



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
Escuela Superior de Ingeniería Mecánica y Eléctrica  
Sección de Estudios de Posgrado e Investigación



Estudio de la mecánica de fluidos y los efectos de un hidrociclón en el crecimiento de la  
microalga *Scenedesmus incrassatulus*

Tesis

Que para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Ingeniería Mecánica

Presenta

Ing. Martín Alonso Rodríguez Salinas

Directores

Dr. José Alfredo Jiménez Bernal

Dra. Rosa Olivia Cañizares Villanueva

Ciudad de México, 2016

# Resumen

En este trabajo se plantea el uso del hidrociclón como fotobiorreactor, para ello se desarrolló un sistema que permitió estudiar la mecánica de fluidos dentro de un hidrociclón. Considerando los resultados obtenidos, se pudieron establecer las condiciones de operación para evaluar el crecimiento de la microalga *Scenedesmus incrassatulus* dentro del sistema. Este estudio se realizó en el laboratorio de Biotecnología de Microalgas del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional Unidad Zacatenco. El desarrollo del estudio descrito en este trabajo se dividió en cuatro etapas: 1) diseñar y construir la instalación y el reactor hidrociclón (RH), 2) instrumentar la instalación y caracterizar los sensores de flujo, 3) visualizar el flujo de fluidos desarrollado dentro del RH y determinar las condiciones de la cinética de crecimiento y 4) evaluar el crecimiento de *Scenedesmus incrassatulus* dentro del RH.

El diseño de la instalación se dividió en cuatro sistemas; hidráulico, neumático, iluminación y soporte. Por su parte, el RH fue diseñado con dos entradas tangenciales opuestas, la primera suministra el medio de cultivo y la segunda abastece el aire de forma que la interacción entre los dos flujos favorece el mezclado, el cual a su vez propicia el crecimiento de las microalgas. Se instrumentó la instalación utilizando manómetros para medir la presión, mientras que el monitoreo del flujo se realizó con un arreglo de sensores de efecto Hall, un Arduino Nano y una pantalla de LCD. Con ello se evaluó el sistema en diferentes condiciones del caudal ( $F1$  entre 2.5 – 6.4 l / min) mediante la visualización del flujo de fluidos utilizando una cámara de alta velocidad. En esta etapa se encontraron patrones de flujo dentro del sistema y determinaron las condiciones para evaluar el crecimiento celular.

Las cinéticas de crecimiento de *Scenedesmus incrassatulus* se realizaron en botellas de cara plana Schott® y el RH bajo las mismas condiciones de iluminación ( $I = 130 \mu\text{mol} / \text{m}^2 \text{ s} = 28.88 \text{ W} / \text{m}^2$ ) y alimentación (medio PCG). Se evaluó el desarrollo del cultivo mediante la cuantificación de los pigmentos y el peso seco. Los resultados mostraron que la velocidad específica de crecimiento ( $\mu$ ) en la botella de cara plana fue mayor que en el RH, sin embargo la concentración de clorofila a y b en el RH fue mayor que en la botella. Esto expone la capacidad del sistema para el cultivo de microalgas y la generación de compuestos específicos.

# Abstract

In this work the use of the hydrocyclone as a photobioreactor is proposed, for this purpose a system was developed which allowed to study the fluid mechanics inside of one hydrocyclone. Considering the results obtained, it could be established the operational conditions to assess the growth of the microalgae *Scenedesmus incrassatulus* inside the system. This study was made in the Microalgae Laboratory of the Biotechnology and Bioengineering Department at the Center of Research and Advanced Studies of the National Polytechnic Institute Campus Zacatenco. The development of the study described in this work was divided into four steps: 1) design and make the installation and the hydrocyclone-reactor (RH), 2) arrange the installation and characterize the flow-sensors, 3) visualize the fluids flow developed inside the RH and determine the growth kinetics conditions and 4) asses the growth of *Scenedesmus incrassatulus* inside the RH.

The installation's design was divided in four systems; hydraulic, pneumatic, lighting and holder. Meanwhile, the RH was designed with two tangential opposite inlets, the first one supplies the culture medium and the second one dispenses the air so that the interaction between the two flows stimulates the mixing, which in turn propitiates the microalgae's growth. The installation was instrumented with manometers to measure pressure, while the flow-monitoring was made with a Hall-effect-sensors array, an Arduino Nano and one LCD-display. With that the system was evaluated around different flow conditions ( $F1$  between 2.5 – 6.4 l / min) through the fluids flow visualization using a high-speed camera. In this step flow patterns were found and the conditions to assess the cellular growth were established.

The growth-kinetics of *Scenedesmus incrassatulus* were made in Schott® flat-face glass bottles and the RH under the same lighting ( $I = 130 \mu\text{mol} / \text{m}^2 \text{ s} = 28.88 \text{ W} / \text{m}^2$ ) and feeding (PCG medium) conditions. The culture development was evaluated thru the pigment

and the dry weight quantification. The results showed that the specific growth rate ( $\mu$ ) was larger in the flat-face bottle than in the RH, however the concentration of chlorophyll a and b were bigger in the RH than in the flat-face bottle. It exposes the system capacity to the microalgae culturing and the generation of specific compounds.

# Índice

Índice.....	I
Índice de figuras.....	IV
Índice de tablas.....	VIII
Nomenclatura.....	IX
Resumen.....	XIII
Abstract.....	XV
Introducción.....	XVII
Justificación.....	XIX
Hipótesis.....	XIX
Objetivo.....	XIX
Objetivos particulares.....	XIX
Capítulo 1. El cultivo de microalgas y el hidrociclón.....	1
1.1 Características de la turbulencia.....	1
1.2 Microalgas.....	3
1.2.1 Definición y clasificación.....	3
1.2.2 Parámetros del desarrollo celular.....	3
1.2.3 Parámetros de cultivo.....	7
1.2.4 Efectos de la turbulencia en el cultivo.....	8
1.3 Sistemas de cultivo.....	9
1.3.1 Definición y clasificación.....	9
1.3.2 Parámetros de diseño de un sistema de cultivo.....	13
1.4 Hidrociclón.....	16
1.4.1 Definición y clasificación.....	16
1.4.2 Principio de funcionamiento.....	21
1.4.3 Dinámica de la partícula.....	23
1.4.4 Comportamiento del flujo.....	26

1.5 Antecedentes .....	32
1.5.1 Fotobiorreactores .....	32
1.5.2 El hidrociclón en sistemas de cultivo celular .....	35
Capítulo 2. Diseño y dimensionamiento de la instalación .....	37
2.1 Sistema hidráulico .....	37
2.1.1 Parámetros del diseño hidráulico .....	37
2.1.2 Elementos del sistema hidráulico .....	38
2.2 Diseño y dimensionamiento del reactor hidrociclón .....	45
2.3 Sistema neumático .....	50
2.3.1 Parámetros de diseño .....	50
2.3.2 Elementos del sistema neumático .....	50
2.4 Sistema de iluminación .....	53
2.5 Sistema de soporte .....	55
Capítulo 3. Instalación y condiciones del experimento .....	58
3.1 Instrumentación .....	58
3.1.1 Medición de presión .....	58
3.1.2 Medición del flujo .....	59
3.1.3 Medición de la temperatura .....	62
3.1.4 Medición del pH .....	63
3.2 Estudio del flujo de fluidos en el RH .....	64
3.3 Cultivo de <i>Scenedesmus incrassatulus</i> .....	66
3.3.1 Cepa y medio de cultivo .....	66
3.3.2 Métodos analíticos y cálculos .....	67
3.3.3 Condiciones del ensayo en el RH .....	70
Capítulo 4. Resultados y discusión .....	73
4.1 Diseño y construcción de la instalación .....	73
4.2 Caracterización de los sensores de flujo .....	78
4.3 Visualización de flujo .....	83

4.3.1 Estudio general .....	83
4.3.2 Estudio particular.....	90
4.4 Cinética de crecimiento .....	95
Conclusiones.....	107
Recomendaciones.....	109
Referencias .....	110
Apéndice .....	117

# Índice de figuras

Figura 1.1. Curva de respuesta fotosíntesis-iluminación (Carvalho, <i>et al.</i> , 2011).....	4
Figura 1.2. Interacciones entre las reacciones bioquímicas, la transferencia de luz y la dinámica de fluidos en los PBR (Posten, 2009).....	9
Figura 1.3. Ejemplos de sistemas de cultivo abiertos: laguna (izquierda) y estanque con canales (derecha) (Reyna, 2010). ....	10
Figura 1.4. Fotobiorreactores tubular (izquierda), panel (medio) y de columna (derecha) (Reyna, 2010).....	11
Figura 1.5. Principales partes de un ciclón (García, 2008).....	17
Figura 1.6. Diferentes configuraciones de entradas y salidas de ciclones (tangencial y axial) (Aguilar, 2008).....	18
Figura 1.7. Diferentes entradas en los ciclones (Aguilar, 2008). ....	19
Figura 1.8. Diferentes cuerpos del ciclón. ....	20
Figura 1.9. Geometría y dimensiones principales de un ciclón de cuerpo cilíndrico-cónico con entrada tangencial y salidas axiales (Aguilar, 2008). ....	21
Figura 1.10. Representación del flujo en el interior de un hidrociclón (García, 2008). ....	23
Figura 1.11. Representación de las fuerzas que actúan sobre una partícula dentro de un hidrociclón (Aguilar, 2008).....	23
Figura 1.12. Zonas interior y exterior en un hidrociclón.....	27
Figura 1.13. Flujo de interferencia en las inmediaciones del buscador de vórtices (Aguilar, 2008). 28	
Figura 1.14. Distribución de velocidad tangencial en el hidrociclón (Aguilar, 2008). ....	29
Figura 1.15. Velocidad tangencial para vórtices libre, forzado y real (Aguilar, 2008). ....	30
Figura 1.16. Perfil de velocidad axial en el hidrociclón (Aguilar, 2008). ....	31
Figura 1.17. Perfiles de velocidad radial en el hidrociclón (Aguilar, 2008). ....	31
Figura 2.1. Diagrama del sistema hidráulico. ....	38
Figura 2.2. Curva característica de la bomba. En esta gráfica se muestra la aproximación (Wilden, 2016).....	40

Figura 2.3. Vista superior del diseño del RH donde se aprecian las entradas tangenciales. ....	45
Figura 2.4. Vistas con la geometría y dimensiones generales del RH. ....	47
Figura 2.5. Diseño de la sección del RH donde se encuentran las bridas de sujeción y sello. ....	47
Figura 2.6. Diseño de la tapa inferior y sus elementos acoplados. ....	48
Figura 2.7. Diseño de la tapa superior y sus elementos acoplados. ....	48
Figura 2.8. Diseño del buscador de vórtices. ....	49
Figura 2.9. Diseño del ensamble completo del RH. ....	49
Figura 2.10. Diagrama del sistema neumático. ....	51
Figura 2.11. Diseño del panel de control. ....	53
Figura 2.12. Posición del sistema de iluminación a los costados del RH. ....	54
Figura 2.13. Estructura de sujeción de lámparas. ....	54
Figura 2.14. Perfil IPS 0.028 x 0.028 m. ....	55
Figura 2.15. Ángulo de unión entre perfiles. ....	55
Figura 2.16. Elemento sujetado al perfil IPS. ....	56
Figura 2.17. Tipo de uniones que facilitan la variación de la posición de las lámparas. ....	56
Figura 2.18. Diseño conceptual y detallado de la instalación. ....	57
Figura 3.1. Panel de control de los sistemas hidráulico y neumático. ....	59
Figura 3.2. Sensor YF-S201. ....	60
Figura 3.3. Probetas utilizadas en la medición del volumen. ....	61
Figura 3.4. Medición de la temperatura de una muestra en un tubo falcon. ....	63
Figura 3.5. Medición del pH de una muestra en un tubo falcon. ....	63
Figura 3.6. Cámara digital Finepix HS10 y tripié utilizados en la experimentación. ....	64
Figura 3.7. Preparación de la instalación previa a la visualización del flujo. ....	65
Figura 3.8. <i>Scenedesmus incrassatulus</i> CLHE-Si01. ....	67
Figura 3.9. Preparación del inóculo de <i>S. incrassatulus</i> en la botella de cara plana. ....	70
Figura 4.1. Ensamble de la parte inferior del RH. ....	75
Figura 4.2. Sección superior del RH. ....	75
Figura 4.3. Ensamble completo del RH. ....	76

Figura 4.4. Bomba de la instalación. ....	76
Figura 4.5. Tubería para el drenado del sistema. ....	77
Figura 4.6. Punto donde se realizó el muestreo para evaluar el estado del cultivo. ....	77
Figura 4.7. Fotografía de la instalación. ....	78
Figura 4.8. Gráfica de los valores $V_p$ para $F1$ calculados con interpolación usando las tres configuraciones de $L_{np}$ y los valores del fabricante del sensor. ....	79
Figura 4.9. Gráfica de los valores de $V_p$ para $F1$ calculados con interpolación usando las tres configuraciones de $L_{np}$ y los valores del fabricante del sensor para $n_p$ de 1400 - 1600. ....	79
Figura 4.10. Gráfica de los valores de $E_r$ para $F1$ calculados con interpolación usando las tres configuraciones de $L_{np}$ para $n_p$ de 1400 - 1600. ....	80
Figura 4.11. Gráfica de los valores de $V_p$ para $F2$ calculados con interpolación usando las tres configuraciones de $L_{np}$ y los valores del fabricante del sensor. ....	81
Figura 4.12. Gráfica de los valores de $V_p$ para $F2$ calculados con interpolación usando las tres configuraciones de $L_{np}$ y los valores del fabricante del sensor para $n_p$ de 650 - 1200. ....	81
Figura 4.13. Gráfica de los valores de $E_r$ para $F2$ calculados con interpolación usando las tres configuraciones de $L_{np}$ para $n_p$ de 650 - 1200. ....	82
Figura 4.14. Pantalla indicando el valor de los flujos $F1$ , $F2$ y $F3$ . ....	82
Figura 4.15. Comparación del valor de $F1$ calculado con la interpolación de Lagrange y con el $V_c = 0.143$ ml. ....	83
Figura 4.16. RH con $F1 = 4.1$ l / min sin la alimentación de aire. ....	84
Figura 4.17. Gráfica de $F1$ , $F2$ y $F3$ en función del flujo de aire para $F1 = 2.5$ l / min. ....	85
Figura 4.18. Gráfica de $F1$ , $F2$ y $F3$ en función del flujo de aire para $F1 = 3.2$ l / min. ....	85
Figura 4.19. Gráfica de $F1$ , $F2$ y $F3$ en función del caudal de aire para $F1 = 4.1$ l / min. ....	85
Figura 4.20. Niveles del líquido en el RH con el caudal de aire al 10% (izquierda) y 100% (derecha). ....	86
Figura 4.21. Gráfica de $PER$ , $PSS$ y $PSI$ en función del caudal de aire para $F1 = 4.1$ l / min. ....	87
Figura 4.22. Gráfica de $F1$ , $F2$ y $F3$ en función del caudal de aire para $F1 = 4.9$ l / min. ....	88

Figura 4.23. Gráfica de $F_1$ , $F_2$ y $F_3$ en función del caudal de aire para $F_1 = 5.8$ l / min. ....	88
Figura 4.24. Gráfica de $F_1$ , $F_2$ y $F_3$ en función del caudal de aire para $F_1 = 6.4$ l / min. ....	88
Figura 4.25. Gráfica de $PER$ , $PSS$ y $PSI$ en función del caudal de aire para $F_1 = 6.4$ l / min. ....	89
Figura 4.26. Comportamiento del flujo con alimentación de líquido $F_1 = 4.9$ l / min y caudal mínimo (izquierda) y máximo (derecha) de aire. ....	90
Figura 4.27. Comportamiento del flujo con alimentación de líquido $F_1 = 6.4$ l / min y caudal mínimo (izquierda) y máximo (derecha) de aire. ....	90
Figura 4.28. RH bajo condiciones de operación seleccionadas para la cinética de crecimiento. ....	91
Figura 4.29. Núcleo de aire dentro del RH donde se aprecia que su eje no es lineal ni simétrico. ...	92
Figura 4.30. Burbujas que se generan por la interacción del flujo de líquido y gas. ....	93
Figura 4.31. Torsión del flujo del vórtice y mezclado del medio del líquido y aire. ....	94
Figura 4.32. Dimensiones del vórtice en mm. ....	95
Figura 4.33. Curva de crecimiento de <i>S. incrassatulus</i> en la botella de cara plana Schott® en términos del peso seco y el tiempo. ....	96
Figura 4.34. Curva de crecimiento de <i>S. incrassatulus</i> en el RH en términos del peso seco y el tiempo. ....	97
Figura 4.35. Evolución de la concentración de pigmentos en el cultivo para la cinética de crecimiento en la botella de cara plana. ....	99
Figura 4.36. Evolución de la concentración de pigmentos en el cultivo para la cinética de crecimiento en el RH. ....	99
Figura 4.37. Botella de cara plana utilizada como reactor. ....	100
Figura 4.38. Regiones de iluminación variable en el RH. ....	101
Figura 4.39. Asentamiento de las células en el fondo de la botella de cara plana. ....	103
Figura 4.40. RH en funcionamiento para la cinética de crecimiento de <i>S. incrassatulus</i> . ....	106

# Índice de tablas

Tabla 1.1. Principales características de los fotobiorreactores. (1) Área superficial total requerida; (2) Líquido evaporado durante el proceso; (3) Desorción de CO <sub>2</sub> del líquido.....	12
Tabla 1.2. Secciones de un ciclón.....	20
Tabla 2.1. Valores calculados de $U_o$ para diferentes $D_t$ y $U_p$ .....	42
Tabla 2.2. Información proporcionada por el fabricante de la tubería y accesorios para calcular la pérdida de carga en las conexiones.....	44
Tabla 2.3. Cálculo de pérdida de carga para diferentes valores del caudal.....	45
Tabla 3.1. Equipo utilizado para medir la presión.....	58
Tabla 3.2. Características de las probetas utilizadas en la medición del volumen desplazado.....	61
Tabla 3.3. Rangos de medición para la caracterización de los sensores de flujo.....	62
Tabla 3.4. Configuración de la instalación para la visualización del flujo.....	66
Tabla 4.1. Dimensiones de diseño y dimensiones reales.....	73

# Nomenclatura

Símbolo	Descripción
$a$	Altura de la entrada del fluido al ciclón (m)
$A$	Área transversal de la tubería tangencial (m <sup>2</sup> )
$A_{470}$	Resultado del análisis para la longitud de onda 470 nm
$A_{653}$	Resultado del análisis para la longitud de onda 653 nm
$A_{666}$	Resultado del análisis para la longitud de onda 666 nm
$b$	Ancho de la entrada del fluido al ciclón (m)
$B$	Diámetro de la salida inferior (m)
$Ca$	Concentración de carotenoides (mg / ml)
$Cl_a$	Concentración de clorofila tipo a (mg / ml)
$Cl_b$	Concentración de clorofila tipo b (mg / ml)
$C_i$	Concentración de biomasa en el tiempo $t_i$ (g / l)
$D_{ab}$	Diámetro de la entrada del fluido al RH (m)
$D_c$	Diámetro principal del ciclón (m)
$D_e$	Diámetro del buscador de vórtices (m)
$D_{ee}$	Diámetro externo del buscador de vórtices (m)
$D_p$	Diámetro de la partícula (m)
$D_r$	Diámetro principal del RH (m)
$d_t$	Diámetro nominal de la tubería neumática (m)
$D_t$	Diámetro interno de la tubería (m)
$E_r$	Error relativo porcentual (adimensional)
$F_a$	Fuerza de arrastre (N)
$F_c$	Fuerza centrífuga (N)
$F_f$	Fuerza de flotación (N)
$F_g$	Fuerza de gravedad (N)
$FA$	Flujo de aire a la entrada del RH (l / min)
$F1$	Flujo de líquido a la entrada del RH (l / min)

$F2$	Flujo de líquido a la salida inferior del RH (l / min)
$F3$	Flujo de líquido a la salida superior del RH (l / min)
$f_{L-D}$	Frecuencia de los ciclos luz-oscuridad (Hz)
F-I	Respuesta fotosíntesis-iluminación
FLE	Flashing Light Effect
$g$	Aceleración de la gravedad ( $m / s^2$ )
$H_c$	Altura del cilindro principal del ciclón (m)
$H_T$	Altura total del ciclón (m)
$I$	Intensidad de la irradiación ( $\mu\text{mol} / \text{m}^2 \text{s}$ )
$I_c$	Intensidad de compensación ( $\mu\text{mol} / \text{m}^2 \text{s}$ )
$I_h$	Intensidad de inhibición ( $\mu\text{mol} / \text{m}^2 \text{s}$ )
$I_s$	Intensidad de saturación ( $\mu\text{mol} / \text{m}^2 \text{s}$ )
$IMV$	Índice de mezclado vertical (adimensional)
$\bar{k}$	Energía cinética turbulenta promedio ( $\text{m}^2 / \text{s}^2$ )
$k$	Conductividad térmica ( $\text{W} / \text{m K}$ )
$l$	Longitud característica del <i>eddy</i> (m)
$l_i$	Longitud de la trayectoria de la luz (m)
$Ln_p$	Intervalo de $n_p$ para calcular promedios (adimensional)
$L_T$	Longitud promedio de la tubería (m)
$m_p$	Masa de la partícula (kg)
$n$	Exponente que depende de la viscosidad del fluido (adimensional)
$n_f$	Eficiencia fotosintética (adimensional)
$n_p$	Número de pulsos (adimensional)
$P$	Razón de la fotosíntesis
$p_a$	Presión de aire entrando a la bomba (Pa)
$p_o$	Presión de operación (Pa)
$p_r$	Presión de aire entrando al RH (Pa)
$P_{RP}$	Presión de aire de la válvula reguladora principal (Pa)

$P_{RR}$	Presión de aire de la válvula reguladora del RH (Pa)
$P_{AB}$	Presión de aire de entrada a la bomba (Pa)
$P_{AR}$	Presión de aire de entrada al RH (Pa)
$P_{SB}$	Presión de líquido a la salida de la Bomba (Pa)
$P_{ER}$	Presión de líquido a la entrada al RH (Pa)
$P_{SI}$	Presión de líquido a la salida inferior del RH (Pa)
$P_{SS}$	Presión de líquido y aire a la salida superior del RH (Pa)
PAR	Photosynthetically Active Radiation
PBR	<i>Photobioreactor</i>
$PCT$	Pérdida de carga total (Pa)
$PCC$	Pérdida de carga localizada en las conexiones (Pa)
$PCL$	Pérdida de carga en la tubería (Pa)
$S$	Altura del buscador de vórtices (m)
$s_{\bar{v}_i}$	Desviación estándar ( $m^2 / s^2$ )
$R$	Rugosidad (m)
$r_a$	Número que expresa el valor de resistencia de cada accesorio (adimensional)
$r_c$	Radio de curvatura (m)
$Re$	Número de Reynolds (adimensional)
$rsv$	Relación superficie/volumen ( $m^{-1}$ )
RH	Reactor hidrociclón
$t(l)$	Escala temporal característica del <i>eddy</i> (s)
$t_c$	Tiempo de ciclo (s)
$t_i$	Tiempo donde se hace el muestreo (s)
$t_m$	Tiempo de mezclado (s)
$t_p$	Tiempo de conteo de pulsos (s)
$Tu$	Intensidad de la turbulencia (adimensional)
$u(l)$	Velocidad característica de <i>eddy</i> de longitud $l$ (m / s).
$\dot{U}_a$	Caudal de aire entrando a la bomba (l / min)

$U_r$	Velocidad radial de la partícula (m / s)
$U_p$	Velocidad promedio del fluido en la tubería (m / s)
$U_t$	Velocidad tangencial de la partícula (m / s)
$V_f$	Volumen del fluido desalojado (m <sup>3</sup> )
$V_m$	Volumen filtrado (l)
$V_o$	Volumen de operación (l)
$V_p$	Volumen desplazado por el sensor en el tiempo $t_p$ (l)
$V_{pulso}$	Volumen promedio desplazado por un desplazamiento del pistón de la bomba (l)
$V_r$	Volumen del RH (l)
$\dot{U}_o$	Caudal de operación (l / min)
$\dot{U}_{rd}$	Flujo volumétrico dinámico (adimensional)
$\dot{U}_{re}$	Flujo volumétrico estático (vvm)
$W$	Velocidad angular (rpm)
$W_m$	Peso de la membrana (g)
$W_{mb}$	Peso seco de la biomasa con la membrana (g)
$W_{sb}$	Peso seco de la biomasa (g)
$\alpha$	Ángulo de inclinación del ala delta (°)
$\Delta d$	Separación entre alas delta (m)
$\varepsilon$	Disipación de la turbulencia (m <sup>2</sup> / s <sup>3</sup> )
$\mu$	Velocidad específica de crecimiento celular (1 / d)
$\mu_d$	Viscosidad dinámica del fluido en movimiento (kg / m s)
$\rho$	Densidad del fluido (kg / m <sup>3</sup> )
$\rho_c$	Densidad celular (g / l)
$\Upsilon$	Peso específico (kgf / m <sup>3</sup> )
$\gamma$	Productividad de biomasa (g / l d)









# Introducción

Las microalgas son organismos microscópicos, los cuales mediante la fotosíntesis utilizan la luz para transformar el agua ( $H_2O$ ), el Carbono (C), el Nitrógeno (N) y el Fósforo (P) en compuestos orgánicos con gran valor energético mediante la liberación de Oxígeno ( $O_2$ ) (Janssen, 2002). El potencial de las microalgas radica en una versatilidad de aplicaciones ya que por un lado se utilizan para obtener sustancias útiles para productos farmacéuticos de alto valor comercial, fertilizantes, complementos alimenticios para humanos y animales y biocombustibles, por otro lado estos organismos son empleados en procesos como el tratamiento de agua residual y en la transformación del  $CO_2$  a  $O_2$  (Chisti, 2007). Sin embargo, un reto latente en este tema es el desarrollo de sistemas de cultivo (fotobiorreactores) que proporcionen condiciones ambientales que les permitan a las microalgas maximizar la eficiencia de la transformación de la energía luminosa a compuestos orgánicos de la forma más sencilla, práctica y económica posible, ya que esto se traduce en mayor biomasa por unidad de área y tiempo así como menor costo de operación y producción de bioproductos.

Estudios en este campo (Berdalet y Estrada, 2006; Chisti, 2007; Posten, 2009; Grobbelaar, 2013) indican que el movimiento de las microalgas y el medio de cultivo dentro del fotobiorreactor es indispensable para evitar la generación de gradientes de luz, nutrientes, desechos y células, asegurando la absorción equitativa de la iluminación, el intercambio uniforme de nutrientes y desechos entre el medio de cultivo y los organismos fotosintéticos y la prevención del asentamiento de las células y la generación de zonas muertas. Para conseguir lo anterior, es necesario que dentro del sistema de cultivo se desarrollen las condiciones del flujo de fluidos que propicien la generación de dos fenómenos: el macro-mezclado y el micro-mezclado (Berdalet y Estrada, 2006; Voleti, 2012; Grobbelaar, 2013).

Por un lado, el macro-mezclado contempla el movimiento de los organismos en escalas de centímetros o pulgadas, el cual permite el transporte entre las diferentes zonas de los fotobiorreactores, la importancia de este desplazamiento radica en la optimización de los ciclos luz-oscuridad y el aprovechamiento equitativo de la luz. Por otro lado, el micro-mezclado consiste en el movimiento en escalas del orden de centenas de micrómetros, dónde el comportamiento del flujo evita la acumulación de nutrientes y desechos e incrementa la razón de transferencia de masa entre las células y el medio circundante (Grobbelaar, 2013).

En este trabajo se propone el uso de un hidrociclón como sistema de cultivo de microalgas basándose en el principio de que la presencia de los flujos helicoidales desarrollados en este dispositivo y el desplazamiento de las partículas en dichos flujos propicia la generación del macro-mezclado y el micro-mezclado.

Dentro del hidrociclón el macro-mezclado se consigue por dos medios, el primero corresponde al movimiento circular de las células y el medio de cultivo a lo largo de la periferia del dispositivo entrando en zonas de luz y oscuridad provocadas por el tipo y la naturaleza de la fuente de iluminación. El segundo medio consiste en el desplazamiento de los organismos entre los flujos helicoidales modificando su posición en las diferentes zonas de iluminación dentro del sistema de cultivo. Estas dos características permiten el aprovechamiento uniforme de la luz.

Por su parte, el micro-mezclado dentro del hidrociclón se logra debido a que el régimen del flujo desarrollando en este dispositivo es turbulento, lo cual se traduce en el mezclado tanto de las células como de los nutrientes y los desechos dentro del sistema. Adicionalmente el movimiento helicoidal de los fluidos dentro del hidrociclón y el diseño de la instalación evitan el asentamiento de las células y el desarrollo de zonas muertas.

## Justificación

El desarrollo de métodos para la transformación de la energía luminosa en productos con gran valor agregado para la industria farmacéutica y alimentaria requiere del conocimiento de los elementos mecánicos que propician el crecimiento de las microalgas.

## Hipótesis

El flujo de fluidos desarrollado dentro de un hidrociclón propicia el crecimiento de la microalga *Scenedesmus incrassatulus*.

## Objetivo

Estudiar experimentalmente los efectos del movimiento del fluido en un hidrociclón en el crecimiento de la especie de microalga *Scenedesmus incrassatulus*.

### Objetivos particulares

- Diseñar y construir un reactor hidrociclón para emplearlo como fotobiorreactor.
- Visualizar el trayecto del flujo empleando tinta y una cámara de alta velocidad en el reactor hidrociclón.
- Evaluar el crecimiento celular de *Scenedesmus incrassatulus* en el reactor hidrociclón.

# Capítulo 1. El cultivo de microalgas y el hidrociclón

## 1.1 Características de la turbulencia

En el estudio de un fenómeno donde se desarrolla el flujo de un fluido la palabra turbulencia está ligada a irregular, aleatorio, transitorio e incluso caos, que hace referencia al comportamiento de dicho fenómeno. Debido a que las investigaciones en materia de las propiedades del flujo en un hidrociclón así como los estudios de los efectos del movimiento en los cultivos de microalgas hacen referencia a la turbulencia, es conveniente puntualizar este concepto antes de ahondar en el trabajo. Desafortunadamente no hay una definición que describa en su totalidad este fenómeno, es por ello que para detallar este tema es más conveniente explicar cada una de las características de la turbulencia, las cuales se exponen a continuación:

- Propiedad del flujo: La turbulencia depende de las propiedades del flujo no de las del fluido (Tennekes y Lumley, 1972).
- Aleatoriedad: El flujo turbulento es una función aleatoria del tiempo y el espacio, es decir que no se puede predecir ni reproducir a detalle (Tennekes y Lumley, 1972; Mathieu y Scott, 2000).
- Número de Reynolds: La magnitud del número de Reynolds ( $Re$ ) es proporcional a la sensibilidad o probabilidad de desarrollo de perturbaciones en el flujo. Para flujos internos con  $Re > 5000$  se considera que el régimen es turbulento (Tennekes y Lumley, 1972; Mathieu y Scott, 2000).
- Diversidad en escalas dimensionales: Una corriente de *eddy* es concebida como un movimiento aleatorio propio de la turbulencia, el cual al ser de un tamaño  $l$  tiene una velocidad característica  $u(l)$  y una escala temporal  $t(l) = l/u(l)$ . Se considera que la turbulencia está compuesta por *eddies* de diferentes tamaños ya que la región

ocupada por un *eddy* puede contener también otros movimientos aleatorios con dimensiones menores (Pope, 2000).

- Vorticidad: Representa la rotación de una partícula de fluido sobre sí misma, y se presenta tanto en flujos turbulentos como laminares. En el régimen turbulento prevalecen los efectos inerciales que están en función de la velocidad y sus cambios en el flujo, lo cual resulta en variaciones aleatorias de la vorticidad (Mathieu y Scott, 2000).
- Disipación: La energía cinética del fluido se disipa debido los efectos de la viscosidad y los esfuerzos cortantes resultando en el incremento de la energía interna del fluido. Para ajustar la disipación viscosa y mantener el régimen turbulento se requiere un suministro continuo de energía ya que si no hay energía de alimentación la turbulencia disminuye rápidamente (Tennekes y Lumley, 1972; Mathieu y Scott, 2000; Pope, 2000).
- Tridimensional: Las fluctuaciones aleatorias de la vorticidad se mantienen únicamente en las tres dimensiones espaciales (Mathieu y Scott, 2000).
- Fenómeno continuo: Los flujos turbulentos pueden ser considerados como fenómenos continuos gobernados por las ecuaciones de la mecánica de fluidos (Tennekes y Lumley, 1972; Mathieu y Scott, 2000; Pope, 2000).
- Difusión: Los movimientos aleatorios desarrollados en un flujo turbulento propagan las fluctuaciones de la velocidad favoreciendo el mezclado y contribuyendo al incremento de las razones de transferencia de momento, calor y masa (Tennekes y Lumley, 1972).
- Autosustentable: Un flujo es turbulento si los movimientos aleatorios son autosustentables lo cual indica que una vez desarrollado este fenómeno las estructuras deben mantenerse y distribuirse a lo largo del flujo.

## 1.2 Microalgas

### 1.2.1 Definición y clasificación

Las microalgas son organismos microscópicos, los cuales mediante la fotosíntesis utilizan la energía de la luz para transformar el agua (H<sub>2</sub>O), el Carbono (C), el Nitrógeno (N) y el Fósforo (P) en componentes orgánicos con gran valor energético y Oxígeno (O<sub>2</sub>) (Janssen, 2002). Existe una gran variedad de especies de microalgas que se diferencian por diversos aspectos de su anatomía (con y sin flagelos, procariotas y eucariotas), fisiología, organización celular (unicelular, colonia y filamento) y movimiento (dependiente e independiente del flujo) (Tomaselli, 2004). La importancia de la selección de una especie para su uso en la industria radica en el tipo de compuestos que pueden obtenerse de su biomasa, los cuales dependen de las condiciones de cultivo tales como la iluminación, la temperatura, la densidad y disponibilidad de nutrientes, el intercambio de gases así como el movimiento de las células y el medio de cultivo (Masojídek, *et al.*, 2004).

### 1.2.2 Parámetros del desarrollo celular

La principal fuente de energía de las microalgas en un cultivo autotrófico es la luz y su asimilación está en función de la longitud de onda. Los fotones con longitud de onda de 680 nm contienen el nivel de energía exacto requerido por la clorofila a para iniciar la fotosíntesis. La radiación con longitud de onda mayor a 750 nm no tiene suficiente energía para llevar a cabo el proceso fotosintético y sólo contribuye al aumento de la temperatura del organismo. Por otro lado, la radiación con longitud de onda de 380 nm o menor genera efectos de ionización, es por ello que el intervalo de 400 nm – 750 nm conocido como PAR (por su nombre en inglés *Photosynthetically Active Radiation*) proporciona la energía adecuada para desarrollar las reacciones bioquímicas en la célula (Carvalho, *et al.*, 2011).

A pesar de que el intervalo de 600 nm – 700 nm es el más eficiente para el desarrollo de la fotosíntesis, el aprovechamiento de la radiación en todo el PAR se debe a que la energía se emplea para otros procesos metabólicos y varía dependiendo de los pigmentos (clorofila, carotenoides y ficobilinas) que contiene cada especie (Janssen, 2002; Masojídek, *et al.*, 2004; Carvalho, *et al.*, 2011).

La intensidad de la luz es una medida de la cantidad de fotones disponibles para generar la fotosíntesis, en la figura 1.1 se muestran los principales efectos de la intensidad luminosa en el crecimiento celular, la curva se conoce como respuesta fotosíntesis-iluminación (F-I). Las cuatro áreas en la curva F-I representan las etapas de crecimiento nulo (1), exponencial (2) y estacionario (3) así como la muerte celular (4). Cada tipo de microalga está caracterizada por una curva específica que relaciona la razón de crecimiento con el incremento en la intensidad de la iluminación. (Carvalho, *et al.*, 2011).

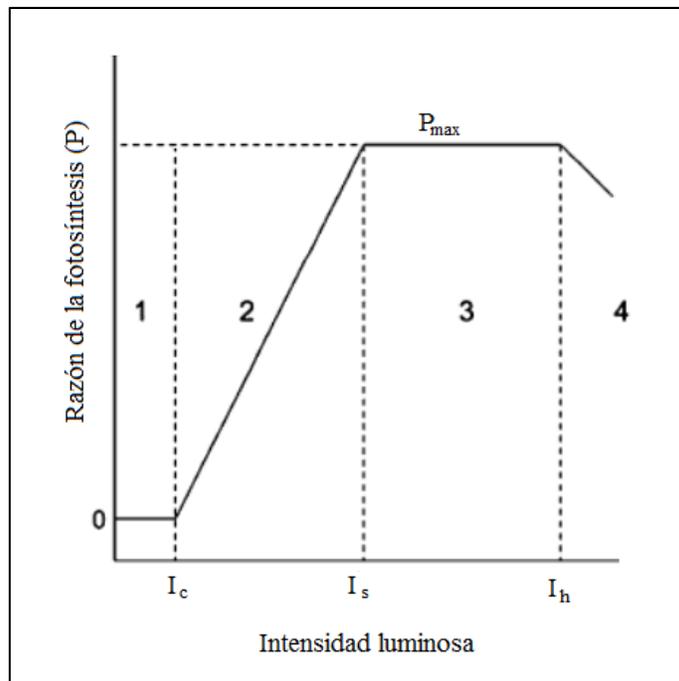


Figura 1.1. Curva de respuesta fotosíntesis-iluminación (Carvalho, *et al.*, 2011).

Para iniciar la fotosíntesis la célula debe absorber una cantidad mínima de radiación conocida como intensidad de compensación ( $I_c$ ). Una vez iniciado este proceso y dentro de un intervalo ( $I_c - I_s$ ) la razón de la fotosíntesis ( $P$ ) aumenta conforme lo hace la irradiación, esta región (2) en la curva F-I también es conocida como limitación de luz porque toda la energía de los fotones es aprovechada en el proceso fotosintético. El límite superior de radiación para este comportamiento es llamado intensidad de saturación ( $I_s$ ), a partir de este punto el incremento en la irradiación deja de contribuir al desarrollo de la fotosíntesis, por lo que la energía en exceso no es utilizada en este proceso y se disipa como calor y fluorescencia, esta región (3) es conocida como saturación de luz. Finalmente la intensidad de inhibición ( $I_h$ ) representa el inicio de la última etapa (4) también llamada foto-inhibición donde la irradiación excesiva provoca la disminución en el crecimiento celular y el daño al sistema fotosintético de las microalgas ocasionando la muerte de los organismos (Janssen, 2002; Acién, *et al.*, 2010; Carvalho, *et al.*, 2011; Grobbelaar, 2013).

La temperatura es uno de los factores ambientales más importantes en la composición bioquímica de los microorganismos ya que afecta la razón de la fotosíntesis y la cantidad de nutrientes (C, N, P) y agua ( $H_2O$ ) necesarios en el cultivo, así como la masa celular y los productos obtenidos de ella, por lo que la curva F-I está en función de esta propiedad (Hu, 2004; Carvalho, *et al.*, 2011). En general, la mayoría de las especies de microalgas cultivadas toleran temperaturas de 16 a 27 °C. Temperaturas menores a 16 °C reducen el crecimiento, mientras que aquellas mayores a 35 °C son letales para diversas especies (Briassoulis, *et al.*, 2010). Un valor óptimo de temperatura, que depende de la especie utilizada, proporciona la máxima razón de crecimiento con el mínimo consumo de nutrientes. Por otro lado, para valores diferentes al óptimo la misma razón de crecimiento requiere mayor cantidad de nutrientes (Hu, 2004). El valor óptimo de esta propiedad está

directamente relacionado con la intensidad luminosa, conforme esta última aumenta, lo hace a su vez la temperatura óptima (Richmond, 2004).

Ahora bien, el carbono es un elemento indispensable en el desarrollo de la fotosíntesis e incluso constituye en promedio el 50% del peso de la biomasa seca de las microalgas. La mayor parte de este elemento es provisto en la forma de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) con el cual el cultivo debe ser alimentado continuamente durante las horas diurnas. En promedio, para cultivar 1 tonelada de biomasa se necesitan 1.8 toneladas de  $\text{CO}_2$  (Chisti, 2007). El control de la densidad de C en la mezcla puede realizarse mediante la medición del pH, cuyos valores deben oscilar entre 7 - 9, aunque varía dependiendo de la especie utilizada (Briassoulis, *et al.*, 2010). Existen diferentes fuentes disponibles para proveer el C necesario, tales como el aire, gases de combustión de una planta o compuestos orgánicos como azúcares, ácidos y aceites (Grobbelaar, 2004; Chisti, 2007).

Luego entonces, el contenido de N varía entre el 1 y el 10% de biomasa lo cual depende de la especie cultivada y la fuente de N utilizada. Este elemento generalmente se suministra en forma de Nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) y Amonio ( $\text{NH}_4^+$ ). Así mismo, el fósforo es primordial para la generación de diversos procesos metabólicos celulares, el contenido de este elemento ronda en el 1% de biomasa, usualmente es alimentado como Ortofosfato ( $\text{PO}_4^{2-}$ ) (Grobbelaar, 2004).

Hay otros elementos importantes que deben suministrarse en menores porciones al cultivo de microalgas, tales como Hierro (Fe), Azufre (S), Potasio (K), Sodio (Na), Magnesio (Mg) y Calcio (Ca). El porcentaje presente de estos elementos en el medio de cultivo depende de la especie y de los compuestos de la aplicación requerida (Grobbelaar, 2004).

### 1.2.3 Parámetros de cultivo

La fracción de energía luminosa absorbida en un cultivo depende de la intensidad de la irradiación ( $I$ ), las propiedades ópticas de los organismos, la densidad celular ( $\rho_c$ ), la longitud de la trayectoria de la luz ( $l_i$ ), así como el movimiento del fluido (Richmond, 2004).

La luz incidente en un cultivo se atenúa conforme penetra debido a que es absorbida y reflejada por las células. Aquellos organismos que se encuentran en la superficie asimilan más energía que los presentes en el interior, por lo que entre mayor sea la densidad celular, menor será la longitud de la trayectoria de la luz. Por lo tanto, el espacio del cultivo se puede dividir en dos regiones, la primera llamada iluminada o fótica donde la luz incidente es suficiente para que se realice la fotosíntesis, mientras que en la segunda conocida como región oscura la energía es poca y no se genera el proceso fotosintético. La profundidad de la región fótica es proporcional a  $l_i$  y depende tanto de  $I$  como de  $\rho_c$  (Janssen, 2002; Ación, *et al.*, 2010; Grobbelaar, 2013).

La velocidad específica de crecimiento celular ( $\mu$ ) es otro parámetro importante en el cultivo de microalgas, su valor máximo se obtiene cuando las células se encuentran expuestas uniformemente a la iluminación, esto se consigue con cultivos de baja  $\rho_c$  de forma que todas las células obtengan la máxima cantidad de energía permisible sin que se genere la foto-inhibición (Richmond, 2004). Ahora bien, si se mantiene constante  $I$  y se incrementa  $\rho_c$ , el resultado es la disminución de  $\mu$ , por lo que los valores máximos de este parámetro se dan en cultivos de baja  $\rho_c$ . Pero si por el contrario se aumenta  $I$ , esto permite que se acreciente el valor de  $\rho_c$  al cual se consigue la máxima  $\mu$ . Por lo que es evidente que  $\mu$  es función de  $I$  y de  $\rho_c$ . (Richmond, 2004).

Para una  $I$  dada existe un valor óptimo de  $\rho_c$ , el cual permite que cada organismo esté expuesto a la cantidad óptima de luz y por lo tanto se tenga la mayor eficiencia

fotosintética ( $n_f$ ), que se traduce en la máxima productividad de biomasa ( $\gamma$ ) o algún compuesto de interés específico (Richmond, 2004).

#### 1.2.4 Efectos de la turbulencia en el cultivo

Al ser la luz la principal fuente de energía en un cultivo autotrófico se han realizado estudios en los cuales se exponen a las células a periodos controlados de luz y oscuridad con el objetivo de incrementar la eficiencia en la captación y asimilación de la energía luminosa, este fenómeno se conoce como efecto de luz parpadeante o FLE (por su nombre en inglés *Flashing Light Effect*). La importancia de la turbulencia radica en el control de las frecuencias de los ciclos luz-oscuridad ( $f_{L-D}$ ), ya que el movimiento aleatorio permite desplazar las células de la región oscura a la región fótica y viceversa. Este movimiento permite que la absorción de la luz sea más uniforme por los organismos del cultivo, ya que están sujetos a variaciones en el tipo y cantidad de la energía luminosa, similar a las condiciones desarrolladas en el ambiente natural. La repercusión de FLE se ve reflejada en el aumento o disminución de la eficiencia fotosintética y la productividad de biomasa (Janssen, 2002; Grobbelaar, 2013).

La turbulencia también ayuda a disminuir los gradientes de sustancias en la mezcla ya que por un lado al cultivar células de microalgas se agregan nutrientes (C, N, P etc.), los cuales deben ser distribuidos uniformemente para asegurar que todos los organismos se encuentren en la misma condición. Así mismo en el desarrollo celular se generan sustancias de desecho ( $O_2$ ) las cuales deben ser eliminadas para evitar el daño en el cultivo (Richmond, 2004; Grobbelaar, 2013). Por otro lado, el movimiento que genera el mezclado mantiene las células dispersas en el medio evitando que se asienten y previniendo la generación de zonas muertas que conducen a la descomposición anaeróbica y al deterioro celular (Richmond, 2004; Grobbelaar, 2013).

## 1.3 Sistemas de cultivo

### 1.3.1 Definición y clasificación

Un fotobiorreactor o PBR (por su nombre en inglés *Photobioreactor*) es un sistema empleado en la producción de organismos fotoautótrofos, por lo que el desarrollo de estos sistemas requiere de conocimientos referentes a la interacción entre los parámetros ambientales y la respuesta biológica (Reyna, 2010). En la figura 1.2 se muestran las características principales de cada elemento involucrado y el producto de la interacción entre ellos que deben ser considerados en el diseño de un reactor. (Posten, 2009).

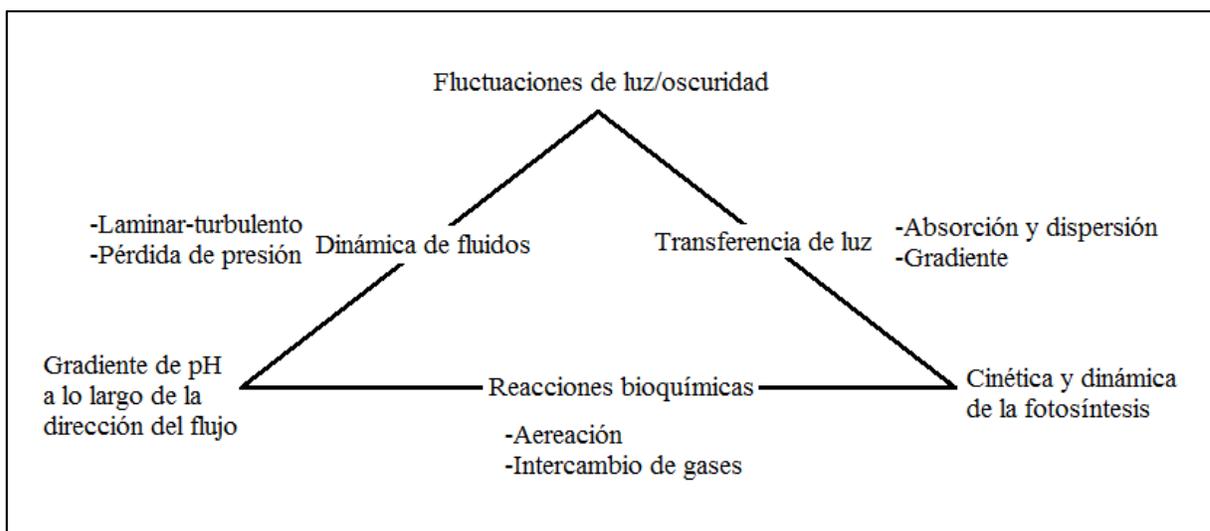


Figura 1.2. Interacciones entre las reacciones bioquímicas, la transferencia de luz y la dinámica de fluidos en los PBR (Posten, 2009).

La composición de la mezcla en el sistema es trifásica ya que está constituida por las células (sólida), el medio de cultivo (líquida) y el aire (gaseosa) (Posten, 2009). Esto aunado a las diferentes demandas fisiológicas de las células tomando como referencia la formación de sustancias específicas, así como la aplicación y el valor de los productos generados han propiciado el desarrollo de diversos diseños de PBR. Básicamente los sistemas de cultivo se clasifican en dos grupos: abiertos y cerrados.

Los sistemas abiertos representan la propuesta industrial más utilizada para la producción de biomasa debido a que en la mayoría de los casos su diseño, construcción y operación son más sencillos y económicos que los sistemas cerrados. Estos sistemas tienen la característica de que los microorganismos tienen contacto directo con el aire atmosférico. Existen varios tipos que se diferencian en la forma de construcción y operación, sin embargo, los diseños con mayor aplicación son las lagunas abiertas y los estanques con canales (*raceway pond*) los cuales se muestran en la figura 1.3.



Figura 1.3. Ejemplos de sistemas de cultivo abiertos: laguna (izquierda) y estanque con canales (derecha) (Reyna, 2010).

Los sistemas cerrados tienen la principal característica de que la luz incide a través de una superficie transparente que se encuentra entre el cultivo y el aire, la cual limita considerablemente el intercambio directo de masa (gases, metabolitos y contaminantes) entre los dos fluidos, por lo que es posible regular y controlar los parámetros del cultivo (Tredici, 2004; Reyna, 2010). Sin embargo, como consecuencia de la fotosíntesis, el movimiento de los organismos y la radiación solar, los fotobiorreactores cerrados requieren etapas de eliminación de  $O_2$ , alimentación de  $CO_2$  y control de la temperatura lo cual los hace más complejos y costosos de fabricar y operar que los sistemas abiertos (Chisti, 2007).

Existe una mayor diversidad de sistemas cerrados ya que sus características varían en el diseño, la operación y los materiales de construcción. Considerando una clasificación

a partir del diseño, hay fotobiorreactores tubulares y de paneles con arreglos horizontales, verticales, inclinados, helicoidales y cónicos. Así mismo, la clasificación operacional incluye reactores con mecanismos de mezclado pasivo y activo. Por otro lado, la fabricación involucra materiales rígidos y flexibles como el vidrio y el plástico (Tredici, 2004). En general existen tres grupos de sistemas cerrados: tubulares, panel y columna que se muestran en la figura 1.4. En la tabla 1.1 se muestra la comparación de los principales parámetros de construcción, operación y productividad de los dos tipos de sistemas utilizados como reactores en el cultivo de microalgas.



Figura 1.4. Fotobiorreactores tubular (izquierda), panel (medio) y de columna (derecha) (Reyna, 2010).

**Tabla 1.1. Principales características de los fotobiorreactores. (1) Área superficial total requerida; (2) Líquido evaporado durante el proceso; (3) Desorción de CO<sub>2</sub> del líquido.**

<b>Característica</b>	<b>Sistemas abiertos</b>	<b>Sistemas cerrados</b>
Riesgo de contaminación	Extremadamente alto	Bajo
Superficie requerida (1)	Grande	Pequeña
Pérdida por evaporación (2)	Elevada	Casi ninguna
Pérdida de CO <sub>2</sub> (3)	Elevada	Casi ninguna
Calidad de biomasa	Limitada	Control preciso
Variabilidad en especies cultivables	Limitación a pocas especies	Casi cualquier especie
Control de la producción	Cambios limitados en las condiciones de operación	Gran capacidad de cambios en las condiciones de operación
Reproducibilidad de parámetros de producción	Dependiente de condiciones exteriores	Posible con determinada tolerancia
Control de procesos	No susceptible	Susceptible
Uniformidad de cultivo	Imposible	Posible
Dependencia de condiciones climáticas	Absoluta, producción imposible en temporada de lluvias	Insignificante, producción posible aún con mal clima
Periodo necesario para alcanzar la máxima producción desde el arranque o desde una interrupción	Largo (6-8 semanas)	Relativamente corto (2-4 semanas)
Rango de concentración de biomasa promedio	0.1 – 0.2 g / l	2 – 8 g / l
Mantenimiento	Fácil	Complicado
Costo de construcción	Bajo	Elevado
Problema de sobrecalentamiento	Bajo	Elevado
Concentración de O <sub>2</sub> disuelto	Baja	Elevada

Fuentes: Grobbelaar (2009) y Reyna (2010).

### 1.3.2 Parámetros de diseño de un sistema de cultivo

El rendimiento de un fotobiorreactor depende de la eficiente captura, transporte, distribución y absorción de la energía luminosa (Wang, *et al.*, 2012). El objetivo de un diseño es generar un sistema que proporcione la mayor eficiencia en la transformación de la luz así como la más alta productividad de biomasa considerando un costo efectivo que permita la viabilidad del sistema. Una vez establecido lo anterior los principales parámetros en el diseño de un reactor son: el tipo e intensidad de la luz, la relación superficie/volumen ( $r_{sv}$ ), la orientación e inclinación de las superficies de absorción respecto a la iluminación, el mezclado de las fases, el intercambio de gases, el control de la temperatura, las características de los materiales de construcción y los métodos de limpieza y asepsia (Tredici, 2004; Wang, *et al.*, 2012).

#### a) Intensidad y tipo de iluminación

De entre todos los factores involucrados en el diseño de un fotobiorreactor la iluminación sobresale como el parámetro clave principalmente por las dificultades asociadas a su control (Carvalho, *et al.*, 2011). Para aprovechar al máximo el potencial comercial de las microalgas se requiere una fuente de iluminación durable, económica, confiable y altamente eficiente, la cual debe suministrar energía en el espectro de onda más delgado y cuya longitud de onda se alinee con la correspondiente a la fotosíntesis en las microalgas (680 nm) de manera que se aproveche al máximo la energía absorbida y se reduzca la pérdida por generación de calor y fluorescencia así como el daño celular (Carvalho, *et al.*, 2011; Chen, *et al.*, 2011). La luz del sol es la principal fuente de iluminación para instalaciones a nivel industrial ya que es gratis. Sin embargo, la irradiación solar presenta variaciones a lo largo del día y el año lo que ocasiona un control difícil y deficiente que repercute en la productividad de biomasa.

No obstante, la luz artificial es utilizada en fotobiorreactores dentro de recintos y a nivel laboratorio, la cual se caracteriza por ser estable y ajustable a las necesidades del cultivo. La mayoría de las instalaciones son iluminadas utilizando lámparas fluorescentes, aunque recientemente se han desarrollado investigaciones sobre los efectos de sistemas novedosos (LED y fibra óptica), éstos aún no representan una solución al problema del suministro de irradiación ya que la principal limitante es el mayor consumo de energía y costo de instalación y operación (Chen, *et al.*, 2011). Para un mayor estudio de la luz y sus efectos en la fotosíntesis así como de los diferentes sistemas de iluminación se pueden revisar los trabajos de Gordon y Polle (2007), Carvalho, *et al.* (2011) y Chen, *et al.* (2011).

#### b) Relación superficie/volumen

La cantidad de energía por unidad de volumen que entra en el cultivo depende de la relación entre el área iluminada y el volumen del reactor. En general, entre mayor sea la relación superficie/volumen ( $rsv$ ) mayor podrá ser el valor de la  $\rho_c$  y la productividad del cultivo. De hecho, el aumento en la  $\rho_c$  reduce el costo de preparación y el manejo del cultivo, así como la separación de la biomasa en la etapa de cosecha. Sin embargo, el escalamiento a nivel industrial genera un conflicto ya que en la mayoría de los casos se plantea el aumento en el volumen de cada reactor, lo cual reduce la  $rsv$  (Tredici, 2004; Posten, 2009).

#### c) Mezclado

El tipo de dispositivo usado para generar el movimiento de las fases dentro del PBR es importante ya que como se indicó anteriormente un buen mezclado favorece la integración equitativa de los nutrientes, la evacuación adecuada de las sustancias de desecho y la absorción eficiente de la luz, mientras que previene el asentamiento de las células en el fondo del dispositivo (Richmond, 2004; Grobbelaar, 2013).

La elección del mecanismo y de la intensidad del mezclado están en función de las características del organismo a utilizar, por ejemplo, cuando se forman y rompen las burbujas de aire en un sistema *airlift* se somete a las células a estrés, sin embargo este estrés es considerablemente menor que aquel generado en una bomba centrífuga, es por ello que los reactores de columna vertical y de panel se recomiendan cuando se usan organismos frágiles como cianobacterias filamentosas (Tredici, 2004).

d) Intercambio de gases

Como se mencionó anteriormente el C es un elemento indispensable en el desarrollo de un cultivo de microalgas ya que en la fotosíntesis estos organismos utilizan la luz para fijar el CO<sub>2</sub> y liberar O<sub>2</sub>. Para el pleno desarrollo de un cultivo autotrófico las condiciones en el reactor deben asegurar un balance entre las concentraciones de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> en la mezcla. El nivel de CO<sub>2</sub> debe estar en el rango óptimo (determinado con la medición del pH y dependiente de la especie utilizada) para evitar que se limite el crecimiento celular debido a la carencia o exceso de este compuesto. Por su parte, el O<sub>2</sub> generado debe liberarse al máximo ya que la acumulación de este elemento motiva el desarrollo de un fenómeno llamado foto-respiración en el cual se consume O<sub>2</sub> y se produce CO<sub>2</sub> sin ninguna ganancia metabólica (Masojídek, *et al.*, 2004; Wang, *et al.*, 2012).

e) Control de temperatura

Las características operativas (movimiento del fluido, absorción de energía en forma de radiación térmica y disipación de la luz como calor) y ambientales (variación diaria y estacional de la iluminación y la temperatura) propician la oscilación de la magnitud de la temperatura del cultivo y la necesidad de implementar métodos de control para mantenerla dentro del rango óptimo (Wang, *et al.*, 2012).

Los sistemas cerrados en condiciones de iluminación solar desarrollan temperaturas altas y perjudiciales al medio día, de hecho el valor de la temperatura en algunos fotobiorreactores puede ser entre 10 y 30 °C mayor que el valor de la temperatura ambiental por lo que se emplean técnicas como proteger y sombrear los tubos, rociar con agua diversas zonas del sistema, instalar intercambiadores de calor y sumergir los tubos en agua (Tredici, 2004; Wang, *et al.*, 2012). Sin embargo, estas medidas resultan en el aumento del costo de construcción y operación por lo que debe realizarse una evaluación para determinar la mejor alternativa de solución.

#### f) Características del material

Los materiales empleados en la construcción de un PBR deben ser resistentes a las condiciones climáticas y de operación del sistema, tener estabilidad química y no ser tóxicos para el ser humano, los organismos cultivados y el ecosistema donde se instalará el fotobiorreactor, además de ser transparentes, resistentes a opacarse y evitar la formación de películas que impidan la transferencia de la luz al cultivo (Tredici, 2004; Wang, *et al.*, 2012).

## 1.4 Hidrociclón

### 1.4.1 Definición y clasificación

Un ciclón es un dispositivo que permite la separación de las fases (sólida, líquida y gaseosa) de una mezcla de sustancias y partículas en una corriente de flujo centrífugo mediante el aprovechamiento de las fuerzas presentes en dicho movimiento. En general los ciclones han sido ampliamente utilizados en diversas áreas como la minería, las industrias petrolera, química y alimentaria, así como la ingeniería farmacéutica y ambiental debido a la simplicidad de su diseño y mantenimiento ya que no tienen partes móviles, adicional a su alta capacidad de trabajo y bajo costo de operación (Aguilar, 2008; Ghodrat, *et al.*, 2014).

La geometría de un ciclón varía dependiendo de su aplicación, sin embargo en términos generales estos dispositivos están constituidos por cuatro partes: la entrada, el cuerpo, el buscador de vórtices y la salida (figura 1.5). Los ciclones se pueden clasificar dependiendo de la configuración de la entrada de la mezcla y la descarga de los productos, la geometría de la entrada, la forma del cuerpo, las sustancias de la mezcla y la eficiencia de separación (Wang, *et al.*, 2007; Aguilar, 2008; García, 2008).

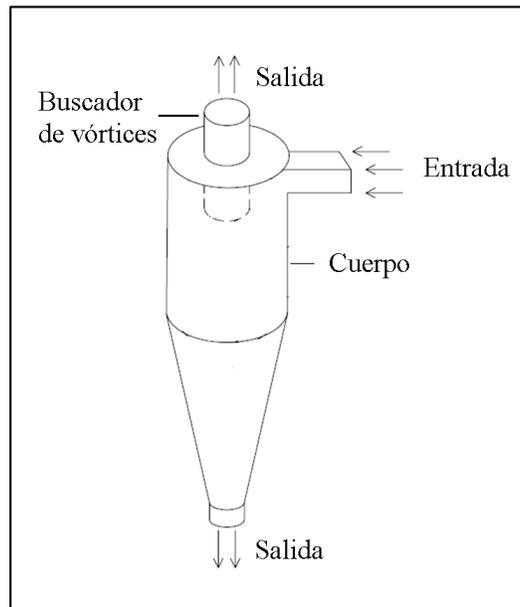


Figura 1.5. Principales partes de un ciclón (García, 2008).

La primer clasificación contempla dos tipos de alimentación: tangencial y axial, así como dos tipos de descarga: axial y periférica. El suministro tangencial de la mezcla al ciclón es el método más común, ya que éste le confiere a las sustancias el movimiento circular sin la necesidad de agregar más aditamentos, a diferencia de la entrada axial la cual requiere un arreglo de álabes que induzcan la rotación de los fluidos y partículas, aunque la eficiencia del dispositivo es mayor con suministro axial que con tangencial.

La evacuación de los productos generalmente se da de forma axial mediante dos flujos: uno ascendente y otro descendente. No obstante, se han desarrollado diseños en

los cuales la salida de las partículas es tangencial lo cual responde a características y requerimientos de aplicaciones específicas como se aprecia en la figura 1.6 (Aguilar, 2008; García, 2008).

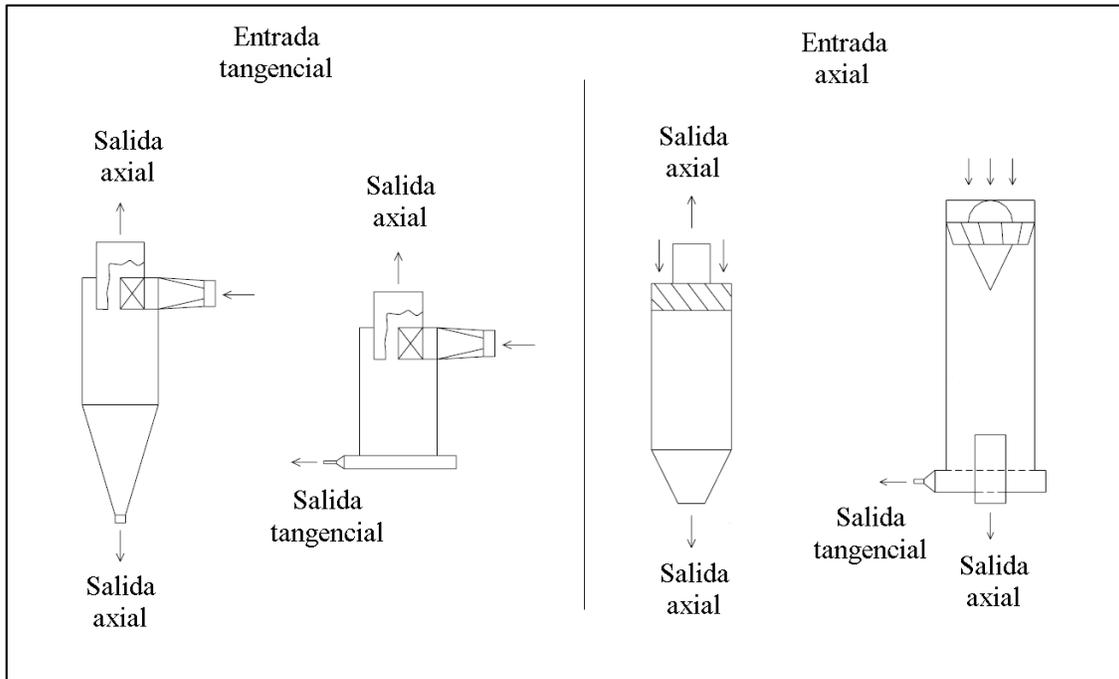


Figura 1.6. Diferentes configuraciones de entradas y salidas de ciclones (tangencial y axial) (Aguilar, 2008).

El segundo tipo de clasificación corresponde a la geometría de la entrada la cual puede ser: circular, rectangular y espiral. La más simple es la circular cuyo costo de fabricación es menor que el de las otras dos ya que no requiere adaptadores especiales para unir el cuerpo del ciclón y la tubería. A su vez, la entrada rectangular es la más utilizada en las industrias petrolera y química, esto se debe a que con la modificación de la relación alto/ancho se puede controlar la forma del flujo a la entrada del dispositivo. Finalmente, la geometría en espiral o voluta aumenta el momento angular y la velocidad considerablemente comparado con las otras dos, el beneficio es la disminución del impacto de las partículas con el buscador de vórtices. En la figura 1.7 se muestran las diferentes geometrías de las entradas a los ciclones (Aguilar, 2008; García, 2008).

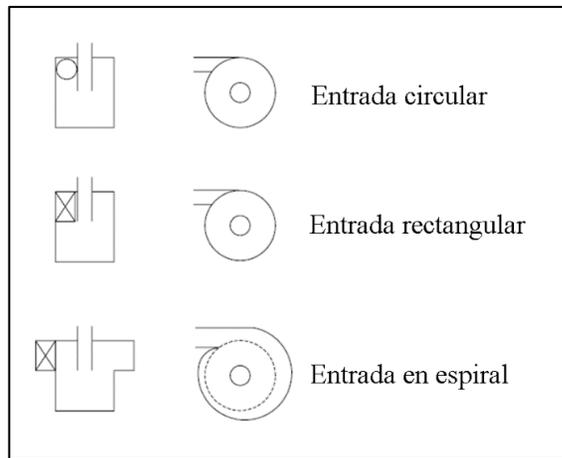


Figura 1.7. Diferentes entradas en los ciclones (Aguilar, 2008).

La tercera clasificación de los ciclones está en función de la forma del cuerpo ya que hay cilíndrico y cilíndrico-cónico. La diferencia entre estos dos tipos es que el primero está constituido únicamente por un cilindro hueco, mientras que en el segundo el cilindro tiene adjunto en la parte inferior un cono hueco. (Chiné y Concha, 2000; Aguilar, 2008). De las dos configuraciones la más utilizada es la cilíndrica-cónica, de hecho Ghodrat, *et al.* (2014) menciona que algunos autores sugieren que la parte cónica es clave en el desempeño de un ciclón por lo que la sección cilíndrica debe ser minimizada al máximo dejándola únicamente para propósitos de alimentación.

La naturaleza de la mezcla influye directamente en las características del fenómeno dentro del ciclón, es por ello que también puede utilizarse para clasificar estos dispositivos. Primeramente se tienen los ciclones de gas, en los cuales la mezcla está compuesta de partículas sólidas y aire. En segundo lugar están los hidrociclones los cuales son usados para clasificar mezclas de aire, agua y sólidos o simplemente agua y aire (Wang, *et al.*, 2007).

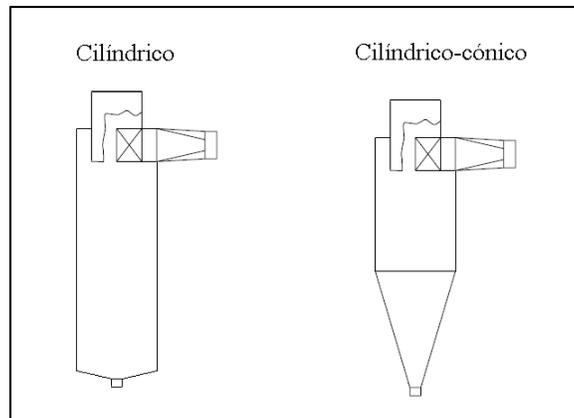


Figura 1.8. Diferentes cuerpos del ciclón.

Finalmente, la última clasificación considera la eficiencia de separación la cual está en su gran mayoría en función del tamaño del dispositivo. De hecho, hay estudios donde se comprueba que los ciclones con menor diámetro presentan mayores eficiencias de separación. Bajo este parámetro existen tres tipos de ciclones: muy eficientes (98 - 99.5%), moderadamente eficientes (70 - 80%) y baja eficiencia (50%) (Aguilar, 2008). El hidrociclón más utilizado en la industria consta de un cuerpo cilíndrico-cónico, la entrada rectangular tangencial y las salidas axiales, en la tabla 1.2 y la figura 1.9 se muestran y definen las partes de este tipo.

**Tabla 1.2. Secciones de un ciclón.**

<b>Dimensión</b>	<b>Descripción</b>
$a$	Altura de la entrada del fluido
$b$	Ancho de la entrada del fluido
$S$	Altura del buscador de vórtices
$D_e$	Diámetro del buscador de vórtices
$D_c$	Diámetro principal del ciclón
$H_c$	Altura del cilindro principal
$H_T$	Altura total del ciclón
$B$	Diámetro de la salida inferior

Fuentes: Aguilar (2008) y García (2008)

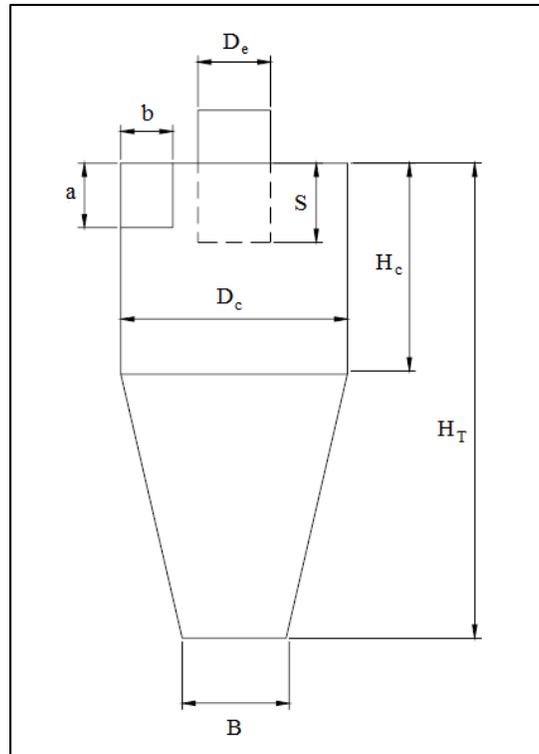


Figura 1.9. Geometría y dimensiones principales de un ciclón de cuerpo cilíndrico-cónico con entrada tangencial y salidas axiales (Aguilar, 2008).

#### 1.4.2 Principio de funcionamiento

El funcionamiento de un hidrociclón contempla la formación de diversos fenómenos como el núcleo de aire, la turbulencia y las colisiones entre partículas cuya complejidad provoca dificultades para analizar el comportamiento exacto del dispositivo, por lo que se han desarrollado diversos estudios que hacen uso de la simulación y la experimentación con el objetivo de obtener modelos matemáticos que permitan calcular el rendimiento, la eficiencia y la caída de presión dentro del hidrociclón (García, 2008).

El flujo de los fluidos en un hidrociclón es comúnmente descrito como la combinación de un flujo helicoidal descendente externo y un flujo helicoidal ascendente interno. Para que se desarrolle esta combinación de flujos con cambio de dirección se requiere que la mezcla tenga un desplazamiento radial conforme avanza axialmente (Bergström y Vomhoff, 2007). Los resultados de diversos estudios (Chiné y Concha, 2000; Wang, *et al.*, 2007) indican que

las líneas de corriente del flujo externo descendente siguen una trayectoria circular por lo que es llamado vórtice libre, mientras que las líneas de corriente del flujo interno ascendente convergen en un punto lo cual le confiere el nombre de vórtice forzado. De hecho, para describir la rotación de cada uno de los vórtices basta con utilizar la regla de la mano derecha con el pulgar apuntando en el sentido descendente para el vórtice exterior y la regla de la mano izquierda con el pulgar en dirección ascendente para el vórtice interior (García, 2008).

El principio de separación está basado en el hecho de que la corriente principal de flujo entrante al hidrociclón se divide en dos corrientes secundarias a la salida del dispositivo. Cada una de estas corrientes está asociada al movimiento de uno de los vórtices dentro del hidrociclón por lo que la salida de una partícula depende del vórtice por el cual es atrapada. Esta característica está en función de las condiciones de operación del sistema, la geometría del dispositivo y las propiedades de las sustancias de la mezcla.

Considerando una geometría particular y condiciones de operación constantes, la posición de una partícula dentro del hidrociclón y la posterior selección depende del tamaño de dicha partícula, ya que aquellas de mayor tamaño son capturadas por el vórtice exterior, lo cual les confiere un movimiento descendente helicoidal hasta llegar al ápice de la sección cónica y salir del dispositivo. Por otro lado, las partículas de menor tamaño son atrapadas por el vórtice interno y por lo tanto conducidas ascendentemente hasta el ducto central llamado buscador de vórtices, por el cual transitan y salen del hidrociclón tal y como se representan en la figura 1.10 (García, 2008).

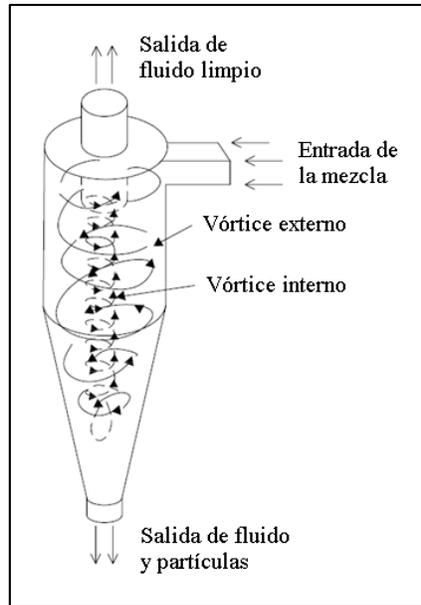


Figura 1.10. Representación del flujo en el interior de un hidrociclón (García, 2008).

### 1.4.3 Dinámica de la partícula

Las partículas dentro del hidrociclón están sujetas a la acción de varias fuerzas que inducen la clasificación y son resultado de la combinación de los dos vórtices (Murthy y Bhaskar; 2012). Las cuatro fuerzas principales que actúan sobre las partículas son: la fuerza centrífuga, la fuerza de arrastre, la fuerza de gravedad y la fuerza de flotación como se muestra en la figura (Aguilar, 2008).

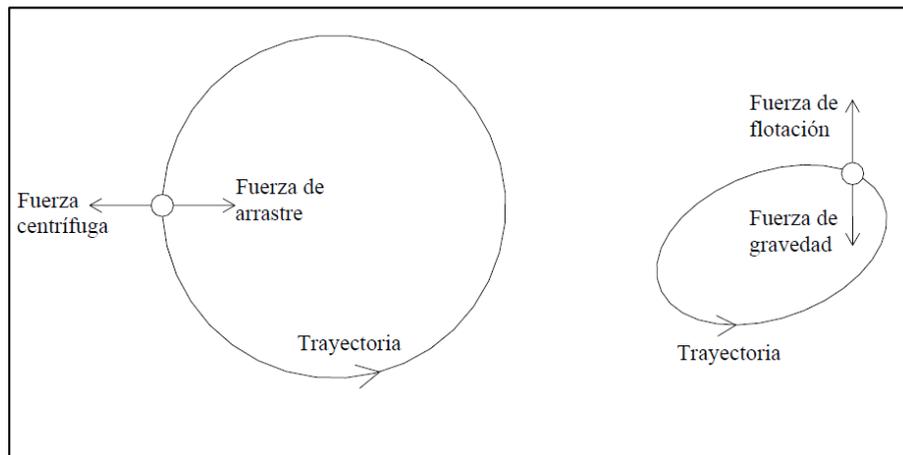


Figura 1.11. Representación de las fuerzas que actúan sobre una partícula dentro de un hidrociclón (Aguilar, 2008).

a) Fuerza centrífuga

Es una fuerza que está presente en partículas cuyo movimiento es circular. La dirección de la fuerza es radial con sentido opuesto al eje de giro y es producto de la inercia de dicha partícula, la cual tiende a seguir una trayectoria rectilínea tangente al movimiento curvilíneo (Aguilar, 2008). La ecuación 1.1 se utiliza para determinar la fuerza centrífuga.

$$F_c = \frac{m_p U_t^2}{r_c} \quad (1.1)$$

Dónde:

$F_c$  es la fuerza centrífuga (N)

$m_p$  es la masa de la partícula (kg)

$U_t$  es la velocidad tangencial de la partícula (m / s)

$r_c$  es el radio de curvatura (m)

b) Fuerza de arrastre

Es la fuerza ejercida por un fluido en movimiento sobre una partícula o cuerpo en la dirección del flujo. Cabe mencionar que esta fuerza depende de las propiedades del fluido y el régimen del flujo (Aguilar, 2008). La dirección de la fuerza de arrastre es la misma que la dirección de la fuerza centrífuga pero con sentido opuesto como se muestra en la figura 1.11. Considerando que el régimen es laminar la fuerza de arrastre puede calcularse con la ecuación 1.2.

$$F_a = 3\pi D_p \mu U_r \quad (1.2)$$

Donde:

$F_a$  es la fuerza de arrastre (N)

$D_p$  es el diámetro de la partícula (m)

$\mu_d$  es la viscosidad dinámica del fluido en movimiento (kg / m s)

$U_r$  es la velocidad radial de la partícula (m / s)

c) Fuerza de gravedad

En estudios de partículas en movimiento dentro de la tierra se considera únicamente la fuerza ejercida por ésta y matemáticamente está expresada como lo indica la ecuación 1.3.

$$F_g = m_p g \quad (1.3)$$

Donde:

$F_g$  es la fuerza de gravedad (N)

$m_p$  es la masa de la partícula (kg)

$g$  es la aceleración de la gravedad (m / s<sup>2</sup>)

d) Fuerza de flotación

La fuerza de flotación tiene como principio la diferencia de presión entre las superficies inferior y superior de un cuerpo que es sumergido en un fluido. Esta fuerza es proporcional al peso del volumen de fluido desplazado por el cuerpo y depende de las propiedades de éste último. Para calcular esta fuerza se utiliza la ecuación 1.4.

$$F_f = \rho g V_f \quad (1.4)$$

Donde:

$F_f$  Es la fuerza de flotación (N)

$\rho$  Es la densidad del fluido (kg / m<sup>3</sup>)

$g$  Es la aceleración de la gravedad (m / s<sup>2</sup>)

$V_f$  Es el volumen del fluido desalojado (m<sup>3</sup>)

En la ecuación 1.3 se observa que la fuerza de gravedad depende de la masa del cuerpo en movimiento, por lo que dos partículas de un material específico con la misma velocidad pero diferente masa (y por ende diferente tamaño) estarán sujetas a fuerzas con magnitud diferente ya que entre mayor sea la masa lo será a su vez la magnitud de la fuerza. La fuerza de gravedad y la fuerza de flotación son opuestas, es por ello que esta

última actúa con dirección vertical y sentido ascendente. Cuando la fuerza centrífuga y la fuerza de arrastre se encuentran en equilibrio, el movimiento de la partícula permanece constante, sin embargo cuando alguna de ellas predomina el cuerpo en movimiento tiende a reducir o aumentar el radio de su trayectoria circular.

Dicho desequilibrio provoca que las partículas más grandes y rápidas se muevan hacia la pared del hidrociclón y posteriormente al ápex abierto, mientras que las más pequeñas y lentas sean conducidas al eje del dispositivo y finalmente al buscador de vórtices generando de este modo un mecanismo de separación que depende del tamaño, la forma y la gravedad específica de las partículas (Wang, *et al.*, 2007; Murthy y Bhaskar, 2012).

#### 1.4.4 Comportamiento del flujo

Dentro de un hidrociclón se reconocen dos zonas principales del flujo; la primera corresponde a la región más cercana a la pared del cilindro en la cual predomina la velocidad tangencial, la velocidad radial es centrípeta y la velocidad axial es descendente. La segunda zona contempla la región cercana al eje del cilindro correspondiente al núcleo del ciclón, en la cual la velocidad axial ascendente predomina y el flujo presenta mayor turbulencia, así mismo en esta región la presión es menor que en la región cercana a la pared (figura 1.12).

El desplazamiento radial del flujo propicia el cambio de dirección descendente a ascendente. De hecho, algunos autores consideran que este flujo radial se desarrolla a lo largo de toda la longitud del ciclón, sin embargo otros aseguran basados en los resultados de sus estudios, que la mayor parte del flujo radial ocurre en los alrededores de la entrada del buscador de vórtices (Bergström y Vomhoff, 2007; García, 2008).

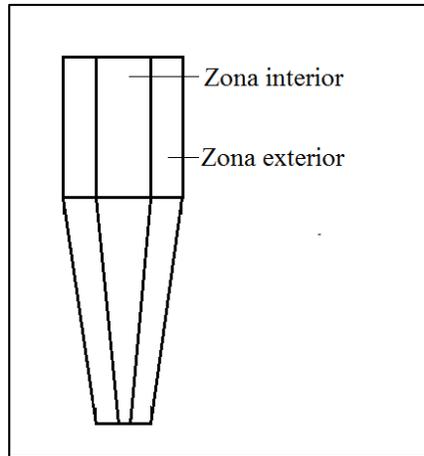


Figura 1.12. Zonas interior y exterior en un hidrociclón.

La fricción en la superficie superior del hidrociclón provoca el desarrollo de un flujo de recirculación en las inmediaciones de la entrada del dispositivo y el buscador de vórtices. Una porción del fluido de alimentación pasa directamente a lo largo del techo del hidrociclón, baja por la pared exterior del buscador de vórtices y entra en éste formando una trayectoria directa sin separación, por lo que el buscador de vórtices tiene tres funciones: estabilizar el movimiento del vórtice interno, disminuir el mezclado y turbulencia ocasionados por la combinación del vórtice externo e interno y reducir la cantidad de fluido que no es clasificado (Bergström y Vomhoff, 2007; Wang, *et al.*, 2007; Murthy y Bhaskar, 2012). Este comportamiento se puede observar en la imagen de la figura 1.13.

Otra característica notable del campo de flujo es la formación de una columna rotatoria de aire en el eje del hidrociclón conocida como núcleo de aire cuyo comportamiento se considera como un vórtice forzado. Este fenómeno está dividido en dos flujos: superior e inferior, la colisión de estas dos corrientes de aire se desarrolla en el fondo del buscador de vórtices. La velocidad del aire en este núcleo es mayor a la velocidad del líquido por lo que una partícula que entra en esta región es arrastrada rápidamente a la corriente ascendente (Bergström y Vomhoff, 2007, Wang, *et al.*, 2007).

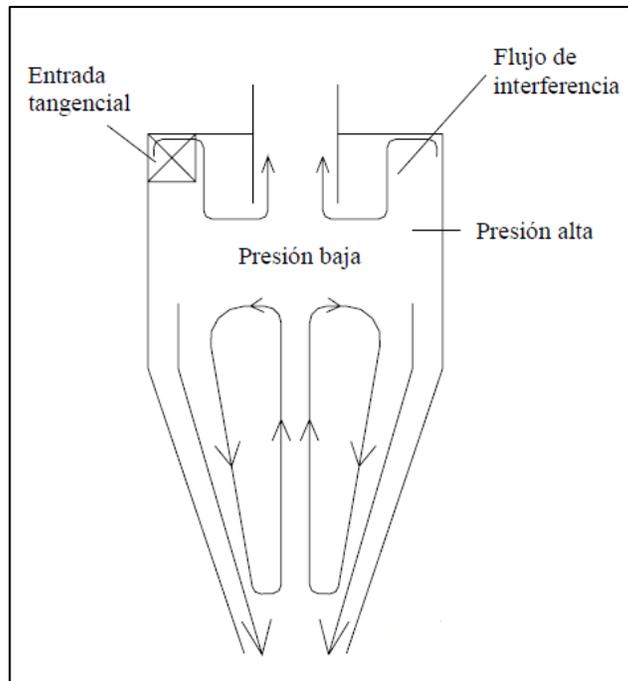


Figura 1.13. Flujo de interferencia en las inmediaciones del buscador de vórtices (Aguilar, 2008).

#### Capítulo 1. Velocidad tangencial

El componente tangencial de la velocidad del fluido dentro de un hidrociclón varía radialmente desde un valor mínimo cerca de la pared aumentando hasta un máximo en una zona cuyo radio es aproximadamente igual al del tubo de descarga. A partir de este máximo la magnitud de la velocidad tangencial disminuye entre más cerca se encuentre del eje del dispositivo hasta llegar a cero (García, 2008). En la figura 1.14 se observa este comportamiento el cual obedece a la combinación de un vórtice libre y un vórtice forzado. Para analizar este comportamiento se utiliza la ecuación 1.5.

$$U_t r_c^n = constante \quad (1.5)$$

Donde:

$U_t$  es la velocidad tangencial (m / s)

$r_c$  es el radio de curvatura (m)

$n$  es un exponente que depende de la viscosidad del fluido (adimensional)

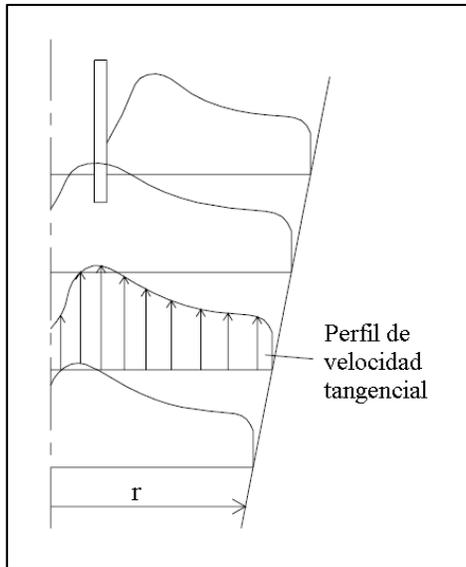


Figura 1.14. Distribución de velocidad tangencial en el hidrociclón (Aguilar, 2008).

Conforme el exponente del fluido tiende a la unidad ( $n = 1$ ) lo cual corresponde a un fluido ideal, es decir no viscoso, el comportamiento del vórtice externo en un hidrociclón se aproxima al de un vórtice libre, donde el momento angular es conservativo dando como resultado la ecuación 1.6.

$$U_t r = constante \quad (1.6)$$

Al considerar que el fluido se comporta como un sólido, es decir con viscosidad infinita ( $n = -1$ ) y velocidad angular constante, se puede generar una aproximación del movimiento del vórtice interno donde la componente tangencial de la velocidad aumenta linealmente conforme lo hace el radio de rotación dando como resultado la ecuación 1.7.

$$U_t r^{-1} = constante \quad (1.7)$$

En la figura 1.15 se observa la gráfica de las dos ecuaciones anteriores, la cual comprueba la necesidad de usar dos modelos matemáticos para describir el comportamiento de la velocidad tangencial del flujo en el hidrociclón (Aguilar, 2008; García, 2008).

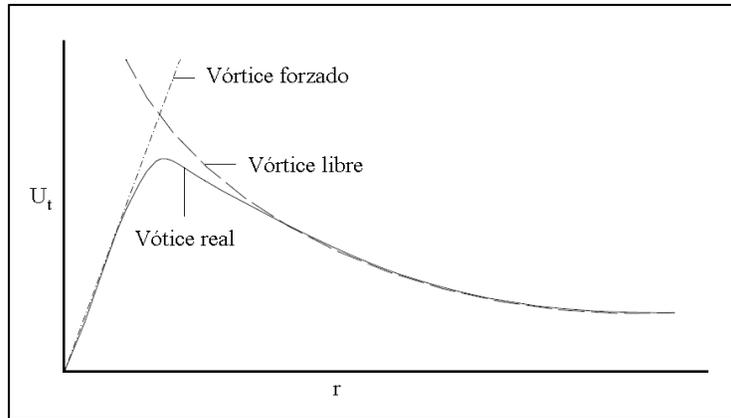


Figura 1.15. Velocidad tangencial para vórtices libre, forzado y real (Aguilar, 2008).

## Capítulo 2. Velocidad axial

El campo de velocidad axial no es simétrico, en la figura 1.16 la línea negra representa la frontera entre los dos vórtices (ascendente y descendente) y es llamada manto o cilindro de Stairmand. En este límite la velocidad axial del fluido es cero y representa la división entre las regiones de separación ya que cuando la partícula en cuestión tiene una trayectoria ascendente que se encuentra dentro del círculo de Stairmand, ésta será dirigida por el vórtice interno hacia el buscador de vórtices. Caso contrario de una partícula con movimiento descendente y posición exterior al círculo de Stairmand, la cual será dirigida al ápex del cono (Chiné y Concha, 2000; Wang, *et al.*, 2007; García, 2008).

## Capítulo 3. Velocidad radial

La distribución de la velocidad radial asemeja a un cilindro trenzado helicoidal, debido a que el eje del vórtice forzado (curvo) no coincide con el eje geométrico del hidrociclón. La combinación del flujo de alimentación con los de descarga (ascendente y descendente) forma patrones de flujos dipolos en donde el valor de la componente radial de la velocidad en un lado es positiva, mientras que en el otro es negativa. La principal consecuencia de este fenómeno es que el fluido se aprieta así mismo lo cual causa inestabilidad dentro del hidrociclón (Wang, *et al.*, 2007).

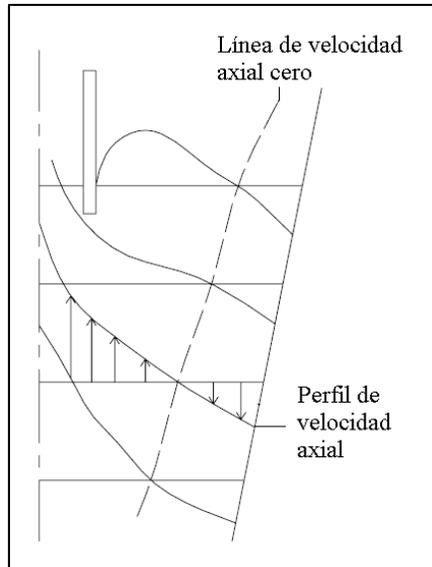


Figura 1.16. Perfil de velocidad axial en el hidrociclón (Aguilar, 2008).

El comportamiento de la velocidad radial ha sido objeto de diversos estudios a partir de los cuales se han generado distintos modelos que permiten el cálculo de esta componente de la velocidad. Una aproximación sencilla es mostrada en la figura 1.17, donde se aprecia que la región con mayor magnitud de velocidad radial es la cercana a la pared y disminuye conforme lo hace el radio del dispositivo (Aguilar, 2008).

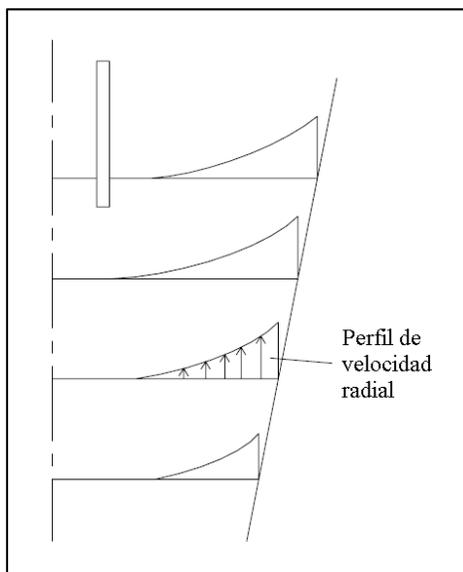


Figura 1.17. Perfiles de velocidad radial en el hidrociclón (Aguilar, 2008).

## 1.5 Antecedentes

### 1.5.1 Fotobiorreactores

En la materia del diseño de reactores para cultivo de microalgas se han desarrollado diferentes estudios con el objetivo de tener alternativas que proporcionen soluciones a los problemas de operación y rendimiento de estos sistemas. Por ejemplo, Lance (2012) y Voleti (2012) investigaron el mezclado vertical en un estaque con canales producido por un ala delta en la corriente del flujo. Su hipótesis indica que el uso de este dispositivo dentro de un canal favorece el mezclado vertical debido a que crea vórtices similares a los generados por un perfil aerodinámico.

De esta manera, Lance (2012) calculó el número de Reynolds ( $Re$ ), la desviación estándar ( $s_{\bar{v}_i}$ ), la energía cinética turbulenta promedio ( $\bar{k}$ ) y la intensidad de la turbulencia ( $Tu$ ) que le brindaron información referente a la naturaleza turbulenta del flujo. También caracterizó su sistema con los parámetros índice de mezclado vertical ( $IMV$ ) y tiempo de ciclo ( $t_c$ ), de forma que encontró la potencia óptima ( $W = 7.19$  rpm), el ángulo de ataque ( $\alpha = 40^\circ$ ) y la separación ( $\Delta d = 1.641$  m) ideales entre las alas delta contemplando la longitud de disipación de los vórtices y el costo/beneficio de implementación.

Por su parte Voleti (2012) cuantificó el fenómeno mediante el cálculo de  $IMV$ , la  $\varepsilon$  y el tamaño de los vórtices. Encontró que el ala delta incrementa el valor del  $IMV$ , lo cual indica que la generación de vórtices aumenta la recirculación vertical de la masa en el canal. Sus resultados también indicaron un aumento de hasta 7 veces el valor de la razón de disipación de la turbulencia ( $\varepsilon = 3.7 \times 10^2 \text{ m}^2 / \text{s}^3$ ) con la instalación del ala delta. Los valores de la mínima escala de Kolmogorov resultaron en promedio de  $200 \mu\text{m}$ , el cual es mayor al tamaño de las células de diferentes especies de microalga.

Xu, *et al.* (2014) propusieron un sistema llamado ARID (*Algae Raceway Integrated Design*). El diseño consta de canales paralelos con entradas y salidas intermitentes lo cual produce que la corriente principal del fluido tenga trayectorias serpenteantes. La característica fundamental en este trabajo es la generación de un flujo cruzado debido al desbordamiento del fluido sobre las separaciones de los canales. Xu, *et al.* (2014) indican que el mezclado se encuentra en función de las variables geométricas del sistema (altura de las separaciones, tamaño de la entrada y la salida de cada canal) así como de la velocidad de entrada del fluido al reactor. La investigación contempla la simulación del sistema mediante la dinámica de fluidos computacional (DFC) y posteriormente la comprobación experimental de los resultados con un modelo.

Zhang, *et al.* (2013) estudiaron las características hidrodinámicas de un reactor tubular acondicionado con mezcladores estáticos helicoidales en su interior. Este diseño tiene la peculiaridad de generar un flujo circular de manera que las células se desplazan de forma radial, perimetral y axial. Zhang, *et al.* (2013) dividieron la investigación en dos fases, la primera consistió en el estudio de los efectos de la velocidad de entrada así como la altura y el paso del mezclador en la trayectoria de las células, el consumo energético y el mezclado con la DFC. Mientras que en la segunda fase Zhang, *et al.* (2013) construyeron dos sistemas (con y sin mezclador) para cultivar la microalga *Chlorella sp.* basado en los datos del análisis numérico. Los resultados indican que el mezclador aumenta el consumo de energía del sistema, sin embargo esta característica no afecta el desempeño de esta configuración debido a que incrementa la eficiencia del mezclado, la  $f_{L-D}$ , y la  $\gamma$ . En su experimentación  $\gamma$  fue 37.26% mayor que en el reactor sin mezclador.

Huang, *et al.* (2014) investigaron los efectos de tres tipos de mezcladores pasivos dentro de un reactor de panel en el cultivo de la microalga *Chlorella pyrenoidosa*. La primera etapa del trabajo consistió en el estudio de las características hidrodinámicas y la iluminación del fotobiorreactor sometido a cuatro condiciones (sin mezclador, mezclador A, mezclador B y mezclador C) mediante el uso de la DFC, con lo que determinaron  $\bar{k}$ ,  $\varepsilon$ ,  $U_T$ ,  $t_m$ ,  $f_{L-D}$  e  $I$  para diferentes configuraciones del flujo de aire (0.2 vvm, 0.4 vvm, 0.6 vvm y 1.0 vvm). La segunda etapa del trabajo contempló el desarrollo de cultivos en las cuatro condiciones geométricas simuladas. El crecimiento de *C. pyrenoidosa* fue mayor en los reactores con mezcladores (A, B y C) que en el reactor de control (sin mezcladores), así mismo la  $\rho_c$  se incrementó con el uso de estos elementos siendo de 1.3 g / l con el tipo A, 1.2 g / l con el tipo B y 1.1 g / l con el tipo C y 0.91 g / l sin mezcladores.

Wang, *et al.* (2014) desarrollaron un reactor en panel con deflectores horizontales, la investigación se dividió en dos fases, en la primer fase evaluaron las propiedades hidrodinámicas del sistema a diferentes configuraciones geométricas y operativas utilizando la DFC, encontraron que la posición óptima para la aireación es en el centro y en el fondo del reactor, así mismo determinaron el ancho y la separación ideales de los deflectores en función del ancho del reactor con las cuales se obtiene un flujo circular con velocidad y mezclado uniformes y calcularon la  $f_{L-D}$  desarrollada dentro del panel con esa configuración. Wang, *et al.* (2014) también realizaron pruebas experimentales con la microalga *Chlorella vulgaris* 31 en un reactor de panel convencional y en el reactor con deflectores optimizados. Midieron la concentración de clorofila a (81.79  $\mu\text{g} / \text{ml}$  y 153.97  $\mu\text{g} / \text{ml}$  respectivamente) y la atenuación de la luz (78.51 y 88.49% respectivamente) en ambos sistemas.

Liao, *et al.* (2014) desarrollaron una instalación tubular y estudiaron los efectos de los ciclos luz-oscuridad en el crecimiento de la microalga *C. pyrenoidosa*. El método de

generar y controlar la  $f_{L-D}$  consistió en pintar los tubos de forma intermitente para generar zonas de iluminación y de oscuridad en el trayecto de los organismos a través del reactor. Liao, *et al.* (2014) experimentaron con la velocidad del flujo (0.5 m / s), la iluminación ( $240 \mu\text{mol} / \text{m}^2 \text{s} = 53.33 \text{ W} / \text{m}^2$ ) y la concentración de  $\text{CO}_2$  (10%) constantes. Construyeron diferentes arreglos de intermitencia (250/250, 50/50, 25/25, 8/8 y 5/5 mm) que a su vez proporcionaron diferentes  $f_{L-D}$  (2, 10, 20, 65 y 100 Hz). Obtuvieron que la máxima  $\gamma$  (0.281 g / l d) fue con 100 Hz, mientras que la mínima (0.173 g / l d) fue con 2 Hz. Finalmente determinaron la intensidad luminosa de saturación ( $I_s = 240 \mu\text{mol} / \text{m}^2 \text{s} = 53.33 \text{ W} / \text{m}^2$ ) y puntualizaron que el aprovechamiento de los ciclos luz-oscuridad están en función de la intensidad de la luz.

#### 1.5.2 El hidrociclón en sistemas de cultivo celular

El estudio de los hidrociclones en el cultivo celular se ha limitado a la aplicación de estos dispositivos como elementos de separación dentro de un sistema continuo. Elsayed (2005) estudió el uso de un hidrociclón en la separación de células de mamíferos. Primeramente evaluó las características físicas que controlan el rendimiento de la separación, las condiciones de operación y las dimensiones de un hidrociclón. También valoró los efectos de la presión en las células y la eficiencia de separación, continuando con la implementación del hidrociclón en un cultivo continuo y la evaluación de la formación de productos específicos en las células.

Pinto, *et al.* (2008) estudiaron la separación de las células animales de la línea CHO en un hidrociclón. Primero generaron modelos matemáticos para predecir la velocidad del fluido, la razón de flujo y la eficiencia del mezclado en función de la geometría del ciclón y la caída de presión dentro de éste. Posteriormente evaluaron el rendimiento de separación. En su experimentación obtuvieron eficiencias de separación mayores a 97.9%.

Elsayed y Wagner (2011) investigaron los efectos de la presión dentro de un hidrociclón en el cultivo de células SP-2/0. Los valores de la presión fueron de 0.85 kPa y 1.30 kPa, sin embargo las células no experimentaron efectos adversos debido al limitado tiempo de residencia en el dispositivo (0.2 s), la eficiencia de separación que obtuvieron fue mayor al 96%. Este dispositivo permite que la mayor parte de las células vivas permanezcan en el cultivo y que la mayoría de los organismos muertos sean retirados del reactor lo cual aumenta la calidad del producto requerido.

## Capítulo 2. Diseño y dimensionamiento de la instalación

Para el diseño de un sistema como el propuesto en este trabajo es de suma importancia el uso de herramientas digitales que permitan el desarrollo de bosquejos, de manera que antes de construir se tenga un diseño detallado, lo cual se traduce en una disminución de tiempo así como menor costo de construcción. La instalación para desarrollar la investigación fue diseñada de forma modular y constituida básicamente por 4 sistemas (hidráulico, neumático, iluminación y soporte). El presente apartado detalla los parámetros utilizados como referencia así como la descripción, el diseño y el dimensionamiento de cada uno de dichos sistemas.

### 2.1 Sistema hidráulico

#### 2.1.1 Parámetros del diseño hidráulico

El sistema hidráulico consiste en un ciclo de recirculación donde el cultivo de microalgas está expuesto a etapas de luz y de oscuridad a lo largo de su trayectoria. Esta característica genera ciclos luz-oscuridad que benefician el crecimiento y el desarrollo celular. El centro de este sistema y de la instalación lo constituye el reactor hidrociclón (RH), ya que a partir de los requerimientos de operación de este dispositivo y las condiciones del flujo e iluminación para el cultivo celular se desarrollaron todos los sistemas subsecuentes.

Las variables que rigen el diseño del sistema hidráulico contemplan tanto condiciones de operación como dimensiones geométricas. El primer campo involucra el volumen ( $V_o$ ), el caudal ( $\dot{U}_o$ ) y la presión ( $p_o$ ) de operación al igual que la velocidad promedio del fluido en la tubería ( $U_p$ ). Por su parte, las variables geométricas son el diámetro ( $D_r$ ) y el volumen ( $V_r$ ) del reactor.

Los valores de los parámetros han sido obtenidos de la literatura (Tredici, 2004; Carvalho, *et al.*, 2006; Posten, 2009; Zhang, *et al.*, 2013; Liao, *et al.*, 2014) así como de las técnicas y metodologías de pruebas y experimentación desarrolladas en el Laboratorio de Microalgas del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional Unidad Zacatenco.

### 2.1.2 Elementos del sistema hidráulico

El sistema hidráulico está constituido por el reactor hidrociclón (RH) donde se llevan a cabo la captación de luz, el tanque contenedor que constituye la fuente y el sumidero del sistema, la tubería que representa las líneas de comunicación y la bomba de alimentación que provee de energía y movimiento al cultivo. En la figura 2.1 se muestra el diagrama del sistema hidráulico.

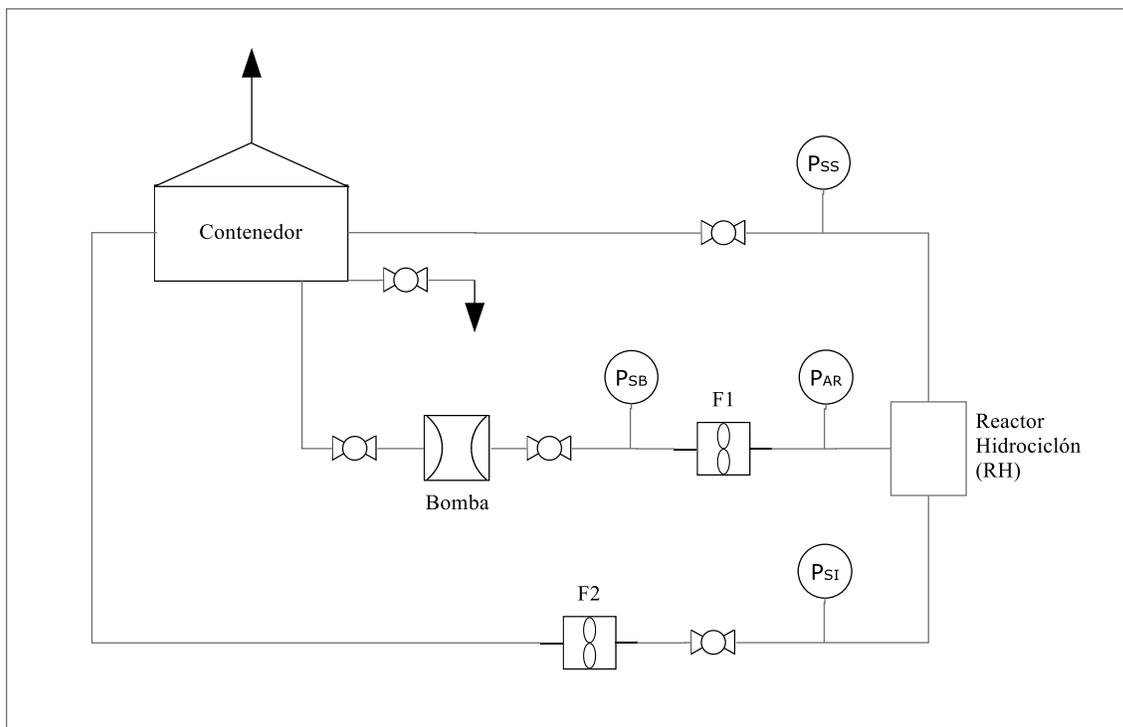


Figura 2.1. Diagrama del sistema hidráulico.

a) Bomba

En la literatura (Richmond, 2004; Tredici, 2004) se menciona que los esfuerzos de corte desarrollados en los álabes de una bomba centrífuga provocan efectos adversos en el crecimiento de las microalgas por que dañan y llegan a destruir las células. Sin embargo, una bomba de desplazamiento positivo le transfiere movimiento al fluido mediante la interacción de un actuador lineal, una cámara de vacío y la presión atmosférica, por lo que los efectos negativos son menores que las bombas centrífugas (Richmond, 2004; Tredici, 2004).

Existen diferentes tipos de bombas de desplazamiento positivo, sin embargo se seleccionó una bomba de tipo doble diafragma, la cual tiene un actuador neumático que le imprime movimiento a los dos diafragmas los cuales están dispuestos de forma opuesta en los extremos de dicho actuador. El movimiento de cada diafragma controla la entrada y salida del fluido de dos cámaras independientes de manera sincronizada. No obstante, esta característica le confiere al flujo una intermitencia que está en función de la frecuencia de movimiento del pistón neumático y los diafragmas mismos.

Evaluando la capacidad de diferentes bombas, se seleccionó el modelo P1-PPPPP-TNU-TF-KTV de la marca Wilden®, la cual tiene un cuerpo exterior de plástico, entradas y salidas de agua y aire con rosca (1/2 NPT) para conectarse a la tubería. Los diafragmas y las válvulas internas de la bomba son de teflón (PTFE), lo cual minimiza la adherencia de los microorganismos en el interior del dispositivo y representan la opción más versátil en su aplicación, ya que el teflón es inerte a las sustancias que componen el medio de cultivo y las utilizadas en la limpieza de la instalación. Para mayor detalle revisar la ficha técnica del fabricante (Wilden, 2013).

El consumo energético de la bomba está en función de la presión ( $p_a$ ) y el caudal del aire ( $\dot{U}_a$ ) entrando a la bomba, así como de la presión y el caudal de líquido requerido. El fabricante proporciona las curvas de operación para diferentes materiales de diafragma, con el gráfico de la figura 2.2 se puede aproximar la  $p_a$  y el  $\dot{U}_a$  requeridos para las condiciones de operación ( $\dot{U}_o$  y  $p_o$ ). El sistema propuesto contempla un caudal  $\dot{U}_o$  en un rango de 3 – 10 l / min y una presión  $p_o$  en el intervalo 100 – 120 kPa, por lo que la  $p_a$  debe ser entre 140 – 200 kPa, mientras que  $\dot{U}_a$  debe ser a lo sumo 56.6 l / min (2 pcm) como se muestra en la figura 2.2.

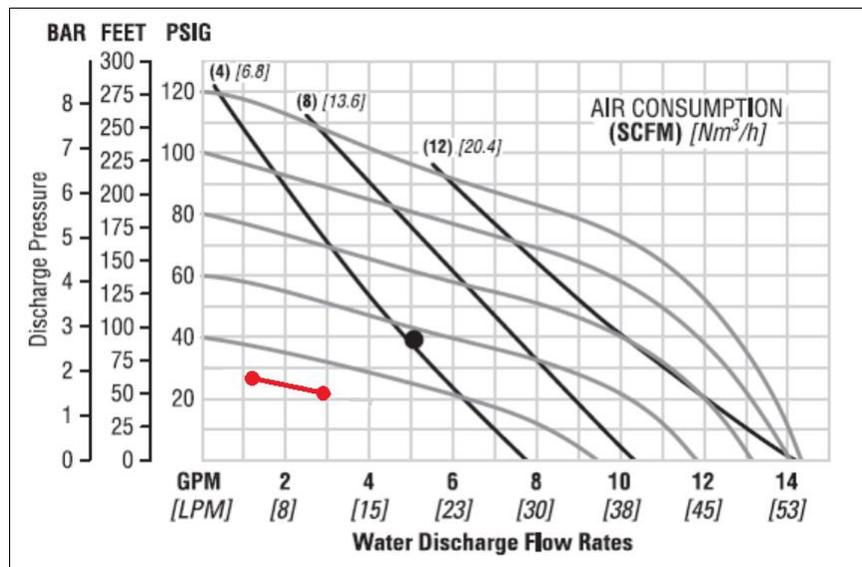


Figura 2.2. Curva característica de la bomba. En esta gráfica se muestra la aproximación (Wilden, 2016).

#### b) Contenedor

El contenedor cumple dos funciones dentro de la instalación, en primer lugar funge como sistema de almacenamiento y distribución del fluido, mientras que en segundo lugar representa la etapa de desgasificación del medio de cultivo. Es por ello que este dispositivo requiere diversos orificios que permitan la entrada y salida de sustancias para ser utilizadas tanto en la caracterización del sistema como en la operación de la instalación.

Se consideró que el contenedor satisfaga el rango del volumen de operación  $V_o$  de 3 – 10 l, para ello se propuso una geometría en prisma cuadrado para simplificar la fabricación del contenedor cuyas dimensiones internas son 0.15 x 0.15 x 0.50 m conformando un volumen de 11.25 l. Dos costados del contenedor tienen dos orificios roscados (1/2 NPT) cada uno. Dos de estos orificios sirven para conectarlo a la tubería y fungen como entrada del cultivo, mientras que los otros dos son tanto para insertar sensores como para tomar las muestras del cultivo. En la base del contenedor hay un barreno roscado (1/2 NPT) que representa la alimentación del sistema, mientras que en la tapa hay dos salidas para la evacuación del oxígeno. El material utilizado en la fabricación de este elemento del sistema fue acrílico.

#### c) Tubería

En el diseño y dimensionamiento de la tubería primeramente se consideraron que las propiedades del material proporcionaran resistencia a impactos y vibración, alta durabilidad, baja rugosidad ( $R$ ) para disminuir las pérdidas de carga así como limitar la adherencia de los microorganismos a la superficie interna, practicidad de unión y ensamble, baja conductividad térmica ( $k$ ) que limite la transferencia de calor con el ambiente y cuyo costo fuera competitivo.

Basado en estas características se seleccionó la tubería de Polipropileno Copolímero Random (PP-R), la ficha técnica del fabricante indica que este material proporciona a la tubería una resistencia a la tensión y vibración superior a las tuberías de otros materiales (pvc y cpvc). Adicionalmente tiene una alta durabilidad (hasta 100 años) así como baja rugosidad ( $R = 7 \times 10^{-6}$  m). La conductividad térmica del PP-R ( $k = 0.28$  W / m K) es 1383 veces menor que la del cobre ( $k = 401$  W / m K). Así mismo el costo de la tubería de PP-R es aproximadamente 0.2 veces el costo de la tubería de cobre.

Adicional a lo anterior el método de ensamble de la tubería de PP-R es más simple que el de la tubería de cobre ya que la primera se une mediante el proceso de termofusión que consiste en calentar los extremos de la tubería y accesorios en un dispositivo con dados durante un lapso promedio de 5 s y posteriormente ensamblar durante otros 4 s, a diferencia del cobre que requiere el calentamiento prolongado y el uso de soldadura, lo cual es más complejo y riesgoso. Para determinar el diámetro de la tubería ( $D_t$ ) se propusieron tres valores comerciales y se consideraron cuatro valores de  $U_p$  para calcular el  $\dot{U}_o$  con la ecuación 2.1, los resultados se muestran en la tabla 2.1.

$$\dot{U}_o = A \cdot U_p = \pi \left( \frac{D_t^2}{4} \right) U_p \quad (2.1)$$

Donde:

$\dot{U}_o$  es el caudal promedio a lo largo de la tubería ( $\text{m}^3 / \text{s}$ )

$A$  es el área transversal de la tubería tangencial ( $\text{m}^2$ )

$U_p$  es la velocidad promedio del fluido en la tubería ( $\text{m} / \text{s}$ )

$D_t$  es el diámetro interno de la tubería ( $\text{m}$ )

**Tabla 2.1. Valores calculados de  $\dot{U}_o$  para diferentes  $D_t$  y  $U_p$ .**

$U_p$	$\dot{U}_o$		
	$D_t = 1.44 \times 10^{-2} \text{ m}$	$D_t = 1.80 \times 10^{-2} \text{ m}$	$D_t = 2.32 \times 10^{-2} \text{ m}$
0.25 m / s	2.44 l / min ( $4.06 \times 10^{-5} \text{ m}^3 / \text{s}$ )	3.81 l / min ( $6.35 \times 10^{-5} \text{ m}^3 / \text{s}$ )	6.34 l / min ( $1.05 \times 10^{-4} \text{ m}^3 / \text{s}$ )
0.50 m / s	4.88 l / min ( $8.13 \times 10^{-5} \text{ m}^3 / \text{s}$ )	7.63 l / min ( $1.27 \times 10^{-4} \text{ m}^3 / \text{s}$ )	12.68 l / min ( $2.11 \times 10^{-4} \text{ m}^3 / \text{s}$ )
0.75 m / s	7.32 l / min ( $1.22 \times 10^{-4} \text{ m}^3 / \text{s}$ )	11.45 l / min ( $1.90 \times 10^{-4} \text{ m}^3 / \text{s}$ )	19.02 l / min ( $3.17 \times 10^{-4} \text{ m}^3 / \text{s}$ )
1.00 m / s	9.77 l / min ( $1.62 \times 10^{-4} \text{ m}^3 / \text{s}$ )	15.27 l / min ( $2.54 \times 10^{-4} \text{ m}^3 / \text{s}$ )	25.36 l / min ( $4.22 \times 10^{-4} \text{ m}^3 / \text{s}$ )

A partir de los resultados de la tabla 2.1 se determinó que el  $D_t$  que satisface el caudal y las velocidades propuestas es el de  $1.44 \times 10^{-2} \text{ m}^2$ . Con esta dimensión se calcularon las pérdidas de carga entre la bomba y el hidrociclón considerando la longitud del tubo y los accesorios. Para este cálculo se usó la ecuación 2.2.

$$PCT = PCC + PCL \quad (2.2)$$

Dónde:

$PCT$  es la pérdida de carga total (Pa)

$PCC$  es la pérdida de carga localizada en las conexiones (Pa)

$PCL$  es la pérdida de carga en la tubería (Pa)

El fabricante de la tubería proporciona la ecuación 2.3 para realizar el cálculo de  $PCC$ .

$$PCC = \frac{(\sum r_a) \cdot U_p^2 \cdot \gamma}{2g} \quad (2.3)$$

Dónde:

$PCC$  es la pérdida de carga localizada en las conexiones (Pa)

$r_a$  es el número que expresa el valor de resistencia de cada accesorio (adimensional)

$U_p$  es la velocidad promedio del fluido en la tubería (m / s)

$\gamma$  es el peso específico (N / m<sup>3</sup>).

$g$  es la aceleración de la gravedad (m / s<sup>2</sup>).

Para calcular la resistencia de los accesorios se consideró el número y tipo de ellos y se utilizó la información mostrada en la tabla 2.2.

**Tabla 2.2. Información proporcionada por el fabricante de la tubería y accesorios para calcular la pérdida de carga en las conexiones.**

Tipo de conexión	Símbolo gráfico	Coefficiente de resistencia ( $r$ )
Cople		0.25
Reducción		0.55
Codo 90°		2.00
Tee simple		1.80
Tee con rosca metálica		0.80
Conector macho o hembra		0.40

$$\sum r = 9(\text{Conector macho}) + 3(\text{Tee}) + 4(\text{Codo } 90^\circ) = 9(0.4) + 3(1.8) + 4(2.0) = 17$$

Con esta información se puede calcular la  $PCC$  para diferentes condiciones del flujo, el fabricante también proporciona una tabla con el valor de la pérdida de carga lineal ( $PCL$ ) para diferentes diámetros de tubo, caudales y temperatura. Ahora bien, considerando agua es de 20°C se calculó  $PCC$  y  $PCL$  de la tablas del fabricante para diferentes condiciones del caudal  $\dot{U}_o$  y longitud promedio de la tubería ( $L_T = 2$  m), así como la pérdida de carga total  $PCT$ , que se muestra en la tabla 2.3

Tabla 2.3. Cálculo de pérdida de carga para diferentes valores del caudal.

Caudal $\dot{U}_o$ (l/ min)	Velocidad promedio $U_p$ (m/s)	Pérdida de carga por fricción (Pa/m)	PCC (Pa)	PCL (Pa)	PCT (Pa)
3.0	0.31	127.48	815.45	254.96	1070.41
6.0	0.61	421.67	3157.44	843.34	4000.78
9.0	0.92	892.38	7182.09	1784.76	8966.85
12.0	1.23	1461.15	12837.66	2922.30	15759.96

## 2.2 Diseño y dimensionamiento del reactor hidrociclón

El diseño del RH está basado en los hidrociclones de cuerpo cilíndrico-cónico con entrada tangencial y salidas axiales. Este reactor cuenta con dos secciones de alimentación circulares dispuestas tangencialmente con la misma dirección pero sentidos opuestos como se muestra en la figura 2.3. Estas dos entradas permiten el flujo del cultivo y aire al RH, ya que la propuesta contempla que dentro del RH se desarrolle una mezcla de estos dos fluidos. Esto tiene como objetivo que las células absorban de manera uniforme la luz y el  $\text{CO}_2$  a lo largo de su estancia en el reactor.

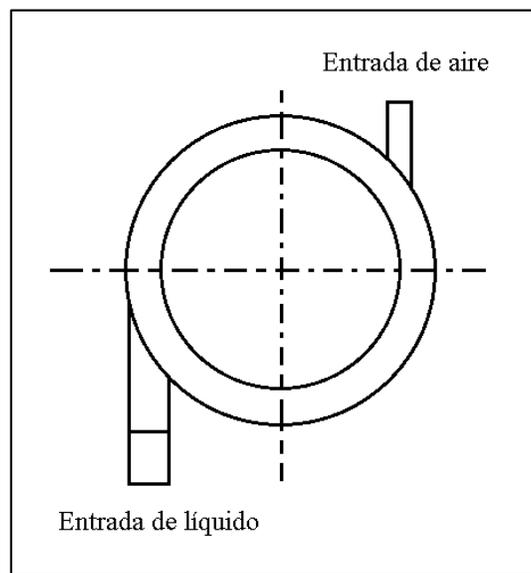


Figura 2.3. Vista superior del diseño del RH donde se aprecian las entradas tangenciales.

Considerando que tanto los procesos de fabricación, la limpieza y el mantenimiento del sistema fueran lo más sencillos y prácticos, el RH se dividió en cuatro partes: el cuerpo, la tapa superior, la tapa inferior y el buscador de vórtices. En la figura 2.4 se muestra el cuerpo del RH y se aprecia que en la región superior se encuentran las dos entradas tangenciales. Una de estas entradas tiene rosca GL 18 para ensamblarla a la tubería y suministrar el medio de cultivo, mientras que la otra cuenta con una espiga para acoplar una manguera flexible y abastecer de aire al reactor. Adicionalmente, esta pieza cuenta con dos superficies planas y paralelas (superior e inferior) en las cuales se asientan sellos y se ensamblan las dos tapas. El material utilizado en la fabricación de esta parte del RH es vidrio transparente templado. Otras opciones de materiales como el acrílico incrementaban la complejidad de los procesos de fabricación, el cuidado a la hora de limpiar el sistema y por ende el costo del mismo. Para el dimensionamiento del cuerpo del RH se propuso un diámetro principal  $D_r = 0.1$  m y un volumen interno de  $V_r = 2.0$  l y se definieron las dimensiones de diseño del RH como se muestran en la figura 2.4.

El diseño de las dos tapas y su acople con el RH es similar, ambas tienen forma circular y en el centro cuentan con un barreno roscado. También cuentan con una ranura donde entra un sello de neopreno que asegura el cierre uniforme en la interfaz entre el RH y las tapas para de esta forma evitar que se fugue el medio de cultivo. Para el ensamble con el RH las dos piezas cuentan con cuatro orificios que permiten su acople con un par de bridas de cierre. El material de las bridas de cierre y los tornillos es acero inoxidable, mientras que el material de las dos tapas es de Nylamid M. La selección de estos materiales se basó en que ambos pueden manipularse con técnicas de mecanizado convencional, resisten la temperatura y presión de esterilización (394.25 K y 103.42 kPa) y no reaccionan con el agua por lo que no se produce óxido. En la figura 2.5 se muestra el ensamble de las piezas mencionadas.

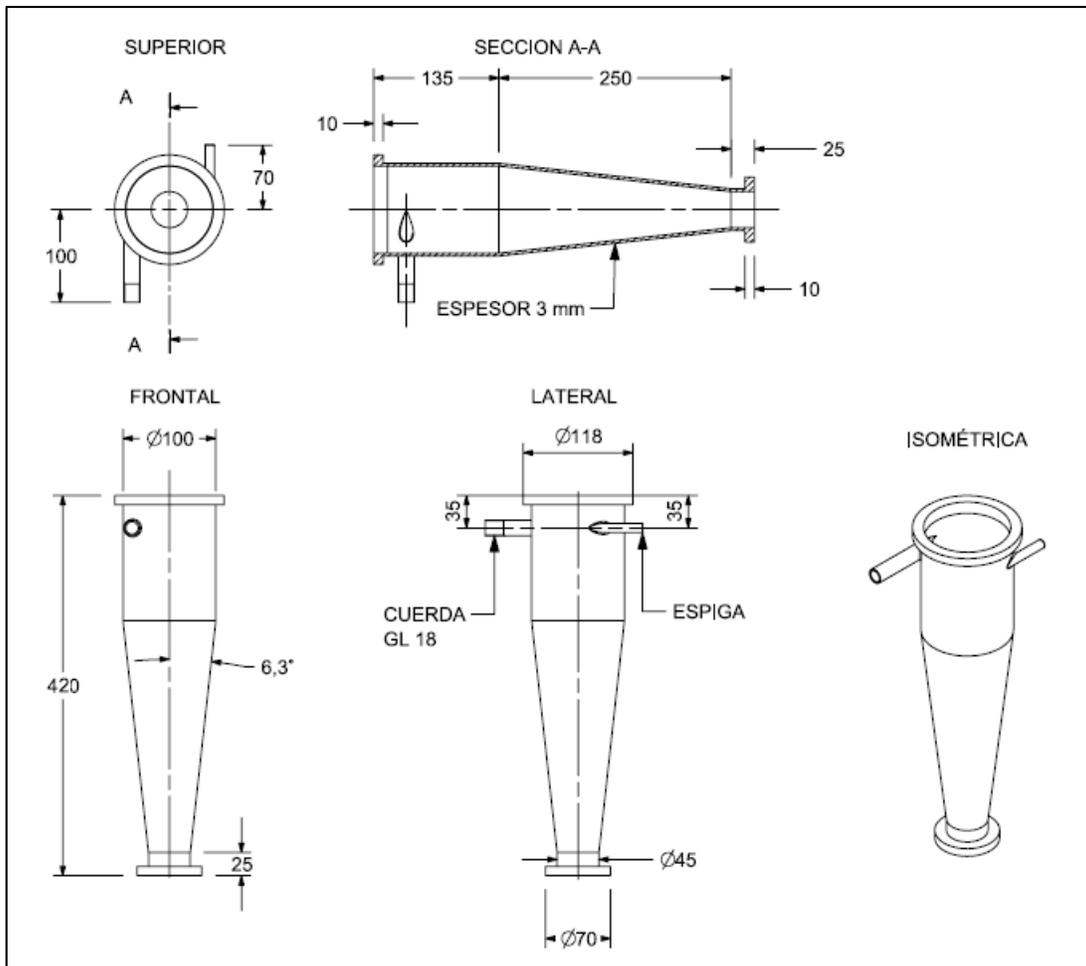


Figura 2.4. Vistas con la geometría y dimensiones generales del RH.

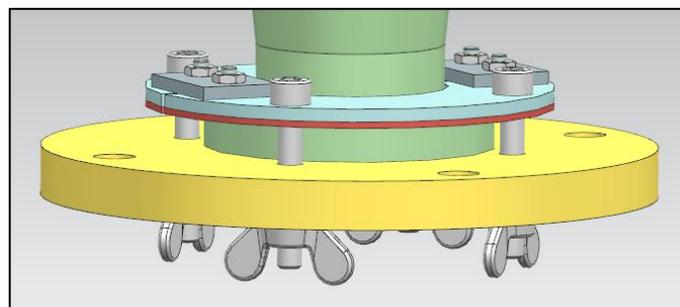


Figura 2.5. Diseño de la sección del RH donde se encuentran las bridas de sujeción y sello.

Por su parte, la tapa inferior no solo sirve para sellar y acoplar el RH a la tubería, su trabajo también consiste en soportar todo el peso del reactor, es por ello que a esta pieza se ensamblan cuatro patas de Nylamid M, las cuales a su vez se sujetan a dos placas de aluminio tal y como se muestra en la figura 2.6

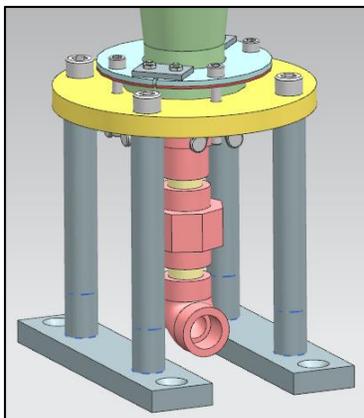


Figura 2.6. Diseño de la tapa inferior y sus elementos acoplados.

Ahora bien, la tapa superior cumple otros cometidos como su contraparte, el primero de ellos es sujetar y acoplar el buscador de vórtices y el segundo es estabilizar la posición del RH mediante su ensamble con una placa de soporte de aluminio. Esta pieza también cuenta con un aditamento que permite la inyección de sustancias para diversos propósitos como la visualización del flujo y la medición del tiempo de ciclo y el cálculo del tiempo de mezclado como se aprecia en la figura 2.7.

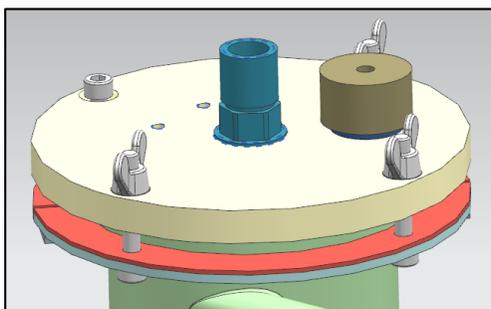


Figura 2.7. Diseño de la tapa superior y sus elementos acoplados.

El buscador de vórtices es un elemento que se extiende dentro del RH y a su vez está conectado a la tubería debido a que guía el fluido que se desplaza dentro del vórtice interno. Por ello se consideró que el buscador de vórtices se acoplara a la tapa superior con una rosca para su fácil ensamble, por lo que esta pieza cuenta en un extremo roscado (1/2 NPT) para conectar la tubería. El material utilizado para fabricar esta pieza fue Nylamid M como se muestra en la figura 2.8.

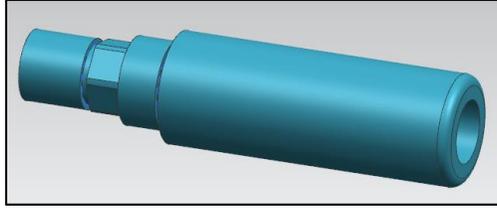


Figura 2.8. Diseño del buscador de vórtices.

En la figura 2.9 se muestra el ensamble de las cuatro secciones del RH. Se aprecian las dos entradas transversales, tanto para el medio de cultivo (parte anterior izquierda) como para el aire (parte posterior derecha). También se observan los acoples para las dos salidas y el buscador de vórtices en el interior del RH, así como las bridas de sujeción y las patas de soporte.

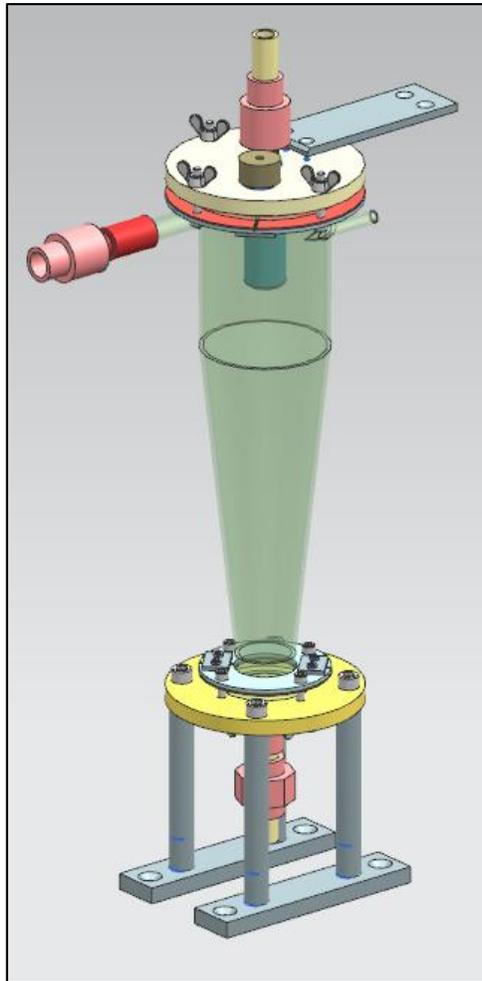


Figura 2.9. Diseño del ensamble completo del RH.

## 2.3 Sistema neumático

### 2.3.1 Parámetros de diseño

El sistema neumático es el encargado de suministrar energía a la bomba y aire a la mezcla dentro del RH. Los parámetros de referencia para el diseño de este sistema son las presiones de aire suministrados a la bomba ( $p_a$ ) y al RH ( $p_r$ ), así como los flujos volumétricos de aire entrante a la bomba ( $\dot{U}_a$ ) y al RH ( $\dot{U}_{rd}$  y  $\dot{U}_{re}$ ). Los valores de los parámetros relacionados a la bomba fueron calculados en función de las condiciones de operación y ya han sido mencionados en el apartado anterior.

En el caso del RH y por su diseño particular se establecen dos parámetros diferentes: el flujo volumétrico estático ( $\dot{U}_{re}$ ) y el flujo volumétrico dinámico ( $\dot{U}_{rd}$ ). El primero mide y relaciona la cantidad de aire entrante en la mezcla con el volumen de operación del sistema, esto permite comparar los resultados de la experimentación con los resultados de los estudios con otros reactores. El rango de valores de  $\dot{U}_{re}$  oscilan entre 0.1 – 1.0 vvm (volumen de aire / volumen de líquido / minuto). En su caso, el segundo parámetro relaciona el flujo volumétrico de aire suministrado al reactor y el flujo volumétrico del medio de cultivo. La variable  $\dot{U}_{rd}$  es una cantidad adimensional y el intervalo de valores considerados rondan entre 0.1 – 1.0. El valor de la presión  $p_r$  considerado en el diseño es 80 kPa el cual es menor que la presión de operación  $p_o$  (100 – 150 kPa) del medio de cultivo. Esta característica se estableció considerando que  $p_r < p_o$ , debido a que en caso contrario ( $p_r \geq p_o$ ) el aire podría limitar considerablemente el suministro del medio de cultivo al RH.

### 2.3.2 Elementos del sistema neumático

Basado en el caudal y la presión establecidos anteriormente, así como la facilidad de ensamble y mantenimiento se determinó que la mejor opción para el desarrollo de este

sistema es la serie Mini plástica del fabricante Festo ®. Así mismo, se estableció que el tipo del tubo de plástico con mayor versatilidad para la aplicación del sistema en cuestión es el PUN con un diámetro nominal  $d_t = 0.01$  m. En la figura 2.10 se muestra el diagrama del sistema neumático con sus tres diferentes secciones y los componentes que las constituyen. En el apéndice se listan los números de parte del fabricante y la descripción de cada uno de los elementos de este sistema. Un punto importante de este sistema es su versatilidad para la conexión a la fuente de alimentación de aire, ya que la manguera de suministro está ensamblada a un conector que se acopla a la tubería con una rosca de 1/2 NPT.

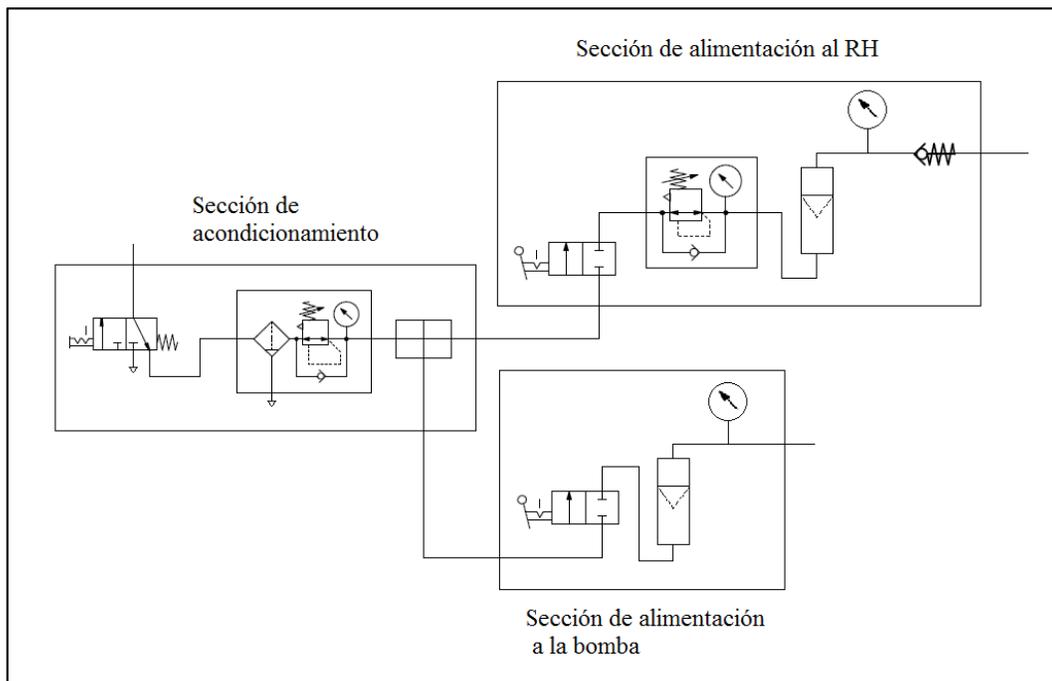


Figura 2.10. Diagrama del sistema neumático.

a) Sección de acondicionamiento

Esta sección está compuesta por tres elementos, el primero de ellos es una válvula de paso que controla la alimentación de aire al sistema en general, esta válvula tiene la característica de liberar todo el aire que se encuentra aguas abajo cuando es cerrada, lo cual asegura que el sistema no se encuentre presurizado cuando no se utiliza. En segundo

lugar está conectado el filtro regulador de presión, este elemento permite controlar la presión de alimentación a las secciones posteriores lo cual asegura que la presión del aire dentro del sistema no sea mayor a la establecida anteriormente, este elemento también filtra el agua y las impurezas del aire ya que contiene un filtro de 5  $\mu\text{m}$ . La sección de acondicionamiento también cuenta con un derivador de caudal que divide la línea principal en dos líneas secundarias destinadas a suministrar de aire a las dos secciones posteriores del sistema.

b) Sección de alimentación al RH

Esta sección es la encargada de regular la presión y el caudal de aire que entra al RH por lo que en primera instancia contiene una válvula de paso que controla el suministro de aire. Posteriormente tiene acoplada una válvula reguladora de presión con la que se limita la presión del aire que alimenta al RH ya que como se indicó anteriormente debe ser menor a la del agua que entra en este dispositivo. El caudal de aire es cuantificado y controlado por un rotámetro el cual mide hasta 2.5 l / min, valor superior al establecido anteriormente. Como este tipo de totalizadores de flujo provocan la caída de la presión y es preciso conocer su magnitud a la entrada del RH, está colocado un manómetro acoplado a la salida del rotámetro. Sin embargo, la medición de la presión no es completamente correcta debido a que hay una válvula antirretorno entre el manómetro y el RH, este elemento está dispuesto por seguridad para evitar que el medio de cultivo entre al sistema neumático.

c) Sección de alimentación a la bomba

Esta sección del sistema es la encargada de controlar la presión y el caudal de aire que alimenta a la bomba, los cuales repercuten en el caudal y la presión del sistema hidráulico como se mencionó anteriormente. El primer elemento de esta sección es una

válvula de paso para controlar el suministro de aire. Posteriormente está acoplado un rotámetro que permite cuantificar y controlar el caudal de aire el cual mide hasta 58.5 l / min. En esta sección al igual que en la anterior, se requiere conocer la magnitud real de la presión a la salida del totalizador de flujo, es por ello que tiene un manómetro entre este elemento y la bomba. Las tres secciones del sistema neumático se sujetaron sobre una placa que sirve como panel de control como se muestra en la figura 2.11.

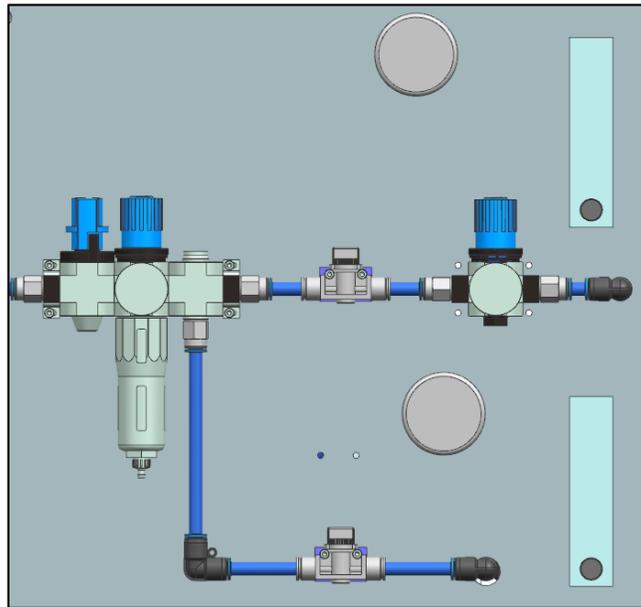


Figura 2.11. Diseño del panel de control.

## 2.4 Sistema de iluminación

Este trabajo contempla el estudio de los efectos de la mecánica de fluidos dentro del RH en el crecimiento de la microalga *Scenedesmus incrassatulus*, por ello se tomó como referencia el tipo de iluminación utilizada en el Laboratorio de Microalgas del departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav, con el objetivo de comparar los resultados del cultivo dentro del RH con los obtenidos en los reactores de dicho laboratorio por lo tanto, la fuente de energía luminosa son lámparas de alógeno. Se dispusieron dos lámparas en cada lado de RH como se observa en la figura 2.12, considerando que el consumo de cada lámpara es de 31 W la potencia total requerida fue de 124 W.



Figura 2.12. Posición del sistema de iluminación a los costados del RH.

El diseño de la disposición de los elementos de este sistema permite que la intensidad del flujo de iluminación que incide en el RH se pueda controlar ya que las lámparas se encuentran sujetadas a una estructura de aluminio que se puede acercar o alejar del RH. De hecho, esta característica le confiere al sistema la capacidad de que las fuentes actuales se puedan reemplazar por lámparas de otro tamaño o incluso por otras fuentes de iluminación, por ejemplo la luz LED. Esta característica se muestra en la figura 2.13.



Figura 2.13. Estructura de sujeción de lámparas.

## 2.5 Sistema de soporte

Este sistema es primordial para la instalación ya que es la base de todos los sistemas anteriores. El diseño de este sistema se basó en la necesidad de una estructura que fuera fácil de ensamblar y ajustar y adicionalmente fuera flexible para absorber posibles modificaciones. La opción que se ajustó en mayor medida a la necesidad del sistema fue el perfil de aluminio IPS del fabricante Parker®, ya que este producto tiene ranuras en cada una de las caras lo cual permite colocar elementos sin la necesidad de hacer barrenos, por lo que se pueden realizar modificaciones de la disposición de las piezas conforme lo requiera la evolución del sistema. En la figura 2.14 se muestra la cara lateral del perfil IPS.



Figura 2.14. Perfil IPS 0.028 x 0.028 m.

Se consideraron dos medidas de perfil IPS (0.04 x 0.04 m y 0.028 x 0.028 m), el primero de ellos se utilizó para la estructura que soporta el sistema hidráulico, el sistema neumático y el panel de control. Por otro lado, el perfil de 0.028 m se utilizó en la estructura de soporte del sistema de iluminación. El método de ensamble de la estructura se realizó con ángulos como se muestra en la figura 2.15.



Figura 2.15. Ángulo de unión entre perfiles.

Las ranuras laterales de este perfil permiten sujetar elementos fácilmente, dichas guías simplifican el movimiento de los elementos para ajustar su posición, en la figura 2.16 se muestra el perfil IPS y la forma de sujeción del balastro utilizado para las lámparas. Así mismo, en la figura 2.17 se aprecia cómo esta característica es indispensable para controlar la distancia de las lámparas al RH.



Figura 2.16. Elemento sujetado al perfil IPS.



Figura 2.17. Tipo de uniones que facilitan la variación de la posición de las lámparas.

La estructura ha sido diseñada considerando la movilidad de la instalación, es por ello que cuenta con cuatro ruedas con freno independiente. Esto en conjunto con la versatilidad de la conexión neumática permite que dicho sistema pueda usarse en diversos recintos e incluso a la intemperie. En la figura 2.18 se aprecia el diseño de la estructura y la disposición de los elementos de los sistemas hidráulico, neumático y de iluminación.

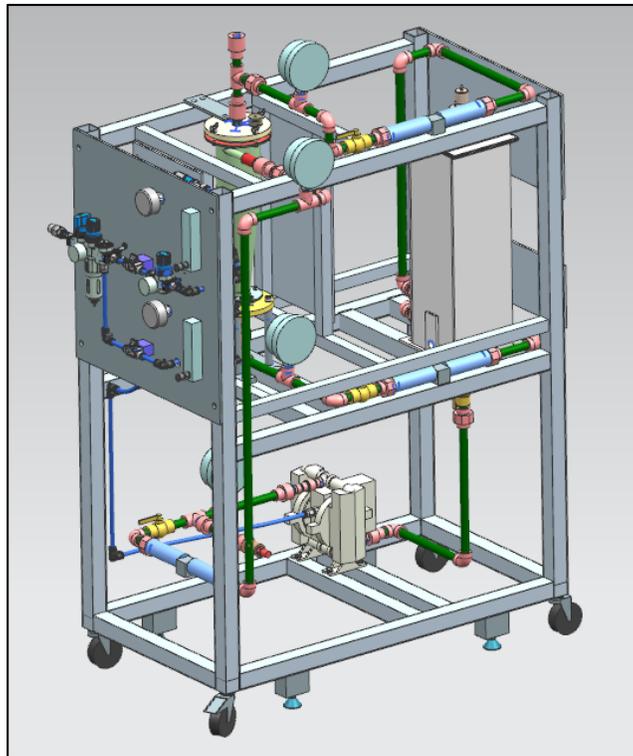


Figura 2.18. Diseño conceptual y detallado de la instalación.

## Capítulo 3. Instalación y condiciones del experimento

### 3.1 Instrumentación

La instalación cuenta con diversos sensores y transductores que proporcionan información de diferentes propiedades del sistema (presión, flujo, temperatura y pH) con las cuales, pueden controlarse las condiciones de operación y monitorear la evolución del cultivo de microalgas.

#### 3.1.1 Medición de presión

La instalación contempla el uso de dos fluidos: el medio de cultivo (líquido) y el aire (gas), por lo que conocer la presión de cada uno de ellos en diferentes etapas es indispensable para controlar las condiciones de la experimentación. Para realizar la medición de esta propiedad se utilizaron manómetros de muelle tubular (tubo Bourdon). En la tabla 3.1 se indican los puntos donde se colocaron los manómetros, el fluido que midieron, así como el rango y el error de medición de cada uno.

**Tabla 3.1. Equipo utilizado para medir la presión.**

Punto de medición	Fluido	Rango (kPa)	Error	Variable
Válvula reguladora principal	Aire	0 – 1600	± 5%	$P_{RP}$
Válvula reguladora del RH	Aire	0 – 1000	± 5%	$P_{RR}$
Entrada a la bomba	Aire	0 – 250	± 2.5%	$P_{AB}$
Entrada al RH	Aire	0 – 100	± 2.5%	$P_{AR}$
Salida de la Bomba	Agua	0 – 207	± 3%	$P_{SB}$
Entrada al RH	Agua	0 – 207	± 3%	$P_{ER}$
Salida inferior del RH	Agua	0 – 103	± 3%	$P_{SI}$
Salida superior del RH	Agua y aire	0 – 13.5	± 3%	$P_{SS}$

### 3.1.2 Medición del flujo

Al trabajar con fluidos dentro de tuberías es importante conocer la magnitud del flujo promedio ya que esta propiedad proporciona información de la velocidad con la que se está desplazando la masa dentro del sistema. Como ya se mencionó, el aire es utilizado en dos elementos de la instalación (la bomba y el RH), por lo que la regulación del caudal es indispensable para controlar las condiciones de operación. A su vez, el medio de cultivo fluye en un circuito que forman el contenedor, la bomba y el RH, por lo que el conocer el valor de la magnitud del caudal es necesario para asegurar que las condiciones del cultivo se mantengan a lo largo de toda la prueba conforme se haya establecido.

La medición del caudal promedio de aire y su regulación se realizó con rotámetros que están dispuestos en las secciones de alimentación al RH y a la bomba del sistema neumático como se muestra en la figura 3.1. El rango del totalizador de flujo correspondiente al RH fue de 0 – 2.5 l / min, mientras que el otro fue de 0 – 58.5 l / min.



Figura 3.1. Panel de control de los sistemas hidráulico y neumático.

Para la medición del flujo del medio de cultivo dentro de la tubería se utilizó el sensor de flujo YF-S201, el cual contiene una turbina que rota con el paso del fluido. Cada una de las vueltas es detectada con un sensor de efecto Hall y emite un tren de pulsos cuya frecuencia depende del caudal que pasa a través del elemento de medición. El fabricante proporcionó una tabla que relaciona el valor de la frecuencia con el caudal promedio, Sin embargo esta información se refiere a sistemas donde el flujo es continuo. Como el caudal en el sistema de este trabajo es intermitente se efectuó una caracterización específica de dicho sensor.

El método utilizado para caracterizar el sensor consistió en contar el número de pulsos ( $n_p$ ) en un intervalo de tiempo definido ( $t_p$ ) a la vez que se cuantificó el volumen de líquido desplazado a través del sensor ( $V_p$ ). Para conocer la respuesta del sensor en las condiciones de flujo de líquido intermitente se hicieron mediciones del  $V_p$  y el  $n_p$  en diferentes intervalos, en cada uno de los cuales se modificó el flujo de aire entrante al RH con la intención de conocer el comportamiento del flujo del medio de cultivo ante la presencia de aire dentro del RH. En la figura 3.2 se muestra el sensor de flujo con dos elementos de acople cuya finalidad fue reducir los efectos de las conexiones y asegurar que el flujo fuera completamente desarrollado.



Figura 3.2. Sensor YF-S201.

Considerando la capacidad volumétrica del contenedor de la instalación (11.25 l) y el valor promedio del mayor rango de medición del caudal (11 l / min), se determinó que  $t_p$

= 30 s ya que con esto se asegura que la diferencia de presión dentro del contenedor sea aproximadamente de 2.5 kPa y que el sistema siempre contenga agua evitando que la bomba funcione sin líquido. La medición del volumen se realizó con dos probetas de vidrio (figura 3.3) cuyas especificaciones se muestran en la tabla 3.2. El conteo de los pulsos se efectuó con un Arduino Nano, mismo que se utilizó para indicar el inicio y fin del intervalo de tiempo de medición del volumen mediante el encendido y apagado de un LED.

**Tabla 3.2. Características de las probetas utilizadas en la medición del volumen desplazado.**

No. de probeta	Capacidad volumétrica (l)	Graduación (ml)	Error del instrumento (ml)
1	2	20	10
2	0.5	5	2



Figura 3.3. Probetas utilizadas en la medición del volumen.

Con los datos de  $V_p$  y  $t_p$  se calculó el caudal para cada una de las muestras, así mismo estos valores se asociaron a los de  $n_p$ . Debido a la variación del método de medición se tomaron 5 muestras para cada configuración y se generó un programa para calcular los promedios de  $n_p$  y  $V_p$  a diferentes intervalos de  $n_p$  ( $Ln_p = 50, 100$  y  $200$ ) para cada  $t_p$ . Con

los promedios de cada configuración y los valores originales de  $n_p$  se calcularon los valores de  $V_p$  mediante la interpolación de Lagrange. Para comprobar la validez de cada uno de los valores promedio ( $n_p$  y  $V_p$ ) se calcularon con esta técnica de interpolación los valores de  $V_p$  para cada muestra considerando los valores originales de  $n_p$ , también se calcularon los valores de  $V_p$  utilizando la información dada por el fabricante en la ficha técnica del sensor.

El RH contiene una entrada y dos salidas del medio de cultivo, esto conlleva a que una parte del flujo másico que entra, salga por el buscador de vórtices mientras que la otra parte lo hace por el ápex del cono, lo cual está en función de las condiciones de operación del sistema. Considerando la ley de conservación de la masa, se simplificó la instrumentación del sistema al caracterizar únicamente dos sensores, uno para la entrada y el otro para la salida por el ápex del cono de forma que con la magnitud de estos dos caudales se calculó el flujo del líquido que sale por el buscador de vórtices. En la tabla 3.3 se muestran los intervalos de medición para la caracterización de los sensores.

**Tabla 3.3. Rangos de medición para la caracterización de los sensores de flujo.**

<b>Sensor</b>	<b>Caudal de medio de cultivo (<math>l/min</math>)</b>	<b>Caudal de aire (<math>l/min</math>)</b>	<b>Paso de medición de caudal de medio de cultivo (<math>l/min</math>)</b>
Entrada al RH	2 – 11	0 – 2.5	1.0
Salida inferior del RH	1.2 – 6	0 – 2.5	0.2

### 3.1.3 Medición de la temperatura

La instalación se encuentra en una habitación donde se puede regular la temperatura por lo que el control de la misma se realiza de forma indirecta. Sin embargo, para conocer el valor de la temperatura se realizó la medición de esta propiedad cada vez que se tomaron las muestras del cultivo para hacer las determinaciones de su crecimiento.

Para esta tarea se utilizó un termómetro de mercurio con una escala de 0 a 150 °C y una graduación de 1 °C, como se muestra en la figura 3.4.



Figura 3.4. Medición de la temperatura de una muestra en un tubo falcon.

### 3.1.4 Medición del pH

Esta cantidad es muy importante ya que es una medición indirecta de la fase en la que se encuentra el cultivo y de la evolución del O<sub>2</sub> y el CO<sub>2</sub>. La medición del pH se realizó directamente en el contenedor utilizando una sonda, lo cual proporcionó información de la evolución del cultivo. Para comprobar los valores de este elemento se hizo la medición del pH en cada muestra recogida para cuantificar el crecimiento considerando que el pH es constante en todo el cultivo, para ello se utilizó un potenciómetro Orion 420A+ de Thermo® como se muestra en la figura 3.5. La calibración del equipo se realizó con sustancias patrón con pH constante de 4, 7 y 10.



Figura 3.5. Medición del pH de una muestra en un tubo falcon.

### 3.2 Estudio del flujo de fluidos en el RH

Una etapa importante de este trabajo es el estudio de las características del flujo de fluidos dentro del sistema antes de proceder con las pruebas con los microorganismos. Para ello se procedió con un estudio de visualización, esto con el objetivo de tener un marco de referencia en cuanto a las condiciones de operación del sistema y las características del flujo que puedan repercutir en el desarrollo de las células.

La visualización del flujo es una técnica que si bien no proporciona información directa del campo de velocidad del flujo, permite identificar patrones en las geometrías generadas por los fluidos. Por ello la primera etapa de las investigaciones de este sistema conlleva al estudio y análisis del flujo desarrollado en el RH con este método. Para el desarrollo de esta etapa se utilizó una cámara de alta velocidad que permitió grabar el movimiento para su posterior análisis. El equipo utilizado en este trabajo fue la cámara digital Finepix HS10 de Fujifilm ®. Se utilizó una base para colocar la cámara lo cual aseguró que los videos y las fotografías se capturaran con las desviaciones mínimas ocasionadas por el movimiento del equipo, en la figura 3.6 se muestra la cámara y el tripié utilizados.



Figura 3.6. Cámara digital Finepix HS10 y tripié utilizados en la experimentación.

Antes de comenzar con las grabaciones de videos y fotografías se preparó la región de estudio ya que la luz ambiental afectaba directamente los resultados de cada captura de la cámara. Para crear un ambiente de iluminación uniforme se cubrió la zona superior del RH, se colocó un fondo negro para resaltar el movimiento de los fluidos y se encendieron las lámparas laterales como se muestra en la figura 3.7. Se utilizó agua destilada y un colorante disuelto que contrastó con el ambiente y permitió la identificación de las geometrías desarrolladas en el flujo de los fluidos.

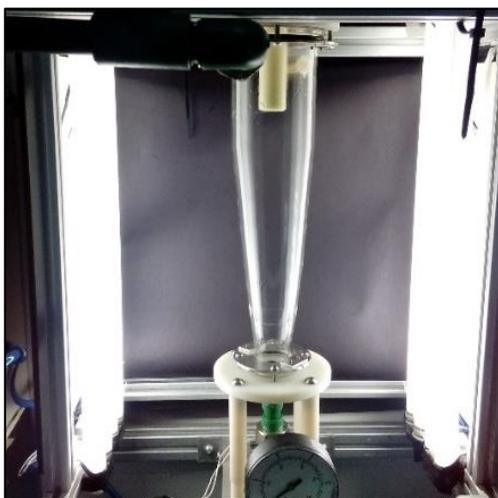


Figura 3.7. Preparación de la instalación previa a la visualización del flujo.

Este estudio se dividió en dos fases, la primera consistió visualizar el flujo de los fluidos dentro del RH con diferentes condiciones de operación las cuales se listan en la tabla 3.4 con la intención de conocer el comportamiento general del sistema y a partir de estos resultados seleccionar una configuración para hacer la evaluación del crecimiento de los organismos. En esta fase no se tuvo la hoja de calibración de los rotámetros, por lo que el presente estudio no cuenta con las magnitudes del caudal de aire en unidades específicas. Sin embargo, se tomó como referencia la graduación de los rotámetros (0 – 60) y el rango de caudal de cada uno de ellos para cuantificar los efectos de la variación del flujo de aire en el flujo dentro del RH.

**Tabla 3.4. Configuración de la instalación para la visualización del flujo.**

Flujo de líquido (l / min)	Nivel del rotámetro del RH	Presión $P_{RP}$ (kPa)	Presión $P_{RR}$ (kPa)	Volumen de operación (l)
2.5	0 – 60	200	160	6
3.0	0 – 60	200	160	6
4.0	0 – 60	200	160	6
5.0	0 – 60	200	160	6
5.5	0 – 60	200	160	6
6.2	0 – 60	200	160	6

La segunda fase de la etapa del estudio del flujo consistió en la visualización del flujo de fluidos dentro del RH para  $P_{RP} = 300$  kPa,  $P_{RR} = 200$  kPa,  $F_1 = 3.9$  l / min y  $F_A = 2.5$  l / min, con la intención de identificar patrones particulares con estas condiciones de operación que sean útiles para el crecimiento de *Scenedesmus incrassatulus*. Los videos fueron tomados con 4 velocidades de captura diferentes (30, 60, 120 y 240) para visualizar en cámara lenta el movimiento del fluido e identificar patrones, los cuales se midieron utilizando el diámetro externo del buscador de vórtices ( $D_{ee}$ ) como referencia para la parametrización.

### 3.3 Cultivo de *Scenedesmus incrassatulus*

#### 3.3.1 Cepa y medio de cultivo

Con la intención de hacer una evaluación de los efectos de la mecánica de fluidos dentro del RH en el crecimiento de microalgas se utilizó la cepa nativa de México *Scenedesmus incrassatulus* CLHE-Si01, la cual fue proporcionada por el Dr. Fernando Martínez Jerónimo de la colección de Cultivos de Algas del Laboratorio de Hidrobiología Experimental de la ENCB-IPN.

*Scenedesmus incrassatulus* es una microalga que pertenece a la clase *Chlorophyceae* (algas verdes), orden *Chlorococcales* (células no flageladas) y familia *Scenedesmaceae*. Las células de *S. incrassatulus* generalmente se organizan en cenobios de números pares, aunque en condiciones de estrés se pueden desarrollar de forma unicelular. En los cenobios de *S. incrassatulus*, las células centrales con frecuencia son de lados rectos y las situadas en los extremos son de forma elipsoide (Arias, 2013). En la figura 3.8 se muestra la organización en cenobios de esta microalga. *S. incrassatulus* es una microalga de agua dulce por lo que en el experimento se utilizó el medio de cultivo mineral PCG (Perales, et al., 2007). Esta microalga se conserva en placa de Petri en el Laboratorio de Biotecnología de Microalgas del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav.



Figura 3.8. *Scenedesmus incrassatulus* CLHE-Si01.

### 3.3.2 Métodos analíticos y cálculos

#### a) Contenido de clorofila

El crecimiento celular así como el incremento en la cantidad de células de microalgas en un cultivo está relacionado al aumento en la generación de los diferentes pigmentos (carotenoides y clorofila a y b) por unidad de volumen. Para cuantificar los pigmentos se hace uso de la espectrofotometría y las ecuaciones (3.1, 3.2 y 3.3) propuestas por Wellburn (1994) utilizando metanol al 100%.

$$Cl_a = (15.65 \times A_{666}) - (7.34 \times A_{653}) \quad (3.1)$$

$$Cl_b = (27.05 \times A_{653}) - (11.21 \times A_{666}) \quad (3.2)$$

$$Ca = [(1000 \times A_{470}) - (2.86 \times Cl_a) - (129.2 \times Cl_b)]/221 \quad (3.3)$$

Dónde:

$Cl_a$  es la concentración de clorofila tipo a (mg / ml)

$Cl_b$  es la concentración de clorofila tipo b (mg / ml)

$Ca$  es la concentración de carotenoides (mg / ml)

$A_{470}$  es el resultado del análisis para la longitud de onda 470 nm

$A_{653}$  es el resultado del análisis para la longitud de onda 653 nm

$A_{666}$  es el resultado del análisis para la longitud de onda 666 nm

La cantidad de pigmentos se cuantificó tomando muestras de 3 ml del cultivo que se centrifugaron a 3500 rpm durante 10 min. Posteriormente se reemplazó el sobrenadante por 3 ml de metanol al 100% y se mantuvieron a 60° C un periodo de 10 min. A continuación se refrigeraron en oscuridad por un lapso de 24 horas para extraer los pigmentos. Una vez transcurrido este periodo se centrifugaron nuevamente a 3500 rpm por 10 min para retirar la biomasa. El sobrenadante se colocó en un espectrofotómetro y se leyó la absorbancia a 470, 653 y 666 nm.

#### b) Peso seco de biomasa

El crecimiento de la cepa se cuantificó mediante la determinación del peso seco ( $W_{sb}$ ) para lo cual se tomaron muestras de 5 ml del cultivo, las cuales se filtraron al vacío en membranas de nitrocelulosa de 5 µm de diámetro de poro (Millipore®). Antes y después del filtrado se realizó la medición del peso de las membranas. Previo a esta medición, las membranas se llevaron a peso constante manteniéndolas a 70 °C por 24 h y posteriormente en un desecador durante 30 min. Este peso por unidad de volumen es una representación de toda la muestra, cuyo valor se calculó con la ecuación 3.4 (Perales, 2008).

$$W_{sb} = \frac{[W_{mb} - W_m] \times 100}{V_m} \quad (3.4)$$

Dónde:

$W_{sb}$  es el peso seco de la biomasa (g)

$W_{mb}$  es el peso seco de la biomasa con la membrana (g)

$W_m$  es el peso de la membrana (g)

$V_m$  es el volumen filtrado (ml)

c) Consumo de nitrógeno

Para conocer la evolución del medio de cultivo y en especial del nitrógeno se determinó la concentración de este elemento por el método de sulfato de brucina (NMX-AA-079-SCFI-2001).

d) Velocidad específica de crecimiento

Este parámetro indica la velocidad con la cual va desarrollándose el cultivo, para realizar el cálculo de esta variable se utilizó la ecuación 3.5 (Arias, 2013; Liao, *et al.*, 2014).

$$\mu = \frac{\ln(C_i/C_{i-1})}{t_i - t_{i-1}} \quad (3.5)$$

Donde:

$\mu$  es la velocidad específica de crecimiento (1 / d)

$C_i$  es la concentración de biomasa en el tiempo  $t_i$  (g / l)

$t_i$  es el tiempo del muestreo (d)

e) Tiempo de mezclado y tiempo de ciclo

El tiempo de mezclado ( $t_m$ ) se determinó mediante el método del trazador ácido, para lo cual se preparó una mezcla de agua destilada (4 l) y HCL 1N cuyo pH fue de 4 y se agregó al contenedor de la instalación. A continuación se establecieron las mismas condiciones de operación ( $P_{RP} = 300$  kPa,  $P_{RR} = 200$  kPa,  $F1 = 3.9$  l / min y  $FA = 2.5$  l / min),

con las que se hizo la cinética de crecimiento y una vez que el sistema se estabilizó mecánicamente se le añadió un pulso de 5 ml de NaOH 1N y se registró el tiempo que tardó en estabilizarse el valor de pH. A su vez, el tiempo de ciclo ( $t_c$ ) es el intervalo promedio que tarda un organismo en dar una vuelta completa al sistema, por lo que se determinó en función del flujo  $F1$  y el volumen de operación ( $V_o$ ).

### 3.3.3 Condiciones del ensayo en el RH

#### a) Preparación del inóculo

Previo a la cinética de crecimiento se hizo la preparación del inóculo con la intención de activar el metabolismo de las células y acondicionarlo al medio de cultivo. Para ello en una botella Schott® de cara plana de 1 l (volumen de trabajo 900 ml) se agregaron 810 ml de medio PGC (90%) y 90 ml de inóculo (10 %), a continuación se le puso un tapón hermético con una adaptación para introducir aire. La botella se colocó en el cuarto de cultivo a 22 °C en donde fue sometida a condiciones de iluminación continua con luz fluorescente blanca que proporcionaba una intensidad luminosa de  $125 \mu\text{mol} / \text{cm}^2 \text{ s}$  ( $27.77 \text{ W} / \text{m}^2$ ). En la figura 3.9 se muestra una botella de cara plana donde se preparó el inóculo.

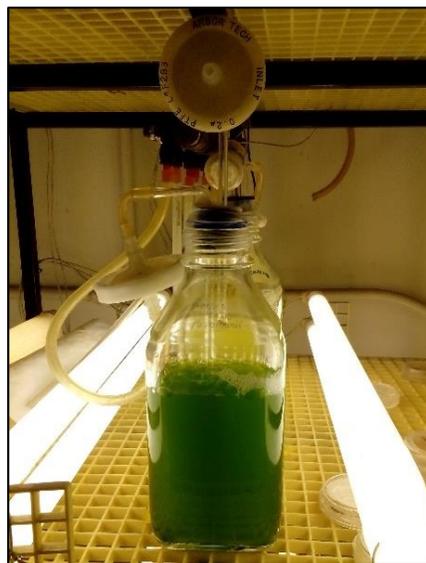


Figura 3.9. Preparación del inóculo de *S. incrassatulus* en la botella de cara plana.

#### b) Preparación del RH previo al cultivo

Un aspecto importante en el experimento fue asegurar la asepsia en la instalación previa a la experimentación. Para ello se preparó una mezcla (6 litros) de agua destilada y cloro al 3% la cual se agregó al contenedor y se puso en marcha el sistema hidráulico regulando la presión  $P_{RP}$  a 300 kPa y el flujo  $F1$  a 6 l / min. Para asegurar el llenado completo del RH se drenó el aire de la parte superior. Estas condiciones se mantuvieron durante 2 horas para remover todos los residuos que quedaron de las pruebas anteriores. Una vez transcurrido este periodo de tiempo se procedió al drenado del sistema, para lo cual se cerraron todas las válvulas de aire y se abrió la válvula de paso de drenado. La siguiente etapa consistió en enjuagar el sistema, para ello se cerró la válvula de drenado, se agregaron 4 litros de agua destilada y se activó el sistema hidráulico ( $P_{RP} = 300$  kPa y  $F1 = 6$  l / min) durante 15 min. Transcurrido este lapso se drenó nuevamente el sistema. Este proceso de enjuague con agua destilada se realizó como mínimo 3 veces para asegurar que tanto el cloro como los residuos de la prueba anterior fueran removidos de la tubería.

#### c) Condiciones de operación

La cinética de crecimiento de *S. incrassatulus* se realizó tanto en botellas como en el RH. Para la cinética en botellas se utilizaron botellas de vidrio Schott® de cara plana de 1 l, a las que se agregaron 810 ml de medio PGC (90%) y 90 ml de inóculo (10 %). Se mantuvieron en el cuarto de cultivo a 22 °C y se iluminaron con luz fluorescente blanca de forma continua a una intensidad de 125  $\mu\text{mol} / \text{cm}^2 \text{ s}$  (27.77 W / m<sup>2</sup>). Para la cinética en el RH se incorporó el contenido de tres botellas de inóculo y una de medio PCG (volumen total de trabajo de 3.8 l) al contenedor de la instalación. Se monitoreó y reguló el pH para mantener las condiciones ideales de crecimiento (pH 9).

El muestreo se realizó cada 48 horas, previamente a la toma de la muestra se recuperó el volumen inicial con agua destilada para disminuir el error ocasionado por la

vaporización del agua. Las condiciones de operación del sistema fueron  $P_{RP} = 300 \text{ kPa}$ ,  $P_{RR} = 200 \text{ kPa}$ ,  $F1 = 3.9 \text{ l / min}$  y  $FA = 2.5 \text{ l / min}$ . Durante los primeros 12 días únicamente se utilizaron las lámparas del costado derecho del RH, cuya intensidad luminosa en la pared del reactor fue de  $130 \mu\text{mol / m}^2 \text{ s}$  ( $28.88 \text{ W / m}^2$ ), a partir del día 12 se encendieron las lámparas del lado izquierdo para evaluar el cambio en la razón de crecimiento. La medición de la intensidad lumínica se evaluó con un radiómetro Quantitherm® (light Meter Thermometer) Hansatech Instruments LTD (QRT1) PE32 1JL.UK.

# Capítulo 4. Resultados y discusión

## 4.1 Diseño y construcción de la instalación

El diseño de un separador ciclónico se realiza considerando la aplicación del dispositivo, a partir de la cual se selecciona una configuración en función del proceso requerido (alta eficiencia, alta capacidad y convencional). Dichas configuraciones utilizan relaciones que toman como referencia el  $D_c$  para obtener los valores del resto de las dimensiones del ciclón. Estas relaciones fueron definidas empíricamente por diversos investigadores, las más importantes son las de Stairmand, Swift y Lapple (Aguilar, 2008; García, 2008). Sin embargo, en el presente trabajo la aplicación del hidrociclón es diferente a la separación, por lo que el diseño no tomó como referencia ninguna configuración específica de separación. No obstante, en la tabla 4.1 se presenta una comparación entre las dimensiones de diseño y las dimensiones reales del RH, las diferencias entre los valores de las dimensiones son producto del proceso de fabricación utilizado. Aunque no se conoce la repercusión de estas desviaciones, es importante indicar las características geométricas reales del hidrociclón con el que se hizo la experimentación.

**Tabla 4.1. Dimensiones de diseño y dimensiones reales.**

Nombre	Dimensión de diseño	Dimensión real
Diámetro de la entrada del fluido ( $D_{ab}$ )	0.013 m	0.011 m
Altura del buscador de vórtices ( $S$ )	0.085 m	0.090 m
Diámetro del buscador de vórtices ( $D_e$ )	0.014 m	0.014 m
Diámetro principal del ciclón ( $D_c$ )	0.100 m	0.100 m
Altura del cilindro principal ( $H_c$ )	0.135 m	0.136 m
Altura total del ciclón ( $H_T$ )	0.420 m	0.418 m
Diámetro de salida inferior ( $B$ )	0.014 m	0.013 m
Volumen interno ( $V_r$ )	2.0 l	1.98 l

La  $r_{sv}$  para el RH es de  $69.8 \text{ m}^{-1}$  mientras que para las botellas de vidrio es de  $45 \text{ m}^{-1}$  lo cual en función de lo mencionado en la literatura (Tredici, 2004; Posten, 2009) debe favorecer el cultivo de microalgas, de hecho entre mayor es este parámetro lo es a su vez la  $\rho_c$  que se puede lograr en el sistema. El valor de la  $r_{sv}$  para los reactores tubulares alcanza hasta  $100 \text{ m}^{-1}$ , la cual es inversamente proporcional al diámetro del tubo ya que el aumento en el diámetro trae como resultado la disminución en la  $r_{sv}$  (Ugwu, *et al.*, 2008; Posten, 2009; Vasumathi, *et al.*, 2012).

Para un reactor tubular con un diámetro igual al cilindro del hidrociclón la  $r_{sv}$  es de  $40 \text{ m}^{-1}$ , la cual es menor que en el RH. Por otro lado, en los reactores de panel el valor promedio de la  $r_{sv}$  es  $50 \text{ m}^{-1}$  (Tredici, 2004; Posten, 2009; Wang, *et al.*, 2012), esta cantidad es inversamente proporcional a la separación de las placas ya que entre menor es ésta, la difusión y distribución de la luz son más uniformes y eficientes aumentando la  $\rho_c$  óptima y la  $\gamma$  (Wang, *et al.*, 2012). Con lo anterior, se observa que el diseño del RH es una propuesta potencial para el cultivo de microalgas considerando que su  $r_{sv}$  es mayor que la de los reactores tubulares, en panel y las botellas de cara plana de vidrio.

En la figura 4.1 se muestra el ensamble de la parte inferior del RH donde se puede apreciar la forma de sello con las bridas de acero inoxidable, la tapa, las patas y el acople a la tubería. También se identifica la forma en la que el RH está soportado a dos perfiles IPS de 0.04 m. Para sujetar la tapa inferior, el labio inferior del RH y la brida, se utilizaron tuercas de mariposa para apretar con la mano y evitar que la fuerza aplicada con una llave pudiera dañar o romper el reactor.



Figura 4.1. Ensamble de la parte inferior del RH.

A su vez, en la figura 4.2 se muestra el ensamble de la parte superior del RH en la cual se aprecia la sujeción del buscador de vórtices a la tapa superior, la brida de cierre, el acople entre el buscador de vórtices y la tubería, la placa de soporte y el elemento de inyección, en esta sección también se utilizaron tuercas de mariposa.



Figura 4.2. Sección superior del RH.

En la figura 4.3 se presenta el ensamble completo del RH donde se puede apreciar el buscador de vórtices dentro del reactor, el acople entre la tubería y la entrada del hidrociclón, así como la manguera de alimentación de aire posterior al RH y el manómetro correspondiente a la medición de la presión de la salida inferior ( $P_{SI}$ ).



Figura 4.3. Ensamble completo del RH.

En la figura 4.4 se muestra la bomba que está soportada en secciones de perfil de 0.04 m y se encuentra acoplada a la tubería de Polipropileno Copolímero Random (PP-R) con elementos de cpvc en lugar de estar directa con un adaptador macho del mismo material de la tubería. Esta modificación se requirió por que las dimensiones del adaptador macho de (PP-R) no permitían que esta pieza se ajustara correctamente a la bomba, la repercusión de este cambio reside en el aumento de la velocidad promedio del flujo en su paso por esta sección de cpvc en un 34 %.



Figura 4.4. Bomba de la instalación.

Una parte importante del sistema hidráulico que no se consideró en la etapa de diseño fue la forma de drenado del líquido de la instalación. Esta necesidad se hizo evidente en el momento en que se iniciaron las pruebas del funcionamiento del sistema, por ello se agregó una derivación que controla el drenado de la instalación mediante una válvula de bola como se muestra en la figura 4.5.

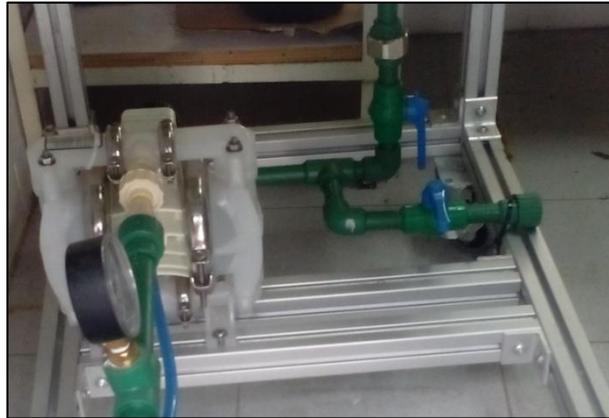


Figura 4.5. Tubería para el drenado del sistema.

Otro aspecto importante fue la colocación de un elemento que permitió tomar las muestras del cultivo durante la experimentación con *S. incrassatulus*. Este elemento está roscado en un extremo para acoplarse al contenedor y con espiga en el otro extremo para colocar una manguera y una piza como se observa en la figura 4.6.



Figura 4.6. Punto donde se realizó el muestreo para evaluar el estado del cultivo.

En la figura 4.7 se muestra una fotografía general de la instalación, donde se observan los cuatro sistemas que la constituyen (hidráulico, neumático, iluminación y soporte), los medidores de presión, los sensores de flujo y el panel de control.



Figura 4.7. Fotografía de la instalación.

## 4.2 Caracterización de los sensores de flujo

El valor de la variable  $F1$  corresponde al caudal de entrada al RH, mientras que el valor de  $F2$  representa el flujo del medio de cultivo que sale por el ápex del cono. En la figura 4.8 se muestran los resultados de la medición y las interpolaciones para  $F1$ , se observa que en el rango de 1000 a 1500 pulsos el comportamiento real del sensor es bastante cercano a la aproximación proporcionada por el fabricante sin embargo, conforme aumenta  $n_p$  se incrementa la desviación llegando a tener un error relativo porcentual ( $E_r$ )

mayor a 20 % en el extremo derecho de la gráfica (4500 pulsos), por el contrario de los resultados obtenidos con las aproximaciones generadas cuyo máximo es  $E_r \approx 3 \%$ .

En la figura 4.9 se muestran los valores de  $V_p$  para  $F1$  obtenido de la medición y los cálculos con las configuraciones (50, 100 y 200) en el intervalo para  $n_p$  de 1400 - 1600 que corresponde a un intervalo para  $V_p$  de 1.49 – 1.67 l. En esta gráfica se observa la variación entre los diferentes valores medidos y la desviación con las cuatro configuraciones de interpolación.

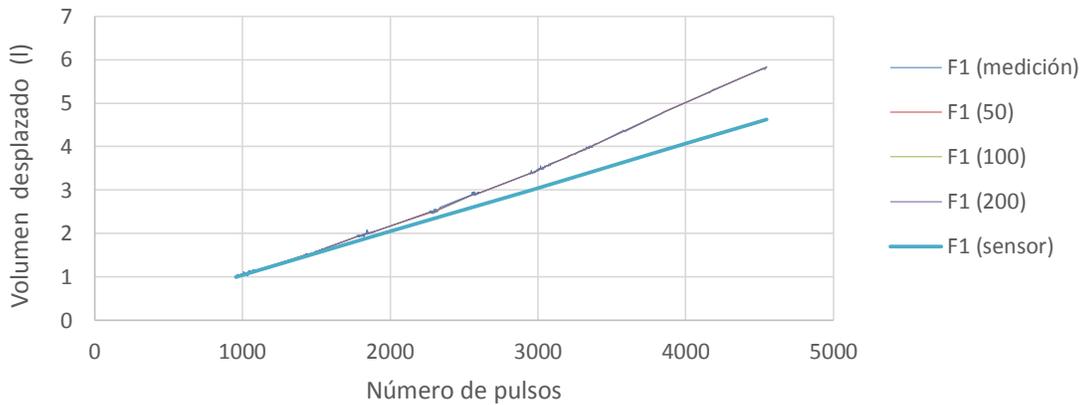


Figura 4.8. Gráfica de los valores  $V_p$  para  $F1$  calculados con interpolación usando las tres configuraciones de  $Ln_p$  y los valores del fabricante del sensor.

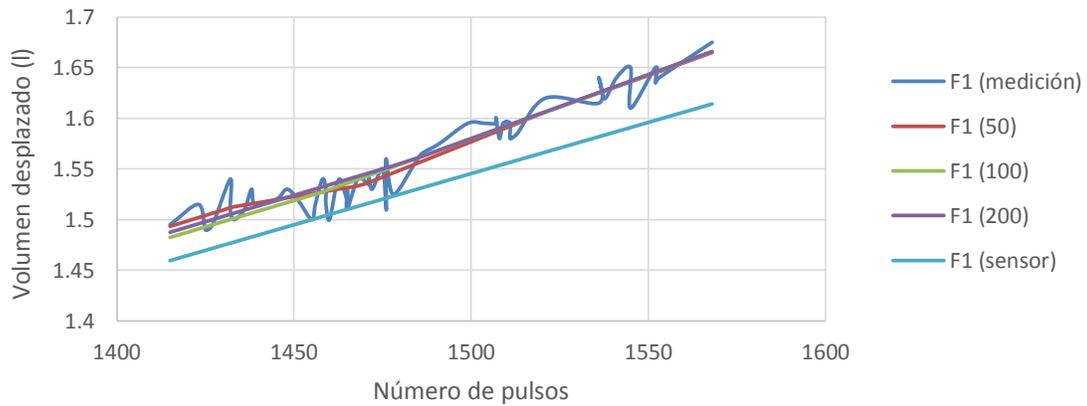


Figura 4.9. Gráfica de los valores de  $V_p$  para  $F1$  calculados con interpolación usando las tres configuraciones de  $Ln_p$  y los valores del fabricante del sensor para  $n_p$  de 1400 - 1600.

En la figura 4.10 se muestra una gráfica con el error relativo porcentual de las tres configuraciones de  $Ln_p$  considerando los valores originales de las mediciones. En este diagrama se observa que el  $E_r$  máximo en cualquiera de las configuraciones es menor al 3%. Esta información permitió determinar que los promedios obtenidos con  $Ln_p = 200$  son la mejor opción ya que a pesar de que el número de puntos para la interpolación es menor (17 puntos) que para  $Ln_p = 100$  (24 puntos) o  $Ln_p = 50$  (34 puntos), el  $E_r$  máximo es similar en cada configuración, a diferencia del cálculo realizado con la curva de interpolación proporcionada por el fabricante, en la cual el  $E_r$  aumenta conforme lo hace  $n_p$ . En las tres configuraciones de  $Ln_p$  se encontraron puntos donde el  $E_r = 7\%$ , sin embargo este valor se debe a la variación en la medición del volumen desplazado con las probetas.

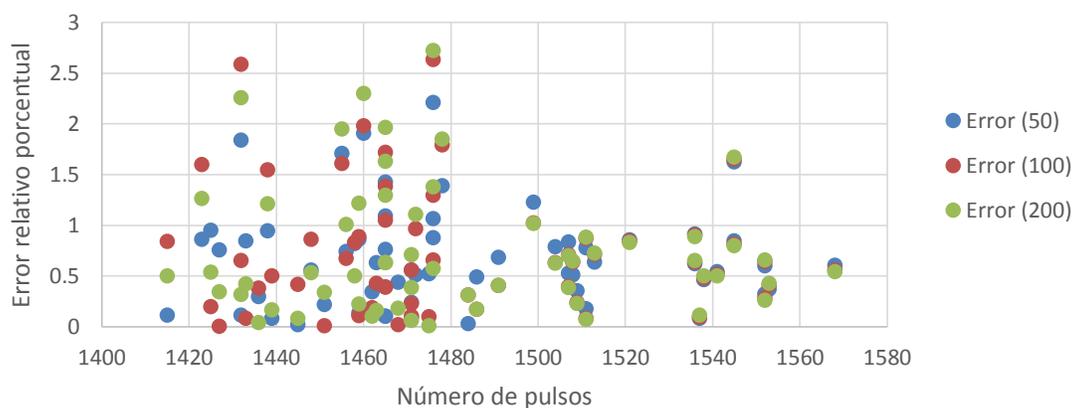


Figura 4.10. Gráfica de los valores de  $E_r$  para  $F1$  calculados con interpolación usando las tres configuraciones de  $Ln_p$  para  $n_p$  de 1400 - 1600.

En la figura 4.11 se muestran los resultados de la medición y las interpolaciones para  $F2$ . En esta gráfica se observa que en todo el rango de  $n_p$  el comportamiento real del sensor es bastante cercano a la aproximación proporcionada por el fabricante. En la figura 4.12 se observan los valores de  $V_p$  para  $F2$  obtenido de la medición y los cálculos con las tres configuraciones de  $Ln_p$  (50, 100 y 200) en el rango para  $n_p$  de 650 - 850 donde la curva de interpolación del sensor difiere de las mediciones. Sin embargo, esta desviación se atañe

a las pocas muestras tomadas en ese intervalo y la variación en la medición del volumen desplazado con las probetas, ya que como se observa en la gráfica del  $E_r$  (figura 4.13), la magnitud de esta cantidad tiende a estabilizarse después de  $n_p = 900$ .

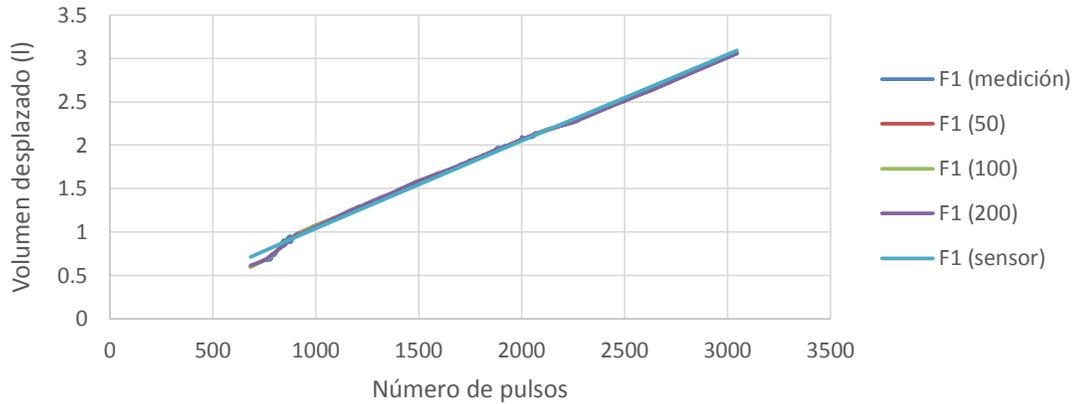


Figura 4.11. Gráfica de los valores de  $V_p$  para  $F2$  calculados con interpolación usando las tres configuraciones de  $Ln_p$  y los valores del fabricante del sensor.

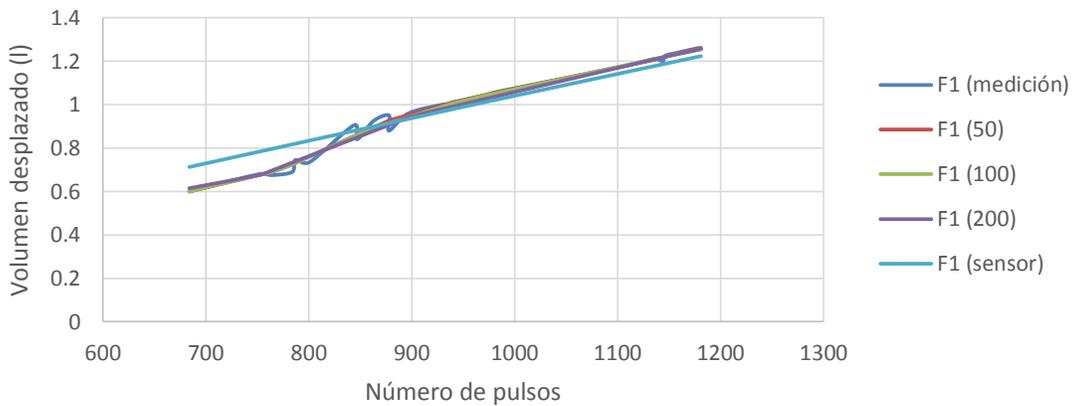


Figura 4.12. Gráfica de los valores de  $V_p$  para  $F2$  calculados con interpolación usando las tres configuraciones de  $Ln_p$  y los valores del fabricante del sensor para  $n_p$  de 650 - 1200.

A partir de la figura 4.13 se observa que  $E_r \approx 4\%$  con el cálculo de la curva de interpolación dada por el fabricante, por lo que se estableció que esta es la mejor opción para realizar el cálculo del flujo para  $F2$  ya que consta de 7 puntos de interpolación, a diferencia de  $Ln_p = 200$  (15 puntos),  $Ln_p = 100$  (24 puntos) o  $Ln_p = 50$  (37 puntos).

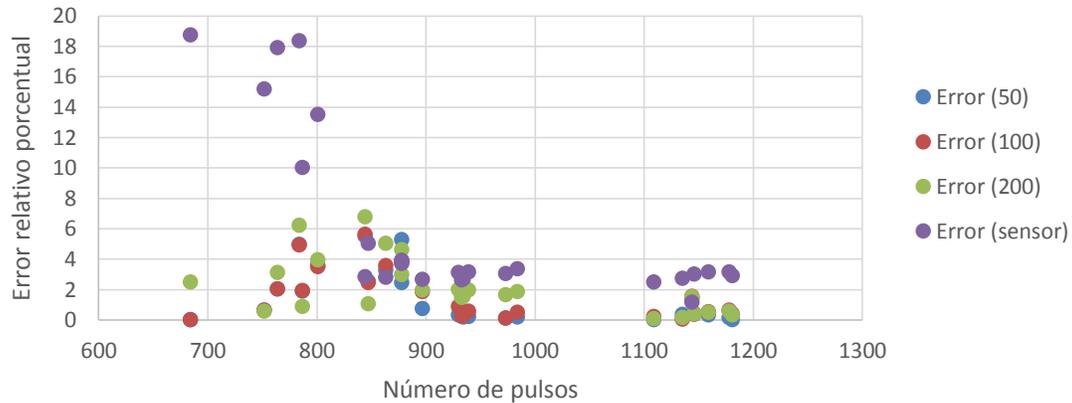


Figura 4.13. Gráfica de los valores de  $E_r$  para  $F_2$  calculados con interpolación usando las tres configuraciones de  $Ln_p$  para  $n_p$  de 650 - 1200.

Los puntos de interpolación resultantes del análisis de datos de  $F_1$  y  $F_2$  se incorporaron a un programa para el Arduino Nano que calcula el valor de los flujos  $F_1$  y  $F_2$  promedio a partir de la lectura del  $n_p$  para los dos sensores. Este programa también calcula el flujo  $F_3$  considerando la ley de conservación de la masa. Posteriormente se desarrolló un dispositivo que despliega en una pantalla de LCD el monitoreo de los flujo  $F_1$ ,  $F_2$  y  $F_3$  calculados con el Arduino Nano como se muestra en la figura 4.14. La fuente de alimentación de este módulo es un cargador de 5 V con corriente de 0.2 A.



Figura 4.14. Pantalla indicando el valor de los flujos  $F_1$ ,  $F_2$  y  $F_3$ .

A la vez que se desarrolló el dispositivo de medición del flujo anteriormente descrito se encontró una relación entre el ciclo del pistón de la bomba y el volumen desplazado por

los diafragmas. Esto se determinó a partir de la medición del tiempo que tarda el actuador neumático en cumplir 10 ciclos, con lo que se calculó el tiempo de un ciclo y el número de ciclos en el periodo de medición. Con esta información se computó el volumen desplazado por ciclo ( $V_c$ ) el cual proporciona una medida indirecta del flujo  $F1$  si se conoce cualquier valor de  $t_c$ . En función de las mediciones realizadas se encontró el valor de  $V_c = 0.143$  l, graficando la diferencia de los valores para  $F1$  calculados con la interpolación de Lagrange ( $Ln_p = 200$ ) y el  $V_c$  se tiene que en el intervalo de 2 – 8 l el cálculo del flujo  $F1$  con este valor para  $v_c$  proporciona un  $E_r < 1\%$ , por lo que este método se puede utilizar como una aproximación rápida. En la figura 4.15 se muestra el comportamiento de esta aproximación.

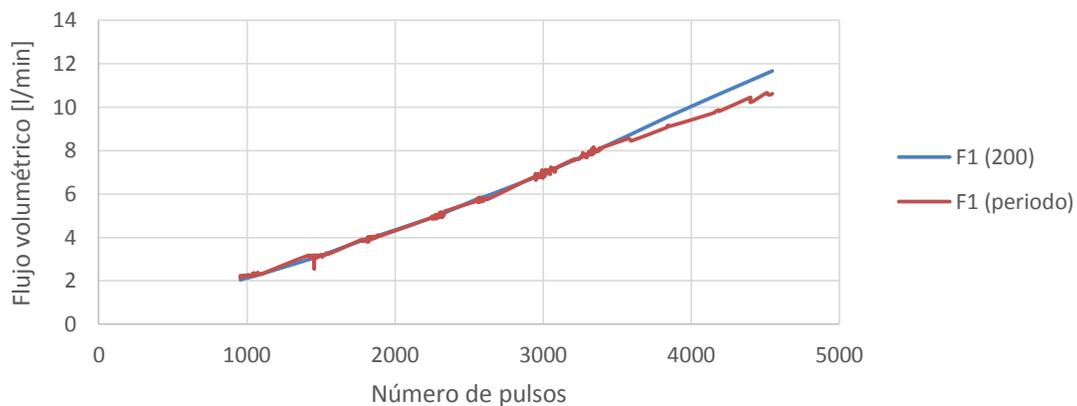


Figura 4.15. Comparación del valor de  $F1$  calculado con la interpolación de Lagrange y con el  $V_c = 0.143$  ml.

### 4.3 Visualización de flujo

#### 4.3.1 Estudio general

Los resultados se graficaron en función del incremento porcentual del caudal de aire considerando el rango de medición de los rotámetros. A partir de los resultados se identificaron dos estados. El primer estado contempla el intervalo para  $F1$  de 2.5 – 4.1 l / min, en el cual bajo condiciones de alimentación nula de aire, el porcentaje del medio que evacúa por la salida inferior ( $F2$ ) es mayor al porcentaje que lo hace por la salida superior

( $F_3$ ), siendo mayor la diferencia cuando  $F_1$  es 2.5 l / min ( $F_2 = 85 \%$  y  $F_3 = 15 \%$ ) y menor cuando  $F_1$  es 4.1 l / min ( $F_2 = 51 \%$  y  $F_3 = 49 \%$ ). Este aumento se debe a que el orificio del ápex no es suficientemente grande para liberar todo fluido que está entrando conforme se incrementa  $F_1$ . En este estado, el suministro de aire al RH modificó el comportamiento del líquido debido a que el flujo del aire incrementó la presión dentro del RH, reduciendo y limitando el flujo de líquido que entraba al buscador de vórtices. El aire obligó al medio de cultivo a desplazarse hacia abajo, disminuyendo y limitando el caudal  $F_3$ .

Ahora bien, en la figura 4.16 se muestra el nivel del líquido dentro del RH con  $F_1 = 4.1$  l / min sin la alimentación de aire. Por su parte, en las figuras 4.17, 4.18 y 4.19 se muestran las gráficas de la variación de los caudales  $F_1$ ,  $F_2$  y  $F_3$  en función del incremento del flujo de aire para  $F_1 = 2.5$  l / min,  $F_1 = 3.2$  l / min y  $F_1 = 4.1$  l / min respectivamente. En las primeras dos gráficas se aprecia que el caudal  $F_3$  es nulo inmediatamente cuando inicia el suministro del aire, a diferencia de la gráfica de la figura 4.19, donde la variación en los caudales  $F_2$  y  $F_3$  es paulatina, llegando a ser  $F_2 = F_1$  y  $F_3 = 0$  para el máximo flujo de aire.



Figura 4.16. RH con  $F_1 = 4.1$  l / min sin la alimentación de aire.

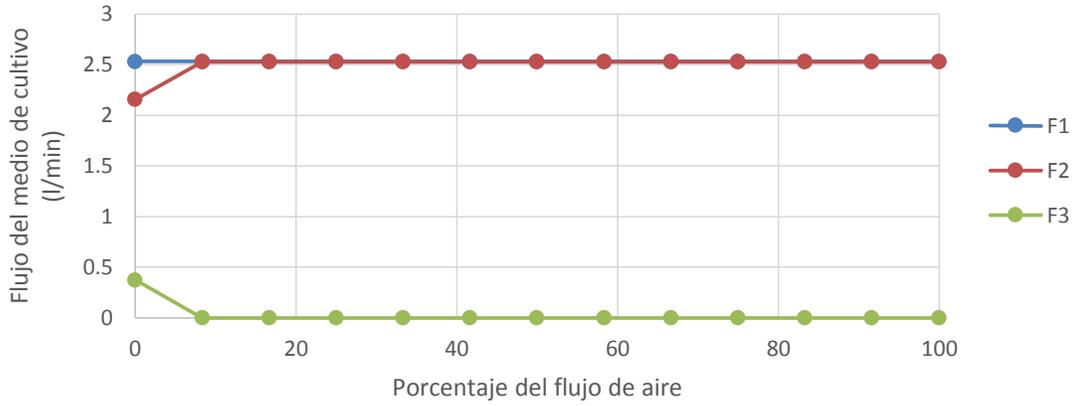


Figura 4.17. Gráfica de  $F_1$ ,  $F_2$  y  $F_3$  en función del flujo de aire para  $F_1 = 2.5$  l / min.

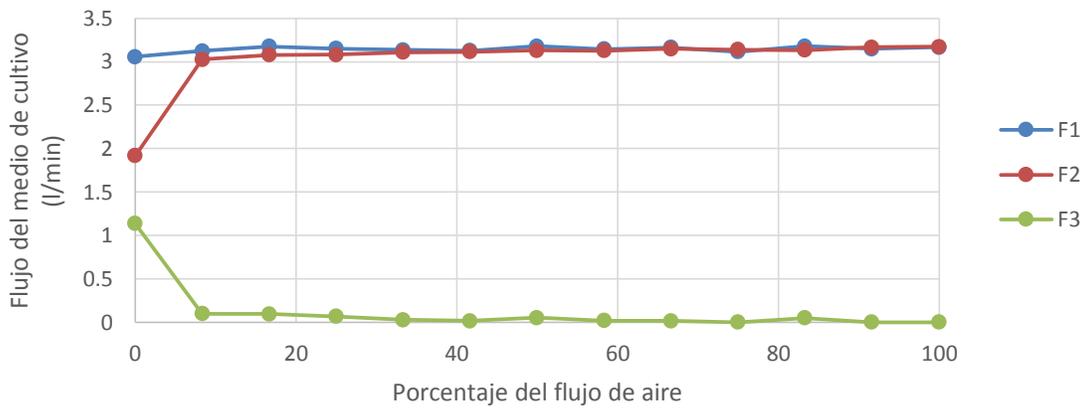


Figura 4.18. Gráfica de  $F_1$ ,  $F_2$  y  $F_3$  en función del flujo de aire para  $F_1 = 3.2$  l / min.

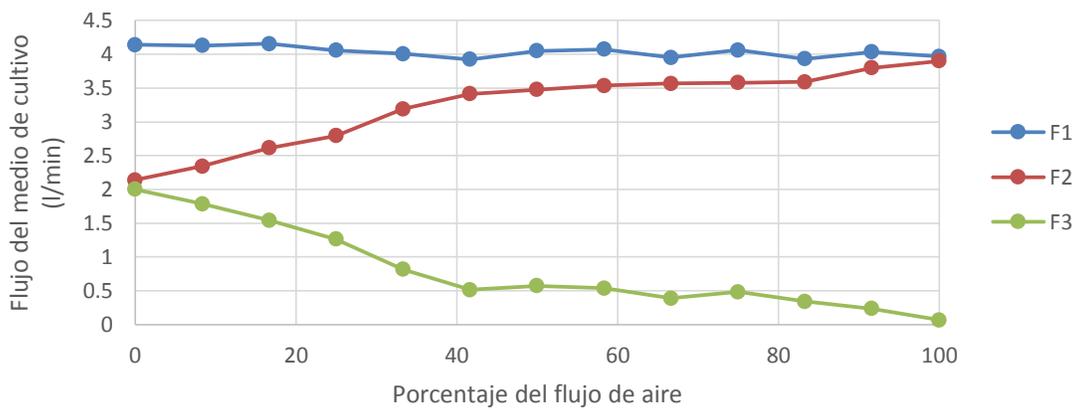


Figura 4.19. Gráfica de  $F_1$ ,  $F_2$  y  $F_3$  en función del caudal de aire para  $F_1 = 4.1$  l / min.

La diferencia del nivel del líquido ante el mínimo y el máximo porcentaje de alimentación de aire al RH se muestra en la figura 4.20. En dichas imágenes se identifica que el aumento en el caudal de aire incrementó la presión ejercida por este fluido dentro del RH, lo cual ocasionó el incremento del desplazamiento del líquido por la salida inferior.



Figura 4.20. Niveles del líquido en el RH con el caudal de aire al 10% (izquierda) y 100% (derecha).

Otro efecto del aumento en la presión del aire dentro del RH es la disminución del caudal  $F_1$  debido a que el aire limita la entrada del medio de cultivo al RH, esto se ve reflejado en el aumento de las presiones de entrada y salida del RH y la disminución del flujo  $F_1$ . En la figura 4.21 se muestran los cambios de las presiones  $P_{ER}$ ,  $P_{SS}$  y  $P_{SI}$  en función del incremento del caudal de aire para  $F_1 = 4.1 \text{ l / min}$ .

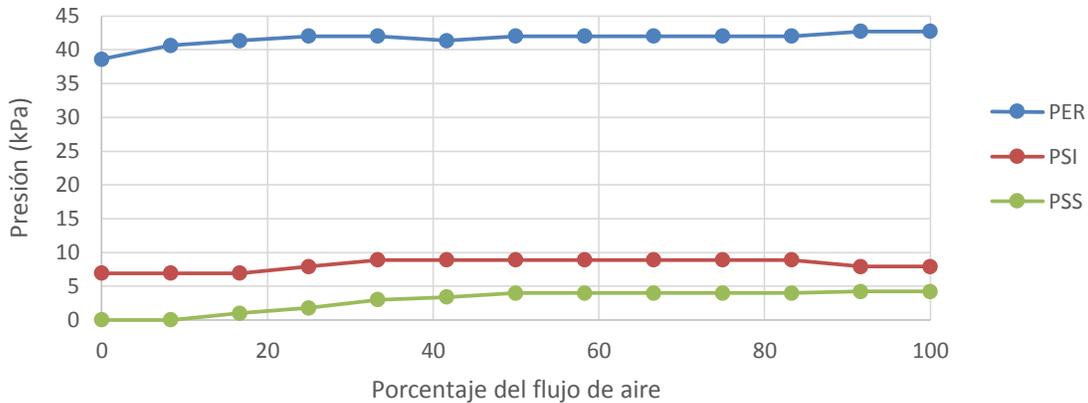


Figura 4.21. Gráfica de  $P_{ER}$ ,  $P_{SS}$  y  $P_{SI}$  en función del caudal de aire para  $F1 = 4.1$  l / min.

El segundo estado está identificado por el rango para  $F1$  de 4.2 - 6.4 l / min, en el cual el caudal  $F3 \geq F2$  bajo alimentación nula de aire. En las figuras 4.22, 4.23 y 4.24 se muestran los caudales  $F1$ ,  $F2$  y  $F3$  en función del incremento del flujo de aire para  $F1 = 4.9$  l / min,  $F1 = 5.8$  l / min y  $F1 = 6.4$  l / min respectivamente. En dichas gráficas se observa que conforme se incrementa el caudal de aire, hay un aumento en el flujo  $F2$ , compensado con la disminución del flujo  $F3$ , sin embargo en este estado la presión que ejerce el aire no evita que el medio de cultivo entre al buscador de vórtices, por lo que  $F3 > 0$ .

En la gráficas de las figuras 4.22, 4.23 y 4.24 también se observa que conforme aumenta el caudal  $F1$ , se reduce a su vez la diferencia en las proporciones de los caudales  $F2$  y  $F3$ . Por ejemplo, para el 100% del caudal de aire, se tiene que las proporciones son  $F2 = 81$  % y  $F3 = 19$  % para  $F1 = 4.9$  l / min,  $F2 = 73$  % y  $F3 = 27$  % para  $F1 = 5.8$  l / min,  $F2 = 69$  % y  $F3 = 31$  % para  $F1 = 6.4$  l / min. Así mismo, al igual que en el primer estado el incremento del caudal de aire es proporcional a la presión dentro del RH, lo cual trae como consecuencia la disminución del caudal  $F1$  como se muestra en la figuras 4.24 y 4.25.

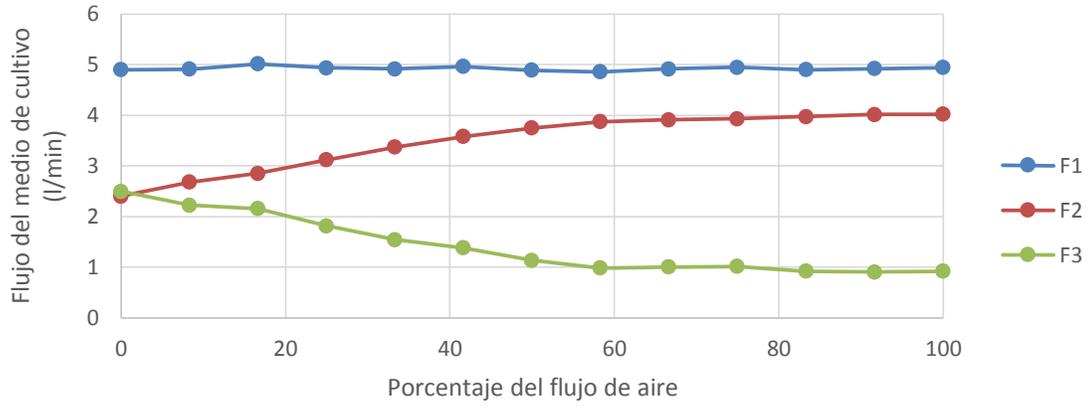


Figura 4.22. Gráfica de  $F_1$ ,  $F_2$  y  $F_3$  en función del caudal de aire para  $F_1 = 4.9$  l / min.

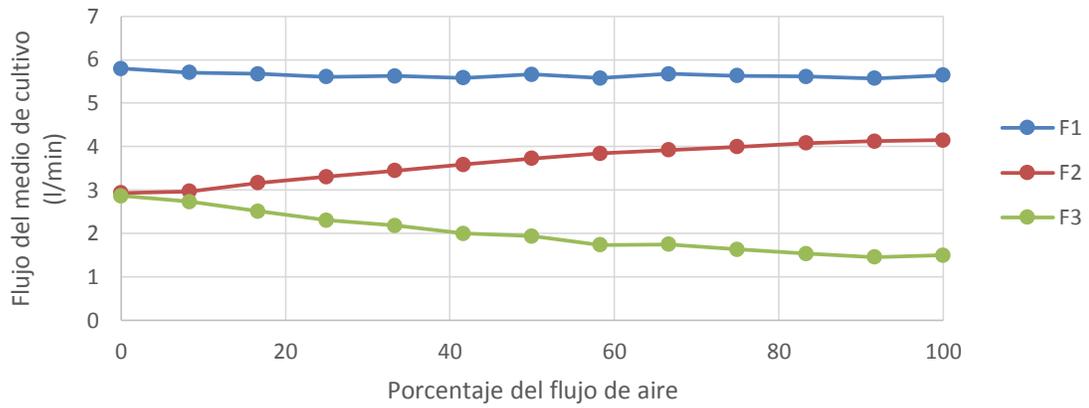


Figura 4.23. Gráfica de  $F_1$ ,  $F_2$  y  $F_3$  en función del caudal de aire para  $F_1 = 5.8$  l / min.

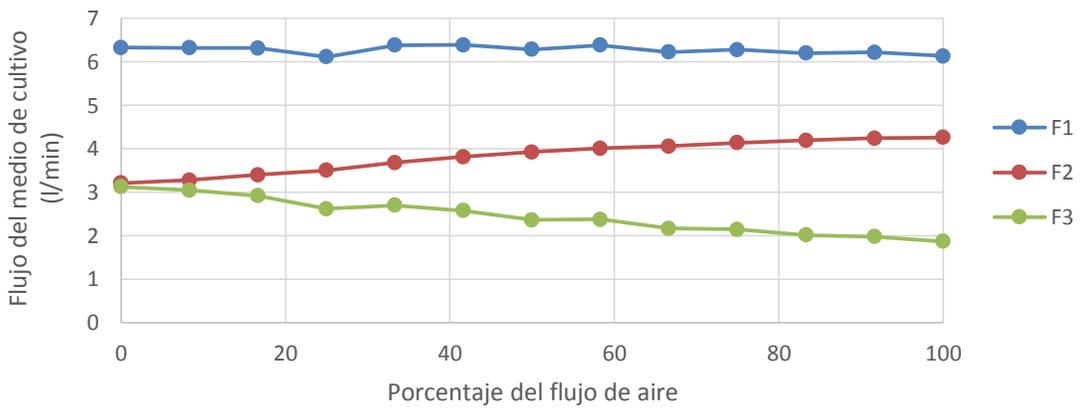


Figura 4.24. Gráfica de  $F_1$ ,  $F_2$  y  $F_3$  en función del caudal de aire para  $F_1 = 6.4$  l / min.

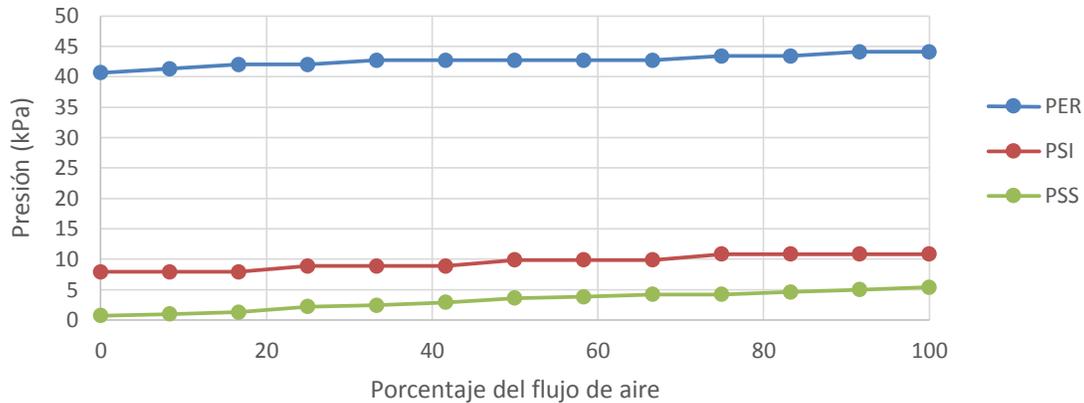


Figura 4.25. Gráfica de  $P_{ER}$ ,  $P_{SS}$  y  $P_{SI}$  en función del caudal de aire para  $F1 = 6.4 \text{ l / min}$ .

Wang, *et al.* (2007) indican que el valor de la velocidad tangencial en la pared y en el centro del dispositivo es cero, mientras que la velocidad del fluido aumenta de 1.5 a 2.0 veces en la entrada del hidrociclón y se desacelera conforme gira descendentemente a lo largo de la pared. La presencia de aire en el RH disminuye los efectos de la condición de no deslizamiento y la fricción entre el medio de cultivo y la pared del reactor ya que el líquido en lugar de tener únicamente contacto con una superficie cuya velocidad es cero, también lo hace con el aire cuya velocidad es mayor a cero, lo cual reduce el espesor de la capa límite. Wang, *et al.* (2007) mencionan que antes de llegar a la entrada del buscador de vórtices el flujo descendente colisiona con el flujo ascendente formando perturbaciones aleatorias en las cercanías de la pared exterior del buscador de vórtices, en esta región la velocidad del flujo disminuye bruscamente y puede incluso cambiar su dirección. La alimentación del caudal de aire incrementa el tamaño de las perturbaciones y la velocidad del líquido y conforme se incrementan los flujos de alimentación (aire y medio de cultivo) lo hacen a su vez las perturbaciones en las inmediaciones de la entrada del buscador de vórtices como se muestra en las figuras 4.26 y 4.27. Esta turbulencia generada en el interior de RH consume la energía del flujo y reduce la presión, lo cual se constata en los resultados de las mediciones que se muestran en las figuras 4.24 y 4.25.



Figura 4.26. Comportamiento del flujo con alimentación de líquido  $F_1 = 4.9$  l / min y caudal mínimo (izquierda) y máximo (derecha) de aire.



Figura 4.27. Comportamiento del flujo con alimentación de líquido  $F_1 = 6.4$  l / min y caudal mínimo (izquierda) y máximo (derecha) de aire.

#### 4.3.2 Estudio particular

La segunda sección de este apartado consiste en el estudio del flujo bajo las condiciones de operación seleccionadas para la cinética de cultivo. En la literatura (Tredici, 2004; Carvalho, *et al.*, 2006; Posten, 2009; Zhang, *et al.*, 2013; Liao, *et al.*, 2014) se menciona que la velocidad de operación para los reactores tubulares debe ser entre 0.2 m / s y 0.5 m / s lo cual corresponde al rango del caudal promedio de 1.95 – 4.88 l / min.

A partir de esta información y los resultados de la primera parte del estudio de visualización de flujo ( $F_1$  de 2.5 – 4.1 l / min donde el caudal de aire provoca que  $F_2 = F_1$  y  $F_3 = 0$ ), se estableció que las condiciones para la cinética de crecimiento fueran  $P_{RP} =$

300 kPa,  $P_{RR} = 200$  kPa,  $F_1 = 3.9$  l / min y  $FA = 2.5$  l / min. Esto con la intención de trabajar dentro del rango de velocidad reportado (0.4 m / s) y evaluar el crecimiento en el RH considerando únicamente la salida del medio de cultivo por el ápex del cono y la salida del aire por el buscador de vórtices. El  $Re$  de la tubería para estas condiciones es de 5742, el cual en función de lo descrito en la literatura (Mathieu y Scott, 2000) indica que el régimen del flujo en la tubería es turbulento.

En la figura 4.28 se muestra el RH con las condiciones de operación establecidas anteriormente donde se observa que en la parte cilíndrica se desarrolla una región de aire. La selección de esta configuración radicó en el hecho de que en esta zona superior de aire se propicia el desarrollo del intercambio de gases entre el medio de cultivo y el aire (absorción de  $CO_2$  y liberación de  $O_2$ ) ya que al entrar el líquido al RH se desliza por la pared de este, lo cual reduce la longitud de penetración de la luz y aumenta el área de contacto entre el medio de cultivo y el aire. Esto tiene como objetivo beneficiar el crecimiento celular porque las células que entran en el reactor han estado expuestas a un periodo de oscuridad y en esta zona el medio de cultivo es una película delgada por lo que se maximiza el acceso a la luz.



Figura 4.28. RH bajo condiciones de operación seleccionadas para la cinética de crecimiento.

El flujo del líquido a la entrada del RH puede considerarse como una consecución de pulsos con volumen promedio  $V_{pulso} \approx 70$  ml (un ciclo del pistón está caracterizado por dos pulsos) y cuya presión y velocidad no son uniformes, siendo mayores para las partículas que ingresan primero y se va reduciendo conforme se va terminando el volumen desplazado del pulso. Esta característica tiene como consecuencia que parte de las partículas logran adquirir un movimiento tangencial descendente siguiendo la pared del RH, mientras que otras simplemente se deslizan verticalmente por dicha pared.

Las condiciones de operación seleccionadas provocan la generación de un vórtice del líquido únicamente. La alimentación de masa y energía no uniforme dentro del RH provoca la generación de perturbaciones en este vórtice. Al observar el movimiento del núcleo de aire, se notó que el eje de rotación no es lineal, de hecho es una curva variable no simétrica ni alineada con el eje del RH como se muestra en la figura 4.29.



Figura 4.29. Núcleo de aire dentro del RH donde se aprecia que su eje no es lineal ni simétrico.

El flujo de líquido en su paso por la entrada de aire provoca la generación de burbujas que se rompen al chocar contra la superficie superior del vórtice de líquido. Esto genera burbujas que son succionadas por el centro del remolino y colisionan con el núcleo

de aire como se muestra en la figura 4.30. Dichas burbujas se dividen formando micro burbujas que giran en el mismo sentido que el líquido, sin embargo tienen dirección ascendente por la diferencia de densidad entre el aire y el líquido. Este movimiento genera una diferencia de presión que empuja el líquido hacia arriba incrementando su tiempo de residencia en el RH.



Figura 4.30. Burbujas que se generan por la interacción del flujo de líquido y gas.

La alimentación variable de masa y energía al vórtice tiene como consecuencia que se desarrollen zonas con velocidades diferentes lo cual provoca que el vórtice se tuerza y apriete a lo largo de su eje. Esto aunado a la fuerza ascendente que ejercen las burbujas en el líquido conlleva a la generación del mezclado entre el medio de cultivo y las células que están ingresando al RH, el aire que es arrastrado por este y el medio de cultivo que se encuentra en el reactor. En la figura 4.31 se muestra la torsión del vórtice y el mezclado dentro del hidrociclón, se observa la presencia de burbujas de aire tanto en la superficie como en el eje del vórtice así como en la periferia. En esta imagen también se nota que parte del líquido que entra al reactor se desliza verticalmente sin aportar movimiento rotacional.

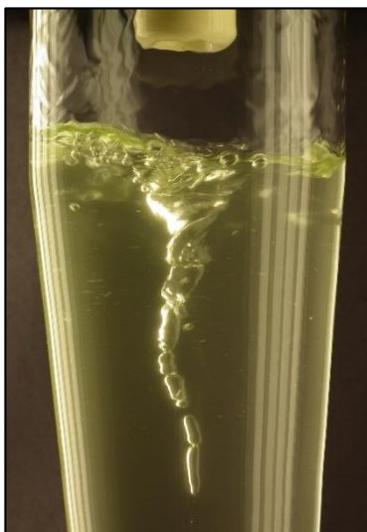


Figura 4.31. Torsión del flujo del vórtice y mezclado del medio del líquido y aire.

El mezclado mueve las partículas de fluido tanto vertical como horizontalmente, las cuales están en contacto con micro burbujas de aire. El análisis de estos sistemas no es sencillo debido a que están conformados por tres fases: sólida (células), líquida (medio de cultivo) y gaseosa (aire). Sin embargo, se espera que tanto el movimiento del líquido como su interacción con el aire tanto en la parte superior del reactor donde se encuentra la sección de aire como con las burbujas que se mueven en el vórtice, contribuyan a la generación de los ciclos luz-oscuridad, la distribución uniforme de los nutrientes y desechos en el cultivo de microalgas así como a mantener en movimiento las células lo cual evita que se asienten en el reactor. En la figura 4.32 se muestra una fotografía con las dimensiones del vórtice parametrizadas utilizando como referencia  $D_{ee} = 0.032$  m. La importancia del tamaño del vórtice y la oscilación de su eje radica en el desplazamiento vertical y horizontal que tienen las partículas dentro del RH.

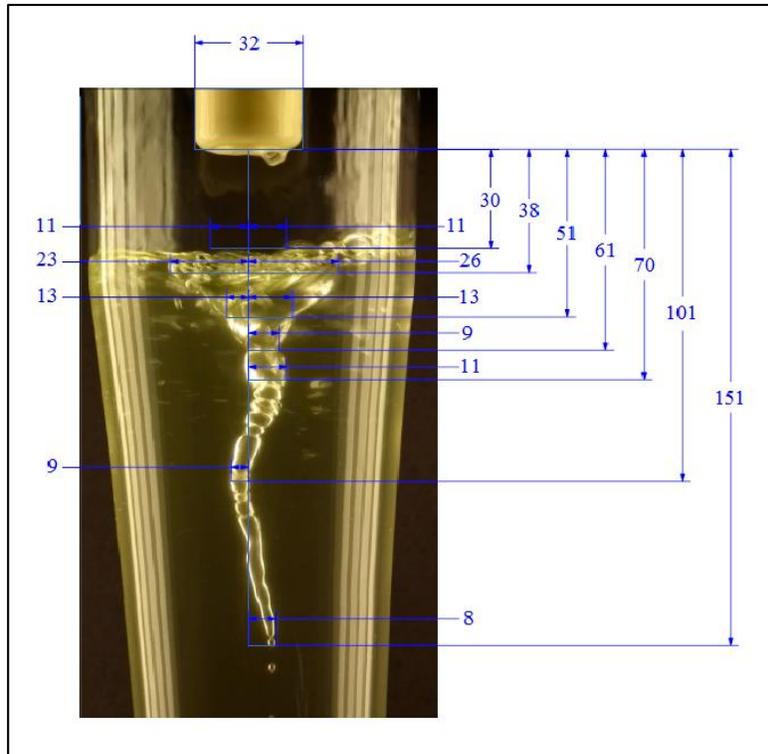


Figura 4.32. Dimensiones del vórtice en mm.

En los trabajos encontrados en la literatura (Lance, 2012; Voleti, 2012; Zhang, *et al.*, 2013; Huang, *et al.*, 2014; Wang, *et al.*, 2014), las investigaciones se enfocan en el estudio y desarrollo de dispositivos que permitan la generación de flujos rotacionales, los cuales se consiguen mediante la colocación de baffles, mezcladores y alas delta. No obstante, el principio bajo el cual se estableció el uso del hidrociclón como fotobiorreactor es el aprovechamiento de la rotación del líquido y las partículas generado por la geometría del dispositivo, por lo que no se requiere la inserción de elementos adicionales como en los estudios mencionados.

#### 4.4 Cinética de crecimiento

En las figura 4.33 y 4.34 se presentan las curvas de crecimiento de *S. incrassatulus* en el medio PCG expresadas en términos de los cambios de la concentración de biomasa ( $W_{sb}$ ) en función del tiempo de incubación bajo las condiciones de crecimiento en la botella

de cara plana y el RH respectivamente. En estas gráficas se observa que el crecimiento en la botella de cara plana es más rápido que en el RH para las condiciones establecidas. De hecho, la concentración máxima (0.66 g / l) en la botella se consiguió al octavo día de iniciada la cinética, a diferencia del RH que en ese mismo periodo de tiempo el medio contenido presentó una concentración de 0.3 g / l. Por lo tanto la  $\mu$  en la botella de cara plana fue de  $0.38 \text{ d}^{-1}$ , mientras que en el RH fue de  $0.14 \text{ d}^{-1}$  en los primeros 12 días. No obstante, en la figura 4.34 se observa que a entre el día 12 y 13 no hubo incremento en la concentración de biomasa, lo cual se le atribuye a que las células entraron en un periodo de adaptación a las nuevas condiciones de iluminación en el RH ya que el día 12 se encendieron las lámparas del lado izquierdo de forma que se suministrara el doble de energía al cultivo y se pudiera evaluar si el crecimiento lento se debía a la falta de energía luminosa. Esto se comprobó con el incremento del  $W_{sb}$  el día 14, ya que una vez adaptado el organismo a las nuevas condiciones comenzó a crecer nuevamente pero con una  $\mu$  de  $0.21 \text{ d}^{-1}$  alcanzando una concentración de 0.51 g / l para ese día. En la literatura (Hu y Richmond, 1996; Janssen, 2002; Grobbelar, 2013) se menciona que uno de los aspectos más importantes que influyen en la velocidad de crecimiento es el acondicionamiento específico a la iluminación que presentan los organismos.

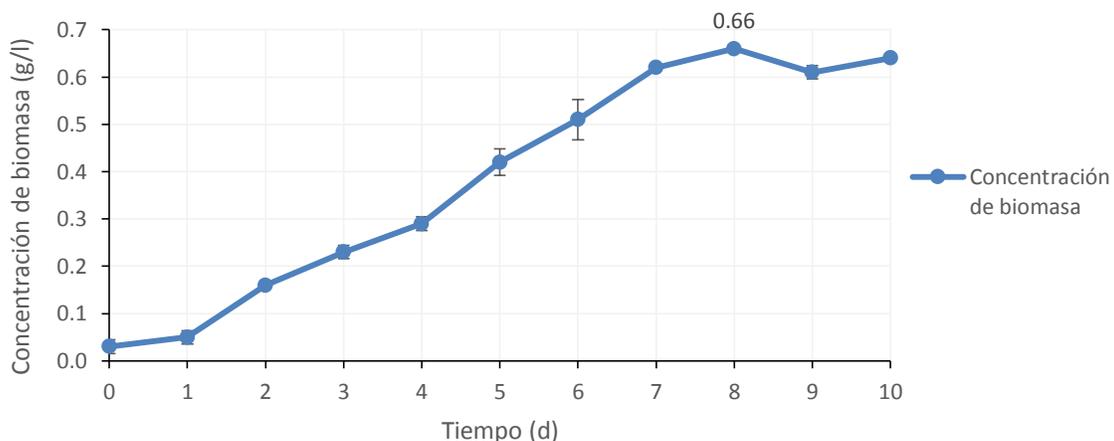


Figura 4.33. Curva de crecimiento de *S. incrassatus* en la botella de cara plana Schott® en términos del peso seco y el tiempo.

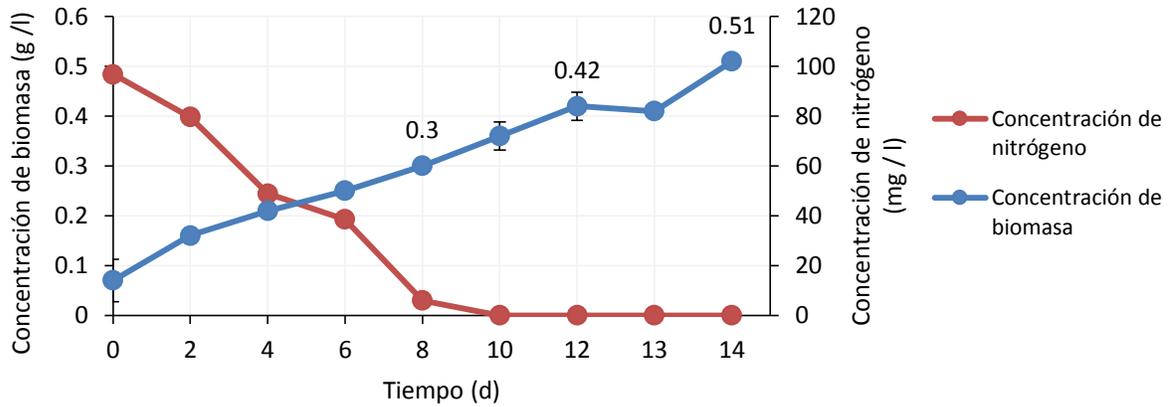


Figura 4.34. Curva de crecimiento de *S. incrassatulus* en el RH en términos del peso seco y el tiempo.

Así mismo en la gráfica de la figura 4.34 también se observa la evolución del nitrógeno en el sistema iniciando con una concentración de 96 mg / l. El consumo total se alcanzó el día 10 de la cinética, la tasa de consumo es similar a la reportada por Arias (2013) en cuyo ensayo inició con una concentración de nitrógeno de 44.75 mg / l el cual se terminó el día 5 de su experimento. Sin embargo, la  $\mu$  obtenida por Arias (2013) fue 0.421 d<sup>-1</sup> y la concentración de biomasa de 1.1 g / l, a diferencia del RH y la botella de cara plana que se obtuvieron 0.51 g / l y 0.66 g / l respectivamente. Esta variación se le atribuye a que las condiciones de alimentación fueron diferentes ya que Arias (2013) utilizó un medio PCG enriquecido con 1 g / l de glucosa lo cual incrementa el suministro de nutrientes a las células. Arias (2013) también reporta los resultados de otras investigaciones del laboratorio de microalgas en diferentes condiciones, para el crecimiento autotrófico  $\mu$  fue de 0.476 g / l, la cual es menor al resultado del RH.

Una característica de los organismos biológicos es la generación y acumulación de sustancias específicas cuando se encuentran bajo situaciones de estrés. En la literatura (Janssen, 2002; Masojídek, *et al.*, 2004) mencionan que la clorofila tipo a está presente en todos los microorganismos foto-autotróficos como una parte del núcleo y los centros de reacción de los complejos de proteína y pigmentos. Así mismo, las clorofilas a, b y c son

parte de la antena y trabajan como receptores en el proceso de absorción de luz. En condiciones naturales (iluminación y alimentación) las microalgas están sujetas a cambios en la irradiancia en un rango de uno o dos órdenes de magnitud por lo que para hacer frente a esa variación estos organismos han desarrollado diferentes mecanismos de adaptación teniendo como objetivo el balance entre las reacciones fotosintéticas. Por ejemplo, en condiciones de luz limitada incrementan la pigmentación (clorofila a y b) mediante el aumento del número de las unidades fotosintéticas y el tamaño de los complejos de absorción de luz. No obstante bajo condiciones de irradiancia superior a la óptima (la cual está función de cada especie y las condiciones ambientales) la pigmentación (clorofila a y b) de las células se reduce con la intención de limitar la capacidad de las células para la absorción de luz y evitar el daño (Masojídek, *et al.*; 2004).

En las gráficas de las figuras 4.35 y 4.36 se muestra la cuantificación de la concentración de los pigmentos durante el desarrollo del cultivo en la botella de cara plana y en el RH respectivamente. En dichas gráficas se nota la diferencia entre la concentración máxima de clorofila a y b y los carotenoides en los dos reactores. Para el RH las concentraciones máximas fueron  $C_a = 8.15$  mg / ml,  $C_b = 4.28$  mg / ml y  $C_c = 1.52$  mg / ml, mientras que en la botella de cara plana  $C_a = 2.94$  mg / ml,  $C_b = 1.20$  mg / ml y  $C_c = 1.29$  mg / ml. La variación en los resultados de la clorofila a y b y los carotenoides es consecuencia de las diferentes condiciones de flujo e iluminación desarrolladas en los reactores.

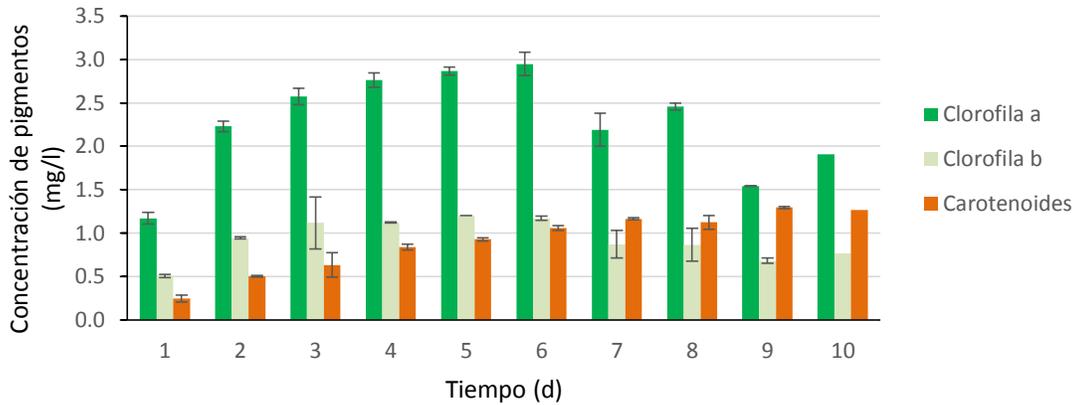


Figura 4.35. Evolución de la concentración de pigmentos en el cultivo para la cinética de crecimiento en la botella de cara plana.

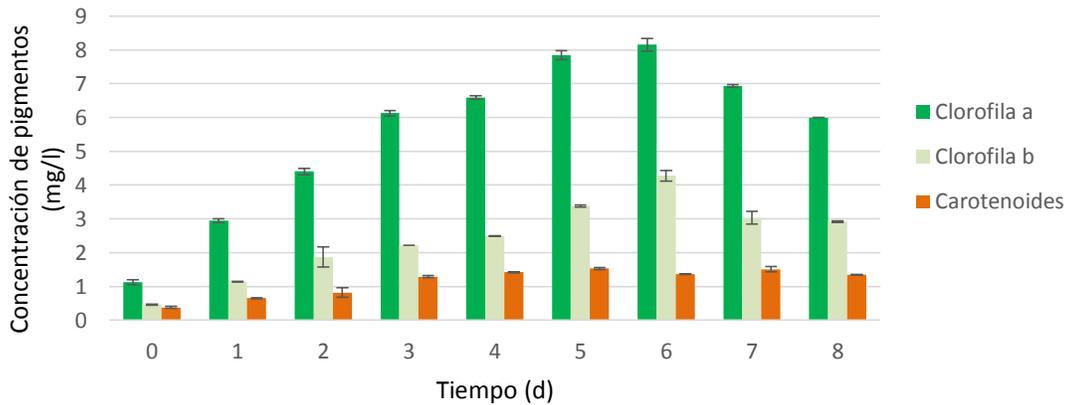


Figura 4.36. Evolución de la concentración de pigmentos en el cultivo para la cinética de crecimiento en el RH.

Al considerar la geometría de las botellas de vidrio (figura 4.37) se observa que éstas tienen superficies planas sobre las cuales incide la luz, lo cual asegura que en un área determinada la iluminación sea constante. Para este estudio el área iluminada fue de  $18 \times 10^{-3} \text{ m}^2$  con una  $I$  de  $125 \mu\text{mol} / \text{cm}^2$ .



Figura 4.37. Botella de cara plana utilizada como reactor.

Por otro lado el RH tiene una geometría con superficies circulares por lo que la energía luminosa que entra al cultivo es variable siendo máxima en la región perpendicular a la dirección de iluminación ( $130 \mu\text{mol} / \text{cm}^2$ ) y mínima a  $90^\circ$  de esta región en ambos sentidos. Esta característica se aprecia en la imagen de la figura 4.38 donde los puntos A y B representan la máxima y mínima iluminación en un hemisferio del RH. La consecuencia de esto se ve reflejada en los valores de  $C_a$  y  $C_b$  (figura 4.36), los cuales son el resultado de los mecanismos desarrollados en las células que tienen como objetivo aumentar la cantidad de energía absorbida cuando se encuentran en condiciones de iluminación limitada, lo cual corresponde a lo indicado en la literatura (Janssen, 2002; Masojídek, *et al.*, 2004), sin embargo pese a esta capacidad de adaptación de los organismos fotosintéticos las condiciones de restricción de luz repercutieron en  $\mu$  y  $W_{sb}$ .

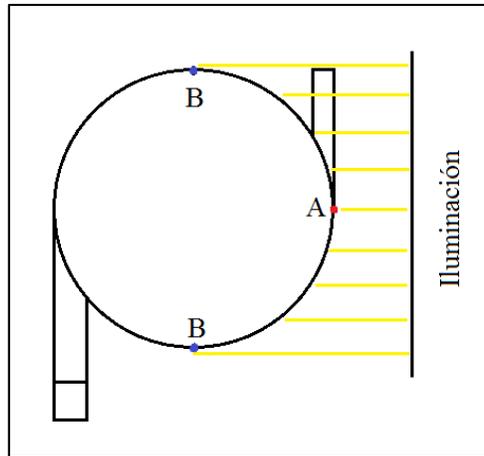


Figura 4.38. Regiones de iluminación variable en el RH.

Las células de microalgas pueden considerarse como sistemas en los que la energía que es absorbida se utiliza en diversos procesos como son la generación de pigmentos, aceites y proteínas, el transporte intracelular y la emisión de fluorescencia y calor por mencionar algunos. En función de las condiciones bajo las cuales se encuentran los organismos y las características de cada especie, puede aumentar o disminuir el trabajo de los procesos metabólicos y el uso de la energía para dichos procesos. Por ejemplo, en las botellas de vidrio las condiciones de iluminación, alimentación y movimiento maximizaron la velocidad y el volumen de crecimiento  $\mu = 0.38 \text{ d}^{-1}$  y  $W_{sb} = 0.66 \text{ g / l}$ , destinando menor cantidad de energía para la generación de pigmentos siendo  $C_a = 2.94 \text{ mg / ml}$  y  $C_b = 1.20 \text{ mg / ml}$ . Por otro lado, estas mismas condiciones de iluminación y alimentación en conjunto con las de movimiento y mezclado en el RH maximizaron  $C_a$  (8.15 mg / ml) y  $C_b$  (4.28 mg / ml) y limitaron  $\mu$  ( $0.14 \text{ d}^{-1}$ ) y  $W_{sb}$  ( $0.42 \text{ g / l}$ ) lo cual se debió a que las células requirieron más energía para incrementar su capacidad de absorción mediante el aumento de  $C_a$  y  $C_b$  y a que la cantidad de energía entrando a la célula era menor debido a las condiciones de limitación de luz. Sin embargo, al modificar las condiciones de iluminación aumentando la luz disponible (iluminación en ambos lados) se obtuvo el incremento de  $\mu$  ( $0.21 \text{ d}^{-1}$ ) y  $W_{sb}$  ( $0.51 \text{ g / l}$ ) y la reducción de  $C_a$  ( $6.00 \text{ mg / ml}$ ) y  $C_b$  ( $2.91 \text{ mg / ml}$ ).

La condición de iluminar un solo lado del RH se determinó en función de los resultados de una cinética de crecimiento realizada previamente en la cual las células del cultivo cambiaron de color (de verde a blanco) a las 16 horas de iniciado el experimento. En función de esto se consideró que una de las principales causas fue la iluminación excesiva de modo que los organismos se foto-inhibieron e incluso dañaron, por lo que se decidió reducir la iluminación, sin embargo los resultados indicados anteriormente descartaron esta hipótesis.

No obstante estos resultados, lejos de indicar que el RH es una propuesta poco viable para el cultivo de microalgas ponen de manifiesto todo lo contrario al evidenciar que el problema de la absorción de luz no es únicamente cuestión del movimiento de las células dentro del reactor sino que depende del tipo de fuente utilizada y la capacidad de esta para direccionar la energía al cultivo y evitar las pérdidas de la misma, ya que en el sistema utilizado en este trabajo se aprecian claramente las pérdidas de energía ocasionadas por iluminar en uno o dos costados los reactores. De hecho, uno de los principales costos de la operación de un reactor a nivel laboratorio es el consumo energético de la iluminación, el cual pueden reducirse considerablemente al desarrollar nuevas alternativas de fuentes de luz. Para incrementar la eficiencia en la absorción de la luz en un cultivo de microalgas se debe considerar la sinergia entre los sistemas de mezclado e iluminación. La propuesta del RH se basa en aprovechar el patrón del movimiento rotacional del fluido de tal manera que pueda diseñarse una fuente de luz que incida en zonas estratégicas del RH de forma que disminuyan las pérdidas de energía considerando que el sistema permita direccionar y limitar la iluminación hacia el reactor únicamente.

Considerando los efectos del mezclado desarrollado en ambos reactores se tiene por un lado que en la botella de cara plana el movimiento del medio de cultivo fue controlado únicamente por el flujo de aire que ingresó al medio de cultivo en forma de burbujas en el

fondo de la botella, sin embargo la distribución del aire no fue uniforme y el movimiento sólo fue transmitido en la región superior del recipiente ocasionando gradientes en la absorción de luz e intercambio de gases y el asentamiento de las células en el fondo de la botella como se muestra en la figura 4.39.



Figura 4.39. Asentamiento de las células en el fondo de la botella de cara plana.

El movimiento del medio de cultivo en el sistema diseñado en este trabajo no permite la formación de gradientes de biomasa, lo cual se determinó al estudiar el flujo en el RH y al cuantificar la acumulación de la materia orgánica en el fondo del contenedor mediante la evaluación de la densidad óptica a dos longitudes de onda (680 nm y 750 nm) de dos muestras del cultivo en el mismo tiempo pero tomadas de regiones diferentes (una del fondo del contenedor y la otra del punto de muestreo). Los resultados fueron 0.397 y 0.393 para 680 nm y 0.283 y 0.276 para 750 nm, con lo cual se comprueba que no hay asentamiento de células en el fondo del contenedor. Así mismo, se calculó el  $t_m$  en el contenedor (16 s) al colocar una sonda y medir la variación del pH con el tiempo.

El  $t_c$  promedio bajo el cual operó el sistema fue de 60 s ya que el flujo  $F_1$  osciló entre 3.8 l / min y 4.05 l / min, lo cual se atribuye a la variación en la presión y la humedad en la línea de alimentación así como los cambios de presión de aire dentro del RH que se reflejaron en la presión de salida de líquido de la bomba. Estas fluctuaciones ocasionaron el incremento y la disminución del  $t_c$  y el volumen del medio de cultivo dentro del RH (1.12

$I - 1.48 I$ ) que a su vez modificaron el tiempo de iluminación  $t_L$  (17 s – 23 s) y de oscuridad  $t_D$  (37 s – 43 s) general del sistema.

La alimentación de aire establecida para el ensayo en el RH proporcionó  $\dot{V}_{re}$  de 0.65 vvm y  $\dot{V}_{rd}$  de 0.64, por lo que con estas condiciones se consumieron 2 l de agua durante la prueba en el RH, mientras que en la botella de cara plana fue de 200 ml aproximadamente, en ambos casos el volumen de agua fue recuperado antes de cada muestreo. Este consumo de agua se debe a la vaporización ocasionada por el contacto del agua y el aire. Como puede notarse en el RH fue del 50 % del volumen total mientras que en la botella fue de 22%. La diferencia radica en el flujo de aire, el cual es proporcional a la tasa de vaporización. La temperatura se mantuvo en el rango de 23 a 24°C la cual está dentro del rango general reportado en la literatura (Briassoulis, *et al.*, 2010).

Richmond (2004) indica que en condiciones de baja  $\rho_c$ , la variación en la intensidad del mezclado no afecta significativamente el rendimiento del cultivo. A partir de un umbral en  $\rho_c$  (diferente para cada especie) el movimiento afecta favorablemente la  $\gamma$ , el aumento en el mezclado, incrementa el producto obtenido. Sin embargo, llega un punto en el que la intensidad de la turbulencia es tal que los efectos en  $\gamma$  son desfavorables, lo cual se debe a que los esfuerzos son tan grandes que afectan el desarrollo celular. Richmond (2004) también menciona que la turbulencia puede incrementar el valor óptimo de  $\rho_c$ , ya que proporciona uniformidad en la absorción de luz, evitando que las células permanezcan solamente en una región de iluminación. Esto trae como consecuencia el aumento en  $\gamma$  para las condiciones de radiación establecidas. De hecho, una vez obtenido el valor óptimo de mezclado para el cuál se tiene el óptimo de  $\rho_c$ , el aumento en  $I$  no genera la foto-inhibición, esto se conoce como optimización completa del sistema.

El valor óptimo de  $\rho_c$  con el cual se obtiene la máxima producción de biomasa no coincide con el valor de  $\rho_c$  al cual se obtiene la máxima tasa de crecimiento celular debido a que si bien cada célula se está desarrollando lo más rápido posible, la cantidad de ellas en el cultivo es tan baja que  $\gamma$  es también baja. Sin embargo, al aumentar el valor de  $\rho_c$ , disminuye  $c_c$ , pero  $\gamma$  aumenta debido a que el número de células también lo hace. Este comportamiento continúa hasta un punto de inflexión donde se consigue la  $\rho_c$  óptima. A partir de este punto el incremento o la reducción en la  $\rho_c$  para las condiciones de iluminación establecidas traerá como resultado el decaimiento en  $\gamma$ . El valor óptimo de  $\rho_c$  depende de  $I$  ya que si este último se incrementa lo hace a su vez el óptimo de  $\rho_c$  y viceversa. Incluso entre mayor sea  $I$  mayor será la dependencia de  $P_s$  en  $\rho_c$  (Richmond, 2004).

Sintetizando, en la literatura (Berdalet y Estrada, 2006; Voleti, 2012; Grobbelaar, 2013) separan las características del flujo turbulento y sus efectos en el crecimiento de las algas en dos fenómenos: el macro-mezclado y el micro-mezclado. El primero contempla el movimiento de los organismos en escalas de centímetros o pulgadas de tal forma que se estudia el transporte entre las diferentes zonas de los sistemas de cultivo, por ejemplo en el RH desde la periferia del reactor al centro del mismo y de nuevo a la periferia. La importancia de este desplazamiento radica en la optimización de los ciclos luz-oscuridad y el aprovechamiento equitativo de la luz. Por otra parte, el segundo fenómeno involucra el movimiento en escalas del orden de centenas de micrómetros donde el comportamiento del flujo evita la formación de gradientes de nutrientes y desechos. De hecho, Grobbelaar (2013) propone que estos movimientos disminuyen el tamaño de la capa límite alrededor de las células lo que ocasiona el incremento en las razones de transferencia de masa entre los organismos y el medio circundante. En la figura 4.40 se muestra una fotografía del RH en funcionamiento para la cinética de crecimiento.



Figura 4.40. RH en funcionamiento para la cinética de crecimiento de *S. incrassatulus*.

## Conclusiones

1. El diseño del RH es una propuesta potencial para el cultivo de microalgas considerando que la  $rsv$  ( $69.8 \text{ m}^{-1}$ ) es mayor que la de los reactores tubulares ( $40 \text{ m}^{-1}$ ), en panel ( $50 \text{ m}^{-1}$ ) y las botellas de cara plana de vidrio ( $45 \text{ m}^{-1}$ ).

2. La presencia de un flujo de aire en el RH disminuye los efectos de la capa límite y la fricción entre el líquido y la superficie del reactor, incrementando la velocidad del líquido y aumentando la sensibilidad del flujo a la generación de perturbaciones. El flujo de aire aumenta la presión dentro del RH lo cual repercute en el flujo de entrada del líquido, el cual disminuye paulatinamente conforme aumenta el caudal de aire por que se modifica la presión de salida de la bomba. El mezclado que se desarrolla en el interior del RH y el contenedor aunado a la turbulencia en la tubería ( $Re = 5742$ ) no permiten la formación de gradientes de biomasa y metabolitos.

3. Los resultados de la cinética de crecimiento evidenciaron el potencial del RH para la producción de pigmentos en las células de la especie de microalga *S. incrustatus*, ya que si bien la  $\mu$  no fue tan grande en el RH ( $0.21 \text{ d}^{-1}$ ) como lo fue en las botellas de cara plana ( $0.38 \text{ d}^{-1}$ ), la concentración máxima de clorofilas a y b y de carotenoides fue mayor en el RH ( $C_a = 8.15 \text{ mg / ml}$ ,  $C_b = 4.28 \text{ mg / ml}$  y  $C_c = 1.52 \text{ mg / ml}$ ) que las botellas de vidrio ( $C_a = 2.94 \text{ mg / ml}$ ,  $C_b = 1.20 \text{ mg / ml}$  y  $C_c = 1.29 \text{ mg / ml}$ ).

4.- La versatilidad del RH en cuanto a la configuración de diferentes condiciones de operación representa un campo de estudio potencial ya que el crecimiento de algas está directamente relacionado a los métodos de generación de la turbulencia y a la sensibilidad que presenta la especie evaluada. Así mismo, estos resultados sirven como punto de partida para entender el funcionamiento del RH y direccionar futuras investigaciones.

5.- Los resultados ponen de manifiesto que las condiciones de iluminación y alimentación caracterizadas en un reactor específico no necesariamente son óptimas para otro reactor, lo cual provoca desviaciones al evaluarlas en otros sistemas. Por ejemplo en la instalación de este trabajo se hace evidente que el problema de la absorción de luz no es únicamente cuestión del movimiento de las células dentro del reactor sino que depende del tipo de fuente utilizada y la capacidad de esta para direccionar la energía al cultivo y evitar las pérdidas de la misma, por lo que para incrementar la eficiencia en la absorción de la luz en un cultivo de microalgas se debe considerar la sinergia entre los sistemas de mezclado e iluminación. Particularmente en el RH se puede aprovechar el patrón del movimiento rotacional del fluido de tal manera se diseñe un sistema de iluminación que permita direccionar y limitar la incidencia de la luz en puntos estratégicos del reactor disminuyendo las pérdidas de energía.

## Recomendaciones

En función de las observaciones y lo mencionado en la literatura (Bergström y Vomhoff, 2007; Wang, *et al.*, 2007; Murthy y Bhaskar, 2012) respecto a que el buscador de vórtices estabiliza el flujo del vórtice interno, se recomienda estudiar el flujo en el RH sin el buscador de vórtices o con un buscador de vórtices de menor tamaño (ya que la longitud influye en el tamaño de la región superior de aire del reactor) y posteriormente estudiar el crecimiento de las microalgas con la intención de evaluar el mezclado con esa configuración geométrica.

El movimiento circular de los fluidos dentro del RH proporciona un patrón a diferencia de otros sistemas de cultivo, por lo que este movimiento puede aprovecharse para diseñar novedosos sistemas de iluminación de forma que se aumente la eficiencia en la transmisión de la energía de la fuente a las células mediante la reducción de las pérdidas. Una opción es el uso de la tecnología Led, la cual tiene la característica de que se puede controlar la longitud de onda de emisión de la energía. Además el Led es de menor tamaño que las lámparas usadas en este estudio por lo que se puede diseñar una configuración optimizada de posición de emisores que reduzca el consumo de energía y maximice el crecimiento de las microalgas con determinadas condiciones de flujo.

Se recomienda desarrollar un estudio de las componentes de velocidad del medio de cultivo y la dispersión de la luz y las partículas dentro del RH de forma que se puedan calcular las  $f_{L-D}$ . También se sugiere incorporar un sistema de monitoreo continuo que proporcione información de las variaciones de las condiciones de operación del sistema (presión y flujo) y el desarrollo del cultivo (temperatura, pH y CO<sub>2</sub>), la cual permita estudiar con mayor detalle los efectos de las variables en el crecimiento celular de microalgas a lo largo de toda la cinética de crecimiento.

## Referencias

- Acién, F., Fernández, J. y Sánchez J. (2009). Photosynthetic microorganisms and valuable products. En Blanco, J. y Rodríguez, S. (Eds.), Solar energy conversion and photoenergy systems (pp. 282-305). Oxford: Eolss Publishers.
- Aguilar, H. (2008). Efectos de la variación de la longitud del cono en la operación de un separador tipo ciclón. (Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional).
- Arias, M. (2013). Obtención de biodiesel a partir de lípidos producidos por la microalga nativa *Scenedesmus incrassatulus*. (Tesis de doctorado, Cinvestav).
- Berdalet, E. y Estrada, M. (2006). Effects of small-scale turbulence on the physiological functioning of marine microalgae. En Subba, D.V. (Ed.), Algal cultures, analogues of blooms and applications (pp. 459-500). Enfield: Science Publishers.
- Bergström, J. y Vomhoff, H. (2007). Experimental hydrocyclone flow field studies. Separation and purification technology, 53, 8-20. DOI: 10.1016/j.seppur.2006.09.019.
- Briassoulis, D., Panagakis, P., Chionidis, M., Tzenos, D., Lalos, A., Tsinos, C., Berberidis, K. y Jabobsen, A. (2010). An experimental helical-tubular photobioreactor for continuous production of *Nannochloropsis sp.* Bioresource technology, 101, 6768-6777. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.03.103.
- Carvalho, A., Meireles, L. y Malcata, F. (2006). Microalgal reactors: A review of enclosed system designs and performances. Biotechnology progress, 22, 1490-1506. DOI: 10.1021/bp060065r.
- Carvalho, A., Silva, S., Baptista, J. y Malcata, F. (2011). Light requirements in microalgal photobioreactors: An overview of biophotonic aspects. Applied microbiology and biotechnology, 89, 1275-1288. DOI: 10.1007/s00253-010-3047-8.

- Chen, C., Yeh, K., Aisyah, R., Lee, D. y Chang, J. (2011). Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for diesel production: A critical review. *Bioresource technology*, 102, 71-81.
- Chiné, B. y Concha, F. (2000). Flow patterns in conical and cylindrical hydrocyclones. *Chemical engineering journal*, 80, 267-273. DOI: 10.1016/S1383-5866(00)00101-5.
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25, 294–306. DOI:10.1016/j.biotechadv.2007.02.001.
- Elsayed, E. (2005). Application of hydrocyclone for cell separation in mammalian cell perfusion cultures. (Tesis de Doctorado, Technischen Universität Carolo-Wilhelmina). Disponible en: <http://d-nb.info/977727440/34>.
- Elsayed, E. y Wagner, R. (2011). Application of hydrocyclones for continuous cultivation of SP-2/0 cells in perfusion bioreactors: Effect of hydrocyclone operating pressure. *BMC Proceedings*, 5, P65. Disponible en: <http://doi.org/10.1186/1753-6561-5-S8-P65>.
- García, J. (2008). Efectos de la variación del dimensionamiento del buscador de vórtices en el desempeño de un separador ciclónico. (Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional).
- Ghodrat, M., Kuang S., Yu, A., Vince, A., Barnett, G. y Barnett, P. (2014). Numerical analysis of hydrocyclones with different conical section. *Minerals engineering*, 62, 74-84. DOI: 10.1016/j.mineng.2013.12.003.
- Gordon, J. y Polle, J. (2007). Ultrahigh bioproductivity from algae. *Applied microbiology and biotechnology*, 76, 969-975. DOI: 10.1007/s00253-007-1102-x.
- Grobbelaar, J. (2004). Algal Nutrition. En Richmond, A. (Ed.), *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology* (pp. 97–115). Oxford: Blackwell Publishing.

- Grobbelaar, J. (2009). Factors governing algal growth in photobioreactors: The open versus closed debate. *Journal of applied phycology*, 21, 489–492. DOI: 10.1007/s10811-008-9365-x.
- Grobbelaar, J. (2013). Mass production of microalgae at optimal photosynthetic rates. En Dubinsky, Z. (Ed.), *Photosynthesis* (pp. 357-371). : InTech Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/photosynthesis/mass-production-..of-microalgae-at-optimal-photosynthetic-rates>.
- Hernández, E., Martínez, A. y Cañizares, R. (2009). Contenido de lípidos en dos especies diferentes del género *Scenedesmus* para la eventual producción de bioenergéticos. En XIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería VII Simposio Internacional de Producción de Alcoholes y Levaduras. Acapulco, Guerrero.
- Hu Q. (2004). Environmental effects on cell composition. En Richmond, A. (Ed.), *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology* (pp. 83–93). Oxford: Blackwell Publishing.
- Hu, Q. y Richmond A. (1996). Productivity and photosynthetic efficiency of *Spirulina platensis* as affected by light in intensity, algal density and rate of mixing in a flat plate photobioreactor. *Journal of applied phycology*, 8, 139-145. DOI: 10.1007/BF02186317.
- Huang, J., Li, Y., Wan, M., Yan, Y., Feng, F., Qu, X., Wang, J., Shen, G., Li, W., Fan, J. y Wang, W. (2014). Novel flat-plate photobioreactor for microalgae cultivation with special mixers to promote mixing along the light gradient. *Bioresource technology*, 159, 8-16. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.134>.

- Janssen, M. (2002). Cultivation of microalgae: Effect of light/dark cycles on biomass yield. (Tesis de doctorado, Wageningen University). Disponible en: <http://web.mit.edu/pweigele/www/AlgalFuel/Janssen%20thesis%20-%20cultivatio.pdf>.
- Lance, B. (2012). Using stereo particle image velocimetry to quantify and optimize mixing in an algae raceway using delta wings. (Tesis de Maestría, Utah State University). Disponible en: <http://digitalcommons.usu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=2349&context=etd>.
- Liao, Q., Li, L., Chen, R. y Zhu, X. (2014). A novel photobioreactor generating the light/dark cycle to improve microalgae cultivation. *Bioresource technology*, 161, 186-191. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.119>.
- Masojídek, J., Koblížek, M. y Torzillo, G. (2004). Photosynthesis in microalgae. En Richmond, A. (Ed.), *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology* (pp. 20–39). Oxford: Blackwell Publishing.
- Mathieu, J. y Scott, J. (2000). *An Introduction to turbulent flow*. (1ª Ed.). Cambridge: Cambridge University Press.
- Murthy, R. y Bhaskar, U. (2012). Parametric CFD studies on hydrocyclone. *Powder technology*, 230, 36-47. DOI: 10.1016/j.powtec.2012.06.048.
- NMX-AA-079-SCFI-2001. Análisis de aguas – determinación de nitratos en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas.
- Perales, H., González, S., Montes, C. y Cañizares, R. (2007). Growth, photosynthetic and respiratory responses to sub-lethal copper concentrations in *Scenedesmus incrassatulus* (Chlorophyceae). *Chemosphere*, 67, 2274-2281. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.11.036.

- Perales, H. (2008). Caracterización fotosintética y respiratoria de *Scenedesmus incrustatus* durante la biorremoción de  $\text{Cu}^{2+}$ . (Tesis de doctorado, Cinvestav).
- Pinto, R., Medronho, R. y Castilho, L. (2008). Separation of CHO cells using hydrocyclones. *Cytotechnology*, 56, 57-67. DOI: 10.1007/s10616-007-9108-x.
- Pope, S. B. (2000). Turbulent flows. (1ª Ed.). Cambridge: Cambridge University Press.
- Posten, C. (2009). Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae. *Engineering in life sciences*, 9, 165-177. DOI: 10.1002/elsc.200900003.
- Reyna, R. (2010). Producción de consorcios microbianos fotosintéticos fijadores de nitrógeno en fotobiorreactores en condiciones controladas y a la intemperie. (Tesis de Doctorado, CINVESTAV).
- Richmond, A. (2004). Biological principles of mass cultivation. En Richmond, A. (Ed.), *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology* (pp. 125-177). Oxford: Blackwell Publishing.
- Tennekes, H. y Lumley, J. (1972). *A first course in turbulence*. (1ra Edición). Massachusetts: MIT Press Design Department.
- Tomaselli, L. (2004). The microalgal cell. En Richmond, A. (Ed.), *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology* (pp. 3-19). Oxford: Blackwell Publishing.
- Tredici, M. (2004). Mass production of microalgae photobioreactors. En Richmond, A. (Ed.), *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology* (pp. 178-214). Oxford: Blackwell Publishing.
- Ugwu, C., Aoyagi, H. y Uchiyama, H. (2008). Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource technology*, 99, 4021-4028. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.01.046.

- Vasumathi, K., Premalatha, M. y Subramanian, P. (2012). Parameters influencing the design of photobioreactor for the growth of microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16, 5443-5450. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2012.06.013>.
- Voleti, R. (2012). Experimental studies of vertical mixing in an open channel raceway for algae biofuel production. (Tesis de Maestría, Utah State University). Disponible en: <http://digitalcommons.usu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=2262&context=etd>
- Wang, B., Chu, K. y Yu, A. (2007). Numerical study of particle-fluid flow in a hydrocyclone. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 46, 4695-4705 DOI: 10.1016/j.mineng.2006.03.016.
- Wang, B., Lan, C. y Horsman, M. (2012). Closed photobioreactors for production of microalgal biomasses. *Biotechnology advances*, 30, 904-912. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2012.01.019.
- Wang, L., Tao, Y. y Mao, X. (2014). A novel flat plate algal bioreactor with horizontal baffles: Structural optimization and cultivation performance. *Bioresource technology*, 164, 20-27. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.100>.
- Wellburn, A. (1994). The spectral determination of chlorophylls *a* and *b* as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of plant physiology*, 144, 307-313.
- Wilden, (2013). Chemical Resistance Guide. Disponible en: <http://www.psgdover.com/assets/wildenpump/files/products/Wilden-Chemical-Guide.pdf>.
- Wilden, (2016). Engineering, Operation and Maintenance. Original Series Plastic Pumps. Disponible en: [http://www.psgdover.com/assets/wildenpump/downloads/eom/P1\\_Original\\_Series\\_Plastic\\_Pumps\\_EOM.pdf](http://www.psgdover.com/assets/wildenpump/downloads/eom/P1_Original_Series_Plastic_Pumps_EOM.pdf).

Xu, B., Li, P. y Waller, P. (2014). Study of the flow mixing in a novel ARID raceway for algae production. *Renewable energy*, 62, 249-257. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2013.06.049>.

Zhang, Q., Wu, X., Xue, S., Liang, K. y Cong, W. (2013). Study of hydrodynamic characteristics in tubular photobioreactors. *Bioprocess and biosystems engineering*, 36, 143-150. Doi: 10.1007/s00449-012-0769-2

# Apéndice

## Lista de partes de Festo

<b>Clave</b>	<b>Tipo</b>	<b>Descripción</b>
2255	QM-1/4-1/4	Manguito QM con rosca G1/4
3581	D -1/4I-3/8A	Boquilla reductora de 3/8 a 1/4
9624	AD 1/8NPT - G1/8 I	Adaptador con rosca externa 1/8 NPT y rosca interna G1/8
11689	H-1/4-B	Válvula antirretorno con rosca exterior 1/4
153073	QSL-10	Racor rápido en L para tubo de 10 mm
153007	QS -1/4-10	Racor rápido recto para tubo de 10 mm
153131	QST-10	Racor rápido en T para tubo de 10 mm
153168	QSSF-1/4-10 B	Racor pasa muro de 1/4 para tubo de 10 mm
153169	QSSF-3/8-10 B	Racor pasa muro de 3/8 para tubo de 10 mm
153469	HE-2-QS-10	Válvula de cierre para tubo de 10 mm
159638	HFOE-D-MINI	Escuadra de fijación para tamaño MINI
162583	LR-1/4-D-7-MINI	Regulador de presión MINI con rosca G1/4
162719	LFR-1/4-D-5M-MINI	Filtro y regulador de presión MINI con rosca G1/4
162837	MA-50-2,5-1/4-EN	Manómetro G1/4 rango 0 – 2.5 bar
162844	MA-63- 1-1/4-EN	Manómetro G1/4 rango 0 – 1 bar
170681	HE-D-MINI	Válvula de cierre y liberación de presión
170684	FRM-D-MINI	Módulo de derivación
186101	QS-G1/4-10	Racor rápido roscado G1/4 para tubo de 10 mm
186174	QSTL-G1/4-10	Racor rápido en T roscado G1/4 lateral para tubo de 10 mm
190643	QS-G1/8-10	Racor rápido roscado G1/8 para tubo de 10 mm
190646	QS-1/2 - 10	Racor rápido roscado R1/2 para tubo de 10 mm
197386	TUN-H-10	Tubo flexible de 10 mm