

**EVALUACIÓN DE LA AUTOFLOCULACIÓN DE *Chlorella vulgaris* UTEX  
1803 PARA LA CONCENTRACIÓN DE BIOMASA**

**Diego Leonardo Moreno Holguín  
Nelson Alfonso Arias Gómez**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERIAS FISICO-QUIMICAS  
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA  
BUCARAMANGA**

**2012**

**EVALUACIÓN DE LA AUTOFLOCULACIÓN DE *Chlorella vulgaris* UTEX  
1803 PARA LA CONCENTRACIÓN DE BIOMASA**

**Diego Leonardo Moreno Holguín  
Nelson Alfonso Arias Gómez**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de:  
Ingeniero Químico**

**Directores**

**Ph. D Viatcheslav Kafarov**

**M.Sc. Crisóstomo Barajas Ferreira**

**Codirector**

**Biólogo. Andrés Fernando Barajas Solano**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERIAS FISICO-QUIMICAS  
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA  
BUCARAMANGA**

**2012**

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
INTRODUCCIÓN.	10
1. METODOLOGIA EXPERIMENTAL.	14
1.1. MICROALGA Y MEDIO DE CULTIVO.	14
1.2. VARIACIÓN DE LA AGITACIÓN EN EL CULTIVO.	14
1.3. EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA AUTOFLOCULACIÓN.	15
2. RESULTADOS Y ANÁLISIS.	17
2.1. EFECTO DE LA AGITACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA.	17
2.2. EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA AUTOFLOCULACIÓN.	17
2.3. EFECTO DEL NIVEL DEL MEDIO DE CULTIVO EN LA AUTOFLOCULACIÓN.	19
2.4. CONSUMO DE NITRÓGENO Y FÓSFORO PARA LA REUTILIZACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO.	22
3. CONCLUSIONES.	26
4. RECOMENDACIONES.	27
BIBLIOGRAFIA.	28
ANEXOS.	32

## LISTA DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
Anexo A. Efecto de la agitación en la producción de biomasa.	32
Anexo B. Efecto del tiempo y temperatura en la autofloculación.	33

## RESUMEN

**TITULO:** EVALUACIÓN DE LA AUTOFLOCULACIÓN DE *Chlorellavulgaris* UTEX 1803 PARA LA CONCENTRACIÓN DE BIOMASA.\*

**AUTORES:** Diego Leonardo Moreno Holguín, Nelson Alfonso Arias Gómez.\*\*

**PALABRAS CLAVES:** Microalgas, *Chlorellavulgaris*, Autofloculación, Floculación, Carbohidratos, Lípidos, Cultivo Autotrófico, Cultivo Mixotrófico.

El proceso de separación de la biomasa producida del medio de cultivo es una de las etapas de mayor gasto energético. Estudios recientes plantean la posibilidad de reducir ese costo aprovechando un factor inherente de estos microorganismos, el cual se conoce como autofloculación, el cual permite concentrar la biomasa sin la adición de reactivos que puedan alterar la eficiencia de los procesos de aprovechamiento de los diferentes metabolitos; teniendo en cuenta esta propiedad, se evaluaron las condiciones de proceso (agitación del cultivo y temperatura) que permitan la auto-floculación de *Chlorella vulgaris* UTEX 1803; para esto, se cultivó en el medio Bold Basal utilizando 3 diferentes flujos de aire (6,53, 7,63 y 11,07 L/s) durante 5 días. Después del tiempo de cultivo, el medio fue tratado térmicamente durante 8 horas utilizando diferentes temperaturas (18, 25, 50, 80 y 100°C). El menor tiempo de concentración se observó cuando el cultivo fue alimentado con un flujo de aire de 7,63 L/s y a una temperatura de 100°C. Con base en los datos obtenidos y el análisis de los mismos, se comprobó experimental y estadísticamente que la concentración es directamente proporcional a la temperatura cuando se tiene un flujo de aire de 7,63 L/s y a 4cm del fondo del biorreactor.

---

\* Trabajo de Grado

\*\* Facultad de fisicoquímicas, escuela de ingeniería química. Directores. Ph. D Viatcheslav Kafarov, M.Sc. Crisóstomo Barajas Ferreira, Codirector Biólogo. Andrés Fernando Barajas Solano

## SUMMARY

**TITLE:** ASSESSMENT OF *Chlorella vulgaris* UTEX AUTOFLOCULACIÓN 1803 TO THE BIOMASS CONCENTRATION.\*

**AUTHORS:** Diego Leonardo Moreno Holguín, Nelson Alfonso Arias Gómez.\*\*

**KEYWORDS:** Microalgae, *Chlorella vulgaris*, Auto Flocculation, Flocculation, carbohydrates, lipids, Crop Autotrophic, mixotrophic culture.

The process of separation of the biomass produced in the culture medium is one of the stages of higher energy expenditure. Recent studies raise the possibility of reducing the cost taking advantage of the inherent factor of these microorganisms, which are known as auto flocculation, which allows biomass concentration without the addition of reagents that can alter the efficiency of utilization processes of different metabolites; Given this property, we evaluated the process conditions (temperature and shaking culture) that allow self-flocculation of *Chlorella vulgaris* UTEX 1803; for this, is cultivated in the Bold Basal environment using 3 different air flows (6.53, 7.63 and 11.07 L / s) during 5 days. After the culture time, the medium was heat treated for 8 hours using different temperatures (18, 25, 50, 80 and 100 ° C). Shorter concentration was observed when the culture was fed with an air flow of 7, 63 L / s and a temperature of 100 ° c. Based on the data obtained and the analysis of the same, it was found experimentally and statistically that concentration is directly proportional to the temperature when there is an air flow of 7.63 L / s and 4cm from the bottom of the bioreactor.

---

\* Work Degree

\*\* Faculty physicochemical, chemical engineering school. Directors. ViatcheslavKafarov Ph.D., M.Sc. Barajas Chrysostom Ferreira, Co Biologist. Fernando Barajas Andres Solano

## INTRODUCCIÓN.

Los biocombustibles son un tema que actualmente ha estado generando una gran atención, debido al aumento en el precio del petróleo y los problemas ambientales a nivel mundial (González *et al.* 2011; Sheehan. 1998). El etanol a partir de granos o tubérculos ricos en glucosa y el biodiesel a partir de aceites vegetales son los métodos más reconocidos, pero hay muchos otros, como la producción de biodiesel a partir de microalgas (Chisti *et al.* 2006; Banerjee *et al.* 2002; Dunahay *et al.* 1996; Roessler *et al.* 1994; Wijffels & Barbosa, 2010). Las microalgas son organismos fotosintéticos unicelulares que utilizan la luz y dióxido de carbono como fuente de energía, con una producción de biomasa fotosintéticamente más eficiente que la de las plantas (Benemann *et al.* 1997; Martínez *et al.* 1997). Algunas especies de microalgas contienen aproximadamente 50% de su peso en aceite, lo cual supera las plantas oleaginosas como la soja o palma de aceite (Brennan & Owende. 2010). En teoría, usando microalgas se podría obtener un rendimiento mayor en la producción de aceite que usando las plantas que actualmente están destinadas para este fin (Miao. *et al.* 2006).

El cultivo comercial de las microalgas lleva más de 40 años de historia, entre algunas de las principales especies cultivadas se encuentran *Dunaliella salina* y *Haematococcus pluvialis* (para la producción de carotenoides), *Spirulina platensis* (como suplemento alimenticio) y otras especies utilizadas en acuicultura (Carvalho *et al.* 2006). En el pasado lagos, lagunas y estanques eran utilizados para el cultivo de algas, pero actualmente se han reemplazado por sistemas controlados tanto abiertos (open ponds), como cerrados (fotobiorreactores) (Pulz, 2001), estos últimos se usan principalmente para el cultivo mixotrófico de microorganismos fotosintéticos como microalgas, cianobacterias y bacterias fotosintéticas, para diversas aplicaciones biotecnológicas, entre ellas un alto control de contaminación

(Xuet *et al.* 2009). El estudio del cultivo de las microalgas actualmente posee una amplia acogida para los investigadores pero después del cultivo, el siguiente paso para una producción a gran escala consiste en separar las microalgas de su medio de cultivo y recuperar la biomasa para su posterior procesamiento (Lam & Lee *et al.* 2012). Sin embargo, el proceso de cosecha de microalgas plantea un reto a la ingeniería, porque las microalgas son microorganismos con un tamaño entre 1 y 20 micras (Tenney *et al.* 1969). Estos se encuentran suspendidas en el medio de cultivo (Lam & Lee *et al.* 2012; Brennan & Owende. 2010). En la actualidad, existen varios métodos para cosechar microalgas, estos se pueden clasificar en dos pasos; primero: la recolección en grueso - para separar microalgas en suspensión, tales como sedimentación natural por la gravedad, floculación y flotación. Segundo: el engrosamiento - para concentrar la suspensión después de la cosecha a granel, tales como la centrifugación y filtración (Chen *et al.* 2010; Clark *et al.* 1985). La energía que se consume en la cosecha y el secado de la biomasa de microalgas no debe ser ignorada, ya que puede traer efectos adversos significativos hacia el balance global de energía en la producción de biocombustibles a partir de microalgas (De-Godos *et al.* 2009; Olguín *et al.* 2003; Mulbry *et al.* 2005). La centrifugación es un método para la separación de las algas del medio pero consume demasiada energía para un entorno a gran escala. (Moraine *et al.* 1980). Las técnicas de filtración de flujo tangencial tienen potencial para realizar una deshidratación a bajo costo, sin embargo hay elevado costo relacionado con la sustitución de las membranas obstruidas (Danquah *et al.* 2009). Por otro lado, la floculación se perfila como un método eficiente, debido a su menor gasto energético, sin embargo presenta el gran inconveniente de la adición de agentes químicos que pueden contaminar la biomasa producida, aumentando así la cantidad de cenizas en esta (Uduman *et al.* 2010). Un reciente estudio de la LCA ha subrayado que la cosecha y secado de la biomasa de las microalgas contribuye significativamente en la reducción de energía necesaria para la producción de biodiesel (Sander & Murthy 2010); en este estudio se incluyeron dos métodos de espesamiento (sin una previa recolección a granel), el filtro

prensa y la centrifugación; sus resultados demuestran que la energía que se consume en la cosecha ni siquiera es comparable a la energía requerida en la operación del fotobiorreactor tubular en el que se realizó el cultivo. En este sentido, los resultados indican que las tecnologías de la cosecha a granel pueden jugar un papel muy importante en la reducción del consumo de energía durante la etapa de engrosamiento para la recolección de la biomasa.

Cuando se realiza la cosecha mediante la floculación, se añade al cultivo un coagulante con carga positiva (por ejemplo  $Mg^{2+}$ ), para que la carga negativa que rodea las microalgas se neutralice (Bernhardt & Clasen. 1991). El  $Mg^{2+}$  en el medio de crecimiento se hidroliza para formar un precipitado de hidróxido de magnesio y los coágulos formados con las células de microalgas mediante floculación de barrido (Wuet *al* 2012); al mismo tiempo el floculante promueve la aglomeración mediante la creación de puentes energéticos entre las células neutralizadas para generar flóculos densos (Gregory. 1989) que se decantan naturalmente debido a la gravedad (De-Godos *et al.* 2011). Sin embargo, vale la pena mencionar que la floculación depende en gran medida de la cantidad de microalgas que se encuentren suspendidas en el biorreactor (Thapa & Hoadley. 2009). Otro inconveniente de la floculación con sales convencionales multivalentes como el Polialuminio Cloruro es que contamina la biomasa cosechada y en consecuencia, esto puede traer efectos adversos en la calidad de los productos finales (Lee *et al.* 2010).

La autofloculación microalga es la floculación espontánea propia que presentan algunas microalgas específicas (Sukenic & Shelef 1984), debida principalmente a factores asociados al medio de cultivo tales como: cargas eléctricas negativas, viscosidad superficial, afinidad lipófila de la membrana celular y el pH entre otras (Sukenic *et al.* 1998; Seppälä. 2011). En este trabajo se ha evaluado la autofloculación de *C. vulgaris* UTEX 1803 analizando la forma de agitación durante su crecimiento y la temperatura de autofloculación en un rango óptimo para este

proceso(Salimet *al.* 2012)y de este modo poder aprovechar una de sus cualidades, las células se unen entre sí sin la adición de floculantes químicos que generaran un gasto energético y un aumento en las cenizas de la biomasa (Poelmanet *al.*1997).

## 1. METODOLOGIA EXPERIMENTAL.

Figura 1. Bosquejo de la metodología experimental.



### 1.1. MICROALGA Y MEDIO DE CULTIVO.

*Chlorella vulgaris* UTEX 1803, fue adquirida de la colección de cepas proveniente de la Universidad de Texas (Austin, Texas, USA); se cultivó en medio Bold Basal, cuya composición en g/L es:  $\text{NaNO}_3$  ( $2,94 \times 10^{-3}$ ),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ( $3,04 \times 10^{-4}$ ),  $\text{NaCl}$  ( $4,28 \times 10^{-4}$ ),  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  ( $4,31 \times 10^{-4}$ ),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ( $1,29 \times 10^{-3}$ ),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ( $1,70 \times 10^{-4}$ ) y micronutrientes (g/L)  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ( $3,07 \times 10^{-5}$ ),  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ( $7,28 \times 10^{-6}$ ),  $\text{MoO}_3$  ( $4,93 \times 10^{-6}$ ),  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ( $6,29 \times 10^{-6}$ ),  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ( $1,68 \times 10^{-6}$ ),  $\text{H}_3\text{BO}_3$  ( $1,85 \times 10^{-4}$ ),  $\text{EDTA}$  ( $1,71 \times 10^{-4}$ ),  $\text{KOH}$  ( $5,53 \times 10^{-4}$ ),  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ( $1,79 \times 10^{-5}$ ).

### 1.2. VARIACIÓN DE LA AGITACIÓN EN EL CULTIVO.

Se realizaron cultivos durante 5 días variando la agitación del medio utilizando diferentes flujos (6,53, 7,63 y 11,07L/s). Producidos por un compresor THOMAS de 350Watts a una presión de 40Psi de. Como reactores se usaron botellas plásticas transparentes de 2,5L, con diámetro interno de 14cm y 35cm de altura y un volumen de trabajo de 2L, cada una de las pruebas fue realizada por triplicado.

Todos los cultivos fueron realizados a una temperatura entre 18°C y 25°C, pH neutro y ciclo luz-oscuridad 12:12h.

Para determinar la variación de la concentración de biomasa durante el tiempo de cultivo se utilizó el método de densidad óptica con una longitud de onda de 500nm; la densidad óptica fue correlacionada con la cantidad de biomasa (g/L) de acuerdo al coeficiente de extinción propio del espectrofotómetro:

$$C_B \text{ (g/L)} = \frac{(Abs_{500nm} - 0,17)}{1,32}$$

### 1.3. EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA AUTOFLOCULACIÓN.

Para determinar el efecto de la temperatura en la autofloculación de *C. vulgaris* se realizó un diseño de experimentos 2<sup>5</sup>, en el cual se evaluaron 5 diferentes temperaturas y tiempo de exposición térmica (Tabla 1). Para esto, después de 5 días de cultivo, de cada uno de los tratamientos se tomaron 300 ml de medio y se vertieron en vasos de precipitados de 600 ml, que se dispusieron en una cámara climática para condiciones constantes BINDERy en un baño de enfriamiento termostático.

**Tabla 1. Diseño experimental para la temperatura.**

Temperatura(°C)	Tiempo(h)				
	0(h)	2(h)	4(h)	6(h)	8(h)
18(°C)	T1	T2	T3	T4	T5
25(°C)	T6	T7	T8	T9	T10
50(°C)	T11	T12	T13	T14	T15
80(°C)	T16	T17	T18	T19	T20
100(°C)	T21	T22	T23	T24	T25

Los datos obtenidos en esta fase experimental fueron tratados mediante el software STATISTICA 8.0, se realizaron Test de normalidad (ShapiroWilk) y se hizo un análisis de varianzas (ANOVA) con el fin de establecer diferencias y similitudes entre las variable implicadas en esta fase (Agitación, Temperatura, Biomasa y Tiempo). Para ver las tendencias de estas variables también se realizó una regresión multilínea con el software EXCEL 2010. Para tomar las decisiones pertinentes se utilizó un nivel de significancia del 5%.

Con el análisis de estos datos se procedió a la segunda escala experimental, en la cual se realizó un nuevo montaje con una agitación producida por un flujo de aire de 7,63L/s, a una temperatura ambiente, para poder evaluar la influencia de la profundidad, y al quinto día de crecimiento se ubicó el cultivo en un biorreactor con diferentes niveles de profundidad (Tabla 4).

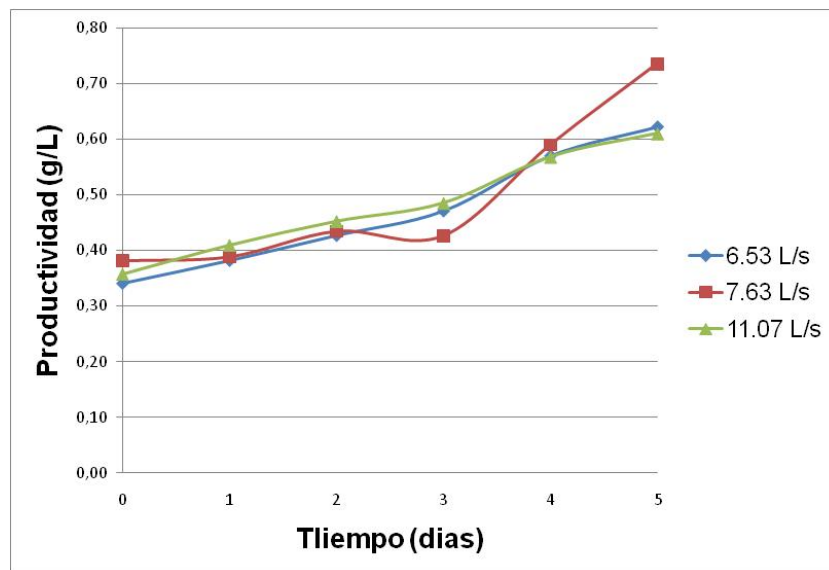
Para determinar el efecto de la temperatura en la cantidad de biomasa floculada se realizó un seguimiento a la biomasa suspendida en el cultivo utilizando la metodología de densidad óptica.

## 2. RESULTADOS Y ANÁLISIS.

### 2.1. EFECTO DE LA AGITACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA.

La agitación con la que se obtuvo una mayor producción de biomasa al quinto día de cultivo (0,736g/L) fue producida por un flujo de aire de 7,63 L/s, sin embargo la tendencia de la productividad es la misma para todas las agitaciones, esto se evidencia con las desviaciones estándar (Anexo1). No existe una diferencia significativa ( $P > 0,05$ ) en la producción de biomasa.

Figura 2. Productividad de biomasa.



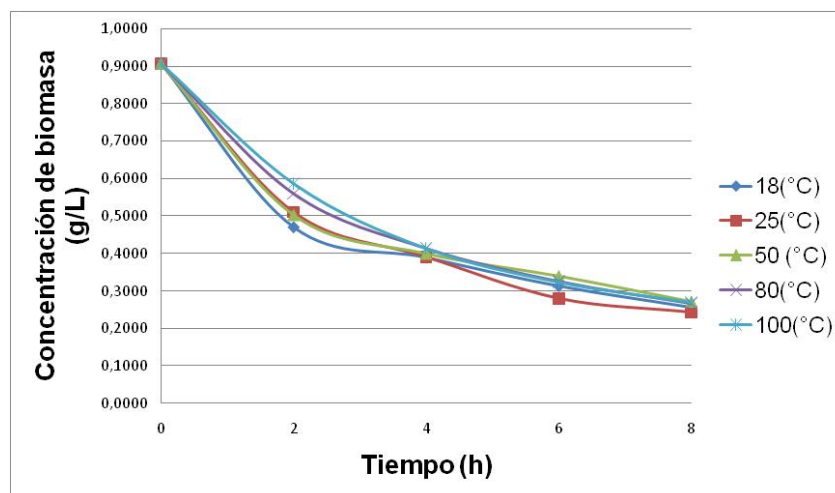
### 2.2. EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA AUTOFLOCULACIÓN.

Los resultados obtenidos en los tratamientos a diferentes temperaturas demuestran que no existe una diferencia significativa en la velocidad de

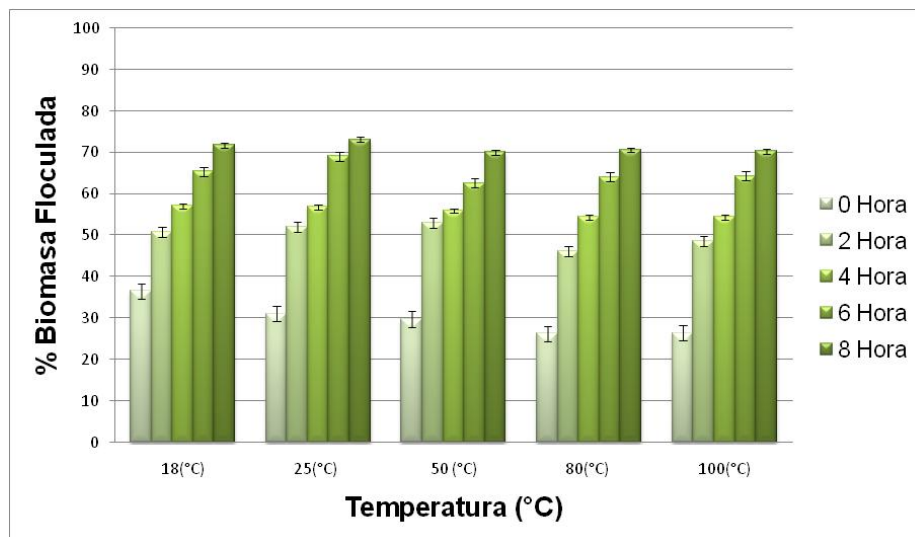
autofloculación evaluada entre los cinco diferente niveles de temperatura (F: 00,16752; P: 0,95454) (Anexo2).

En la figura 3 se puede observar que el tratamiento que dio mejores resultados ocurrió a una temperatura de 25°C manteniendo la misma tendencia entre todas las temperaturas. Pero como ya se menciona anteriormente la temperatura no es una variable significativa para la autofloculación, en la figura 4 al observar las desviaciones estándar al final del tiempo de autofloculación se ve que estas no superan el cinco por ciento de diferencia entre ellas y por este hecho se decidió continuar trabajando a temperatura ambiente para disminuir al máximo el consumo de energía al cosechar las microalgas.

**Figura 3. Velocidad de autofloculación.**



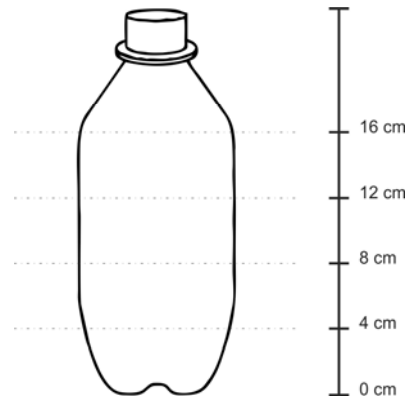
**Figura 4. Porcentaje de biomasa floculada.**



### **2.3. EFECTO DEL NIVEL DEL MEDIO DE CULTIVO EN LA AUTOFLOCULACIÓN.**

Según los resultados obtenidos anteriormente, la mayor autofloculación se da con una agitación producida por una corriente de aire de 7,63L/s, y la temperatura no influye significativamente en la autofloculación. Por lo cual se evaluó el posible efecto de la columna de agua en la esta; para esto se tomaron los mejores resultados de los experimentos anteriores y se procedió a realizar un nuevo montaje, después de 5 días de cultivo, se retiró la agitación y se tomaron muestras cada 4cm comenzando desde el fondo del biorreactor (Nivel 0).

**Figura 6. Niveles del medio de cultivo en el biorreactor.**



Al comienzo las microalgas se encuentran dispersas en suspensión por todo el biorreactor y al transcurrir el tiempo se nota como se van agrupando por si solas (Autofloculación), formando flóculos que se van decantando por efecto de la gravedad y así se va aumentando la concentración de microalgas en los niveles más bajos del biorreactor. De ahí se tomaron muestras de 5 ml cada hora, desde las 8am hasta las 6pm y en cada profundidad señalada en el biorreactor y se midieron las densidades ópticas de igual manera que en el ítem anterior y la densidad óptica fue correlacionada con la cantidad de biomasa (g/L) de acuerdo al coeficiente de extinción propio del espectrómetro (Jhon Wiley & Sons 2005).

**Figura 5. Efecto del nivel en la concentración de biomasa.**

**Figura 5a.**

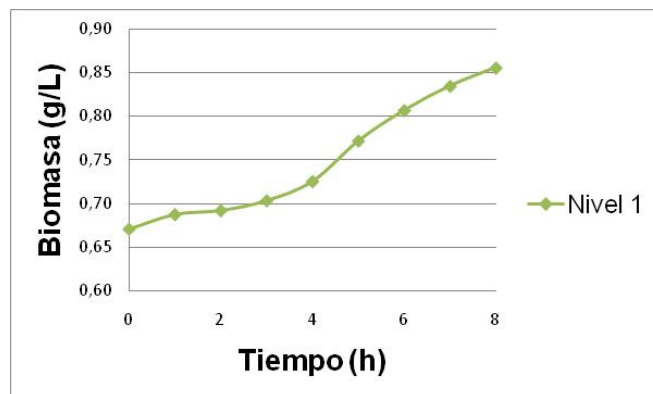


Figura 5b.

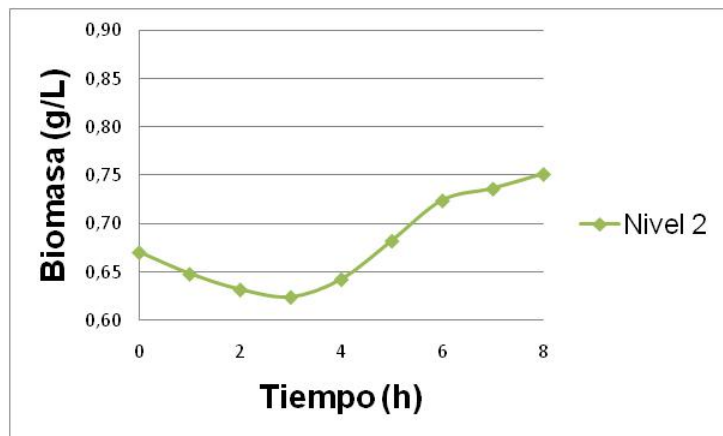


Figura 5c.

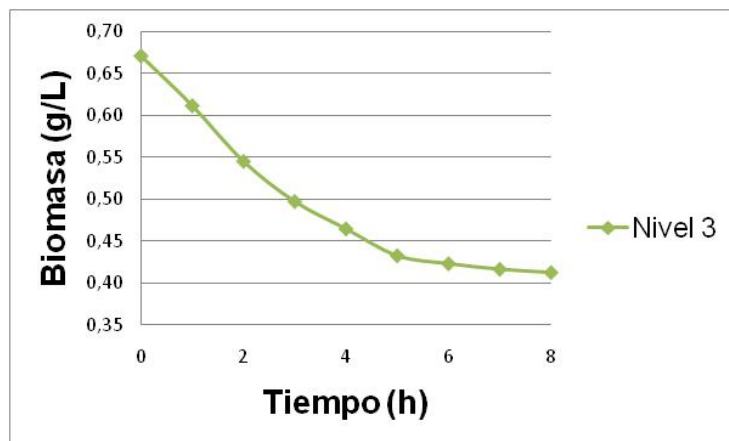
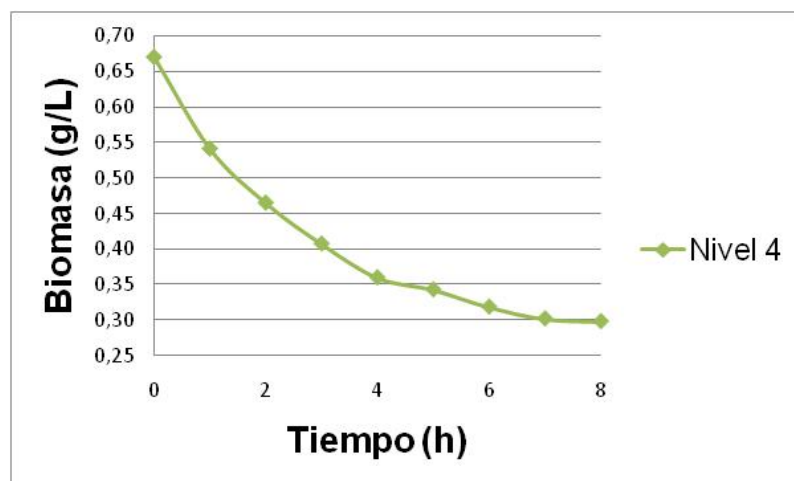


Figura 5d.



Como se muestra en la figura 5, más de la mitad de la concentración ocurre durante las cuatro primeras horas en todos los niveles evaluados, con una concentración de 0,448g/L, sin embargo, en los niveles más bajos se encontró una mayor acumulación celular de 0,771g/L y pasadas las cuatro primeras horas se puede dividir el cultivo en dos partes: una parte concentrada que hace referencia a la parte del primer nivel (A 4cm del fondo) de la cual se obtendría la biomasa; y otra parte que puede ser reutilizada como cultivo de levante, que se encuentra en condiciones cercanas a las óptimas para la etapa de crecimiento inicial (Niveles 2, 3 y 4).

La parte concentrada del cultivo autofloculado contienen cerca de un 75% de la biomasa producida (0,679g/L) en un 20 % del volumen inicial, lo cual facilita enormemente la fase de engrosamiento de la cosecha microalgal minimizando en gran medida el consumo energético que conlleva esta etapa.

#### **2.4. CONSUMO DE NITRÓGENO Y FÓSFORO PARA LA REUTILIZACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO.**

Se puede observar por medio de las figuras 7 y 8, que al quinto día de crecimiento existe una pérdida de nitrógeno del 81% y del 72% de fósforo, estos datos corroboran que si existe un consumo significativo de nitrógeno y fósforo en la producción de biomasa.

Figura 7. Consumo de nitrógeno.

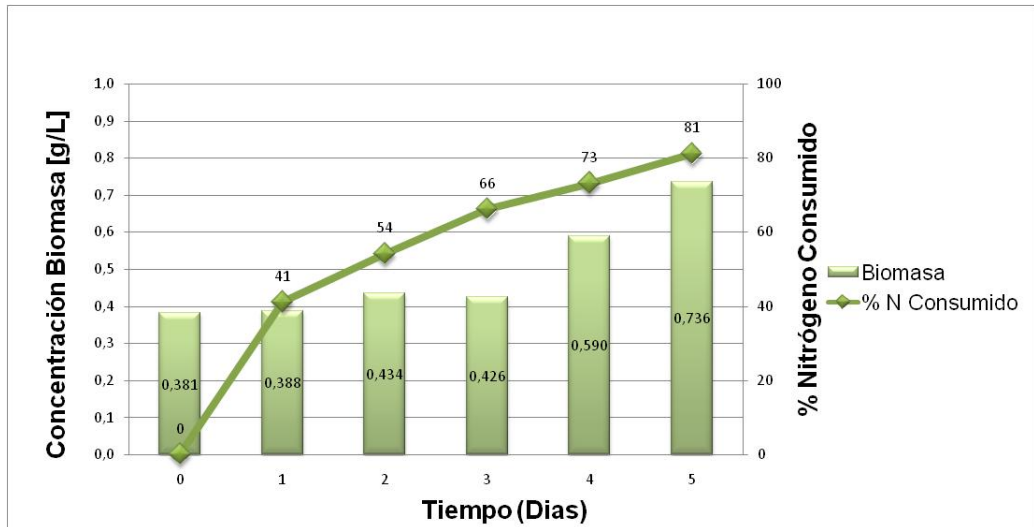
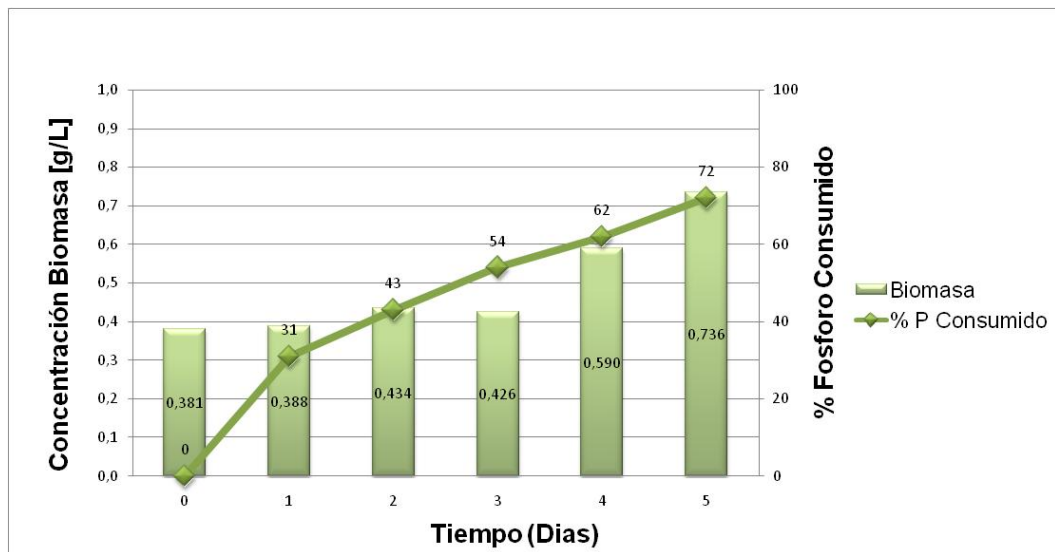


Figura 8. Consumo de fósforo.



Esto se confirmó midiendo la cantidad de nitrógeno y fósforo después del quinto día de crecimiento. El nitrógeno consumido fue medido utilizando el método espectrofotométrico propuesto por (Clescenet *al.*1999). El cual consiste en tomar una muestra de 50ml del cultivo y centrifugarla por 20 minutos a 3400RPM, la

muestra es filtrada usando papel filtro (2  $\mu\text{m}$ ) y luego al filtrado se le agrega 1 ml de solución de HCL 1 N, seguido por 10 minutos en agitación para permitir una reacción completa. Finalmente, la muestra se lee en el espectrofotómetro a 220 y 275nm.

El fósforo consumido fue medido según método estándar para la determinación de aguas residuales (Clescenet *al.* 1999). Siguiendo este procedimiento, se tomaron 30 ml de muestra de cada tratamiento, se centrifugó por 20 min a 3400 rpm, luego se filtró al vacío y se adicionó 1 ml de solución de Metavalanato-Molibdato y se aforó con agua destilada hasta un volumen de 50 ml. Finalmente la muestra se leyó en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 470 nm.

Una parte importante de este trabajo fue evaluar la viabilidad de recuperar una parte del cultivo en condiciones óptimas para una nueva fase de levante del cultivo para poder reutilizar el medio ya existente. Para esto, se dispuso un nuevo montaje a las mejores condiciones para la autofloculación encontradas anteriormente. Después de haber corroborado el consumo de nitrógeno y de fósforo al quinto día de cultivo, este se dispuso en un biorreactor con marcas a diferentes alturas y pasadas 8 horas del inicio de la autofloculación se dividió el cultivo en el nivel 1 de profundidad (a 4cm del fondo del biorreactor). Posteriormente, a la parte recuperada del cultivo se le adicionaron los macronutrientes que aportan el nitrógeno y el fósforo en la debida proporción para el tamaño de la muestra y finalmente se realizó una nueva fase de levante del cultivo la cual produjo una cantidad de biomasa similar a la que se registro en los primeros cultivos y a los datos registrados en la literatura.

De este modo se obtuvieron los mejores resultados para la recuperación de la biomasa, permitiendo así una concentración celular en tan solo una quinta parte del volumen original del cultivo y las otras cuatro quintas partes se reciclan para realizar un nuevo montaje del cultivo, lo cual implica un enorme ahorro energético

ya que se solo se está llevando el 20% del volumen inicial a la fase de engrosamiento y se reutiliza el 80% del agua requerida para el medio de cultivo y la gran mayoría de los nutrientes que lo conforman.

### **3. CONCLUSIONES.**

- Con el estudio realizado a los datos se tiene que el tiempo de autofloculación claramente disminuye cuando el cultivo crece con una agitación moderada producida por un flujo de aire de 7,63L/s.

-Con base en el análisis de los datos obtenidos se concluye que el tiempo de autofloculación disminuye al aumentar la temperatura, pero aun así esta variable no influye significativamente en el tiempo de autofloculación.

-El tiempo de autofloculación y el punto en el que se debe dividir el cultivo para obtener una parte concentrada se disminuyen al disminuir la profundidad del medio de cultivo en el biorreactor y depende de la altura del mismo.

-Con una agitación moderada en la fase de crecimiento y autofloculando el cultivo a temperatura ambiente se dieron los mejores tiempos de autofloculación (4 horas) tiempo en el cual se recomienda recuperar el cultivo para tener una excelente tasa de producción de biomasa.

-Mediante la adecuada alimentación de aire al cultivo en crecimiento, se puede asegurar un aumento en la deposición de biomasa en el fondo del biorreactor, disminuyendo el tiempo de recolección a granel de 1 día a 4 horas.

-El método de recolección a granel evaluado, da como resultado que la reutilización de los cultivos reduce significativamente el costo energético en la cosecha, permitiendo un avance para la producción de biomasa a gran escala.

#### **4. RECOMENDACIONES.**

- Teniendo en cuenta que el consumo de nutrientes puede variar según el producto que se deseé obtener del alga, se recomienda continuar con el estudio evaluando diferentes nutrientes consumidos después de la autofloculación.
- El Ph es un factor que puede afectar en gran medida la floculación espontánea, al cambiar las propiedades alrededor de las microalgas y se debería evaluar su efecto en el tiempo de autofloculación.
- Se recomienda evaluar los métodos de agitación mecánica, por ser uno de los factores más influyentes en el tiempo de autofloculación.
- Se recomienda evaluar el uso de floculantes orgánicos con carga positiva para evaluar su consumo energético y la producción final de cenizas.

## BIBLIOGRAFIA.

- ANDERSON K.R., 2005. *Experiments in microbiology plant pathology and biotechnology. Four editions. New age international. 38: 497-501.*
- BANERJEE, A., SHARMA, R., CHISTI, Y., BANERJEE, U. 2003. *Botryococcusbrauniia renewable source of hydrocarbons and other chemicals.Crit rev biotechnol, Vol. 22, No. 3. 22: 245-279.*
- BISCHOFF H. W., BOLD H. C., 1963. *Somesoil algae from enchanted rock andrelated algal species. Phycological studies 4:1-95.*
- BERNHARDT, H Y.CLASEN, J. 1991. *Flocculation of micro-organisms. Volume 40: Issue 2: Pages 76-87.*
- BRENNAN, L., Y OWENDE, P. 2010. *Biofuels from microalgae. A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products.Renew and Sust. Energy Rev: 14(2):557-577.*
- CARVALHO P., MEIRELELES, L. A., YMALCATA, F. X. 2006. *Microalga reactors: a review of enclosed system designs and performances. Bio techno. 22: 1490–1506.*
- CHEN CY.,YEH KL., AISYAH R., LEE DJ., Y CHANG JS. 2010. *Cultivation photo bioreactor design nan harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review. Bioresour Technol. 102:71–81.*
- CHISTI, Y., 2006. *Microalgae as sustainable cell actuaries. Environmental Engineering and Management Journal. 5:3:261-27.*
- CLARK, M., (1985)., *Critique of camp and stein’s RMS velocity gradient. journal of environmental engineering, 111: 741–754.*
- CLESCEN L. S., GREENBERG, A. E., Y EATON, A. D. 1999. *Standard Methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association. 20: 708-710.*

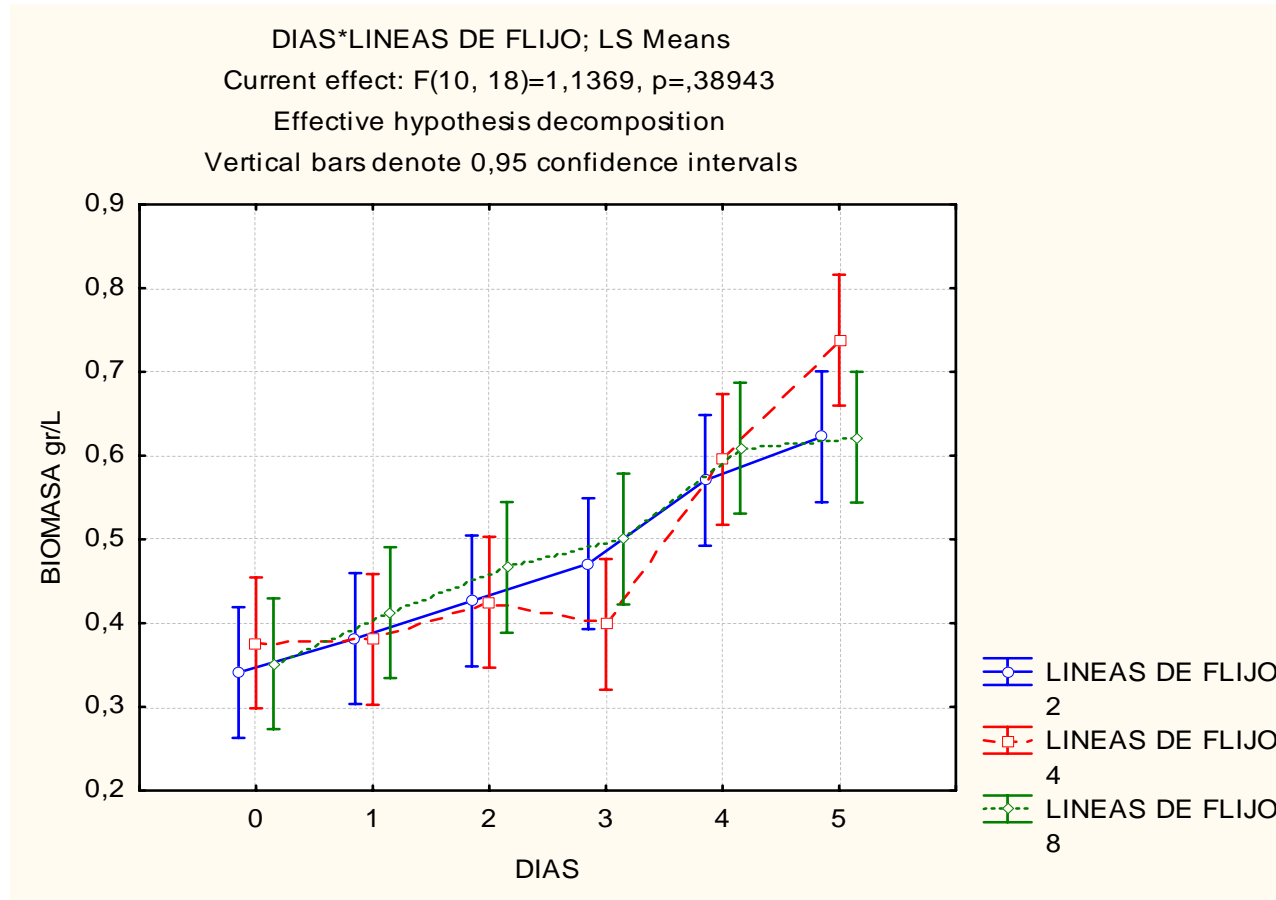
- DANQUAH M.K., LI ANG., UDUM. N., Y MOHEIMANI, G. M., 2009. *Dewatering of micro algal culture for biodiesel production: exploring polymer flocculation and tangential flow filtration*, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 84: 1078–1083.
- De GODOS I., GONZÁLEZ C., GARCÍA-ENCINA P., BÉCARES E., Y MUÑOZ, R., 2009. *Simultaneous nitrification–DEnitrification, phosphorous and carbon removal during pre-treated swine slurry degradation in a tubular biofilm photobioreactor*. *Appl. Microbial biotechnology*. 82: 187–194.
- DE GODOS I., GUZMAN H. O., SOTO R., GARCÍA ENCINA P. A., BECARES E., Y MUÑOZ R., 2011. *Coagulation/flocculation-based removal of algal–bacterial biomass from piggy wastewater treatment*. *Bioresour Technol*. 102:923–930.
- DUNAHAY T., JARVIS, E., DAIS, S., Y ROESSLER, P. 1996. *Manipulation of microalgal lipid production using genetic engineering*. *App. Blochembiotechnology*. 223: 57-58.
- GONZÁLEZ, A., Y KAFAROV, V. 2011. *Microalga based bio refinery: Issues to consider*. *Ciencia, Tecnología y Futuro*. 4:5-22..
- GREGORY, J., 1989. *Fundamentals of flocculation*, Volume 19, Issue 3, Pages 185-230.
- J.R. BENEMANN., 1997. *CO2 mitigation with microalgae systems*. *Energy Conv. Manag.*, 38: 475-484.
- JHON WILEY & SONS INC., 2005. *Handbook of Food Analytical Chemistry*. *United States of America*. 85: 182-201.
- LEE AK., LEWIS D. M., Y ASHMAN P. J., 2010. *Energy requirements and economic analysis of a full scale microbial flocculation system for micro algal harvesting*. *Chemical Engineer Res Des*. 88:988–1084.
- MaN KEE LAM., Y KEATTEONG LEE., 2012. *Microalgae biofuels: A critical review of issues, problems and the way forward*. 30: 673-690.

- MARTÍNEZ, MA. E., CAMACHO, A. F., JIMENEZ, J. M., Y ESPINOLA, J. B., 1997. *Influence of light intensity on the kinetic and yield parameters of Chlorella pyrenoidosa mix trophic growth. Process Biochemistry. 32: 93-98.*
- MIAO. X., Q. W., 2006. *Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil, Bioresour. Technol. 97: 84-90.*
- MORAINÉ R., G. SHELEF., E. SANDBANK., Z. BAR MOSHE., L. SHVARTZBURD., IN: G. SHELEF., Y, C.J. SOEDER. 1980. *Recovery of Sewage-Borne Algae: Flocculation, Flotation, and Centrifugation Techniques. Algae Biomass Production and Use, Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam/New York/Oxford. 78: 87-92.*
- Mulbry W., Kerbed West head, E., Pizarro, C., Y Sikora, L., 2005. *Recycling of manure nutrients: use of algal biomass from dairy manure treatment as a slower release fertilizer. Bio resource. Technol. 96: 451–458.*
- Olguín, E.J., Galicia, S., Mercado, G., Pérez, T., (2003). *Annual productivity of Spirulina (Arthrospira) and nutrients removal in a pig waste water edcycling process sun dertropical conditions. J. Appl. Phycol. 15: 249–257.*
- Poelma. E., De Pauw, N. Y Jeurissen, B. 1997. *Potential of electrolytic flocculation for recovery of micro-algae. Resources, Conservation and Recycling, 19: 1–10.*
- PulZ. O. (2001). *Photobioreactors: production systems for photo trophic microorganisms, Appl. Microbiol. Biotechnol. 57:287–293.*
- Roessler, P., Brown, L., Dunahay, T., Heacox, D., Jarvis, E., Y Schneider, J., 1994. *Genetic-engineering approaches for enhanced production of biodiesel fuel form microalgae. 566:255-70.*
- Salim S., M.H. Vermuë, Y R.H. Wijffels. 2012. *Ratio between autoflocculating and target microalgae affects the energy-efficient harvesting by bio-flocculation. 118: 49-55.*

- Sander K, Murthy GS. 1996. *Lifecycle analysis of algae biodiesel. Int J Life Cycle Assess.* 15:704–728.
- Seppälä, J. Y a, Tamminen, 2011. *Inducing auto flocculation in the diatom Phaedra tylumtricornutum through CO2 regulation. Volume 23, Issue 6, 959-966.*
- Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J., Y Roessler, P. 1998. *A look back at the U.S. Departmento fEnergy's Aquatic Species Program biodiesel from algae. National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO; Report NREL/TP: 580–24190.*
- Sukenik A., D. Bilanovic., Y G. Shelef. 1998. *Flocculation of microalgae in brackish and sea waters, Biomass Pages 187–199.*
- Sukenik, A., y Shelef, G. (1984). *Algal auto flocculation - verification and proposed mechanism .volume 26, issue 2, pages 142-147.*
- Tenney M.W., W.F. Echelberger, R.G. Schuessler, Y J.L. Pavoni, 1969. *Algal flocculation with synthetic organic polyelectrolytes, Applied Microbiology 18:965-971.*
- Uduman Nyomi., Ying Qi., Michael K., Danquah Andrew., Y F.A. Hoadley, 2010. *Marine microalgae flocculation and focused beam reflectance measurement. 162: 935-940.*
- Xu, L., Weathers, P., Xiong, X., Y Liu. C. (2009). *Micro algal bioreactors, Challenges and opportunities. Engineering in Life Sciences. 9: 178–189.*
- Wijffels, R.H., Y Barbosa, M.J., 2010. *An outlook on microalgal biofuels. Science 329: 796–799.*
- Wu Zechen., Yi Zhu., Weiya Huang., Chengwu Zhang., Tao Li., Y Yuanming Zhang Aifen Li. 2012. *Evaluation of flocculation induced by pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium. 110: 496-502.*

## ANEXOS.

### Anexo A. Efecto de la agitación en la producción de biomasa.



AnexoB. Efecto del tiempo y temperatura en la autofloculación.

