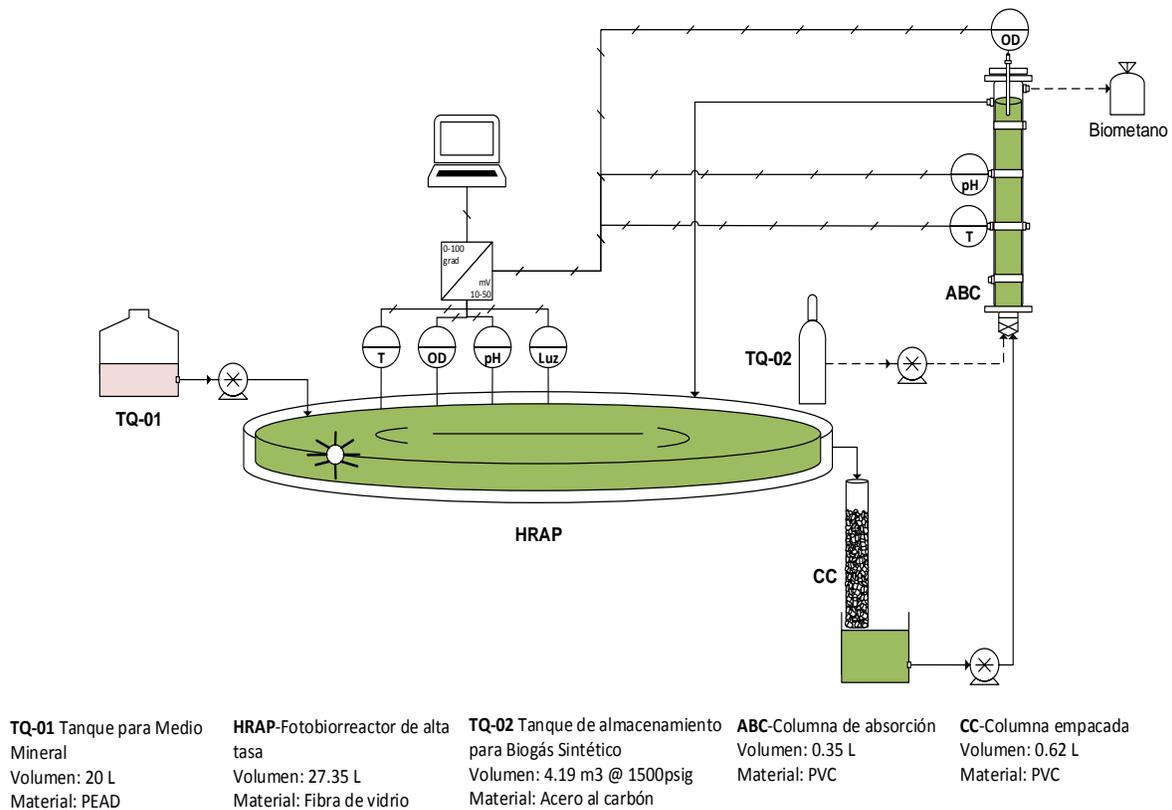


Figura 4 Esquema del Sistema HRAP-Columna de absorción para el tratamiento del biogás

8. Resultados

8.1 Consorcio microalgal

La biomasa fue recolectada del HRAP durante los meses de octubre 2017 a marzo 2018 que corresponde a las estaciones de otoño e invierno en la CDMX, México; estuvo expuesta a las condiciones de la Tabla 6 por Tabaco-Angoa (2018), a lo largo del período de tiempo mencionado.

Tabla 6 Condiciones en el sistema HRAP-ABC

Parámetro	Mínimo	Máximo
Irradiancia ($\mu E m^2 s^{-1}$)	0.20	1064
Temperatura ($^{\circ}C$)	6.3	41.8
pH	8.0	9.5

En observaciones realizadas por el microscopio óptico invertido (Zeiss, Primovert) se pudo observar que el consorcio microalgal estuvo compuesto principalmente por clorofitas (*Picochlorum sp.*) y cianobacterias (*Pseudoanabaena sp.*) cuyas características físicas son redondas y alargadas, como se muestra en la Figura 5. Estos microorganismos fueron identificados anteriormente en el HRAP mediante la secuenciación del gen 16S RNA (Granada-Moreno *et al.*, 2017).

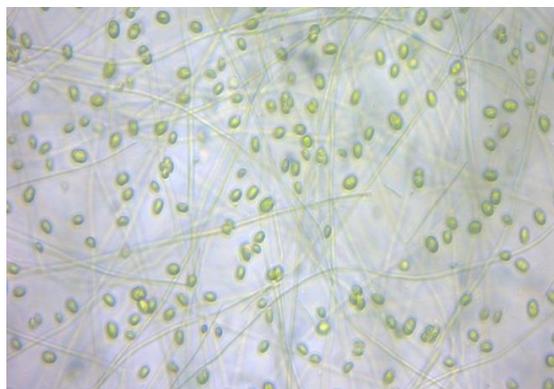


Figura 5 Consorcio microalgal (*Picochlorum sp.* y *Pseudoanabaena sp.*) a 40x

Se realizaron observaciones al final de cada prueba experimental (A-I) con el fin de verificar la actividad fotosintética de la biomasa; se observó de manera cualitativa que la concentración de sulfuro fue el parámetro que de manera física afecta al consorcio microalgal de tal manera que a concentraciones de $3.2 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$, el consorcio presentó movilidad en las muestras observadas; en cambio, cuando fue expuesto a $16 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$, ésta no fue observada indicando una inhibición de la actividad por parte de la biomasa. Cabe mencionar que después de diez minutos, el consorcio recuperó la movilidad en la muestra observada, debido a la desorción de $\text{H}_2\text{S}_{(L)}$ contenido en ella.

Caso similar sucede durante las pruebas con adición consecutiva de sulfuro ($J_{2,3}$, $K_{2,3}$, $L_{2,3}$ y $M_{2,3}$), donde al final de cada una de ellas se examinó en el microscopio una muestra, encontrándose que las microalgas mostraron la misma movilidad que las pruebas anteriores a una concentración de $3.2 \text{ mgS}^2 \text{ L}^{-1}$, incluso ésta llegó a prevalecer a $16 \text{ mgS}^2 \text{ L}^{-1}$ debido a que el hidrosulfuro reaccionó con el oxígeno producido en mayor cantidad por la biomasa expuesta a $120 \mu\text{E m}^2 \text{ s}^{-1}$.

8.2 Caracterización cinética experimental de la actividad fotosintética del consorcio microalgal.

8.2.1 Efecto de la temperatura, irradiancia, pH y sulfuro disuelto.

La Figura 6 presenta los perfiles de evolución del oxígeno disuelto para las condiciones experimentales mencionadas en la Tabla 3 (sección 7.4) a una concentración de $0 \text{ mgS}^2 \text{ L}^{-1}$. De manera general se observó que la actividad fotosintética (pendiente temporal de oxígeno disuelto) depende de la irradiancia y temperatura a la cual el consorcio microalgal fue expuesto. Cuando el sistema TCP permaneció abierto (tiempo anterior a la línea vertical marcada en las gráficas de la Figura 6) los perfiles de OD fueron evolucionando hasta alcanzar una tendencia constante cercana a 25 min, considerándose que se logró un estado estable en relación con la condición deseada de evaluar, como la temperatura y el pH.

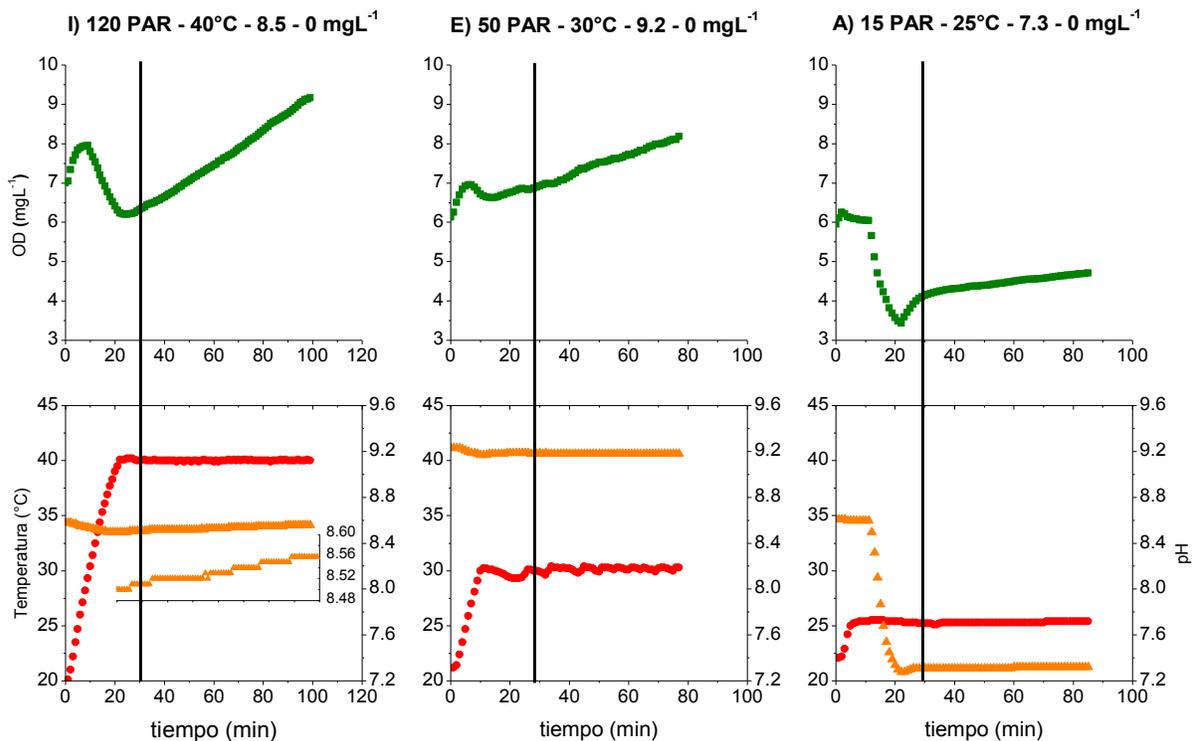


Figura 6 Perfiles de OD (■), temperatura (●) y pH (▲); sin adición de sulfuro a diferente PAR [$\mu\text{E m}^2 \text{ s}^{-1}$]

En esta zona transitoria se observa el aumento de la concentración de oxígeno disuelto como respuesta a la irradiancia a la que fue expuesta la biomasa; seguido de su disminución y del valor de pH debido al aumento paulatino de la temperatura en las condiciones I, E y A.

El descenso de la concentración de OD es atribuido a que el oxígeno es menos soluble en el líquido a medida que la temperatura aumenta. En la condición A, el descenso es más rápido debido al burbujeo de CO₂ en el interior del fotobiorreactor, el cual desplaza al oxígeno presente en el medio debido a su mayor solubilidad con respecto al anterior. En el caso del pH, la disminución de su valor inicial con respecto a la temperatura (I y E) se debe a la reducción del valor de la constante de disociación del H₂O y la presencia de CO₂ (A), afectando el equilibrio H₂CO₃/HCO₃²⁻ presente en el medio provocando su acidificación. A la derecha de la línea vertical en las gráficas de la Figura 6, se indica el momento en el cual el sistema TCP fue cerrado y por tanto se aisló sólo la actividad fotosintética del consorcio microalgal. Para las condiciones I, E y A la concentración de OD aumentó de manera creciente con un valor de pendiente mayor para el ensayo I, favorecido por la irradiancia de 120 µE m² s⁻¹ y pH de 8.5. En el caso de A, la actividad fotosintética es afectada por valores bajos de irradiancia, temperatura y pH, que se manifiesta en un cambio de concentración de OD lento. Para el caso de los perfiles de pH se observó un aumento de éste a lo largo del tiempo más notorio para la condición I y que se relaciona con el incremento de la actividad fotosintética en comparación con los otros dos ensayos; cabe mencionar que la tendencia escalonada que se muestra se debe a la resolución del medidor de pH utilizado.

En la Figura 7 se muestra el efecto del sulfuro (representante químico del H₂S) sobre la actividad fotosintética del consorcio microalgal (condiciones G, F y B) después de su adición como pulso para alcanzar una concentración en el TCP de 3.2 mg L⁻¹; donde se aprecia una zona donde la concentración de OD ligeramente disminuye, lo cual es relacionado con la reacción química de oxidación, principalmente del ion hidrosulfuro (HS⁻, predominante en pH de 8.5 y 9.2) con el OD. Después de cierto tiempo el HS⁻ es rápidamente oxidado dentro del sistema y se observa que no presenta un efecto nocivo sobre la biomasa, lo cual se refleja en el aumento paulatino de la concentración de OD. Cabe mencionar que en la condición G se alcanzó una concentración de 12 mg L⁻¹ a pesar de una temperatura de 25°C y un pH de 9.2 comparada con la condición I de 40°C y 8.5 respectivamente, sin la adición de sulfuro. Lo anterior muestra que a 3.2 mgS²⁻ L⁻¹ la actividad fotosintética fue promovida. Con respecto a las condiciones F y B, el tiempo de respuesta para que haya aumentado el OD fue de 20 minutos para los dos casos, indicando una inhibición de la actividad fotosintética del consorcio microalgal por el sulfuro utilizado durante ese lapso hasta que el OD del medio fue capaz de oxidarlo.

En el caso de F, el pH de 7.3 favorece la concentración de H₂S sobre el HS⁻ en el medio, provocando que no exista un aumento instantáneo del OD a pesar de la irradiancia de 50 y la temperatura de 40°C que debería favorecer la actividad fotosintética. Lo anterior demuestra lo reportado por Miller y Bebout (2004), donde se menciona que el H₂S inhibe el transporte de electrones durante el rompimiento del H₂O en el complejo evolucionante de oxígeno (OEC, por sus siglas en inglés). Un caso similar sucede en B, donde a un pH de 8.5 se favorece el incremento del HS⁻ en el medio, pero debido a que la irradiancia y temperatura son bajas con respecto a F, la actividad fotosintética es limitada.

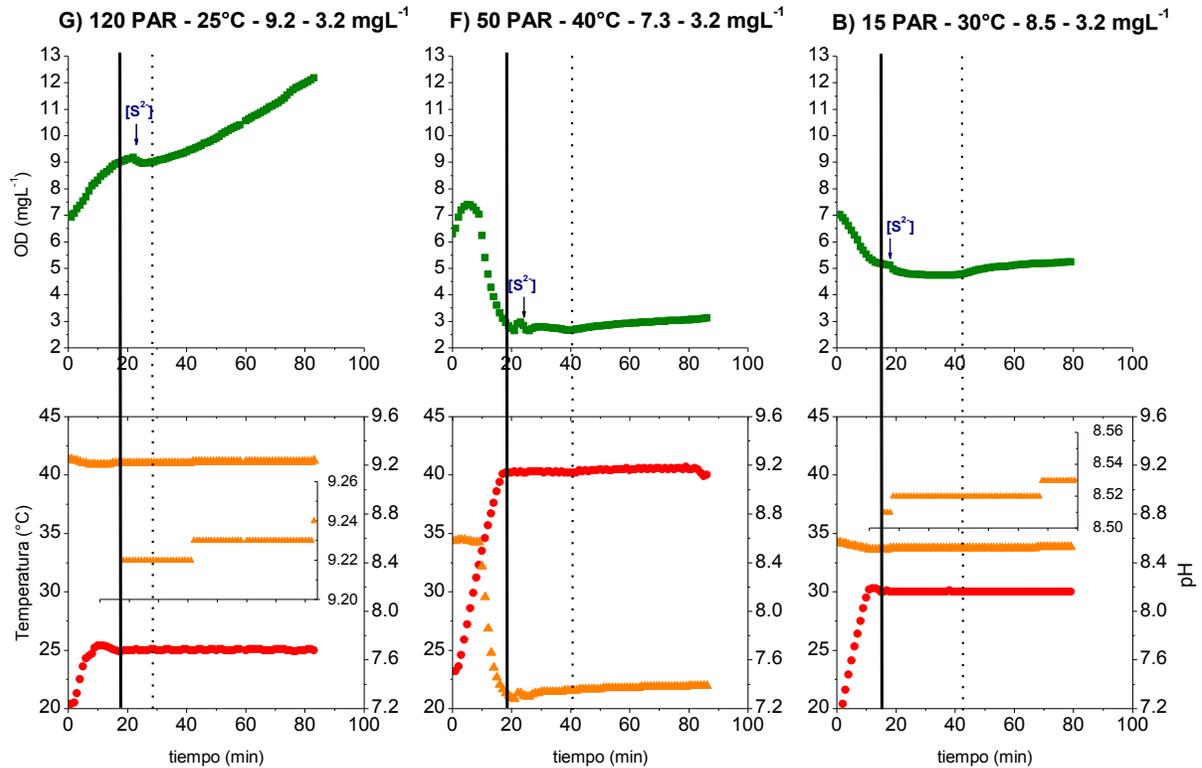


Figura 7 Perfiles de OD (■), temperatura (●) y pH (▲) con 3.2 mgL⁻¹ de sulfuro a diferente PAR [μE m² s⁻¹]

En la Figura 8 se muestra el efecto que se tiene con la adición de 16 mg L⁻¹ de sulfuro sobre la actividad fotosintética en las condiciones H, D y C.

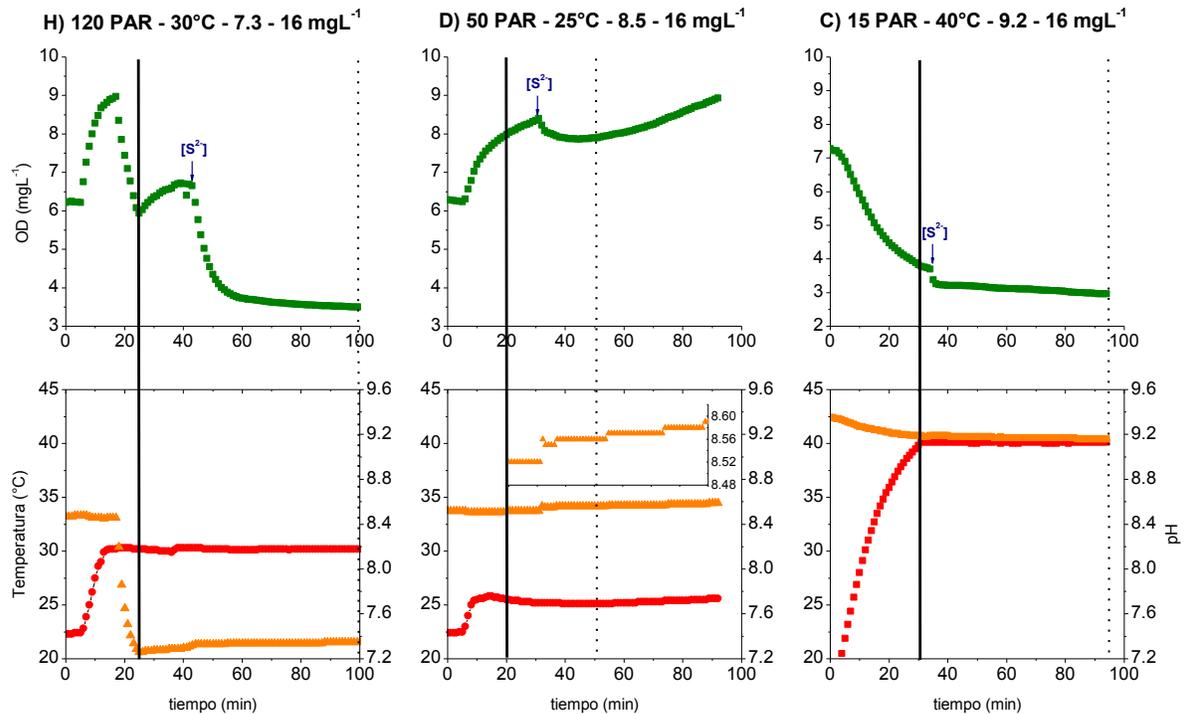


Figura 8 Perfiles de OD (■), temperatura (●) y pH (▲) con 16 mgL⁻¹ de sulfuro a diferente PAR [μE m² s⁻¹]

Para la condición H se observa que la actividad fotosintética se ve limitada a un pH de 7.3 aún con valores de irradiancia y temperaturas favorables. La concentración de OD se ve afectada por la cantidad de sulfuro disuelto en el medio debido a la reacción de oxidación química del HS^- y no existe una respuesta del consorcio microalgal reflejada en un posible aumento de OD al menos en el tiempo evaluado, por lo que sugiere una inhibición de la actividad de la biomasa a la concentración remanente de sulfuro en forma de la especie $\text{H}_2\text{S}(\text{L})$ que probablemente inhibe el transporte fotosintético de electrones durante la primera reacción donde el H_2O es separado en el OEC. (Miller y Bebout, 2004). Sin embargo, no se descarta que exista una fotosíntesis anoxigénica realizada por las cianobacterias presentes en el consorcio microalgal utilizando el sulfuro como fuente de electrones para transferirlos en el fotosistema I mediante la coenzima sulfuro quinona oxidoreductasa (SQR) de acuerdo con Theissen *et al.*, (2003).

Un caso similar sucede durante la condición C, donde a pesar de un pH alcalino y de la oxidación de HS^- por su mayor proporción en el medio, se observa una inhibición de la actividad fotosintética limitada por la irradiancia y que se ve reflejada en la disminución de pH. En la condición D se aprecia que la concentración de OD durante la oxidación química disminuye como se esperaba; sin embargo, mostró un efecto inhibitorio mucho menor comparado con los ensayos H y C sobre la actividad fotosintética de la biomasa. Cabe mencionar que el valor de pH aumenta ligeramente conforme la concentración de OD lo hace; este efecto se le atribuye a la actividad fotosintética, pues el sistema acuoso debe compensar la disminución de HCO_3^{2-} consumido por la biomasa mediante la producción de iones OH^- para alcanzar nuevamente un estado en equilibrio.

8.2.2 Tasa de producción específica de oxígeno

En la Figura 9 se muestran los valores de biomasa microalgal suspendida junto con sus respectivas rO_{2spec} , donde se obtuvo 7.11 y 4.3 $\mu\text{molO}_2 \text{g}_{\text{biomasa}}^{-1} \text{min}^{-1}$ en las pruebas G e I respectivamente y que corresponden a irradiancias de 120 y se aprecia el efecto positivo que tiene el sulfuro sobre la biomasa como es el caso de G con un aumento del 65% con respecto a I. Caso contrario sucede en las demás pruebas con valores por debajo de 4 $\mu\text{molO}_2 \text{g}_{\text{biomasa}}^{-1} \text{min}^{-1}$ donde se utilizaron 15 y 50. En los ensayos C y H, donde se expuso la biomasa a 16 mg L^{-1} de sulfuro, el valor de rO_{2spec} resultó nulo. El análisis ANOVA indica con un 95% de confianza los factores más significativos que influyen en la rO_{2spec} por orden de importancia son: la concentración de sulfuro, pH e irradiancia como se muestra en el Apéndice V, sección 13.5.1; si se requiere conocer el efecto que causa la interacción entre factores es necesario realizar más ensayos.

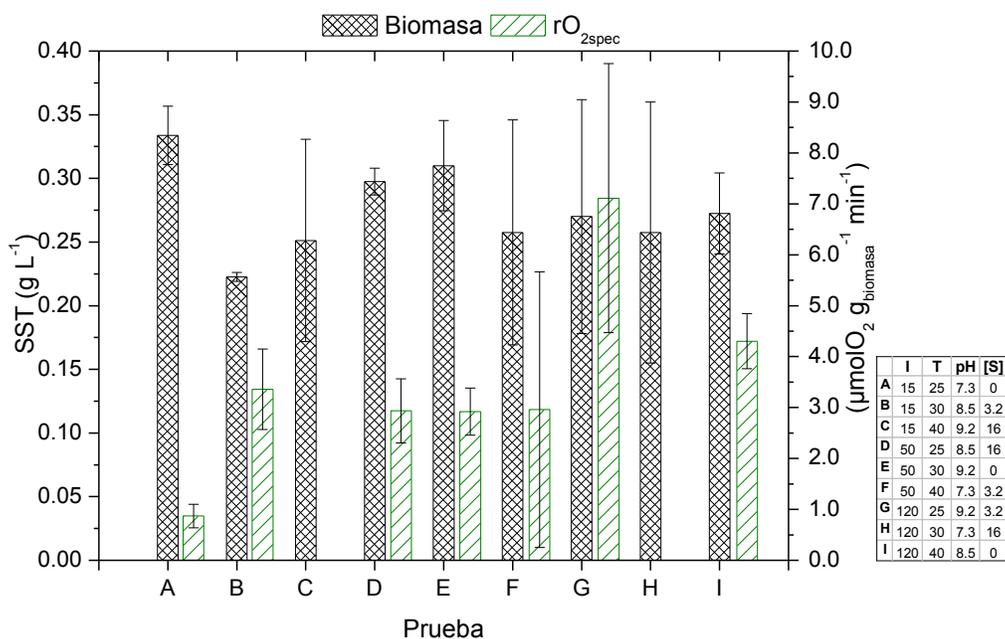


Figura 9 Valores promedio de la concentración de biomasa y rO_{2spec}

Los valores obtenidos de rO_{2spec} se hallan dentro o por debajo del orden de magnitud de algunos trabajos reportados, como se muestra en la Tabla 7; tal es el caso con de los Cobos-Vasconcelos *et al.*, (2016). En cambio, la diferencia con los valores de Costache *et al.*, (2013) y Camejo-González *et al.*, (2017) se encuentra principalmente en el uso de otro tipo de microalgas no alcalófilas, además que emplearon mayores irradiancias, de 400 y 300, respectivamente.

Tabla 7 Valores de rO_{2spec} a diferentes condiciones de irradiancia, temperatura, pH y concentración de sulfuro

rO_{2spec} ($\mu\text{molO}_2 \text{ g}_{\text{biomasa}}^{-1} \text{ min}^{-1}$)	Iav, T, pH, [S ²⁻]	Referencia
1.37-2.10	104, 27, 10, 0	de los Cobos <i>et al.</i> , (2016)
46.0	400, 35, 8.0, 0	Costache <i>et al.</i> , (2013)
32.8	300, 24, 7.5, 0	Camejo-Gonzalez <i>et al.</i> , (2017)
20.3	300, 24, 7.5, 5	

8.3 Parámetros de seguimiento asociados al crecimiento y asimilación de nutrientes

8.3.1 Biomasa

La determinación de SST fue utilizada con el fin de monitorear la cantidad de biomasa que se presentó al inicio y al final de cada prueba experimental. Los valores se muestran en la Figura 10, donde se observa la existencia de una variación no significativa entre las concentraciones iniciales y finales de SST, lo que puede atribuirse al error experimental del método; por tanto, se asumió que, durante el tiempo de experimentación durante todos

los ensayos, el crecimiento de la biomasa microalgal fue nulo. Lo anterior fue confirmado mediante un análisis ANOVA, donde se indica con un 95% de confianza que no existen diferencias significativas en las concentraciones iniciales y finales de la biomasa.

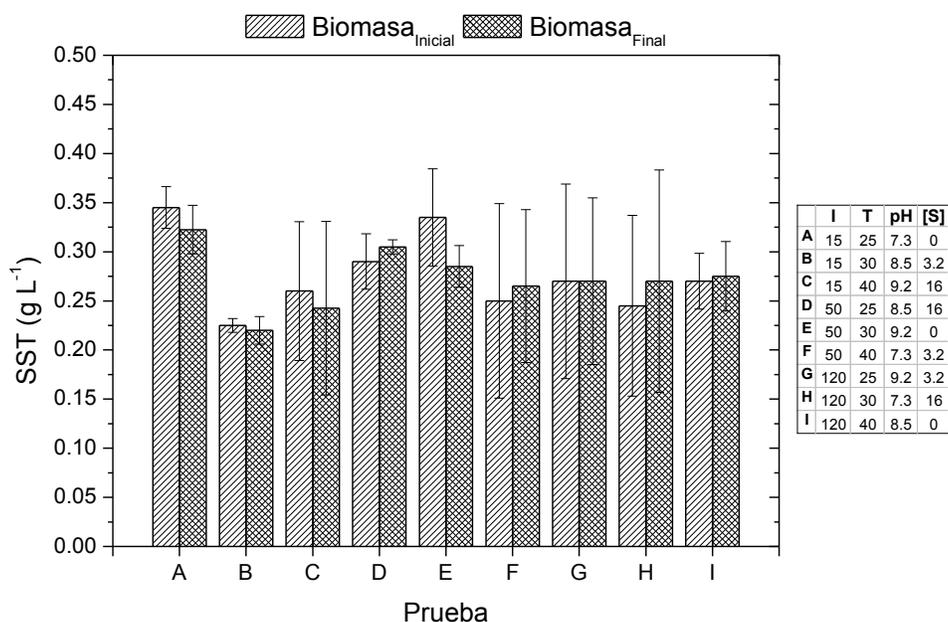


Figura 10 Concentración de SST al inicio y final en cada prueba experimental

8.3.2 Carbono inorgánico (IC) y nitrógeno total (N_T)

La Figura 11^a muestra las concentraciones promedio de carbono inorgánico obtenidas durante las pruebas experimentales. En ella se observa un consumo aparente de carbono inorgánico por parte de la biomasa en las pruebas G e I debido a los altos valores de $120 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ donde se favorece la actividad fotosintética del consorcio microalgal; sin embargo, en la prueba A con pH de 7.3 el consumo es menor. En cambio, que en F y H la concentración final es mayor debido al incremento de IC, derivado del burbujeo de CO_2 para disminuir el pH de 8.5 a 7.3 del medio mineral. Los mayores consumos obtenidos fueron las pruebas G e I que corresponden a un 68.25 y 69.16 mg L^{-1} respectivamente comparadas con las restantes. Cabe mencionar que la concentración de IC fue variable en las pruebas de pH 9.2 y 8.5 que corresponden a una concentración de 2400 y $1953.5 \text{ mgIC L}^{-1}$ respectivamente, ya que se tuvo que acondicionar la proporción $\text{HCO}_3^{2-}/\text{CO}_3^{2-}$ para la obtención de éstos, sin limitar la cantidad de carbono necesario para la biomasa; de acuerdo con Markou *et al.*, (2014) algunas especies de microalgas son capaces de tolerar hasta 7200 mgIC L^{-1} .

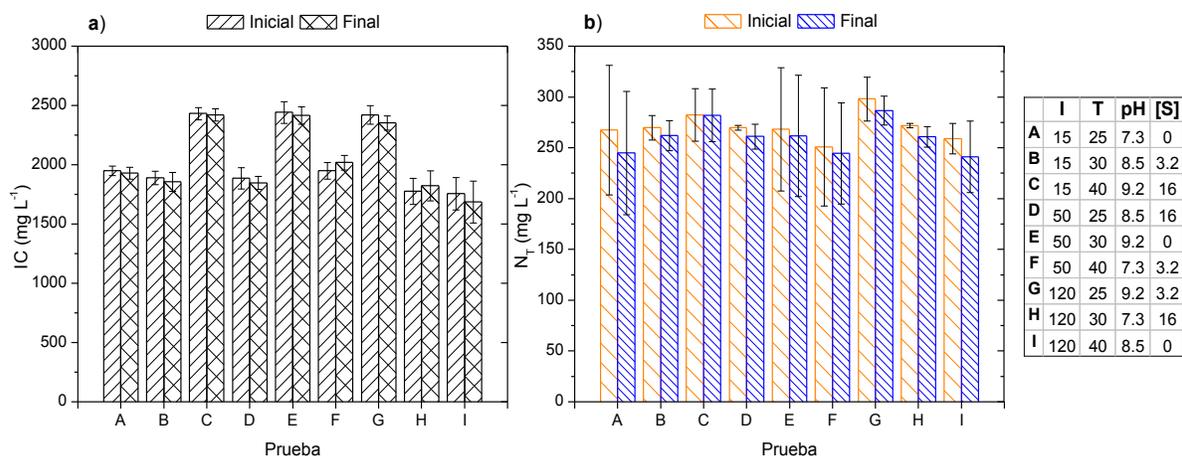


Figura 11 Concentraciones de IC (a) y N_T (b) al inicio y final en cada prueba experimental

La Figura 11^b muestra las concentraciones de nitrógeno total donde se tiene un comportamiento similar con respecto al IC, donde el consumo aparente de N_T aumenta a medida que la irradiancia es mayor como fue el caso de G, H e I con respecto a las demás; sin embargo, en la prueba C los valores tienden a permanecer constantes indicando una baja actividad fotosintética de asimilación debido a las condiciones desfavorables debidas a una irradiancia de 15 y 16 $mgS^{2-} L^{-1}$. Aunque las concentraciones de N_T obtenidas estuvieron por debajo de los esperado (medio mineral con 350 $mgN_T L^{-1}$), se pudo observar el comportamiento mencionado anteriormente. Los mayores consumos de N_T obtenidos fueron las pruebas G, H e I que corresponden a 8.85, 9.74 y 15.96 $mg L^{-1}$ respectivamente. Éstos pueden estar relacionados con la actividad fotosintética favorecida por una irradiancia de 120 y temperaturas de 25, 30 y 40°C. La alta desviación estándar presente en las pruebas A, C, E y F es atribuida a la variación que existió en la determinación cuantitativa de este parámetro antes y después de que el equipo con el que se hicieron las mediciones recibió mantenimiento. A pesar de que en la mayoría de los ensayos existió un consumo aparente de IC y N_T , el valor de las desviaciones estándar entre inicio y al final de los ensayos indican que el consumo no fue significativo; por lo tanto, se consideró que el crecimiento de la biomasa fue nulo durante los ensayos en el TCP. Lo anterior fue confirmado mediante un análisis ANOVA (Apéndice V, sección 13.5.2), donde se indica con un 95% de confianza que no existen diferencias significativas en las concentraciones iniciales y finales de IC y N_T .

8.3.3 Sulfato (SO_4^{2-})

La Figura 12 muestra las concentraciones de sulfato en cada prueba experimental. En general se observa que las concentraciones de SO_4^{2-} tienden a permanecer constantes al inicio y al final de cada prueba indicando que no existió un consumo de este compuesto. Además, los valores de concentración inicial se encuentran cercanos a la concentración deseada de 0.71 $gSO_4^{2-} L^{-1}$ por debajo de la concentración inhibitoria de 2.40 $gSO_4^{2-} L^{-1}$ reportada por Mera *et al.* (2016). Para la prueba H e I la desviación estándar es alta y se le atribuye a un error experimental durante la dilución de la muestra. El análisis ANOVA indica

con un 95% de confianza que no existe diferencia entre la concentración inicial y final de sulfato (Apéndice V, sección 13.5.2).

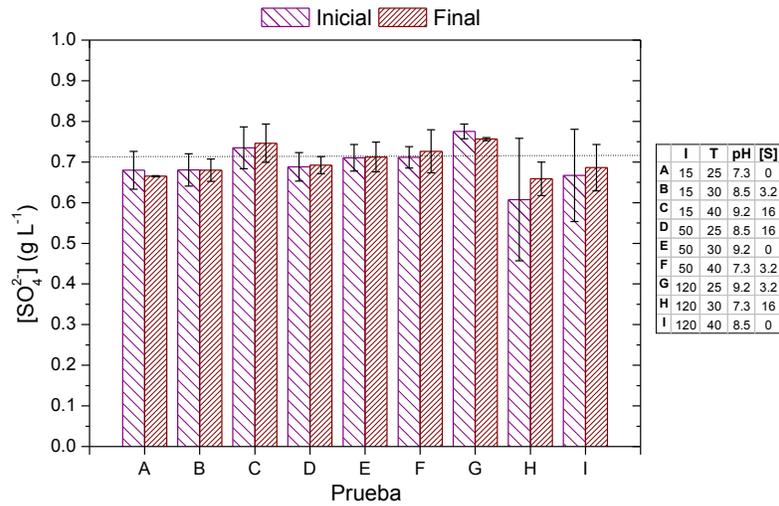


Figura 12 Concentraciones de sulfato al inicio y final en cada prueba experimental

8.3.4 Fosfato (PO_4^{2-})

La Figura 13 muestra las concentraciones iniciales y finales de fosfato obtenidas al inicio y al final de cada prueba experimental. En todas las pruebas la concentración fue mayor a $0.54 \text{ gPO}_4^{2-} \text{ L}^{-1}$, que corresponde a $0.17 \text{ gP-PO}_4^{2-} \text{ L}^{-1}$; por lo tanto no representó una limitación por fósforo de la actividad fotosintética, ya que de acuerdo con Rocha *et al.* (2018), al menos una concentración de $0.71 \text{ mgP-PO}_4^{2-} \text{ L}^{-1}$ es requerida. En la mayoría de las pruebas se observa que la concentración de PO_4^{2-} permanece constante. La desviación estándar en las pruebas A, G, H e I refleja la variación de este compuesto durante la preparación del medio mineral. El análisis ANOVA (Apéndice V, sección 13.5.2) indica con un 95% de confianza que no existe diferencia entre la concentración inicial y final de fosfato.

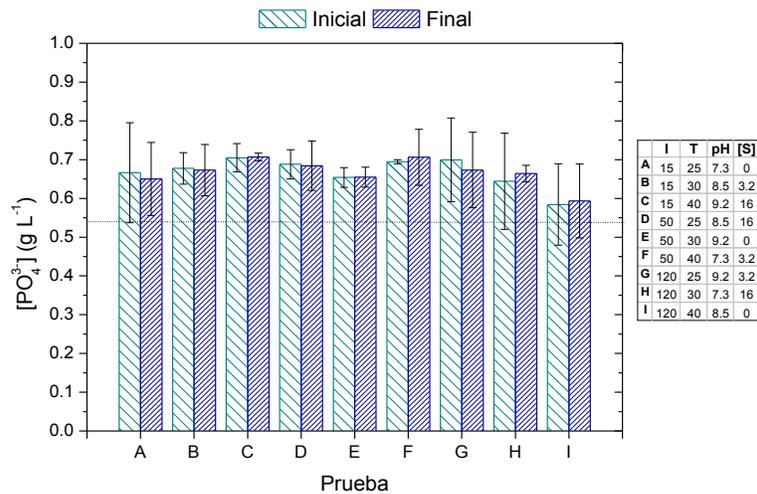


Figura 13 Concentraciones de fosfato al inicio y al final en cada prueba experimental

8.3.5 Nitrato (NO_3^-)

La Figura 14 muestra las concentraciones de nitrato obtenidas durante cada prueba experimental, donde los valores al inicio y al final de cada uno tienden a permanecer constantes y alrededor de la concentración deseada de $1.55 \text{ gNO}_3^- \text{ L}^{-1}$ que corresponde a 350 mgN-NO_3^- valor por encima de los obtenidos con el equipo de determinación de N_T ; además se encuentran por debajo de la concentración inhibitoria de $6.2 \text{ gNO}_3^- \text{ L}^{-1}$ reportada por Jeanfils *et al.* (1993). Cabe mencionar que la desviación estándar en las pruebas H e I reflejan un error experimental durante la dilución de la muestra inicial. A pesar de lo anterior, el análisis ANOVA (Apéndice V, sección 13.5.2) indica con un 95% de confianza que no existe diferencia entre la concentración inicial y final de nitrato.

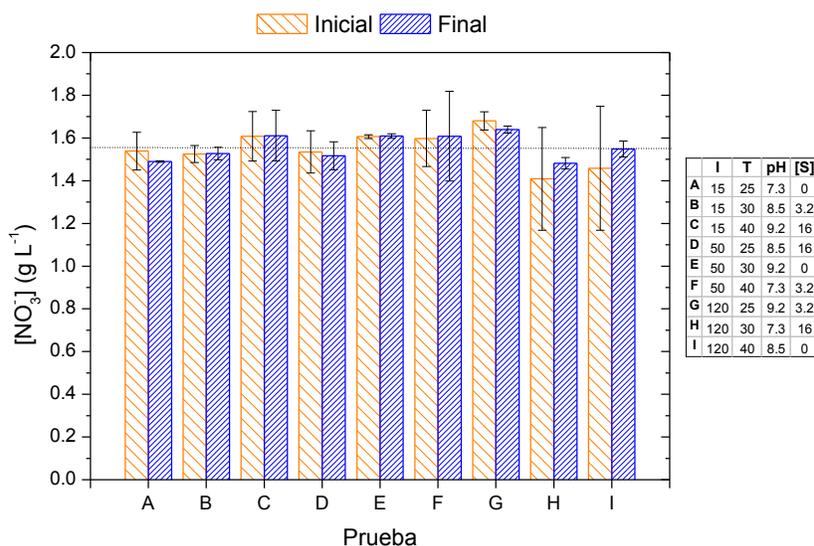


Figura 14 Concentraciones de nitrato al inicio y al final en cada prueba experimental

8.4 Parámetros de seguimiento asociados a la oxidación de sulfuro y producción de intermediarios

8.4.1 Hidrosulfuro (HS^-) y tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$)

La única especie intermediaria presente en el mecanismo de oxidación de $\text{H}_2\text{S}/\text{HS}^-$ detectada mediante el cromatógrafo de aniones fue el tiosulfato, mientras que el pentasulfuro (S_5^{2-}) y sulfito (SO_3^{2-}) no fueron detectados en el tiempo de duración de las pruebas experimentales. La Figura 15 muestra el balance de masa de azufre disuelto, que incorpora al hidrosulfuro y al tiosulfato obtenido durante las pruebas experimentales, y se compara con el tiosulfato teóricamente producido por la reacción del sulfuro consumido. El tiosulfato teórico se calculó a partir de las ecuaciones estequiométricas (17) y (18) de oxidación abiótica de sulfuro con oxígeno disuelto y válidas para la condición alcalina presente (González-Sánchez y Revah., 2007).

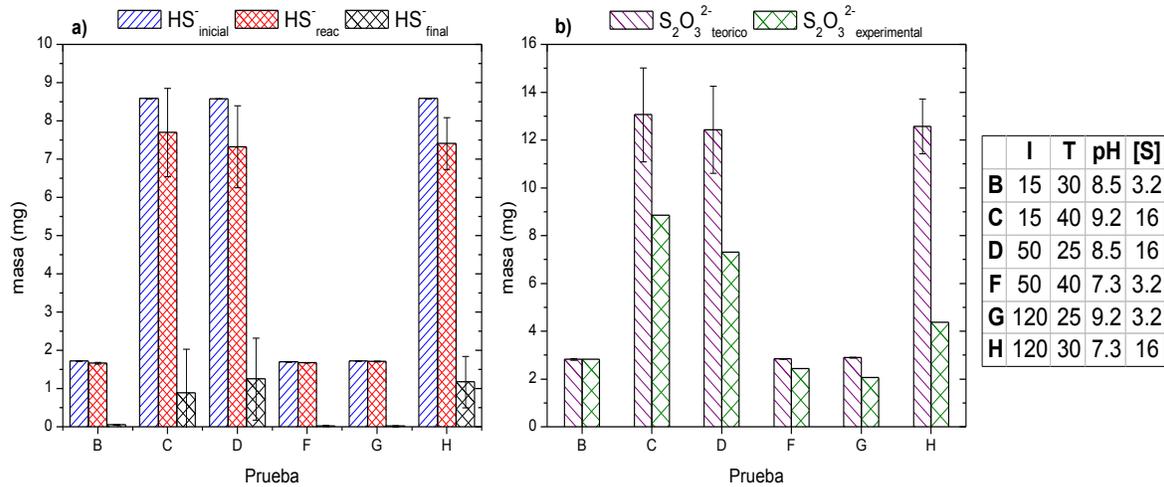


Figura 15 Balance de masa de hidrosulfuro (a) y tiosulfato (b) en las pruebas con sulfuro

En la Figura 15^a, se observa los resultados para las pruebas B, F y G, donde el pH es de 8.5, 7.3 y 9.2, respectivamente, y la concentración inicial de 3.2 mgS²⁻ L⁻¹ en todas, se nota que la mayoría del HS⁻ presente en el medio se oxidó de manera química y casi en su totalidad. En cambio, en C, D y H, donde la concentración inicial de sulfuro es de 16 mgS²⁻ L⁻¹, el HS⁻ no fue consumido en su totalidad probablemente debido a limitación por oxígeno disuelto.

El rendimiento a S₂O₃²⁻ se muestra en la Figura 16 y fue calculado como la cantidad de tiosulfato obtenido experimentalmente entre el tiosulfato teórico que se muestra en la Figura 15^b. El alto rendimiento hacia tiosulfato es favorecido por un pH alcalino de 8.5 y 9.2, donde se obtuvo un mayor rendimiento en las pruebas B y G comparadas con la C y D debido a una menor concentración de sulfuro utilizado. Una mayor tasa de producción de oxígeno del consorcio microalgal promovida por una irradiancia de 120 μE m²s⁻¹ pudo aumentar el rendimiento en G respecto a D; aunque no se observa el mismo comportamiento en B, si lo hace en F a pesar del pH de 7.3. El tiosulfato es un compuesto tolerado por la biomasa al no inhibir su actividad fotosintética (Krauss y Schmidt, 1987). Por otro lado, la actividad fotosintética reflejada en la *rO_{2spec}* pudo ser promovida por las condiciones de temperatura como es el caso de B y F de 30 y 40 °C respectivamente.

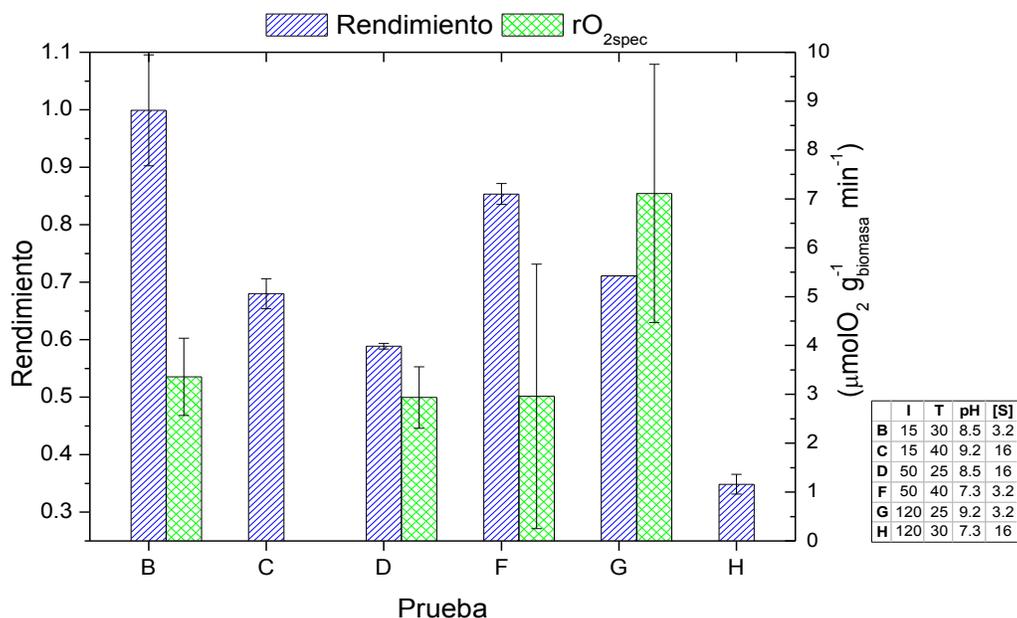


Figura 16 Rendimiento a tiosulfato y rO_{2spec} en las pruebas con sulfuro

En el caso de H, el bajo rendimiento obtenido significa que el sulfuro adicionado no reaccionó en su totalidad, acumulándose como H_2S y HS^- a pH neutro. El H_2S residual pudo inhibir la rO_{2spec} de la biomasa; hay que recordar que H corresponde al ensayo con $16 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$. Un caso similar sucede con el ensayo C, donde también existió inhibición; la diferencia radica que el rendimiento fue mayor debido al pH de 9.2 donde la mayor proporción de sulfuro existió como HS^- que reaccionó con el OD del medio. La inhibición implica que el valor de rO_{2spec} es cero.

8.5 Efecto de la temperatura, pH y adiciones consecutivas de sulfuro disuelto

La Figura 17 muestra los valores de OD, pH y temperatura a lo largo de 230 min en operación del TCP y bajo las condiciones $J_{1,2,3}$ de la Tabla 4 (sección 7.4). Se observa la evolución de estos parámetros para cada etapa durante la adición de un pulso de sulfuro, delimitadas por una línea punteada. La primera línea indica la no adición de sulfuro, la segunda la concentración de $3.2 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$ y la tercera de $16 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$. La temperatura se mantuvo constante a lo largo del tiempo en $30 \text{ }^\circ\text{C}$ con ligeras fluctuaciones que son típicas de un control-off. En cambio, el pH tiende a aumentar de manera paulatina debido a la liberación de iones OH^- durante la fotosíntesis efectuada por el consorcio microalgal. En la primera etapa se observa que, al cerrar el fotobiorreactor, la concentración de OD tiene un aumento lineal. Pasado una hora de operación, el fotobiorreactor es abierto y la concentración de OD disminuye a 9 mg L^{-1} , indicando una desorción de O_2 al exterior (atmósfera).

Posteriormente cuando se le adiciona un pulso de sulfuro disuelto concentrado al TCP para registrar una concentración de $3.2 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$, se observa que la oxidación de éste fue muy rápida, indicada por la pendiente de consumo de OD. Posteriormente la concentración de OD vuelve a aumentar de manera lineal y la pendiente tiende a ser mayor que en la primera etapa debido al efecto que tiene el sulfuro en mejorar la actividad fotosintética a baja irradiancia ($I_{\text{ext}} < 125 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) de acuerdo con Klatt *et al.* (2015).

En la tercera etapa, donde se adicionó nuevamente sulfuro para lograr una concentración de $16 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$, se observó el consumo lineal de OD por la oxidación de sulfuro, seguido de una disminución de la concentración a una tasa menor, indicando posiblemente la oxidación de pentasulfuro a tiosulfato (González-Sánchez y Revah., 2007).

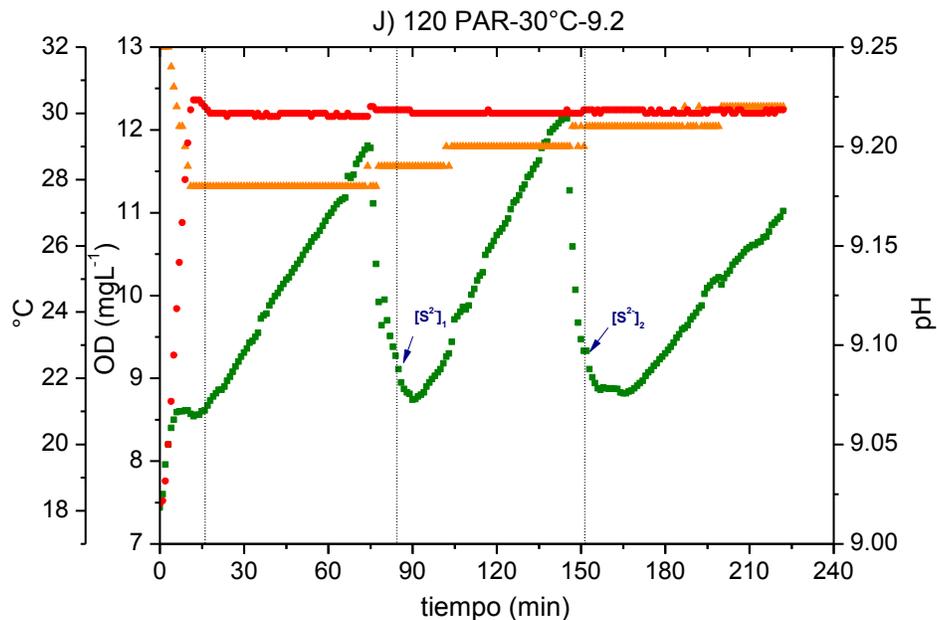


Figura 17 Perfiles de OD (■), temperatura (●) y pH (▲) de la prueba J a 120 PAR [$\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]

También se observa un período de 10 min donde la concentración de OD no cambia, debido a que la tasa de producción de O_2 y la velocidad de consumo de éste tienden a ser las mismas; esto sucede hasta el momento en que la concentración de especies azufradas a ser oxidadas fue suficientemente baja y entonces permitió un incremento del OD tal como se observa en el intervalo de 165 a 230 min. Cabe mencionar que la tasa de producción de oxígeno es menor con respecto a la primera y segunda etapa indicando el efecto inhibitorio de los intermediarios generados por la oxidación del sulfuro sobre la actividad fotosintética del consorcio microalgal.

En la Figura 18 se muestra las pruebas $K_{1,2,3}$ con pH de 8.5 del medio. Comparando estos perfiles con los correspondientes a $J_{1,2,3}$ (pH 9.2), se puede observar que la rapidez con la que el pH aumenta durante el transcurso del tiempo y su velocidad es mayor que los ensayos $J_{1,2,3}$. Este efecto es más notorio debido a que la capacidad amortiguadora del medio es menor a la que es utilizada en J.

La concentración de OD muestra una tendencia similar a J; sin embargo, las pendientes de cada etapa tienden a ser mayores; esto se le atribuye a que las condiciones de pH y temperatura favorecen la actividad fotosintética del consorcio microalgal. Con respecto a la oxidación de sulfuro, tiende a ser similar la segunda etapa con la correspondiente en J, pero difiere con la tercera ya que no se observa el intervalo donde la concentración de OD permanece constante. El efecto negativo por la concentración de $16 \text{ mgS}^2 \text{ L}^{-1}$ en la actividad fotosintética se demuestra con la disminución de la pendiente OD comparada con las etapas uno y dos de este ensayo.

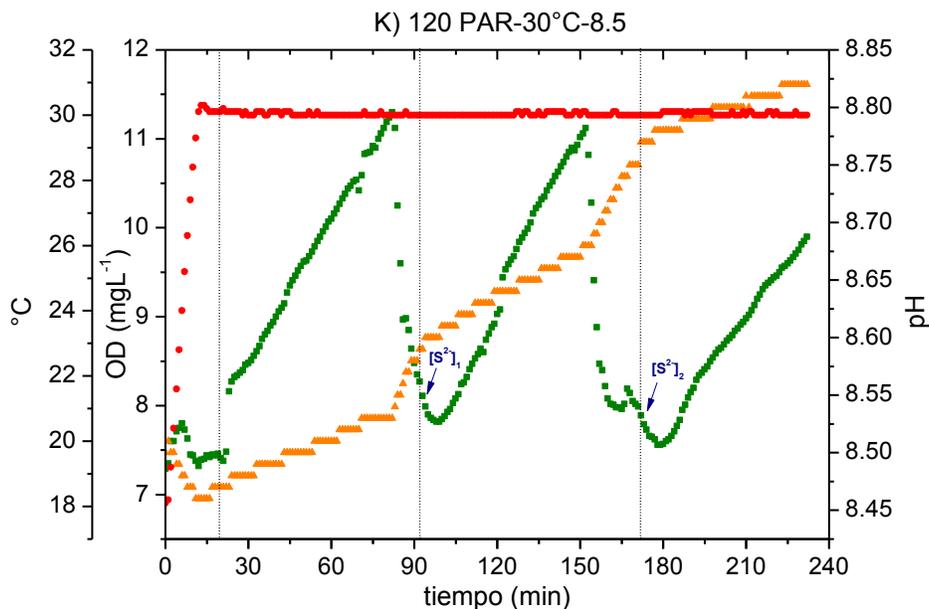


Figura 18 Perfiles de OD (■), temperatura (●) y pH (▲) de la prueba K a 120 PAR [$\mu\text{E m}^2 \text{ s}^{-1}$]

La Figura 19 muestra las pruebas $L_{1,2,3}$, con mayor temperatura que en las pruebas $J_{1,2,3}$. El comportamiento del pH es similar al que sucede con las pruebas J. En cambio, las pendientes de OD tienden a ser menores en cada etapa debido a la alta temperatura. Después de la adición del pulso de sulfuro, el consumo de OD más pronunciado, indicando una tasa de oxidación favorecida por la temperatura, y posteriormente el OD vuelve a aumentar.

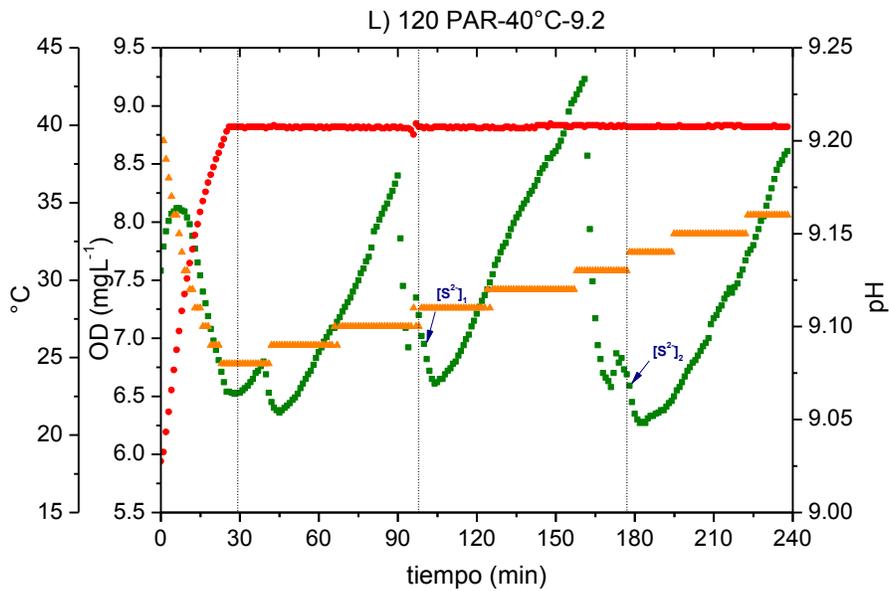


Figura 19 Perfiles de OD (■), temperatura (●) y pH (▲) de la prueba L a 120 PAR [$\mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$]

La Figura 20 muestra las pruebas $M_{1,2,3}$. Presenta un comportamiento similar al de las pruebas $K_{1,2,3}$; la diferencia se encuentra en las pendientes de OD, que tienden a ser menores, debido a los intermediarios generados y la temperatura que limita la actividad del consorcio microalgal, mientras que el aumento de pH a lo largo del tiempo es muy parecido. En el caso de la etapa 1 y 2 el consumo de OD tiende a ser lineal; sin embargo, en la etapa 2 se observa una tasa de consumo diferente donde después de cierto tiempo la concentración permanece constante seguido del aumento positivo de la concentración de OD.

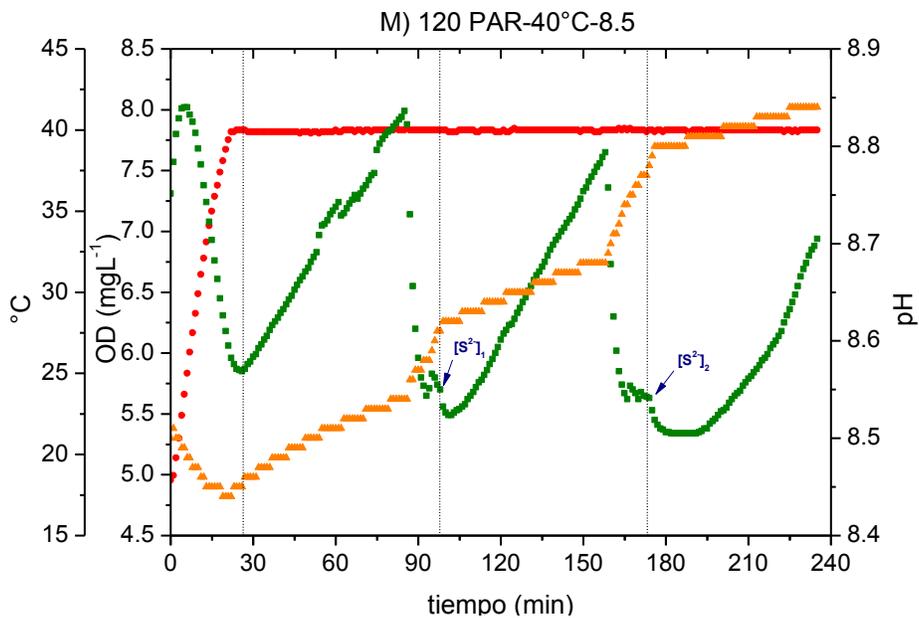


Figura 20 Perfiles de OD (■), temperatura (●) y pH (▲) de la prueba M a 120 PAR [$\mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$]

8.5.1 Tasa de producción específica de oxígeno

La Figura 21 muestra un resumen de las velocidades de producción de oxígeno como respuesta a la variación de la temperatura y pH a una irradiancia de 120. Se observa que en la etapa 1, donde el consorcio microalgal no estuvo expuesto al sulfuro, los valores de rO_{2spec} en general son ligeramente más altos a una temperatura de 30°C y un pH de 8.5. A un pH de 9.2 se obtienen valores de rO_{2spec} similares a temperaturas de 30 y 40°C; mientras que a un pH de 8.5 la rO_{2spec} se ve afectada por 40°C. Cabe recordar que el sistema permaneció cerrado por lo que la rO_{2spec} no depende de la solubilidad de O_2 en el medio sino del efecto de la temperatura y pH sobre la biomasa.

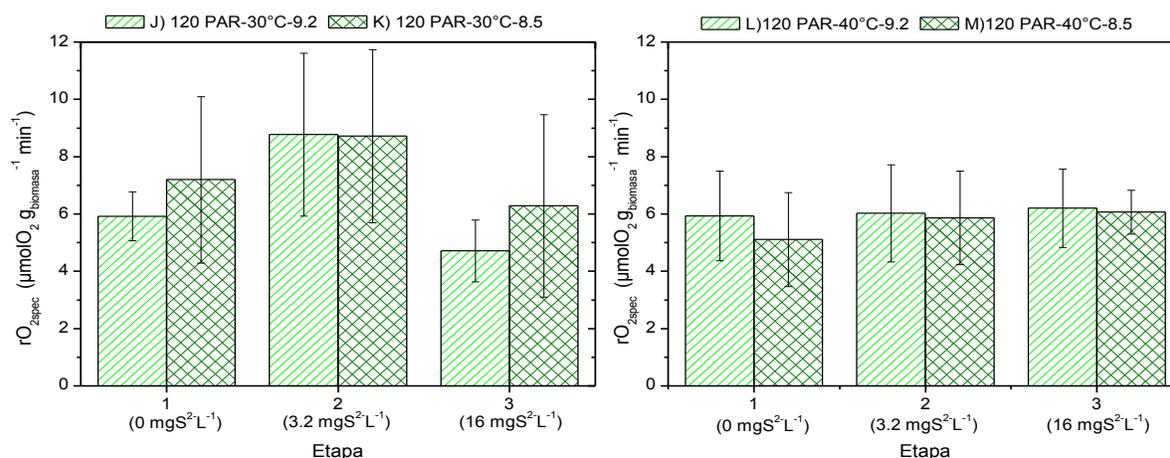


Figura 21 Valores de rO_{2spec} en las pruebas J, K, L y M a 120 PAR [$\mu E m^2 s^{-1}$]

En la etapa 2, a la concentración de $3.2 mgS^{2-} L^{-1}$, se observa que los valores de rO_{2spec} a un pH de 9.2 y 8.5 aumentan un 50 y 21 por ciento respectivamente, con respecto a cuándo no se le adiciona sulfuro a una temperatura de 30°C; el caso contrario sucede a 40°C, donde solo existe un aumento del 15% a un pH de 8.5 y no presenta un cambio a 9.2. En la etapa 3, a la concentración de $16 mgS^{2-} L^{-1}$, se observa que a 30°C y pH de 9.2 y 8.5 los valores de rO_{2spec} disminuyen un 47 y 28% con respecto a los alcanzados en la etapa 2, de manera que se confirma el efecto desfavorable de un exceso del sulfuro sobre la actividad fotosintética del consorcio microalgal. En el caso de 40°C y a un pH de 9.2 y 8.5, no se percibe un efecto adverso pues los valores de rO_{2spec} son similares a la etapa 2. El análisis ANOVA con un 70% de confianza indica que la temperatura, como su interacción con la concentración de sulfuro es significativa. La manera de aumentar su certidumbre es comparando con más datos experimentales. Una manera de observar la influencia que tiene la temperatura, pH inicial, concentración de sulfuro e irradiancia constante sobre la rO_{2spec} fue mediante un gráfico 3D. Éste fue elaborado a través de Origin Pro8 SR1, que es un software computacional para gráficos y análisis de datos. Mediante el uso de la interpolación kriging de datos obtenidos de rO_{2spec} durante las pruebas continuas, se obtuvo la Figura 22, donde se muestra la influencia de las variables mencionadas anteriormente.

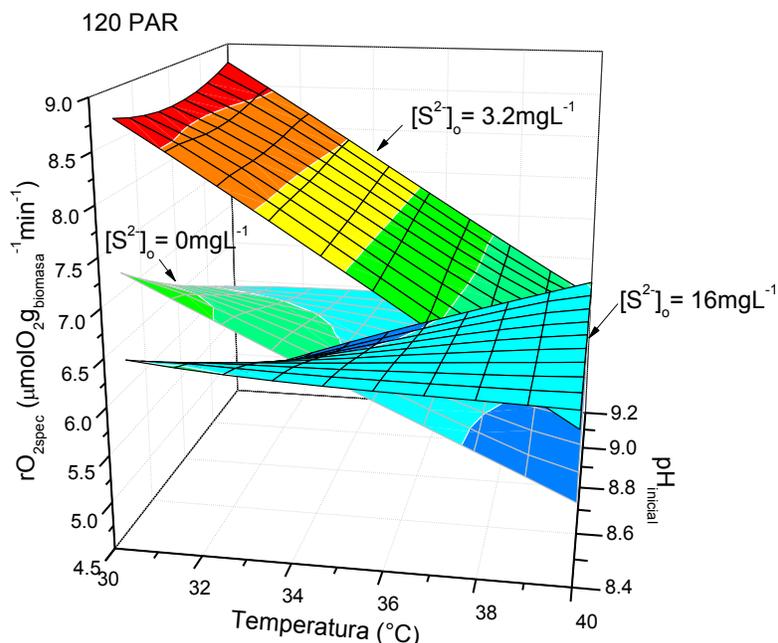


Figura 22 Efecto de la rO_{2spec} a diferente temperatura, $\text{pH}_{\text{inicial}}$ y concentración de sulfuro a 120 PAR [$\mu\text{E m}^2 \text{ s}^{-1}$]

En el caso de $0 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$, se observa que el valor más alto de rO_{2spec} se alcanza a una temperatura de 30°C y a un pH de 8.5 donde estas condiciones son similares para la obtención de los valores óptimos reportados por Costache *et al.* (2013) para la microalga *S. almeriensis*. La tendencia general de los valores de la rO_{2spec} es inversa con respecto a la temperatura y el pH . El caso contrario sucede sólo a 40°C donde a medida que el pH aumenta, también incrementa levemente el valor de la rO_{2spec} y que corresponden a condiciones a las cuales el consorcio microalgal puede adaptarse favorablemente. En el caso de $3.2 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$, se observa que la rO_{2spec} es favorecida llegando a valores por arriba de los que se obtienen sin la adición de sulfuro, confirmando el efecto benéfico que se tiene sobre la actividad fotosintética del consorcio microalgal (Klatt *et al.*, 2015). Por otra parte, se muestra que a una temperatura de 30°C y un pH de 8.5 y 9.2 se obtienen los valores de rO_{2spec} más altos. Parece existir una disminución lineal de éstos conforme la temperatura aumenta a distinto pH hasta alcanzar los 40°C , donde los valores de rO_{2spec} son bajos pero mayores a los obtenidos sin sulfuro. En el caso de $16 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$, se observa que en el rango de $30\text{-}33^{\circ}\text{C}$ los valores de la rO_{2spec} se encuentran por debajo a los obtenidos sin la adición de sulfuro debido al efecto nocivo sobre la actividad fotosintética; sin embargo, a medida que se incrementa la temperatura y el pH , la rO_{2spec} aumenta hasta alcanzar valores por arriba de los mencionados. Lo anterior puede deberse a la disminución del efecto nocivo del sulfuro, el cual es convertido a especies menos tóxicas (p.e. tiosulfato) con velocidades más altas a temperaturas por arriba de 33°C promoviendo que la actividad fotosintética del consorcio microalgal sin inhibición aparente por sulfuro.

8.5.2 Formación de tiosulfato

La especie predominante de la oxidación de sulfuro durante las pruebas de su adición continua fue el $S_2O_3^{2-}$. En el caso de una concentración inicial de $3.2 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$ (Figura 23^a) los valores de rendimiento a tiosulfato tienden a ser similares para las pruebas bióticas y abióticas, donde a 40°C y pH 8.5 se estimaron los mayores rendimientos cercanos a 0.83. A 30°C , el rendimiento en la prueba biótica es mayor con respecto al abiótico y esto pudo deberse a la mayor producción de oxígeno, cuya acumulación como OD en el líquido favoreció más la oxidación de sulfuro a tiosulfato.

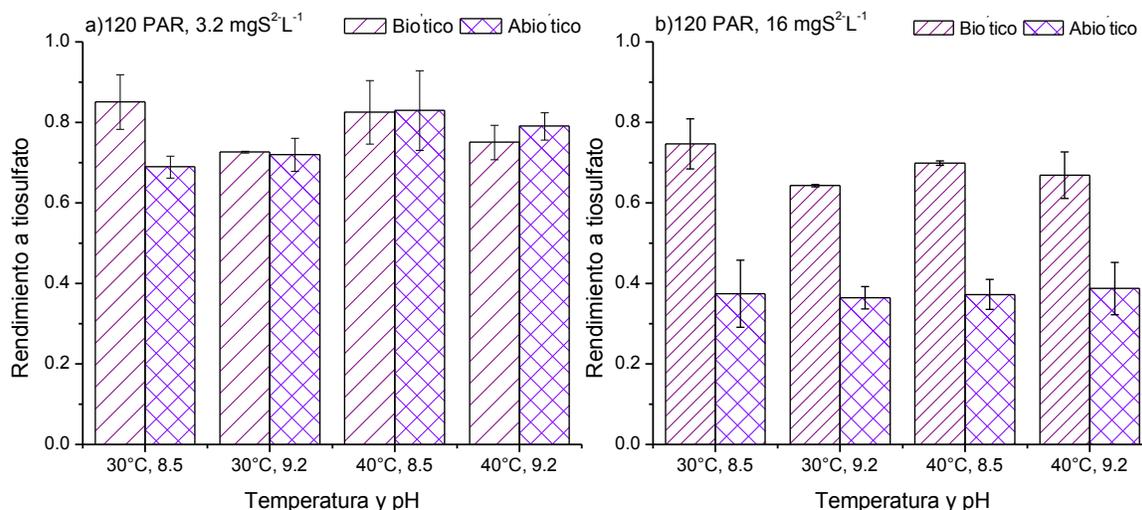


Figura 23 Rendimiento a tiosulfato en pruebas bióticas y abióticas con 3.2 (a) y 16 (b) $\text{mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$ a 120 PAR [$\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]

Para el caso de $16 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$, que se muestra en la Figura 23^b, se obtuvieron rendimientos a tiosulfato mayores de 0.6, donde el valor más alto (0.75) se obtuvo a 30°C y un pH de 8.5 en condiciones bióticas. Lo anterior contrasta con los valores de rendimiento obtenidos en condiciones abióticas que se encuentra por debajo de 0.4, indicando que el oxígeno producido por la actividad fotosintética y acumulado en el medio resultó el reactivo limitante de la reacción entre el sulfuro con el oxígeno para producir tiosulfato.

En la Figura 24 se muestra el gráfico 3D obtenido a partir nuevamente de la interpolación de datos utilizando la regresión kriging, donde se presenta el comportamiento que tiene el rendimiento a tiosulfato con respecto a la temperatura y el pH, para los dos valores de sulfuro en las pruebas bióticas.

Para el caso de $3.2 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$, se muestra que los rendimientos a tiosulfato tienden a ser mayores de 0.8 a temperaturas entre 30 y 32°C y pH entre 8.5 y 8.6. A medida que se incrementan los valores de las variables anteriores, el rendimiento a tiosulfato tiende a disminuir de manera lineal debido a que la actividad fotosintética se ve afectada también.

Para el caso de $16 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$, los valores muestran una tendencia similar a la anterior, donde los rendimientos a tiosulfato más altos de 0.7 a 0.75, se encuentran entre el rango de temperatura y pH mencionado anteriormente. Cabe recordar que estos rendimientos son

obtenidos durante una hora de experimentación, por lo que los valores podrían seguir aumentando a medida que el tiempo transcurre.

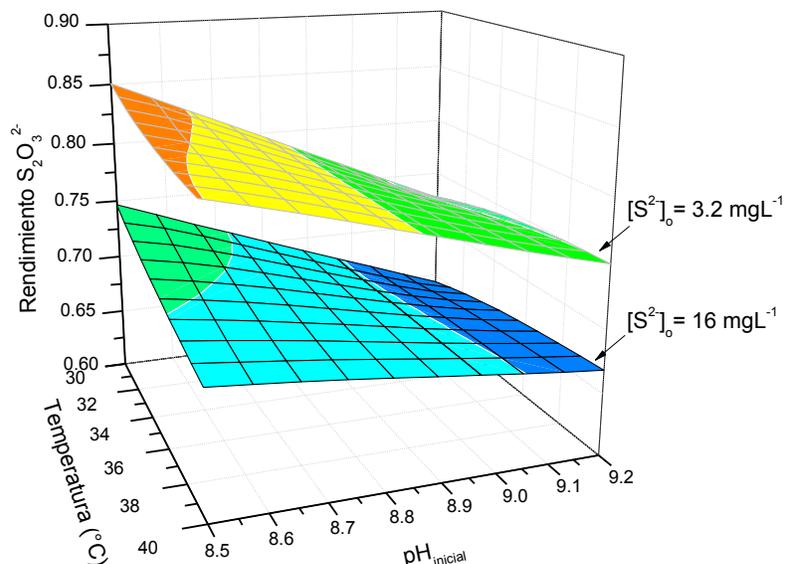


Figura 24 Efecto del rendimiento a tiosulfato con diferente temperatura, pH_{inicial} y concentración de sulfuro

8.5.3 Consumo de oxígeno

El consumo de O₂ en las pruebas bióticas y abióticas fue calculado a partir de las ecuaciones estequiométricas (16) y (17), donde se consideró el O₂ necesario para producir el S₂O₃²⁻ obtenido experimentalmente. En la Figura 25^a se muestran los consumos de O₂ cuando fue adicionado 3.2 mgS²⁻ L⁻¹ y se observa que el consumo para las pruebas bióticas se encuentra entre 2.6 y 2.85 mg L⁻¹ mientras que en las abióticas fue de 1.7 a 2.1 mg L⁻¹, resultando en general un incremento en el consumo promedio de 43.4% con la presencia de biomasa. Como era de esperarse, el consumo de oxígeno es mayor cuando fue adicionado 16 mgS²⁻ L⁻¹, tal como se muestra en la Figura 25^b; lo anterior se debe a que se requiere mayor cantidad de O₂ para oxidar el sulfuro. Para el caso de las pruebas bióticas, la cantidad de O₂ presente en el medio es mayor debido a la actividad fotosintética de la biomasa que induce consumos entre 10.5 a 12.5 mg L⁻¹, además que a 40°C la oxidación es favorecida por la temperatura.

El caso contrario sucede en las pruebas abióticas, donde el consumo de O₂ resulta entre 6 a 6.5 mg L⁻¹, demostrando que el oxígeno es el reactivo limitante para las reacciones de oxidación del sulfuro. En general, el consumo promedio de O₂ se incrementa un 84% para las pruebas bióticas comparado con las abióticas, independientemente de las condiciones de pH y temperatura. Por lo tanto, la actividad fotosintética de la biomasa favorece que los rendimientos a tiosulfato sean más altos.

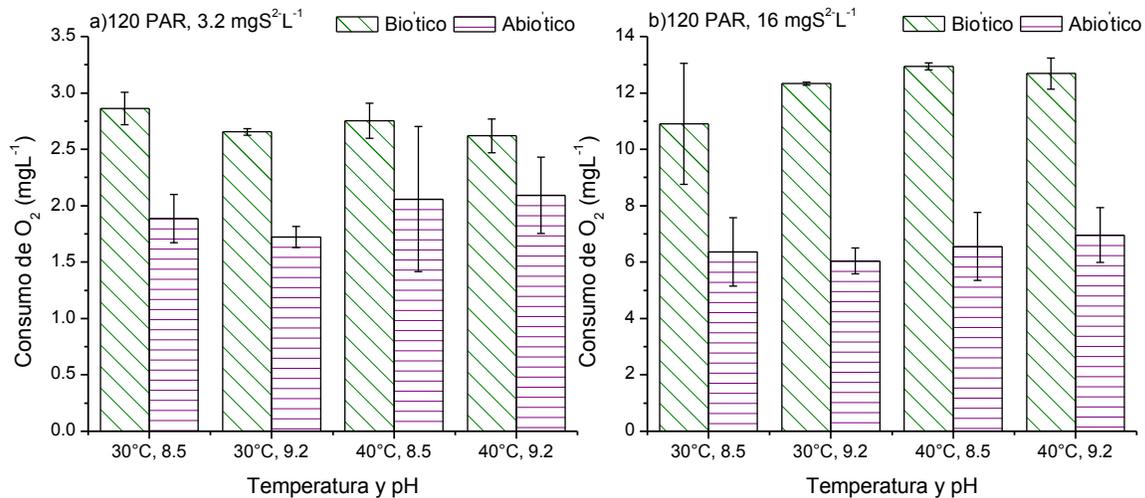


Figura 25 Consumo de O₂ en pruebas bióticas y abióticas con 3.2 (a) y 16 (b) mgS²L⁻¹ a 120 PAR [$\mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$]

8.5.4 Carbono inorgánico (IC) en pruebas consecutivas

El IC en las pruebas continuas fue determinado mediante el promedio de la concentración inicial y final obtenida durante las mismas; los valores se muestran en la Figura 26 y son diferentes a un pH de 9.2 y 8.5 mientras que a una temperatura de 30 y 40°C son similares en cada uno de los anteriores.

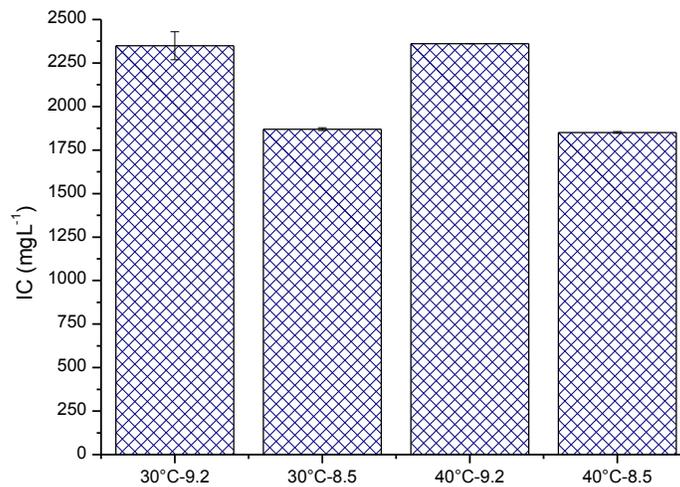


Figura 26 Concentración de IC promedio en pruebas continuas a 120 PAR [$\mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$]

La diferencia se debe principalmente a la cantidad de HCO₃⁻ y CO₃²⁻ utilizado para proporcionar el pH deseado en el medio mineral sintético.

Adicionalmente, se estimó la diferencia del promedio de carbono inorgánico disuelto con respecto al valor inicial presente en el medio durante los ensayos anteriores, la cual oscila entre 130 y 151 mg L⁻¹ y que representan entre el 6 y 7% del IC inicial para un pH de 9.2 y 8.5, respectivamente. Por lo tanto, se confirma el nulo crecimiento del consorcio microalgal durante los ensayos.

8.5.5 Tasa de fijación de CO₂

Con la finalidad de estimar la tasa de fijación o consumo de CO₂ del medio acuoso de cultivo durante los anteriores ensayos, se propuso calcular la concentración de CO₂ basado en las mediciones experimentales de IC, pH y temperatura. A continuación, se describe el procedimiento y resultados.

El valor promedio de IC fue utilizado para determinar la concentración de CO₂ disuelto a lo largo del tiempo de duración de las pruebas, mediante la ecuación (19); mientras que la concentración de iones H⁺ fue estimada por las ecuaciones (20) y (21).

$$DCO_2 = \frac{IC}{1 + \frac{k_1^*}{[H^+]} + \frac{k_1^* \cdot k_2^*}{[H^+]^2}} \quad (19)$$

$$pH = -\log[H^+] \quad (20)$$

$$[H^+] = 10^{-pH} \quad (21)$$

Debido a que las constantes de disociación k_1 y k_2 en equilibrio de CO₂ en medio acuoso dependen de la temperatura se utilizaron las ecuaciones (22) y (23).

$$pk_1^\circ = 6320.81/T - 126.3405 + 19.568 \cdot \ln T \quad (22)$$

$$pk_2^\circ = 5143.69/T - 90.1833 + 14.613 \cdot \ln T \quad (23)$$

donde pk_i° representa el valor a $S=0$ (Millero, 1979) con unidades de Kelvin para T.

Aunque el medio mineral utilizado tuvo una concentración alrededor de un 1 mg L⁻¹ de NaCl que corresponde a un valor de salinidad (S) bajo, se determinaron las constantes de disociación en equilibrio con la corrección por ella conforme a las ecuaciones (24) y (25).

$$k_1^* = 10^{-\{[(-840.39/T+19.894-3.0189 \cdot \ln T)S^{1/2}+0.00668S]+pk_1^\circ\}} \quad (24)$$

$$k_2^* = 10^{-\{[(-690.59/T+17.176-2.6719 \cdot \ln T)S^{1/2}+0.0217S]+pk_2^\circ\}} \quad (25)$$

donde el rango es de $0 \leq S \leq 40$ (Dickson y Millero, 1987), mientras que las unidades de temperatura son en Kelvin y para la salinidad de 0.017 mol kg_{sol}⁻¹.

En la Figura 27 se muestra el comportamiento del DCO₂ a lo largo del tiempo, donde éste tiende a disminuir a diferente tasa. Tal es el caso en los intervalos de 17 a 80, 92 a 152 y 172 a 232 minutos que corresponden al tiempo donde se lleva a cabo la reacción de fotólisis reflejada en el aumento de la concentración de OD de manera proporcional y al mismo tiempo se utiliza el DCO₂ como fuente de carbono a partir del mecanismo de concentración de carbono (CCM, por sus siglas en inglés) de acuerdo con Giordano *et al.* (2005) en el momento en que el fotobiorreactor se mantiene cerrado. En cambio, cuando éste se abre a la atmósfera la tasa disminuye de manera más rápida en los intervalos de 81 a 91 y 153 a 171 minutos, debido a la desorción de CO₂.

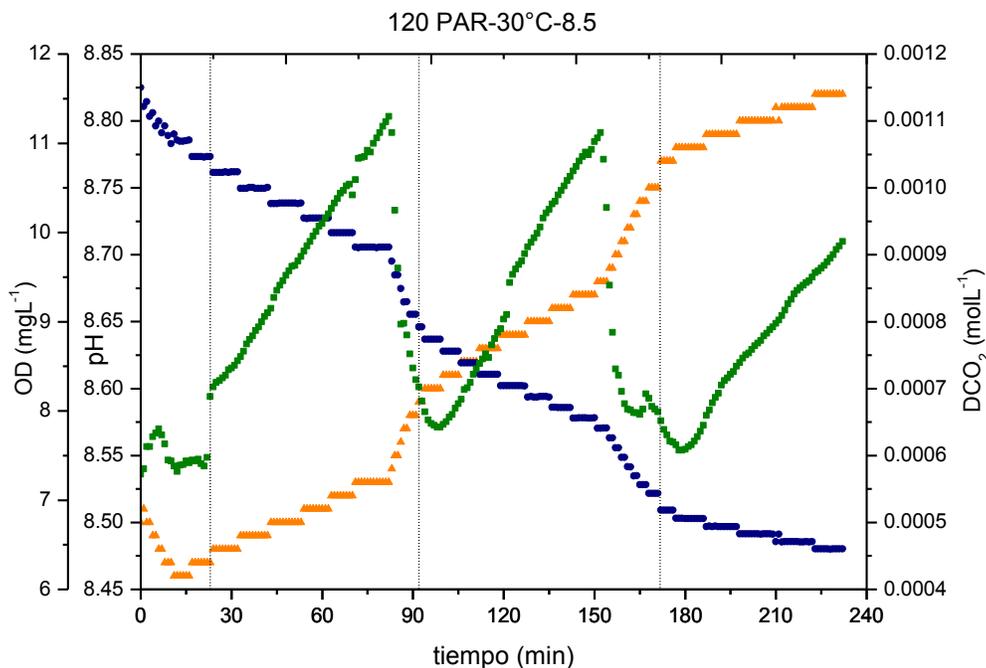


Figura 27 Perfiles de OD (■), DCO₂ (●) y pH (▲) a 120 PAR [$\mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$]

La captura de CO₂ disuelto es más rápida a un pH de 8.5, probablemente debido a su proximidad con el pH intracelular de 7.8-8.2 de la biomasa lo anterior favorece que el CO₂ disuelto en el medio se difunda con mayor facilidad dentro de las células del consorcio microalgal, complementado por la reacción enzimática de la anhidrasa carbónica que tiene como función catalizar la reacción de hidratación de CO₂ a HCO₃²⁻ o de eliminar los H⁺ dentro de la célula (Tsuzuki y Miyachi, 1989). El caso contrario sucede como se muestra en la Figura 28 donde a un pH de 9.2 y temperatura de 30°C, la tasa de fijación de DCO₂ es mucho menor o nula comparada a la de un pH de 8.5, mientras que la tasa de desorción de éste es muy rápida al momento de abrir el sistema al final de cada etapa.

La causa principal es que la fijación se encuentra limitada por la difusión de CO₂ dentro de la célula y de la rapidez con lo que la enzima transforma el HCO₃⁻ a CO₂, mientras que la desorción de CO₂ es más rápida, pues el gradiente de concentración de CO₂ entre el amortiguador acuoso (CO₂/HCO₃⁻/CO₃²⁻) y el CO₂ del aire es muy grande, estimando una diferencia de concentraciones de CO₂ al equilibrio de hasta un orden de magnitud.

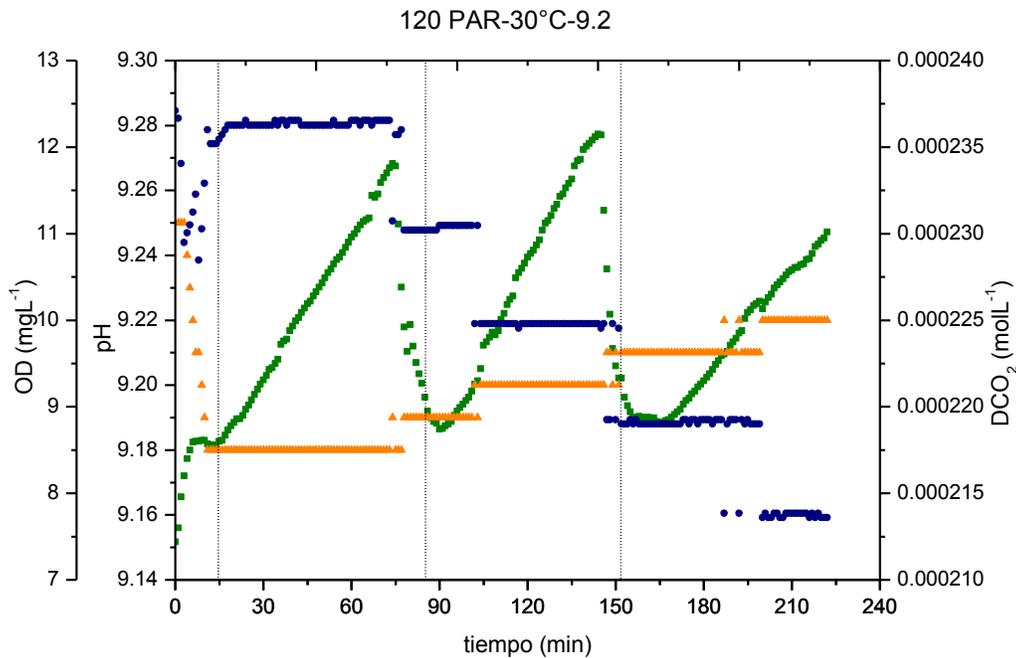


Figura 28 Perfiles de OD (■), DCO₂ (●) y pH (▲) a 120 PAR [$\mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$]

En la Figura 29^a se muestra la tasa de desorción estimada a un pH de 8.5 y temperaturas de 30 y 40°C, donde no se observa un cambio notable en su valor durante los ensayos bióticos, pero es mucho mayor a las tasas de consumo por parte de la biomasa. En cambio, en la Figura 29^b se observa la disminución de la tasa de consumo de CO₂ causada por el sulfuro, la cual tiene una reducción del 80% y 68% para temperaturas de 30 y 40 °C a 16 mgS²⁻ L⁻¹ que resulta en la disminución de la actividad fotosintética del consorcio microalgal durante los ensayos.

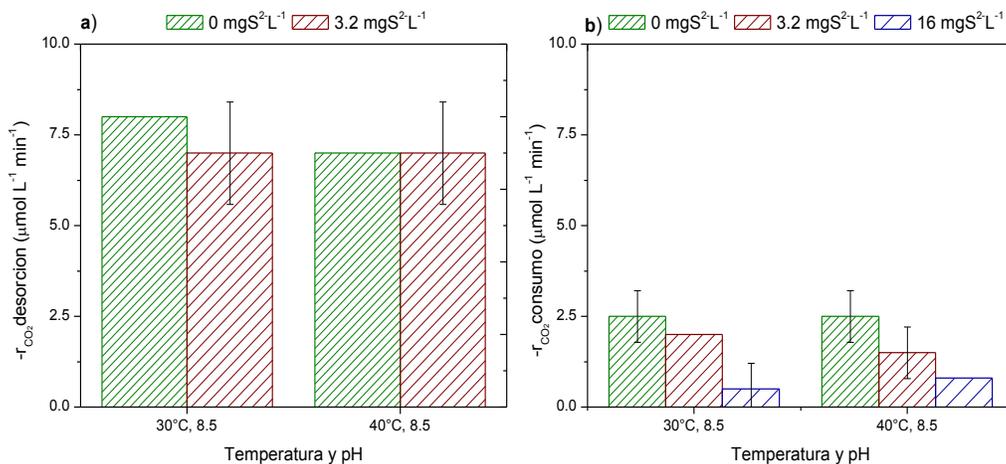


Figura 29 Tasa de desorción (a) y de consumo (b) de CO₂ a pH de 8.5 a 120 PAR [$\mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$]

8.6 Calibración del modelo

En la Figura 30^a se muestra el ajuste de los datos experimentales de la rO_2^{nlz} a un modelo hiperbólico como función de I_{av} ; fueron obtenidos a un pH de 8.5, 30°C y 3.2 mg S²⁻ L⁻¹ que corresponden a las condiciones donde se consideró que la actividad fotosintética no fue limitada por los otros factores, ni inhibida por el sulfuro ni por fotoinhibición. En este modelo propuesto, se estimó que la $k_{I_{av}}$ es de 17.17 $\mu E m^{-2} s^{-1}$, que es un orden de magnitud menor comparado con el valor de 185 encontrado por de los Cobos-Vasconcelos *et al.* (2016), donde se utilizó el mismo TCP. La tasa de oxígeno específica normalizada (rO_2^{nlz}) tiende a ser máxima alrededor de 107.5 $\mu E m^{-2} s^{-1}$ y saturarse a valores mayores de I_{av} ; sin embargo, otros autores como Costache *et al.* (2013) reportan que la rO_2 se satura a I_{av} mayores a 400. En consecuencia, los valores de saturación dependen de los microorganismos fotosintéticos cuestión de estudio.

En la Figura 30^b se muestra el comportamiento de la rO_2^{nlz} como función de la temperatura, el cual fue calibrado al modelo de Arrhenius propuesto. Con los datos obtenidos a partir de la regresión kriging a una I_{ext} de 120, pH de 8.5 y 0 mgS²⁻ L⁻¹, condiciones a las cuales el consorcio microalgal puede exponerse a la intemperie la mayor parte del tiempo y descartando los efectos que se tienen en presencia del sulfuro. Resultaron los siguientes valores: $A_1 = 8.89 \times 10^4$, $E_{a1} = 26,897.5 J mol^{-1}$, $A_2 = 4.014 \times 10^9$ y $E_{a2} = 5.55 \times 10^4 J mol^{-1}$. Los valores de E_{a1} y E_{a2} se encuentran varios ordenes de magnitud por debajo de los encontrados para un cultivo de *S. almeriensis* CCAP 276/24 conforme a Costache *et al.* (2013). El modelo calibrado para la temperatura predice una rO_2^{nlz} máxima para el consorcio microalgal a un valor de temperatura de 30°C mostrando una relación lineal con pendiente negativa con respecto a la temperatura.

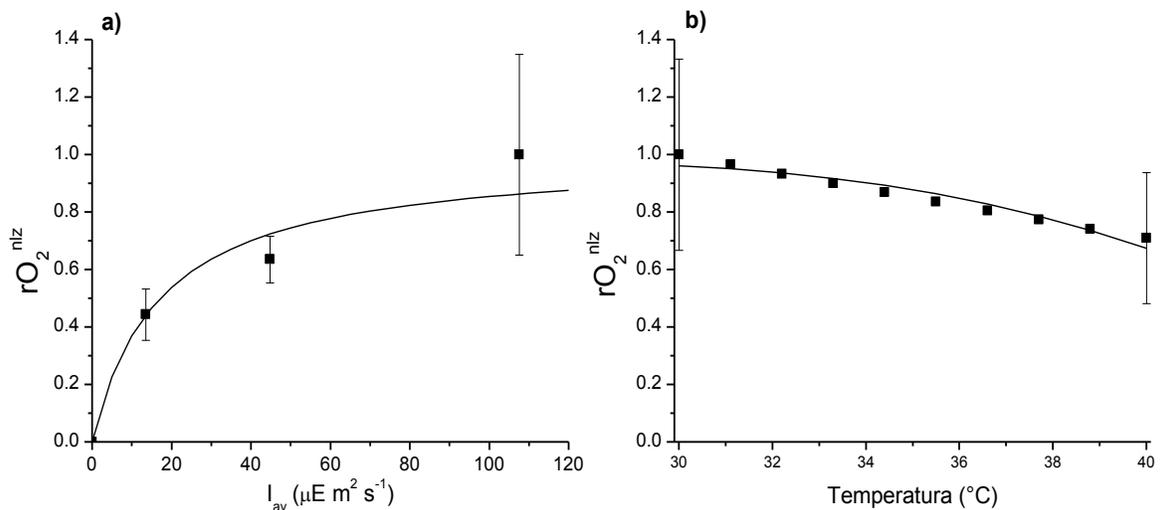


Figura 30 Curvas de ajuste de a) rO_2^{nlz} vs I_{av} (30°C, 8.5, 3.2 mgS²⁻ L⁻¹) y b) rO_2^{nlz} vs T (8.5, 0 mgS²⁻ L⁻¹)

En la Figura 31^a se muestra el comportamiento de la rO_2^{nlz} con respecto al pH. Los datos experimentales fueron ajustados al modelo modificado de Arrhenius propuesto usando la interpolación kriging; estos datos experimentales corresponden a los ensayos realizados bajo una I_{ext} de 120, 30°C y 0 mg S²⁻ L⁻¹, condiciones a las cuales se obtuvo una actividad fotosintética mayor sin considerar los efectos por sulfuro ni limitación por los otros factores. Resultaron los siguientes parámetros: $B_1 = 2.69$, $B_2 = 6.15$ y $C_2 = 10.93$ con unidades adimensionales para cada una de las anteriores. El valor de B_1 tiene el mismo orden de magnitud, mientras que B_2 y C_2 se encuentra por debajo a los propuestos por Costache *et al.* (2013). A pesar de que el modelo propuesto tiene un comportamiento similar al de la temperatura con respecto al anterior, éste se encuentra limitado para un rango de aplicación para un pH de 8.5 a 9.2.

En la Figura 31^b se muestra el comportamiento de la rO_2^{nlz} como función de la concentración de sulfuro; estos datos fueron usados para calibrar el modelo de Andrews-Haldane, considerando los ensayos realizados a una I_{ext} de 120, 30°C, pH de 8.5 y a concentraciones de 0, 3.2 y 16 mgS²⁻ L⁻¹. En este modelo propuesto, se estimó que $K_s = 2.1 \times 10^{-4}$ mg L⁻¹ y $K_I = 46.09$ mg L⁻¹ y describe el efecto benéfico que se tiene al promover la rO_2^{nlz} al utilizar concentraciones por debajo de 3.2 mgS²⁻ L⁻¹ e I_{av} menores de 125 $\mu E m^{-2} s^{-1}$ de acuerdo con Klatt *et al.* (2015); no obstante, a medida que la concentración de sulfuro aumenta la rO_2^{nlz} disminuye por la inhibición que se tiene sobre el mecanismo de producción de O₂ por parte del consorcio microalgal (Oren *et al.*, 1979; Miller y Bebout, (2004). El valor de K_I encontrado se encuentra un orden de magnitud mayor al encontrado por González-Camejo *et al.*, 2017 que corresponde a 8.7 mg L⁻¹; sin embargo, el cultivo utilizado durante su experimentación se conformó por *Scenedesmus* y fue expuesto a una I_{ext} de 300. Por otra parte, el modelo no reproduce adecuadamente los datos experimentales ya que el valor máximo se obtiene a una concentración de 0.098 mgS²⁻ L⁻¹, debido a que éste supone un valor para rO_2^{nlz} de cero cuando la concentración de sulfuro es nula y esto no sucede con el comportamiento observado.

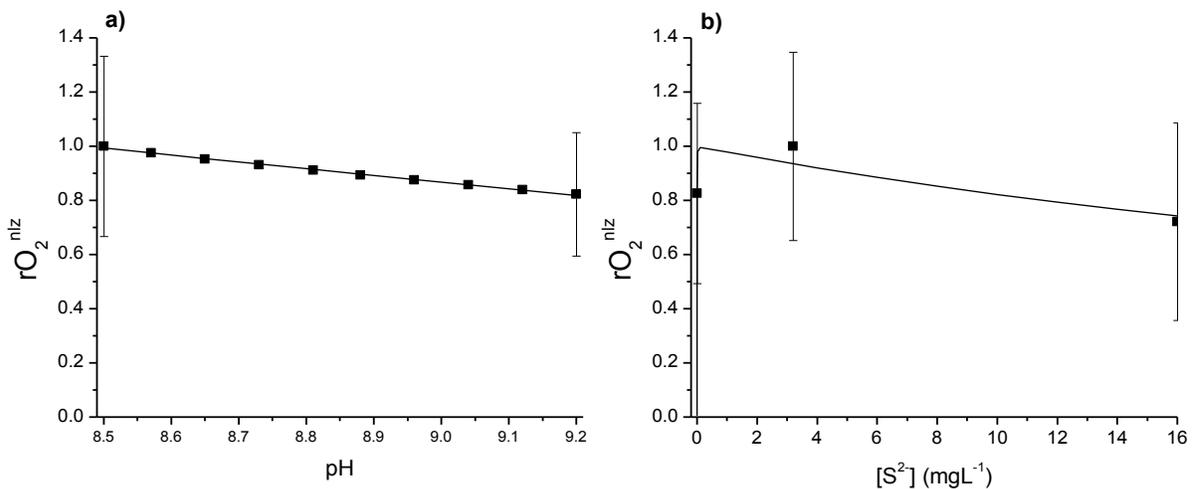


Figura 31 Curvas de ajuste de a) rO_2^{nlz} vs pH (120, 30°C, 0 mgS²⁻ L⁻¹) y b) rO_2^{nlz} vs [S²⁻] (120, 30°C, 8.5)

Resumiendo, los resultados obtenidos por la calibración individual de cada factor del modelo general, se presenta la ecuación 26 con los valores de las constantes estimadas en este apartado.

$$r_{O_2} = 8.80 \left[\frac{I_{av}}{17.17 + I_{av}} \right] \left[8.89 \times 10^4 e^{\frac{-26897.5}{RT}} - 4.014 \times 10^9 e^{\frac{-5.55 \times 10^4}{RT}} \right] \left[2.69 - 6.15 e^{\frac{-10.93}{pH}} \right] \left[\frac{1}{1 + \frac{2.11 \times 10^{-4}}{[S^{2-}]} + \frac{[S^{2-}]}{46.09}} \right] \quad (26)$$

8.7 Validación del modelo

Para comparar los valores obtenidos mediante el modelo general se operó a la intemperie la columna ABC y del HRAP durante ocho días en condición de estado estacionario con respecto a la concentración de biomasa microalgal y macronutrientes. Sin embargo, debido a las condiciones cíclicas de la irradiancia y temperatura durante los ciclos naturales de día y noche, el pH y oxígeno disuelto oscilaron; estos cambios fueron medidos continuamente utilizando el sistema de supervisión, control y adquisición de datos (SCADA, por sus siglas en inglés).

A partir del balance de masa del OD (Apéndice IV) presente en el sistema HRAP-ABC se determinó la $r_{O_2\text{exp}}$ a lo largo del tiempo de operación. Mediante el uso del modelo general propuesto (ecuación 26) y usando los parámetros en función de tiempo registrados en el HRAP, se simuló la $r_{O_2\text{sim1}}$. Ésta considera una $r_{O_2}^{\text{max}}$ específica de $8.8 \mu\text{mol g}_{\text{biomasa}}^{-1} \text{min}^{-1}$, que corresponde al valor más alto obtenido durante los ensayos en el reactor tubular. En la Figura 32 se observa que el $r_{O_2\text{exp}}$ presenta un comportamiento cíclico de acuerdo con las condiciones de luz donde ocurre la producción de O_2 , mientras que en la oscuridad existe el consumo de éste durante el tiempo de operación del sistema. En cambio, el $r_{O_2\text{sim1}}$ no muestra el comportamiento esperado ya que se obtienen valores de $250 \mu\text{mol g}_{\text{biomasa}}^{-1} \text{min}^{-1}$ durante las condiciones de luz. Esto sugiere que el valor de $r_{O_2}^{\text{max}}$ específica no fue el adecuado para replicar las condiciones reales de luz expuestas al HRAP al ser la irradiancia el factor más importante para inducir la fotosíntesis por parte del consorcio microalgal. El sistema de iluminación basado en LED's en el reactor TCP limitó la obtención de un valor de $r_{O_2}^{\text{max}}$ específica acorde a las condiciones externas de iluminación.

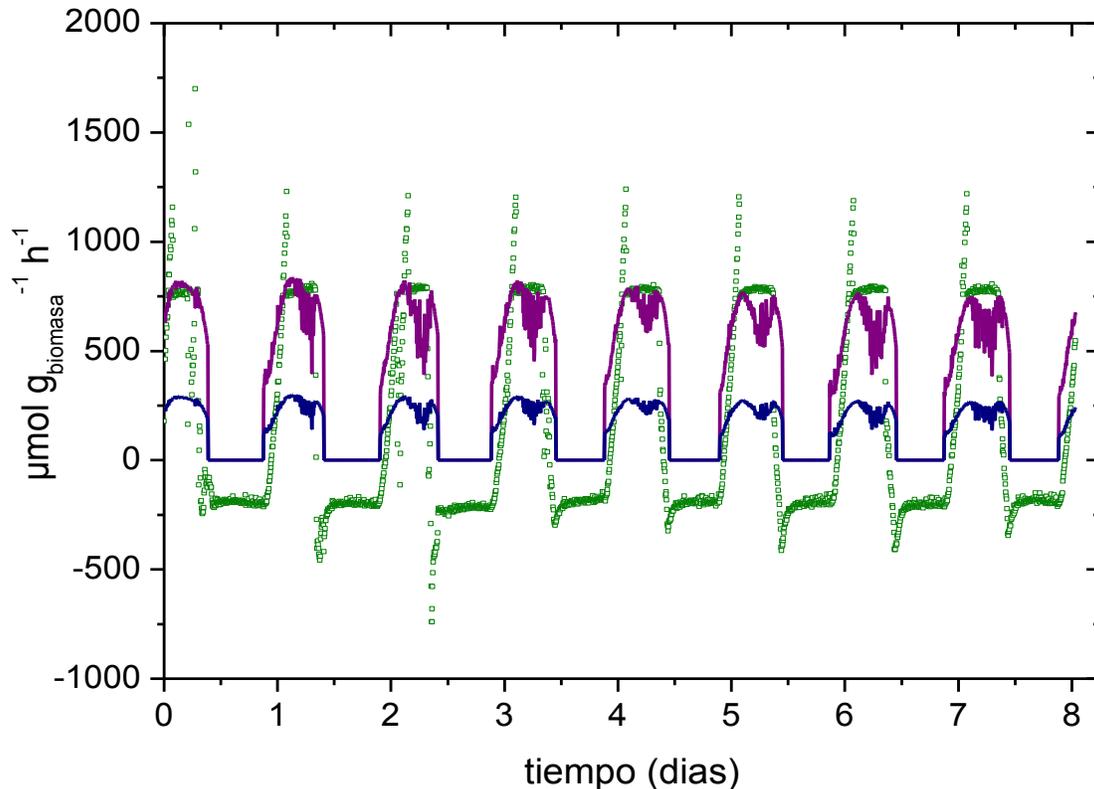


Figura 32 Perfiles de rO_{2exp} (\square) vs simulaciones a) rO_{2sim1} ($—$) y b) rO_{2sim2} ($—$) en HRAP-ABC

De acuerdo con los valores de rO_2 obtenidos por Franco-Morgado *et al.* (2017) se optó por utilizar un valor promedio de $24.36 \mu\text{mol g}_{\text{biomasa}}^{-1} \text{min}^{-1}$ como la rO_2^{max} específica que corresponde un valor de casi tres veces el valor obtenido experimentalmente. Al utilizar el valor anterior en el modelo general se simuló la rO_{2sim2} , donde ésta tiende a replicar el comportamiento conforme al rO_{2exp} durante los períodos de luz. Cabe mencionar que el modelo general propuesto no fue capaz de predecir el comportamiento de la rO_{2exp} en el sistema HRAP-ABC durante los períodos de oscuridad, puesto que el modelo no es válido para estimar condiciones de consumo de OD. Conforme a las simulaciones anteriores, el modelo propuesto puede ser utilizado como una herramienta para predecir el comportamiento de la rO_2 específica en el sistema HRAP-ABC; sin embargo, tiene la limitante que se necesita un ajuste previo del rO_2^{max} bajo condiciones de iluminación solar. Además, los valores de pH utilizados estuvieron por arriba del rango en el cual fue calibrado, lo que provocó una baja reproducibilidad con los datos experimentales.

8.7.1 Seguimiento y desempeño del HRAP-ABC

Los datos registrados y medidos en línea mediante el sistema SCADA permitieron comparar la influencia de la irradiancia, temperatura, pH y oxígeno disuelto durante la operación del HRAP-ABC expuesto a la intemperie para el tratamiento del biogás.

En la Figura 33^a se muestra el comportamiento de la irradiancia externa (I_{ext}), la cual incidió sobre el HRAP; ésta tuvo un valor promedio de $495.36 \pm 579.56 \mu E m^{-2} s^{-1}$ alcanzando valores por arriba de 1500 en el día y de 0 en las noches. Por otra parte, existe una reducción de tres veces el valor de I_{av} con respecto a la I_{ext} al tener un valor promedio de $160.13 \pm 187.35 \mu E m^{-2} s^{-1}$; ocasionado por la biomasa en el interior del HRAP que absorbe, refleja y ensombrece la luz. Por lo tanto la irradiancia promedio que reciben las microalgas en el HRAP es inferior a la irradiancia externa (proveniente en este caso del sol); en cultivos densos de microalgas puede alcanzar valores de 100 a $300 \mu E m^{-2} s^{-1}$ de acuerdo con Ación *et al.* (1998; 1999) bajo condiciones reales de iluminación.

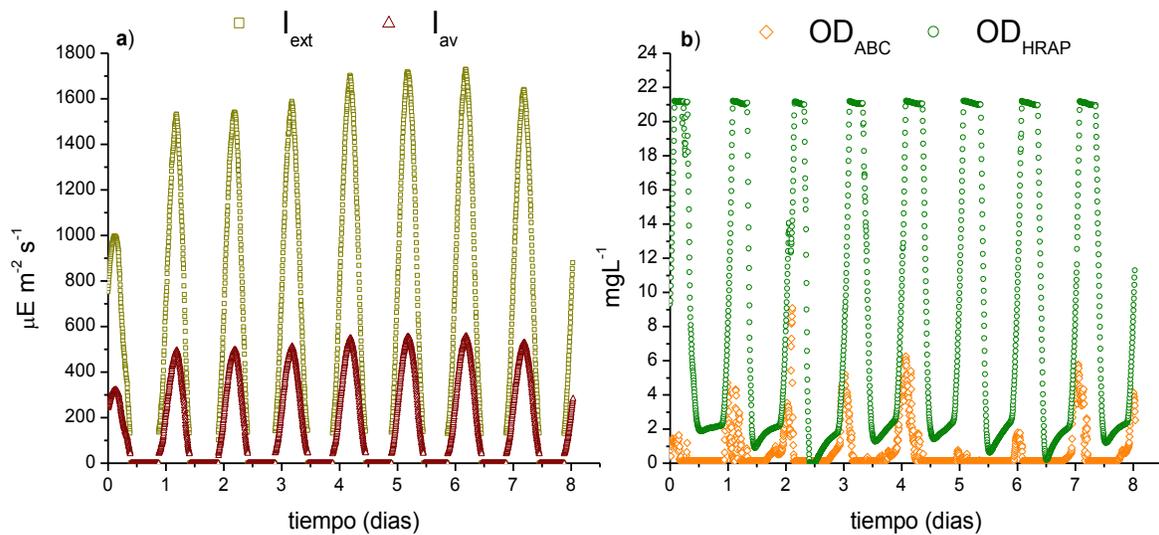


Figura 33 Perfiles de a) Irradiancia y b) Oxígeno disuelto (OD)

En cambio, en la Figura 33^b se muestra el comportamiento de la concentración del OD dentro del HRAP y la columna. En el HRAP se observó el aumento creciente del OD a la par de la irradiancia a medida que transcurre el día. El valor promedio de OD en el HRAP durante el día fue de $9.19 \pm 8.66 mg L^{-1}$, alcanzando valores de $21 mg L^{-1}$ que tienden a permanecer constantes durante cierto tiempo; lo anterior se debe a que el valor es el límite máximo de detección por la sonda de OD, por lo que no se descarta que hubieran concentraciones mayores durante el tiempo en que la lectura permaneció constante. Durante las noches el valor promedio de OD fue de $7.33 \pm 6.81 mg L^{-1}$ ocasionado por el consumo de éste por parte del consorcio microalgal principalmente. En el caso de la columna ABC, el OD tuvo un valor promedio de $0.75 \pm 1.29 mg L^{-1}$, similar al reportado por Tabaco-Angoa (2018). Aunque en algunos días existieron valores por arriba de $4 mg L^{-1}$, la reducción del OD fue notoria y se debió al uso de la columna empacada que permitió la desorción del OD en el efluente del HRAP para luego ser recirculado al interior de ABC.

En la Figura 34^a se muestra que el pH promedio del HRAP fue de 10.03 ± 0.18 en un intervalo de 9.6 a 10.4; mientras que en la columna fue de 10.14 ± 0.12 en un intervalo de 9.9 a 10.4. El comportamiento de pH está ligado con la actividad fotosintética del consorcio microalgal,

ya que como se observó en los ensayos en lote, ésta aumenta la concentración de OH^- en el medio durante los períodos de luz.

En cambio, durante períodos de oscuridad existe un consumo de oxígeno y producción de CO_2 en una relación molar de 1 (Geider y MacIntyre, 2007), que disminuye el pH del medio debido a la respiración endógena de la biomasa (Bahr *et al.*, 2014). Así mismo al transcurrir los días de operación del HRAP el pH máximo alcanzado es mayor a partir del quinto hasta el octavo que corresponde a las I_{av} más altas y por ende mayor actividad fotosintética de consorcio microalgas en esos días.

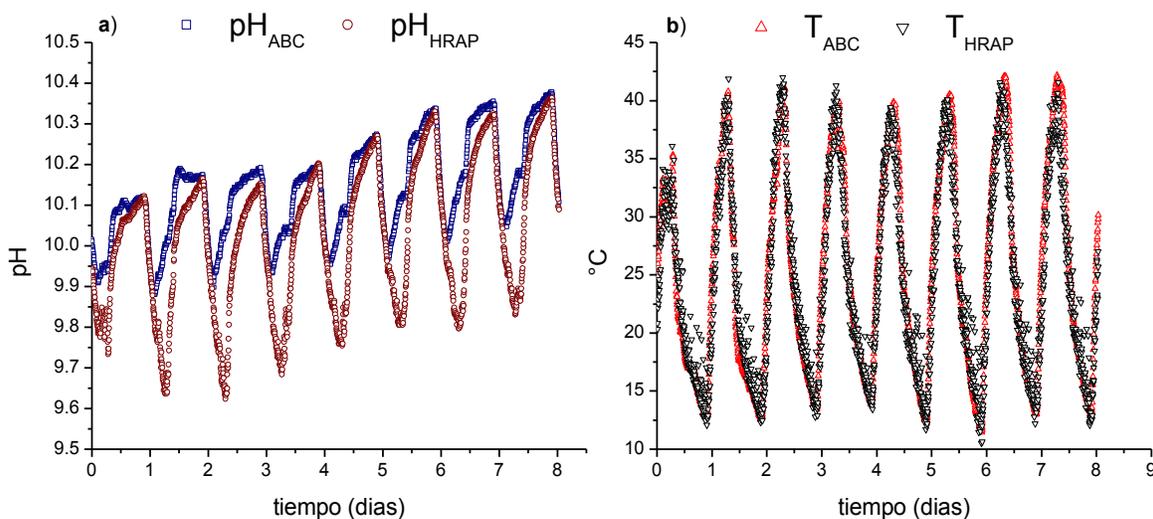


Figura 34 Perfiles de a) pH y b) Temperatura

En la Figura 34^b se muestra que la temperatura promedio del HRAP fue de 24.63 ± 8.43 °C en un intervalo de 10.5 a 42°C a pesar de que la temperatura ambiente durante la semana de seguimiento fue de 28.33 ± 1.41 . Esta fluctuación de temperatura es atribuida a que el HRAP se encuentra cubierto por plástico con el fin de evitar su contaminación, lo cual provoca el aumento de temperatura en su interior.

9. Conclusiones

Las mejores condiciones de operación basadas en las evaluaciones experimentales se obtuvieron a un pH de 8.5 y 9.2, a una temperatura de 30°C, una irradiancia externa de $120 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y una concentración de $3.2 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$.

El H_2S disuelto como sulfuro puede actuar como promotor o inhibidor sobre la actividad fotosintética dependiendo de su concentración. En general, la actividad fotosintética rO_{2spec} del sistema alcalino-microalgal expuesto a $120 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y a $3.2 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$ aumentó en promedio 21% con respecto al control de $0 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$; sin embargo, a $16 \text{ mgS}^{2-} \text{ L}^{-1}$ se redujo 17% sobre el mismo. Esta funcionalidad de la rO_{2spec} con respecto al sulfuro disuelto fue modelada con una cinética Andrews-Haldane.

La oxidación química de sulfuro con oxígeno disuelto OD fue favorecida en condiciones de pH de 8.5 y 9.2 y temperaturas de 30 y 40°C, donde la rO_{2spec} fue mayor, y por tanto fue la velocidad de acumulación de OD dentro del fotobiorreactor tubular TCP, lo que nos sugiere que la velocidad de oxidación de sulfuro depende del oxígeno. La oxidación química del sulfuro produjo tiosulfato, el cual fue menos tóxico sobre la rO_{2spec} .

El consumo de CO_2 disuelto por parte del consorcio microalgal es favorecido a pH de 8.5 sobre 9.2 debido a que la presencia de éste es mayor en el medio, facilitando su difusión al interior de las células.

El modelo cinético de rO_{2spec} propuesto fue calibrado satisfactoriamente con datos experimentales provenientes de un TCP bajo condiciones controladas. Éste fue validado en un sistema HRAP y columna de absorción para el tratamiento del biogás expuesto a la intemperie, donde se predijo la actividad del sistema alcalino microalgal rO_{2spec} basado en las mediciones continuas de las condiciones consideradas en el modelo cinético; sin embargo, su validez está restringida a los periodos diurnos de los días, ya que éste depende de la irradiancia proveniente del sol.

10. Recomendaciones

Cuando la concentración de H₂S en el biogás es elevada, la dosificación gradual de éste, en fotobiorreactores operados a condiciones alcalinas es necesaria; con el fin de evitar un deterioro de la actividad fotosintética que influya en una deficiente operación del fotobiorreactor.

Debido que durante el día existen ciclos de luz y oscuridad, es necesario evaluar el efecto de éstos sobre la actividad fotosintética a diferentes períodos de tiempo; utilizando los valores de pH y temperatura que se mencionan en el presente trabajo a una irradiancia externa de 120 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

En caso de continuar estudios experimentales a escala laboratorio utilizando un TCP a irradiancias mayores de 120 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$; es necesario que el fotobiorreactor cuente con la capacidad suficiente para almacenar O₂, con el fin de evitar la presión interna generada en su interior por la acumulación de éste. Además de utilizar LED's que emitan una irradiancia por encima a los valores estudiados.

11. Perspectivas

El modelo propuesto para determinar la actividad fotosintética del consorcio microalgal puede ser acoplado con un modelo que permita determinar el comportamiento que tiene el consorcio durante los períodos de oscuridad con el fin de tener un modelo integral que permita predecir la $rO_{2\text{exp}}$ durante la operación continua de un sistema HRAP-ABC utilizado en el tratamiento de biogás. Este modelo podría luego ser aplicado en una estrategia que permita el control de las variables que inciden en el proceso cuando la actividad fotosintética se vea afectada por ellas.

12. Bibliografía

Ación, F. G., Sa, J. A. y Grima, E. M. (1998) "Modeling of Biomass Productivity in Tubular Photobioreactors for Microalgal Cultures : Effects of Dilution Rate , Tube Diameter , and Solar Irradiance", *Biotechnology and Bioengineering*, 58(6), pp. 605–616.

Ación Fernández, F. G., García Camacho, F. y Chisti, Y. (1999) "Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup", *Progress in Industrial Microbiology*, 35(C), pp. 231–247. doi: 10.1016/S0079-6352(99)80118-0.

Ación Fernández, F. G., García Camacho, F., Sánchez Pérez, J. A., Fernández Sevilla, J. M. y Molina Grima, E. (1997) "A model for light distribution and average solar irradiance inside outdoor tubular photobioreactors for the microalgal mass culture", *Biotechnology and Bioengineering*, 55(5), pp. 701–714. doi: 10.1002/(SICI)1097-0290(19970905)55:5<701::AID-BIT1>3.0.CO;2-F.

Azov, Y. y Goldman, J. C. (1982) "Free ammonia inhibition of algal photosynthesis in intensive cultures", *Applied and Environmental Microbiology*, 43(4), pp. 735–739.

Bahr, M., Díaz, I., Dominguez, A., González Sánchez, A. y Muñoz, R. (2014) "Microalgal-Biotechnology As a Platform for an Integral Biogas Upgrading and Nutrient Removal from Anaerobic Effluents", *Environmental Science and Technology Technology*, 48(1), pp. 573–581. doi: 10.1021/es403596m.

Barsanti, L. y Gualtieri, P. (2014) *Algae: Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*. Second Edition. Boca Raton: CRC Press.

Béchet, Q., Shilton, A. y Guieysse, B. (2013) "Modeling the effects of light and temperature on algae growth: State of the art and critical assessment for productivity prediction during outdoor cultivation", *Biotechnology Advances*, pp. 1648–1663. doi: 10.1016/j.biotechadv.2013.08.014.

Belay, A. (2008) "Spirulina (Arthrospira): Production and Quality Assurance", en *Spirulina in Human Nutrition and Health*, pp. 2–23.

Borowitzka, M. A. (1995) "Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds", *Journal of Applied Phycology*, 7(1), pp. 3–15. doi: 10.1007/BF00003544.

Borowitzka, M. A. (1999) "Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters", en *Journal of Biotechnology*, pp. 313–321. doi: 10.1016/S0168-1656(99)00083-8.

Cabello, J., Toledo-Cervantes, A., Sánchez, L., Revah, S. y Morales, M. (2015) "Effect of the temperature, pH and irradiance on the photosynthetic activity by *Scenedesmus obtusiusculus* under nitrogen replete and deplete conditions", *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd, 181, pp. 128–135. doi: 10.1016/j.biortech.2015.01.034.

Chelf P., Brown M., Wyman, C. E. (1993) "Aquatic Biomass Resources and Carbon Trapping",

Biomass and Bioenergy, 4(3), pp. 175–183.

Chen, W., Tong, H. y Liu, H. (2012) "Effects of nitrate on nitrite toxicity to *Microcystis aeruginosa*", *Marine Pollution Bulletin*. Elsevier Ltd, 64(6), pp. 1106–1111. doi: 10.1016/j.marpolbul.2012.04.006.

Chisti, Y. (2007) "Biodiesel from microalgae", *Biotechnology Advances*, 25(3), pp. 294–306. doi: 10.1016/j.biotechadv.2007.02.001.

Le Cloirec, P., Andrès, Y., Claire, G. y Pré, P. (2005) "Biological treatment of waste gases containing Volatile Organic Compounds", en *Biotechnology for Odor and Air Pollution Control*, pp. 281–300. doi: 10.1007/3-540-27007-8_3.

de los Cobos-Vasconcelos, D., García-Cruz, E. L., Franco-Morgado, M. y González-Sánchez, A. (2016) "Short-term evaluation of the photosynthetic activity of an alkaliphilic microalgae consortium in a novel tubular closed photobioreactor", *Journal of Applied Phycology*, 28(2), pp. 795–802. doi: 10.1007/s10811-015-0612-7.

Costache, T. A., Gabriel Acien Fernandez, F., Morales, M. M., Fernández-Sevilla, J. M., Stamatin, I. y Molina, E. (2013) "Comprehensive model of microalgae photosynthesis rate as a function of culture conditions in photobioreactors", *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(17), pp. 7627–7637. doi: 10.1007/s00253-013-5035-2.

Curtis, H. y Barnes, S. N. (2001) *Biología*. Sexta. Editado por A. Schnek y G. Flores. Madrid, España: Editorial Medica Panamericana.

de-Bashan, L. E. y Bashan, Y. (2010) "Immobilized microalgae for removing pollutants: Review of practical aspects", *Bioresource Technology*. doi: 10.1016/j.biortech.2009.09.043.

Dickson, A. G. y Millero, F. J. (1987) "A comparison of the equilibrium constants for the dissociation of carbonic acid in seawater media", *Deep-Sea Research*, 34(111), pp. 1733–1743.

Dyhrman, S. T. y Ruttenberg, K. C. (2006) "Presence and regulation of alkaline phosphatase activity in eukaryotic phytoplankton from the coastal ocean: Implications for dissolved organic phosphorus remineralization", *Limnology and Oceanography*, 51(3), pp. 1381–1390. doi: 10.4319/lo.2006.51.3.1381.

Escalante-Vázquez, E. J. (2014) *Diseño y Análisis de Experimentos*. 1a ed. Distrito Federal, México: Limusa.

Fernández, I., Acien, F. G., Fernández, J. M., Guzmán, J. L., Magán, J. J. y Berenguel, M. (2012) "Dynamic model of microalgal production in tubular photobioreactors", en *Bioresource Technology*, pp. 172–181. doi: 10.1016/j.biortech.2012.08.087.

Franco-Morgado, M. (2018) *Tratamiento integral del biogás y nutrientes residuales de la digestión anaerobia en un fotobiorreactor alcalino*. Universidad Nacional Autónoma de México.

Franco-Morgado, M., Alcántara, C., Noyola, A., Muñoz, R. y González-Sánchez, A. (2017) "A

study of photosynthetic biogas upgrading based on a high rate algal pond under alkaline conditions: Influence of the illumination regime”, *Science of The Total Environment*. Elsevier B.V., 592, pp. 419–425. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.03.077.

Gallardo-Rodríguez, J. J., García-Camacho, F., Sánchez-Mirón, A., López-Rosales, L., Chisti, Y. y Molina-Grima, E. (2012) “Shear-induced changes in membrane fluidity during culture of a fragile dinoflagellate microalga”, *Biotechnology Progress*, 28(2), pp. 467–473. doi: 10.1002/btpr.737.

García, J., Mujeriego, R. y Hernández-Marín, M. (2000) “High rate algal pond operating strategies for urban wastewater nitrogen removal”, *Applied Phycology*, 12(3–5), pp. 331–339. doi: 10.1023/a:1008146421368.

Geider, R. J. y MacIntyre, H. L. (2007) “Physiology and Biochemistry of Photosynthesis and Algal Carbon acquisition”, en Williams, P. J., Thomas, D. N., y Reynolds, C. . (eds.) *Phytoplankton Productivity*. Oxford: Blackwell Science Ltd., pp. 44–77.

Geider, R. y La Roche, J. (2002) “Redfield revisited: variability of C:N:P in marine microalgae and its biochemical basis”, *European Journal of Phycology*. Taylor & Francis, 37(1), pp. 1–17. doi: 10.1017/S0967026201003456.

Giordano, M., Beardall, J. y Raven, J. A. (2005) “CO₂ CONCENTRATING MECHANISMS IN ALGAE: Mechanisms, Environmental Modulation, and Evolution”, *Annual Review of Plant Biology*, 56(1), pp. 99–131. doi: 10.1146/annurev.arplant.56.032604.144052.

Gòdia Casablanca, F. y López Santín, J. (1998) *Ingeniería Bioquímica*. Madrid, España: Síntesis.

González-Camejo, J., Serna-García, R., Viruela, A., Pachés, M., Durán, F., Robles, A., Ruano, M. V., Barat, R. y Seco, A. (2017) “Short and long-term experiments on the effect of sulphide on microalgae cultivation in tertiary sewage treatment”, *Bioresource Technology*. Elsevier, 244(July), pp. 15–22. doi: 10.1016/j.biortech.2017.07.126.

González-Sánchez, A. y Posten, C. (2017) “Fate of H₂S during the cultivation of *Chlorella* sp. deployed for biogas upgrading”, *Journal of Environmental Management*, 191, pp. 252–257. doi: 10.1016/j.jenvman.2017.01.023.

González-Sánchez, A. y Revah, S. (2007) “The effect of chemical oxidation on the biological sulfide oxidation by an alkaliphilic sulfoxidizing bacterial consortium”, *Enzyme and Microbial Technology*, 40(2), pp. 292–298. doi: 10.1016/j.enzmictec.2006.04.017.

Granada-Moreno, C. I., Aburto-Medina, A., de los Cobos Vasconcelos, D. y González-Sánchez, A. (2017) “Microalgae community shifts during the biogas upgrading in an alkaline open photobioreactor”, *Journal of Applied Microbiology*, 123(4), pp. 903–915. doi: 10.1111/jam.13552.

Grobbelaar, J. U. (2004) “Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology”, en Oxford: Blackwell Publishing Ltd., pp. 97–115.

- Gun, J., Goifman, A., Shkrob, I., Kamyshny, A., Ginzburg, B., Hadas, O., Dor, I., Modestov, A. D. y Lev, O. (2000) "Formation of polysulfides in an oxygen rich freshwater lake and their role in the production of volatile sulfur compounds in aquatic systems", *Environmental Science and Technology*, 34(22), pp. 4741–4746. doi: 10.1021/es991389x.
- Van Den Hende, S., Vervaeren, H. y Boon, N. (2012) "Flue gas compounds and microalgae: (Bio-)chemical interactions leading to biotechnological opportunities", *Biotechnology Advances*, 30(6), pp. 1405–1424. doi: 10.1016/j.biotechadv.2012.02.015.
- Hernández-García, A. (2017) *Efecto de las condiciones de cultivo en la composición bioquímica y producción de biomasa de un consorcio de microalgas cultivadas en agua residual y lixiviado*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hoffmann, J. (1988) "Wastewater treatment with suspended and nonsuspended algae", *Journal of Applied Phycology*, 34, pp. 757–763.
- Hopkins, W. . y Hüner, N. P. (2009) *Introduction to Plant Physiology*. New York: J. Wiley.
- Ishika, T., Bahri, P. A., Laird, D. W. y Moheimani, N. R. (2018) "The effect of gradual increase in salinity on the biomass productivity and biochemical composition of several marine, halotolerant, and halophilic microalgae", *Journal of Applied Phycology*. *Journal of Applied Phycology*, 30(3), pp. 1453–1464. doi: 10.1007/s10811-017-1377-y.
- Iwamoto, H. (2004) "Industrial Production of Microalgal Cell-Mass and Secondary Products-Major Industrial Species: Chlorella", en Richmond, A. (ed.) *Handbook of Microalgal Culture*. Blackwell Publishing Ltd, pp. 255–263.
- Jeanfils, J., Canisius, M. F. y Burlion, N. (1993) "Effect of high nitrate concentrations on growth and nitrate uptake by free-living and immobilized Chlorella vulgaris cells", *Journal of Applied Phycology*, 5(3), pp. 369–374. doi: 10.1007/BF02186240.
- Jin, H.-F., Santiago, D. E. O., Park, J. y Lee, K. (2008) "Enhancement of nitric oxide solubility using Fe(II)EDTA and its removal by green algae Scenedesmus sp.", *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 13(1), pp. 48–52. doi: 10.1007/s12257-007-0164-z.
- Kao, C. Y., Chiu, S. Y., Huang, T. T., Dai, L., Wang, G. H., Tseng, C. P., Chen, C. H. y Lin, C. S. (2012) "A mutant strain of microalga Chlorella sp. for the carbon dioxide capture from biogas", *Biomass and Bioenergy*. Elsevier Ltd, 36, pp. 132–140. doi: 10.1016/j.biombioe.2011.10.046.
- Klatt, J. M., Haas, S., Yilmaz, P., Beer, D. De y Polerecky, L. (2015) "Hydrogen sulfide can inhibit and enhance oxygenic photosynthesis in a cyanobacterium from sulfidic springs", *Environmental Microbiology*, 17, pp. 3301–3313. doi: 10.1111/1462-2920.12791.
- Kommareddy, Anil; Anderson, G. (2003) "Study of Light as a parameter in the growth of algae in a Photo-Bio Reactor (PBR)", *Asae*, 300(3), p. 10.
- Krauss, F. y Schmidt, a. (1987) "Sulphur Sources for Growth of Chlorella Fusca and Their Influence on Key Enzymes of Sulphur Metabolism", *Microbiology*, 133(1 987), pp. 1209–

1219. doi: 10.1099/00221287-133-5-1209.

Küster, E., Dorusch, F. y Altenburger, R. (2005) "Effects of hydrogen sulfide to *Vibrio fischeri*, *scenedesmus vacuolatus*, and *Daphnia magna*", *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24(10), pp. 2621–2629. doi: 10.1897/04-546R.1.

Madigan, T. M., John, M. M. y Parker, J. (2004) *Brock. Biología de los Microorganismos*. Editado por I. Capella. Madrid, España: Pearson Educación, S.A.

Markou, G., Vandamme, D. y Muylaert, K. (2014) "Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients", *Water Research*. Elsevier Ltd, pp. 186–202. doi: 10.1016/j.watres.2014.07.025.

Masters, G. M. y Wendell, P. E. (2008) *Introducción a la Ingeniería Medioambiental*. Tercera ed. Madrid, España: Pearson Educación, S.A.

Mera, R., Torres, E. y Abalde, J. (2016) "Effects of sodium sulfate on the freshwater microalga *Chlamydomonas moewusii*: Implications for the optimization of algal culture media", *Journal of Phycology*, 52(1), pp. 75–88. doi: 10.1111/jpy.12367.

Miller, S. R. y Bebout, B. M. (2004) "Variation in Sulfide Tolerance of Photosystem II in Phylogenetically Diverse Cyanobacteria from Sulfidic Habitats", *Applied and Environmental Microbiology*. American Society for Microbiology, 70(2), pp. 736–744. doi: 10.1128/AEM.70.2.736-744.2004.

Millero, F. J. (1979) "The thermodynamics of the carbonate system in seawater", *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 43, pp. 1651–1661. doi: 10.1016/0016-7037(79)90184-4.

Minitab (2018) *Diseño de Taguchi*. Disponible en: <https://support.minitab.com/es-mx/minitab/18/help-and-how-to/modeling-statistics/doe/supporting-topics/taguchi-designs/taguchi-designs/>.

Molina, L., Jonte, L., Mora, R., Ortega, J. y Morales, E. (2007) "Influencia de la salinidad sobre el crecimiento de la microalga *Rhodospirillum rubrum* (Rhodophyta) en cultivos discontinuos", *Revista de la Facultad de Agronomía- Luz*, 24(1), pp. 249–253.

Molina Grima, E., Fernández Sevilla, J. M., Sánchez Pérez, J. A. y García Camacho, F. (1996) "A study on simultaneous photolimitation and photoinhibition in dense microalgal cultures taking into account incident and averaged irradiances", *Journal of Biotechnology*, 45(1), pp. 59–69. doi: 10.1016/0168-1656(95)00144-1.

Morales, M., Cabello, J. y Revah, S. (2015) "Algal Biorefineries", en *Algal Biorefineries: Volume 2: Products and Refinery Design*. Springer, pp. 3–21. doi: 10.1007/978-3-319-20200-6_1.

Münkel, R., Schmid-Staiger, U., Werner, A. y Hirth, T. (2013) "Optimization of outdoor cultivation in flat panel airlift reactors for lipid production by *Chlorella vulgaris*", *Biotechnology and Bioengineering*, 110(11), pp. 2882–2893. doi: 10.1002/bit.24948.

Naito, K., Matsui, M. y Imai, I. (2005) "Ability of marine eukaryotic red tide microalgae to utilize insoluble iron", *Harmful Algae*, 4(6), pp. 1021–1032. doi: 10.1016/j.hal.2005.02.003.

Ohki, K., Yamada, K., Kamiya, M. y Yoshikawa, S. (2012) "Morphological, Phylogenetic and Physiological Studies of Pico-Cyanobacteria Isolated from the Halocline of a Saline Meromictic Lake, Lake Suigetsu, Japan", *Microbes and Environments*, 27(2), pp. 171–178. doi: 10.1264/jsme2.ME11329.

Oliveira, G. A., Carissimi, E., Monje-Ramírez, I., Velasquez-Orta, S. B., Rodrigues, R. T. y Ledesma, M. T. O. (2018) "Comparison between coagulation-flocculation and ozone-flotation for *Scenedesmus* microalgal biomolecule recovery and nutrient removal from wastewater in a high-rate algal pond", *Bioresource Technology*. Elsevier, 259(March), pp. 334–342. doi: 10.1016/j.biortech.2018.03.072.

Oliver, R. L. y Ganf, G. G. (2000) "The Ecology of Cyanobacteria", en Whitton, B. A. y Potts, M. (eds.) *The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space*. New York, pp. 149–194.

Oren, A., Padam, E. y Malkin, S. (1979) "Sulfide inhibition of photosystem II in cyanobacteria (blue-green algae) and tobacco chloroplasts", *Biochimica et Biophysica Acta*, 546(2), pp. 270–279.

Perez-Garcia, O., Escalante, F. M. E., de-Bashan, L. E. y Bashan, Y. (2011) "Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products", *Water Research*. Elsevier Ltd, 45(1), pp. 11–36. doi: 10.1016/j.watres.2010.08.037.

Plieth, C., Sattelmacher, B. y Hansen, U.-P. (1997) "Cytoplasmic Ca²⁺-H⁺-exchange buffers in green algae", *Protoplasma*, 198(1), pp. 107–124. doi: 10.1007/BF01282136.

Pulz, O. (2001) "Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms", *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57(3), pp. 287–293. doi: 10.1007/s002530100702.

Pulz, O. y Scheibenbogen, K. (1998) "Photobioreactors : Design and Performance with Respect to Light Energy Input", *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 59, pp. 123–152. doi: 10.1007/BFb0102298.

Richmond, A. E. y Soeder, C. J. (1986) "Microalgaculture", *Critical Reviews in Biotechnology*. Taylor & Francis, 4(4), pp. 369–438. doi: 10.3109/07388558609150801.

Rocha, G. S., Parrish, C. C., Lombardi, A. T. y da Graça Gama Melão, M. (2018) "Biochemical and physiological responses of *Selenastrum gracile* (Chlorophyceae) acclimated to different phosphorus concentrations", *Journal of Applied Phycology*. Journal of Applied Phycology, 30(4), pp. 2167–2177. doi: 10.1007/s10811-018-1418-1.

Sánchez Mirón, A., Cerón García, M. C., Contreras Gómez, A., García Camacho, F., Molina Grima, E. y Chisti, Y. (2003) "Shear stress tolerance and biochemical characterization of *Phaeodactylum tricornutum* in quasi steady-state continuous culture in outdoor photobioreactors", *Biochemical Engineering Journal*, 16(3), pp. 287–297. doi: 10.1016/S1369-703X(03)00072-X.

Sandmann, G. (1985) "Consequences of iron deficiency on photosynthetic and respiratory electron transport in blue-green algae", *Photosynthesis Research*, 6(3), pp. 261–271. doi: 10.1007/BF00049282.

Shimamatsu, H. (2004) "Mass production of Spirulina, an edible microalga BT - Asian Pacific Phycology in the 21st Century: Prospects and Challenges: Proceeding of The Second Asian Pacific Phycological Forum, held in Hong Kong, China, 21–25 June 1999", en Ang, P. O. (ed.). Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 39–44. doi: 10.1007/978-94-007-0944-7_6.

Solangi, K. H., Islam, M. R., Saidur, R., Rahim, N. A. y Fayaz, H. (2011) "A review on global solar energy policy", *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Elsevier Ltd, 15(4), pp. 2149–2163. doi: 10.1016/j.rser.2011.01.007.

Sorokin, D. Y., Lysenko, A. M., Mityushina, L. L., Tourova, T. P., Jones, B. E., Rainey, F. A., Robertson, L. A. y Kuenen, G. J. (2001) "Thioalkalimicrobium aerophilum gen. nov., sp. nov. and Thioalkalimicrobium sibericum sp. nov., and Thioalkalivibrio versutus gen. nov., sp. nov., Thioalkalivibrio nitratis sp. nov., novel and Thioalkalivibrio denitrificans sp. nov., novel obligately alkal", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(2), pp. 565–580.

Spaargaren, D. H. (1996) "The design of culture media based on the elemental composition of biological material", *Journal of Biotechnology*, 45(2), pp. 97–102. doi: 10.1016/0168-1656(95)00152-2.

Spedding, D. J., Ziegler, I., Hampp, R. y Ziegler, H. (1980) "Effect of pH on the Uptake of ³⁵S-sulfur from Sulfate, Sulfite, and Sulfide by *Chlorella vulgaris*", *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 97(3), pp. 205–214. doi: 10.1016/S0044-328X(80)80072-9.

Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. y Isambert, A. (2006) "Commercial applications of microalgae", *Journal of Bioscience and Bioengineering*. doi: 10.1263/jbb.101.87.

Stephens, E., Ross, I. L., Mussgnug, J. H., Wagner, L. D., Borowitzka, M. A., Posten, C., Kruse, O. y Hankamer, B. (2010) "Future prospects of microalgal biofuel production systems", *Trends in Plant Science*. Elsevier Ltd, 15(10), pp. 554–564. doi: 10.1016/j.tplants.2010.06.003.

Tabaco-Angoa, T. (2018) *Sistema fotobiotecnológico a la intemperie para la obtención de biometano con bajo contenido de O₂*. Universidad Nacional Autónoma de México.

Theissen, U., Hoffmeister, M., Grieshaber, M. y Martin, W. (2003) "Single eubacterial origin of eukaryotic sulfide:quinone oxidoreductase, a mitochondrial enzyme conserved from the early evolution of eukaryotes during anoxic and sulfidic times", *Molecular Biology and Evolution*, 20(9), pp. 1564–1574. doi: 10.1093/molbev/msg174.

Tokuşoglu, Ö. y üUnal, M. K. (2003) "Biomass Nutrient Profiles of Three Microalgae: *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris*, and *Isochrysis galbana*", *Journal of Food Science*. Blackwell Publishing Ltd, 68(4), pp. 1144–1148. doi: 10.1111/j.1365-2621.2003.tb09615.x.

Tsuzuki, M. y Miyachi, S. (1989) "The function of carbonic anhydrase in aquatic

photosynthesis”, *Aquatic Botany*, 34(1–3), pp. 85–104. doi: 10.1016/0304-3770(89)90051-X.

Ugwu, C. U., Aoyagi, H. y Uchiyama, H. (2008) “Photobioreactors for mass cultivation of algae”, *Bioresource Technology*, 99(10), pp. 4021–4028. doi: 10.1016/j.biortech.2007.01.046.

Valeriano-González, M. T., Monje-Ramírez, I., Orta Ledesma, M. T., Gracia Fadrique, J. y Velásquez-Orta, S. B. (2016) “Harvesting microalgae using ozoflotation releases surfactant proteins, facilitates biomass recovery and lipid extraction”, *Biomass and Bioenergy*, 95, pp. 109–115. doi: 10.1016/j.biombioe.2016.09.020.

Velasquez-Orta, S. B., Garcia-Estrada, R., Monje-Ramirez, I., Harvey, A. y Orta Ledesma, M. T. (2014) “Microalgae harvesting using ozoflotation: Effect on lipid and FAME recoveries”, *Biomass and Bioenergy*. Elsevier Ltd, 70, pp. 356–363. doi: 10.1016/j.biombioe.2014.08.022.

Wan-Loy, C. (2012) “Biotechnological applications of microalgae”, *International e-Journal of Science, Medicine and Education*, 6(126), pp. 24–37. doi: 10.1201/b14920.

Wang, C. y Lan, C. Q. (2018) “Effects of shear stress on microalgae – A review”, *Biotechnology Advances*, 36(4), pp. 986–1002. doi: 10.1016/j.biotechadv.2018.03.001.

Wong, C. Y., Chu, W. L., Marchant, H. y Phang, S. M. (2007) “Comparing the response of Antarctic, tropical and temperate microalgae to ultraviolet radiation (UVR) stress”, *Journal of Applied Phycology*, 19(6), pp. 689–699. doi: 10.1007/s10811-007-9214-3.

Xu, H., Miao, X. y Wu, Q. (2006) “High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters”, *Journal of Biotechnology*. doi: 10.1016/j.jbiotec.2006.05.002.

Yeesang, C. y Cheirsilp, B. (2011) “Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand”, *Bioresource Technology*, 102(3), pp. 3034–3040. doi: 10.1016/j.biortech.2010.10.013.

13. Apéndices

13.1 Apéndice I. Curvas de calibración para determinaciones analíticas

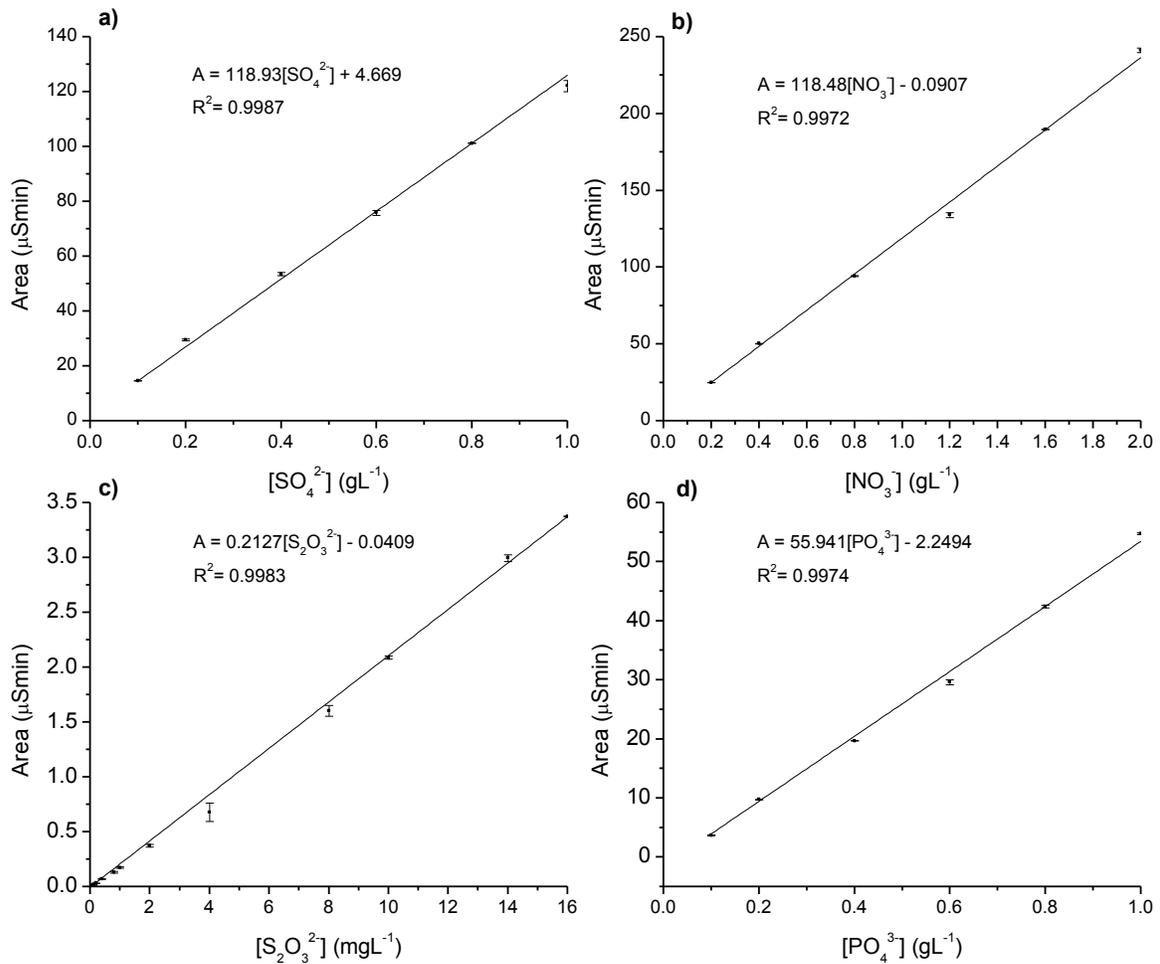


Figura 35 Curvas para la determinación de a) sulfato, b) nitrato, c) tiosulfato y d) fosfato

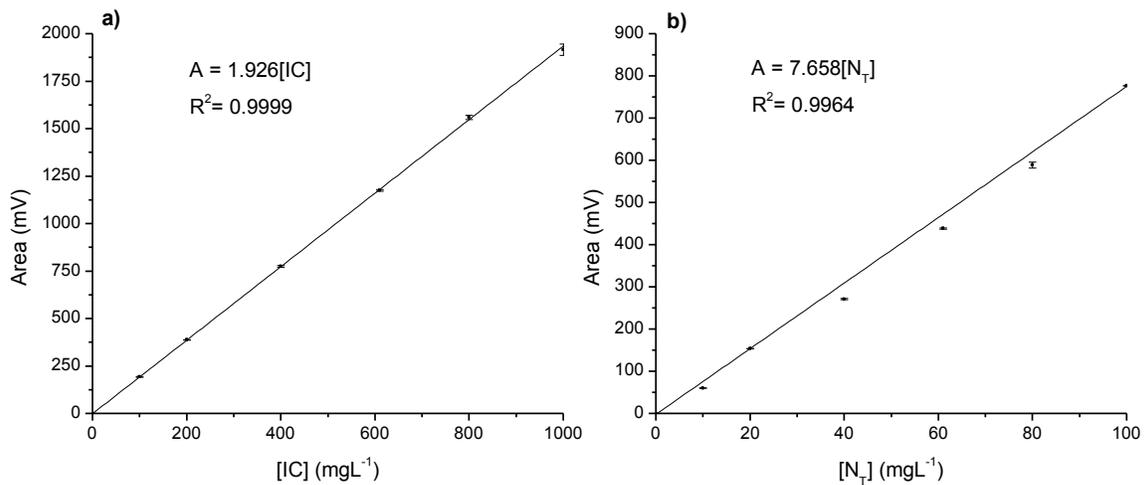


Figura 36 Curvas para la determinación de a) carbono inorgánico (IC) y b) nitrógeno total (N_T)

13.2 Apéndice II. Valores experimentales de rO_{spec}

13.2.1 Valores de rO_{2spec} bajo condiciones controladas

Prueba	Irradiancia	Temperatura	pH	$[S^{2-}]_o$	rO_{2spec1}	rO_{2spec2}	rO_{2prom}	Desviación estándar
A	15	25	7.3	0	0.71	1.03	0.87	0.23
B	15	30	8.5	3.2	2.80	3.92	3.36	0.79
C	15	40	9.2	16	0.00	0.00	0.00	0.00
D	50	25	8.5	16	2.49	3.38	2.94	0.63
E	50	30	9.2	0	2.59	3.25	2.92	0.46
F	50	40	7.3	3.2	1.04	4.87	2.96	2.71
G	120	25	9.2	3.2	8.98	5.24	7.11	2.64
H	120	30	7.3	16	0.00	0.00	0.00	0.00
I	120	40	8.5	0	3.92	4.69	4.30	0.54

13.2.2 Valores de rO_{2spec} bajo condiciones recurrentes a la intemperie y $120 \mu E m^{-2} s^{-1}$

Prueba	Temperatura	pH	Sulfuro	rO_{2spec1}	rO_{2spec2}	rO_{2prom}	Desviación estándar
J ₁	30	9.2	0	5.32	6.52	5.92	0.85
J ₂	30	9.2	3.2	10.79	6.76	8.78	2.85
J ₃	30	9.2	16	5.48	3.95	4.72	1.08
K ₁	30	8.5	0	9.25	5.15	7.20	2.90
K ₂	30	8.5	3.2	10.85	6.58	8.72	3.02
K ₃	30	8.5	16	8.54	4.04	6.29	3.18
L ₁	40	9.2	0	7.04	4.83	5.94	1.56
L ₂	40	9.2	3.2	7.23	4.83	6.03	1.70
L ₃	40	9.2	16	7.17	5.24	6.21	1.37
M ₁	40	8.5	0	6.27	3.95	5.11	1.64
M ₂	40	8.5	3.2	7.02	4.72	5.87	1.63
M ₃	40	8.5	16	6.61	5.52	6.07	0.77

13.3 Apéndice III. Valores interpolados a $120 \mu E m^{-2} s^{-1}$

Los valores en *cursiva* fueron interpolados mediante la regresión kriging y no presentan desviación estándar.

pH	9.2	9.12	9.04	8.96	8.88	8.81	8.73	8.65	8.57	8.5
T (°C)	<i>rO_{2spec}</i> ($\mu\text{molO}_2 \text{ g}_{\text{biomasa}}^{-1} \text{ min}^{-1}$) @ $0 \text{ mgS}^2 \text{ L}^{-1}$									
30	5.92	6.05	6.17	6.30	6.43	6.56	6.71	6.86	7.02	7.20
31.1	5.94	6.02	6.12	6.24	6.35	6.48	6.60	6.74	6.87	6.95
32.2	5.95	6.01	6.08	6.17	6.27	6.37	6.47	6.57	6.66	6.72
33.3	5.95	5.99	6.04	6.11	6.18	6.25	6.32	6.39	6.45	6.48
34.4	5.95	5.97	6.00	6.04	6.08	6.12	6.16	6.20	6.23	6.25
35.5	5.94	5.95	5.96	5.97	5.98	5.99	6.00	6.00	6.01	6.02
36.6	5.93	5.92	5.91	5.90	5.88	5.86	5.84	5.81	5.80	5.80
37.7	5.92	5.90	5.87	5.83	5.79	5.74	5.68	5.63	5.59	5.57
38.8	5.92	5.89	5.83	5.77	5.70	5.63	5.55	5.47	5.38	5.34
40	5.94	5.86	5.78	5.71	5.63	5.54	5.45	5.35	5.23	5.11

pH	9.2	9.12	9.04	8.96	8.88	8.81	8.73	8.65	8.57	8.5
T (°C)	<i>rO_{2spec}</i> ($\mu\text{molO}_2 \text{ g}_{\text{biomasa}}^{-1} \text{ min}^{-1}$) @ $3.2 \text{ mgS}^2 \text{ L}^{-1}$									
30	8.78	8.70	8.64	8.60	8.58	8.57	8.58	8.61	8.65	8.72
31.1	8.48	8.46	8.42	8.38	8.36	8.35	8.36	8.38	8.41	8.41
32.2	8.17	8.17	8.15	8.12	8.10	8.09	8.09	8.10	8.11	8.10
33.3	7.87	7.86	7.85	7.83	7.81	7.80	7.80	7.80	7.80	7.78
34.4	7.55	7.55	7.54	7.52	7.51	7.50	7.49	7.48	7.47	7.46
35.5	7.24	7.23	7.22	7.21	7.12	7.19	7.17	7.16	7.15	7.14
36.6	6.93	6.92	6.91	6.91	6.90	6.88	6.86	6.84	6.82	6.82
37.7	6.63	6.61	6.61	6.62	6.61	6.52	6.57	6.53	6.50	6.50
38.8	6.35	6.32	6.34	6.35	6.35	6.33	6.30	6.25	6.20	6.18
40	6.03	6.08	6.12	6.14	6.13	6.12	6.08	6.03	5.96	5.87

pH	9.2	9.12	9.04	8.96	8.88	8.81	8.73	8.65	8.57	8.5
T (°C)	<i>rO_{2spec}</i> ($\mu\text{molO}_2 \text{ g}_{\text{biomasa}}^{-1} \text{ min}^{-1}$) @ $16 \text{ mgS}^2 \text{ L}^{-1}$									
30	4.72	4.91	5.10	5.28	5.46	5.63	5.80	5.96	6.13	6.29
31.1	4.90	5.02	5.18	5.35	5.51	5.67	5.83	5.99	6.13	6.24
32.2	5.08	5.17	5.30	5.44	5.58	5.72	5.86	5.99	6.11	6.20
33.3	5.26	5.33	5.43	5.54	5.66	5.78	5.89	6.00	6.09	6.17
34.4	5.42	5.49	5.56	5.65	5.74	5.83	5.92	6.01	6.08	6.14
35.5	5.59	5.64	5.69	5.76	5.82	5.89	5.95	6.02	6.08	6.13
36.6	5.74	5.79	5.82	5.86	5.90	5.95	5.99	6.03	6.07	6.11
37.7	5.90	5.93	5.95	5.96	5.98	6.00	6.02	6.05	6.07	6.10
38.8	6.05	6.06	6.05	6.05	6.05	6.05	6.06	6.06	6.07	6.08
40	6.21	6.17	6.14	6.11	6.10	6.09	6.09	6.08	6.08	6.07

13.4 Apéndice IV. Metodología para la determinación de rO_{2exp}

La cantidad de oxígeno presente en el sistema HRAP-ABC se obtuvo mediante un balance de materia que se expresa a partir de la ecuación 27.

$$\frac{dOD}{dt} = \frac{F}{V_T} (OD_{in} - OD) + \frac{V_c}{V_T} k_L a_c \left(\frac{O_{2g}}{H_{O_2}} - OD \right) - \frac{V_H}{V_T} k_L a_H \left(\frac{O_{2aire}}{H_{O_2}} - OD \right) + \frac{V_H}{V_T} rO_2 - \frac{V_H}{V_T} RO_{2-s} \quad (27)$$

Donde:

F es el flujo de alimentación del medio mineral (0.054 L h^{-1}).

V_c es el volumen de ABC, V_H es el volumen de HRAP y V_T es el volumen total (L).

OD_{in} es el oxígeno disuelto en el medio mineral ($156.25 \mu\text{mol L}^{-1}$).

OD es el oxígeno disuelto en el HRAP ($\mu\text{mol L}^{-1}$).

O_{2g} es el promedio logarítmico de la concentración de oxígeno en ABC ($\mu\text{mol L}^{-1}$).

O_{2aire} es la concentración de oxígeno en el aire ($\mu\text{mol L}^{-1}$).

$k_L a_c$ es el coeficiente volumétrico global de transferencia de masa en ABC (141 d^{-1}).

$k_L a_H$ es el coeficiente volumétrico global de transferencia de masa en HRAP (20 d^{-1}).

H_{O_2} es el coeficiente de Henry corregido por temperatura (adimensional).

rO_2 es la velocidad volumétrica específica de oxígeno microalgal ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{ d}^{-1}$).

RO_{2-s} es la velocidad volumétrica de consumo de oxígeno respecto al azufre ($\mu\text{mol L}^{-1} \text{ d}^{-1}$).

Al despejar rO_2 y dividirla entre la concentración de $0.61 \text{ g}_{\text{biomasa}} \text{ L}^{-1}$ se obtuvo la ecuación 28.

$$rO_{2exp} = \frac{\frac{V_T}{V_H} \frac{dOD}{dt} - \frac{F}{V_H} (OD_{in} - OD) - \frac{V_c}{V_H} k_L a_c \left(\frac{O_{2g}}{H_{O_2}} - OD \right) - k_L a_H \left(\frac{O_{2aire}}{H_{O_2}} - OD \right) + RO_{2-s}}{[\text{biomasa}]} \quad (28)$$

Para determinar O_{2g} se utilizó la ecuación 29, mientras que para la constante de Henry fueron las ecuaciones 30 y 31.

$$O_{2g} = O_{2LMCD} = \frac{O_{2out} - O_2}{\ln \frac{O_{2out}}{O_2}} \quad (29)$$

Donde O_{2LMCD} es la diferencia de concentración media logarítmica presente en la columna de absorción ($\mu\text{mol L}^{-1}$); mientras que O_2 y O_{2out} es la concentración de entra y salida a la columna absorción respectivamente ($\mu\text{mol L}^{-1}$).

$$H_{O_2} = \frac{kH_{O_2}}{R \cdot T} \quad (30)$$

$$kH_{O_2} = \frac{1}{0.0013e^{[1500(\frac{1}{T} - \frac{1}{298.15})]}} \quad (31)$$

Donde H_{O_2} es la constante de Henry adimensional, R la constante de los gases ideales ($0.082 \text{ L atm mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) y T es la temperatura en K; mientras que kH_{O_2} es el factor de corrección (L atm mol^{-1}).

Para la determinación de la concentración de sulfuro en la columna de absorción ($[S^{2-}]_{LMCD}$) se consideró la diferencia logarítmica de la concentración de entrada de sulfuro total debida al equilibrio de H_2S en medio acuoso con respecto al pH y temperatura ($[S^{2-}]_{in}$) y una concentración de 1×10^{-10} de sulfuro total a la salida ($[S^{2-}]_{out}$) de acuerdo con la ecuación 32.

$$[S^{2-}]_{LMCD} = \frac{[S^{2-}]_{out} - [S^{2-}]_{in}}{\ln \frac{[S^{2-}]_{out}}{[S^{2-}]_{in}}} \quad (32)$$

La concentración de $[S^{2-}]_{in}$ es determinada por la suma de las concentraciones de las especies en equilibrio en medio acuoso con respecto al pH y temperatura de acuerdo con las ecuaciones 33, 34, 35, y 36.

$$[S^{2-}]_{in} = H_2S_{(L)} + [HS^-] + [S^{2-}] \quad (33)$$

$$H_2S_{(L)} = y_{H_2S} \cdot 10^{\frac{\Delta G_2}{RT}} \quad (34)$$

$$[HS^-] = 10^{((pH + \log y_{H_2S}) - \frac{\Delta G_1}{RT})} \quad (35)$$

$$[S^{2-}] = 10^{(\log(\frac{[HS^-]^2}{y_{H_2S}}) - 5.92)} \quad (36)$$

Donde y_{H_2S} es la fracción molar en el biogás sintético, ΔG_1 y ΔG_2 son las energías libres de Gibbs (4731.08 y $586.204 \text{ cal mol}^{-1}$), T es la temperatura (K) y R es la constante de los gases ideales ($1.987 \text{ cal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$).

Finalmente, la concentración de sulfuro en el sistema ($[S^{2-}]_T$) se obtuvo a partir de la ecuación 37.

$$[S^{2-}]_T = \frac{[S^{2-}]_{LMCD} \cdot V_{ABC}}{V_T} \quad (37)$$

13.5 Apéndice V. Análisis estadístico

13.5.1 Factores que influyen en la rO_{2spec}

ANOVA				Alpha		0.05		F>Fcrit
Fuentes	SS	df	MS	F	F crit	S'	p%	Significativo
Irradiancia	17.66	2	8.83	5.00	4.26	14.13	14.56	Si
Temperatura	7.96	2	3.98	2.26	4.26	4.43	4.57	No
pH	18.80	2	9.40	5.33	4.26	15.27	15.74	Si
[S ²]	36.69	2	18.35	10.39	4.26	33.16	34.19	Si
Error	15.89	9	1.77			30.01	30.94	
Total	97.00	17	5.71				100.00	

13.5.2 Prueba de hipótesis y ANOVA en determinaciones analíticas

H₀= La diferencia entre las medias inicial y final es nula.

H_i= Existe diferencia entre las medias inicial y final.

a) Descripción

Alpha 0.05

Grupo	Cuenta	Suma	Media	Varianza	SS	Std Err
Biomasa inicial	9.00	2.49	0.28	0.00	0.01	0.01
Biomasa final	9.00	2.46	0.27	0.00	0.01	0.01

ANOVA

Fuentes	SS	df	MS	F	P value	F crit	F>Fcrit
Entre grupos	6.8E-05	1	6.8E-05	0.05	0.82	4.49	No
Error	2.0E-02	16	1.3E-03				
Total	2.1E-02	17	1.2E-03			Acepta	H₀

b) Descripción

Alpha 0.05

Grupo	Cuenta	Suma	Media	Varianza	SS	Std Err
IC inicial	9.00	18505.63	2056.18	83775.16	670201.27	95.35
IC final	9.00	18354.67	2039.41	79868.44	638947.55	95.35

ANOVA

Fuentes	SS	df	MS	F	P value	F crit	F>Fcrit
Entre grupos	1266.03	1	1266.03	0.02	0.90	4.49	No
Error	1309148.82	16	81821.80				
Total	1310414.85	17	77083.23			Acepta	H₀

c) Descripción

Alpha 0.05

Grupo	Cuenta	Suma	Media	Varianza	SS	Std Err
N _T inicial	9	2438.39	270.93	179.32	1434.59	4.90
N _T final	9	2345.61	260.62	252.14	2017.14	4.90

ANOVA

Fuentes	SS	df	MS	F	P value	F crit	F>Fcrit
Entre grupos	478.32	1	478.32	2.22	0.16	4.49	No
Error	3451.73	16	215.73				
Total	3930.05	17	231.18			Acepta	H₀

d) Descripción

Alpha 0.05

Grupo	Cuenta	Suma	Media	Varianza	SS	Std Err
Sulfato inicial	9	6.25	0.69	0.00	0.02	0.01
Sulfato final	9	6.32	0.70	0.00	0.01	0.01

ANOVA

Fuentes	SS	df	MS	F	P value	F crit	F>Fcrit
Entre grupos	0.0003	1	0.0003	0.1546	0.6994	4.4940	No
Error	0.0272	16	0.0017				
Total	0.0274	17	0.0016			Acepta	H₀

e) Descripción

Alpha 0.05

Grupo	Cuenta	Suma	Media	Varianza	SS	Std Err
Fosfato inicial	9	6.01	0.67	0.001	0.011	0.012
Fosfato final	9	6.01	0.67	0.001	0.009	0.012

ANOVA

Fuentes	SS	df	MS	F	P value	F crit	F>Fcrit
Entre grupos	3.2E-06	1	3.17E-06	2.446E-03	0.961	4.494	No
Error	2.1E-02	16	1.29E-03				
Total	2.1E-02	17	1.22E-03			Acepta	H₀

f) Descripción

Alpha 0.05

Grupo	Cuenta	Suma	Media	Varianza	SS	Std Err
Nitrato inicial	9	13.96	1.55	0.007	0.055	0.024
Nitrato final	9	14.03	1.56	0.003	0.028	0.024

ANOVA

Fuentes	SS	df	MS	F	P value	F crit	F>Fcrit
Entre grupos	0.0003	1	0.0003	0.0593	0.8108	4.4940	No
Error	0.0830	16	0.0052				
Total	0.0833	17	0.0049			Acepta	H₀

13.5.3 Factores que influyen en la rO_{2spec} a irradiancia de 120 PAR [$\mu E m^2 s^{-1}$]

ANOVA

Alpha 0.3 p-value < α

Fuentes	SS	df	MS	F	p-value	Significativo
Temperatura	6.83	1	6.83	1.61	0.23	Si
pH	0.46	1	0.46	0.11	0.75	No
[S ²⁻]	10.93	2	5.46	1.29	0.31	No
T x pH	2.57	1	2.57	0.61	0.45	No
T x [S ²⁻]	11.75	2	5.87	1.39	0.29	Si
pH x [S ²⁻]	0.70	2	0.35	0.08	0.92	No
T x pH x [S ²⁻]	1.12	2	0.56	0.13	0.88	No
Error	50.78	12	4.23			
Total	85.14	23	3.70			

13.6 Apéndice VI. Archivo Fotográfico



Ilustración 1 Muestra del consorcio microalgal antes y después de la centrifugación

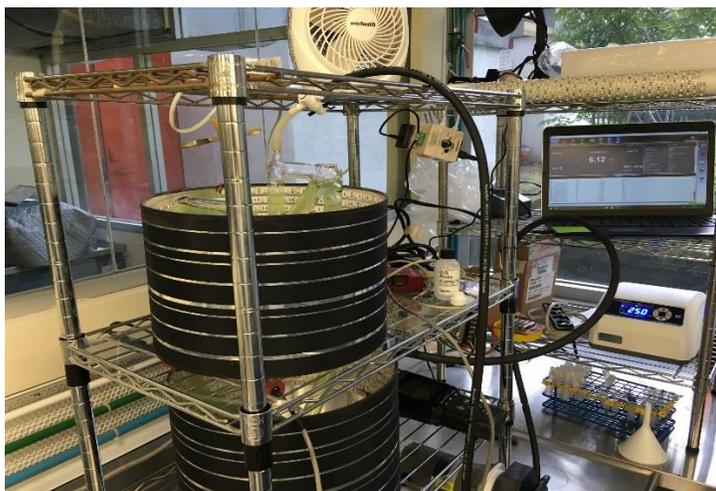


Ilustración 2 Sistema de control y adquisición de datos acoplado con el TCP (pruebas preliminares)



Ilustración 3 Operación del TCP a diferente intensidad luminosa



Ilustración 4 Equipo Shimadzu TOC-LSH y TLM-L (izquierda) y cromatógrafo DIONEX ICS-2000 RFIC (derecha)

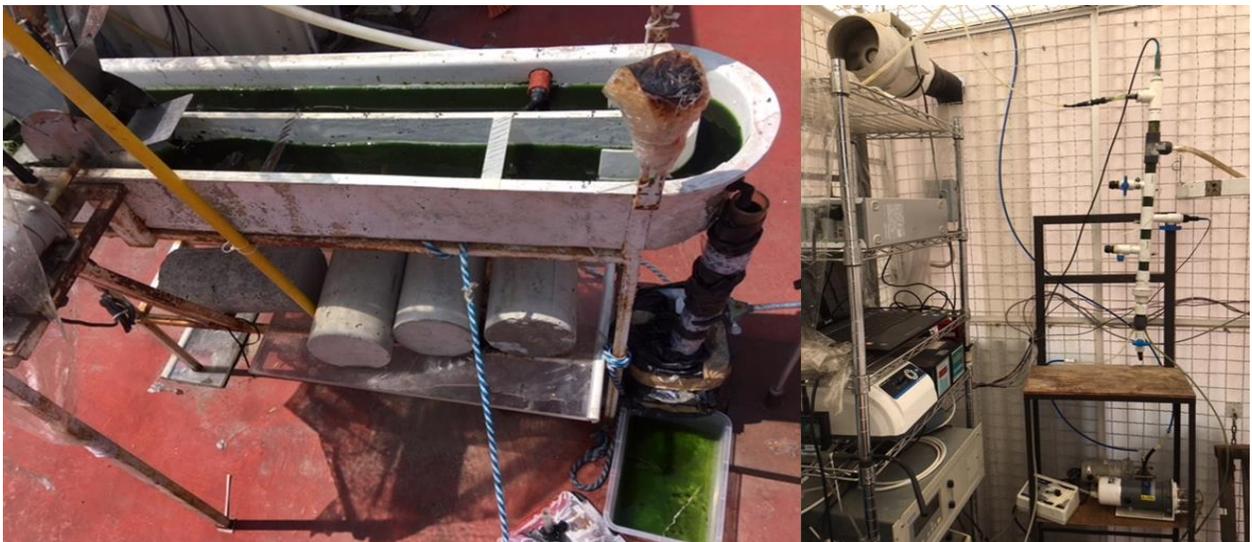


Ilustración 5 Sistema HRAP (izquierda) y Columna de absorción ABC (derecha)