



UNIVERSIDAD FEDERAL DE OURO PRETO
ESCUELA DE MINAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AMBIENTAL



KLEBDY DAYANA CORZO SUAREZ

**EVALUACIÓN DE LA POSIBILIDAD DE PURIFICAR BIOGÁS UTILIZANDO
MICROALGAS MARINAS CULTIVADAS EN UN PROTOTIPO DE
FOTOBIORREACTOR OPERADO EN MODO DISCONTINUO**

Ouro Preto, 2019

KLEBDY DAYANA CORZO SUAREZ

**EVALUACIÓN DE LA POSIBILIDAD DE PURIFICAR BIOGÁS UTILIZANDO
MICROALGAS MARINAS CULTIVADAS EN UN PROTOTIPO DE
FOTOBIORREACTOR OPERADO EN MODO DISCONTINUO**

Monografía presentada al curso de Ingeniería Ambiental de la Universidad Federal de Ouro Preto como parte de los requisitos para la obtención del título de Ingeniero Ambiental.

Orientadores: Ph.D. Mateus de Souza Amaral.
Ph.D. Juan Daniel Valderrama Rincón.

Ouro Preto, diciembre de 2019.

Marco constitucional

El presente trabajo de graduación fue desarrollado dentro del marco de cooperación institucional entre la Universidad Antonio Nariño y la Universidade Federal de Ouro Preto, el cual busca promover la transferencia de conocimiento y tecnología entre los dos países, el trabajo **EVALUACIÓN DE LA POSIBILIDAD DE PURIFICAR BIOGÁS UTILIZANDO MICROALGAS MARINAS CULTIVADAS EN UN PROTOTIPO DE FOTOBIORREACTOR OPERADO EN MODO DISCONTINUO** fue orientado por el profesor de la Universidad Antonio Nariño (UAN) Juan Daniel Valderrama Rincón y por el profesor de la Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) Mateus de Souza Amaral.



JUAN DANIEL VALDERRAMA RINCÓN
UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO
Director Trabajo de Grado



MATEUS DE SOUZA AMARAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
Director Trabajo de Grado



UAN
UNIVERSIDAD
ANTONIO NARIÑO



UFOP

Universidade Federal
de Ouro Preto

S939e Suarez, Klebdy Dayana Corzo.
Evaluación de la posibilidad de purificar biogás utilizando microalgas marinas cultivadas en un prototipo de fotobiorreactor operado en modo discontinuo [manuscrito] / Klebdy Dayana Corzo Suarez. - 2019.

50f.:

Orientador: Prof. Dr. Mateus de Souza Amaral.
Coorientador: Prof. Dr. Juan Daniel Valderrama Rincón .

Monografia (Graduação). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Minas. Departamento de Engenharia Ambiental.

1. Purificación de biogás. 2. Microalgas. 3. CO2. 4. CH4. I. Amaral, Mateus de Souza . II. Rincón , Juan Daniel Valderrama . III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU: 502/504

Catalogação: ficha.sisbin@ufop.edu.br

HOJA DE APROVACIÓN

Certificó que la alumna Klebdy Dayana Corzo Suarez, autora del trabajo de conclusión de curso titulado: **EVALUACIÓN DE LA POSIBILIDAD DE PURIFICAR BIOGÁS UTILIZANDO MICROALGAS MARINAS CULTIVADAS EN UN PROTOTIPO DE FOTOBIORREACTOR OPERADO EN MODO DISCONTINUO**, realizó las correcciones sugeridas por la banca examinadora y que me encuentro de acuerdo con la versión final del trabajo.



JUAN DANIEL VALDERRAMA RINCÓN
UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO
Director Trabajo de Grado



MATEUS DE SOUZA AMARAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
Director Trabajo de Grado

Mãe, tudo o que eu sou e tenho em minha vida, é só graças a você.

AGRADECIMIENTOS

A mi madre Olga Maria, por su apoyo incondicional siempre, porque sin ella nada de esto hubiera sido posible y por ser mi principal fuente de motivación.

A mis tres abuelas Anita, Rosa y Maria Teresa, porque se convirtieron en mi inspiración y ejemplo a seguir.

Al profesor Dr. Juan Daniel Valderrama Rincón, por su orientación y enseñanzas durante este tiempo, tanto para la realización de este trabajo y como tutor en el semillero de investigación.

Al profesor Dr. Mateus de Souza Amaral, por la disposición y ayuda para hacer los ensayos y todos los aportes realizados para que este trabajo fuera concluido.

A Andres Julian Martinez, por compartirme sus experiencias, conocimiento e instruirme durante el tiempo compartido en el laboratorio.

A Alejandra, Camila y Zoranyie, mi paso por la universidad no hubiese sido el mismo sin ustedes, gracias por las risas, la compañía, el apoyo y la ayuda incondicional siempre.

Al profesor Dr. Héctor Javier Luna Wandurraga, por su motivación y apoyo para llevar a cabo esta aventura.

Al Laboratorio de Ingeniería Ambiental, grupo de investigación GRESIA de la Universidad Antonio Nariño, por los momentos compartidos y los cumpleaños celebrados.

Al profesor Dr. Bruno Eduardo Lobo Baêta, por permitirme ser parte de su grupo de trabajo durante estos seis meses y por sus aportes en el desarrollo de este trabajo.

A todo el grupo de trabajo, durante el periodo 2019-2 del Laboratorio de Química Tecnológica y Ambiental (LQTA) de la Universidad Federal de Ouro Preto, por estos seis meses llenos de aprendizajes, los consejos y por el tiempo compartido.

A todos los no nombrados que contribuyeron y fueron de ayuda, muchas gracias.

RESUMEN

La actual demanda de combustibles alrededor del mundo y el aumento en el uso de combustibles fósiles, ha hecho que las emisiones de CO_2 sigan en aumento desencadenadas por la extracción, procesamiento y uso de éstos. La necesidad de buscar alternativas a este tipo de combustibles, conlleva al estudio de otras fuentes de obtención de energía, nacen así, los biocombustibles, los cuales, se desarrollan a partir de biomasa, es decir, materia orgánica producto de un proceso biológico. Dependiendo del tipo de materia orgánica a ser procesada estos serán clasificados como biocombustibles de primera, segunda y tercera generación.

Este estudio fue enfocado en la purificación de biogás a partir de un prototipo de fotobiorreactor para la obtención de biometano. La primera parte del desarrollo del proyecto se enfocó en la construcción de un sistema de manutención de las cepas, se destaca que, la principal ventaja de este sistema fue que gracias a la simplicidad en términos de materiales y de construcción es accesible y de bajo costo (en comparación con incubadoras comerciales).

Los resultados obtenidos a partir del método de Taguchi (L_9), indicaron que el factor que más influenció sobre el crecimiento porcentual de la biomasa fue la temperatura, siendo $20^\circ C$ la más significativa. El fotobiorreactor demostró ser útil para el crecimiento de las microalgas, sin embargo, por fugas que no se lograron ser reparadas este no fue apto para ser empleado en el proceso de purificación.

Se obtuvo un 91,8% en rendimiento teórico a 270 min de ensayo en la purificación de biogás y se observó un aumento del 22,7% en la composición de metano, además, se dejó en evidencia que con 15 min de ensayo se logró un rendimiento teórico considerable de 88,4%, siendo el tiempo un factor fundamental para la purificación.

Palabras clave: Purificación de biogás, microalgas, CO_2 , CH_4 .

ABSTRACT

The current demand for fuels around the world and the increase in the use of fossil fuels, has made the emissions of CO_2 continue to increase due to their extraction, processing and use. The need to look for alternatives to this type of fuels, leads to the study of other sources of obtaining energy, thus, biofuels are born, which are developed from biomass, that is, organic matter product of a biological process. Depending on the type of organic matter to be processed, these will be classified as first, second and third generation biofuels.

This study is focused on the purification of biogas from a prototype photobioreactor to obtain biomethane. The first part of the development of the project focused on the construction of a strain management system, the main advantage of this system was that thanks to the simplicity in terms of materials and construction it is accessible and low cost (compared to incubators commercial).

The results obtained from the Taguchi method (L_9), indicated that the factor that most influenced the percentage growth of biomass was temperature, with $20^\circ C$ being the most significant. The photobioreactor proved to be useful for the growth of microalgae, however, due to leaks that could not be repaired, it was not suitable for use in the purification process.

91.8% in theoretical yield was obtained at 270 min of test in the biogas purification and a 22.7% increase in methane composition was observed, in addition, it was evidenced that with 15 min of test it was achieved a considerable theoretical yield of 88.4%, time being a fundamental factor for purification.

Keywords: Biogas purification, microalgae, CO_2 , CH_4 .

ABREVIATURAS

ABS: Absorbancia.

Atm: Atmosferas.

°C: Grados Celsius.

CG: Cromatógrafo de gases.

CH_4 : Metano.

CM: Composición de metano.

CO_2 : Dióxido de carbono.

H_2 : Hidrógeno.

L: Lectura.

LED: Diodo emisor de luz.

N_2 : Nitrógeno.

mA: Miliamperios.

nm: Nanómetros.

min: Minutos.

mmHg: Milímetros de mercurio.

RT: Rendimiento teórico.

μm : Micrómetros.

und: unidad (es).

V: Voltios.

W: Watts.

X: Porcentaje de crecimiento celular.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición del gas patrón.	28
Tabla 2. Factores evaluados para determinar las condiciones de trabajo del prototipo.	31
Tabla 3. Costos de los materiales para una incubadora.	36
Tabla 4. Comparación puntos máximos de absorbancia.	36
Tabla 5. Matriz experimental de Taguchi, con los resultados obtenidos de los ensayos.	37
Tabla 6. Resultados de los análisis de varianza de los datos.	38
Tabla 7. Composición de metano a distintas concentraciones de sal.	39
Tabla 8. Lecturas de crecimiento para la realizar la curva de calibración.	41
Tabla 9. Datos de crecimiento en relación a los datos del sensor.	42
Tabla 10. Resultados ensayo de purificación.	44
Tabla 11. Resultados del seguimiento de la presión durante 42h.	45
Tabla 12. Crecimiento porcentual de la biomasa.	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Tecnologías físicas y químicas para realizar la separación de dióxido de carbono del biogás.....	18
Figura 2. Algunos tipos de fotobiorreactores para la producción de biomasa.	19
Figura 3. Fotobiorreactor tipo bolsa para mejoramiento de biogás.	20
Figura 4. Cuerpo de la incubadora, caja de poliestireno expandido.....	25
Figura 5. Termostato W1209 DC 12V.	25
Figura 6. Incubadora 1, sistema de luces LED blanco frío 12V.....	26
Figura 7. Segunda incubadora.	26
Figura 8. Representación esquemática del sistema interno del reactor UASB modificado del que se realizó la recolecta del biogás.	27
Figura 9. Pipeta del gas utilizado.	27
Figura 10. Diseño prototipo de fotobiorreactor.....	28
Figura 11. Componentes del montaje experimental del prototipo.	29
Figura 12. Ensayo para la validación del sensor.	30
Figura 13. Frasco utilizado para realizar el ensayo y las proporciones establecidas.	31
Figura 14. Sistema de los ensayos en lotes.	32
Figura 15. Incubadora 1 en funcionamiento con los cultivos de replique.....	35
Figura 16. Incubadora 2 en funcionamiento con los cultivos escalados.	35
Figura 17. Gráfica de efectos del análisis estadístico para las lecturas de absorbancia.	38
Figura 18. Gráfico de la composición de metano a diferentes concentraciones de sal.	40
Figura 19. Gráfico de la curva de calibración del sensor.	41
Figura 20. Curva de crecimiento de la cepa <i>Chlorella minutissima</i> en el fotobiorreactor.	42
Figura 21. Fotobiorreactor modificado.	43
Figura 22. Grafica del porcentaje de metano y el rendimiento teórico en el ensayo.	45
Figura 23. Gráfica relación de la presión respecto al tiempo.	46

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	15
2. OBJETIVOS.....	17
2.1. OBJETIVO GENERAL	17
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3. REVISIÓN LITERARIA	18
3.1. Antecedentes.....	18
3.2. Fotobiorreactores	19
3.3. Sistemas de purificación.....	19
3.4. Biogás.....	20
3.5. Microalgas.....	20
3.5.1 <i>Chlorella minutissima</i>	21
3.5.2 <i>Chlorella s.p.</i>	21
3.6. Cultivos de microalgas	21
3.6.1 Iluminación.....	21
3.6.2 Temperatura.....	22
3.6.3 Nutrientes	22
3.7. Método Taguchi.....	22
4. METODOLOGÍA.....	22
4.1. Microorganismo	22
4.2. Medio de cultivo.....	23
4.2.1 Medio Guillard “f/2”	23
4.2.2 Medio modificado	24
4.3. Diseño del sistema de manutención.....	24
4.4. Biogás	26

4.5. Prototipo	28
4.6. Validación del sensor.....	29
4.7. Determinación de las condiciones de cultivo de microalgas.....	30
4.8. Barridos en el espectro	32
4.9. Calibración sensor	32
4.10. Purificación de biogás	32
4.11. Cultivo de la microalga después de la purificación de biogás.....	34
4.12. Influencia de la salinidad.....	34
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
5.1. Sistema de mantenimiento de cepas	34
5.2. Definición longitud de onda para la medición.....	36
5.3. Determinación de las condiciones de cultivo	37
5.4. Ensayos influencia de la salinidad.....	39
5.5. Ensayos fotobiorreactor.....	41
5.5.1 Calibración del sensor	41
5.5.2 Validación del sensor.....	42
6. Purificación de biogás	43
6.1. Evaluación del fotobiorreactor para la purificación de biogás	43
6.2. Evaluación de la purificación de biogás	44
6.3. Evaluación del cultivo de la microalga después de la purificación.....	45
7. RECOMENDACIONES	47
8. CONCLUSIONES.....	48
9. REFERENCIAS	49

1. INTRODUCCIÓN

Producto del alto consumo de combustibles fósiles y la preocupación por el calentamiento global a causa de las emisiones de dióxido de carbono CO_2 , segundo principal gas de efecto invernadero (BENAVIDES BALLESTEROS; LEÓN ARISTIZABAL, 2007), los biocombustibles empiezan a ser de alto interés a nivel mundial. Estos son vistos como una alternativa sustentable para mitigar los impactos al medio ambiente, además de ser una oportunidad para responder a la demanda energética para garantizar el consumo interno (MORELOS GÓMEZ, 2016).

El biogás generalmente se encuentra comprendido por CH_4 , CO_2 y otros elementos traza, los cuales a excepción del CH_4 reducen el poder calorífico del biogás, además de ser gases considerados contaminantes ambientales (BOSE et al., 2019). Esto conlleva a la necesidad de estudiar sistemas con los cuales se logren eliminar estos gases e impurezas y que estas herramientas no representen un alto costo en términos socioeconómicos y ambientales.

Las tecnologías actualmente usadas para la purificación de biogás consisten en métodos de separación físico químicos las cuales representan un alto costo de inversión, además de dejar residuos que requieren post tratamiento, lo que incrementa el valor final del producto (BOSE et al., 2019). Así nacen tecnologías como los sistemas de purificación de biogás enfocados en mejorarlo para darle al biogás nuevas posibilidades para su uso (BENAVIDES BALLESTEROS; LEÓN ARISTIZABAL, 2007).

El método biológico de fijación microalgal de CO_2 por fotosíntesis para convertir CO_2 en una fuente de carbono, es el mejor método para la captura y reutilización de CO_2 (BOSE et al., 2019) el gas resultante del proceso se va a conocer como biometano. Las microalgas permiten utilizar eficazmente su capacidad fotosintética para fijar CO_2 y se pueden adaptar fácilmente a sistemas de ingeniería tales como los fotobiorreactores (KHAN et al., 2018).

Los métodos biológicos de captura de CO_2 del biogás son potencialmente útiles y necesitan ser evaluados (KAO et al., 2012), explorando como lograr un mejor rendimiento y pensando en el intercambio de tecnologías y conocimientos dado el convenio de cooperación entre las dos universidades, se diseñó un prototipo de fotobiorreactor para la purificación de biogás, éste consta de un dispositivo para la lectura de crecimiento microalgal, basado en las mediciones realizadas por fotómetros y un sistema de agitación, además, se implementó un sistema de

manutención de microalgas, el cual fue diseñado y elaborado centrándose en la utilización de materiales de bajo costo y facilidad de construcción, finalmente, en este trabajo se evaluó ¿cuál es la posibilidad de purificar biogás en un fotobiorreactor operado de modo discontinuo?.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar un prototipo de fotobiorreactor para la purificación de biogás mediante la utilización de microalgas marinas.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Diseñar y construir un sistema de sostenimiento para los cultivos madre de las cepas.
- Definir las condiciones de trabajo especie de microalga, tipo de luz y temperatura.
- Analizar el comportamiento del CH_4 dentro del sistema.

3. REVISIÓN LITERARIA

3.1. Antecedentes.

El uso de fuentes de energías renovables ha venido en aumento, como una posible forma de mitigar los gases de efecto invernadero producto del alto consumo de combustibles fósiles (PERTL; MOSTBAUER; OBERSTEINER, 2010). El resultado de la digestión anaerobia es el biogás crudo que necesita ser mejorado, el cual se compone principalmente de metano, CH_4 (40-75% v/v) dióxido de carbono CO_2 (25-30%) y en menor cantidad componentes traza. La composición va a depender del tipo de biomasa. Para la transformación de biogás a biometano se requieren de dos pasos principales, el primero es la eliminación de componentes traza y el segundo un proceso de mejoramiento para ajustar el valor calorífico (RYCKEBOSCH; DROUILLON; VERVAEREN, 2011).

Las actuales tecnologías de mejora de biogás principalmente consisten en la eliminación de CO_2 por métodos físico químicos, los cuales pueden ser absorción de CO_2 con solventes o carbonatación mineral, separación por membrana o, adsorción por oscilación de presión, entre otros (BOSE et al., 2019)

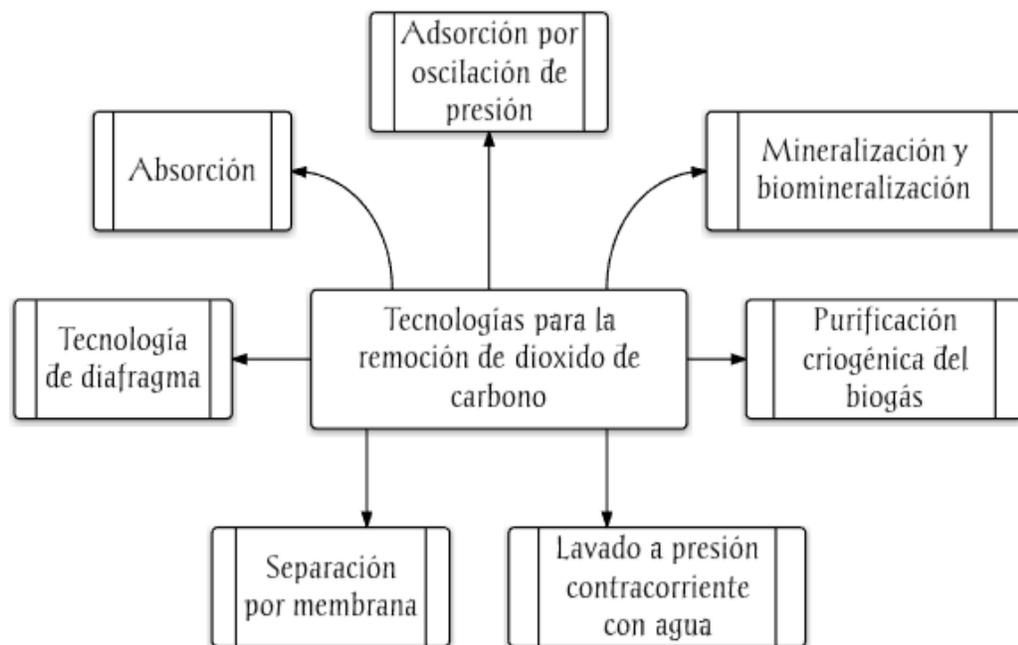


Figura 1. Tecnologías físicas y químicas para realizar la separación de dióxido de carbono del biogás.

Estas tecnologías, aunque ya sean las más avanzadas generan problemas en términos de viabilidad económica y post tratamiento de algunos residuos resultantes de su uso, razones por la cuales incrementan el costo final del producto (ANGELIDAKI et al., 2018).

La fotosíntesis ha sido reconocida como una de las formas más rentables de secuestro de CO_2 siendo el uso de las microalgas un método potencial para la purificación de biogás. Esto teniendo en cuenta que, además, de realizar la purificación, de la biomasa resultantes se pueden obtener subproductos, los cuales son un valor agregado para el proceso (YAN; ZHENG, 2014).

3.2. Fotobiorreactores

Los fotobiorreactores son estructuras destinadas a permitir el aprovechamiento de la energía luminosa (natural o artificial) por los microorganismos presentes en ellos, con el propósito de obtener el mayor rendimiento posible de la biomasa (AMARAL, 2018). Estos pueden ser de tipo estanque abierto (a), placa delgada (b), tubular inclinado (c) o continuo horizontal (d) (A. VALDIVIA, 2012), como se observa en la figura 2:

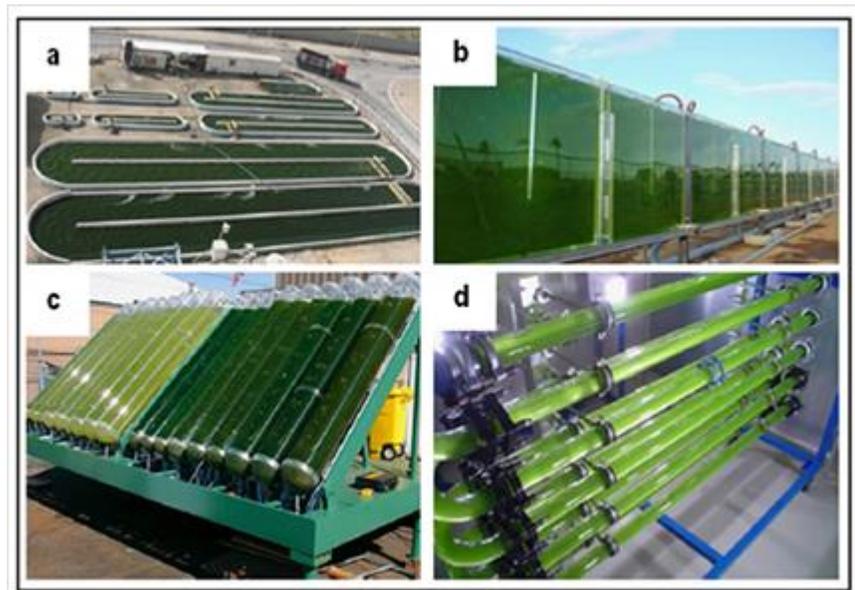


Figura 2. Algunos tipos de fotobiorreactores para la producción de biomasa.

Fuente: (A. VALDIVIA, 2012).

3.3. Sistemas de purificación.

(YAN et al., 2016) emplearon fotobiorreactores tipo bolsa que fue llenada con 96 L de biogás crudo y 12 L de cultivo de microalgas, esto para evaluar el crecimiento de las

microalgas, la mejora del biogás y la reducción de nutrientes. En cuanto al contenido de metano lograron alcanzar una composición de $92,74 \pm 3,56\%$ (v/v), la luz roja fue la óptima para mejorar el biogás y reducir nutrientes, en la figura 3 se observa el fotobiorreactor donde realizaron los ensayos.

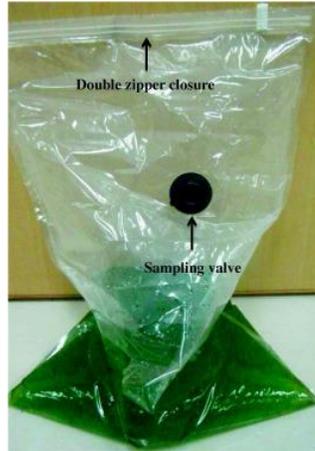


Figura 3. Fotobiorreactor tipo bolsa para mejoramiento de biogás.

Fuente: (YAN et al., 2016).

3.4. Biogás.

La digestión anaerobia es un proceso en el cual casi cualquier tipo de materia orgánica es degradado biológicamente en ambientes en ausencia de oxígeno hasta sustancias más simples y biogás (BERMÚDEZ et al., 1988), el biogás se encuentra compuesto principalmente por CH_4 (55 y 75%) y CO_2 (25-30%) (SINGH; SZAMOSI; SIMÉNFALVI, 2019).

3.5. Microalgas.

Las microalgas son organismos unicelulares o pluricelulares, eucariotas, fotosintéticos y la gran mayoría fotoautótrofos productoras primarias de la cadena trófica lo que las convierte en las primeras productoras de materia orgánica (GONZÁLEZ CÉSPEDES, 2015). Las microalgas representan un gran variedad de especies que principalmente requieren solo tres compuestos para el crecimiento celular esto incluye nutrientes que obtienen de los hábitats acuáticos, luz que absorben del sol y como fuente de carbono capturan CO_2 del aire (RIZWAN et al., 2018).

Los primeros estudios de microalgas comenzaron en la década de 1950. Las primeras cepas estudiadas incluyeron *Chlamydomonas*, *Chorella* y *Spirulina*, siendo las dos últimas las más cultivadas actualmente en el mundo (GARRIDO-CARDENAS et al., 2018).

La biomasa producida por la microalgas puede ser transformada en una amplia gama de productos, dentro de la que se encuentran biocombustibles, aditivos alimenticios y, productos para el cuidado de la salud, además, de brindar beneficios adicionales durante el proceso de fijación de CO_2 (HO; CHEN; CHANG, 2012).

3.5.1 *Chlorella minutissima*.

Es un alga verde unicelular de tamaño entre 2-5 μm . Su crecimiento es relativamente rápido y fácil. Sus niveles de aminoácidos y ácidos grasos poliinsaturados son altos, por lo cual podría ser útil en la elaboración de alimentos saludables y productos farmacéuticos. Puede también ser una fuente viable para la producción de aceite de biodiesel (TANG et al., 2011).

3.5.2 *Chlorella s.p.*

Es un alga verde de forma elipsoidal. Crece en forma de células individuales y, pertenece a la división *Chlorophyta*, clase de las *Chlorophyceae*. El sistema de cultivos por lotes es el más utilizado para este género por su bajo riesgo de contaminación y fácil implementación (INFANTE et al., 2012).

3.6. Cultivos de microalgas

Los medios de cultivo pueden ser definidos como un ambiente específico y delimitado, que contiene los nutrientes y elementos necesarios para el crecimiento de los organismos. Además, la presencia de luz es importante para organismos fotosintéticos como las microalgas (AMARAL, 2018).

3.6.1 Iluminación

Las microalgas son organismos fotoautótrofos que utilizan la luz como su única fuente de energía. Los fotones de luz son absorbidos por las células de las microalgas y, una intensidad de luz muy alta puede causar fotoinhibición (YAN; ZHU; WANG, 2016).

YAN; ZHENG, (2014) reportaron una mejora del biogás y simultáneamente una eliminación de nutrientes del digestato, con una relación de longitudes de onda de luz led rojo: azul 5h:5h.

YAN et al., (2016) registraron que la luz roja fue la óptima para el crecimiento de microalgas y la mejora del biogás. Además, concluyeron que solo a intensidades moderadas de luz se da el mejor crecimiento.

3.6.2 Temperatura

La importancia de la temperatura para cualquier especie de microalgas se encuentra reflejada en llevar a cabo todas las actividades bioquímicas, además, de la asimilación de nitrógeno y la fijación de dióxido de carbono a través de la fotosíntesis (BELLO; GONZÁLEZ; TORRES, 2015).

3.6.3 Nutrientes

El fósforo y el nitrógeno son los principales elementos para el crecimiento normal de las algas, estos elementos juegan un papel importante en la mayoría de procesos celulares, particularmente aquellos relacionados con la transferencia de energía y la síntesis de ácido nucleico (MARTÍNEZ SANCHO; CASTILLO; EL YOUSFI, 1997).

3.7. Método Taguchi

El método de Taguchi hace posible determinar la mejor combinación de factores e interacciones que están influenciando en el comportamiento de la variable-respuesta de determinado proceso, Por lo general, el uso del método requiere menor esfuerzo en la toma de muestras, lo que reduce el costo en los ensayos, sin perjudicar las conclusiones obtenidas (MS et al., 2012).

El diseño experimental de Taguchi es basado en factores y es utilizado para identificar parámetros críticos de un proceso y su interrelación con los factores seleccionados, además, de satisfacer las técnicas de ingeniería y estadística (DE BHOWMICK; SEN; SARMAH, 2019).

4. METODOLOGÍA

4.1. Microorganismo

Se adquirieron cuatro especies de microalgas marinas para el Laboratorio de Química Tecnológica y Ambiental (LQTA) de la Universidad Federal de Ouro Preto (UFOP):

- *Chlorella minutissima*.

- *Chlorella s.p.*

- *Tetraselmis Gracilis*.

- *Chaetoceros calcitrans*.

Las cepas con las que se trabajaron en este proyecto fueron *Chlorella Minutissima* y *Chlorella s.p.* Las especies de microalgas se adquirieron en el Banco de Algas Marinas del Instituto Oceanográfico de la Universidad de Sao Paulo.

4.2. Medio de cultivo

Teniendo en cuenta que las cepas a trabajar son especies marinas inicialmente se trabajó con el medio Guillard “f/2” siguiendo las indicaciones presentadas en (LOURENÇO, 2006) con salinidad 30 g/l sin adición de silicatos y vitaminas.

4.2.1 Medio Guillard “f/2”

Para un volumen de 1000 mL de agua de grifo se utilizaron los siguientes componentes:

- | | |
|----------------------------------|---------|
| • Agua de grifo | 1000 mL |
| • Nitrato (Solución stock) | 1,0 mL |
| • Fosfato (Solución stock) | 1,0 mL |
| • Metales traza (Solución stock) | 1,0 mL |

El medio después de la preparación fue autoclavado bajo condiciones 1 atm de presión, una temperatura de 120°C y 30 min.

Solución stock de Nitrato de sodio

- 7,5 g de $NaNO_3$ en 100 mL de agua destilada.

Solución stock de Fosfato de sodio

- 0,5 g de NaH_2PO_4 en 100 mL de agua destilada.

Para la solución stock de metales traza (Cu, Zn, Co, Mn, Mo) cada solución debió ser preparada independientemente.

Cobre (Cu):

- 0,98 g de $CuSO_4$ en 100 mL de agua destilada.

Zinc (Zn):

- 2,2 g de $ZnSO_4$ en 100 mL de agua destilada.

Cobalto (Co):

- 1,0 g de $CoCl_2$ en 100 mL de agua destilada.

Manganeso (Mn):

- 18,0 g de $MnCl_2$ en 100 mL de agua destilada.

Molibdeno (Mo):

- 0,63 g de Na_2MoO_4 en 100 mL de agua destilada.

Se prepararon 1000 mL de solución stock de metales y se adicionó 1 mL de cada una de las soluciones de metales traza anteriormente preparadas.

4.2.2 Medio modificado

Dado que las cepas eran cultivadas en medio Guillard “f/2”, el primer mes se trabajó utilizando solo el medio y cada semana se realizaba un nuevo cultivo, donde se disminuían las cantidades del medio original y se agregaba orina hasta que finalmente para el cultivo solo se empleaba un medio compuesto de agua de grifo, 30 g/L de sal y 10 mL/L de orina, la que actuó como fuente de nutrientes.

4.3. Diseño del sistema de manutención

Pensando en mantener la alta productividad de los cultivos se diseñó un sistema el cual cumpliera con los requerimientos básicos de los microorganismos; siendo estos temperatura, iluminación y aireación. Teniendo en cuenta que el poliestireno expandido es un material conocido por ser un buen aislante térmico (DOMÍNGUEZ-MUÑOZ et al., 2010) se consideró adecuada la utilización de cajas de “icopor” como estructura de la incubadora, en la figura 4 se observa la caja escogida.

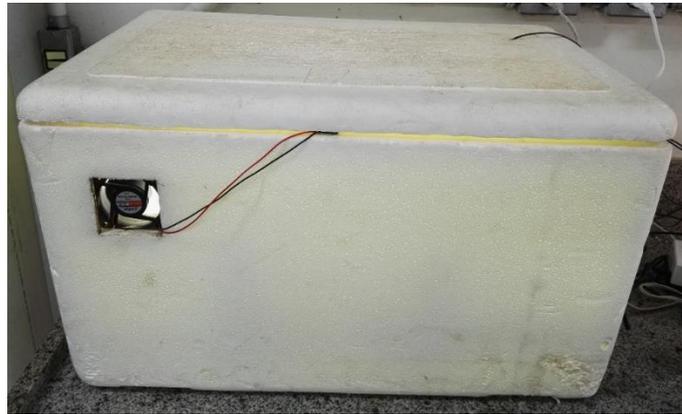


Figura 4. Cuerpo de la incubadora, caja de poliestireno expandido.

El sistema contó con un circuito de control de temperatura como el que se observa en la figura 5, importante para garantizar la temperatura dentro del sistema para el crecimiento de las microalgas, además, se usó un cordón calefactor para mantenerla en $27 \pm 5^\circ \text{C}$.



Figura 5. Termostato W1209 DC 12V.

En cuanto a la iluminación se utilizaron luces led de color blanco, las cuales hacen posible el proceso de fotosíntesis. Dentro de la caja y para garantizar un flujo homogéneo de aire en todo el espacio, se empleó un ventilador con la finalidad de dispersarlo dentro de la incubadora en la figura 6 se observa la estructura interna. Otro ventilador que se encargó del flujo de salida del aire.

La estructura contó con un sistema de orificios que permitían el ingreso de mangueras al interior, las cuales, estaban conectadas a los cultivos y a bombas de aire, para proporcionar aireación (mezcla).

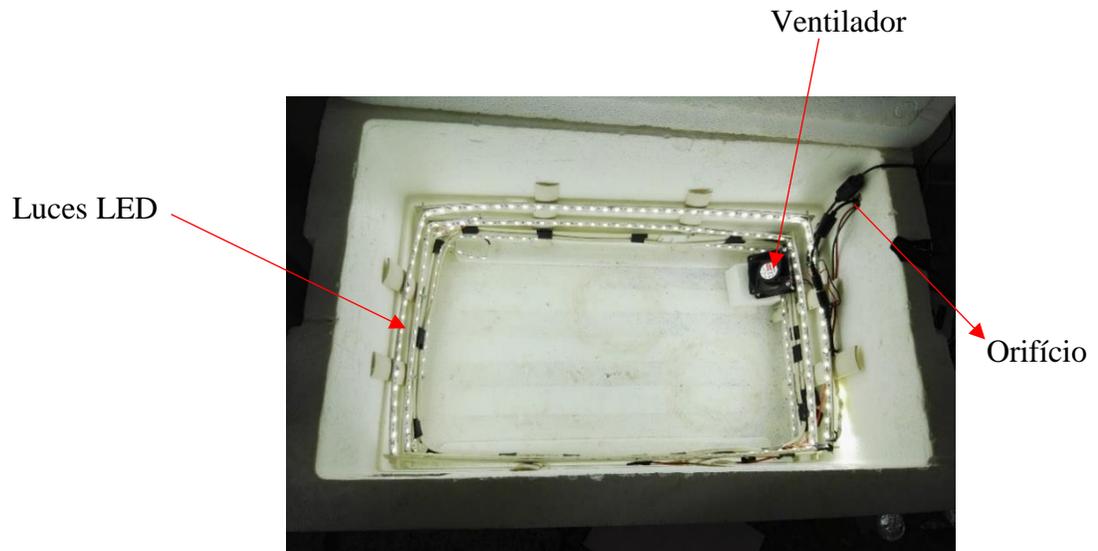


Figura 6. Incubadora 1, sistema de luces LED blanco frío 12V.

Se adaptó el sistema y se realizó una segunda incubadora como se muestra en la figura 7, esta vez empleando una caja plástica como soporte. En este caso la temperatura variaba, manteniendo $20 \pm 5^\circ \text{C}$, dado que esta incubadora no contaba con cordón calefactor.

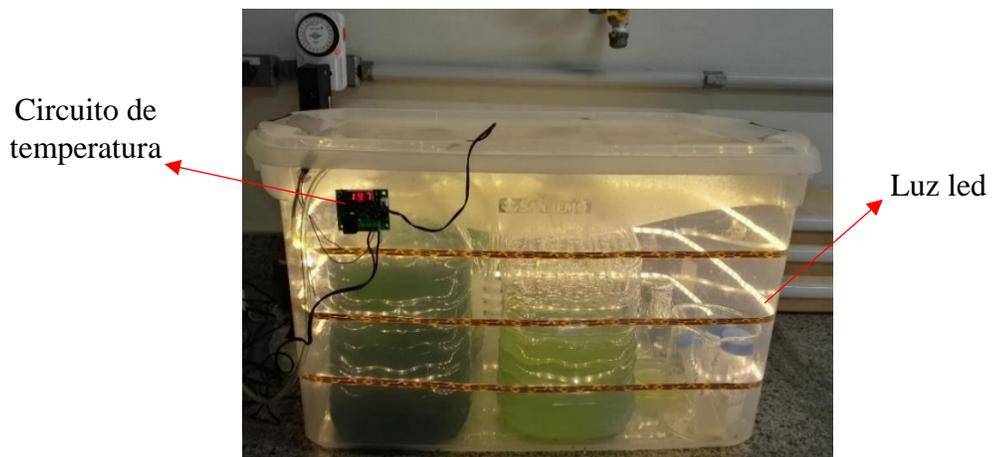


Figura 7. Segunda incubadora.

4.4. Biogás

Durante los experimentos se usaron dos tipos diferentes de biogás:

- Se obtuvo biogás de un reactor UASB modificado obsérvese la figura 8 un esquema del reactor modificado (ROCHA et al., 2017), que está localizado en la Estación de

tratamiento de aguas residuales de Ouro Branco – MG, de la compañía de Saneamiento de Minas Gerais COPASA.

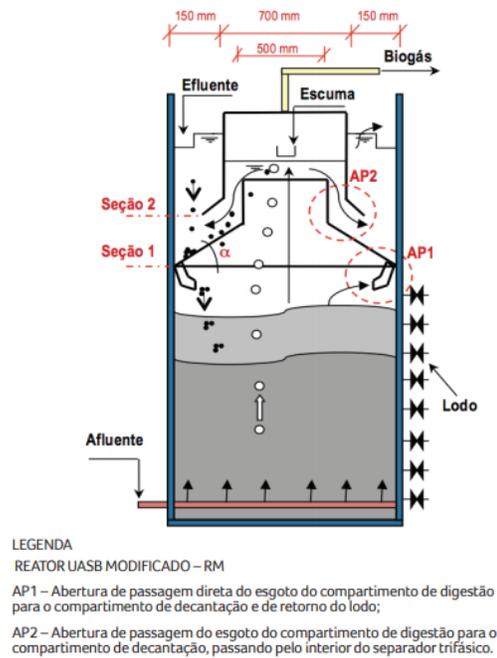


Figura 8. Representación esquemática del sistema interno del reactor UASB modificado del que se realizó la recolecta del biogás.

Fuente: (ROCHA et al., 2017).

- Se usó gas de una mezcla patrón compuesta por CO_2 , CH_4 , H_2 , y N_2 , en la figura 9 se contempla la pipeta de gas que fue utilizada.



Figura 9. Pipeta del gas utilizado.

El gas patrón presenta una composición conocida como se muestra en la tabla 1:

Tabla 1. Composición del gas patrón.

Compuesto	Composición	Unidad	Incerteza
Dióxido de carbono CO_2	24,99%	% mol/mol	$\pm 3\%$
Metano CH_4	24,95%	% mol/mol	$\pm 3\%$
Hidrógeno H_2	25,05 %	% mol/mol	$\pm 3\%$
Nitrógeno N_2	Balance	% mol/mol	$\pm 3\%$

4.5. Prototipo

Con la finalidad de elevar la composición de CH_4 en el biogás por la remoción de CO_2 , fue diseñado un prototipo de fotobiorreactor para operar de forma discontinua. El prototipo tenía las siguientes dimensiones que se observan en la figura 10:

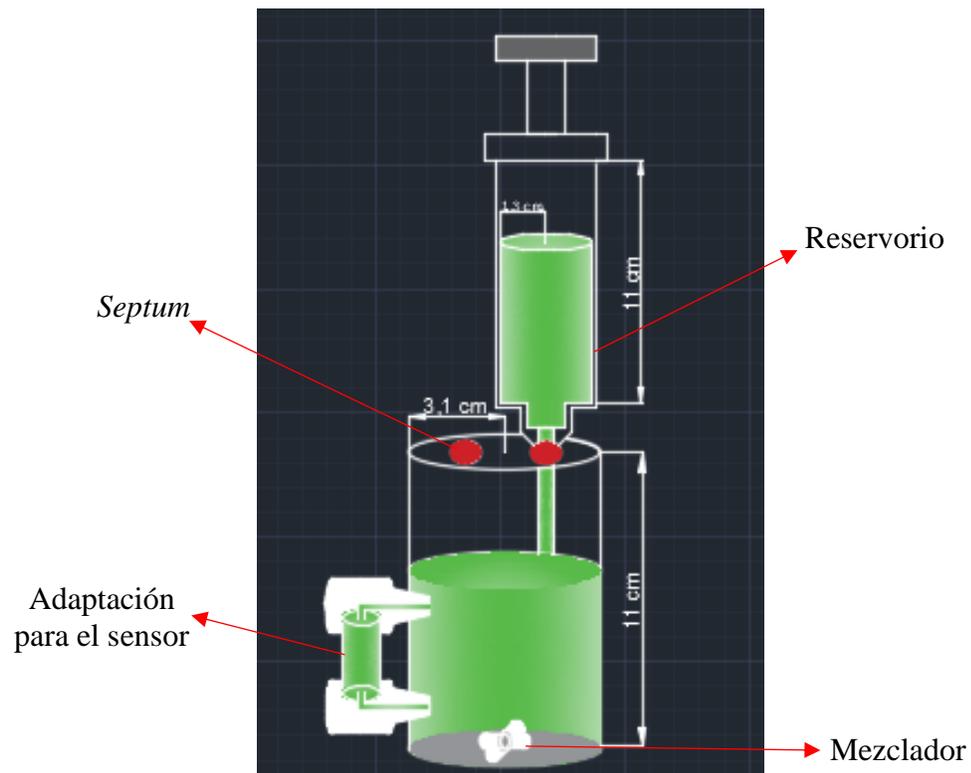


Figura 10. Diseño prototipo de fotobiorreactor.

Fuente: Autor.

El prototipo se diseñó para cumplir con las condiciones de mantener el cultivo de las microalgas, además de retener el biogás. Constó de un reactor de volumen 330 mL, el cual en su interior contenía un agitador magnético, el cual, gracias a su diseño en forma de “flor” aumentaba la turbulencia de la mezcla. En la tapa se encontraba acoplada una jeringa sin émbolo que funcionaba como reservorio. En la parte superior de esta jeringa se agregó una capa de 10 mL de aceite para evitar la pérdida de líquido por evaporación, la tapa también tenía un *septum*, por el cual se realizaba la toma de muestras. El reactor constó de dos codos unidos por un tubo de vidrio en el cual se ubicó un sensor para realizar las medidas de absorbancia, esto se realizó en el equipo Thermo SCIENTIFIC GENESYS 10S UV-VIS Spectrophotometer. Finalmente, el sistema se complementó con una placa de agitación magnética, con la que se asegura que siempre se esté mezclando el cultivo, en la figura 11 se muestra el sistema completo.

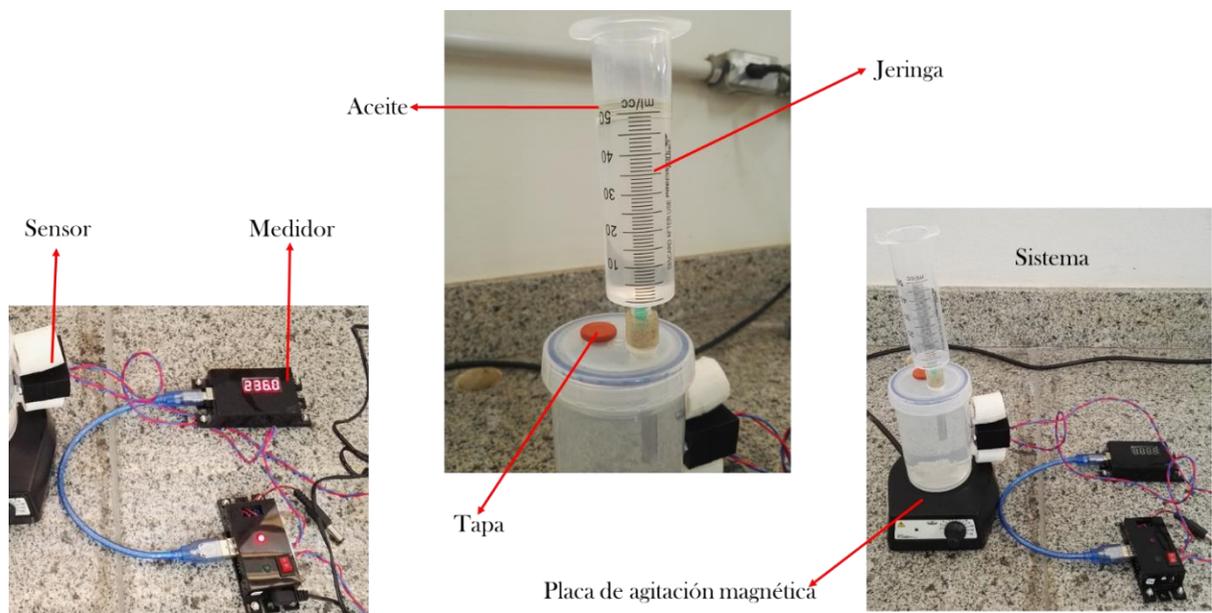


Figura 11. Componentes del montaje experimental del prototipo.

Fuente: Autor.

4.6. Validación del sensor

A partir de la calibración del sensor, se realizó un cultivo con la cepa de *Chlorella minutissima*, donde se utilizó un volumen de 330 mL de cultivo y fueron inyectados 50 mL de biogás, el fotobiorreactor se mantuvo en monitoreo por 7 días manteniendo una agitación constante con ayuda de placas de agitación magnética, se colocó dentro de una de las incubadoras en luz LED blanca y a 27°C, en la figura 12 se muestra el montaje del ensayo.



Figura 12. Ensayo para la validación del sensor.

4.7. Determinación de las condiciones de cultivo de microalgas

El planteamiento experimental de Taguchi (L9) se realizó con tres variables (factores) en tres niveles de operación con el objetivo de maximizar el crecimiento celular de las microalgas, donde ese crecimiento fue la variable de respuesta del ensayo.

Los factores evaluados fueron: tipos de luz (azul, blanca, roja); dos especies de microalga (*Chlorella s.p.*, *Chlorella minutissima* y la mezcla de las dos especies) y temperatura (20°C, 25°C y 30°C). La variable de respuesta fue evaluada en términos de crecimiento porcentual de la biomasa (X) de acuerdo con la ecuación 1.

$$X = \frac{(Abs_{final} - Abs_{inicial})}{Abs_{inicial}} * 100$$

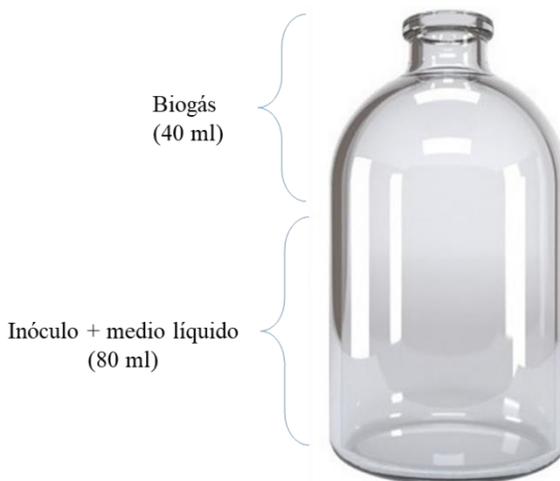
Ecuación 1.

La tabla 2 representa los factores y niveles utilizados durante los experimentos, con la respectiva nomenclatura.

Tabla 2. Factores evaluados para determinar las condiciones de trabajo del prototipo.

FACTORES		NIVELES		
		1	2	3
A	Luz	Azul	Blanca	Roja
B	Especie microalga	Cultivo mixto (<i>Chlorella s.p.</i> + <i>Chlorella minutissima</i>)	<i>Chlorella minutissima</i>	<i>Chlorella s.p.</i>
C	Temperatura °C	20	25	30

Para la realización de los ensayos, fueron utilizados frascos de 120 mL, tal y como se muestran en la figura 13, para mantener los cultivos y una incubadora (Thoth Equipamentos) con sistema de agitación y refrigeración para controlar la temperatura. La iluminación fue proporcionada por luces LED (60 LED/m, DC12V).

**Figura 13.** Frasco utilizado para realizar el ensayo y las proporciones establecidas.

Los frascos fueron inoculados con 80 mL de cultivo con un valor medio de absorbancia de 0,076. Se realizó una purga de los frascos con N_2 por 3 min. Esta etapa fue realizada empleando el biogás recolectado en la Estación de Tratamiento de Aguas Residuales de Ouro Branco, cuya composición de metano es de 71,6%. Después de la purga, se tomaron 40 mL de biogás y éste se inyectó en los frascos, en la figura 14 se detalla el montaje experimental. Todos los experimentos se realizaron por triplicado y los resultados fueron analizados con ayuda del programa MINITAB 19 utilizando los gráficos de efecto de los factores y la tabla de Análisis de varianza (ANOVA).



Figura 14. Sistema de los ensayos en lotes.

4.8. Barridos en el espectro

Teniendo en cuenta que para llevar a cabo la metodología de Taguchi una de las variables de respuesta era la absorbancia (medida indirecta del crecimiento), se realizó un barrido para las dos especies de microalgas y la mezcla de estas, esto se llevó a cabo realizando un barrido espectral donde se tomaron datos entre longitudes de onda de 400 nm a 800 nm, además, esto se realizó para el cultivo puro y dos diluciones.

4.9. Calibración sensor

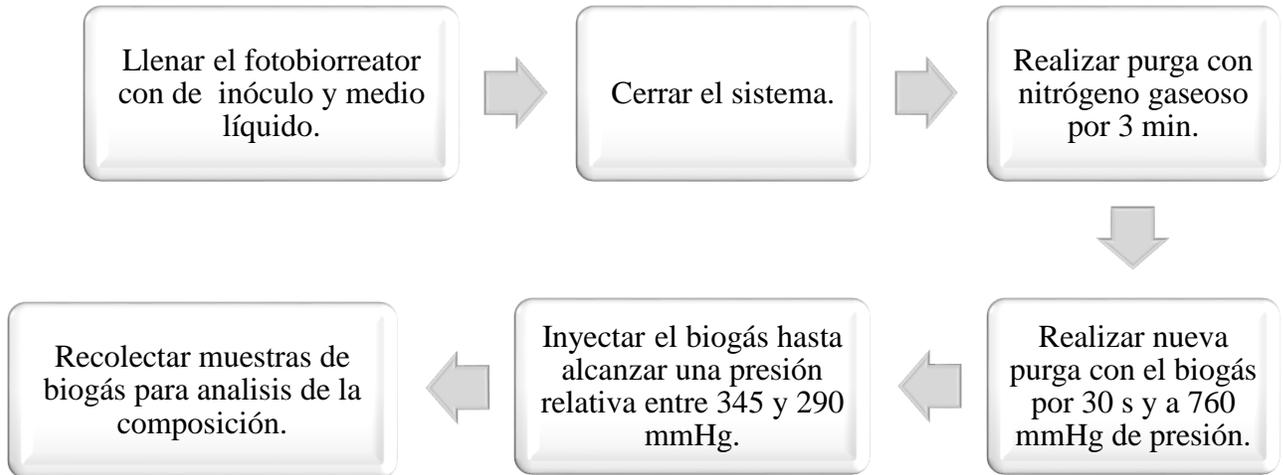
A partir de la determinación de la longitud de onda de trabajo se utilizó un cultivo de *Chlorella minutissima* se realizaron tres diluciones y se usó el cultivo puro para tomar lecturas de ABS tanto del sensor como del espectrómetro, con estos datos se realizó la gráfica (obsérvese la figura 18), con la cual se estableció la ecuación de calibración.

4.10. Purificación de biogás

Para promover el aumento de la composición de metano en el biogás, en un sistema operado en lotes. La metodología utilizada para evaluar la purificación de biogás fue la siguiente:

Se tomó el cultivo y se realizó el llenado del fotobiorreactor, se aseguró que el reactor estuviera cerrado, se realizó una purga con nitrógeno por 3 min, esto con la finalidad de dejar el *head space* en ausencia de otros gases, a la hora de realizar la inyección del biogás se realizó una purga rápida con el biogás y se dejó entrar biogás hasta alcanzar una presión entre 290 y 320 mmHg, en los primeros 15 min de cultivo y después de 720 min se tomaron muestras del

biogás para ser analizados en el CG, en el esquema que se encuentra a continuación se muestra en resumen el paso a paso de la metodología que fue llevada a cabo.



Fuente: Autor.

La composición de metano en el biogás fue analizada por cromatografía de gases, con el equipo SHIMADZU, GAS CHROMATOGRAPH GC-2014, éste contaba con un detector de conductividad térmica que funcionaba a 120°C con una corriente de 85 mA, se empleó nitrógeno como gas de arrastre a una velocidad de flujo de 1,79 mL/min y una columna capilar (30m * 0,53 mm, Restek ®) empacada con tamiz molecular (5 Å) a 40°C (ADARME et al., 2019).

La elevación de la composición de metano en el biogás fue determinada de acuerdo con la ecuación 2.

$$CM(\%) = \frac{\text{Área}(t) * 24,95}{\text{Área patrón}} \quad \text{Ecuación 2.}$$

El rendimiento teórico del proceso de purificación fue determinada por la ecuación 3, teniendo en cuenta, que en la mezcla de los cuatro compuestos (H_2, N_2, CH_4, CO_2) cuando todo el CO_2 es disociado, teóricamente se tiene una mezcla de tres gases (H_2, N_2, CH_4) por lo tanto, la composición máxima posible a ser alcanzada es de 33,33%.

$$RT = \frac{CM_t}{33,33} * 100 \quad \text{Ecuación 3.}$$

4.11. Cultivo de la microalga después de la purificación de biogás

El biogás fue descargado del reactor después de la purificación y el reactor fue llevado para promover el crecimiento del cultivo bajo las condiciones establecidas en el planteamiento experimental de Taguchi.

El análisis del crecimiento fue monitoreado por las presiones, estas fueron medidas con el equipo MANOMETER 2000 mbar, cuando se encontró una estabilización en los valores de presión se procedió a tomar lectura de la absorbancia, para determinar el crecimiento porcentual de la biomasa (X) de acuerdo a la ecuación 1.

4.12. Influencia de la salinidad

Se utilizaron frascos de 120 mL y siguiendo las condiciones establecidas, se prepararon 4 soluciones donde se trabajó con concentraciones de 10, 20 y 30 mg/L de sal, se utilizó un blanco de agua destilada con el cual se hizo la comparación. Los frascos fueron llenados con 40 mL de biogás y se le realizó seguimiento por cromatografía de gases.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Sistema de manutención de cepas

Teniendo en cuenta que el Laboratorio de Química Tecnológica y Ambiental de la Universidad Federal de Ouro Preto no contaba con la línea de investigación en microalgas, esté no disponía de equipamientos que se usaran específicamente para mantener los cultivos, por lo tanto, como aporte para desenvolver este proyecto y pensando además en proyectos futuros se realizó el montaje de las incubadoras.

Para el momento en que finalizó este proyecto se contaban con dos incubadoras donde se realizaban cultivos con dos propósitos, uno para el replique de las cepas, en el cual, se mantenían cultivos en erlenmeyer de 150 y 250 mL como se observa en la figura 15, estos no contaban con aireación ya que el volumen de trabajo es bajo, sin embargo, se realizaba una agitación de forma manual cada dos días.



Figura 15. Incubadora 1 en funcionamiento con los cultivos de replique.

El segundo uso para las incubadoras fue realizar escalados de los cultivos, esto se hizo en garrafas de 5L como se observa en la figura 16 donde se tomaban ± 200 mL de los cultivos de replique y se utilizaba 1 l de medio, el cual progresivamente se iba adicionando más, estos cultivos ya cuentan con aireación y una piedra porosa que se emplea dentro del cultivo para mejorar la distribución del aire.

Como parte del mantenimiento de los cultivos de las cepas de microalgas se llevaban a cabo procesos rutinarios como la preparación de los medios de cultivo, limpieza de los equipamientos, mediciones, entre otras, tareas que se acompañaron con la formación y entrenamiento a estudiantes de iniciación científica del curso de pregrado de Licenciatura en Química Industrial de la Universidad Federal de Ouro Preto.

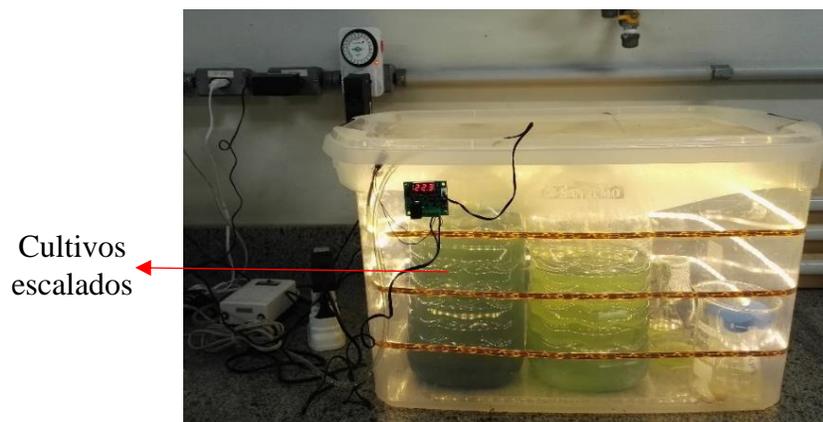


Figura 16. Incubadora 2 en funcionamiento con los cultivos escalados.

Dentro de los beneficios de los sistemas se resalta el bajo costo de los materiales, estos se exponen en la tabla 3, fácil adquisición de los mismos, baja complejidad de llevar a cabo el montaje y correcta funcionalidad para el propósito planteado.

Tabla 3. Costos de los materiales para una incubadora.

Producto	Cantidad	Precio ≈ \$R	Precio ≈ USD
Caja de “icopor” 13 l	1 und.	38,00	9,17
Circuito de temperatura	1 und.	17,00	4,10
Luz LED blanco frio 12V + fuente	5 m	37,00	8,92
Ventilador	2 und.	30,00	7,24
Cordón calefactor 25 W	3 m	91,00	21,95
	Total	213,00	51,38

Los precios descritos en la tabla 3 fueron tomados de tiendas comerciales virtuales como mercado libre Brasil y Amazon, con esto se deja en evidencia que la incubadora construida tiene un valor aproximado de 51,38 USD, que en comparación con una incubadora comercial, por ejemplo, marca Thermo Scientific™ modelo 50125882, con control de temperatura de 17 a 40° C, de dimensiones 47 x 26 x 41.5 cm y sin sistema de iluminación podría llegar a costar 959,28 USD, obteniendo una diferencia porcentual de 94,6% en comparación de los precios.

5.2. Definición longitud de onda para la medición

Luego de llevar a cabo los barridos, los resultados más significativos son presentados en la tabla 4.

Tabla 4. Comparación puntos máximos de absorbancia.

		Longitud de onda					
		680	680,5	681	681,5	682	682,5
<i>Chlorella minutissima</i>	Cultivo Puro	0,498	0,499	0,499	0,500	0,500	0,500
	Dilución 2	0,238	0,238	0,239	0,239	0,239	0,239
	Dilución 6,67	0,070	0,070	0,070	0,071	0,071	0,070
<i>Chlorella s.p</i>	Cultivo Puro	0,655	0,656	0,657	0,657	0,657	0,657
	Dilución 2	0,322	0,323	0,323	0,323	0,323	0,323
	Dilución 6,67	0,091	0,092	0,092	0,092	0,092	0,091
Mezcla	Cultivo Puro	0,583	0,584	0,585	0,585	0,585	0,585
	Dilución 2	0,287	0,287	0,287	0,287	0,288	0,288
	Dilución 6,67	0,081	0,081	0,081	0,081	0,081	0,081

Analizando los datos presentados en la tabla 9 se logró determinar que a una longitud de onda de 682 nm las tres cepas presentan un pico de absorbancia en común, por lo tanto, se definió esta longitud de onda para realizar la calibración del sensor y las lecturas de absorbancia de todos los ensayos.

5.3. Determinación de las condiciones de cultivo

Los resultados obtenidos de la ejecución de los experimentos planificados fueron analizados utilizando el programa MINITAB 19, esto para verificar los efectos de significancia de los factores (Tipo de la luz (A), especie de microalga (B) y temperatura (C)) en relación a la variable de respuesta (porcentaje de crecimiento celular (X)).

En la tabla 5 se encuentran los resultados del porcentaje de crecimiento obtenidos al final de los ensayos realizados. Se logra evidenciar un aumento importante en todos los ensayos, donde se resaltan el 6 y 8, los cuales presentaron el mayor porcentaje de aumento de absorbancia 379% y 426% respectivamente.

Tabla 5. Matriz experimental de Taguchi, con los resultados obtenidos de los ensayos.

Experimentos	Factores			Variable de respuesta			
	A	B	C	X1 (%)	X2 (%)	X3 (%)	Media % X
1	1	1	1	371	379	-	375
2	1	2	2	327	313	-	320
3	1	3	3	275	215	-	245
4	2	1	2	348	365	-	356
5	2	2	3	219	229	257	235
6	2	3	1	381	377	-	379
7	3	1	3	201	209	220	210
8	3	2	1	403	436	440	426
9	3	3	2	358	371	-	364

De acuerdo con el análisis de varianza de los resultados obtenidos presentados en la tabla 6, es posible evidenciar que solo el factor “C” (temperatura), representó un valor con nivel de significancia mayor que 95%, siendo así esté considerado el más importante en relación con la variable de respuesta.

Tabla 6. Resultados de los análisis de varianza de los datos.

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	p
A	2	1,018	1,018	0,5088	0,62	0,618
B	2	2,849	2,849	1,4243	1,73	0,367
C	2	51,977	51,977	25,9883	31,53	0,031
Error residual	2	1,648	1,648	0,8242		
Total	8	57,491				

Fuente: Autor.

Nota:

GL: Grados de libertad.

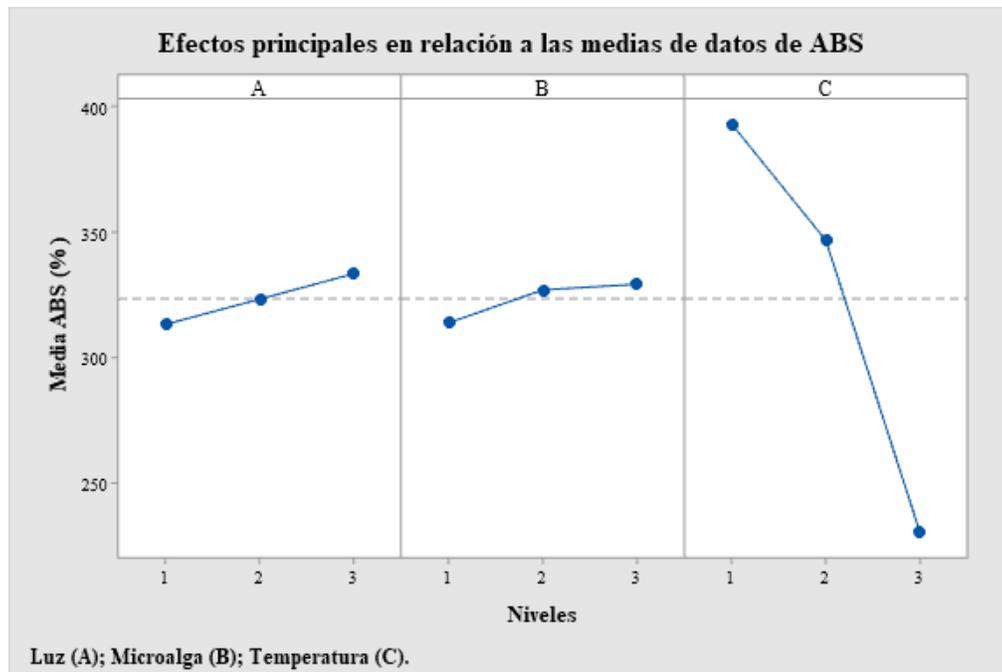
SC: sumas de los cuadrados.

MC: cuadrados medios ajustados.

F: valor F.

p: probabilidad.

La influencia de los efectos en los factores estudiados, así como los niveles de cada factor empleado, se evaluaron gráficamente como se muestra en la figura 17.

**Figura 17.** Gráfica de efectos del análisis estadístico para las lecturas de absorbancia.

Se evidencia que para el factor “C” es donde se presenta mayor variación en relación con la variable de respuesta, siendo así que, cuando el factor “C” se encuentra con el nivel 1 (temperatura = 20°C) se tiene que la variable de respuesta va a tener el valor máximo de crecimiento y, por otro lado, cuando está en relación al nivel 3 (temperatura = 30°C) la variable de respuesta presenta los valores mínimos de crecimiento.

En relación a los factores “A” y “B” ninguno representó significancia en relación a la variable de respuesta, por lo cual, puede ser ajustado en cualquiera de los niveles estudiados. De este modo, el ajuste propuesto fue utilizar luz roja (nivel 3), cepa *Chlorella minutissima* (nivel 2) y temperatura 20°C (nivel 1). El escoger este ajuste para la luz y la temperatura se basó en la condición experimental 8, en el cual, se obtuvo el mayor porcentaje de crecimiento porcentual de la biomasa.

La luz roja fue seleccionada con base al trabajo desarrollado por (YAN et al., 2016) donde concluyeron que la luz roja era la más óptima para el crecimiento de las microalgas y la mejora del biogás, en comparación con este trabajo, se evidenció que para el experimento 8 que fue el ajuste propuesto, se presentó el mayor dato de porcentaje de crecimiento y fue utilizando la luz roja. En cuanto a la cepa se seleccionó *Chlorella minutissima* esto solo con la finalidad de cumplir con el ajuste, de esta manera se logró proceder a desarrollar los siguientes ensayos, sin la necesidad de repetir el análisis de variables.

5.4. Ensayos influencia de la salinidad

En la tabla 7 se muestran los resultados de los cambios en la concentración de metano a diferentes concentraciones de sal.

Tabla 7. Composición de metano a distintas concentraciones de sal.

Concentración (g/L)	% Metano
0	24,95
10	24,79
20	25,07
30	25,15

En la figura 18 se observó que la composición de metano se mantiene independiente de la concentración de sal, por lo tanto, las variaciones que se presentaron dado que fueron mínimas van a ser discriminadas, para efectos del desarrollo de los ensayos se utilizó una concentración de 30 g/L de sal, la cual fue la que se manejó en elaboración de los medios de cultivo.

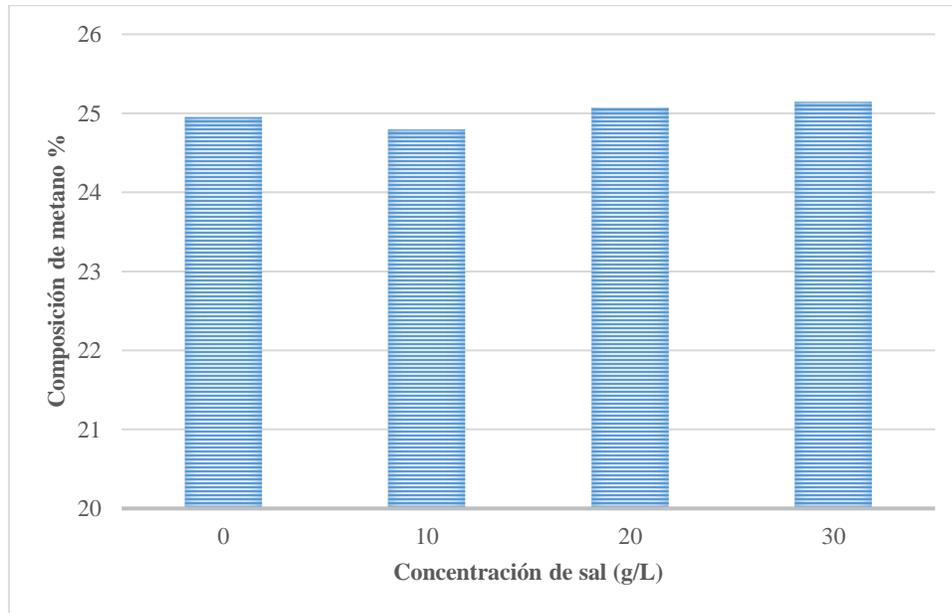


Figura 18. Gráfico de la composición de metano a diferentes concentraciones de sal.

Quedó en evidencia que la salinidad que se manejó en los cultivos para las microalgas no representó ser una variable de interferencia para la purificación de biogás (YAMAMOTO; ALCAUSKAS; CROZIER, 1975).

5.5. Ensayos fotobiorreactor

5.5.1 Calibración del sensor

En la tabla 8 se muestran las lecturas realizadas a las diluciones, con las cuales se realizó la calibración

Tabla 8. Lecturas de crecimiento para la realizar la curva de calibración.

Longitud de onda 682 nm		
Factor de dilución	Sensor	ABS
4	150	0,202
2	105	0,433
1,33	80	0,649
Puro	71	0,851

A partir de los datos anteriormente descritos se realizó la gráfica, la cual se observa en la figura 19, donde se evidencia que el mejor ajuste de la curva fue una línea de tendencia exponencial decreciente con un coeficiente de variación de 0,9926 en relación con los datos, de lo cual se deduce, que estos son confiables pues el porcentaje de error es próximo a 1.

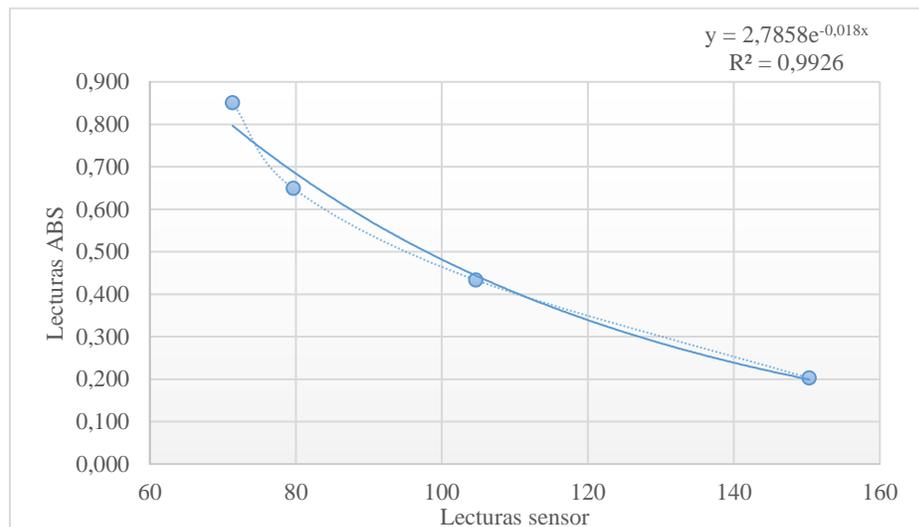


Figura 19. Gráfico de la curva de calibración del sensor.

A partir de la gráfica se conoció la ecuación 3, donde, para cualquier valor del sensor (x) se conocerá un dato de absorbancia.

$$y = 2,7858 e^{-0,018x}$$

Ecuación 3.

5.5.2 Validación del sensor

Los datos de crecimiento se presentan en la tabla 9, donde se logró evidenciar el correcto funcionamiento del circuito, siendo este una forma innovadora para acompañar el crecimiento de las microalgas sin la necesidad de retirar muestras del fotobiorreactor, sin embargo, la calibración del circuito presentó variaciones significativas en las lecturas al intentar usarse para nuevos ensayos, por lo tanto, se recomienda que para cada uso del sensor se debe realizar una curva de calibración “propia del ensayo” de esta manera se mantiene la fiabilidad de los datos.

Tabla 9. Datos de crecimiento en relación a los datos del sensor.

Tiempo	Lectura sensor	ABS
0	195	0,083
1	185	0,099
2	140	0,224
3	135	0,245
4	138	0,232
5	119	0,327
6	100	0,460
7	114	0,357

Con los datos de la tabla 8 se realizó la gráfica que se observa en la figura 20, donde se obtuvo la curva de crecimiento.

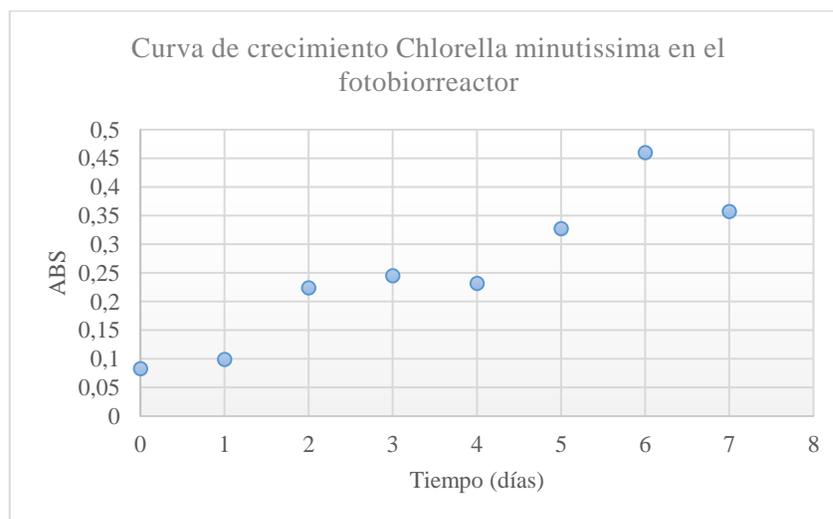


Figura 20. Curva de crecimiento de la cepa *Chlorella minutissima* en el fotobiorreactor.

Con base en los resultados se pudo constatar que el sensor puede ser utilizado para el seguimiento del crecimiento celular de microalgas durante el cultivo en fotobiorreactores.

6. Purificación de biogás

6.1. Evaluación del fotobiorreactor para la purificación de biogás

Por otro parte, cuando se realizaron los análisis del biogás, donde se encontró que el sistema presentaba una entrada de biogás patrón de composición conocida 24,9% mol/mol de CH_4 y al final del test esta composición era menor al 1%, la misma tendencia presentó el H_2 , para el cual, el área presentada en el CG fue difícil de integrar. Se dedujo que esto se debió a que se presentaban fugas del biogás en el fotobiorreactor, este se sometió a modificaciones.

Producto de cambios respecto a la metodología de trabajo cuando se realizaba la inyección del biogás no se consiguió controlar la presión y este desplazaba hasta el punto de derramar el cultivo del reservorio, razón por la cual se decidió retirarlo, las uniones en los laterales fueron selladas y las uniones de los codos con el cilindro de vidrio se dejaron sin sellar pues las medidas de éste en relación al adaptador del circuito son precisas (al momento de sellarlo ya no encajaba el sensor), sin embargo, de nuevo al realizar la inyección del biogás el líquido salía por unión lateral, obsérvese en la figura 21 el fotobiorreactor.



Figura 21. Fotobiorreactor modificado.

Se realizó una nueva modificación y se retiró el sistema de medición, utilizándose al final solo el frasco con los *septum* en la tapa, especiales para realizar la inyección del biogás. Se colocaron dos fotobiorreactores con 230 mL de cultivo de *Chlorella minutissima* y 100 mL de biogás, estos se incubaron por 3 días bajo las condiciones establecidas en la metodología de Taguchi, al final del ensayo se realizaron las mediciones y para la absorbancia y en uno de los ensayos se obtuvo un aumento de 3 veces en el crecimiento, en cuanto al biogás este siguió presentando pérdidas.

Finalmente, en un nuevo intento para validar los datos obtenidos con el ensayo anterior descrito, se pretendía a comenzar un nuevo ensayo y en el proceso de inyección del biogás a los dos fotobiorreactores se observó que utilizando espuma en las uniones de la tapa se revelaba que por estas se presentaban las fugas.

6.2. Evaluación de la purificación de biogás

Dado que el fotobiorreactor no pudo ser utilizado para llevar a cabo los ensayos de purificación por las dificultades presentadas para impedir las fugas, se decidió llevar a cabo la evaluación de la purificación y se optó por utilizar los frascos con los que se realizó el ensayo para establecer las variables de trabajo, ya que estos al ser sellados no presentaban riesgo de fugas. En la tabla 10 se encuentran los resultados del ensayo.

Tabla 10. Resultados ensayo de purificación.

Tiempo (min)	CH4 % media	RT medio
0	24,95	-
15	29,4844	88,4532
720	30,62592	91,8777

Se observa que en los primeros 15 min la composición de metano fue elevada a un 29,48% representando un rendimiento teórico del sistema de 88%, transcurridos 720 min se evidencia un aumento en la composición a 30,62%, sin embargo, este aumento en comparación al logrado en los primeros 15 min, estadísticamente no representa gran significancia. Obsérvese en la figura 22 la gráfica del porcentaje de metano y el rendimiento teórico en relación a los dos tiempos de medición.

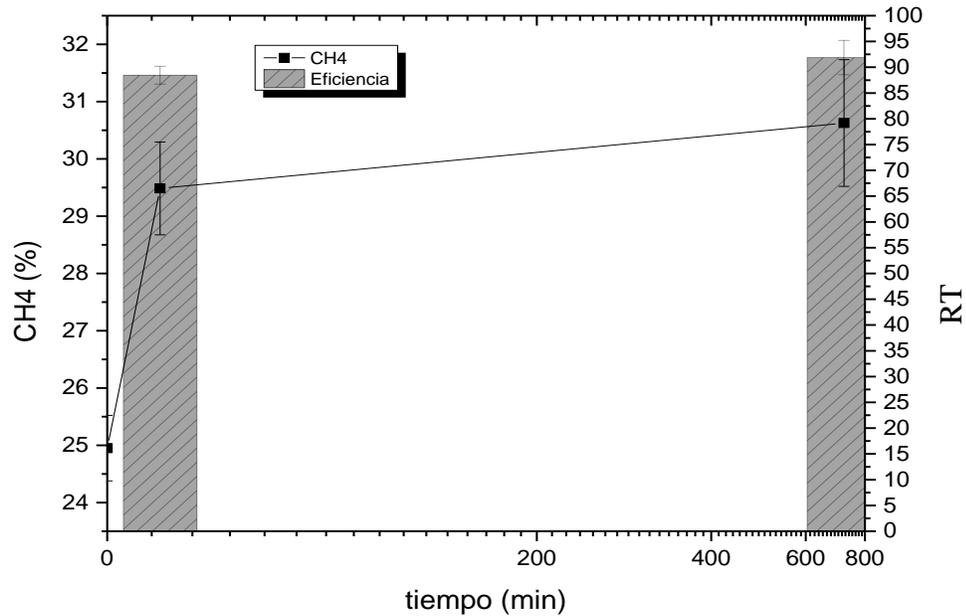


Figura 22. Grafica del porcentaje de metano y el rendimiento teórico en el ensayo.

6.3. Evaluación del cultivo de la microalga después de la purificación

En la tabla 11 se presentan los resultados del acompañamiento de la presión en el sistema luego de que se retirara el biometano del frasco.

Tabla 11. Resultados del seguimiento de la presión durante 42h.

Tiempo (h)	Presión (mmHg)
0	1
6	41
12	62
24	128
30	135
42	106

A partir de los datos se realizó la gráfica de la relación que se presentó entre la presión respecto al tiempo, obsérvese la figura 23, la gráfica tuvo un comportamiento similar a una curva de crecimiento, ya que esta presión puede estar directamente relacionada con la generación de O_2 , partir de la utilización del CO_2 como fuente de carbono por parte de la microalga.

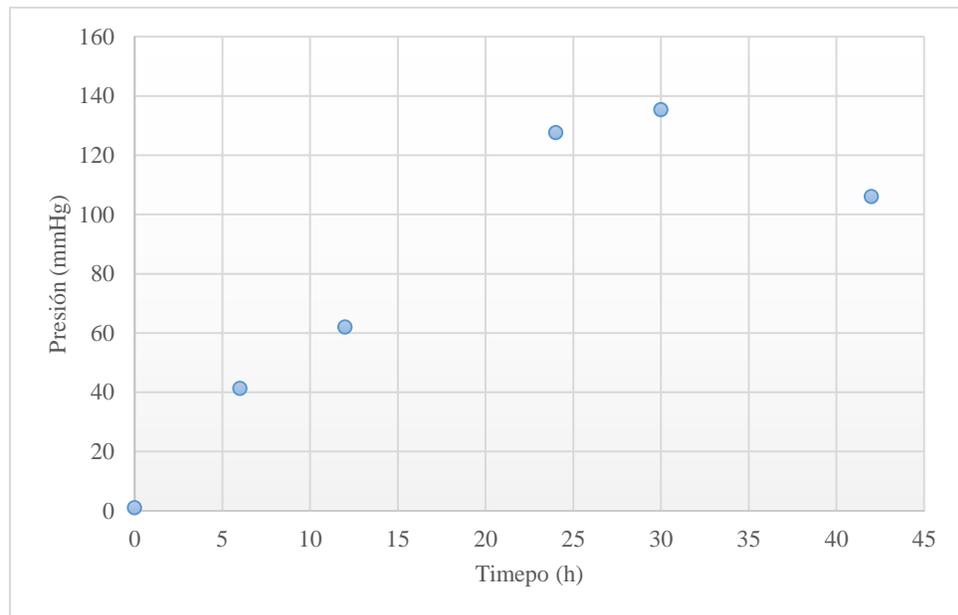


Figura 23. Gráfica relación de la presión respecto al tiempo.

Teniendo en cuenta la ecuación 1 se obtuvieron los resultados de crecimiento porcentual de la biomasa (X), véase la tabla 12.

Tabla 12. Crecimiento porcentual de la biomasa.

Media de ABS inicial	Media ABS final	Media % X
0,358	0,632	76

Pasadas 42 h se presentó un crecimiento porcentual del 76% en comparación con la ABS inicial y como se observó en la figura 23 la presión a las 30 horas tiene una estabilidad y a las 42 horas presentó una caída, con lo cual se puede evidenciar que la tasa de crecimiento a partir de las 30h empezó a ser más lento.

7. RECOMENDACIONES

- Uno de los inconvenientes a la hora de la realización de este trabajo fue la forma de inyección del biogás, se recomienda evaluar alternativas para poder “transportar” el biogás para ser inyectado.
- Evaluar una forma de sellar las uniones o usar otros materiales para hacer la reconstrucción del fotobiorreactor.
- Realizar una calibración respecto a las mediciones del CG, esto con la finalidad de tener en cuenta en los análisis el porcentaje de error de la persona al pasar la muestra, pues se observó que puede haber varios factores que influyen en este proceso.
- Realizar un nuevo planteamiento del método de Taguchi, teniendo en cuenta otros y otras variables de respuesta.
- Realizar ensayos de purificación considerando tomar lecturas en más tiempos, pues se apreció que esta es una variable fundamental.

8. CONCLUSIONES

- El sistema de manutención cumplió con las expectativas planteadas, dejando así dos incubadoras totalmente funcionales para el laboratorio.
- Se resalta el crecimiento de las microalgas en los ensayos para determinación de variables, esto teniendo en cuenta que, el biogás que fue utilizado para llevar a cabo este ensayo fue recolectado bruto de un biorreactor anaerobio sin ningún tipo de tratamiento, demostrando así que para este trabajo con el biogás utilizado para el crecimiento de las cepas *Chlorella minutissima* y *Chlorella s.p.* no representó ningún efecto inhibitorio sobre estas.
- La temperatura más baja 20°C fue la más efectiva para el crecimiento, tiene esto sentido ya que, considerando la solubilidad de los gases, a menores temperaturas mayor solubilidad (CHOI et al., 2019).
- El biorreactor demostró no ser viable para realizar la purificación, sin embargo, el sensor resulta novedoso y, por otra parte, se evidenció que es una herramienta útil para el seguimiento del crecimiento microalgal, sin la necesidad de retirar muestras del reactor.
- Se consiguió llevar a cabo purificación de biogás utilizando la cepa de *Chlorella minutissima* y obtuvo un rendimiento teórico de 91,8% en el proceso, con un aumento de 22,7% en la composición de metano.
- El rendimiento teórico en la purificación fue logrado en 15 min y 720 min, sin embargo, el aumento presentado pasados los 720 min no fue significativo, por lo tanto, al no observarse mayor diferencia no se justifica dejar este tiempo el cultivo con el biogás, siendo 15 min un tiempo óptimo para alcanzar aumentar la composición de metano en el biogás.
- El efluente de la purificación de biogás fue utilizado efectivamente para el crecimiento de la microalga *Chlorella minutissima*, ya que esta presentó crecimiento en 42 horas de incubación.

9. REFERENCIAS

- A. VALDIVIA, ET AL. **Tecnología de cultivo de microalgas en fotobiorreactores**. Disponível em: <<http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.7/4.html>>. Acesso em: 9 dez. 2019.
- ADARME, O. F. H. et al. Use of anaerobic co-digestion as an alternative to add value to sugarcane biorefinery wastes. **Bioresource Technology**, v. 287, n. May, p. 121443, 2019.
- AMARAL, M. S. **Cultivo da microalga marinha *Chlorella minutissima* em fotobiorreator integrado (coluna de bolhas - tubular) internamente iluminado visando à obtenção de biomassa para a produção de biodiesel**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/97/97131/tde-03122018-183830/publico/BIT18001_C.pdf>. Acesso em: 27 out. 2019.
- ANGELIDAKI, I. et al. **Biogas upgrading and utilization: Current status and perspectives****Biotechnology Advances**Elsevier Inc., , 1 mar. 2018.
- BELLO, J.; GONZÁLEZ, J.; TORRES, J. **Sistema automatizado de control para el crecimiento de microalgas**. [s.l.: s.n.].
- BENAVIDES BALLESTEROS, H.; LEÓN ARISTIZABAL, G. INFORMACIÓN TECNICA SOBRE GASES DE EFECTO INVERNADERO Y EL CAMBIO CLIMÁTICO. 2007.
- BERMÚDEZ, J. et al. **La digestión anaerobia**. [s.l.: s.n.].
- BOSE, A. et al. How to optimise photosynthetic biogas upgrading: a perspective on system design and microalgae selection. **Biotechnology Advances**, p. 107444, 30 ago. 2019.
- CHOI, Y. Y. et al. Microalgae Bioenergy with Carbon Capture and Storage (BECCS): An emerging sustainable bioprocess for reduced CO₂ emission and biofuel production. **Bioresource Technology Reports**, v. 7, p. 100270, set. 2019.
- DE BHOWMICK, G.; SEN, R.; SARMAH, A. K. Analysis of growth and intracellular product synthesis dynamics of a microalga cultivated in wastewater cocktail as medium. **Biochemical Engineering Journal**, v. 149, 15 set. 2019.
- DOMÍNGUEZ-MUÑOZ, F. et al. Uncertainty in the thermal conductivity of insulation materials. **Energy and Buildings**, v. 42, n. 11, p. 2159–2168, nov. 2010.

GARRIDO-CARDENAS, J. A. et al. **Microalgae research worldwide** *Algal Research* Elsevier B.V., , 1 nov. 2018.

GONZÁLEZ CÉSPEDES, A. **¿Qué son las microalgas?** Disponível em: <<https://www.cajamar.es/pdf/bd/agroalimentario/innovacion/investigacion/documentos-y-programas/microalgas-1444391623.pdf>>. Acesso em: 26 out. 2019.

HO, S. H.; CHEN, C. Y.; CHANG, J. S. Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO₂ fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. **Bioresource Technology**, v. 113, p. 244–252, jun. 2012.

INFANTE, C. et al. **PROPAGACIÓN DE LA MICROALGA *Chlorella* sp. EN CULTIVO POR LOTE: CINÉTICA DEL CRECIMIENTO CELULAR CULTIVATION OF *Chlorella* sp. MICROALGAE IN BATCH CULTURE: CELL GROWTH KINETICS.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <http://www.exeedu.com/publishing.cl/av_cienc_ing/159>. Acesso em: 28 out. 2019.

KAO, C. Y. et al. A mutant strain of microalga *Chlorella* sp. for the carbon dioxide capture from biogas. **Biomass and Bioenergy**, v. 36, p. 132–140, jan. 2012.

KHAN, S. A. et al. Potential of wastewater treating *Chlorella minutissima* for methane enrichment and CO₂ sequestration of biogas and producing lipids. **Energy**, v. 150, p. 153–163, 1 maio 2018.

LOURENÇO, S. Cultivo de microalgas marinhas: Princípios e Aplicações. In: [s.l.] RiMA, 2006. p. 200–202.

MARTÍNEZ SANCHO, M. E.; CASTILLO, J. M. J.; EL YOUSFI, F. Influence of phosphorus concentration on the growth kinetics and stoichiometry of the microalga *Scenedesmus obliquus*. **Process Biochemistry**, v. 32, n. 8, p. 657–664, 1997.

MORELOS GÓMEZ, J. Análisis de la variación de la eficiencia en la producción de biocombustibles en América Latina. **Estudios Gerenciales**, v. 32, n. 139, p. 120–126, abr. 2016.

MS, P. et al. Método Taguchi aplicado na identificação dos fatores causadores da descarbonetação do arame de aço SAE 51B35 , durante tratamento térmico de esferoidização. p. 97–108, 2012.

PERTL, A.; MOSTBAUER, P.; OBERSTEINER, G. Climate balance of biogas upgrading

systems. **Waste Management**, v. 30, n. 1, p. 92–99, jan. 2010.

RIZWAN, M. et al. **Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review** **Renewable and Sustainable Energy Reviews** Elsevier Ltd, , 1 set. 2018.

ROCHA, J. M. DA et al. Avaliação da retenção de sólidos em inovadora configuração de reator UASB tratando esgoto doméstico. **Revista DAE**, v. 65, n. 205, p. 29–44, 2017.

RYCKEBOSCH, E.; DROUILLON, M.; VERVAEREN, H. **Techniques for transformation of biogas to biomethane** **Biomass and Bioenergy**, maio 2011.

SINGH, B.; SZAMOSI, Z.; SIMÉNFALVI, Z. **State of the art on mixing in an anaerobic digester: A review** **Renewable Energy** Elsevier Ltd, , 1 out. 2019.

TANG, H. et al. Culture of microalgae *Chlorella minutissima* for biodiesel feedstock production. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 108, n. 10, p. 2280–2287, out. 2011.

YAMAMOTO, S.; ALCAUSKAS, J.; CROZIER, T. **Solubility of Methane in Distilled Water and Seawater**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/sharingguidelines>>. Acesso em: 27 dez. 2019.

YAN, C. et al. The effects of various LED (light emitting diode) lighting strategies on simultaneous biogas upgrading and biogas slurry nutrient reduction by using of microalgae *Chlorella* sp. **Energy**, v. 106, p. 554–561, 1 jul. 2016.

YAN, C.; ZHENG, Z. Performance of mixed LED light wavelengths on biogas upgrade and biogas fluid removal by microalga *Chlorella* sp. **Applied Energy**, v. 113, p. 1008–1014, 2014.

YAN, C.; ZHU, L.; WANG, Y. Photosynthetic CO₂ uptake by microalgae for biogas upgrading and simultaneously biogas slurry decontamination by using of microalgae photobioreactor under various light wavelengths, light intensities, and photoperiods. **Applied Energy**, v. 178, p. 9–18, 15 set. 2016.