

Fotobiorreactores para el cultivo de microalga *Chlorella vulgaris* Photobioreactors for microalgae *Chlorella vulgaris* culture

Yusdel Santiesteban Torres^{1,*}

¹Facultad de Ingeniería Mecánica. Universidad Tecnológica de La Habana “José Antonio Echeverría” (CUJAE). Calle 114 No 11901 entre 119 y 127, Marianao. La Habana, Cuba.

*Correspondencia: renia@tesla.cujae.edu.cu

Este documento posee una [licencia Creative Commons Reconocimiento/No Comercial 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)



Resumen

Dado el interés que existe por encontrar fuentes renovables de energías que no afecten al medio ambiente, se han estado tomando mucho en cuenta las microalgas como materia prima para la producción de biocombustibles, específicamente biodiesel. La obtención de biodiesel a partir de microalgas conlleva una serie de etapas necesarias y de gran importancia. Entre ellas se encuentran la etapa de cultivo, en la cual se necesita disponer de un sistema adecuado que garantice alta productividad de biomasa, alta transferencia de masa así como un correcto comportamiento hidrodinámico del fluido. Por este motivo en este trabajo se analizan algunos de los principales tipos de fotobiorreactores que se usará para son empleados para cultivar la microalga *Chlorella vulgaris*.

Palabras clave: Microalga, *Chlorella vulgaris*, biocombustibles, reactor

Abstract

Due to the interest to find sources of renewable energy that do not affect the environment; microalgae have been taken into account as feedstocks for the biofuels production, specifically biodiesel. Obtaining biodiesel from microalgae involves series necessary and important steps. Among them is the stage of cultivation, in which it is necessary to have an adequate system that guarantees high biomass productivity, high mass transfer as well as a correct hydrodynamic behavior of the fluid. For this reason, in this work the main types of photobioreactors for *Chlorella vulgaris* culture are analyzed.

Keywords: Microalgae, *Chlorella vulgaris*, biofuels, reactor

1. Introducción

La crisis energética que afronta el mundo actualmente, está relacionada con la reducción de combustibles fósiles, el aumento progresivo del precio del petróleo, así como la acumulación de gases de efecto invernadero en la atmósfera, los cuales son los responsables del calentamiento del planeta. Estos combustibles de origen fósil representan según investigadores como Demirbas [1] más del 80% del suministro total de energía a nivel mundial, del cual el 58% es consumido por el sector del transporte [2].

La mayor parte de la energía que consumen los motores de combustión interna (MCI) proviene fundamentalmente de derivados del petróleo. El uso indiscriminado de esta fuente de energía no

renovable, unido a su creciente demanda, así como los efectos negativos sobre el medio ambiente que provoca su uso y las vías para mantener e incrementar el desarrollo tecnológico utilizando fuentes alternativas de energía, son de los mayores retos que tiene el hombre en este siglo XXI. A partir de esta problemática la Agencia Internacional de la Energía (AIE) ha motivado el desarrollo de nuevas tecnologías que sustituyan el uso de este combustible fósil [2].

En la actualidad, muchos esfuerzos están encaminados a encontrar combustibles alternativos que puedan cubrir las demandas actuales y futuras de energía, sin causar efectos futuros sobre el calentamiento del planeta. Los combustibles alternativos se presentan como una tentadora opción a esta crisis energética medioambiental ya que son obtenidos a partir de fuentes biológicas, son renovables, biodegradables y producen menos emisiones. Los combustibles alternativos son sustancias carburantes en estado líquido, sólido o gaseoso, que al igual que cualquier combustible generan energía en forma de calor en presencia de oxígeno y una fuente de energía de activación [2].

Entre los combustibles alternativos (también conocidos como biocombustibles) se incluyen el biogás, la biomasa, el hidrógeno, los bio-alcoholes, los aceites vegetales, las grasas animales y sus derivados. Los biocombustibles que más atención reciben en el mundo en cuanto al desarrollo de su tecnología de producción y uso en motores de combustión interna son el etanol como sustituto de la gasolina, los aceites vegetales y el biodiesel (BD) como alternativa al combustible diésel. El biodiesel puede ser obtenido de plantas cuyos frutos o semillas contengan cantidades considerables de aceite, así como también a partir de microalgas [2].

La obtención de biodiesel a partir de microalgas o macroalgas es una propuesta tentadora para la comunidad científica, debido a que son relativamente fáciles de cultivar, se adaptan a casi cualquier ambiente, poseen amplia variedad, porque no sirven como alimentos para el ser humano, no necesitan de la tierra para su cultivo y presentan un elevado rendimiento de aceite [3-6].

El cultivo de microalgas puede ser llevado a cabo en ambientes controlados (fotobiorreactores), para este fin, desde la década de los 90 los fotobiorreactores de columna de burbujas son objeto de estudio ya que presentan ventajas comparadas con otros sistemas de producción [2]. Sin embargo, al momento de diseñar y optimizar un sistema de producción, se debe tener conocimiento de cómo las diferentes partes pueden influir en la productividad total del sistema.

Se hace necesario disponer de difusores para el suministro de gas diseñados al efecto que cumplan con las exigencias establecidas por cada fotobiorreactor, con el objetivo de incrementar el rendimiento de biomasa al máximo valor posible y disminuir el costo de producción. Por lo antes mencionado el objetivo de esta investigación consiste realizar un análisis de los principales tipos de fotobiorreactor para el cultivo de microalga *Chlorella vulgaris*.

2. Sistemas para el cultivo de microalgas

Para el cultivo de microalgas existen fundamentalmente dos tipos de sistemas: los sistemas abiertos y los sistemas cerrados, más conocidos como fotobiorreactores. Estos últimos son los más utilizados debido a sus ventajas, fácil control de los parámetros de cultivo y alta productividad.

Sistemas abiertos

Los sistemas abiertos se caracterizan porque el cultivo está en contacto directo con el ambiente. Al estar descubiertos son susceptibles a la invasión por microorganismos, por lo que son especialmente adecuados para el cultivo de especies robustas y de rápido crecimiento.

Sin embargo, pese a estos inconvenientes, la mayoría de las microalgas producidas en el mundo provienen de este tipo de sistemas [7]. El cultivo en lagos y estanques naturales es el sistema más sencillo ya que no supone ningún tipo de costo, pero no permite el control de las condiciones ambientales y por ello, la capacidad de producción es limitada. El sistema de cultivo en balsas o piscinas es también uno de los sistemas más sencillos de cultivo de microalgas. Están formados por tanques de geometría y dimensiones adecuadas y no requieren ningún tipo de suministro de energía. El inconveniente del cultivo en balsas es que ofrece bajos rendimientos y presenta problemas de evaporación. Además, no son sistemas aptos para la estimulación del crecimiento con CO₂ [8]. Su gran ventaja es que es fácil y económico construirlos en grandes volúmenes incluso de cientos de metros cúbicos [7]. Existen dos tipos básicos de sistemas abiertos: "estanques abiertos" y "las canaletas".

Estanques abiertos

Estos sistemas son simples balsas que tienen forma y profundidad adecuada los cuales se llenan hasta la mitad con los nutrientes adecuados y se dejan crecer (Figura 1). El proceso es muy económico y los costos de operación son muy bajos, pero la productividad por unidad de superficie y la concentración de biomasa son muy bajas. Las microalgas adecuadas para este tipo de sistemas son las extremófilas, las capaces de sobrevivir en condiciones extremas. Un ejemplo típico es la *Dunaliella Salina* microalga halófila que crece en concentraciones salinas de hasta 100 g/L, lo que impide la proliferación de otras especies [7].

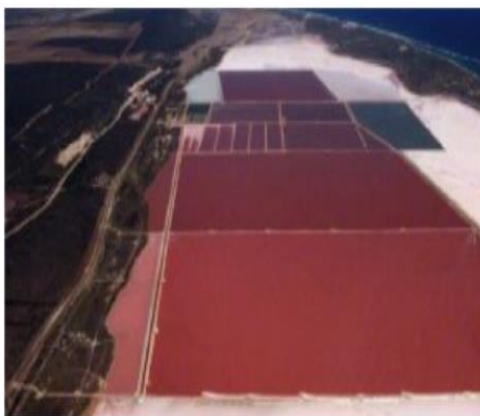


Fig.1 Estanques abiertos

Canaletas

Son sistemas más sofisticados debido a que proveen agitación y mezcla. También pueden suministrar CO₂ al cultivo de forma relativamente eficiente y con pocas pérdidas, lo que permite también un cierto control del pH.

El dispositivo de impulsión más común que usan estos sistemas es la rueda de paletas que consigue mantener el cultivo en suspensión y mezclado con un gasto de potencia de unos pocos watts por metro cúbico [7]. La Figura 2 muestra dicho sistema.



Fig.2 Canaletas

Sistemas inclinados

Otro grupo de sistemas abiertos es el formado por los sistemas inclinados mostrados en la figura a continuación, los cuales constan de una superficie inclinada en la que se bombea el cultivo desde la parte baja a la parte alta. De esta forma se consiguen flujos altamente turbulentos lo que permite mantener elevadas concentraciones celulares y una alta relación superficie/volumen. El problema de este sistema es que origina altas tasas de evaporación y pérdida de CO₂ que escapa a la atmósfera. Además, el bombeo continuo del cultivo supone un elevado consumo de energía y produce daños en la estructura celular del alga [8].

Las mayores limitaciones de este diseño incluyen [9]:

- a) Su susceptibilidad a la evaporación.
- b) La contaminación por especies invasoras, que podrían asumir el control del estanque reduciendo drásticamente el tratamiento al cultivo deseado.
- c) Los requerimientos de grandes áreas de tierra.
- d) Los cambios de temperatura que pueden afectar crecimiento algal.

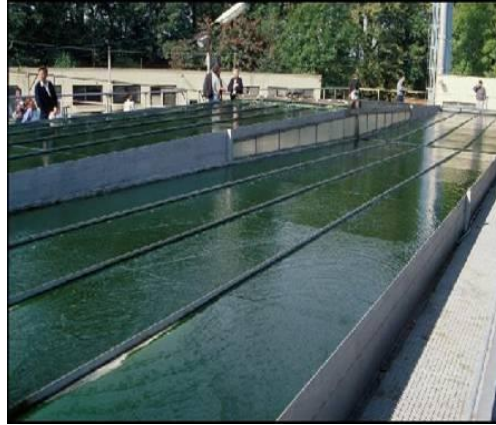


Fig.3 Sistema inclinado.

Tanques circulares

Los tanques circulares también forman parte de este grupo de sistemas (Figura 4) aunque han dejado de ser usados en plantas comerciales debido al alto costo de la construcción en concreto y también al alto costo energético requerido para proporcionar mezcla con grandes brazos mecánicos. Sin embargo, en Cuba, Japón, Taiwán e Indonesia se han utilizado tanques circulares en la producción de *Spirulina* y *Chlorella* [10].



Fig.4 Tanque circular

Sistemas Cerrados

Los sistemas cerrados son aquellos donde se puede mantener un control estricto sobre el cultivo puesto que estos no tienen contacto directo con la atmósfera, pues se trata de sistemas de tubos, paneles planos o columnas de burbujas en cuyo interior se desarrolla una única especie de alga por períodos prolongados de tiempo. Estos sistemas presentan ciertas ventajas frente a los sistemas abiertos: alcanzan una productividad considerablemente superior, minimizan el riesgo de contaminación, permiten un mejor control sobre las condiciones de cultivo y previenen tanto la evaporación como las pérdidas de CO₂. Sin embargo, son más caros que los sistemas abiertos y precisan de un mejor y mayor mantenimiento [11]. Los sistemas cerrados por excelencia son los denominados fotobiorreactores.

Los FBRs crean un ambiente adjunto para el cultivo de algas dónde la luz, el aire, los nutrientes son suministrados en niveles regulados para asegurar un crecimiento optimizado. Algunos beneficios de estos sistemas cerrados son [11]:

- (a) Cultivos libres de contaminantes potenciales como microorganismos.
- (b) Son más fáciles para manipular y controlar.
- (c) Tienen menos evaporación que sistemas abiertos.
- (d) El alumbrado interior puede estar ajustado para la exposición correcta a la luz y su mejor aprovechamiento.

3. Definición de Fotobiorreactor. Tipos

Un fotobiorreactor (FBR) es un contenedor biológico artificial cuyo ambiente interno es capaz de generar las condiciones necesarias para que la fotosíntesis de las clorofilas existentes en microorganismos, células o tejidos fotosintéticos que en ellos se cultiva, crezca y se desarrollen de manera rápida y eficiente para generar biomasa y los productos metabólicos que se encuentren dentro de ella. En este sentido, el término fotobiorreactor se refiere a sistemas cerrados para el medio ambiente externo; es decir, que no tienen intercambio directo de gases y contaminantes con el medio ambiente externo [10]. También se puede definir como un dispositivo diseñado en material transparente para el cultivo de microorganismos fotosintéticos acuáticos, que consta de un receptor solar (sistema tubular a dos niveles optimizado) y un sistema de impulsión (burbujeo de aire en un desgasificador plano), y que es operable tanto en continuo como en discontinuo, permitiendo la inyección de dióxido de carbono, el control del pH y de la concentración de oxígeno disuelto en el cultivo [12].

Los principales tipos de FBRs son: tubulares, planos, cilindros verticales y fundas y axénicos.

Fotobioreactores planos

Los FBRs planos (Figura 5) han sido muy utilizados para producir organismos fototróficos en laboratorio debido a que facilitan la medición de la irradiancia en la superficie del cultivo. Pese a su aparente simplicidad, pocos de estos sistemas han sido utilizados en el cultivo industrial de algas debido al alto costo de los materiales transparentes comercialmente disponibles, tales como vidrio, láminas de PVC transparente o de poli carbonato y también debido a la laboriosidad de su operación [10].



Fig.5 Fotobiorreactor plano

Fotobiorreactor de Placa (plano)

Un fotobiorreactor de la placa consiste en una serie de paneles o placas interconectadas dispuestas vertical u horizontalmente en cajas rectangulares, (Figura 6); a menudo se divide en dos partes para efecto de una agitación con recirculación del líquido (cultivo) del fotobiorreactor. Esas conexiones se utilizan también para realizar el proceso de llenado y vaciado, la introducción de gas (CO_2) y el transporte de sustancias nutritivas. La introducción de los gases de combustión se produce por la parte inferior de la caja o panel, para asegurarse de que el dióxido de carbono tiene suficiente tiempo para interactuar con las microalgas en el seno del líquido del reactor [13].

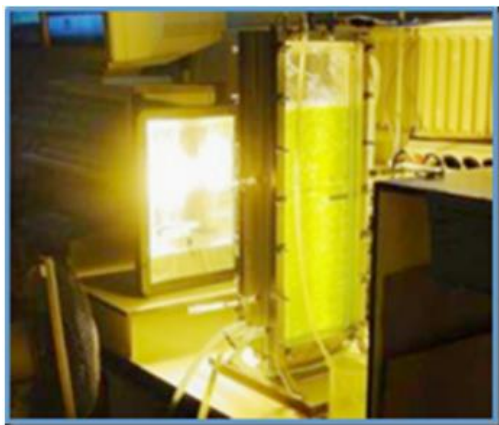


Fig.6 Fotobiorreactor de Panel de Platos o de Placa

Fotobiorreactores Tubulares

Un fotobiorreactor tubular se compone de una serie tubos dispuestos vertical u horizontalmente, como se muestra en la Figura 7, conectado a un sistema de tuberías. El cultivo es líquido con biomasa en suspensión (microalgas) y debe ser capaz de circular por la tubería. Los tubos deben estar hechos de material transparente como plástico o vidrio y la circulación se mantiene constante por efecto de una bomba impulsora al final del sistema. El gas (CO_2) se introduce al final y al principio del sistema de tubos; de esta forma se evitan los problemas de difusión que ocasionan deficiencia de dióxido de carbono y alta concentración de oxígeno, al final de la unidad durante la circulación del fluido (cultivo) [13].

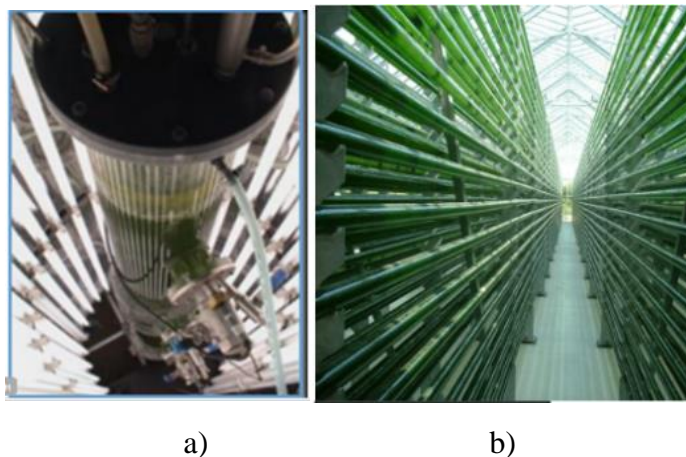


Fig.7 Fotobiorreactores tubulares verticales (a) y horizontales (b)

Existen tres tipos principales de FBR tubulares: en serpentina, con colector y helicoidales.

Los fotobiorreactores en serpentina

Son sistemas en los que varios tubos transparentes son conectados en serie para formar un lazo plano arreglado en forma vertical u horizontal (llamado foto plataforma). El intercambio de gases y la adición de nutrientes generalmente se realizan en un tanque separado. La circulación en la foto plataforma se logra por medio de una bomba o de un sistema de tubo con línea de aire. A parte de su alto costo, las principales desventajas de este tipo de sistema son la dificultad para controlar la temperatura del cultivo, limpiar los tubos transparentes y reducir la acumulación del oxígeno disuelto que se conoce que es un factor limitante del crecimiento del cultivo [10].

Los fotobiorreactores con colector

Los FBR con colector son una variante en la que varios tubos transparentes son conectados en paralelo a un distribuidor al inicio y al final del circuito, uno para la distribución y otro para la recolección del cultivo. Tienen las mismas desventajas de los BFR en serpentina [10].

Los fotobiorreactores helicoidales

Los BFR helicoidales consisten de tubos de diámetro pequeño, generalmente flexibles, que se envuelven en un cilindro vertical (Figura 8). Igual que en los dos sistemas anteriores, la circulación del cultivo se logra por medio de una bomba o un tubo con línea de aire que envía el cultivo al circuito [10].

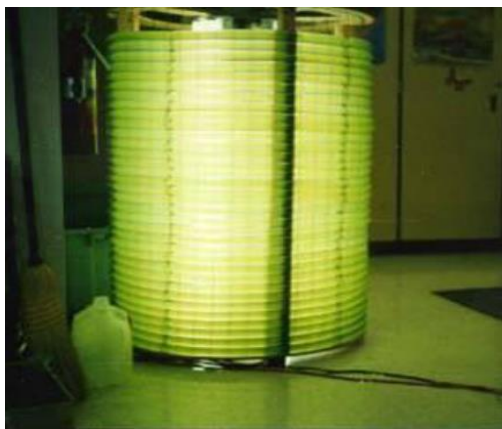


Fig.8 Fotobiorreactor helicoidal

Fotobiorreactor de Columna de Burbujas

Un fotobiorreactor de columna de burbujas consiste en la columna vertical cilíndrica, hecha de material transparente, que permite la introducción de gas, por la parte inferior de la columna, en condición de flujo turbulento ($Re > 3000$), para un óptimo intercambio de gases. Este tipo de fotobiorreactor se construye con un diámetro máximo de 30 cm (el rango es: 20 cm a 30 cm) con el fin de garantizar el suministro necesario de energía luminosa, ya sea de una fuente natural (luz solar) o de una artificial (luz eléctrica) [13].



Fig.9 Fotobiorreactor de Columna de Burbujas

Cilindros verticales y fundas

Los FBRs tubulares verticales (o reactores de columna) son sistemas simples en los que la mezcla se logra con inyección de aire. Generalmente tienen el fondo en forma de cono para evitar la sedimentación de las algas. En ocasiones cuentan con un tubo interior que reduce el volumen que no recibe luz en el interior del cilindro [10].

Las columnas verticales rígidas (Figura 10) son ampliamente utilizadas en los laboratorios de producción de biomasa de algas destinadas a la alimentación de estadios larvales del camarón, bivalvos y peces. La mayoría de estos sistemas son elaborados con láminas de fibra de vidrio transparente. El aire se inyecta en el fondo del cilindro y la luz puede ser natural o artificial. Un reactor vertical puede ser fácilmente construido con un trozo de manga plástica de polietileno transparente cerrada en uno de sus extremos (Figura 11) [10]. Este reactor de columna o funda puede ser suspendido en un soporte adecuado. Las fundas tienen una vida útil relativamente corta debido a la acumulación de microorganismos indeseados, pero son relativamente baratas de reemplazar. La principal desventaja de este tipo de sistema es la laboriosidad del manejo en grandes volúmenes y la relativamente baja relación de superficie por volumen [10].



Fig.10 Columnas verticales.



Fig.11 Reactores verticales elaborados con fundas.

Fotobiorreactores axénicos

Los FBRs axénicos son sistemas diseñados para que puedan ser esterilizados y su uso está restringido a los laboratorios de investigación debido al alto costo de construcción y mantenimiento.

4. Criterios de diseño del fotobiorreactor

Técnicamente, los criterios de diseño de los FBRs deben apuntar a lograr alta productividad volumétrica y una eficiente conversión de la energía luminosa y, al mismo tiempo brindar la fiabilidad y estabilidad necesaria para el proceso de cultivo.

Un fotobiorreactor no puede estar apropiadamente diseñado sin el adecuado conocimiento de la fisiología del cultivo en masa del organismo. Debido a que los microorganismos fototróficos son altamente diversos en su morfología, requerimientos nutricionales, de luz, y resistencia al estrés. Los FBRs no deben ser diseñados para manejar a todos los organismos y todas las condiciones. Los principales criterios de diseño incluyen: la relación superficie-volumen, la orientación e inclinación, la mezcla, el intercambio de gases, los sistemas de limpieza y de regulación de temperatura, y la transparencia y durabilidad del material de construcción. La facilidad para la operación y el bajo costo de construcción tienen una relevancia particular para el diseño de los FBRs industriales [14].

En forma general, el diseño de un fotobiorreactor para el cultivo de microalgas a gran escala, debe considerar los siguientes aspectos [13]:

1. Control preciso de la dinámica de fluidos,
2. Número de Reynolds optimizado,
3. Control retroalimentado de las variables de: turbidez, temperatura, pH, concentración de dióxido de carbono disuelto(COD), opacidad, colorimetría, espectro radiometría diferencial de aérea y de inmersión,
4. Paneles o fuentes radiadores de flujo lumínico homogéneo de alto rendimiento, bajo consumo, larga vida y bajo coste,
5. Sistemas de microfiltración de fácil limpieza,
6. Automatización del control de flujo de gases (CO_2) y adición de nutrientes,
7. Precámaras de mezcla y tolvas para la recogida del producto,

8. Monitorización y control informático computadorizado.

Estos aspectos implican 4 diferentes áreas del diseño del fotobiorreactor que tienen que ver con [13]:

- a) El aprovechamiento de la energía luminosa: ciclos luz-oscuridad, trayectoria de la luz y geometría de fotobiorreactores;
- b) Los aspectos fisiológicos: fotoinhibición por oxígeno, cultivos de alta densidad celular, ultra alta densidad celular, heterotrofía y mixotrofía;
- c) Los aspectos hidrodinámicos: número de Reynolds, estrés hidrodinámico, agitación, mezclado y turbidez;
- d) Los fenómenos de transferencia: masa, calor y momentum.

Relación entre superficie iluminada y volumen

A pesar del desarrollo de diferentes fotobiorreactores, pocos utilizan efectivamente la luz solar. Un problema frecuente en diseño de fotobiorreactores es la provisión óptima de energía solar al aire libre, que todas las células tengan la misma exposición de luz, suministrar una relación área superficial/volumen (S/V) grande, que ocupe menos espacio terrestre, rápida transferencia de masa y que logre una mayor productividad [14].

La intensidad de luz puede afectarse por factores como: distancia entre la energía lumínica y el fotobiorreactor, geometría del fotobiorreactor, longitud de onda, aumento de concentración celular, formación de biopelículas en las paredes y formación de productos, provocando, debido al efecto de sombreado, la formación de dos zonas (oscura e iluminada). En la zona iluminada, las células son expuestas a la luz necesaria para producir fotosíntesis; en la zona oscura las células reciben poca o casi nada de luz para su metabolismo. Una forma de reducir el efecto planteado arriba sería acortar la distancia de incidencia de luz, sin embargo, esto no se lograría con luces convencionales ya que el contacto cercano con las paredes del fotobiorreactor generará calor el cual dañaría el cultivo. Por esto, las investigaciones en la actualidad se centran en el uso de energía lumínica que no genere calor, pero estos sistemas tienden a elevar los costos. Melnicki y otros colaboradores diseñaron un fotobiorreactor con ajustes de luz tipo LED automática utilizando un control computarizado de retroalimentación, mejorando los sistemas de cultivos de cianobacterias, alcanzando nuevas capacidades para la investigación fisiológica y biología de sistemas. Tamburic y otros colaboradores diseñaron un fotobiorreactor de superficie plana con iluminación blanca fría, proporcionada por un panel de diodos emisores de luz que presentó alta eficiencia fotoquímica [6].

Por su parte, Sepúlveda propuso tres sistemas de iluminación para fotobiorreactores de columna de burbujeo: Lámpara fluorescente que irradiaba sobre el fotobiorreactor desde un solo punto. Tira comercial flexible de LEDS colocada en forma de espiral rodeando la parte externa del fotobiorreactor y Tira comercial flexible de LEDS colocada en forma de espiral rodeando la pared interna de un tubo hueco transparente colocado en el interior del fotobiorreactor. La biomasa generada con la configuración de iluminación de la tira de LEDS externa fue de 112 millones de células mL⁻¹, aproximadamente el doble de la biomasa generada con los otros dos sistemas utilizados esto debido a la mayor trayectoria de fotones dentro del fotobiorreactor. Sin embargo, las investigaciones se encaminan a lograr un sistema efectivo, económico y sustentable en gasto energético [10].

Transferencia de masa del gas

Se analiza desde el suministro de carbono y su transferencia por medio del CO_2 . La transferencia de masa del gas al líquido, se estudia principalmente con el agarre de gas, que es la fracción de volumen de la fase gaseosa en la dispersión gas-líquido, también conocido como la fracción de vacío del gas; el agarre determina el tiempo de residencia del gas en el líquido y en combinación con el tamaño de burbuja, influye en el área entre la fases gas-líquido disponible para la transferencia de masa [16].

La transferencia de masa por difusión de CO_2 en el cultivo determina la productividad y el rendimiento, debido a que la alta difusividad aumenta el metabolismo de las algas, pues se mejora la distribución de nutrientes. Se entiende productividad como la máxima cantidad de biomasa obtenida por día (o por año) por unidad de área. Por otro lado, se define el rendimiento como la cantidad de dióxido de carbono que efectivamente se convierte en biomasa. La importancia de la transferencia de masa en el bioproceso radica en que de esta depende que el CO_2 ingrese a la célula y pueda ser metabolizado para la producción de biomasa [10].

Una explicación de la transferencia de masa sobre la difusión del dióxido de carbono en el cultivo, desde la fase gaseosa hasta la microalga, se encuentra en la teoría de la doble película. Según esta teoría, el CO_2 se difunde desde la inyección del gas enriquecido hacia la fase líquida, principalmente H_2O , en donde se puede llevar a cabo la reacción entre el H_2O y el CO_2 para producir un ácido diprótico. Ese CO_2 disuelto en H_2O entrará por difusión pasiva a la célula de la microalga para participar de la fotosíntesis y de la fase oscura del ciclo de Calvin, en el que se le fijarán carbonos a esta molécula para producir azúcares [10].

Esta teoría es importante y es el fundamento de los procesos biotecnológicos microalgales que buscan, por ejemplo, capturar CO_2 de forma más eficiente. Basado en una tecnología de biopelícula, usa un sistema de reactor de disco rotatorio, en el que las microalgas pueden ser cultivadas en superficies biocompatibles y, por lo tanto, el CO_2 será capturado desde la fase gaseosa directamente o desde la fase líquida después del burbujeo. Este método aumenta notablemente el rendimiento y disminuye la cantidad de agua necesaria para el proceso [10].

Transferencia de CO_2

El carbón es el mayor componente del costo de producción de las microalgas. El abastecimiento de dióxido de carbono en suspensiones poco profundas no es tarea fácil porque el tiempo de residencia de las burbujas es insuficiente para completar la absorción, resultando en grandes pérdidas de CO_2 a la atmósfera. Inyectado el CO_2 en burbujas diminutas desde el fondo de una columna se puede incrementar la eficiencia de uso del CO_2 a más del 70% [10].

El CO_2 necesario para el crecimiento del cultivo se obtiene del gas de escape de generadores que utilizan como combustible gas licuado de petróleo (GLP). La combustión del GLP en los generadores produce grandes cantidades de CO_2 , y gracias a la pureza de este combustible, no existe riesgo de contaminación. El gas de escape de los generadores se conduce hasta los FBR por medio de una tubería. Con la ayuda de un soplador conectado en serie, el gas se inyecta en los tanques de cultivo con un juego de difusores. Cada soplador tiene un juego de dos tomas que permite escoger si se va a inyectar gas de escape o aire. La cantidad de CO_2 requerido se controla fácilmente con el pH del cultivo [10].

Suministro de carbono

El carbono es el mayor nutriente para el crecimiento celular. Todas las microalgas usan carbono inorgánico como síntesis de componentes orgánicos en medio autotrófico. Todo el flujo de carbono alimentado es determinado por la velocidad de burbujeo del gas y la presión parcial del CO_2 ; seleccionando la combinación apropiada de estas dos variables es clave para evitar la limitación de carbono en la cultivación de microalgas. Las burbujas de carbono se inyectan en el fotobiorreactor desde el fondo, mientras más pequeñas sean estas burbujas mejor absorción se consigue, llegando a alcanzar una eficiencia de suministro de CO_2 de más de un 70% [10].

Tamaño de burbuja

El tamaño de las burbujas que suministran el CO_2 y el aire al fotobiorreactor es uno de los parámetros más importante para el crecimiento celular. El área entre las fases y el coeficiente de transferencia de masa mostraron dependencia opuesta con el tamaño de burbuja; consecuentemente, el agarre de gas fue más sensible al diámetro de la burbuja que el coeficiente de masa. Como se mencionó anteriormente, el coeficiente de transferencia de masa gas líquido, aumenta dentro de un rango de tamaño de burbuja en columnas de burbujeo y reactores airlift. Pequeñas burbujas (menor de 2 mm de diámetro) son más dañinas a las células que burbujas mayores (aproximadamente 10 mm de diámetro). Por lo tanto el tamaño de la burbuja, la velocidad de flujo de gas y la presión del CO_2 deben estar ajustados a los requerimientos de cada cultivo específico [10].

Remoción de oxígeno

Altos niveles de oxígeno son tóxicos para la mayoría de los organismos fototróficos y junto a una alta exposición de intensidad de luz, pueden causar muerte foto oxidativa en el cultivo. Inyectar el gas desde el fondo del fotobiorreactor favorece el mezclado, suministrar cantidades suficientes de CO_2 y dependiendo de la altura que tenga el fotobiorreactor, se logrará una eficiente remoción de oxígeno disuelto en el medio. Con el aumento en la velocidad del líquido, que es función de la entrada de gas, la concentración de oxígeno disuelto en el medio disminuye, mejorando la producción de biomasa, sin embargo una alta velocidad del líquido ocasiona daño y muerte celular. Por esto se debe utilizar una velocidad de entrada de gas satisfactoria que permita la disminución de oxígeno disuelto [10].

Mezclado y dispositivos inyector de gas

Otro factor que contribuye al crecimiento de la microalga es el nivel de mezcla. El mezclado favorece la distribución de la radiación a todos los microorganismos del cultivo, influyendo en la irradiación promedio y en el régimen de luz al que las células están expuestas. También es necesario para prevenir la sedimentación, evitar la estratificación térmica, distribuir los nutrientes, remover el oxígeno generado por la fotosíntesis y asegurar que el cultivo experimente adecuados ciclos de luz y oscuridad. Es importante establecer adecuados niveles de mezclado durante el cultivo de microalgas, con el objetivo de no provocar la muerte de las células por cizallamiento.

Entre los sistemas de mezcla tenemos la agitación mecánica y mezcla de gases que trabajan solos o en combinación. El sistema de mezcla de gases como el empleado en columna de burbujas, causa menos daños que el sistema de agitación mecánica, el cual emplea paletas o álabes para mover el líquido. La columna de burbujas debe ser capaz de distribuir el líquido por toda la superficie. Una velocidad del fluido apropiada no debe exceder los 50 cm/s. Respecto a la velocidad de entrada del gas al

fotobiorreactor por el difusor, Barbosa y otros colaboradores plantean que la muerte celular es provocada a velocidades comprendidas entre 30 y 50 m/s [10].

Parámetros de daño y muerte celular

Existen diversas variables que afectan el crecimiento y la acumulación de metabolitos en las microalgas. Es importante determinar las condiciones óptimas de crecimiento, debido a que se conoce que la tasa de rendimiento (biomasa) para un mismo género de microalgas puede ser diferente de acuerdo a su lugar de origen. A continuación se presentan los distintos factores que afectan mayormente los cultivos de microalgas y sus efectos e interacciones en estos microorganismos en general.

La fotoinhibición es un proceso dependiente del tiempo, en el cual ocurre un daño irreversible pocos minutos después de iniciado el estrés por luz, con un daño que excede el 50 % después de 10 o 20 minutos. Sin embargo, se han encontrado pocas referencias disponibles acerca de la foto adaptación, la inhibición por luz o efectos de saturación en fotobiorreactores.

Para cualquier tipo de reactor usado en el cultivo de algas un mezclado eficiente debe ser proporcionado con el fin de producir una dispersión uniforme de las microalgas en el medio de cultivo, eliminando así los gradientes de concentración de luz, nutrientes (entre ellos CO₂) y temperatura. Contreras-Flores informaron que el principal problema en el cultivo de algas es el daño celular causado por el esfuerzo de corte. Se conoce que el exceso de la agitación mecánica es causa de turbulencia, lo que puede originar daños permanentes en la estructura celular afectando el crecimiento y la producción de metabolitos. Por lo contrario, una agitación insuficiente provocará sedimentación y muerte celular.

El aumento de la tasa de crecimiento de algunas especies de microalgas cuando se incrementa la turbulencia, es debida a la mejora del suministro de luz y CO₂. Sin embargo, a niveles mayores de turbulencia, el crecimiento se ve disminuido drásticamente, aumentando simultáneamente la velocidad superficial del gas causando un posible daño celular. Los sistemas de mezclas de gases o los sistemas de columnas de burbujeo causan menor daño celular que los sistemas de agitación mecánica. Esto únicamente para el caso de unidades de bombeo de aire, en donde la mezcla se logra por el flujo de líquido que se obtiene por la aspersión del aire al centro del tubo interno, disminuyendo la densidad celular del líquido provocando que este suba. El líquido fluye hacia abajo a través del tubo exterior, creando así una circulación natural. Aunque estos sistemas parecen causar un menor daño celular, no están exentos de un esfuerzo cortante causando daño celular en menor medida. Barbosa, reportaron la formación de burbujas en el difusor como el factor principal que conduce a la muerte celular. Por último, se ha reportado el efecto de sombreado mutuo, el cual implica el movimiento celular continuo desde y hacia las zonas de luz y oscuridad. Este efecto se considera esencial para garantizar la alta productividad de biomasa [10].

Control de temperatura

Para que el cultivo tenga un crecimiento abundante y una eficiencia considerable, es necesario además mantener su temperatura dentro de los rangos óptimos. Debido a las condiciones ambientales las temperaturas en el fotobiorreactor pueden variar y esto no es bueno para la microalga. En los climas cálidos, estos equipos suelen necesitar enfriamiento en el medio día; para solucionar este problema de calentamiento excesivo se utilizan técnicas como el sombreado, la inmersión en agua y el rociado de agua [6].

Requerimientos de luz

La disponibilidad e intensidad de la luz son factores que contribuyen a la productividad de los organismos fotosintéticos. Mantener el nivel de luz requerido es crítico. En correspondencia con determinada penetración de luz las microalgas experimentan la saturación y disipan el resto de esa energía como calor. Un aspecto muy importante a considerar es que la biomasa afecta la intensidad de la luz y su penetración; para cada cultivo existe una densidad celular óptima específica, este valor debe ser mantenido lo más constante posible, en orden de asegurar que la intensidad y penetración de la luz adquieran niveles óptimos, y así lograr un crecimiento y eficiencia de cultivo lo suficientemente elevado [10].

Materiales de construcción

Un aspecto fundamental en el diseño es la selección de los materiales necesarios para la construcción. Estos materiales deben poseer una alta resistencia mecánica y no pueden ser tóxicos para los organismos que van a ser cultivados en la plataforma. El polietileno y los tubos de polipropileno son baratos, pero ambos pierden la transparencia muy rápidamente y presentan serias limitaciones en cuanto al bioensuciamiento y la fuerza mecánica. El cristal podría ser un material excelente (alta transparencia, estabilidad química y durabilidad), sin embargo, son altos los gastos de instalación; además de su fragilidad. Las bolsas de polietileno también son usadas (bajo costo, alta transparencia, buena esterilidad) [10].

Los materiales más usados en la construcción de fotobiorreactores son el tereftalato de polietileno (PET), el polimetilmetacrilato (PMMA), el policarbonato (PC) así como el vidrio. No obstante, es válido destacar que el PMMA ha sido el material más utilizado por la comunidad científica. Las principales características y propiedades aparecen en la Tabla 1 a continuación [12].

Tabla 1. Propiedades de algunos materiales

Material	Propiedades físicas	Propiedades mecánicas		Propiedades ópticas
	Densidad [kg/m ³]	Resistencia hasta la deformación [MPa]	Resistencia a la flexión [MPa]	Transparencia [%]
PET	1390	59	86	89
PMMA	1190	80	115	93
PC	1200	70	95	87
Vidrio	2490	90	40	95

En cuanto a las propiedades químicas, el PET presenta una alta resistencia a los agentes químicos y estabilidad a la intemperie, además de ser una excelente barrera a CO₂. El PMMA presenta gran resistencia al ataque de muchos compuestos, pero es atacado por otros, entre ellos: acetato de etilo, acetona, ácido acético, ácido sulfúrico, alcohol amílico, benzol, butanol, diclorometano, triclorometano (cloroformo), tolueno. El policarbonato tiene la desventaja de no tener una elevada resistencia a agentes químicos, además de ser sensible a la hidrólisis. El vidrio es sumamente resistente al ataque por agentes

químicos, por lo que es muy utilizado como material de laboratorio, a temperatura ambiente solo es atacado por el ácido fluorhídrico. Sin embargo, hay que considerar que es muy pesado comparado con los polímeros y muy frágil.

En el estudio realizado por Rubio y otros colaboradores se compararon cualitativamente tres materiales para la construcción del fotobiorreactor: el acrílico, el polietileno y el vidrio flotado con base en las principales propiedades de cada material los cuales fueron seleccionados por el efecto sobre el medio de cultivo y el crecimiento de biomasa: el calor específico, la conductividad térmica, transmisión de luz, la energía retenida en las paredes del material. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Propiedades de materiales de construcción [12]

Propiedad	Vidrio Flotado	Acrílico rígido	Polietileno alta densidad	Evaluación (1-5)
Calor Especifico (J/kg K)	750	1465	2936,7	2
Conductividad Térmica (W/mK)	1	0,18	0.29	3
Transmisión de Luz (%)	90	92	80	5
Densidad (kg/m ³)	2500	1180	945-960	3
Energía Retenida (MJ kgm ⁻¹)	15,9	13,5	72,8	3

Diseños de difusores

Uno de los parámetros fundamentales a tener en cuenta a la hora del diseño de un fotobiorreactor es el mezclado de gases el cual se lleva a cabo mediante dispositivos inyectores de gas y en este caso específicamente a través de difusores. Existen dos diseños fundamentales de difusores empleados en fotobiorreactores: tipo regadera (Figura 12) y el de tipo cruz (Figura 13).

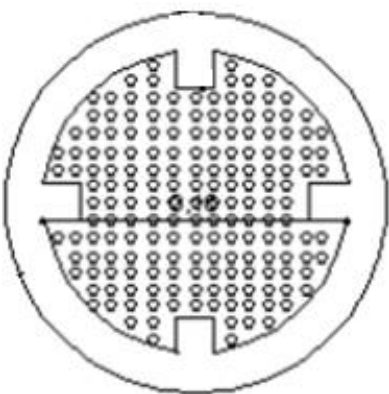


Fig.12. Difusor tipo regadera

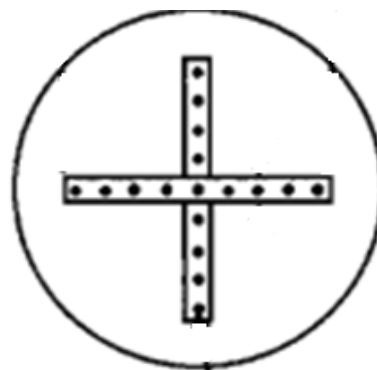


Fig.13 Difusor tipo cruz.

Villarreal y otros colaboradores [17] emplearon para metodología de suministro de CO₂ a cultivos de *Botryococcus Braunii* utilizando dos variantes de difusores: burbujeo y piedra difusora. Usando burbujeo como tipo de difusor, únicamente la altura fue significativa y tuvo un efecto positivo sobre los resultados, es decir, a mayor altura mayor dilución de CO₂. Sin embargo, usando piedra difusora, ambas variables, altura y diámetro, fueron significativas. En este caso, la altura tuvo un mayor grado de significancia y un efecto positivo, es decir, a mayor altura mayor dilución de CO₂. Por el contrario, el diámetro tuvo un efecto negativo, es decir, a mayor diámetro menor dilución de CO₂.

Rubio Fernández y otros colaboradores [18] emplearon un difusor tipo regadera para el diseño de su FBR Airlift (ver Figura 15). Para el caudal de mezclado en el difusor los valores de diseño preliminar para un diámetro de 9 pulgadas puede pensarse en el rango $[6,1 \times 10^{-4} \text{ a } 7,07 \times 10^{-4}] \text{ m}^3/\text{s}$. Sin embargo, en el equipo construido este diámetro se tomó como 0,0762 m, con el fin de preservar la relación adecuada entre diámetros y alturas que permite la correcta distribución de aire dentro del FBR, y como consecuencia de esta reducción de dimensiones, el caudal también lo hace de manera proporcional, tomando valores dentro del intervalo $[1,41 \times 10^{-4} \text{ a } 2,3 \times 10^{-4}] \text{ m}^3/\text{s}$. En cuanto al número de orificios y el diámetro de estos, se encontró un valor de aproximado de 100 orificios con un diámetro correspondiente a 3 mm cada uno, ocasionando velocidades y caudales bajos [14], lo cual no es beneficioso porque con diámetros de orificios mayores a 1 mm se alcanzan velocidades bajas haciendo mayor el flujo de burbujas y muchos orificios puede causar regímenes excesivamente turbulentos ocasionando la muerte del cultivo.

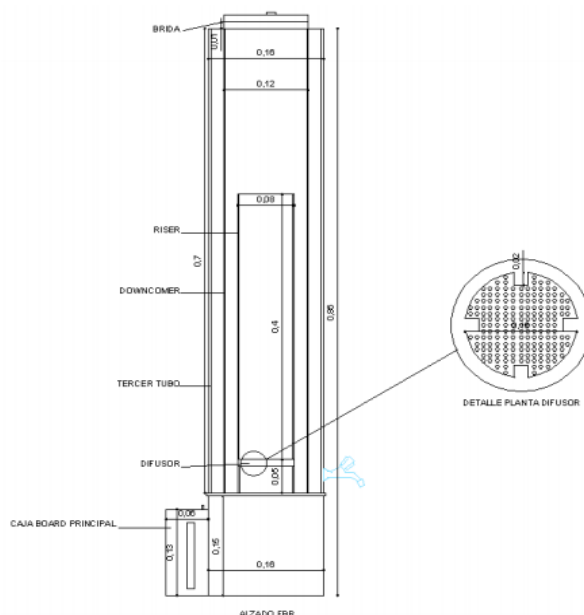


Fig.14 FBR Airlift con difusor de regadera

5. Conclusiones

En este trabajo se mostraron varias de las principales tecnologías para el cultivo de microalgas, especialmente la *Chlorella vulgaris*.

Referencias

1. Demirbas, A., *Biodiesel: A Realistic Fuel Alternative for Diesel Engines*. 2008.
2. Rivera Padrón, R., *Diseño y simulación de un fotobiorreactor de columna de burbujas para el cultivo de la microalga Chlorella vulgaris*. 2017. p. 83.
3. Autores, C.d., Biocombustibles para su uso en motores diesel. IDICT, 2014.
4. Pfeil, M., Piloto-Rodríguez, R., Díaz, Y., Sanchez-Borroto, Y., Melo-Espinosa, E.A., Denfeld, D., Pohl, S., Data on the thermochemical potential of six cuban biomasses as bioenergy sources. Data in Brief **29** : p. 105207.
5. Sanchez-Borroto, Y., Lapuerta, M., Melo-Espinosa, E.A., Bolonio, D., Tobio-Perez, I., Piloto-Rodríguez, R., Green filamentous macroalgae Chaetomorpha cf. gracilis from Cuban wetlands as a feedstock to produce alternative fuel: A physicochemical characterization. Energy Sources Part A. Recovery, Utilization and Environmental Effects 2018. **40**(10): p. 1279-1289.
6. Sanchez-Borroto, Y., Tobio-Perez, I., Romero-Lopez, T., Diaz-Dominguez, Y., Melo-Espinosa, E.A., Piloto-Rodríguez, R., Evaluación de las condiciones experimentales básicas para la producción de biomasa a partir de la microalga Chlorella vulgaris. Afinidad 2019. **76**(585).
7. Tobio I., Combustible emulsificado a partir del medio de cultivo residual de Chlorella vulgaris. Tesis de Diploma, 2016.
8. Arce Bastos, A., et al., *Cultivo de algas para la producción de biocombustibles*. Revista de Biología, UVIGO, 2015. **6**.
9. Autores, C.d., *Fotobiorreactores para el cultivo masivo de microalgas*. Ingeniería de Procesos aplicada a la Biotecnología de Microalgas, 2016. p. 1-7.
10. El Chakhtoura, J., *Photobioreactor Systems for Concentrating Solar Energy in the Lipids of Photosynthetic Algae: A Renewable Source of Microbial Biodiesel*. American University of Beirut, 2009.
11. Jiménez Rodríguez, J., *Construcción de un fotobiorreactor de columna de burbujas para el cultivo de la microalga Chlorella vulgaris*. 2018.
12. Dormido, R., et al., *An Interactive Tool for Outdoor Computer Controlled Cultivation of Microalgae in a Tubular Photobioreactor System*. sensors, 2014. **14**.
13. González Hernández, C., M. Sol Hernández, and M. Franco Nava, *Estimación de iluminación en un fotobiorreactor productor de biomasa a partir de microalgas*. Conciencia Tecnológica., 2014. **47**: p. 29-35.
14. Acuña Torres, R., *Diseño de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas oleaginosas parte 1. Teoría y generalidades*. Biotecnología Práctica y Aplicada, 2016: p. 28
15. Barra, R. and S. Guartatanga, *Diseño de un fotobiorreactor industrial para el cultivo de Spirulina*. Tecnológica SPOL. **20**.
16. Ramírez Mérida, L., L. Queiroz Zepka, and E. Jacob-Lopes, *Fotobiorreactor : Herramienta para el cultivo de cianobacterias*. Ciencia y Tecnología., 2013. **6**(2): p. 9-19.
17. Lopez Ayala, F. and R. Rojas Prada, *Diseño y montaje de un fotobiorreactor a escala de laboratorio para la producción de microalgas.*, in Facultad de Ingeniería Fisicoquímicas. 2010, Universidad Industrial de Santander.
18. Villarreal, J. and V. Kafarov, *Desarrollo preliminar de una metodología de suministro de CO₂ a cultivos de Botryococcus Braunii para la producción de biocombustibles*. ION, 2015. **28**: p. 33-50.
19. Rubio Fernández, D., et al., *Diseño de un fotobiorreactor Airlift a escala banco*. Elementos, 2014. **4**: p. 124-143.