

**Evaluación de un agente floculante basado en poliglicerol funcionalizado para la  
recuperación de biomasa en Microalgas *Chlorella Vulgaris* UTEX 1803**

**Mario Alfonso Ferreira Rivera**

**Orlando Andrés Ochoa Pinzón**

**Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Químico**

**Director:**

**Viatcheslav Kafarov**

**Doctor en Ciencias Técnicas**

**Codirector**

**Luis Carlos Fonseca Herreño**

**Ingeniero Químico**

**Universidad Industrial De Santander**

**Facultad de Ingenierías Físicoquímicas**

**Escuela de Ingeniería Química**

**Bucaramanga**

**2018**

### **Dedicatoria**

A mi familia y amigos, que con su apoyo incondicional encaminaron a la culminación de este logro, con mención especial a mi madre, mi motor permanente, hoy desde la eternidad, pero siempre presente en mi corazón... Gracias doña Martha.

*Orlando Andrés Ochoa Pinzón*

A familiares y de quienes obtuve su apoyo a pesar de los inconvenientes surgidos en este recorrido de mi formación personal y alcanzar este objetivo, en especial a mi madre y padre y particularmente a mi abuela (mita mayo), tío Juan y Jalli de quien agradezco toda su enseñanza regalada.

*Mario Alfonso Ferreira Rivera*

### **Agradecimientos**

Los autores agradecen a:

Dr. Sc. Viatcheslav Kafarov por su respaldo como Director del proyecto.

Ingeniero Químico Luis Carlos Fonseca por su guía como codirector, apoyo y compañía durante el desarrollo del proyecto.

Al grupo CIDES por la ayuda brindada para llevar a cabo toda la experimentación necesaria en nuestra investigación.

A la Universidad industrial de Santander, la escuela de Ingeniería Química y todos los profesores que hicieron parte de nuestro proceso formativo como ingenieros.

## Contenido

	<b>Pág.</b>
Introducción .....	13
1. Objetivos .....	16
1.1 Objetivo general.....	16
1.2 Objetivos específicos .....	16
2. Metodología y materiales.....	17
2.1 Condiciones del medio y cultivo de microalga.....	17
2.2 Características principales del polímero utilizado para las pruebas de floculación.....	19
2.3 Seguimiento y monitoreo del crecimiento de los cultivos .....	20
2.4 Condiciones para la realización de pruebas de floculación .....	20
2.5 Diseño experimental .....	21
2.6 Mediciones de los tratamientos.....	23
2.7 Metodología para la floculación y descripción de tratamientos .....	24
2.7.1 Evaluación del efecto del pH en cultivos de algas.....	24
3. Resultados .....	24
3.1 Crecimiento y monitoreo de cultivo .....	24
3.2 Efecto de la concentración de polímero en la floculación .....	25
3.3 Efecto del pH en la floculación.....	26
3.3.1 El pH sobre el cultivo de microalgas. ....	26
3.3.2 El pH sobre la floculación, efecto combinado. ....	27

---

3.4 Eficiencia del polímero en la floculación .....	30
3.5 Densidad óptica aportada por el polímero .....	31
4. Conclusiones .....	32
5. Recomendaciones .....	33
Referencias bibliográficas.....	34

**Lista de Tablas**

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Reactivos para la preparación del medio de cultivo. ....	18
Tabla 2. Fase preliminar del diseño experimental. ....	22
Tabla 3. Diseño experimental de floculación. ....	22
Tabla 4. Densidad óptica del polímero en las concentraciones del rango alto. ....	31

## Lista de Figuras

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Metodología general.....	17
Figura 2. Fotobiorreactores a escala laboratorio.....	19
Figura 3. Cinética de crecimiento de <i>Chlorella vulgaris</i> en MBB.....	25
Figura 4. Porcentaje de remoción en pruebas preliminares a distintas ppm.....	26
Figura 5. Porcentajes de remoción por autofloculación.....	27
Figura 6. Barrido experimental de pH. ....	27
Figura 7. Comparación entre pruebas a pH=3; pH=4; pH=5.....	28
Figura 8. Remoción final en la floculación con ajuste de pH=3.....	29
Figura 9. Remoción final en la floculación con ajuste de pH=4.....	29
Figura 10. Remoción final en la floculación con ajuste de pH=5.....	29
Figura 11. Eficiencia de remoción del polímero.....	30
Figura 12. Coloración del polímero en solución acuosa en el rango alto de concentraciones estudiadas.....	32

## Resumen

**TÍTULO:** EVALUACIÓN DE UN AGENTE FLOCULANTE BASADO EN POLIGLICEROL FUNCIONALIZADO PARA LA RECUPERACIÓN DE BIOMASA EN MICROALGAS *Chlorella vulgaris* UTEX 1803\*

**AUTOR:** MARIO ALFONSO FERREIRA RIVERA, ORLANDO ANDRÉS OCHOA PINZÓN\*\*

**PALABRAS CLAVES:** Microalgas, floculación, autofloculación, poliglicerol, pH.

La investigación enfocada hacia el desarrollo de energías renovables es un tema de mucho interés en la actualidad. Las microalgas han sido objeto de estudio debido a su potencial como materia prima en la elaboración de bioproductos y combustibles alternativos como el biodiesel, no obstante, su cosecha representa una problemática debido a los altos costos que conlleva. La floculación es un método recuperación de biomasa que mitigaría esta problemática; en donde se agregan sustancias que favorecen la aglomeración de las microalgas, sin embargo, algunos floculantes contienen sustancias tóxicas que limitan su aplicabilidad. El pH y la concentración de floculante son variables importantes en la floculación, por lo tanto, el desarrollo de técnicas de floculación más efectivas y limpias es apremiante. En este trabajo se evaluó el efecto del pH y la concentración de un polímero experimental a base de glicerol en la recuperación de biomasa de *Chlorella vulgaris* UTEX 1803. En la primera fase experimental se evaluaron estas variables de forma individual, arrojando que el mayor porcentaje de remoción de biomasa (88,11%) se da en un intervalo de concentración de polímero entre 1800 y 10000 ppm, comparado con remociones no mayores al 20% en concentraciones más bajas (10-1250 ppm). Posteriormente se estudió el efecto combinado de estas variables y se obtuvo que en este rango de concentración y pH=4, el efecto del polímero es más evidente, teniendo en cuenta que, a valores de pH más bajos, el fenómeno de autofloculación enmascara el efecto del floculante. Así mismo, el efecto combinado arrojó resultados de remoción superiores al 80% para las concentraciones más altas de floculante, alcanzando un pico de 86,49% en concentraciones de 10000 ppm.

---

\* Proyecto de grado

\*\* Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química: Director: Ph.D. Viatcheslav Kafarov. Codirector: Ingeniero Químico. Luis Carlos Fonseca Herreño

### Abstract

**TITLE:** EVALUATION OF A FLOCCULATING AGENT BASED ON FUNCTIONALIZED POLYGLYCEROL FOR THE RECOVERY OF BIOMASS IN MICROALGAE *Chlorella vulgaris* UTEX 1803\*.

**AUTHORS:** MARIO ALFONSO FERREIRA RIVERA, ORLANDO ANDRÉS OCHOA PINZÓN\*\*

**KEYWORDS:** Microalgae, flocculation, auto-flocculation, polyglycerol, pH.

Research focused on the development of renewable energies is a subject of great interest at the moment. Microalgae have been studied due to their potential as raw material in the production of bioproducts and alternative fuels such as biodiesel. However, their harvest represents a problem due to the high costs involved. Flocculation is a method of recovery of biomass that would mitigate this problem; where substances that favor the agglomeration of microalgae are added, however, some flocculants contain toxic substances that limit their applicability. The pH and the concentration of flocculant are important variables in flocculation, therefore, the development of more effective and clean flocculation techniques becomes necessary. In this research, the effect of the pH and the concentration of an experimental polymer based on glycerol in the biomass recovery of *Chlorella vulgaris* UTEX 1803 was evaluated. In the first experimental phase these variables were evaluated individually, showing that the highest percentage of biomass removal (88.11%) occurs in a range of polymer concentration between 1800 and 10000 ppm, compared to a minimum of 20% at lower concentrations (10-1250 ppm). Subsequently, the combined effect of these variables was studied showing that in this concentration range and pH = 4, the effect of the polymer is more evident, taking into account that at lower pH values the phenomenon of auto-flocculation masks the effect of the flocculant. Likewise, the combined effect produced removal results higher than 80% for the highest concentrations of flocculant, reaching a peak of 86.49% in concentrations of 10000 ppm.

---

\* Bachelor Thesis

\*\* Physicochemical Engineering Faculty. Chemical Engineering Department: Director: Ph.D. Viatcheslav Kafarov. Codirector: Chemical Engineer. Luis Carlos Fonseca Herreño

## Introducción

La problemática energética que representa el uso de combustibles fósiles como el petróleo, es un tema de mucho interés en la actualidad, debido principalmente a la contaminación que estos producen y al agotamiento de reservas a nivel mundial (Wu et al., 2015). En consecuencia, el progreso en la investigación con miras en el desarrollo y uso de energías limpias y renovables como los biocombustibles, se ha incrementado rápidamente en los últimos años, contribuyendo al desarrollo de técnicas de mitigación del impacto ambiental que genera los gases de efecto invernadero en la atmósfera (Leong, Lim, Lam, Uemura & Ho, 2018).

Actualmente, las microalgas representan un foco de estudio y desarrollo investigativo, como una fuente atractiva de biomasa y materia prima para la producción de biocombustibles de tercera generación y tratamientos de aguas residuales (Cepeda, 2011). Su potencial no se limita a la generación de bioproductos, sino que también son microorganismos capaces de fijar el CO<sub>2</sub> de la atmósfera, ayudando a reducir las emisiones de este gas y su impacto en el ambiente (Pérez & Rodríguez, 2014). Los primeros cultivos de microalgas a gran escala datan de finales de los años 30 durante la segunda guerra mundial, en donde científicos alemanes investigaban métodos económicos de obtención de proteína distinta a la de origen animal. Años más tarde se realizaron estudios con microalgas en Estados Unidos y Japón, enfocados en la investigación de fotosíntesis y fuentes alternativas de proteína vegetal como la soya (Carvalho, Meireles & Malcata, 2006).

Algunas especies de microalgas ofrecen una alternativa de obtención de ácidos grasos incluso más rentable que las de muchas especies de plantas oleaginosas, de donde se puede obtener mucho más aceite por unidad de área plantada (Porrás & Prada, 2012). En este orden de ideas, *Chlorella vulgaris*

se proyecta como una especie promisoría por su alto contenido de biomasa, bajo costo de producción y fácil crecimiento, encontrada como una de las especies más abundantes en lagunas de oxidación y aguas residuales (Rodríguez, Gómez & Peraza, 2014). Sin embargo, Wu et al. (2015) plantea que la tecnología actual no propicia un panorama rentable para la producción a gran escala de bioproductos a partir de microalgas, debido principalmente a la alta demanda energética que implica llevar a cabo la cosecha, es decir, separar la biomasa de su medio de cultivo. Esta dificultad está ligada a su pequeño tamaño (entre 5 y 50  $\mu\text{m}$ ) y carga superficial negativa (aproximadamente 7.5 a 40 mV). En ese sentido, se estima que cosechar la biomasa de microalgas representa más del 30% del costo total de producción. Por lo tanto, encontrar un método que facilite el procesamiento de grandes volúmenes de cultivo es crucial para la producción a gran escala y su viabilidad económica (Vandamme, Foubert & Muylaert, 2010).

No obstante, se pueden reducir significativamente los costos que conlleva la cosecha de microalgas, si se les realiza un procedimiento de pre-concentrado a las células mediante floculación; un método que consiste en adicionar sustancias denominadas floculantes, con el fin de formar agregados más grandes de células, favoreciendo su separación del medio de cultivo (Vandamme, Foubert, Meesschaert & Muylaert, 2014). Este proceso implica la adición de una sustancia de carga positiva que permite neutralizar la carga negativa que rodea a las células de microalgas, provocando su desestabilización en el medio y promoviendo la generación de aglomerados (Porrás & Prada 2012).

Los floculantes se pueden clasificar en dos grupos: Inorgánicos y poliméricos; los inorgánicos conciernen a iones metálicos poli-covalentes ( $\text{Al}^{+3}$ ,  $\text{Fe}^{+3}$ ), entre los más usados se encuentran el cloruro férrico y sulfato de aluminio, en los cuales su efectividad está ligada íntimamente a la carga iónica que poseen. Por otra parte, los floculantes poliméricos abarcan polímeros naturales, artificiales, iónicos y no iónicos, en donde su operatividad se basa en la interacción entre las paredes

de las células y los poli-electrolitos del floculante (Arenas & Peña, 2015). Cabe resaltar, que los floculantes poliméricos son los más utilizados, aunque se ha encontrado que dichos floculantes pueden contaminar la biomasa de microalgas debido al contenido de trazas de componentes tóxicos (Bratby, 2006). En contraste, el uso de floculantes basados en biopolímeros naturales resulta ser una alternativa más segura; entre estos últimos, se destaca el quitosano, el cual es un conocido biopolímero catiónico que ofrece las mejores eficiencias de remoción cuando opera a pH bajo, sin embargo, como la mayoría de cultivos de microalgas son suspensiones alcalinas, se hace necesario un ajuste previo de pH para el floculante (Pérez & Rodríguez, 2014). El sulfato de aluminio es otro ejemplo de polímeros naturales, no obstante, su rango de operación se limita a valores de pH entre 13 y 14, reduciendo su aplicabilidad a diferentes tipos de procesos (Ebeling, Sibrell, Ogden & Summerfelt, 2003). Por otra parte, los floculantes sintéticos ofrecen una alta eficiencia en los procesos de floculación, sin embargo, son sustancias poco biodegradables y su uso es fuente de discusión en diferentes áreas de aplicación como el tratamiento de aguas residuales; un ejemplo de ello es la poliacrilamida, cuyo uso fue suspendido en la eliminación de áreas cultivadas a finales del 2013 (Krentz et al., 2006)

Una de las variables más importantes que intervienen en el proceso de floculación de microalgas es el pH, así como las propiedades en la superficie de la pared celular y la concentración de floculantes (Lee et al, 1998). En este sentido, las propiedades físicas y químicas de las células microalgales son altamente afectadas por la variación de pH, en donde ciertos grupos funcionales (de donde las células reciben su carga negativa y estabilidad de dispersión), se ionizan, desestabilizando la carga de la superficie celular, favoreciendo así la aglomeración y posterior sedimentación de las microalgas. Esto puede ser explicado, cuando en medio ácido, la disminución de pH hace que los grupos carboxilato presentes en la superficie de las microalgas reciban protones, neutralizando la carga de estas, lo cual repercute en la desestabilización de la solución. (Liu et al., 2013)

Por consiguiente, y con el respaldo del Centro de Investigación para el Desarrollo Sostenible en Industria y Energía (CIDES), el presente proyecto plantea evaluar el efecto de del pH y la concentración de floculante, en miras de medir la efectividad de un polímero experimental funcionalizado en la recuperación de la biomasa de *Chlorella vulgaris* UTEX 1803.

## 1. Objetivos

### 1.1 Objetivo general

Evaluar la eficiencia del polímero Poliglicerol funcionalizado en *Chlorella vulgaris* UTEX 1803, en la floculación y concentración de la biomasa de esta cepa.

### 1.2 Objetivos específicos

- Estabilizar el crecimiento de microalgas *Chlorella vulgaris* UTEX 1803 a condiciones de laboratorio.
- Determinar el efecto del pH, tiempo de agitación y concentración de un floculante basado en Poliglicerol funcionalizado en la recuperación de biomasa en microalgas *Chlorella vulgaris* UTEX1803.

## 2. Metodología y materiales

En la Figura 1 se ilustra la metodología utilizada en todo el proceso en el desarrollo del proyecto.

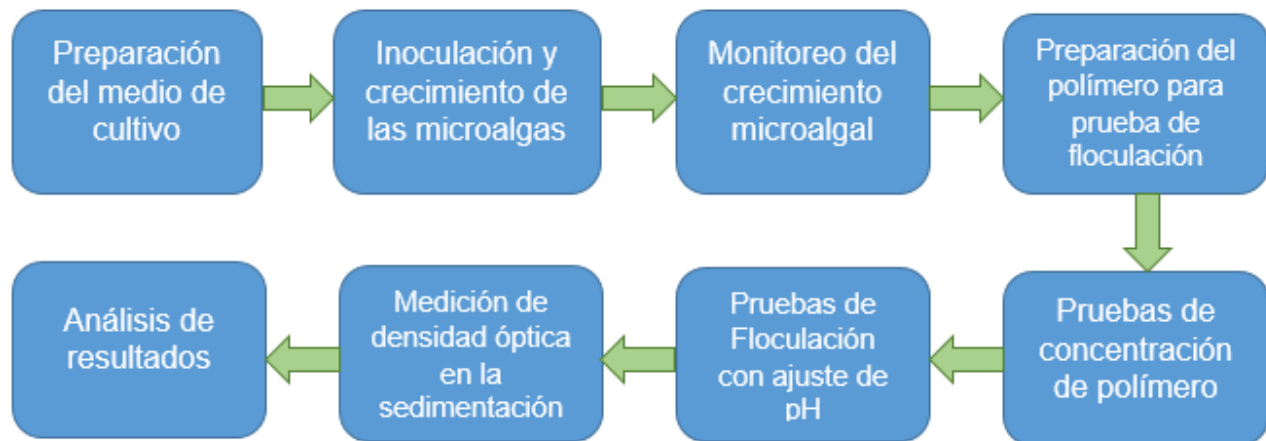


Figura 1. Metodología general

### 2.1 Condiciones del medio y cultivo de microalga

Se mantuvo en crecimiento la cepa *Chlorella vulgaris* UTEX 1803, proveniente de la colección de cultivo de microalgas de la Universidad de Texas UTEX y suministrada por el laboratorio de Biomasa perteneciente al grupo CIDES, la cual se cultivó a escala laboratorio en fotobiorreactores con medio de cultivo Bold Basal (MBB) para su crecimiento. Este medio de fue hecho a partir 10 soluciones stocks, de las cuales se tomaron 20 ml de cada macronutriente y 2 ml de cada micronutriente para luego ser aforados en dos litros de agua desionizada y contenerlos en botellas de vidrio de 2,2 litros, arrojando un pH final de  $(6.7 \pm 0.3)$ . Posteriormente se llevaron a esterilización en autoclave a

condiciones de 121 °C durante 90 minutos siguiendo las recomendaciones de (Andersen 2005). La

Tabla 1 presenta las concentraciones de los nutrientes en cada solución.

Tabla 1.

*Reactivos para la preparación del medio de cultivo.*

Número de Solución Stock	Sustancia	Concentración solución Stock [g/L]	Concentración final en MBB [g/L]
Macronutrientes			
1	NaNO <sub>3</sub>	2,5X10 <sup>-2</sup>	2,94X10 <sup>-3</sup>
2	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	7,5X10 <sup>-3</sup>	3,04X10 <sup>-4</sup>
3	NaCl	2,5 X10 <sup>-3</sup>	4,28X10 <sup>-4</sup>
4	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	7,5X10 <sup>-3</sup>	4,31X10 <sup>-4</sup>
5	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,75X10 <sup>-2</sup>	1,29X10 <sup>-3</sup>
6	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	2,5 X10 <sup>-3</sup>	1,70X10 <sup>-4</sup>
Micronutrientes			
7	EDTA	5,0X10 <sup>-2</sup>	1,71X10 <sup>-4</sup>
	KOH	3,1X10 <sup>-2</sup>	5,53X10 <sup>-4</sup>
8	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	4,98X10 <sup>-3</sup>	1,79X10 <sup>-5</sup>
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,84X10 <sup>-3</sup>	1,84X10 <sup>-6</sup>
9	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	11,42X10 <sup>-2</sup>	1,85X10 <sup>-4</sup>
10	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8,82X10 <sup>-3</sup>	3,07X10 <sup>-5</sup>
	MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	1,44X10 <sup>-3</sup>	7,28X10 <sup>-6</sup>
	MoO <sub>3</sub>	7,1X10 <sup>-4</sup>	4,93X10 <sup>-6</sup>
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	1,57X10 <sup>-3</sup>	6,29X10 <sup>-6</sup>
	Co (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	4,9X10 <sup>-4</sup>	1,68X10 <sup>-6</sup>

*Nota.* Adaptado de Andersen, R. A. (2005). Algal culturing techniques. Elsevier Academic Press

Los foto-biorreactores consistieron en un montaje de botellas de vidrio de 2,2 litros y volumen de trabajo de 2 litros como se muestra en la Figura 2, acopladas a un sistema de iluminación artificial luz-oscuridad 12:12 y aireación por burbujeo constante, siendo condiciones operacionales que permiten proveer una fuente de carbono, reducir la sedimentación de microalgas y nutrientes, y mantener un mayor grado de homogeneidad del cultivo, lo cual promueve un ambiente de exposición a la luz y los nutrientes necesarios para el crecimiento. Los cultivos se mantuvieron a temperatura ambiente (entre 19°C y 25°C) y pH propio del cultivo, el cual varió en torno a su crecimiento en un rango de 8 a 11.



*Figura 2.* Fotobiorreactores a escala laboratorio.

## **2.2 Características principales del polímero utilizado para las pruebas de floculación**

El floculante utilizado es un polímero experimental sintetizado en medio ácido a partir de poliglicerol (proveniente de la industria como desecho), el cual está conformado en mayor proporción por glicerol y oligoglicerol. Entre sus características principales se encuentra un alto peso molecular, carácter

catiónico, contenido de aminas primarias y trazas de impurezas como oligómeros, monómeros y óxidos.

### **2.3 Seguimiento y monitoreo del crecimiento de los cultivos**

Para determinar la variación en la concentración de biomasa durante el tiempo de crecimiento, se tomaron 4 ml diarios de cada cultivo para medir su densidad óptica (OD), utilizando un espectrofotómetro (Spectroquant Pharo 300, MERCK), a una longitud de onda de 750 nm. Esta longitud de onda ofrece poca variabilidad en la medición de OD en relación a los pigmentos de las células (Griffiths, Garcin, Van Hille, & Harrison, 2011), por consiguiente, se disminuye el error en la medición final de biomasa en el cultivo.

### **2.4 Condiciones para la realización de pruebas de floculación**

A partir del monitoreo del crecimiento de las microalgas, la experimentación se realizó cuando estas se encontraban en OD entre 1 y 1,5; intervalo en el cual estas se encuentran en fase exponencial de crecimiento, reduciendo el porcentaje de error en los cálculos de remoción, a causa de células muertas y/o sedimentación espontánea.

Para las pruebas se tomaron 800 ml de cultivo de microalgas, los cuales fueron distribuidos en diez vasos de precipitado de 100 ml con una cantidad de 80 ml de cultivo. Se colocaron en una plancha con agitación magnética de 10 puestos, para homogeneizar las concentraciones respectivas de polímero adicionado en cada tratamiento. Se emplearon dos fases de agitación: la primera de mezcla rápida con una rapidez de 120 rpm durante 2 minutos, permitiendo la formación de flóculos

por la interacción entre las células (Palomino, 2013), y una agitación lenta de 30 rpm por 60 minutos. Cada prueba se realizó por duplicado para la corroboración de los resultados obtenidos.

## 2.5 Diseño experimental

En la revisión bibliográfica realizada previamente a la experimentación, se encontró que en procesos de floculación, son muy utilizadas las concentraciones cercanas a 10 ppm (Perez & Rodríguez, 2014), y otros autores utilizaron concentraciones superiores (500 y 1000 ppm) para la experimentación (Arenas & Peña, 2015). Se realizó un barrido inicial de 10 concentraciones entre 5 y 1250 ppm, en el cual no se observó un porcentaje significativo de remoción de biomasa por floculación. Por tanto, se decidió realizar pruebas en un rango de concentraciones superiores, desde 1800 ppm hasta 10000 ppm, evidenciando en este rango un efecto importante en la remoción de biomasa. Las concentraciones empleadas se clasificaron como se muestra en la Tabla 2.

Determinados los mejores porcentajes de remoción en estas pruebas preliminares, se decide seguir con el estudio de cada tratamiento solo a estas concentraciones (rango alto) y evaluarlo a pH=3, pH=4 y pH=5, con la previa neutralización del polímero, esto debido a que en este rango, la solución de floculante que se adiciona se encuentra con un pH muy bajo (entre 0,55 y 0,63), comparado con el del cultivo, causando que el pH final en el tratamiento disminuya a niveles en los que predomina la autofloculación por pH. En la tabla 3 se presenta la fase experimental de floculación con efecto combinado concentración/pH.

Tabla 2.

*Fase preliminar del diseño experimental.*

Clasificación en rango	Experimento	Concentración polímero [ppm]	Agitación Rápida [rpm]	Agitación Lenta [rpm]
<b>Bajo</b>	1	5	120	30
	2	10	120	30
	3	35	120	30
	4	70	120	30
	5	100	120	30
<b>Medio</b>	6	300	120	30
	7	500	120	30
	8	750	120	30
	9	1000	120	30
	10	1250	120	30
<b>Alto</b>	11	1800	120	30
	12	3000	120	30
	13	4500	120	30
	14	7000	120	30
	15	10000	120	30

Tabla 3.

*Diseño experimental de floculación.*

pH	Experimento	Concentración polímero [ppm]	Agitación Rápida [rpm]	Agitación Lenta [rpm]
<b>3</b>	1	1800	120	30
	2	3000	120	30
	3	4500	120	30
	4	7000	120	30
	5	10000	120	30
<b>4</b>	6	1800	120	30

pH	Experimento	Concentración		Agitación	
		polímero [ppm]	Rápida [rpm]	Lenta [rpm]	
5	7	3000	120	30	
	8	4500	120	30	
	9	7000	120	30	
	10	10000	120	30	
	11	1800	120	30	
	12	3000	120	30	
	13	4500	120	30	
	14	7000	120	30	
	15	10000	120	30	

## 2.6 Mediciones de los tratamientos

Una vez terminó la fase de agitación lenta, se tomaron alícuotas de 0.5 ml cada 15 minutos durante una hora, a una altura aproximada de 0,5 cm de la superficie de cada tratamiento, posteriormente fueron medidas en el espectrofotómetro con una longitud de onda 750 nm.

Para la determinación del porcentaje de remoción y eficiencia en la floculación, se utilizaron las siguientes ecuaciones, adaptadas de (Salim, Bosma, Vermuë, & Wijffels, 2011).

$$\text{Porcentaje de remoción de biomasa} = \left( 1 - \frac{\text{Densidad óptica final}}{\text{Densidad óptica inicial}} \right) * 100 \quad (1)$$

$$\text{Eficiencia de remoción} = \left( 1 - \frac{\frac{\text{Densidad óptica final tratamiento}}{\text{Densidad óptica inicial tratamiento}}}{\frac{\text{Densidad óptica final control}}{\text{Densidad óptica inicial control}}} \right) * 100 \quad (2)$$

Donde “Densidad óptica inicial” es la OD medida antes de comenzar la agitación, y “Densidad óptica final” es la OD medida una vez terminados los 60 minutos de agitación.

## 2.7 Metodología para la floculación y descripción de tratamientos

**2.7.1 Evaluación del efecto del pH en cultivos de algas.** Para evaluar el efecto del pH en la floculación, se realizaron experimentos sin adición de polímero desde pH=2 hasta pH=11, en donde se ajustó el pH de cada solución con NaOH y HCL.

Cuando el pH del medio alcanza valores entre 2 y 3, la carga neta de la superficie celular se ioniza y se vuelve cero por la presencia del ácido, dando como resultado la probabilidad que las microalgas puedan interactuar entre ellas sin que exista repulsión, formando aglomerados y sedimentación de células; fenómeno denominado autofloculación. Una desventaja de operar a estos bajos valores de pH, es la posible desnaturalización de las células, ocasionando un cambio en la pigmentación y su ruptura celular (Palomino, 2013).

## 3. Resultados

### 3.1 Crecimiento y monitoreo de cultivo

Con los datos obtenidos en las mediciones de densidades ópticas de los cultivos, se consiguió elaborar una curva de crecimiento estable y repetible de esta cepa de microalgas, bajo las condiciones de cultivo previamente establecidas. La Figura 3 muestra el comportamiento del cultivo en términos de densidad óptica y tiempo, en donde se aprecia una tendencia de crecimiento exponencial durante los primeros 30 días, alcanzando mediciones de OD cercanos a 7, valor en el cual se observa de una fase de estabilización de la curva hasta el final de los valores medidos. Este comportamiento en el

crecimiento es encontrado con tendencias similares en diferentes fuentes bibliográficas, por ejemplo, López Y (2015), muestra datos graficados de crecimiento en *Chlorella vulgaris* para distintos ambientes de cultivo, en donde se aprecian resultados semejantes con los presentados en el presente proyecto.

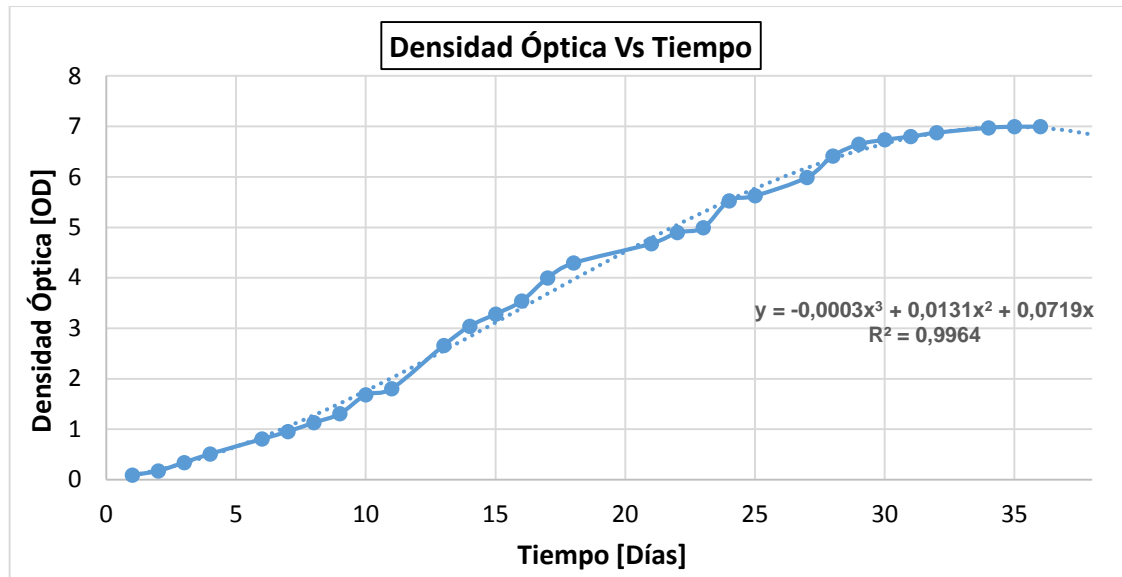


Figura 3. Cinética de crecimiento de *Chlorella vulgaris* en MBB.

### 3.2 Efecto de la concentración de polímero en la floculación

Las pruebas de floculación en las cuales se evaluaron los distintos rangos de concentración de polímero, arrojaron datos referentes a la remoción de microalgas, de donde se obtuvo que para el rango más alto de concentraciones de polímero (1800 a 10000 ppm), la remoción alcanza valores superiores al 80%, la cual es significativamente mayor comparada con los rangos medio y bajo de concentraciones, en donde se obtienen remociones inferiores al 20%. Los resultados obtenidos en todo el espectro de concentraciones se presentan en las Figura 4.

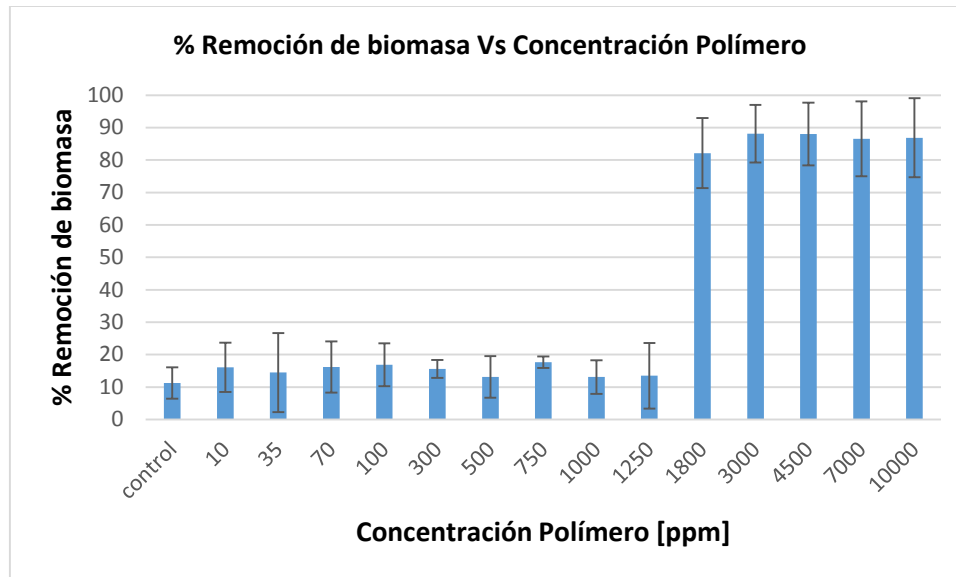


Figura 4. Porcentaje de remoción en pruebas preliminares a distintas ppm.

### 3.3 Efecto del pH en la floculación

**3.3.1 El pH sobre el cultivo de microalgas.** La Figura 5 indica los resultados que se obtuvieron en las pruebas de barrido de pH, donde se alcanzaron los valores más altos de remoción celular en las soluciones con pH=2 y pH=3, así mismo, conforme el pH aumentó, también se redujo la cantidad de microalgas removidas en el cultivo. En efecto, se observa que a partir de valores de  $\text{pH} \geq 5$ , la remoción final no supera el 18%. Este fenómeno es descrito según Liu (2013) como autofloculación generada por pH, en donde los altos niveles de acidez fomentan la ionización de grupos funcionales en la superficie microalgal (carboxilatos), provocando una desestabilización en la suspensión. Esto hace que las cargas en la pared celular se neutralicen, lo cual propicia la aglomeración.

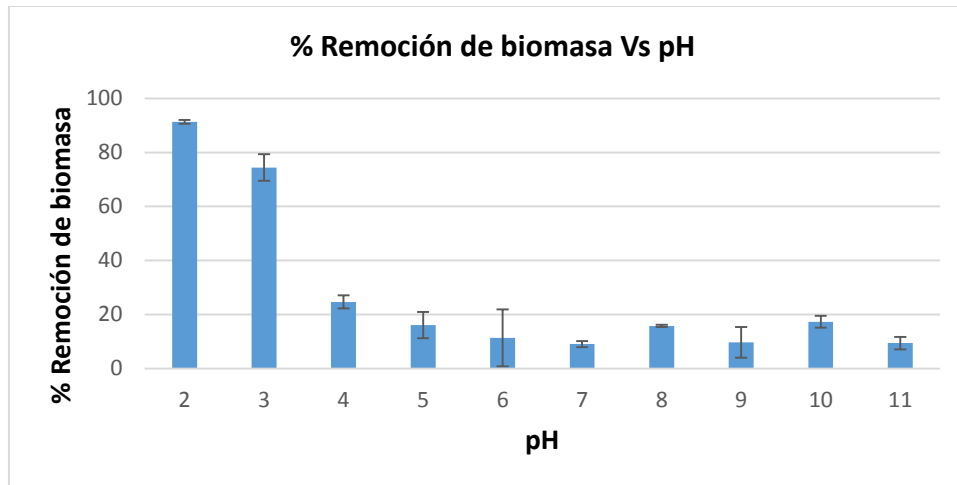


Figura 5. Porcentajes de remoción por autofloculación.

La Figura 6 ofrece un referente visual para los datos de la figura previamente mencionada, evidenciando a través de las distintas tonalidades de color, la remoción de microalgas de forma cualitativa después de 60 minutos de sedimentación.



Figura 6. Barrido experimental de pH.

**3.3.2 El pH sobre la floculación, efecto combinado.** Por último, la Figura 7 arroja una comparativa entre las pruebas hechas en pH=3; pH=4 y pH=5, en donde se aprecia que para pH=3,

los porcentajes de remoción fueron similares en todas las concentraciones de polímero, con un ligero aumento comparado con el control.

Esto puede explicarse debido a que, en ese valor de pH, la autofloculación por acidez es el factor dominante en el proceso, por lo tanto, el impacto que pueda realizar el polímero estaría opacado por la desestabilización en la solución a causa del pH. Por otra parte, los resultados de las pruebas a pH=4 tuvieron un porcentaje de remoción de células que aumentó a medida que la concentración de polímero incrementó. Sin embargo, los valores de remoción para el control, dan evidencia que, para este valor de pH en la suspensión, este no tuvo un efecto significativo comparado con el que demostró en la prueba con pH=3, lo cual sugiere que los resultados obtenidos en el porcentaje de remoción para esta prueba, fueron causados en mayor proporción por el efecto del polímero que por el efecto del pH al que se llevó a cabo esta prueba. Finalmente, para la prueba a pH=5, los datos muestran que, para ese grado de acidez, los valores de remoción de microalgas son muy bajos en comparación con los de pH=3 y pH=4.

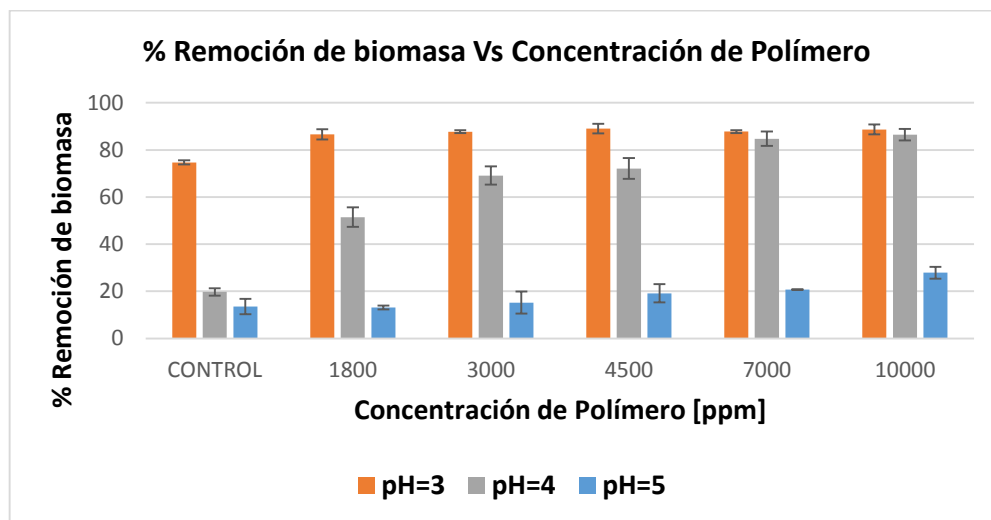


Figura 7. Comparación entre pruebas a pH=3; pH=4; pH=5.

En las Figuras 8, 9 y 10 se observa la remoción que se obtuvo a partir de las pruebas de floculación realizadas para los valores de pH 3, 4 y 5 respectivamente, en el rango alto de concentraciones estudiado, evidenciando que a pH=4 y 10000 ppm se evidencia mejor aporte del polímero en la floculación.

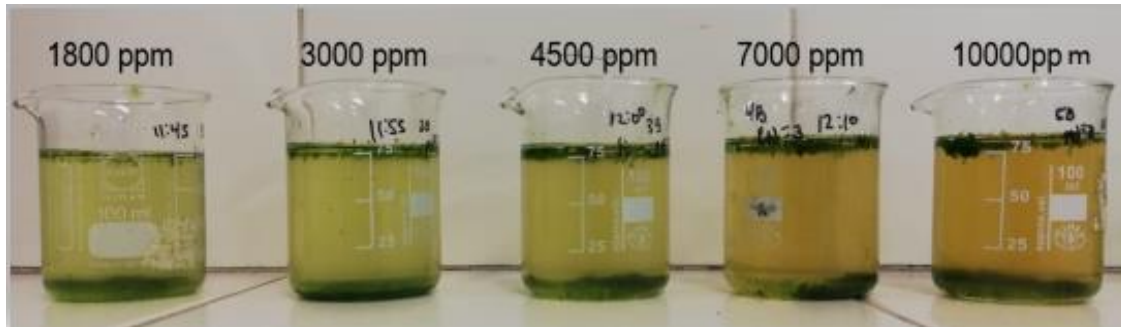


Figura 8. Remoción final en la floculación con ajuste de pH=3.

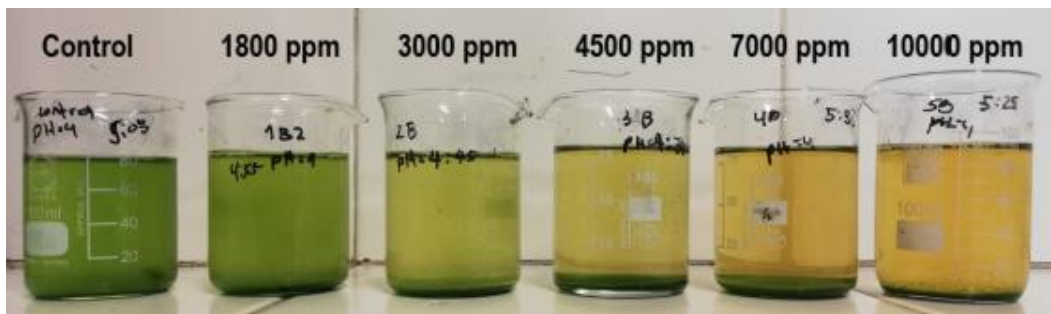


Figura 9. Remoción final en la floculación con ajuste de pH=4.

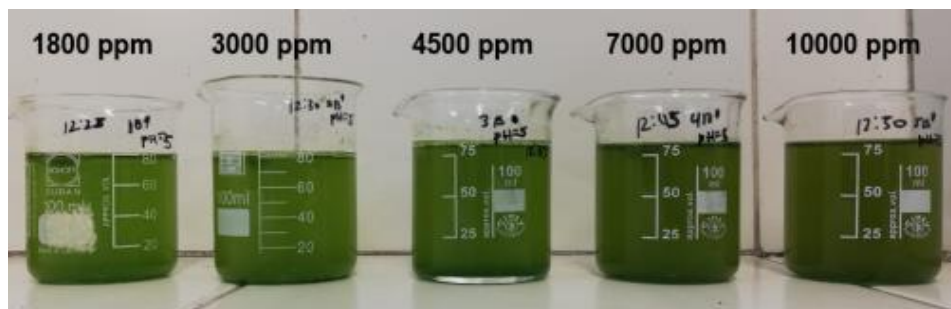


Figura 10. Remoción final en la floculación con ajuste de pH=5.

### 3.4 Eficiencia del polímero en la floculación

La eficiencia de remoción calculada en estas pruebas representa la variación del efecto del polímero con respecto al control, es decir, el efecto de remoción que ejerce el floculante con respecto a una prueba sin este. Los datos obtenidos en los experimentos a pH 3, 4 y 5 en las concentraciones estudiadas fueron graficados en la Figura 11. Estos muestran que para las pruebas realizadas en pH=3, se alcanzaron eficiencias de remoción semejantes en todas las concentraciones de polímero, oscilando entre 46-62%, lo cual sugiere que el efecto de remoción del polímero es similar en todas las concentraciones. Así mismo, en la experimentación con pH=4, se observó una eficiencia de remoción creciente a medida que aumentó la concentración de floculante, alcanzando un valor máximo (83,27%) a una concentración de 10000 ppm. En este caso, el floculante genera una mayor eficiencia de remoción en las concentraciones más altas, relacionada con el efecto a pH=3. Finalmente, los resultados a pH=5, no fueron significativos en la eficiencia de remoción, comparados con las pruebas anteriormente descritas, en donde los resultados no superaron el 8,99%.

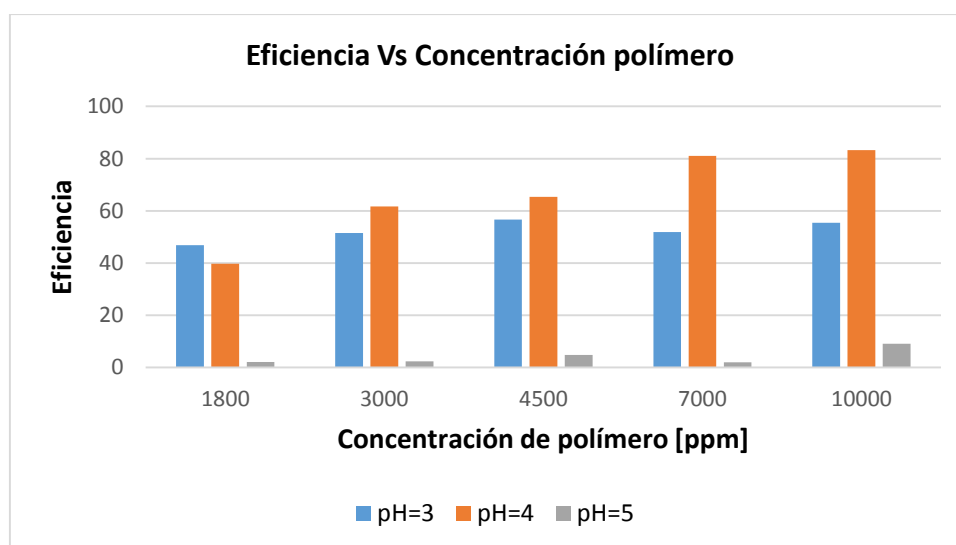


Figura 11. Eficiencia de remoción del polímero.

### 3.5 Densidad óptica aportada por el polímero

Los resultados en las mediciones de aporte de densidad óptica por parte del polímero se muestran en la Tabla 4, en la cual se evidencia que este aporte es bajo con respecto a las densidades ópticas de las soluciones estudiadas.

Tabla 4.

*Densidad óptica del polímero en las concentraciones del rango alto.*

Densidad óptica en las distintas concentraciones de polímero	
ppm	Aporte
1800	0,008
3000	0,014
4500	0,018
7000	0,020
10000	0,022

Tomando como referencia el máximo valor de porcentaje de remoción alcanzado en todas las pruebas realizadas, se establece un porcentaje de error máximo de 1,67%, aportado por la densidad óptica del polímero en la solución.

La Figura 12 permite observar la coloración que aporta el polímero en las concentraciones aplicadas a la experimentación, constatando de manera cualitativa que el aporte en densidad óptica se incrementó conforme la concentración de floculante también lo hizo.

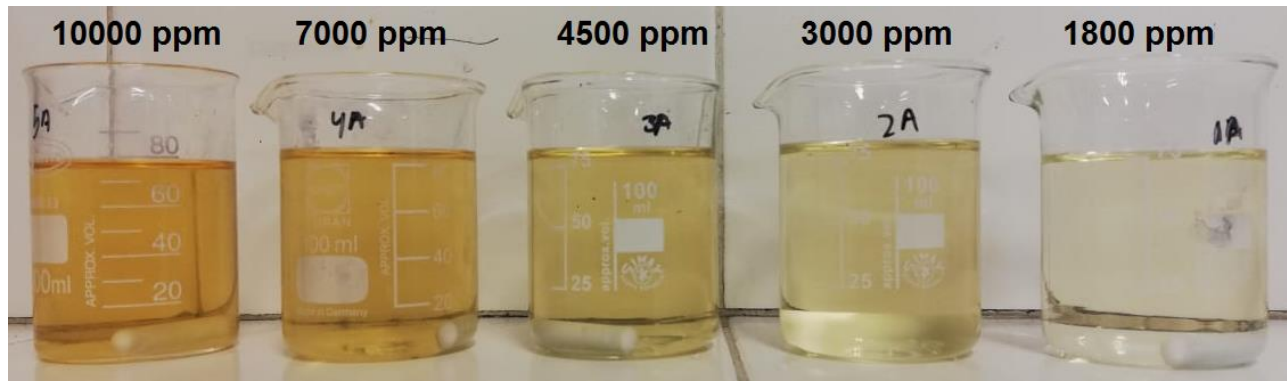


Figura 12. Coloración del polímero en solución acuosa en el rango alto de concentraciones estudiadas.

#### 4. Conclusiones

- El grado de concentración de floculante repercute de manera significativa en el porcentaje de remoción del proceso, donde se obtuvieron los mayores resultados de remoción para el rango más alto de concentración del polímero.
- Bajo las condiciones experimentales estudiadas, la autofloculación tuvo mayor efecto para valores de pH inferiores a 4, en este rango de pH se evidencia que este fenómeno es el que predomina en el proceso, enmascarando el efecto del polímero en determinadas pruebas de floculación en microalgas.
- A pH=4, para una concentración de 10 g/l (10000ppm) se obtuvo un aumento en el porcentaje de remoción del 61,84% con respecto al control.

- La eficiencia de remoción indicó que para las pruebas a pH=4 el efecto del polímero fue más evidente, encontrando resultados de eficiencia superiores al 80% para las dos concentraciones más altas del rango evaluado.
- Dado que la densidad óptica brindada por el polímero sobre la solución, no supera el 1,67% en los cálculos de porcentaje de remoción, se concluye que este aporte es despreciable para efectos de los resultados.

## 5. Recomendaciones

- Se recomienda ampliar el intervalo de concentración del polímero experimental utilizado en las pruebas, con el fin de encontrar un porcentaje de remoción óptimo.
- Estudiar el efecto de la velocidad de agitación rápida y lenta para pruebas de floculación con este polímero.
- Estudiar procedimientos para eliminar la cantidad de impurezas (oligómeros, monómeros y óxidos) con el fin de reducir las cantidades de polímero utilizado.
- Ya que el pH puede causar desnaturalización de las células, ocasionando cambios en la pigmentación e incluso rompimiento en estas, se recomienda no realizar las pruebas de floculación a niveles de acidez menores a pH=4.

### Referencias bibliográficas

- Andersen, R. A. (2005). Algal culturing techniques. *Elsevier Academic Press*.
- Arenas Carrillo, I. N., & Peña, Peña, L. M. (2015). Evaluación del efecto del cloruro de aluminio (AlCl<sub>3</sub>) en la recuperación de biomasa e hidrocarburos de *Botryococcus Braunii*. Santander Universidad Industrial De Santander, Bucaramanga: Colombia.
- Bratby, J. (2006). Coagulation and flocculation in water and wastewater treatment. Second edition. *IWA Publishing*. Seattle: London.
- Carvalho, A., Meireles, L., & Malcata, F. (2006). Microalgal Reactors: A Review of Enclosed System Designs and Performances. Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa. Porto: Portugal.
- Cepeda, A. (2011). Estudio de la capacidad de secuestro de CO<sub>2</sub> de *Chlorella vulgaris* UTEX 1803 en aguas residuales industriales en foto-biorreactores a escala laboratorio. Universidad Industrial De Santander, Bucaramanga: Colombia.
- Ebeling, J., Sibrell, P., Ogden, S., Summerfelt, S. (2013). Evaluation of chemical coagulation-flocculation aids for the removal of suspended solids and phosphorus from intensive recirculating aquaculture effluent discharge. *Aquacultural Engineerin*, 29 (1-2), 23-42.
- González, A & Kafarov, V. (2011). Microalga based bio refinery: Issues to Consider. *C.T.F Ciencia. Tecnología y Futuro*. 4(4). Universidad Industrial De Santander, Bucaramanga: Colombia.
- Griffiths, M., Garcin, C., Van Hille, R & Harrison, S. (2011). Interference by pigment in the estimation of microalgal biomass concentration by optical density. *Journal of Microbiological Methods*, 85, 119–123.
- Jinheng, W., Jiexia, L., Lifang, L., Chengwu, Z., Aifen, L., Yi, Z. & Yuanming, Z. 2015. Evaluation of several flocculants for flocculating microalgae. *Bioresource Technology*, 197, 495–501.

- Krentz, D., Lochmann, C., Schwarz, S., Bratskaya, S., Liebert, T., Laube, J., Heinze, T & Kulicke, W. (2006). Properties and Flocculation Efficiency of Highly Cationized Starch Derivatives. *Starch/Stärke*, 58, 161–169.
- Lee, S., Kwon, G., Kim, J., & Yoon, B. (1998). Effects of harvesting method and growth stage on the flocculation of the green alga *Botryococcus Braunii*. *Letters in Applied Microbiology*, 7, 14–18.
- Leong, W., Lim, J., Lam, M., Uemura, Y & Ho, Y. 2018. Third generation biofuels: A nutritional perspective in enhancing microbial lipid production. Universiti Teknologi PETRONAS. Perak Darul Ridzuan, Malaysia. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 91, 950-961.
- Liu, J., Zhu, Y., Tao, Y., Zhang, Y., Li, A., Li, T., Sang, M & Zhang, C. (2013). Freshwater microalgae harvested via flocculation induced by pH decrease. BioMed Central Ltd. *Biotechnology for Biofuels*, 6(98), 2-11.
- López, Y. (2015). Cultivo de *Chlorella Vulgaris* en un fotobiorreactor *Airlift* de tubos concéntricos con capacidad de 17 litros. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. México D.F.
- Palomino, A., (2013). Extracción de aceite de microalgas. Universidad del Valle. Escuela de Ingeniería Química. Santiago de Cali: Colombia
- Pérez Eslava, H. A., & Rodríguez Moreno, L. G. (2014). Evaluación del biopolímero fo4990 en la floculación De *Chlorella vulgaris* UTEX 1803. Universidad Industrial De Santander, Bucaramanga: Colombia.
- Porras, L & Prada, C. (2012). Efecto del tiempo de cultivo en la productividad de metabolitos de valor agregado en *Chlorella Vulgaris* UTEX 1803. Universidad Industrial De Santander, Bucaramanga: Colombia.
- Rodríguez, L., Gómez, L & Peraza, Y. 2014. Evaluación del crecimiento de *Chlorella Vulgaris* en diferentes concentraciones de vinaza. Universidad Central Martha Abreu de Villas. Santa Clara: La Habana Cuba.
- Salim, S., Bosma, R., Vermuë M & Wijffels, R. (2010). Harvesting of microalgae by bio-flocculation. *Appl Phycol*, 23, 849–855.

Vandamme, D., Foubert, I., Meesschaert, B., & Muylaert, K. (2010). Flocculation of microalgae using cationic starch. Belgium: KU Leuven Kulak, Laboratory Aquatic Biology, E. Sabbelaan 53, 8500 Kortrijk.

Vandamme, D., Foubert, I., Meesschaert, B., & Muylaert, K. (2014). Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production. Belgium: KU Leuven Kulak, Laboratory Aquatic Biology, E. Sabbelaan 53, 8500 Kortrijk.

Wu, J., Liu, J., Lin, L., Zhang, C., Li, A., Zhu, Y & Zhang, Y., 2015. Evaluation of several flocculants for flocculating microalgae. *Bioresource Technology*, 197, 495–501