

**DISEÑO Y MONTAJE DE UN FOTOBIORREACTOR A ESCALA
LABORATORIO PARA LA PRODUCCIÓN DE MICROALGAS.**

**FREDY ALEXANDER LOPEZ AYALA
ROBERTO CARLOS ROJAS PRADA**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2010

**DISEÑO Y MONTAJE DE UN FOTOBIORREACTOR A ESCALA
LABORATORIO PARA LA PRODUCCIÓN DE MICROALGAS.**

**FREDY ALEXANDER LOPEZ AYALA
ROBERTO CARLOS ROJAS PRADA**

**Trabajo presentado como requisito para el grado de
Ingeniero Químico**

Director

**VIATCHESLAV KAFAROV
PhD. Ingeniero Químico**

Codirectores

**ANDRES BARAJAS Biólogo
OSCAR CASAS**

M, Sc. Ingeniero Químico, ICP-ECOPETROL

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2010

AGRADECIMIENTOS

Los autores del presente libro expresan sus agradecimientos a:

A nuestros padres por la ayuda incondicional que nos han brindado.

A nuestros amigos que nos han acompañado a lo largo de la carrera y que han estado a nuestro lado durante este proceso de formación académica universitaria.

Al Dr. Viatcheslav Kafarov por su valioso aporte tanto en la dirección como en el apoyo incondicional en la parte investigativa y académica durante la realización del presente proyecto de investigación.

Al Ingeniero Químico Oscar Casas y al biólogo Andrés Barajas por su colaboración durante el tiempo de desarrollo del trabajo investigativo.

A los profesores de Ingeniería Química, quienes han puesto a nuestra disposición sus conocimientos y su entereza en pro de nuestra formación profesional.

Al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural por el apoyo brindado, gracias al proyecto “Bioprospección de microalgas colombianas para la producción de biodiesel” código 2008D32006-6710 y al Instituto Colombiano del Petróleo por su colaboración y apoyo en el presente trabajo.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
1. MARCO TEÓRICO	2
1.1 Definición de fotobiorreactor	2
1.2 Criterios de diseño del fotobiorreactor	3
1.2.1 Descripción general de fotobiorreactor	3
1.2.2 Relación entre Superficie iluminada y volumen	4
1.2.3 Transferencia de masa del gas	5
1.2.4 Suministro de Carbono	5
1.2.5 Transferencia de CO ₂	5
1.2.6 Tamaño de burbuja	6
1.2.7 Remoción de oxígeno	7
1.2.8 Mezclado y dispositivos inyectoros de gas	7
1.2.9 Parámetros de daño y muerte celular	9
1.2.10 Control de temperatura	10
1.2.11 Requerimientos de luz	10
1.2.12 Materiales de construcción	11
2. MARCO METODOLÓGICO PARA EL DISEÑO Y MONTAJE DE UN FOTOBIORREACTOR A ESCALA DE LABORATORIO PARA LA PRODUCCIÓN DE MICROALGAS	12
2.1 Primera etapa. Revisión bibliográfica	12
2.2 Segunda etapa. Desarrollo de pruebas preliminares	13
2.3 Tercera etapa. Diseño y montaje de fotobiorreactor	15
2.4 Cuarta etapa. Puesta en marcha y pruebas en el fotobiorreactor	15
3. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS Y ANÁLISIS	16
CONCLUSIONES	25

RECOMENDACIONES	26
BIBLIOGRAFÍA	27
ANEXOS	33

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Configuración del fotobiorreactor.	4
Figura 2. Diagrama de flujo para la corriente de entrada de gas.	6
Figura 3. Patrones de flujo.	8
Figura 4. Metodología del diseño y montaje de fotobiorreactor a escala laboratorio para la producción de microalgas.	12
Figura 5. Crecimiento Celular en los diferentes medios.	16
Figura 6. Valor promedio en la producción de los 3 medios.	17
Figura 7. Variación del pH en el cultivo de microalgas.	21
Figura 8. Variación de la temperatura del cultivo de microalgas.	22
Figura 9. Concentración celular del cultivo de microalgas.	22

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Medición de la intensidad de luz en el fotobiorreactor.	17
Tabla 2. Composición del flujo de aire inyectado en el fotobiorreactor.	17
Tabla 3. Medición del flujo de aire inyectado en el fotobiorreactor.	18
Tabla 4. Condiciones del cultivo en el fotobiorreactor.	24

LISTA DE IMÁGENES

	Pág.
Imagen 1. Inicio de inoculos en erlenmeyers.	13
Imagen 2. Inoculos en envases plásticos de 500 ml y en el biorreactor y envases de 2.5 L.	14
Imagen 3. Fotobiorreactor de prueba en bolsa plástica calibre 4.0	14
Imagen 4. Cultivo de microalgas en el biorreactor.	15

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Clasificación general de los fotobiorreactores.	33
Anexo B. Principales característica de los organismos fototróficos.	34
Anexo C. Reseña histórica de los fotobiorreactores.	40
Anexo D. Fotobiorreactores a escala comercial.	52
Anexo E. Planos de diseñado y montaje del fotobiorreactor.	56
Anexo F. Composición de los medios de cultivo de microalgas.	58
Anexo G. Equipos utilizados en las pruebas realizadas en el fotobiorreactor.	60
Anexo H. Transferencia de masa gas-liquido en columnas de burbujeo.	65
Anexo I. Método para calcular el coeficiente de transferencia de masa volumétrico global.	70
Anexo J. Datos tabulados de pruebas realizadas al cultivo.	72
Anexo K. Poster de IV Simposio de Química aplicada, SIQUIA 2009.	73

RESUMEN

TITULO: DISEÑO Y MONTAJE DE UN FOTOBIORREACTOR A ESCALA LABORATORIO PARA LA PRODUCCIÓN DE MICROALGAS.*

AUTORES: FREDY ALEXANDER LÓPEZ AYALA
ROBERTO CARLOS ROJAS PRADA **

PALABRAS CLAVE: BIOTECNOLOGÍA, FOTOBIORREACTORES, COLUMNA DE BURBUJEO, MICROALGAS.

Los avances científicos han permitido la obtención de mejores técnicas de cultivo de microalgas para la producción de biocombustibles. Sin embargo, el diseño y uso racional de los fotobiorreactores se encuentra todavía en su etapa de desarrollo. En el presente trabajo se hace una revisión de los principales criterios para el diseño de un fotobiorreactor a escala laboratorio, teniendo en cuenta las configuraciones de una columna de burbujeo, con el fin de diseñar y montar un fotobiorreactor que permite estudiar las diferentes variables del proceso de cultivo de microalgas. Se hace una revisión de los principales criterios de diseño tales como, relación entre superficie iluminada y volumen, transferencia de gas (suministro y transferencia de CO₂, tamaño de burbuja, remoción del oxígeno disuelto), mezclado, parámetros de daño y muerte celular, control de temperatura, requerimientos de luz y materiales de construcción. Todos estos parámetros se analizaron con el objetivo de determinar su influencia en el cultivo con el fin de obtener una alta densidad celular. El reactor ha sido diseñado y montado en el laboratorio.

Este trabajo fue apoyado por el proyecto “bioprospección de microalgas colombianas para la producción de biodiesel” con código 2008D32006 - 6710 financiado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural con la participación de la Universidad Industrial de Santander , el Instituto Colombiano del Petróleo ICP - ECOPETROL y la Corporación Instituto de Morrosquillo.

* Proyecto de grado.

** Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Dir. Dr. Viatcheslav Kafarov. Ingeniero Químico PhD. Codir. Andrés Barajas. Biólogo. Oscar Casas. M.Sc. Ingeniero Químico.

ABSTRACT

TITLE: DESIGN AND CONSTRUCTION OF A LABORATORY SCALE PHOTOBIOREACTOR FOR THE PRODUCTION OF MICROALGAE.*

AUTHOR: FREDY ALEXANDER LÓPEZ AYALA
ROBERTO CARLOS ROJAS PRADA**

KEYWORDS: BIOTECHNOLOGY, PHOTOBIOREACTOR, BUBBLE COLUMN, MICROALGAE.

The Scientific advances have enabled the achievement of better techniques for growing in culture microalgae for biofuel production. However, the design and rational use of the photobioreactors lays on developmental stage at present day. In this research it has made a review of the main criteria for the design of a laboratory - scale photobioreactor, taking the configurations of a bubble column, in order to design and to build photobioreactor that allow us to study the different process variables of the microalgae cultivation. Revision of the principal design criteria are studied, therefore, relationship between lighten surface and volume, gas transfer (supply and CO₂ transfer, bubble size, dissolved oxygen removal), mixing, cellular death and damage parameters, temperature control, light requirements and construction materials; All these parameters were analyzed in order to determine their influence on the culture to obtain a high cell density. The photobioreactor has been designed and built in the lab.

This work was supported by the project, "Colombian bioprospecting microalgae for biodiesel production" with code 2008D32006 - 6710 funded by the Ministry of Agriculture and Rural Development with the participation of the Universidad Industrial de Santander, the Colombian Petroleum Institute ICP - ECOPEL and the Corporation Morrosquillo Institute.

* Degree Work.

**Universidad Industrial de Santander. Physical-Chemical Faculty. Chemical Engineering Department. Dir. Dr. Viatcheslav Kafarov. Chemical Engineer PhD. Codir. A Andrés Barajas. Biologist. Oscar Casas. Chemical Engineer M.Sc.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, diversos países han implementado una serie de políticas para incentivar la producción y el uso de biocombustibles a partir de diferentes aceites extraídos del maíz, soya, palma entre otros. Pero algunos estudios realizados en los últimos años han encontrado en las microalgas, una potencial fuente de biocombustibles, para reemplazar los combustibles fósiles, causantes del cambio climático del cual Colombia no es exenta.

La tercera generación de biocombustibles está enfocada en las microalgas las cuales poseen notables ventajas en comparación con otras materias primas como la palma, el maíz, la soya, la higuera entre otros.

A pesar del gran interés en los biocombustibles producidos a partir de microalgas, el aspecto económico del proceso está aun por mejorar para hacerlo viable. Por ello, se pretende encontrar un fotobiorreactor estándar para el cultivo de microalgas colombianas, que permita el estudio de las principales variables y parámetros del proceso.

En los últimos años los fotobiorreactores tubulares verticales han recibido mucha atención, ya que permiten establecer cultivos de alta densidad celular mayores en comparación con sistemas tubulares tipo carrusel (Carvalho *et al.* 2006).

Es por lo anterior, que se plantea el diseño y montaje de un fotobiorreactor que permita una operación favorable para el cultivo de microalgas a escala laboratorio, en el marco del proyecto “Bioprospección de microalgas colombianas para la producción de biodiesel”, financiado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 DEFINICIÓN DE FOTOBIORREACTOR.

Es un biorreactor que incorpora algún tipo de fuente de luz para proporcionar una fuente de energía fotónica en el reactor. Prácticamente cualquier recipiente transparente se podría llamar fotobiorreactor, sin embargo dicho término es comúnmente utilizado para definir un sistema cerrado, frente a un estanque (*open pond*). Debido a que estos sistemas son cerrados, el cultivo de microalgas no interactúa con los gases del medio ambiente evitando su contaminación. Además, se debe introducir en el sistema un medio de cultivo que proporcione todos los nutrientes esenciales para el crecimiento de las microalgas, con el fin de maximizar la producción de la biomasa (Chisti 2007).

Los fotobiorreactores son sistemas complejos compuesto por varios subsistemas.

Los principales sistemas son:

Fuente de luz, Sistema de Manejo de Aire, Sistema de intercambio de gas, Sistema de nutrientes, Sistema de filtración (para eliminar la biomasa de algas), Sistemas eléctricos, Sistemas de Instrumentación.

Algunas de los principales sub-componentes de dicho sistema son:

Los sensores de oxígeno y CO₂, Sensor de temperatura, Sensor de pH, Bomba de recirculación, Válvula de inyección de CO₂, Bomba de sustrato, Válvulas de circulación, Sistema de liberación de oxígeno, Panel de control HPLC.

1.2 CRITERIOS DE DISEÑO DEL FOTOBIORREACTOR.

1.2.1 Descripción general de fotobiorreactor.

Los estudios e investigaciones de Torzillo *et al.* (1986) sugieren que el diámetro de las columnas no debe ser superior a 0.2 m o la disponibilidad de luz se verá severamente reducida; así como la altura de la columna es limitada a 4 m ya que sobre este valor la concentración de oxígeno disuelto aumenta exponencialmente. Las bases y las tapas en acero inoxidable son de gran utilidad, en especial la base, para fijar un intercambiador de calor mediante una chaqueta de circulación de agua, este planteamiento fue desarrollado por Chisti (1989) y Sánchez Mirón *et al.* (2000).

En la Figura 1, se muestra la configuración de un fotobiorreactor tubular, con una base funcional para la aplicación de un intercambiador de calor. El diseño de una base opcional no tiene el propósito de intercambiador de calor, y es la más viable para trabajar a nivel de laboratorio (Fig. 1b). La tapa superior debe permitir la entrada de medidores de pH y oxígeno disuelto, así como permitir la salida de gases; por la tapa inferior entrara se la corriente gaseosa y debe permitir el descargue del fotobiorreactor. Para prevenir el riesgo de contaminación, los gases introducidos deben pasar a través de un filtro esterilizador, en la salida del gas del reactor también debe ser impuesto para prevenir contaminación ambiental (*Rai University*).

El rociador normalmente se fabrica como una configuración de tubos en acero inoxidable, plástico o vidrio; el diámetro óptimo y más usado para los orificios es de 1 mm (Chisti 1989, Sánchez Mirón *et al.* 2000). En la Figura 1c, se muestra la vista superior del rociador dentro del recipiente para la columna de burbujeo. El

prisma de plástico en la parte inferior del fotobiorreactor, permite un flujo suave de retorno al rociador (Chisti 1989).

1.2.2 Relación entre superficie iluminada y volumen.

Es la proporción entre la superficie iluminada en el fotobiorreactor y el volumen del cultivo (S/V); a medida que se incrementa S/V , mayor es la concentración celular en el cultivo.

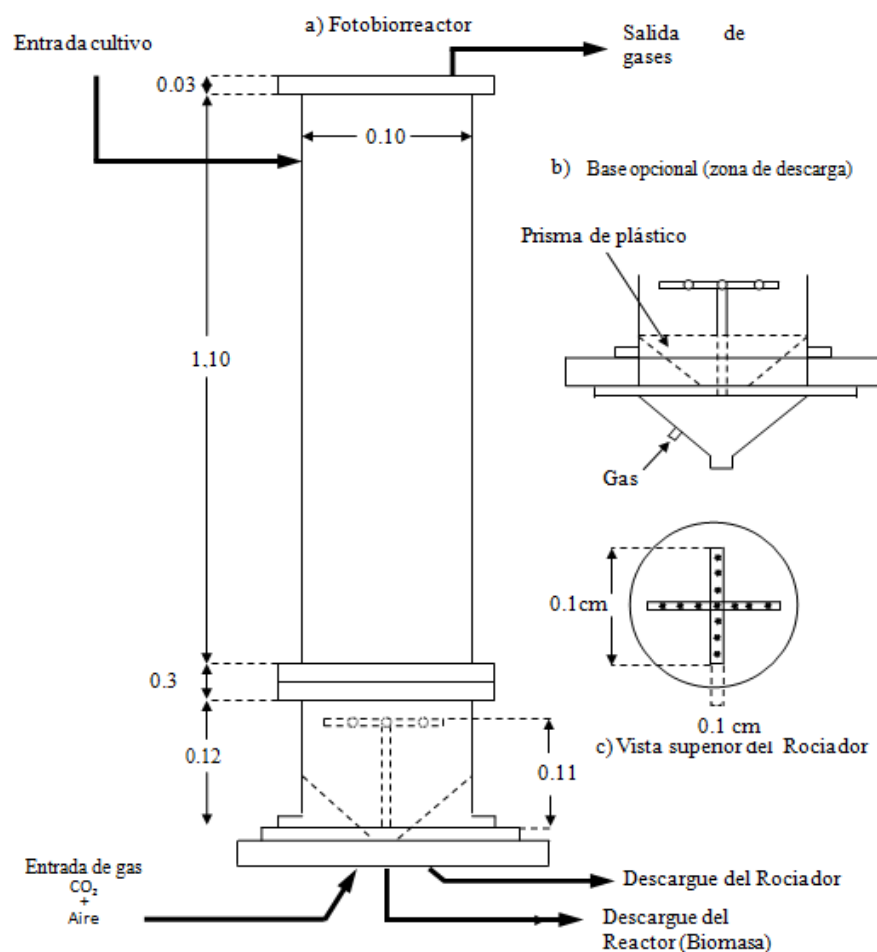


Figura 1. a) Fotobiorreactor con base funcional como intercambiador de calor, b) Base opcional, c) Vista superior del rociador)

Un medio para incrementar la productividad volumétrica sin incrementar la intensidad de luz en la superficie, es acortar el camino de la luz mediante la

disminución del diámetro de la columna (Tredici 1999); sin embargo, emplear rutas luminosas muy cortas implica obstáculos técnicos adicionales, ya que la fuerza motriz necesaria para mantener un flujo turbulento es inversamente proporcional al diámetro del tubo empelado (Contreras *et al.* 2003).

1.2.3 Transferencia de masa del gas.

Se analiza desde el suministro de carbono y su transferencia por medio del CO_2 . La transferencia de masa del gas al líquido, se estudia principalmente con el agarre de gas (Chisti 1989), que es la fracción de volumen de la fase gaseosa en la dispersión gas-líquido, también conocido como la fracción de vacío del gas; el agarre determina el tiempo de residencia del gas en el líquido y en combinación con el tamaño de burbuja, influye en el área entre las fases gas-líquido disponible para la transferencia de masa.

1.2.4 Suministro de carbono.

El carbono es el mayor nutriente para el crecimiento celular; CO_2 , H_2CO_3 , HCO_3^- , CO_3^{2-} . Todas las microalgas usan carbono inorgánico como síntesis de componentes orgánicos en medio autotrófico (Carvalho *et al.* 2006). Todo el flujo de carbono alimentado es determinado por la velocidad de burbujeo del gas y la presión parcial del CO_2 ; seleccionando la combinación apropiada de estas dos variables es clave para evitar la limitación de carbono en la cultivación de microalgas (Carvalho *et al.* 2006). En la Figura 2 se muestra el diagrama de flujo para la corriente gaseosa propuesto por Chisti (1989).

1.2.5 Transferencia de CO_2 .

La incidencia de reacciones químicas entre el CO_2 y el OH^- , H_2O y NH_3 en la fase líquida puede llevar a aumentar las velocidades de absorción de CO_2 por el medio

de cultivo (Carvalho *et al.* 2006). La predicción y mejoramiento de la transferencia de masa del gas al líquido en los fotobiorreactores es frecuentemente equivalente a la predicción y mejoramiento del coeficiente de transferencia de masa global (Chisti 1989). El área entre las fases gas-líquido puede ser mejorada ya sea incrementando el agarre de gas o disminuyendo el tamaño de burbuja predominante, sin embargo el gas en burbujas muy finas, debido a su largo tiempo de residencia en el fluido, alcanzara el equilibrio con el líquido y por lo tanto contribuirá poco a la transferencia de masa (Erickson *et al.* 1983, Kawase & Moo-Young 1987). Las propiedades del fluido tales como tensión, densidad, viscosidad y fuerzas iónicas afectan el agarre del gas y el coeficiente de transferencia de masa global. El agarre de gas, por ejemplo, es más sensible a las propiedades del líquido en la columna de burbujeo (Weiland & Onken 1981, Chisti 1989), sin embargo la altura del liquido no afecta el agarre de gas global (Deckwe & Burckhart 1976, Akita & Yoshida 1973), pero esta se mantiene importante para otras consideraciones hidrodinámicas, por ejemplo el tiempo de residencia medio del gas (Chisti 1989).

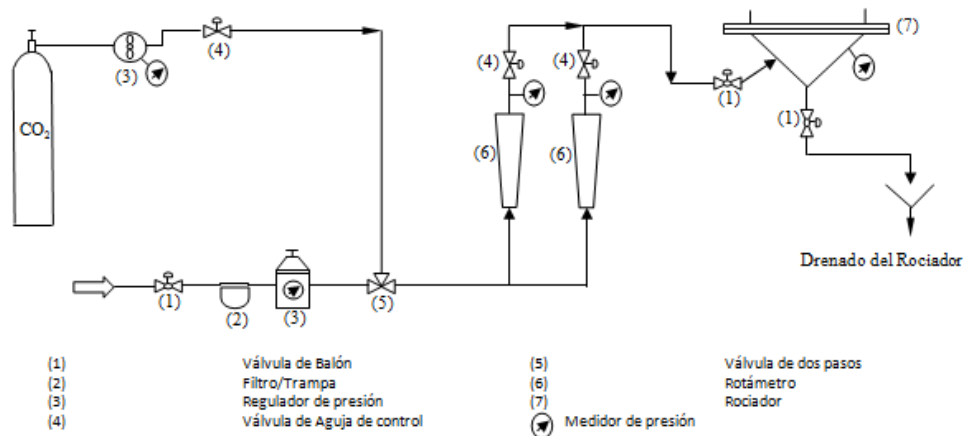


Figura 2. Diagrama de flujo para la corriente de entrada de gas (Aire/CO₂)

1.2.6 Tamaño de burbuja.

El área entre las fases y el coeficiente de transferencia de masa mostraron dependencia opuesta con el tamaño de burbuja; consecuentemente, el agarre de

gas fue más sensible al diámetro de la burbuja que el coeficiente de masa (Chisti 1989). Como se vio anteriormente, el coeficiente de transferencia de masa gas líquido, aumenta dentro de un rango de tamaño de burbuja en columnas de burbujeo y reactores airlift. Pequeñas burbujas (< 2 mm de diámetro) son más dañinas a las células que burbujas mayores (~ 10 mm de diámetro) (Chisti 2000). Por lo tanto el tamaño de burbuja, la velocidad de flujo de gas y la presión del CO₂ deben estar ajustados a los requerimientos de cada cultivo específico (Carvalho *et al.* 2006).

1.2.7 Remoción de oxígeno.

Altos niveles de oxígeno son tóxicos para la mayoría de los organismos fototróficos y junto a una alta exposición de intensidad de luz, pueden causar muerte fotooxidativa en el cultivo (Tredici 1999). La inyección de gas desde el fondo del fotobiorreactor favorece el mezclado, suministra suficiente CO₂ y dependiendo de la altura del fotobiorreactor, se logra una eficiente remoción de oxígeno disuelto en el medio (Carvalho *et al.* 2006). Con el aumento en la velocidad del líquido, que es función de la entrada de gas (Chisti 1986), la concentración de oxígeno disuelto en el medio disminuye, mejorando la producción de biomasa (Acién Fernández *et al.* 2001), sin embargo una alta velocidad del líquido ocasiona daño y muerte celular (Barbosa 2003). Es por esto que se debe tener una velocidad de entrada de gas satisfactoria que permita la disminución del oxígeno disuelto, pero no tan alta o causaría daño celular.

1.2.8 Mezclado y dispositivos inyectoros de gas.

El Mezclado debe permitir condiciones homogéneas y favorecer, transferencia de nutrientes, movimiento de las algas entre las zonas oscuras (centro de la columna) e iluminadas (paredes de la columna), transferencia de gas y transferencia de energía; también es necesario para evitar la estratificación térmica, distribución de

nutrientes, romper los gradientes de difusión en la superficie de la célula, retirar el oxígeno fotosintéticamente generado. Diferentes regímenes de luz pueden ser mantenidos dentro del fotobiorreactor los cuales pueden servir como barreras de fotoinhibición. El efecto de continuos movimientos celulares de las zonas oscuras/iluminadas es esencial para garantizar altas producciones de biomasa (Carvalho *et al.* 2006). En un reactor airlift este se relaciona con las secciones de ascenso y descenso (Chisti 1989, Becker 1995, Jansen *et al.* 2003; Oncel & Sukan 2008). En la Figura 3, se muestra los patrones de flujo para una columna de burbujeo y airlift (Chisti 1989). Pirt *et al.* (1983), Ación Fernández *et al.* (2001) encontraron que el flujo en régimen laminar, la productividad de biomasa es baja, y en condiciones turbulentas limitadas es mayor, debido probablemente a un mejor suministro de CO₂ y luz (Barbosa 2003); limitadas ya que la velocidad de aireación no debe ser tan alta o alcanzaría un nivel de agarre de gas que previene la transmisión de luz a través de la columna y expone las células a altas tensiones, excediendo el límite de tolerancia de la microalga a las tensiones hidrodinámicas (Sánchez Mirón 1999, Barbosa 2003).

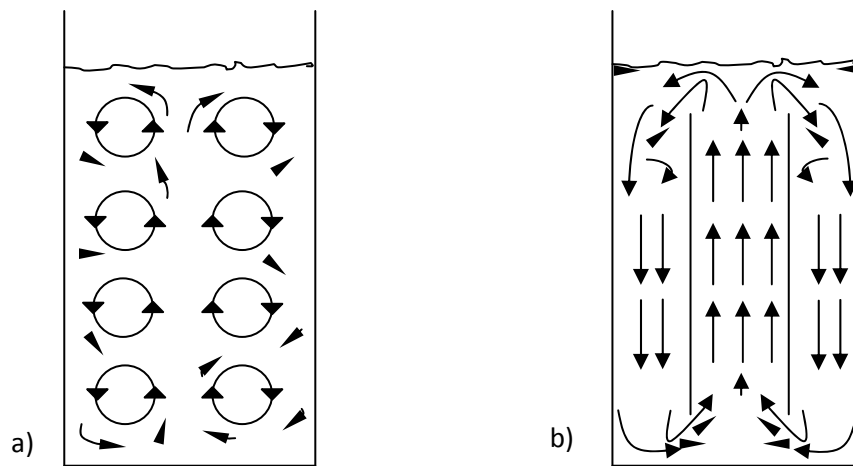


Figura 3. Patrones de flujo: a) Columna de burbujeo, b) Columna airlift de tubo concéntrico

La forma del rociador puede afectar la transferencia de gas al medio, el tamaño del orificio influirá en el tamaño de burbuja. Rociadores con orificios de tamaño

muy pequeño son más propensos a obstruir y requieren un mayor consumo de energía para la entrada del gas.

1.2.9 Parámetros de daño y muerte celular.

El daño celular debido a la hidrodinámica del fotobiorreactor es un problema clave en cultivos de microalgas en fotobiorreactores, los efectos negativos de exceder los límites de las microalgas en crecimiento y productividad celular han sido reportados (Barbosa 2003). La tasa de muerte celular se debe principalmente a la ruptura de las burbujas en la superficie y a efectos ocasionados a lo largo del rociador (Barbosa 2003). Barbosa (2003), relaciono la muerte celular con el rociador. Jobses *et al.* (1991) Elaboro un modelo para cada consecuencia (formación y ruptura de burbuja) y relaciono el efecto de la altura del fluido a la adherencia de las células a las burbujas (una mayor altura de ascenso significa que mas células pueden ser capturadas por las burbujas, arrastrándolas hasta la superficie donde mueren con la ruptura de la burbuja), produciendo correlaciones verificables entre la tasa de muerte celular y parámetros particulares de cultivo (Barbosa 2003).

Tomando la formación de burbuja en el rociador como la causa de daño y muerte celular, la tasa de muerte se incrementara con la disminución del número de orificios en el rociador (manteniendo el flujo de gas, el tamaño de burbuja, el diámetro del orificio y el volumen de cultivo constantes) ya que esto incrementa la velocidad de entrada de gas. Si la ruptura de burbuja en la superficie es la causa, la tasa de muerte será proporcional al flujo de gas por unidad de volumen (mientras la viscosidad y la tensión superficial del fluido, al igual que el tamaño de burbuja sean constantes) (Barbosa 2003).

Una posible causa de muerte celular en el rociador podría deberse a las fuerzas hidrodinámicas asociadas con el flujo alrededor de la formación y separación de

las burbujas (Barbosa 2003). Fueron probadas varias velocidades de gas superficial (0.017 – 0.085 m/s) y no ocurrió daño celular, indicando que la ruptura de burbuja no puede ser solo la responsable del daño celular.

Es aún incierto si el ascenso de la burbuja contribuye al daño celular; es por todo esto, que aun no se tienen claridad sobre la influencia de la altura de la columna en el daño y muerte (Barbosa 2003).

1.2.10 Control de temperatura.

Toda la luz absorbida por las paredes de fotobiorreactor o por el cultivo que no es usada en la fotosíntesis, se convierte en energía térmica y puede dar lugar a un aumento de la temperatura del cultivo. La base metálica (Fig. 1a) se debe usar si se opera con alguna cepa muy sensible a cambios de temperatura.

1.2.11 Requerimientos de luz.

La penetración de luz al fotobiorreactor se puede ver reducida por excesivas velocidades de aireación que generan micro burbujas persistentes y con el tiempo se acumulan opacando el cultivo (Sánchez Mirón *et al.* 2000), este efecto puede ser contrarrestado usando orificios del rociador más grandes. El aumento o reducción de irradiación por burbujeo resulta de la combinación de dos factores: oscurecimiento del cultivo por burbujas, y fenómeno de reflectancia interna. Intervalos oscuros mejoran la conversión de luz a biomasa (Laws *et al.* 1987, Terry 1986); así como intervalos que permitan las reacciones catalíticas oscuras de fotosíntesis para acelerar su cumplimiento, restaurando el aparato fotosintético para su completa eficiencia para el siguiente periodo de luz (Acién Fernández *et al.* 2001). Estos intervalos de luz/oscuridad reducen el efecto negativo de la fotoinhibición.

Las eficiencias de fuentes de luz artificial varían con el tipo de lámpara, solo de alrededor del 5% en lámparas de halógeno incandescente, de 10 – 15% para tubos fluorescentes y 20 – 25% para lámparas de sodio alta presión. Solo con lámparas XENON y diodos emisores de luz se consigue una alta eficiencia, 80% (Tredici 1999). Otro aspecto a considerar es la calidad espectral de la luz emitida, donde se debe igualar el espectro de acción del cultivo.

1.2.12 Materiales de construcción.

Los materiales deben cumplir con: alta transparencia, alta fuerza mecánica, carencia de toxicidad, resistencia a desgaste (durabilidad), estabilidad química, fácil de limpiar, y bajo costo. El polietileno y los tubos de polipropileno son baratos, pero ambos pierden la transparencia muy rápidamente y presentan serias limitaciones en cuanto al bioensuciamiento y la fuerza mecánica (Tredici 1999). El cristal podría ser un material excelente (alta transparencia, estabilidad química y durabilidad), sin embargo, son altos los gastos de instalación; además de su fragilidad. Las bolsas de polietileno también son usadas (bajo costo, alta transparencia, buena esterilidad) (Carvalho *et al.*2006).

De acuerdo a los criterios anteriormente mencionados, se va a desarrollar el diseño y posterior montaje de un fotobiorreactor a escala laboratorio, teniendo en cuenta todos los aspectos más relevantes.

2. MARCO METODOLÓGICO PARA EL DISEÑO Y MONTAJE DE UN FOTOBIORREACTOR A ESCALA DE LABORATORIO PARA LA PRODUCCIÓN DE MICROALGAS.

La metodología que se implementó para la ejecución del presente trabajo de investigación está ligada con el siguiente diagrama de flujo general y las cuatro etapas que se explican a continuación.

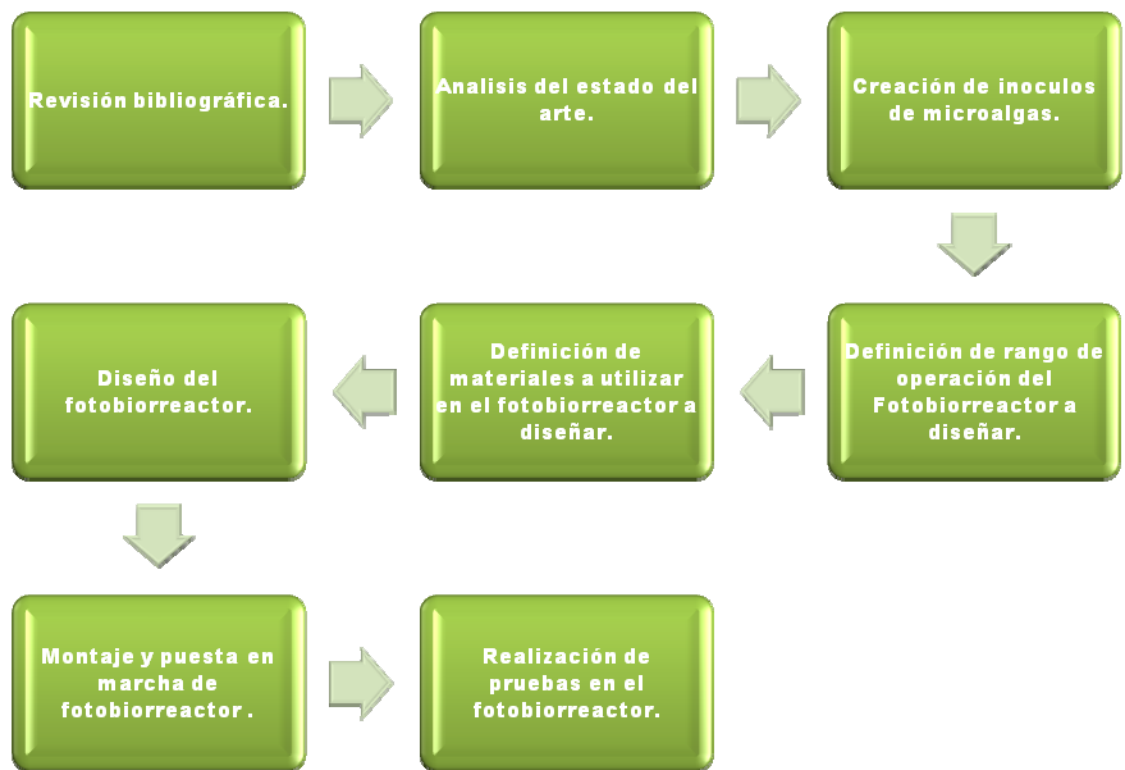


Figura 4. Metodología del diseño y montaje de fotobiorreactor a escala laboratorio para la producción de microalgas.

2.1 PRIMERA ETAPA. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

Se realizó una recopilación de información bibliográfica (libros, artículos, tesis e internet) con el fin de identificar estudios anteriores que hayan sido implementados en el diseño y montaje de fotobiorreactores. Posteriormente, se elaboró un estado del arte crítico en el cual se especifican los diversos tipos de fotobiorreactores,

ventajas y desventajas que presentan con el fin de seleccionar aquel que sea flexible, con el mínimo costo y consumo energético que permita una operación confiable en el laboratorio.

2.2 SEGUNDA ETAPA. DESARROLLO DE PRUEBAS PRELIMINARES.

Con las microalgas a trabajar en el laboratorio (*Chlorella vulgaris* código UTEX 1803, obtenida de la Universidad de Texas, Austin) se realizaron una serie de inoculos en diferentes medios de cultivo (Medios Watanabe, Bold Basal y Peptona Proteasa) inicialmente en erlenmeyers, luego en el biorreactor instalado en el laboratorio, de donde se sacaban los nuevos inoculos para ser cultivados en diferentes volúmenes, primero en recipientes plásticos de 500 ml, luego en envases plásticos de 2.5 litros y 5 litros (Imágenes 1 y 2). Se analizo el comportamiento del cultivo en un fotobiorreactor de prueba, diseñado con dimensiones muy parecidas al montado en el laboratorio, pero con diferente material, se uso una bolsa plástica calibre 4.0 de 12 cm de diámetro y una altura de liquido de 1 m (Imagen 3), el cual serán el punto de partida para identificar un medio óptimo de cultivo que será utilizado en el fotobiorreactor diseñado y montado.



Imagen 1. Inicio de inoculos en erlenmeyers.

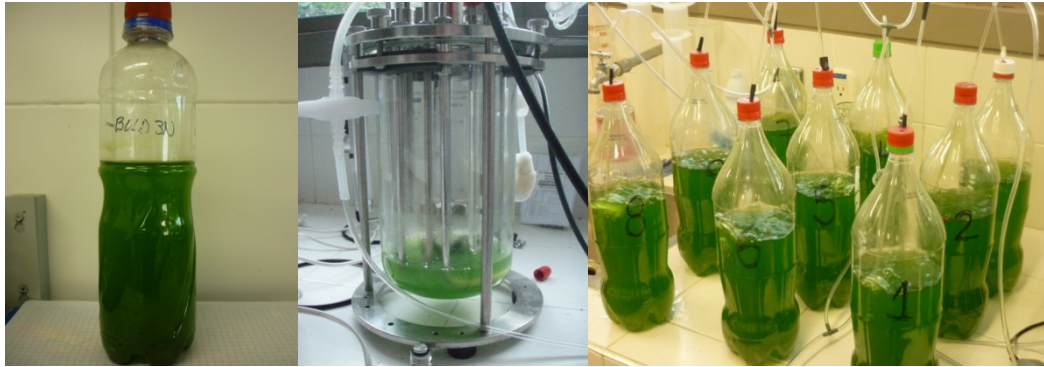


Imagen 2. Inoculos en envases plásticos de 500 ml, en el biorreactor y envases de 2.5 L.



Imagen 3. Fotobiorreactor de prueba en bolsa plástica calibre 4.0

Además, se definieron las características, dimensiones y rangos de operación, gracias al apoyo de una serie de trabajos específicos que se realizaron por parte de otras personas en el biorreactor ya instalado en el laboratorio tales como periodos e intensidad de luz, temperatura, pH entre otros, obteniéndose una altura del cultivo de 1 m, diámetro del fotobiorreactor de 10 cm, como medio de cultivo se definió el Medio Bold, un buen mezclado se logra con un flujo de aire de $5.7 \times 10^{-7} \text{ m}^3/\text{s}$, se escogió como material para el recipiente vidrio. Los planos y dimensiones de fotobiorreactor se muestran en la figura 1, y con más detalle en el anexo E.



Imagen 4. Cultivo de microalgas en el biorreactor.

2.3 TERCERA ETAPA. DISEÑO Y MONTAJE DEL FOTOBIOREACTOR.

El diseño del fotobiorreactor presenta las dimensiones especificadas en el anexo E, en el cual se estudia su funcionamiento y desempeño con la entrada del gas al mismo. Luego se definieron los materiales necesarios para la construcción del fotobiorreactor los cuales son básicamente el acero inoxidable por su durabilidad, tanto en los soportes como en las tapas, y el cilindro hecho de vidrio ya que permite una buena transferencia de luz en comparación con otros materiales. Ya con los materiales seleccionados, se realizó el montaje correspondiente del fotobiorreactor en el laboratorio.

2.4 CUARTA ETAPA. PUESTA EN MARCHA Y PRUEBAS EN EL FOTOBIOREACTOR.

Luego del montaje se procedió a realizar la puesta en marcha del fotobiorreactor, con un cultivo de microalgas en un medio básico de Bold (ver anexo F), al que se le realizaron una serie de pruebas, siendo este el punto de partida de posteriores mejoras con el fin de encontrar el diseño más viable para ser escalado en producciones de biomasa a nivel de planta piloto.

3. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS Y ANÁLISIS

Los primeros experimentos se realizaron en 3 reactores de 2 litros de trabajo, cada uno de estos con un medio (Bold, Watanabe y Peptona Proteasa). A cada reactor se inocularon con una concentración inicial celular de 0.018 g/L con una temperatura promedio de 28 °C con aireación a 0.5 lpm y una exposición a la luz de 12:12 (luz/oscuridad). Aunque el medio que produce una mayor cantidad de biomasa es el medio Peptona (Figura 5), este es considerado como un medio de estudio, debido a su alto costo (Figura 6), lo cual restringe su uso a escala mayor.

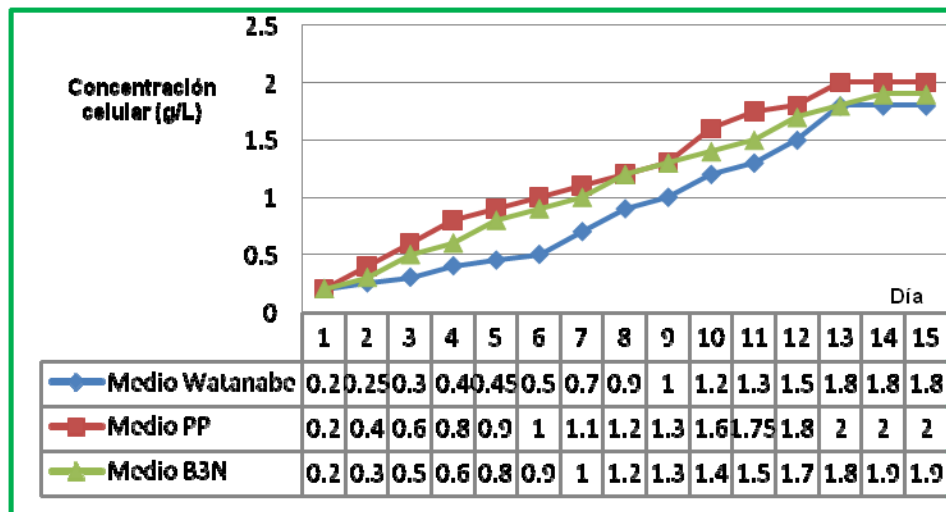


Figura 5. Crecimiento Celular en los diferentes medios.

El segundo medio que presenta buen crecimiento es el medio Bold 3N, este medio posee un costo de producción más bajo que el peptona, aunque algunos de sus componentes no son de fácil consecución como el extracto de lago, se probó una modificación, el cual se denomina Bold Basal, ya que es la forma más sencilla de este tipo de medio y permite un buen crecimiento celular.

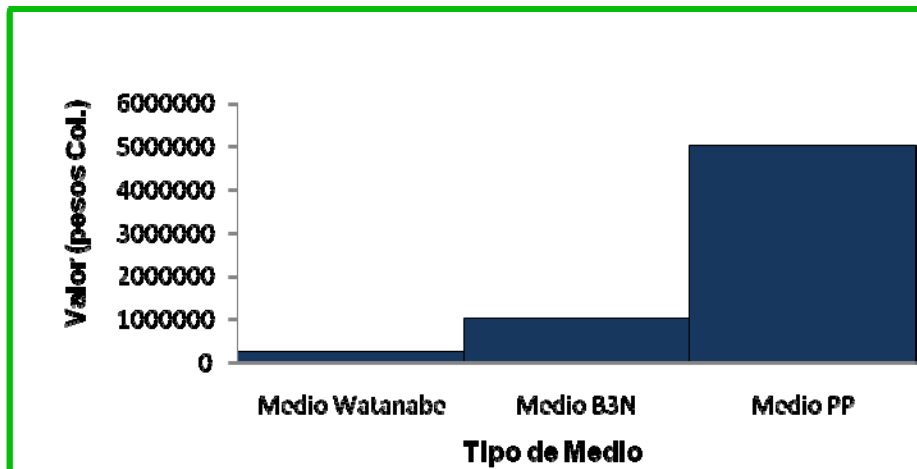


Figura 6. Valor promedio en la producción de los 3 medios.

Mediante el uso de un luxómetro fue posible calcular los grados Lux a los que está expuesto el fotobiorreactor en diferentes zonas del mismo.

Zona del fotobiorreactor	Grados LUX
Zona superior	584,0
Zona media	665,3
Zona inferior	637,5

Tabla 1. Medición de la intensidad de luz en el fotobiorreactor.

En la siguiente tabla se muestra la composición del aire que le fue inyectado al fotobiorreactor gracias al uso de un analizador de gases infrarrojo.

Componente	%
O ₂	20,7
CO ₂	0,4

Tabla 2. Composición del flujo de aire inyectado en el fotobiorreactor.

De la los datos de la concentración de biomasa con el tiempo, se calcula tasa de crecimiento según el anexo B

$$\mu = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt}$$

Integrando para los límites de la concentración en el tiempo t , y para la concentración inicial del día 1 (24 h) de la tabla 3 del anexo J, ($X_0 = 0.26 \text{ g/L}$, $t = 24 \text{ h}$) se obtiene

$$\mu = \frac{\ln\left(\frac{K_t}{0.26}\right)}{t - 24}$$

Se toman los datos para el día 3 (72 h)

$$\mu = \frac{\ln(0.39/0.26)}{(24)(3 - 1)}$$

$$\mu = 8.447 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$$

En la siguiente tabla se muestran los flujos de aire inyectado al fotobiorreactor los cuales fueron tomados usando el método de Mariotte.

Día	m ³ /s (10 ⁻⁷)
Día 1	6,16
Día 3	5,83
Día 5	5,83
Día 7	5,50

Tabla 3. Medición del flujo de aire inyectado en el fotobiorreactor.

Se toma un valor promedio para el flujo del aire, $F_G = 5,705 \times 10^{-7} \text{ m}^3/\text{s}$

El área transversal del flujo de aire es $A_G = 1.25 \times 10^{-5} \text{ m}^2$, la velocidad del gas es

$$v_G = \frac{F_G}{A_G} = \frac{5.705 \times 10^{-7} \text{ m}^3/\text{s}}{1.250 \times 10^{-5} \text{ m}^2}$$

$$v_G = 0.0456 \text{ m/s}$$

La velocidad del gas esta en el régimen burbuja, lo cual es deseado, ya que se mantiene un buen nivel de mezclado y se evita una alta turbulencia que podría afectar a las células en el régimen de choque de burbuja.

Para los siguientes datos se usaron las ecuaciones del Anexo H. La potencia de entrada a dispositivos neumáticos se relaciona

$$\frac{P_G}{V_L} = \rho_L g v_G$$

Donde la densidad del líquido se midió con un picnómetro de 5 ml, la densidad no varía significativamente en todo el tiempo del cultivo.

$$\rho_L = 1.024 \text{ kg/m}^3$$

El volumen del líquido es $V_L = 0.0105 \text{ m}^3$

$$\frac{P_G}{V_L} = 1.024 \left(\frac{\text{kg}}{\text{m}^3}\right) \times 9.810 \left(\frac{\text{m}}{\text{s}^2}\right) \times 0.0456 \left(\frac{\text{m}}{\text{s}}\right)$$

$$\frac{P_G}{V_L} = 0.456 \text{ kg/m}^3 \text{ s}$$

Ahora se mide el agarre de gas, por medio de la técnica de expansión de volumen, se miden las correspondientes alturas, $h_L = 0.926 \text{ m}$, $h_D = 0.933$

$$s = \frac{h_D - h_L}{h_D} = \frac{0.933 - 0.926}{0.933} = 7.503 \times 10^{-3}$$

$$v_b = \frac{v_G}{s} = \frac{0.0456}{7.503 \times 10^{-3}}$$

$$v_b = 6.078 \text{ m/s}$$

Se calculó el tiempo de residencia medio del gas en dispersión dentro del fotobiorreactor.

$$t_R = \frac{h_L}{(1-s)v_b} = \frac{0.926}{(1 - 7.503 \times 10^{-3}) \cdot 6.078}$$

$$t_R = 0.15 \text{ s}$$

Luego, se aplicaron las correlaciones encontradas para el coeficiente de transferencia de masa con la velocidad del gas en columnas de burbujeo.

1. De Heijnen & Van't Riet (1984)

$$k_L a_L = 0.32 v_G^{0.7}$$

$$k_L a_L = 0.32 (0.0456)^{0.7}$$

$$k_L a_L = 0.037 \text{ s}^{-1}$$

Correlacionarlo para el CO₂

$$k_L a_L = (k_L a_L)_{CO_2} \frac{D_{CO_2}}{D_{O_2}}$$

$$(k_L a_L)_{CO_2} = k_L a_L \frac{D_{CO_2}}{D_{O_2}} = 0.037 \times \frac{1.50 \times 10^{-9}}{1.80 \times 10^{-9}}$$

$$(k_L a_L)_{CO_2} = 0.031 \text{ s}^{-1}$$

2. De Sánchez Mirón *et al.* (2000)

$$k_L a_L = \frac{0.874}{v_G^{-0.874} - 1}$$

$$k_L a_L = \frac{0.874}{(0.0456)^{-0.874} - 1}$$

$$k_L a_L = 0.045 \text{ s}^{-1}$$

Correlacionando para el CO₂

$$k_L a_L = (k_L a_L)_{CO_2} \frac{D_{CO_2}}{D_{O_2}}$$

$$(k_L a_L)_{CO_2} = k_L a_L \frac{D_{CO_2}}{D_{O_2}} = 0.045 \times \frac{1.20 \times 10^{-9}}{1.80 \times 10^{-9}}$$

$$(k_L a_L)_{CO_2} = 0.037 \text{ s}^{-1}$$

Fuerzas de corte en el Fotobiorreactor

Se midió la viscosidad en un reómetro Rheocalc V2.4

$$\mu_L = 2.13 \text{ cP} = 2.13 \times 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$$

Usando la correlación de Henzler & Kauling se cálculo el esfuerzo de corte promedio

$$\gamma = \left(\frac{\rho_L g v_G}{\mu_L} \right)^{0.85}$$

$$\gamma = \left(\frac{1.024 \times 9.810 \times 0.0456}{2.13 \times 10^{-3}} \right)^{0.85}$$

$$\gamma = 14.665 \text{ s}^{-1}$$

Mediante el uso de un pHmetro se fue tabulando el pH diario del cultivo de microalgas realizado en el fotobiorreactor el cual se precia en la siguiente gráfica.

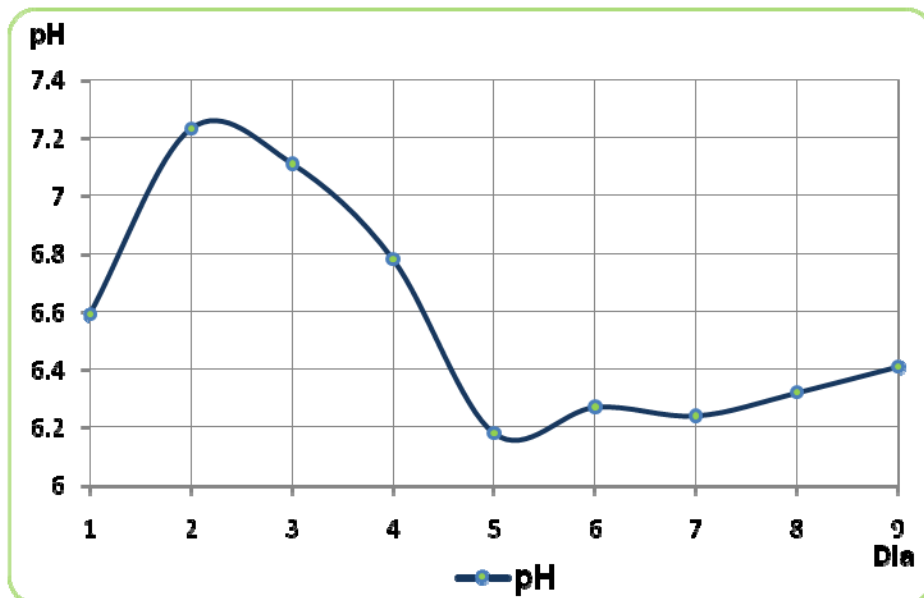


Figura 7. Variación del pH en el cultivo de microalgas.

Adicional a lo anterior se realizo la medición de la temperatura diaria del cultivo donde uso de un termómetro digital tipo sonda lo cual se muestra en la siguiente grafica.

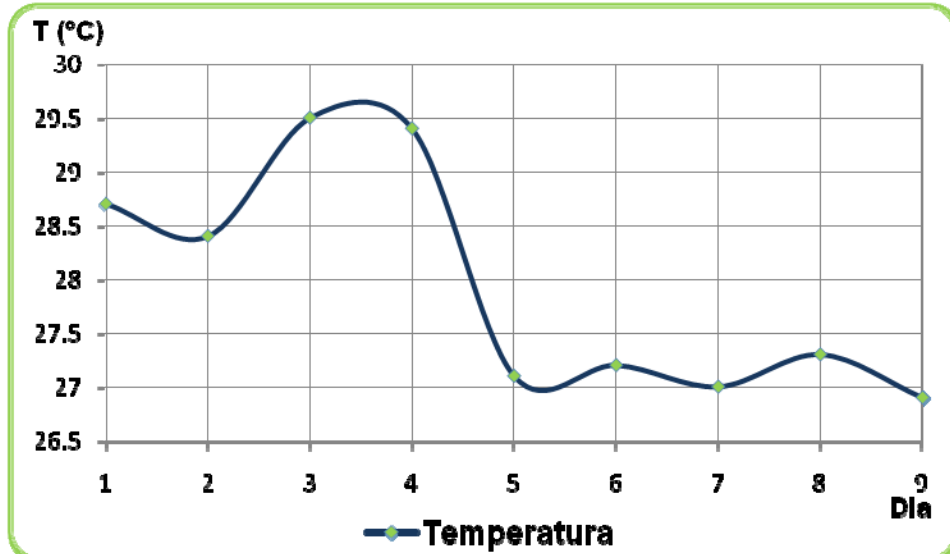


Figura 8. Variación de la temperatura del cultivo de microalgas.

Finalmente, usando el método del peso seco, se calculó la concentración celular diaria presente en el cultivo de microalgas realizado en el fotobiorreactor, del cual se obtuvo el siguiente gráfico a continuación.

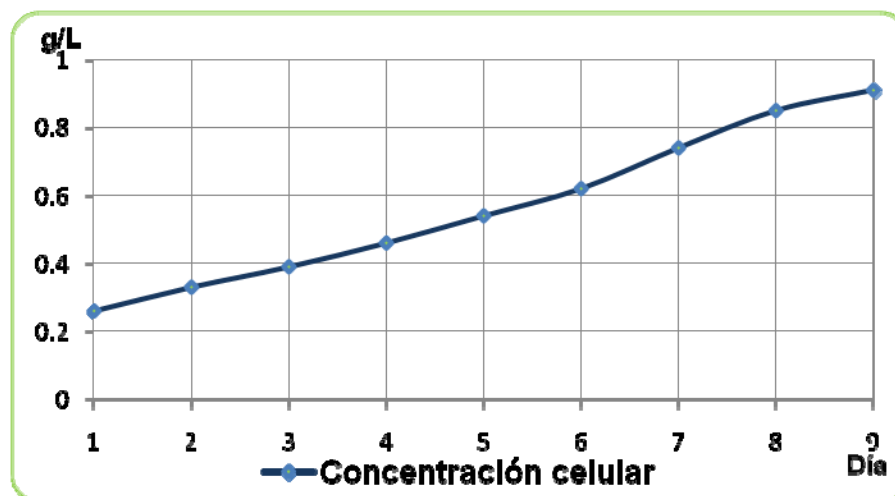


Figura 9. Concentración celular del cultivo de microalgas.

De la información consignada se puede apreciar que la exposición de luz a la que está expuesto el fotobiorreactor no es homogénea, ya que es relativamente diferente en la zona superior del cultivo con respecto a las otras regiones.

Con respecto al flujo de aire implementado en el fotobiorreactor dicho flujo se fue variando al pasar de los días. En el comienzo fue moderado y el burbujeo presentado era normal y posteriormente se incremento, debido a que el compresor era utilizado para airear diferentes series de fotobiorreactores plásticos que eran utilizados en diferentes experimentos y pruebas tales como crecimiento en diferentes medios, incidencia de diferentes tipos de luz en el cultivo, entre otros provocando una turbulencia la cual podría causar un impacto negativo en el crecimiento del cultivo. Por lo anterior se disminuyó el flujo de aire con el fin de evitar posibles perjuicios al crecimiento celular.

Además, se puede apreciar que el pH del cultivo varia de forma brusca donde inicialmente se presenta en el cultivo un pH inicial de 6,59 y posteriormente se encontró a un pH de 7,23 pero al siguiente día empieza a disminuir debido a la producción de oxígeno de las microalgas en el cultivo, el cual se disuelve en el medio y otra parte se escapa. Luego, vuelve a subir levemente el pH pero se estandariza en un rango de pH entre 6 y 7 indicando que el cultivo presenta una producción de oxígeno constante.

En cuanto a la temperatura del cultivo se puede observar que esta al comienzo presenta una fluctuación debido a que la temperatura ambiente de 28°C lo cual incide directamente en el cultivo, pero posteriormente disminuyó y se estabilizó entre 26,5 y 27,5 °C, permitiendo trabajar a un valor constante durante las pruebas, manteniendo un equilibrio con el ambiente en el laboratorio,

De acuerdo a los resultados obtenidos sobre de la concentración celular que se presenta en el cultivo, ésta arroja muy buenos resultados ya que se aprecia desde el segundo día de operación del fotobiorreactor, un continuo crecimiento teniendo

en cuenta la concentración inicial. A pesar de que este no sea un crecimiento significativo, dicho crecimiento no se ve disminuido, lo que indica que todos los factores involucrados en el diseño y montaje del fotobiorreactor son favorables para el cultivo de las cepas a evaluar posteriormente en el fotobiorreactor.

Microalga	<i>Chlorella vulgaris</i> , UTEX 1803
Temperatura promedio del cultivo	27°C
Volumen del cultivo	0,0105 m ³
Relación Superficie/Volumen	0.83 m ⁻¹
Fuente de luz	Artificial, Lámpara halógeno 40W
Cantidad de luz promedio	628.93 grados LUX
Periodo de iluminación	Luz 12 h - Oscuridad 12 h
Velocidad de Entrada de gas	0.0456 m s ⁻¹
Concentración de CO ₂ en el flujo de gas	0.40%
Régimen de flujo	Régimen de burbuja
Tasa de crecimiento específica (μ)	$8.447 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$
Agarre de gas (ϵ)	7.503×10^{-3}
Velocidad de ascenso de burbuja	6.078 m s ⁻¹
Tiempo medio de residencia del gas en dispersión	0.15 s
Coeficiente de transferencia de masa global de CO ₂	0.031 s ⁻¹ (Heijnen & Van't Riet 1984)
	0.037 s ⁻¹ (Sánchez Mirón <i>et al.</i> 2000)

Tabla 4. Condiciones del cultivo en el fotobiorreactor.

CONCLUSIONES

Se evaluaron los principales criterios del diseño de un fotobiorreactor a escala laboratorio, desde la entrada de gas y sus efectos en la disponibilidad de luz mediante, el agarre de gas y la velocidad del líquido (mezclado y turbulencia), transferencia de gas, además de materiales de construcción, todo con el fin de diseñar y montar un fotobiorreactor que permite estudiar las diferentes variables del proceso de cultivo de microalgas en el laboratorio.

Se diseñó y montó un fotobiorreactor a escala laboratorio para la producción de microalgas.

El fotobiorreactor diseñado y montado en el laboratorio, bajo el uso de un flujo de aire regulado y constante, le es favorable al cultivo de microalgas ya que al evitar turbulencias por causa del mismo, se evitan daños celulares que perjudiquen el crecimiento del cultivo. Las variaciones cíclicas en la velocidad de aireación (flujo del aire y/o gas de entrada), son necesarias para obtener un balance entre las demandas conflictivas del agarre del gas, la penetración de luz, la buena transferencia de masa y el mezclado en el cultivo.

El crecimiento celular que se presenta en el cultivo de microalgas realizado en el fotobiorreactor fue satisfactorio, debido a que se observa un continuo crecimiento a lo largo del tiempo en el que se hicieron las pruebas, a pesar de que se implementó el método del peso seco, ya que éste no es muy preciso y se puede presentar márgenes de error.

RECOMENDACIONES

Se debe realizar una nueva serie de cultivos de microalgas en el fotobiorreactor con un mayor tiempo de duración (entre 15 y 20 días) con el fin de determinar el tiempo en el cual se obtiene la mayor concentración celular no solo con *Chlorella vulgaris* sino con otras cepas principalmente aquellas que sean nativas (colombianas).

Realizar el uso de los fotobiorreactores utilizando la luz solar ya que con ello se inhibe el uso de luz artificial lo cual significa un ahorro de energía y comparar los crecimientos de ambos casos con el fin de establecer diferencias y similitudes.

Implementar el uso de CO₂ en futuros cultivo de microalgas con el fin de incrementar de una forma más rápida la concentración celular, teniendo en cuenta que dicha inyección de CO₂ tiene que ser determinada por una serie de pruebas de diferentes concentraciones, para establecer cuál es el porcentaje de CO₂ que debe ir en el flujo de gas de entrada dependiendo del requerimiento de la cepa a cultivar.

Utilizar un sistema de control en el fotobiorreactor que me permita realizar mediciones de temperatura, pH, cantidad de CO₂ y O₂ disuelto en el cultivo, cantidad de luz que penetra en el cultivo, concentración celular entre otras; para facilitar la toma de datos de una forma más exacta, lo cual permitiría un mejor estudio del comportamiento del cultivo en el fotobiorreactor.

BIBLIOGRAFÍA

ACIÉN FERNÁNDEZ, F. G. FERNÁNDEZ, J. S. SÁNCHEZ, A. P. MOLINA, E. G & Y. CHISTI. (2001). "Airlift-driven external-loop tubular photobioreactors for outdoor production of microalgae: assessment of design and performance". Chemical Engineering Science.

AGUILAR SAMANAMUD, C. (2008). "Producción y aprovechamiento de microalgas para fines industriales". 3^{era} Convención Nacional Oportunidades de Negocio en Acuicultura.

AKITA, K. & YOSHIDA, F. (1973). "Gas Holdup and Volumetric Mass Transfer Coefficient in Bubble Columns". Industrial and Engineering Chemistry Process Design and Development.

ANDERSEN, R. (2006). "Algal Culturing Techniques". Elsevier Academic Press.

BARBOSA, M. (2003). "Hydrodynamic stress and lethal events in sparged microalgae cultures". Biotechnology and Bioengineering.

BARBOSA, M. (2003). "Microalgae cultivation in air-lift reactors: modeling biomass yield and growth rate as a function of mixing frequency". Biotechnology and Bioengineering.

BECKER, E.W. (1995). "Microalgae Biotechnology and Microbiology". Cambridge University Press.

BELLO, R. A., ROBINSON, C. W., AND MOO-YOUNG, M., (1985). "Prediction of the volumetric mass transfer coefficient in pneumatic contactors".

BHAVARAJU, S. M., RUSSELL, T. W. F. BLANCH, H. W. (1978). "The Design of Gas Sparged Devices for Viscous Liquid Systems".

CALDERBANK, P. H. (1958). "Physical Rate Processes in Industrial Fermentations: I. The Interfacial Area in Gas-Liquid Contacting with Mechanical Agitation".

CALDERBANK, P. H., (1967). Biochemical and Biological Engineering Science, (Blakebrough, N., editor), 1, Academic Press (London). "Mass transfer in fermentation equipment".

CARVALHO, A. P. MEIRELES, L. A. MALCATA, X. F. (2006). "Microalgae reactors: a review of enclosed systems designs and performances". Biotechnology.
CHISTI, Y. (1989). "Airlift bioreactors, Elsevier applied biotechnology series". Elsevier Science Publishers Ltd.

CHISTI, Y. (2007). "Biodiesel from microalgae". Elsevier Science Publishers Ltd.

CHISTI, Y. (2007). "Airlift bioreactors, Elsevier applied biotechnology series". Elsevier Science Publishers Ltd.

CONTRERAS, C. F. PEÑA, J. C. FLORES, L. C. CAÑIZARES, R. V. (2003). "Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para cultivo de microalgas". Interciencia.

COULSON, J. M., AND RICHARDSON, J. F., (1977), "Chemical Engineering" 3rd edition, Pergamon Press (Oxford).

CORNET, J.F. DUSSAP, C.G. CLUZEL P. DUBERTRET, G. (1992). "Biotechnology Bioengineering".

DECKWER, W. D. & BURCKHART, R. (1976). "Determination of mass transfer in tower fermenters". Fifth International Fermentation Symposium, Berlin.

ERICKSON, L. E. PATEL, S. A. GLASGOW, L. A. & LEE, C. H. (1983). "Effects of viscosity and small bubble segregation on mass transfer in airlift fermenters". Process Biochemistry.

JANSEN, M. TRAMPER, J. MUR, L. R. WIJFFELS, R. (2003). "Enclosed outdoor photo bioreactors: light regime photosynthetic efficiency, scale-up and future prospects". Biotechnology and Bioengineering.

KAWASE, Y. & MOO-YOUNG, M. (1987). "Influence of very small bubbles on k_L a measurement in viscous microbiological cultures". Biotechnology.

LAWS, E. A. SATORU, T. HIRATA, J. & PANG, L. (1987). "Optimization of microalgae production in a shallow outdoor flume". Biotechnology and Bioengineering.

MARTIN, F.M.; ALMAZÁN GÁRATE, J.L. & PALOMINOS MONZÓN, C. (2008). "Técnicas de cultivo de microalgas para biocombustibles". Universidad Politécnica de Madrid.

MAZZUCA SOBCZUK, T. GARCÍA CAMACHO, F. CAMACHO RUBIO, F. ACIÉN FERNÁNDEZ, F. G. & MOLINA GRIMA, E. (2000). "Carbon dioxide uptake efficiency by outdoor microalgal cultures in tubular airlift photobioreactors". Biotechnology and Bioengineering.

MERCHUK, J. C., (1986). "Hydrodynamics and hold-up in air-lift reactors".

OLAIZOLA, M. DUERR, E. O. & FREEMAN, D. W. (1991). "Effect of CO₂ enhancement in an outdoor algal production system using *Tetraselmis*". *Journal of Applied Phycology*.

ONCEL, S. F. SUKAN, F. V. (2008). "Comparison of two different pneumatically mixed column photobioreactors for the cultivation of *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*)". *Bioresource Technology*.

PIRT, S. L. LEE, Y. K. WALACH, M. R. PIRT, M. W. BALYUZI, H. H. & BAZIN, M. J. (1983). "A tubular bioreactor for photosynthetic production of biomass from carbon dioxide: Design and performance". *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*.

SÁNCHEZ MIRÓN, A. GÓMEZ, A. C. CAMACHO, F.G. GRIMA, E. M. CHISTI, Y. (1999) "Comparative evaluation of compact photobioreactors for large scale monoculture of microalgae". *Biotechnology*.

SÁNCHEZ MIRÓN, A. CAMACHO, F. G. CONTRERAS, A. G. MOLINA, E. G. & CHISTI, Y. (2000). "Bubble column and Airlift photobioreactors for algae culture". *Biotechnology*.

SCHULZ, T. (2006). "The economics of micro-algae production and processing into biodiesel". Department of Agriculture Western Australia.

TAMIYA, H. HASE, E. SHIBATA, K. MITUYA, A. IWAMURA, T. NIHEI, T. AND SASA, T. (1953). "Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant". Carnegie Institution of Washington. Publication No. 600, Carnegie Institution, Washington, D.C. J.S. Burlew Ed.

TERRY, K. L. "Photosynthesis in modulated light: Quantitative dependence of photosynthetic enhancement on flashing rate". *Biotechnology and Bioengineering*.

TORZILLO, G. PUSHPARAJ, B. BOCCI, F. BALLONI, W. MATERASSI, R. Y FLORENZANO, G. (1986). "Biomass".

TREDICI, M. R. (1999). "Photobioreactors". University of Florence. Florence, Italy.

WATANABE, Y. DE LA NOÛE, J. AND HALL, D.O. (1995). "Biotechnology Bioengineering".

WEILAND, P. & ONKEN, U. (1981). "Differences in the behavior of bubbles columns and airlift loop reactors". General Chemical Engineering.

PAGINAS WEB

1. [http:// www.rocw.raifoundation.org/biotechnology](http://www.rocw.raifoundation.org/biotechnology)
2. <http://www.oilgae.com/algae/cult/pbr/sub/sub.html>
3. <http://www.cwanswers.com/8921/photobioreactor>

Anexo A. CLASIFICACIÓN GENERAL DE LOS FOTOBIORREACTORES.

A continuación se muestra una tabla en donde se mencionan los principales fotobiorreactores y sus usos; además de una clasificación general y algunas características cuantitativas de los mismos:

FOTOBIORREACTORES						
TIPO DE SISTEMA		Pv	Pa	DC	APLICACIONES	REFERENCIAS
Tubulares	Tubular horizontal	0,55	n.d.	n.d.	prototipo de reactores horizontales con mecanismo airlift	Richmond et al., 1993
	Tubular horizontal ADC	1,6	27	4,8	Prototipo de producción de biomasa	Richmond, 2000
	Tubular horizontal ADC	n.d.	30	6,5	Producción de biomasa	Gudin y Chaumont, 1991
	Tubular inclinado	1,47	n.d.	n.d.	Con mezcladores estáticos internos	Ugwu et al., 2002
	Tubular helicoidal cónico	n.d.	33,2	n.d.	Prototipo agitado neumáticamente	Morita et al., 2002
Planos	Plano vertical ADC	2,4	66	6	Producción de biomasa	Richmond, 2000
	Plano inclinado ADC	0,9	110	2,2	Producción de biomasa	Richmond, 2000
	Plano horizontal ADC	n.d.	30	2	Producción de biomasa	Richmond, 2000
	Plano vertical	1,93	n.d.	n.d.	Producción de biomasa	Tredici y Zitteli, 1998
	Plano vertical UADC	9,2	67,8	22,5	Fijación de CO ₂ del aire	Hu et al., 1998
	Plano inclinado ADC	4,3	51,1	8,4	Estudio del efecto de la trayectoria	Hu et al., 1996 b
	Plano inclinado UADC	n.d.	n.d.	35	Estudio de la fisiología de los organismos en UADC	Hu et al., 1996 a
Tanque agitado iluminado		n.d.	n.d.	1,2	Remoción de amonio a altas T.	Prosperi, 2000
Iluminado internamente		n.d.	n.d.	30	Prototipo de reactores de UADC	Javanmardian y Palsson, 1991
Serpentín	Serpentín vertical	1,64	n.d.	n.d.	Estudios de fotoinhibición	Tredici y Zitteli, 1998
	Serpentín horizontal	0,9	n.d.	n.d.	Estudios de fotoinhibición	Tredici y Zitteli, 1998
Airlift		0,34	n.d.	n.d.	Estudios y caracterización de reactores airlift	Sánchez et al., 2000
Pv: productividad volumétrica (g/l-día)			DC: densidad celular máxima alcanzada (g/l)			
Pa: productividad por área (g/m ² -día)			ADC: alta densidad celular			
UADC: ultra alta densidad celular.			n.d. No hay dato.			

Anexo B. PRINCIPALES CARACTERÍSTICA DE LOS ORGANISMOS FOTOTRÓFICOS.

La fotosíntesis y el aparato fotosintético.

Todos los organismos requieren una fuente de energía para su crecimiento. Los organismos fotótrofos, utilizan la luz como fuente de energía. La luz o radiación visible, es la radiación electromagnética en el rango de 400 a 700 nm, la cual es sensible al ojo humano. Es por esto, que es usada por las algas y plantas para la fotosíntesis, la radiación visible es también llamada radiación fotosintética activa (PAR *Photosynthetic active radiation*).

La fotosíntesis es el proceso en el cual los fotótrofos capturan y convierten la energía de fotones (cantidad de energía electromagnética) a energía utilizada bioquímicamente, es a través de la fotosíntesis que los fotótrofos obtienen la energía (ATP) y poder reductor (NADH o NADPH - definir) necesario para incorporar CO₂ y la fabricación de moléculas orgánicas que se requieren para el crecimiento, (Carvalho *et al.* 2006).

Cerca de la mitad de la fotosíntesis en la tierra es llevada a cabo por microorganismos. Hay tres grupos principales de microorganismos fotosintéticos: el purpura fotosintético y la bacteria verde, La cianobacterias (también llamada por la botánica como alga azul – verde) y las microalgas. Las Bacterias fotosintéticas y las cianobacterias son procariotas: las microalgas tienen una organización celular tipo eucariota. Las bacterias fotosintéticas difieren de las cianobacterias y las microalgas por sus pigmentos y el proceso fotosintético.

La habilidad del rendimiento de la fotosíntesis depende de la presencia de los pigmentos absorbedores de luz, las clorofilas. Las clorofilas absorben la luz principalmente en las regiones azul – violeta y rojo del espectro y absorben débilmente en la región verde; es por esto que muchos fotótrofos son de color verde.

Aparte de las clorofilas, otros pigmentos fotosintéticos, también están involucrados en la absorción de la luz, estos absorben luz a través del rango comprendido entre azul – verde y amarillo – naranja, donde la clorofila absorbe poca luz.

Las microalgas tienen un tipo de fotosíntesis que envuelve dos fotosistemas (PSI y PSII), usan H₂O como donador de electrón, y evoluciona el oxígeno como un resultado de la fotólisis del agua. Las microalgas son en su mayoría aeróbicas (usan el oxígeno como un receptor de electrones para la metabolismo respiratorio) y autotróficas.

Fotosíntesis como función de la calidad de luz.

La longitud de onda absorbida por un fotótrofo depende del contenido de pigmentos como muestra el espectro de absorción (Tredici 1999). Solo longitudes de onda absorbidas son usadas. Pero no todas las longitudes de onda absorbidas son igualmente eficientes para la fotosíntesis. Por lo tanto, el espectro apropiado de fuente de luz para un fotótrofo es presentado mejor por el espectro de acción de fotosíntesis (la curva que se obtiene al graficar la tasa de fotosíntesis específica [P] contra la longitud de onda a través del rango fotosintético para los organismos cultivados).

Tasa de crecimiento.

Crecimiento puede ser definido como el incremento ordenado para todos los constituyentes de las células. Durante este proceso, los organismos unicelulares

crecen a su máximo tamaño, luego se dividen en dos hijas células. Las células hijas repetirán el proceso, y el número de células se doblara en intervalos de tiempo regulares. El tiempo requerido para que la población doble su número se denomina, tiempo de generación, g . La tasa de incremento de concentración de biomasa es generalmente expresado como la tasa de crecimiento específica, μ , el cual está relacionado con el tiempo de generación por $\mu = \ln 2 / g$. La tasa de crecimiento específico, el cual puede ser definido como una constante de proporcionalidad para la reacción de crecimiento catalítica, es descrita por:

$$\mu = \frac{1}{X} \left(\frac{dX}{dt} \right) \quad (1)$$

Donde μ es la tasa de crecimiento específica (h^{-1}), X es la concentración de biomasa ($g l^{-1}$), t es el tiempo (h), y $\frac{dX}{dt}$ es la variación de concentración de biomasa con respecto al tiempo ($g l^{-1} h^{-1}$), esto es, la productividad del cultivo por unidad de volumen.

Curva de crecimiento.

Cuando un fotótrofo crece bajo condiciones apropiadas en cultivos por lotes, su curva de crecimiento sigue un patrón en forma de S, mostrando seis fases principales (Tredici 1999). Cada fase se caracteriza por un valor particular de la tasa de crecimiento específico y refleja un estado metabólico particular de la población celular. Después del inoculo, el crecimiento no empieza necesariamente de inmediato desde que la mayoría de células pueden ser viables, pero no en condición de dividir, especialmente cuando el cultivo padre es viejo. El intervalo necesario para que las células transferidas para adaptar metabólicamente a la nueva situación y empiece el crecimiento es llamado la fase de retraso. Después de la fase de retraso, el cultivo entra en una fase de aceleración, durante la cual μ se incrementa continuamente. Cuando una tasa de crecimiento constante es alcanzada, se dice que el cultivo está en la fase de crecimiento exponencial.

Durante el crecimiento exponencial, todas las células están saturadas de luz (si una intensidad de luz de saturación es proporcionada en la superficie del cultivo) y el cultivo se comporta de acuerdo a la ecuación (1). El máximo μ es alcanzado en esta fase. La fase exponencial de crecimiento de los fotótrofos en cultivos por lotes normalmente duran por un relativamente corto periodo ya que las células empiezan a oscurecerse unas a otras mientras su número se incrementa; el crecimiento se limita por la luz y μ decrece (fase de desaceleración). El auto sombreado y el hecho que la fuente de energía es instantemente suministrada en la superficie del cultivo, no puede ser almacenada en el reactor. Durante la fase de desaceleración, mientras μ decrece continuamente, la productividad del cultivo puede mantenerse estable al máximo nivel por el proporcional incremento continuo en la concentración celular (X), ya que el incremento de la biomasa celular se comporta casi lineal, algunas veces la parte inicial de esta fase es llamada fase lineal.

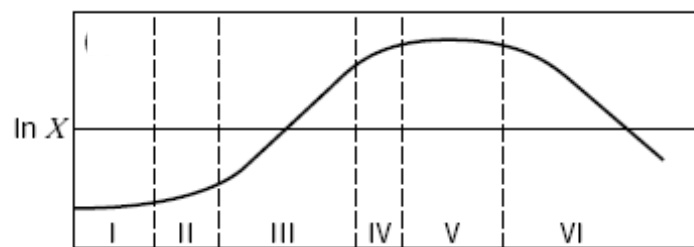


Figura B1. Curva de crecimiento en cultivo discontinuo en cada fase.

Las condiciones lineales de crecimiento son típicamente requeridos en cultivos másicos de fotótrofos, ya que ellos conllevan a su productividad más alta. Siguiendo la fase de crecimiento lineal, la población celular continúa incrementándose, pero μ decrece hasta llegar a cero, en este punto la concentración celular se mantiene constante en su máximo valor. La fase estacionaria es seguida por la fase de muerte, en la cual la población de células viables decrece.

Para mantener un continuo crecimiento exponencial con luz saturada, el proceso del cultivo tiene que cambiar de lotes a continuo; esto se logra por la remoción continua de células nuevamente formadas. Esta condición no es adoptada en procesos fotobiológicos que tienen como fin la producción de biomasa o de productos relacionados, porque conduce a una baja eficiencia de conversión de irradiancia sobre la superficie del cultivo y a una baja productividad.

Modelado de crecimiento fotosintético en fotobiorreactores.

El decaimiento exponencial de la intensidad de luz mientras penetra en cultivos densos es generalmente descrito por la ley de Lambert-Beer. Esta ecuación, sin embargo, cuenta para la sola absorción de los pigmentos y no toma en cuenta la luz dispersa por las células. Modelos más sofisticados han sido propuestos para la obtención de los perfiles de energía radiante dentro del reactor con una razonable precisión (13). Los modelos de crecimiento fotosintético son basados en suposiciones como la tasa de crecimiento se relaciona muy de cerca con la disponibilidad de luz dentro del cultivo.

Es necesario considerar ambos efectos de la intensidad de luz disponible en cada punto del reactor en la tasa de crecimiento y en como el ambiente es modificado por la absorción y dispersión. Un completo tratamiento de las cinéticas y de crecimiento fotosintético energético en fotobiorreactores ha sido presentado por Cornet y colaboradores. Modelos exactos para calcular la irradiación local y media dentro de los fotobiorreactores como función del diseño y de la irradiancia que incide, y para la tasa de crecimiento y la productividad relacionada con la irradiancia promedio ha sido desarrollado por Molina Grima y asociados.

Fuentes de luz artificial.

Uno de los factores fundamentales que guían la escogencia de una fuente de luz debería ser la eficiencia en la conversión de energía eléctrica a energía. Esta eficiencia varía considerablemente con el tipo de lámpara.

Otro aspecto a considerar es la calidad espectral de la luz emitida. Las eficiencias de fuentes de luz artificial varían con el tipo de lámpara, solo de alrededor del 5% en lámparas de halógeno incandescente, de 10 – 15% para tubos fluorescentes y 20 – 25% para lámparas de sodio alta presión. Solo con lámparas de Xenón y diodos emisores de luz se consigue una alta eficiencia, 80% (Tredici 1999). Otro aspecto a considerar es la calidad espectral de la luz emitida, donde se debe igualar el espectro de acción del cultivo. Las lámparas fluorescentes son ampliamente aceptadas, independientemente de la calidad espectral de su emisión, por que proveen una irradiación uniforme relativa sobre una larga superficie (Tredici 1999).

Anexo C. RESEÑA HISTÓRICA DE LOS FOTOBIORREACTORES.

El uso de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas data a finales de 1940 y fue una consecuencia lógica de las investigaciones llevadas a cabo con *Chlorella* en fundamentos de fotosíntesis. En estos tempranos años de cultivo de algas, el énfasis fue en un control continuo de cultivación; por lo tanto, reactores cerrados tuvieron prioridad. Sistemas abiertos fueron considerados inapropiados para garantizar el grado necesario de control y optimización del proceso.

Uno de los primeros sistemas cerrados fue llevado a cabo en la Universidad de Stanford en California a finales de 1940 y envolvía el uso de reactores tubulares verticales. Las unidades consistían de columnas de 1.8 m de altura y 10 cm de diámetro; aire enriquecido con dióxido de carbono fue inyectado por el fondo de la columna para obtener mezclado y control de pH/pCO₂. El sistema fue operado con *Chlorella* bajo luz artificial y luz solar. La productividad volumétrica máxima en ambientes cerrados fue de 0.48 g L⁻¹ d⁻¹. Y en ambientes exteriores el promedio fue de 0.28 g L⁻¹ d⁻¹. La razón para la baja productividad en ambientes exteriores no fue clara.

A principios de 1950, la compañía en el instituto de tecnología de Massachusetts, desarrollo dos tipos básicos de fotobiorreactores: una selección de 10 tubos plásticos rígidos y 50 m² de una unidad tubular flexible horizontal. La unidad horizontal podría ser considerada como la primera planta piloto para la producción de microalgas. Consistía en tubos de polietileno de 4 mm de grosor, que una vez llenos con el cultivo hasta un fondo de cerca de 8 cm, asumiendo una forma elíptica de 1.2 m de ancho. Los tubos estaban unidos al final en forma de un canal de 21 m de largo, para un área de superficie total de cerca de 56 m². El cultivo era circulado por una bomba centrífuga. El sistema de bombeo no podía generar velocidades de circulación por encima de 7.5 cm s⁻¹ y no era del todo apropiado

para el cultivo. Con la misma bomba y un tubo de 0.43 m de ancho, la tasa de flujo alcanzo 25 cm s^{-1} y los problemas de sedimentación fueron eliminados. Las fugas y la contaminación con *Chlorococcum* y protozos (protozoarios) fueron el mayor problema encontrado en el sistema de operación. Con una corrida de 40 d y un promedio de productividad de área obtuvieron $9 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$. Con los datos obtenidos en esta planta piloto se dio un material para el análisis económico para la producción de microalgas en fotobiorreactores, el cual concluye que el costo de los productos obtenidos en fotobiorreactores era excesivo en comparación con el equivalente de los materiales obtenidos usando métodos convencionales.

Por el mismo tiempo en Japón, Tamiya y asociados desarrollaron un sistema que consistía en un reactor de serpentín tubular sumergido en un baño de agua para el control de la temperatura y una columna externa para el intercambio de gases. Este sistema siempre que el criterio de diseño básico para todos los subsecuentes, esencialmente idénticos, reactores en serpentín. El reactor fue hecho de tubos de vidrio de 3 cm de diámetro unidos a una forma de serpentín y tenía un largo total de 33m. el volumen de cultivo total fue de 40 L. la circulación fue llevado a cabo a una velocidad lineal de $15 - 30 \text{ cm s}^{-1}$. En la columna de intercambio de gases, una mezcla del 5% de CO_2 en aire fue inyectada a una tasa de $1 - 1.5 \text{ L min}^{-1}$. La productividad fue directamente relacionada con la irradiancia solar con el mayor valor, alcanzada a la máxima irradiancia, cerca de $0.6 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Después de varios meses de experimentación, los autores concluyeron que uno de las mayores limitantes fue el control de temperatura y que un incremento significativo de la productividad podría ser puede alcanzarse mediante el cultivo de algas con una temperatura óptima más alta y una mezcla vigorosa para aumentar el crecimiento, proporcionando una iluminación intermitente. Estos conceptos aun son guía para la mayoría de los investigadores.

Muchos tipos de fotobiorreactores han sido diseñados y experimentados desde el trabajo de Pirt y asociados a inicios de 1980. La mayoría son sistemas de pequeña escala, solo en unos pocos casos se han escalado a tamaño comercial:

Fotobiorreactores Tubulares Verticales.

Muchos han sido desarrollados siguiendo el primer diseño de Cook. La principal característica de este sistema fue amplio, un delgado tubo de vidrio insertado desde el fondo de la columna para reducir los espacios oscuros dentro del reactor. Ya que la parte superior final era abierta, se podía usar para regular la temperatura del cultivo. El grosor de la cámara anular del cultivo de cerca de 3.5 cm se encontró ser óptima para el crecimiento sensible a la luz y a los esfuerzos de *Microcystis aeruginosa*. Columnas verticales rígidas, típicamente de 2 – 2.5 m de altura y 30 – 50 cm de diámetro, que son extensamente usadas en los criaderos para producir biomasa de algas para la alimentación de los estanques de larvas marinas y los peces debe ser incluida en esta categoría. Comúnmente estos sistemas son hechos de hojas de fibras de vidrio translucido formadas dentro de los cilindros. El aire es burbujeado desde el fondo para mezclado, y ya sea con iluminación natural o artificial o una combinación de las dos. James y Al-Khars cultivaron *Chlorella* y *nannochloropsis* en 200 L, 30 cm de diámetro en cilindros de fibra de vidrio de este tipo. Cinco unidades así fueron conectadas en serie y operadas continuamente. Iluminación fue suministrada externamente por un banco de lámparas de fluorescentes de luz diurna. Debido a la baja relación entre S/V de los cilindros, las productividades volumétricas medias $0.17 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ con *Chlorella* y $0.05 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ con *Nannochloropsis*) no fueron altas, excepcionalmente altas productividades por unidad de área ocupada fueron reportadas (sobre 200 g m^{-2} de área de terreno d^{-1} para *Chlorella*). Sin embargo, estos valores no deben ser tomados como un parámetro válido para la evaluación y comparación de este sistema.

Cilindros con iluminación interna, los cuales pueden ser considerados como una variación de reactor anular ideado por Jüttner, han sido propuestos por la producción de microalgas marinas en criaderos. Estos cilindros tienen altos costos de construcción, son menos costosos para operar que columnas completamente llenas. También tienen altas productividades volumétricas y mayor eficiencia de utilización de luz desde que el flujo de fotones suministrados al cultivo es completamente atrapado por él.

Miyamoto y colaboradores, experimentaron con reactores tubulares verticales (2.35 m de altura, 5 cm de diámetro interno) hechos a bajo costo con tubos de vidrio producidos en masa utilizados en la industria de la iluminación fluorescente. La productividad volumétrica fue de $0.6 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ con *Nostoc* y *Anacystic* en cultivos al aire libre. Aunque estos sistemas no representan una innovación son útiles debido a su bajo costo y su alta relación superficie/volumen en comparación con reactores de este tipo. Utilizando un sistema similar que consistía de 32 tubos de vidrio de 1.5 m de altura y 2.6 cm de diámetro interno, Hu & Richmond obtuvieron una productividad volumétrica de $0.6 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ con *Isochrysis galbana* cultivada al aire libre.

Los tubos de polietileno transparente de diferentes diámetros y espesor están disponibles en rollos largos a un costo muy bajo. Un reactor vertical desechable puede ser fácilmente construido cortando una longitud adecuada y sellarlo con calor en un extremo. Esta bolsa o reactor de manga puede ser suspendido de un marco o apoyados dentro de un marco de red. Tales reactores se utilizan en interiores con iluminación artificial (generalmente con lámparas fluorescentes montadas de forma vertical) o al aire libre bajo la luz solar. La temperatura alcanzada en la fabricación del tubo de polietileno es suficientemente alta como para esterilizar el material. Estos sistemas tienen una vida relativamente corta, producto de la contaminación biológica, pero son fáciles y baratos para sustituir en el final del cultivo. Mangas de polietileno transparente de dos metros de largo,

selladas en la parte inferior, y colgadas en una estructura de hierro se han utilizado para cultivar *Porphyridium* y *Dunaliella* al aire libre (en Israel), obteniendo una alta productividad significativa comparada con estanques abiertos. Los principales inconvenientes de los reactores de la manga es su baja relación superficie/volumen y la baja eficiencia de utilización de la luz artificial cuando se proporciona desde el exterior del reactor.

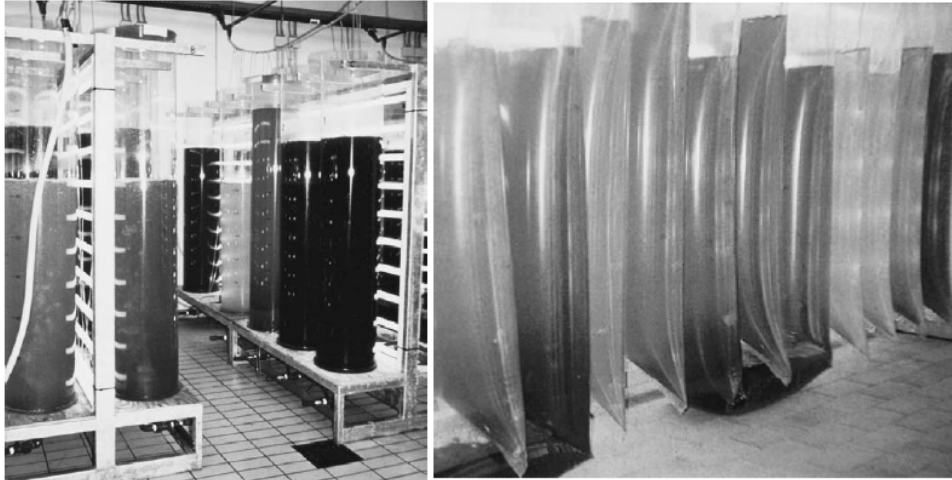


Figura C1. Cilindros y bolsas verticales (fuente Tredici 1999)

Fotobiorreactores Tipo Serpentin.

Son sistemas en donde varios tubos de cultivo están conectados en serie en forma de “U” formando un lazo plano que se puede organizar tanto vertical como horizontalmente. El intercambio de gases y la adición de nutrientes tienen lugar en un recipiente aparte. La circulación entre el lazo plano y el intercambiador de gases es alcanzada por el empleo de una bomba o de un puente aéreo. Varios reactores de este tipo han sido desarrollados en las dos décadas pasadas después del diseño original por Tamiya.

En la década de 1980, Gudín y sus compañeros de trabajo, trabajaron en el *Centre d'Etudes Nucléaires de Cadarache*, Francia, diseñaron (y desde entonces ha evolucionado) un serpentin horizontal donde la principal característica es el uso

de un estanque de agua para obtener el control de temperatura (un método previsto por Tamiya). Después de una primera versión de 1m² que consistía en tubos de vidrio de 3 cm de diámetro, una de 10 m² y luego plantas de 100 m² que fueron construidas usando largos tubos plásticos de diámetros flexibles. El volumen total del sistema de 100 m² fue de 7 m³. El control de temperatura fue alcanzado por flotación o inmersión del reactor en un baño de agua inflando o desinflando una segunda capa de tubos colocados por debajo de los del reactor. Inicialmente, el cultivo se distribuyó por medio de una bomba, pero más tarde los sistemas airlift fueron adoptados para limitar los daños de corte a las células sensibles y al mismo tiempo proporcionar un suministro de O₂ y desgasificación de CO₂. Productividades desde 20 hasta 25 g m⁻² d⁻¹ fueron obtenidos con *Porphyridium cruentum* en una corrida de 2 meses. El uso de tubos rígidos en lugar de tubos flexibles en el trabajo más reciente del grupo de Gudin ha permitido operar un sistema de auto-limpieza que consiste en dos bolas de plástico, una con mayor densidad que el medio del cultivo y uno más ligero, que están hidráulicamente empujados a través del sistema. Aunque la inmersión de flotación en un baño de agua puede proporcionar la termorregulación eficiente, el costo de este sistema es exorbitante para la mayoría de las aplicaciones.

En 1992, el Dr. Gudin fundó the Heliosynthese S.A. compañía para el desarrollo de tecnología de fotobiorreactores tubulares en Francia. En 1996, Heliosynthese cambió su nombre por Thallia Pharmaceuticals S.A. Thallia actualmente hace uso de fotobiorreactores tipo serpentín para producir compuestos de algas de alto valor para los mercados de nutrientes y farmacéuticos. Los principales productos en desarrollo son los ácidos grasos poliinsaturados, los carotenoides (zeaxantina de *Porphyridium cruentum*, astaxantina de *Haematococcus Pluvialis*) y los antioxidantes.

Reactores del tipo desarrollado por Gudin están siendo operados por Molina Grima y sus colaboradores en España. Estos sistemas consisten de un lazo

horizontal hecho de tubos de Plexiglas* (cerca de 100 m de largo y 2.6 cm de diámetro), los cuales están conectados a un airlift de 3 a 3.5 m de alto. El receptor solar está inmerso en un tanque poco profundo para regular la temperatura. Oxígeno disuelto, pH, y sondas de temperatura se conectan a una unidad de control en línea para la toma de datos.

A principios de 1980, Pirt y asociados desarrollaron un reactor tubular en serpentín en la Universidad de Londres del Colegio de la Reina Elizabeth. El fotobiorreactor consistía de un fotomontaje formado por 52 tubos de vidrio pyrex (cada uno de aproximadamente 1 m de largo y 1 cm de diámetro interno) fijados horizontalmente. Los tubos estaban conectados en forma de un lazo vertical y este estaba conectado a un desgasificador externo. El reactor ocupaba un área de alrededor de 0.5 m². La suspensión de cultivo (cerca de 4.6 L) era distribuida ya sea por una bomba peristáltica, una bomba de desplazamiento positivo rotacional o por un airlift; este último, fue preferido por los efectos adversos observados con las dos bombas. Con un consorcio definido que consistía de un tipo de *Chlorella* de alga verde y tres bacterias quimiotróficas, la concentración celular en exceso de 20 g L⁻¹ y una muy alta productividad de 2.2 g m⁻² h⁻¹ fue alcanzada a una intensidad de luz de solo 38 W m⁻² (PAR). El trabajo llevado a cabo por Pirt y asociados fue excepcional por tres razones: suministro el primer análisis detallado de los parámetros ingenieriles fundamentales de fotobiorreactores cerrados, introdujeron el concepto de alta relación S/V (127 m⁻¹ en este caso), y obtuvieron eficiencias extremadamente altas de conversión de luz.

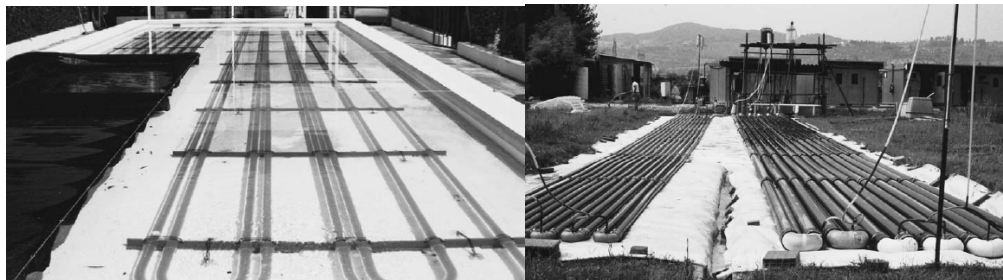


Figura C2. Fotobiorreactores de serpentín horizontales de la Universidad de Almería, España y el centro de estudio de microorganismos autotórficos de Florencia Italia, (fuente Tredici 1999)

Fotobiorreactores planos.

Los fotobiorreactores planos y las cámaras de cultivo planas a menudo han sido utilizadas para cultivar microorganismos fototróficos en el laboratorio debido a que proporcionan una geometría simple y facilitan enormemente la medición de la irradiación en la superficie del cultivo. A pesar de su aparente simplicidad, pocos de estos sistemas han sido utilizados para el cultivo masivo de algas.

El primer fotobiorreactor plano que se desarrolló para la producción de algas fue la “bandeja de balanceo” usada por Milner en 1953 para el crecimiento de cultivos de *Chlorella* en una delgada capa turbulenta. Este sistema era de 2.65 m², 9 cm de profundidad de la bandeja cubierta por alambre de láminas de plástico transparente reforzado y apoyado en un agitador. A una profundidad del cultivo de 1.7 cm, una productividad promedio de 8.2 g m⁻² d⁻¹ fue obtenida en una corrida de 20 días. Después de esta experiencia, los fotobiorreactores planos fueron abandonados en la práctica hasta la década de 1980.

Anderson & Eakin, cultivaron *Porphyridium cruentum* al aire libre para producción de polisacáridos usando fotobiorreactores planos de 3 m² y 5 a 20 cm de profundidad (hechos en acero inoxidable y cubiertos de vidrio o de plástico) que se inclinaban horizontalmente para maximizar la intercepción de la radiación solar. Cerca de 20 g de polisacárido m⁻² d⁻¹ fue producido durante el verano, cuando se proporcionó un control de la temperatura.

A mediados de 1980, dos grupos trabajaron independientemente en Francia y en Italia introduciendo paneles planos alveolares en el cultivo de algas. Esos sistemas fueron construidos desde PVC transparente, policarbonato u hojas de polimetacrilato de metilo que son internamente divididas para formar canales rectangulares llamados alveolos. Estas hojas están comercialmente disponibles en espesores desde 4.5 hasta 40 mm.

Las placas alveolares como sistemas de cultivo de algas fueron primero usadas por Ramos de Ortega y Roux en el *Centre d'Etudes Nucléaires de Grenoble*, Francia. Estos autores experimentaron con 6 m de longitud, 0.25 m de ancho, 4 cm de espesor, paneles de doble capa hechos de PVC transparente para el crecimiento de *Chlorella* en un invernadero y al aire libre. Las placas fueron colocadas horizontalmente en el suelo, la capa superior de los canales se utilizó para el crecimiento de algas y la parte inferior para la termorregulación. La suspensión del cultivo se distribuyó a través de una bomba. La productividad de $24 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ fue alcanzada en el verano usando unidades de 1.5 m^2 de área superficial. Los autores destacaron el hecho de que la placa de doble capa permite termorregulación eficiente del cultivo y que los rendimientos significativamente altos se obtuvieron con los paneles que con hojas flexibles y tubos semirrígidos.

Los primeros reactores tipo panel fueron construidos y experimentados en Florencia por Tredici y sus colaboradores colocándolos de forma vertical, con los canales (y por tanto el flujo del cultivo) que corre paralela en el suelo, se implemento un diseño adoptado en Alemania por Pulz, donde una bomba fue usada para circular la suspensión. En 1988, el *Consiglio Nazionale delle Ricerche* (CNR) de Italia presento este reactor en la exhibición ITALIA 2000, celebrado en Moscú. El mismo año la concesión de una patente diferente para un diseño diferente, en la que la placa se coloca verticalmente, pero con los canales perpendiculares al suelo la mezcla se ha logrado por el burbujeo de aire en la parte inferior del reactor. Esta última versión ha sido usada extensamente en Florencia para el cultivo al aire libre de cianobacterias. Los platos usados en Florencia se construyen desde 16 mm de Plexiglás; hojas alveolares comúnmente disponibles en el mercado. Las principales características de estos reactores es su alta relación S/V (80 m^{-1}), la inclinación vertical o el inclinado respecto a la horizontal de los canales, y el hecho de que ningún dispositivo mecánico se utiliza para mezclar la suspensión celular, la circulación y la desgasificación del cultivo se

logro a través de burbujas de aire en la base de cada canal. Placas elevadas de columna de burbujeo de 2,2 m² de superficie se han utilizado para estudiar la influencia de algunos de los principales parámetros culturales, tales como la densidad de almacenaje, la turbulencia, la tensión de oxígeno, y la orientación de los fotobiorreactores, en la productividad y la composición de la biomasa de la *Arthrospira platensis*.

Las placas alveolares, debido a su alta relación S/V, pueden alcanzar altas productividades volumétricas (>2 g L⁻¹ d⁻¹) y permitir una operación a alta concentración celular (4-6 g L⁻¹). Esos sistemas, sin embargo, generalmente han logrado bajas producciones por área (cerca de 24 g m⁻² d⁻¹) comparadas con los reactores tubulares (cerca de 28 g m⁻² d⁻¹). El menor rendimiento alcanzado por los cultivos en las placas se ha atribuido al hecho de que estos sistemas, a diferencia de los reactores tubulares, no alcanzan la dilución de luz (a menos que se encuentren en una alta inclinación con la horizontal) y por lo tanto los cultivos en las placas sufren con más fuerza a causa de el efecto de saturación de luz y de la fotoinhibición. Los platos alveolares, al igual que otros sistemas de platos pequeños, se pueden utilizar para la investigación o en pequeñas plantas de producción, sin embargo, debido a que el área de superficie del cultivo se limita a unos pocos m², no son adecuados para su uso en grandes plantas comerciales.

Recientemente, el IGV *Institut für Getreideverarbeitung (Bergholz-Rehbrücke, Germany)*, realizó cultivos basados en paneles alveolares de 32 mm de grosor fueron desarrollados y operados por Pulz y sus colaboradores. Normalmente, las placas se colocan verticalmente, con los canales dispuestos horizontalmente, a tan sólo 20 cm de distancia, para formar una estructura compacta denominada “fotobiorreactor”. El cultivo, circulado por una bomba de pistón, debe alcanzar una velocidad adecuada para mantener el flujo turbulento dentro de los canales. La distancia del desgasificador es crítica para evitar concentraciones tóxicas de oxígeno. Unidades de 100 a 10.000 L, hechas de placas empacadas, se han desarrollado y probado tanto en interiores como al aire libre con diferentes

microalgas y cianobacterias. Niveles de productividad de $1.3 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, corresponden a 28 g m^{-2} de superficie iluminada d^{-1} , han sido obtenidos con *Chlorella* bajo iluminación natural. Entre los problemas que han surgido son la acumulación de oxígeno (hasta $30\text{-}40 \text{ mg L}^{-1}$ a la salida del sistema) y ensuciamiento.

La principal característica del fotobiorreactor es empaquetamiento estrecho de los paneles: 42 paneles, para un volumen total de 6 m^3 , puede ser empacado en 100 m^2 de tierra. La productividad por área es de hasta $130 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ han sido reportados como unidades compactas, pero estas cifras parecen excesivas y, de hecho se confirma la incorrección de referencia del rendimiento de los reactores verticales por unidad de los territorios ocupados. El mayor merito del fotobiorreactor, además de su alto grado de desarrollo técnico, es el logro de una significativa dilución de luz. Los fotobiorreactores son vendidos comercialmente por B. Braun Biotech Int. en tamaños desde 10 hasta 6000 litros.

Richmond y sus colaboradores, desarrollaron un fotobiorreactor inclinado que consistía en una serie de cámaras de vidrio plano, de 0.7 m de altura, 0.9 m de largo, y usualmente 2.6 cm de anchura, conectado en cascada y inclinado en un ángulo adecuado para maximizar la captura de radiación solar. El volumen del cultivo varía entre 6 a 50 L de acuerdo con la anchura del reactor. Dos tipos de mezcla fueron probados: un sistema airlift que consistía en 5 columnas de PVC transparente insertadas verticalmente en los reactores con aire comprimido inyectado en la base de las columnas, y un sistema de columnas de burbujeo a través de dos tubos perforados que corre horizontalmente a lo largo de toda la longitud del reactor, una en la parte inferior y el otro a mitad de la altura. El último método dio un mejor rendimiento, por adoptar un reactor de 2.6 cm de anchura y un mezclador vigoroso ($2.5 \text{ L de aire L}^{-1} \text{ de cultivo en suspensión min}^{-1}$), y una área de productividad record de 49.4 g m^{-2} superficie iluminada d^{-1} se logro. Cuando la parte trasera y el costado de las superficies del reactor estaban cubiertos para

evitar la entrada de luz difusa, la productividad se redujo en un 20%. Sin embargo, esta cifra es la más alta reportada para una cianobacteria cultivada al aire libre.

En el uso de este sistema modular plano, un Grupo israelí lo ha abordado y ha contribuido a aclarar aspectos fundamentales del diseño del fotobiorreactor, como óptima la densidad celular con referencia a la trayectoria de la luz, el efecto de la inclinación del reactor, la importancia de la modalidad y la intensidad de la mezcla.

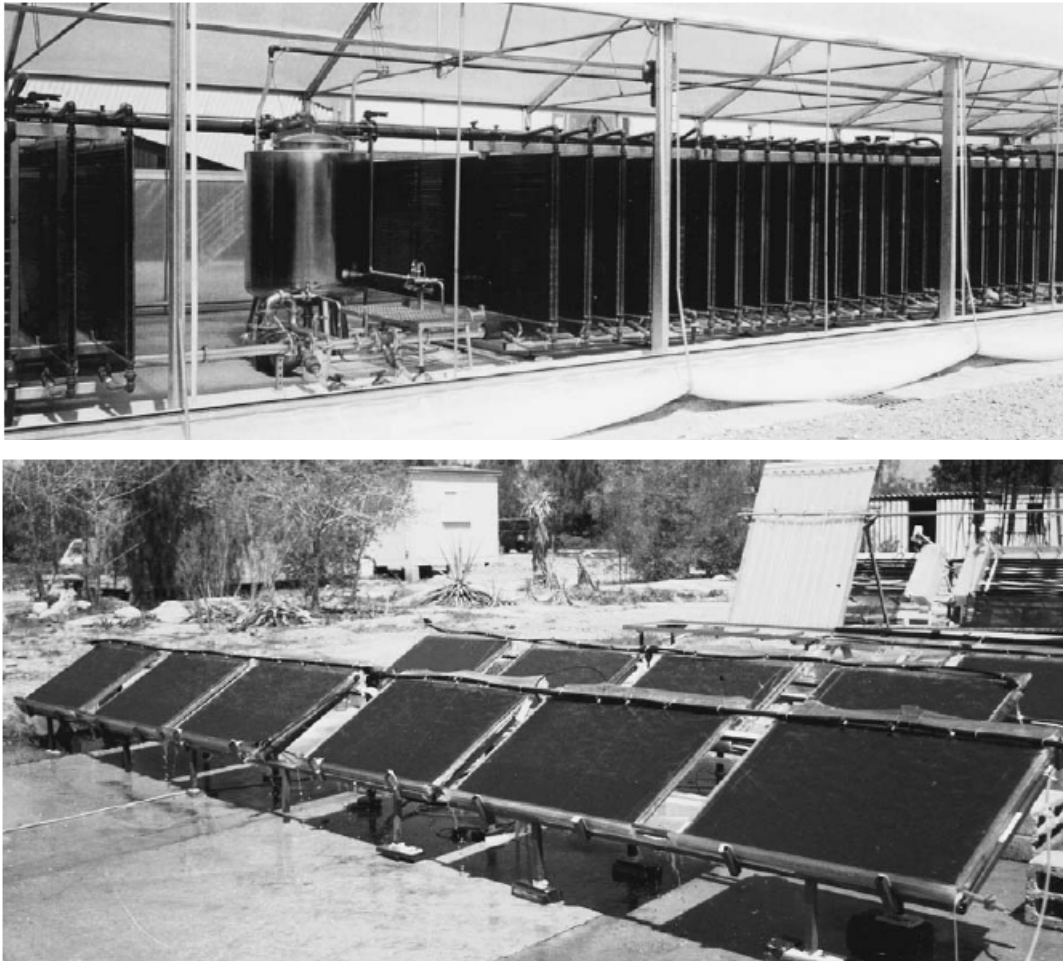


Figura C3. Fotobiorreactores planos, sistema construido en Alemania y reactores planos de vidrio experimentados en la Universidad de Negev, Israel (fuente Tredici 1999)

Anexo D. FOTOBIORREACTORES A ESCALA COMERCIAL.

Solo unos pocos fotobiorreactores a escala comercial han sido construidos y operados: un fotobiorreactor (basado en dos diseños diferentes descritos en la patente de Pirt) en el sur de España a finales de 1980 y el fotobiorreactor hidrobiológico múltiple (probablemente inspirado por anteriores diseños similares en Italia por el *Centro di Ricerca Agro-Industriale y Montedison*) establecido a mediados de los 90's en el norte de Argentina. A pesar de que los diseños son muy diferentes, ambas plantas sufrieron errores similares con respecto a algunos errores técnicos fundamentales y en la fase de escalado.

Planta Fotobiorreactores Ltd.

Aunque las mediciones y extrapolaciones de Pirt no fueron perfectas, la calidad del trabajo realizado en el *Queen Elizabeth College* y la alta productividad proyectada atrajo inversiones y trajo consigo la creación de la empresa, Fotobiorreactores Ltd. (PBL UK), en 1986. Una planta piloto fue construida y probada por la granja de investigación de la Universidad de Reading (Sonning, UK). Tres Años más tarde, PBL España (PBL SA) fue fundada con investigadores de industrias privadas (como el laboratorio danés Hansen) y entes españolas (Instituto de Fomento de la Región de Murcia and Centro de Desarrollo Técnico Industrial). Una segunda planta piloto fue creada en Santomera (Murcia, España), y finalmente una planta comercial para la producción de *Dunaliella* fue establecida en Santa Ana cerca a Cartagena (Murcia, España). La actividad a gran escala comenzó en Mayo de 1990, con un sistema vertical hecho de 50 filas, cada una de las cuales contenía 50 tubos de polietileno de 1.2 cm de diámetro y 50 m de largo (para un total de 125000 m). La circulación fue proporcionada por un sistema airlift, las temperaturas fueron controladas protegiendo los fotobiorreactores del sol con redes o por rociadores de agua. Un sistema horizontal aproximado fue

construido después acorde al diseño del sistema a gran escala patentado por Pirt, usando cerca de 200000 metros de tubo de polietileno. Algunos de los errores técnicos más evidentes de estos sistemas son: El diámetro de los tubos era muy pequeño para un buen mezclado teniendo en cuenta el diseño de los mismos, el material de los tubos se degrada rápidamente por la luz solar, la desgasificación de oxígeno es insuficiente, el crecimiento celular en las paredes de los tubos era casi inevitable y el control de la temperatura era problemático.

Una alta relación S/V en relación con la longitud de los tubos, junto con la insuficiente circulación y el inapropiado manejo del cultivo, trae un pobre crecimiento de las algas, ensuciamiento y alta contaminación. Pero, por lo que se conoce, la principal razón fue la construcción inadecuada de la planta: Aunque las plantas piloto habían sido cuidadosamente planeadas y construidas y construidas con un adecuado escalamiento de hasta 10 veces en diferentes etapas, pero los problemas encontrados durante la etapa de planta piloto no se tomaron muy en cuenta y se corrigieron a la hora de comenzar la actividad comercial. En septiembre de 1991, después de ocurrir el colapso del cultivo, los trabajadores fueron despedidos y la empresa PBL fue cerrada.

Planta Hidrobiológica SA.

En 1996, Hidrobiológica SA, con una inversión inicial de \$2 millones de dólares, construyeron el fotobiorreactor más largo conocido en aquel tiempo a 15 km al sur de La Rioja (Norte de Argentina). El sistema consiste en 96 tubos de polietileno de 0.4 mm de espesor, cada uno de 120 m de largo y 25.5 cm de diámetro, dispuestos de forma paralela y horizontal en el suelo y arreglados como un colector con alimentación conectados y con canales de recolección hechos de concreto. Los tubos, parcialmente llenados, se mantuvieron a una baja presión de modo que asumieran una forma casi elíptica (cerca de 35 cm de ancho y 9 cm de alto). La planta fue dividida en 4 módulos, donde cada uno de ellos está

compuesto en submódulos de 6 tubos. Se hizo un espacio intermedio de 0.5 m entre un submódulo y el siguiente a él, mientras que los módulos están separados entre sí un metro. Los cuatro módulos fueron conectados a una alimentación común y a unos canales colectores. La superficie ocupada por toda la planta, incluyendo los espacios entre los tubos, fue de aproximadamente 5000 m², y el volumen total del cultivo fue de 600 m³. El cultivo (de *Arthrospira platensis*) se distribuyó con una velocidad de flujo entre 6 y 10 cm/s por una bomba de flujo axial con una capacidad máxima de 900 m³/h. La bomba levanta la suspensión del canal colector, el cual fue alimentado por los tubos del cultivo, hasta un segundo canal, que está inclinado. La suspensión fluía por gravedad a través de este segundo canal, que corría en paralelo a los tubos del cultivo por 120 m, hasta el canal de alimentación en el extremo opuesto del reactor. El canal de alimentación, de aproximadamente 42 metros de largo, distribuyeron la suspensión del cultivo hasta la entrada de los tubos. Durante el periodo inicial de actividad, la concentración celular se mantuvo sobre 1 g/L y la productividad fue calculada en alrededor de 0.2 g L⁻¹ d⁻¹; la biomasa producida fue de excelente calidad. En una larga corrida, sin embargo, varios problemas fueron evidentes; el más significativo fue el pobre mezclado y el ensuciamiento debido a la baja velocidad de flujo y a la desigual distribución del cultivo en los tubos. La limitada capacidad de controlar la temperatura fue también un gran inconveniente en el verano. Es posible que el oxígeno acumulado llegara a niveles peligrosos a pesar de la salida de gas prevista a medio camino a lo largo de los tubos, pero no hay datos disponibles.

A finales de los 90's, la planta fue sometida a una completa reestructuración; el principal objetivo de esta labor es subdividir en unidades separadas, reducir el diámetro de los tubos, y mejorar el mezclado y la circulación del cultivo. Los mayores errores, además del pobre mezclado y el limitado control de la temperatura, fueron probablemente es escalado impreciso y el hecho de que solo una unidad grande fue construida y operada lo cual dificulta su operatividad.

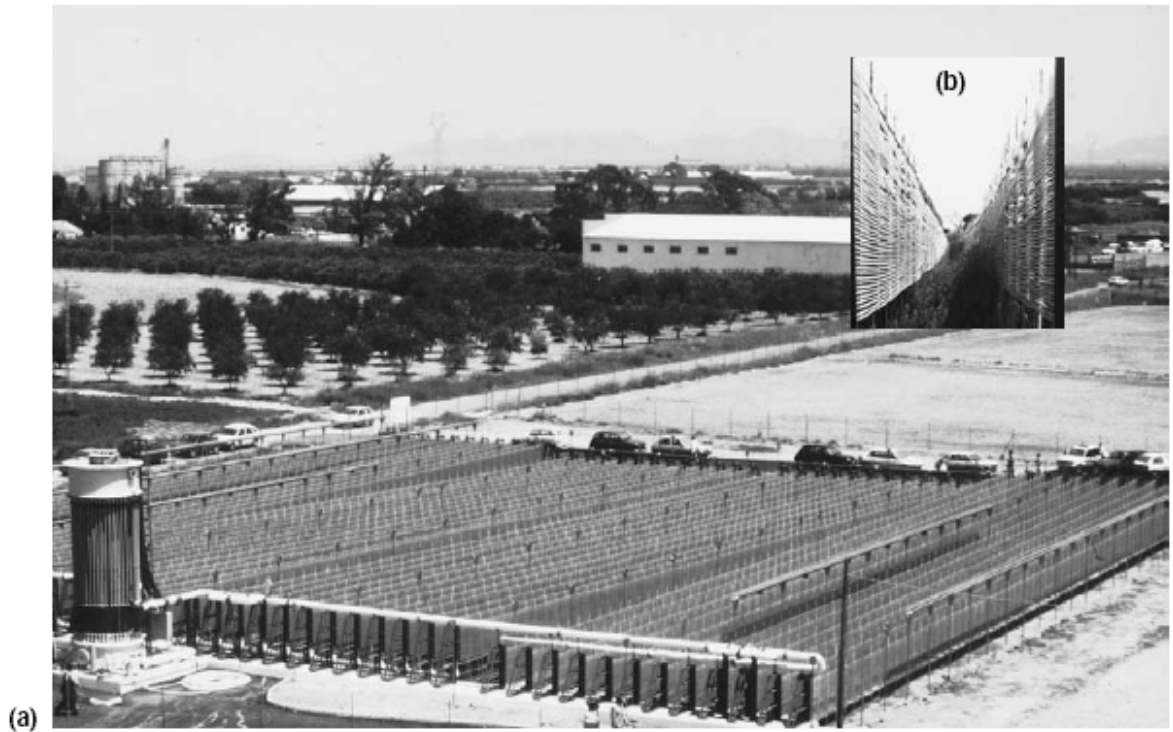
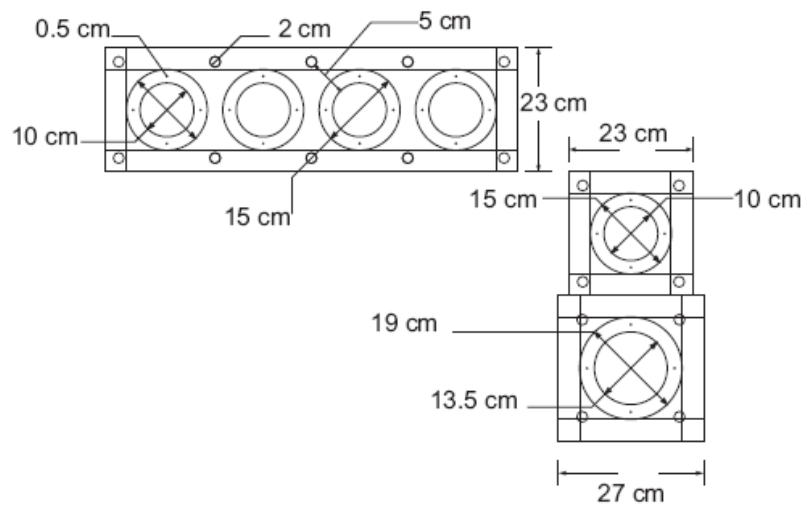
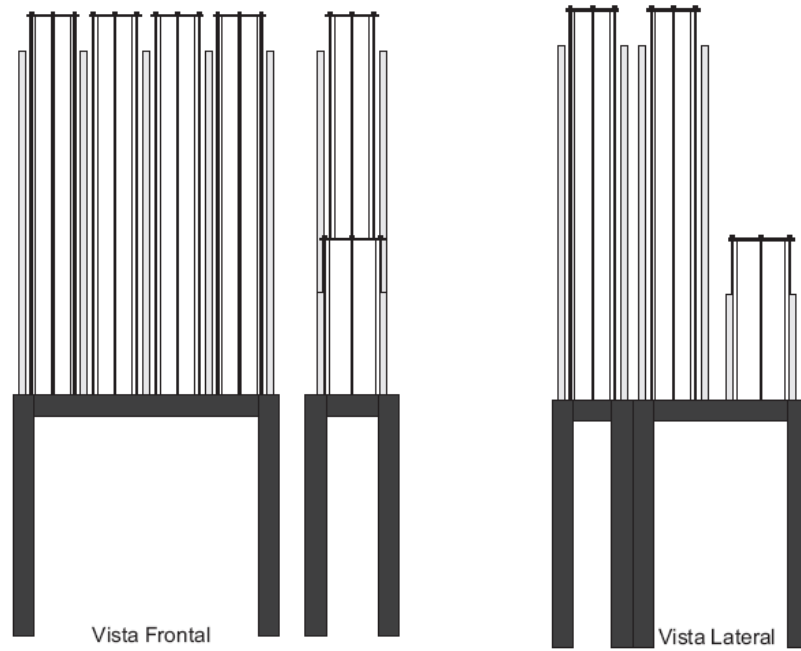
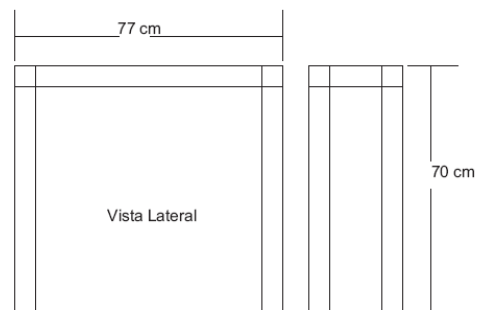
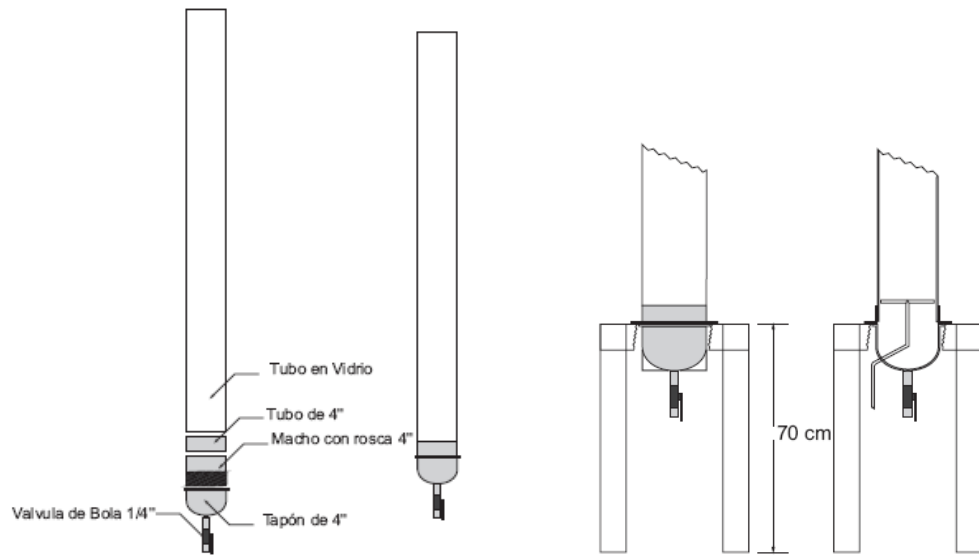
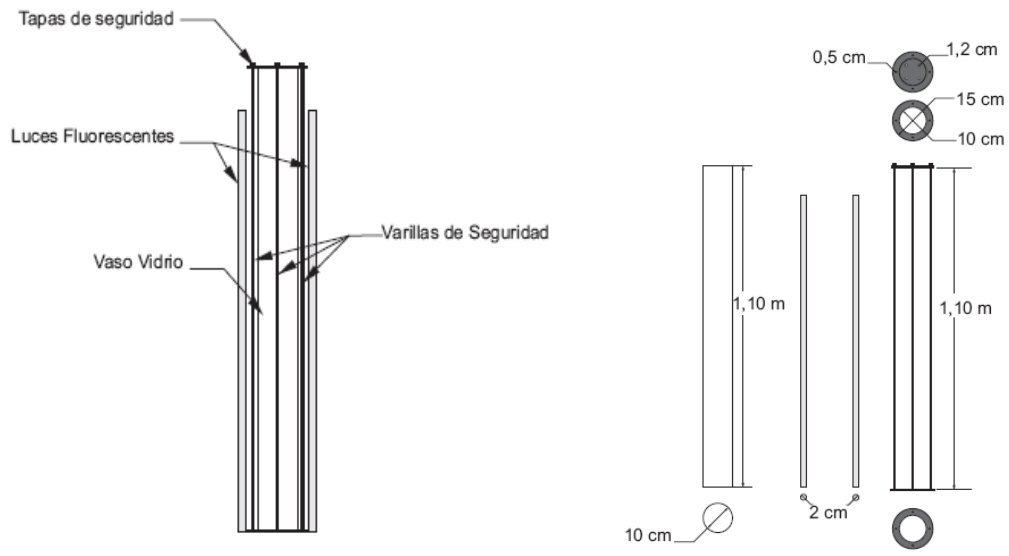


Figura D1. Fotobiorreactores a escala comercial. (a) Fotoiorreactor Ltd en Santa Ana, Murcia, España. (b) una particularidad del sistema vertical de Fotobiorreactores en Julio 1995, cuatro años después del cierre. (c) La Planta Hidrológica SA construida en La Rioja, Argentina (fuente Tredici 1999)

Anexo E. PLANOS DEL FOTOBIORREACTOR DISEÑADO Y MONTADO EN EL LABORATORIO.



Vista Superior



Anexo F. COMPOSICIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO DE MICROALGAS.

A continuación se muestran los componentes del medio básico de Bold para algas de agua dulce el cual fue utilizado en el cultivo de algas realizado en el fotobiorreactor diseñado ya que fue el que mejores resultados arrojó en experimentos anteriores con otros medios:

Soluciones Stock	Para 400 ml
(1). NaNO ₃	10.0 g
(2). MgSO ₄ .7H ₂ O	3.0 g
(3). NaCl	1.0 g
(4). K ₂ HPO ₄	3.0 g
(5). KH ₂ PO ₄	7.0 g
(6). CaCl ₂ .2H ₂ O	1.0 g

Soluciones Stock	Para un Litro
(7). Solución de elementos de traza (autoclave para disolverse): ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.82 g
MnCl ₂ .4H ₂ O	1.44 g
MoO ₃	0.71 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	1.57 g
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0.49 g
(8). H ₃ BO ₃	11.42 g
(9). EDTA	50.0 g
KOH	31.0 g
(10). FeSO ₄ .7H ₂ O	4.98 g
H ₂ SO ₄ (concentrado)	1.0 ml

Medio	Para un Litro
Soluciones Stock 1 - 6	10 ml cada una
Soluciones Stock 7 - 10	1 ml cada una

En la siguiente tabla se muestran los componentes del medio Watanabe:

Solución Stock 1	Para un Litro
KNO ₃	1.25 g
KH ₂ PO ₄	1.25 g
MgSO ₄	20 mg
FESO ₄	20 mg

Solución Stock 2	Para un Litro
H ₃ BO ₃	2.86 g
MnCl ₂ •4H ₂ O	1.81 g
ZnSO ₄ •7H ₂ O	222 mg
Na ₂ MoO ₄ •2H ₂ O	390 mg
CuSO ₄ •5H ₂ O	79 mg

En la siguiente tabla se muestran los componentes del medio Peptona Proteasa:

Soluciones Stocks	Para un Litro
(1) MgSO ₄ •7H ₂ O	1.0 g
(2) K ₂ HPO ₄	1.0 g
(3) KNO ₃	10.0 g

Medio	Para un Litro
Peptona Proteasa (Oxoid L85)	1.0 g
Soluciones Stock 1 - 3	20.0 ml

Mezclar las soluciones Stock en un litro de agua destilada. Adicionar la Peptona proteasa para preparar el medio correspondiente.

Anexo G. EQUIPOS UTILIZADOS EN LAS PRUEBAS REALIZADAS EN EL FOTOBIORREACTOR.

En la siguiente imagen se muestran la balanza analítica y el analizador de gases infrarrojo de Status Scientific Controls Ltd. (izquierda).



En la siguiente imagen se puede apreciar un horno marca Binder utilizado en las pruebas de peso seco.



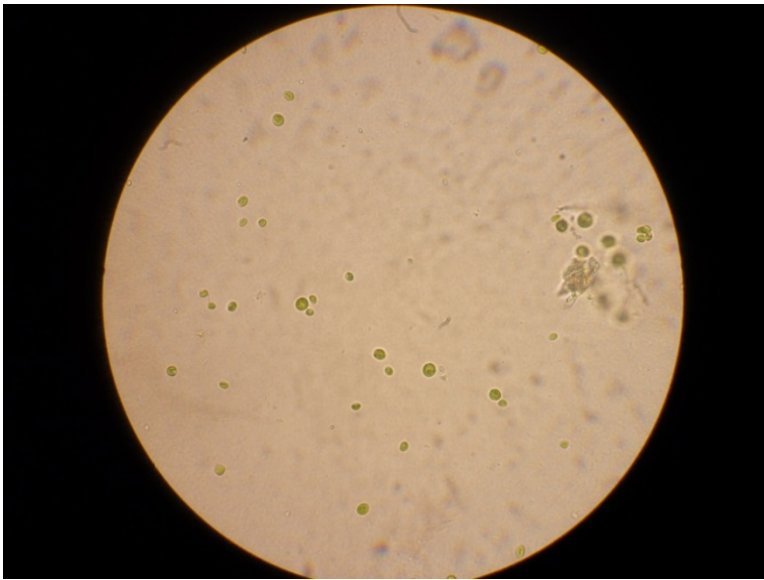
En la siguiente imagen se aprecia un pHmetro marca Schott Instruments utilizado en la medición del pH del cultivo de microalgas realizado en el fotobiorreactor montado.



En la siguiente imagen se puede observar un termómetro digital tipo sonda que fue implementado para tomar la temperatura diaria en el cultivo realizado en el fotobiorreactor.



En la siguiente imagen se aprecia un microscopio marca Nikon Labophot – 2 del que se tomo una imagen microscópica (de 100x) del cultivo de microalgas realizado en el fotobiorreactor.



En el documento de la siguiente página está consignada la viscosidad obtenida por un Reómetro marca Brookfield (que se ilustra en la siguiente imagen) del cultivo de microalgas realizado en el fotobiorreactor.



El dato final del siguiente documento referente a la viscosidad es de 2.13 cP a una temperatura de 23,6 grados centígrados.

Rheocalc V2.4 Brookfield Engineering Labs

File: Unsaved Data

Test Date: 27/01/2010 Test Time: 03:15:46 p.m. Torque Multiplier: Spindle:

Sample Name: Unsaved Data *A/gas.*

#	Viscosity (cP)	Speed (RPM)	% Torque (%)	Shear Stress (D/cm ²)	Shear Rate (1/sec)	Temperature (°C)	Time Interval (mm:ss.t)
1	1.84	163.53	4.7	3.68	200.00	22.5	00:30.2
2	1.83	167.62	4.8	3.76	205.00	22.6	00:30.2
3	1.83	171.71	4.9	3.84	210.00	22.6	00:30.2
4	1.86	175.80	5.1	3.99	215.00	22.6	00:30.2
5	1.92	179.89	5.4	4.23	220.00	22.7	00:30.3
6	2.02	183.97	5.8	4.54	225.00	22.7	00:30.2
7	1.94	188.06	5.7	4.46	230.00	22.7	00:30.2
8	2.00	192.15	6.0	4.70	235.00	22.7	00:30.2
9	2.02	196.24	6.2	4.85	240.00	22.6	00:30.2
10	2.04	200.33	6.4	5.01	245.00	22.6	00:30.3
11	2.07	204.42	6.6	5.17	250.00	22.5	00:30.2
12	2.09	208.50	6.8	5.33	255.00	22.5	00:30.2
13	2.08	212.59	6.9	5.40	260.00	22.5	00:30.2
14	2.13	216.68	7.2	5.64	265.00	22.5	00:30.3

Notes:

↓
236

Anexo H. TRANSFERENCIA DE MASA GAS-LIQUIDO EN COLUMNAS DE BURBUJEO.

En un fotobiorreactor la disponibilidad de luz es influenciada por la tasa de aireación, el agarre de gas y la velocidad del líquido (mezclado y turbulencia) (Sánchez Mirón *et al.* 2000).

Hidrodinámica gas – líquido

Agarre de gas (ϵ):

$$\epsilon = \frac{V_G}{V_G + V_L} \quad (2)$$

Donde V_G y V_L son los volúmenes de gas y líquido en el reactor.

Una dispersión del tamaño de burbuja uniforme d_B , las áreas interfaciales específicas, basadas en el volumen líquido (a_L) o en el volumen de dispersión (a_D)

$$a_L = \frac{6\epsilon}{d_B(1-\epsilon)} \quad (3)$$

$$a_D = \frac{6\epsilon}{d_B} \quad (4)$$

Para la mayoría de situaciones prácticas (Calderbank 1958, Heijnen & Van't Riet 1984) se puede asumir

$$d_B \propto \left[\frac{\sigma}{2\rho_L^{1/3} \left(\frac{P_G}{V_L} \right)^{2/3}} \right]^{3/2} \quad (5)$$

Donde ρ_L es la densidad del líquido, P_G la potencia de entrada del gas, σ es la tensión superficial. Esta expresión se basa en la teoría de Kolmogoroff-Hinze

(Chisti 1989); para sistemas agua-aire, la constante de proporcionalidad es cercana a 1.9 (Chisti 1989).

Potencia de entrada a dispositivos neumáticos se calcula por la expresión (Chisti 1989)

$$\frac{P_G}{V_L} = \rho_L g V_G \quad (6)$$

Una forma sencilla de medir el agarre de gas es por medio de la técnica de expansión de volumen (Chisti 1989) mediante la expresión

$$\alpha = \frac{h_D - h_L}{h_D} \quad (7)$$

Donde h_D y h_L son las alturas del líquido en el reactor aireado y sin airear.

Para fluidos newtonianos, el agarre de gas se puede expresar

$$\alpha = \frac{v_G}{v_b} \quad (8)$$

Donde v_G es la velocidad del gas y v_b es la velocidad de ascenso de burbuja media (Merchuk 1986).

En columnas de burbujeo, la velocidad del gas determina el régimen de flujo, siendo flujo de burbuja cuando $v_G < 0.05 \text{ m/s}$, y flujo de choque de burbuja cuando $v_G > 0.05 \text{ m/s}$

El agarre de gas no se ve afectado por la altura del líquido, pero esta última sí afecta otras consideraciones hidrodinámicas, como por ejemplo, el tiempo de residencia medio del gas en dispersión (t_R)

$$t_R = \frac{h_D}{v_b} \quad (9)$$

Donde h_D es la altura de dispersión. Despejando esta altura de la expresión del agarre de gas, se tiene

$$h_D = \frac{h_L}{1 - \varepsilon} \quad (10)$$

$$t_R = \frac{h_L}{(1 - \varepsilon)v_D} \quad (11)$$

Y en columnas de burbujeo sin flujo de líquido neto,

$$v_D = \frac{v_G}{\varepsilon} \quad (12)$$

$$t_R = \frac{h_L \varepsilon}{(1 - \varepsilon)v_G} \quad (13)$$

Varias correlaciones se han propuesto para el coeficiente de transferencia de masa con la velocidad del gas en columnas de burbujeo.

1. Bello et al. 1985

$$k_L a_L = 0.76 v_G^{0.88} \quad (14)$$

Rango de parámetros, sistema aire-agua, $v_G = 0.0137$ a 0.086 m/s

2. Heijnen & Van't Riet 1984

$$k_L a_L = 0.32 v_G^{0.87} \quad (15)$$

3. Chisti 1989

$$k_L a_L = 2.39 \times 10^{-4} \left(\frac{P_G}{V_L} \right)^{0.86} \quad (16)$$

4. Sánchez Mirón et al. (2000) plantea una nueva correlación de la siguiente forma

Evidencia experimental afirma que

$$\frac{h_L}{v_G} = \varepsilon, \text{ constante} \quad (17)$$

Partiendo de

$$a_L = \frac{6s}{d_B(1-s)} \quad (18)$$

Y multiplicando por k_l a cada lado, y reemplazando a $s = v_g/v_b$ se tiene

$$k_L a_L = \frac{6zv_g}{v_b \left(1 - \frac{v_g}{v_b}\right)} = \frac{6zv_g}{v_b - v_g} \quad (19)$$

La velocidad de ascenso de burbuja es función del diámetro de burbuja, y este último es controlado por la energía de entrada específica al reactor (Chisti 1989) y por la columna de burbujeo

$$v_b = f(d_B) \quad d_B \propto E^k \propto (gv_g)^k$$

k es usualmente cercano a -0.4 (Bhavarajo *et al.* 1978, Calderbank 1958)

$$k_L a_L = \frac{6zv_g}{cv_g^k - v_g} = \frac{6z}{cv_g^k - 1} \quad (20)$$

El parámetro c es cercano a la unidad en el régimen de flujo de burbuja

$$k_L a_L = \frac{\Phi}{v_g^k - 1} \quad (21)$$

Donde $\Phi = 6z$, (Artículo BC) encontró esta expresión para el agua

$$k_L a_L = \frac{0.874}{v_g^{0.774} - 1} \quad (22)$$

El coeficiente de transferencia de masa usado por los diferentes autores, fue calculado para el oxígeno como el gas de transferencia, si se usa otro diferente a este último, se necesita correlacionarlo; el gas de transferencia de interés para el cultivo de microalgas es el CO_2 , entonces su correlación es la siguiente:

$$k_L a_L = (k_L a_L)_{\text{CO}_2} \frac{D_{\text{O}_2}}{D_{\text{CO}_2}} \quad (23)$$

Esto se basa en la teoría de dos películas (Chisti 1999). Para el agua a 20°C

$$D_{O_2} = 1.80 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s} \quad D_{CO_2} = 1.50 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$$

De Coulson & Richardson, 1977.

Fuerzas de corte en el Fotobiorreactor

Información substancial existe sobre los efectos de las fuerzas hidrodinámicas sobre las células en geometrías de flujo definidas tales como viscosímetros y capilares. Pero poco se conoce sobre estas en los fotobiorreactores (Chisti 1989). La magnitud de las fuerzas mecánicas del fluido es frecuentemente expresado como esfuerzos cortantes, τ , o tasa de corte, γ . Estas cantidades son relacionadas, para flujos newtonianos, así:

$$\tau = \gamma \mu_L \quad (24)$$

Donde μ_L es la viscosidad del fluido. La tasa de corte es una medida de la variación espacial en las velocidades locales del fluido. Daño celular en fluidos son algunas veces asociados con los esfuerzos de corte, pero estas cantidades no son siempre fáciles de determinar y medir es un ambiente relativamente turbulento en la mayoría de los reactores.

La expresión para la tasa de corte media en columnas de burbujeo han sido resumidas por (Chisti 1989, Chisti & Moo-Young 1989) estas expresiones generalmente correlacionan la tasa de corte promedio con la velocidad del gas, así:

$$\gamma = k v_G^a \quad (25)$$

Donde el parámetro a es igual a 1.0 en la mayoría de los casos, pero el valor de k ha sido reportado, variando como 1000, 28000, 5000 m^{-1} hasta el momento. Sin embargo, Henzler & Kauling reportaron esta expresión para el sistema agua-aire

$$\gamma = \left(\frac{\rho_L g v_G}{\mu_L} \right)^{0.22} \quad (26)$$

En la figura H1 muestra la enorme discrepancia sobre el cálculo de la tasa de corte promedio en función de la velocidad del aire en el sistema aire-agua en columnas de burbujeo.

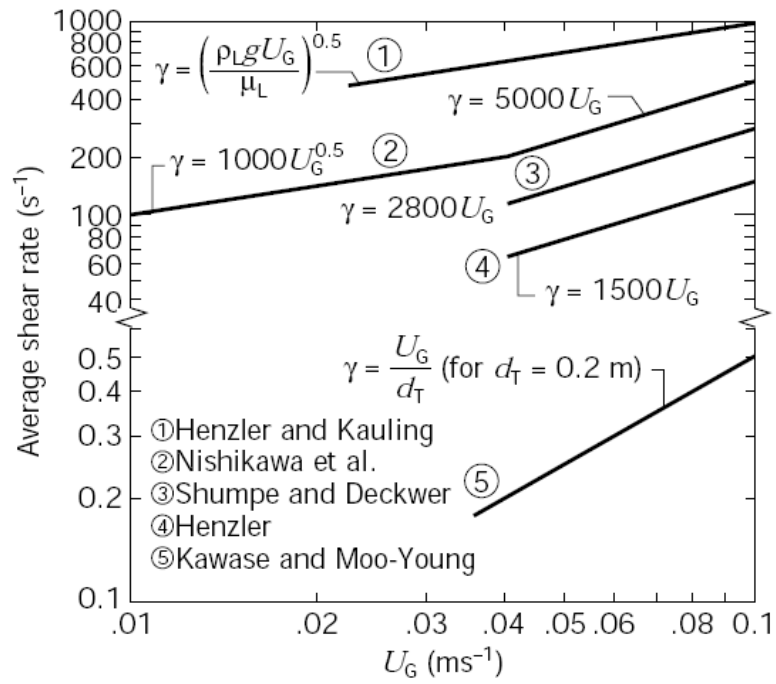


Figura H1. Tasa de corte promedio en sistemas aire-agua en columnas de burbujeo (Fuete Chisti 1989)

Anexo I. MÉTODO PARA CALCULAR EL COEFICIENTE DE TRANSFERENCIA DE MASA VOLUMÉTRICO GLOBAL.

La tasa de gas trasferido se relaciona con el coeficiente de masa volumétrico global y el gradiente de concentración por la ecuación

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L a_L (C^* - C_L) \quad (24)$$

Donde C_L y C^* son las concentraciones del gas instantánea y de saturación o equilibrio del gas disuelto en el liquido. Debido a condiciones fisicoquímicas, el $k_L a_L$ no cambia con el tiempo, integrando la ecuación (24) con el tiempo, y con los siguientes limites, $C_L = C_{L_0}$ a $t = 0$ y $C_L = C_L$ a $t = t$

$$\ln \left(\frac{C^* - C_{L_0}}{C^* - C_L} \right) = k_L a_L t$$

Se define una aproximación fraccional al equilibrio (E) como la proporción de la transferencia de masa en cualquier instante ($C_L - C_{L_0}$), con la transferencia de masa máxima posible ($C^* - C_{L_0}$)

$$E = \frac{C_L - C_{L_0}}{C^* - C_{L_0}} \quad (25)$$

La ecuación (25) se puede escribir en términos de E

$$-\ln(1 - E) = k_L a_L t$$

Esta ecuación es más útil, ya que los valores de $E = 0$ (para cero gas disuelto) y $E = 1$ (condición de saturación o equilibrio), es más fácil de fijar y manejar en una tabla de registros y mediciones. El coeficiente $k_L a_L$ puede ser calculado como la pendiente de una grafica semi-log de $1/(1 - E)$ vs t . este tipo de grafica es lineal como muestra la figura (I.1) para datos típicos. Adicionalmente, el coeficiente de

correlación para estas graficas fue siempre mayor que 0.98 sobre el rango de tiempo de interés.

Este método asume, primero una composición constante de la fase gaseosa, segundo un liquido bien mezclado y tercero, un efecto insignificante en la dinámica de los electrodos para medir el gas disuelto en el liquido si son usados, como por ejemplo para medir el oxígeno disuelto.

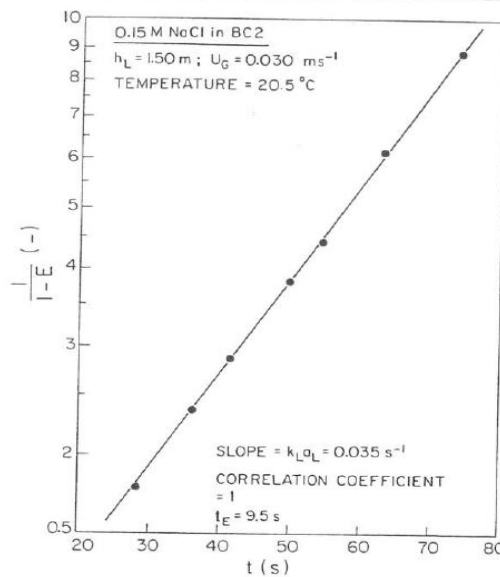


Figura I.1. Grafica típica de $1/(1-E)$ vs *tiempo*. La pendiente de estas graficas es casi lineal e igual a $k_L a_L$ (Fuente: Chisti 1989).

ANEXO J. DATOS TABULADOS DE PRUEBAS REALIZADAS AL CULTIVO.

Día	pH
Día 1	6,59
Día 2	7,23
Día 3	7,11
Día 4	6,78
Día 5	6,18
Día 6	6,27
Día 7	6,24
Día 8	6,32
Día 9	6,41

Tabla J1. Mediciones del pH en el cultivo.

Día	Temperatura
Día 1	28,7
Día 2	28,4
Día 3	29,5
Día 4	29,4
Día 5	27,1
Día 6	27,2
Día 7	27
Día 8	27,3
Día 9	26,9

Tabla J2. Mediciones de la temperatura del cultivo.

Día	Concentración de biomasa (g/L.)
Día 1	0,26
Día 2	0,33
Día 3	0,39
Día 4	0,46
Día 5	0,54
Día 6	0,62
Día 7	0,74
Día 8	0,85
Día 9	0,92

Tabla J3. Concentración celular diaria en el cultivo.

