

DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR A ESCALA PILOTO, CON BASE EN  
ENERGIA SOLAR, PARA EL CULTIVO DE *Chlorella vulgaris*

WILLIAM PÉREZ ALARCÓN



UNIVERSIDAD DE LA SABANA  
FACULTAD DE INGENIERIA  
MAESTRÍA EN DISEÑO Y GESTIÓN DE PROCESOS  
ÉNFASIS EN BIOSISTEMAS

DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR A ESCALA PILOTO, CON BASE EN  
ENERGIA SOLAR, PARA EL CULTIVO DE *Chlorella vulgaris*

WILLIAM PÉREZ ALARCÓN

DIRECTOR  
DRA. GLORIA EUGENIA GONZÁLEZ.



UNIVERSIDAD DE LA SABANA  
FACULTAD DE INGENIERIA  
MAESTRÍA EN DISEÑO Y GESTIÓN DE PROCESOS  
ÉNFASIS EN BIOSISTEMAS

Nota de aceptación.

---

---

---

---

---

Presidente del jurado

---

Dra. Ligia Consuelo Sánchez.

---

Dr. Mauricio Pardo.

Bogotá. Abril 17 de 2009

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la Corporación Universidad LIBRE de Colombia por la financiación de la maestría en su programa de capacitación docente.

Agradezco a la Universidad de la SABANA al grupo de docentes, a los administradores y laboratoristas que hicieron posible la realización de la investigación.

Agradezco al fondo patrimonial de la Universidad de la SABANA por su aporte financiero en la materialización del proyecto.



## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	15
ABSTRACT	17
1. OBJETIVOS	19
1.1. OBJETIVO GENERAL	19
1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	19
1.3. JUSTIFICACION	20
2. MARCO TEORICO	22
2.1. MICROALGAS	22
2.2. CARACTERISTICAS DE LA MICROALGA <i>Chlorella vulgaris</i>	24
2.3. CONDICIONES PARA LA PRODUCCION DE MICROALGAS	26
2.3.1. Sistemas de Cultivo	26
2.4. FOTOBIOREACTORES TUBULARES	28
2.4.1. Fotobioreactor tipo Serpentin	28
2.4.2. Fotobioreactor múltiple	32
2.4.3. Fotobioreactor Planos	36
2.5. VARIABLES INTERVINIENTES EN EL FUNCIONAMIENTO DE LOS FOTOBIOREACTORES	39
2.5.1. Importancia de la Luz	40
2.5.2. Valores de Luxes recomendados para el cultivo de Microalgas	42
2.5.3. Cociente de superficie/volumen	45
2.5.4. Acumulación del Oxígeno	46

2.5.5. Mezcla	48
2.5.6. Control de la temperatura	50
2.5.7. Control de Ph	51
2.5.8. Orientación del Fotobio reactor y dilución de la luz	51
2.5.9. Materiales	52
3. FASE 1: DISEÑO DEL FOTOBIOREACTOR A ESCALA PILOTO BASADO EN LA CARACTERIZACIÓN DE LA MICROALGA <i>Chlorella vulgaris</i>	55
3.1. INTRODUCCION	55
3.2. CRITERIOS DE DISEÑO	55
3.3. PROPUESTA PRELIMINAR	58
3.4. PARA METROS PARA EL REDISEÑO DEL MECANISMO	60
3.5. COMPARACIÓN DE MASAS ENTRE LOS DISEÑOS DEL FOTOBIOREACTOR	63
3.6. EL DISEÑO DEFINITIVO DEL FOTOBIOREACTOR INCLUYO:	64
3.6.1. Estructura y Conjunto de fotobio reactor	66
3.6.2. Diseño de unidad de cultivo o marmita	68
3.6.3. Módulo solar fotovoltaico	73
3.7. CONCEPTO DE POTENCIA EN EL PANEL SOLAR	76
3.8. CONCLUSIONES DEL ESTUDIO DEL DISEÑO ESTRUCTURAL DEL FOTOBIOREACTOR	77
4. FASE 2: ESTUDIO ENERGETICO DEL FOTOBIOREACTOR EXPERIMENTAL	79
4.1. INTRODUCCION	79
4.2. ANALISIS ENERGETICO	79

4.2.1. Potencia energética solar diaria	81
4.2.2. Radiación solar atlas de radiación solar de Colombia	81
4.2.3 Radiación global para el Municipio de Chía	82
4.2.4. Estudio Lumínico	83
4.3 ENERGIA MECANICA DE LA BOMBA NEUMÁTICA DE DIAFRAGMA	85
4.4 TRANSFERENCIA DE CALOR EN EL SISTEMA DE CALENTAMIENTO Y SERPETIN DEL FOTOBIOREACTOR	90
4.4.1. Condiciones de Cálculo y trabajo	90
4.4.2. Cálculo de la transferencia de calor en el sistema de Calentamiento y el serpentín	92
4.4.2.1. principio de ecuaciones por la transferencia	93
4.4.2.2. Pérdida por convección para la marmita	96
4.4.2.3. Pérdida por radiación para la marmita	97
4.4.2.4. Pérdida por convección para serpentín vidrio pairex	98
4.4.2.5. Pérdida por radiación para serpentín	100
4.5. CONCLUSIONES DEL ESTUDIO ENERGETICO DEL FOTOBIOREACTOR	101
5. FASE 3. FABRICACION E INSTALACION DEL FOTOBIOREACTOR EXPERIMENTAL	103
5.1. INTRODUCCION	103
5.2. SELECCIÓN DE MATERIALES	103
5.3. FABRICACION DEL FOTOBIOREACTOR	104
5.4. SISTEMA DE CONTROL EN EL EQUIPO	112

5.5. CONTROL DE TEMPERATURA EN LA MARMITA DE ALMACENAMIENTO	113
5.6. CONTROL DE PRESION DE FLUJO EN LA BOMBA NEUMATICA	113
5.7. FICHA TECNICA DEL EQUIPO	115
6. DISEÑO EXPERIMENTAL Y VALIDACIÓN DEL FOTOBIOREACTOR	118
6.1. INTRODUCCION	118
6.2. ALISTAMIENTO DEL EQUIPO PREVIO A CULTIVO	118
6.2.1. Procedimiento para el lavado del sistema de flujo	119
6.3. RECOMENDACIONES PARA EL INICIO DE CULTIVO	123
6.4. DISEÑO EXPERIMENTAL	124
6.4.1. Cultivo preliminar	127
6.4.2. Cultivo de validación	128
6.5. CONCLUSIONES DE LA VALIDACION DEL FOTOBIOREACTOR EXPERIMENTAL	132
CONCLUSIONES	134
RECOMENDACIONES	135
BIBLIOGRAFIA	136
ANEXOS	147

## LISTADO DE FIGURAS

Figura 1: Cepa de <i>Chlorella vulgaris</i> (Donada por IGV GmbH Alemania). Colección de microalgas Universidad de la Sabana	25
Figura 2: Principales sistemas de agitación en cultivos abiertos. Richmond & Becker 1986	27
Figura 3: Reactor tubular serpentín. Acien Fernández 2000.	28
Figura 4 (a, b, c): Fotobioreactores tipo serpentín horizontales instalados en la universidad de Almería, España (Molina Grima, G Torzillo). Flickinger 1999.	32
Figura 5: Fotobioreactores múltiples. Flickinger 1999.	35
Figura 6: Esquema del Fotobioreactor de NHTR. (a), Salida del gas; (b), electrodos y sensores; (c), Salida de cultivo; (d), Punto de inyección de aire y CO <sub>2</sub> . Las flechas indican los tubos no-burbujeados usados para hacer circular el cultivo suspendido. Flickinger 1999.	35
Figura 7: Bioespirales y Fotobioreactores planos. Flickinger 1999	39
Figura 8: Efecto de la energía luminosa (E) en la tasa Fotosintética (F) y en la eficiencia Fotosintética (F/E). Ek es la constante de saturación. Richmond 2000, Contreras 2003.	42
Figura 9: Tasas de crecimiento de 5 especies de algas verdes medidas a intensidades de luz límite. Sorokin 1957	44
Figura 10: Pérdida de transmitancia de diferentes tubería plásticas expuestas al aire libre a las condiciones climáticas de Italia central 1998, PC, Policarbonato; PVC, Cloruro de polivinilo; PMM, Polimetilmetacrilato; PE, Polietileno; TF, Teflon; PP, Polipropileno. Grosor de la tubería: TF, 0.15 milímetros; PE, 0.2 milímetros; PP, 0.4 milímetros; PC y PVC, 1 milímetro; PMM, 2 milímetros. Flickinger 1999	54

Figura 11: Vista general Diseño preliminar. Autor 2009	58
Figura 12: Movimientos requeridos en el serpentín, similares a los de un panel solar. Autor 2009.	59
Figura 13: Dimensiones de serpentín. Autor 2009	60
Figura 14: Imágenes seguidores solares. Ades 2008.	61
Figura 15: Fotobioreactor – Evolución del diseño. Autor 2009.	62
Figura 16: Fotobioreactor diseño final. Autor 2009	62
Figura 17: Masa total Reactor inicial. Autor 2009	63
Figura 18. Masa total Reactor final. Autor 2009.	63
Figura 19: Estructura del fotobioreactor (Despiece). Autor 2009	64
Figura 20: Estructura de la Unidad de Cultivo o Marmita (Despiece). Autor 2009	65
Figura 21: Unidad de energía solar Fotovoltaica (Despiece). Autor 2009	66
Figura 22: Unidad de cultivo o marmita. Autor 2009	69
Figura 23: Despiece de los componentes de la Unidad de Cultivo o marmita. Autor 2009.	70
Figura 24: Modulo seguidor Fotovoltaico (Despiece). Autor 2009	73
Figura 25: Potencia Fotovoltaica. Autor 2009	76
Figura 26: Esquema energético del fotobioreactor. Autor 2009.	80
Figura 27: Fotografía satelital del Biocentro de la Universidad de La Sabana. Google Earth 2008.	81
Figura 28: Mapa de radiación global solar en el municipio de Chía para el mes de agosto. Atlas de radiación solar de Colombia.2005	82
Figura 29: Luminosidad promedio a lo largo del día. Autor 2009	84
Figura 30: Luminosidad promedio por hora. Autor 2009.	84
Figura 31: Curva de Presión de aire contra Caudal. Autor 2009.	86
Figura 32: Curva de Caudal contra presión de descarga. Autor 2009.	87
Figura 33: Caudal contra Numero de Reynolds para Mangueras de	

descarga y retorno (Diámetro 12.7 mm). Autor 2009.	88
Figura 34: Numero de Reynolds - Caudal de descarga para tubería de vidrio (Diámetro 32 mm). Autor 2009.	88
Figura 35: Sistema de Calentamiento Indirecto del Medio de Cultivo. Autor 2009.	91
Figura 36: Vista Frontal para Estructura principal. Autor 2009	105
Figura 37: Vista en perspectiva de la Estructura principal. Autor 2009	106
Figura 38: Travesaños laterales con las varillas de estabilización y ranuras de ajuste y graduación angular. Autor 2009.	106
Figura 39: Detalle de unión de soporte triangular a rodamiento axial con la base principal. Autor 2009	107
Figura 40: Soporte para fijación de la tubería de vidrio. Autor 2009.	107
Figura 41: Fijación de la estructura principal. Autor 2009.	108
Figura 42: Abrazaderas dobles para fijación de tubería a soporte. Autor 2009	108
Figura 43: Tubería de vidrio instalada en estructura principal. Autor 2009.	109
Figura 44: Sellador estructural de silicona color negro, aplicado para la unión de la tubería de vidrio con bridas de acero inoxidable 304. Autor 2009.	110
Figura 45: Sistema de control de temperatura en serpentín. Autor 2009.	110
Figura 46: Marmita de almacenamiento con bomba neumática, tablero de control neumático, control de temperatura y Tanque de CO <sub>2</sub> . Autor 2009.	111
Figura 47: Cultivo de prueba de microalga <i>Chlorella vulgaris</i> . Autor 2009.	112
Figura 48: Instalación completa del fotobioreactor para cultivo de microalgas. Autor 2009.	112
Figura 49: Dispositivo de control de temperatura en la marmita. Autor 2009.	113
Figura 50: Control de presión de alimentación de la bomba. Autor 2009.	114
Figura 51: Control de porcentaje de CO <sub>2</sub> mezclado con aire suministrado en el serpentín. Autor 2009.	115

Figura 52: Abrazadera de ajuste rápido para bridas. Autor 2009.	120
Figura 53: Bridas de unión hidráulica. Autor 2009.	120
Figura 54: Manguera de alimentación de serpentín (superior) y manguera reforzada con alambre (inferior). Autor 2009.	120
Figura 55: Manguera reforzada (arriba) y Manguera de descarga. Autor 2009.	121
Figura 56: Manguera neumática de alimentación de CO <sub>2</sub> , conectada con unión "Te" de tubería metálica. Autor 2009.	121
Figura 57: Codo de acero inoxidable apretado con abrazaderas de ajuste rápido. Autor 2009.	122
Figura 58: Tubería de vidrio montada en soportes. Autor 2009.	122
Figura 59: Nivel de medio inicial. Autor 2009.	123
Figura 60: Medio inoculado y listo para inicio de cultivo. Autor 2009.	124
Figura 61: Vitamina Tiamina + Biotina (200 ml) e inóculo de <i>Chlorella Vulgaris</i> (460 ml). Autor 2009.	126
Figura 62: Productividad (cel/ml) Fotobioreactor 40L Primer cultivo. Autor 2009.	127
Figura 63: Comportamiento del pH Primer cultivo. Autor 2009.	128
Figura 64: Productividad (cel/ml) Fotobioreactor 40L, Segundo cultivo. Autor 2009.	129
Figura 65: Comportamiento del pH, Segundo cultivo. Autor 2009.	130
Figura 66: Productividad (cel/mr) fotobioreactor 40L, último cultivo. Autor 2009.	131
Figura 67: Comportamiento Ph, último cultivo. Autor 2009.	132



## LISTADO DE TABLAS

TABLA 1: PARÁMETROS DE DISEÑO	57
TABLA 2: LISTADO DE PARTES DE LA UNIDAD DE CULTIVO	71
TABLA 3: LISTADO DE PARTES MODULO FOTOVOLTAICO	74
TABLA 4: PROPIEDADES DEL AIRE	93
TABLA 5: CONDICIONES INICIALES DEL PRIMER CULTIVO DE VALIDACIÓN DEL EQUIPO	127
TABLA 6: CONDICIONES DEL SEGUNDO CULTIVO DE VALIDACIÓN	129
TABLA 7: CONDICIONES DEL ÚLTIMO CULTIVO DE VALIDACION	131

## LISTADO DE ANEXOS

ANEXO 1: CEPAS DE MICROALGAS

ANEXO 2: CEPAS DE MICROALGAS

ANEXO 3: CARACTERIZACION DE *Chlorella vulgaris* ANDRES MORA  
Universidad de la Sabana.

ANEXO 4: PLANOS

ANEXO 5: ANALISIS ESTRUCTURAL DE ELEMENTOS FINITOS

ANEXO 6: CATALOGO SCHOTT DURAN PARA TUBOS DE VIDRIO

ANEXO 7: CATALOGO DE MANGUERAS

ANEXO 8: DATOS TECNICOS LEDS DE POTENCIA.

ANEXO 9: MANUAL DE BOMBA

ANEXO 10: MANUAL DE MANTENIMIENTO DEL FOTOBIOREACTOR

## RESUMEN

Los sistemas de producción en el trópico pueden ser reorientados a conceptos más sistémicos y garantizar que algunas condiciones como la riqueza de la biodiversidad y la multitud de microclimas, lleven a construir una economía enmarcada en sistemas, utilizando lo mejor de la biodiversidad dentro de los ecosistemas como una base para la creación de alimento, vivienda y empleo. Las agroindustrias han incursionado en muchos campos contemplados en la biotecnología, uno de ellos es el caso del estudio de las microalgas, organismos vivos a partir de los cuales puedan obtenerse diferentes productos activos para la industria farmacéutica, cosmética, energética y nutricional mediante procesos biológicos sin desechos contaminantes, la utilización de las microalgas es también de gran importancia para la producción de aceites naturales empleados en la elaboración de Biodiesel. Todos estos procesos en donde el microorganismo con capacidad de captación de dióxido de Carbono y producción de oxígeno se desarrolla y crece, hacen de este campo tecnológico de la naturaleza una alternativa hacia la solución de problemas ambientales de magnitud global. La forma como se producen estos microorganismos es variada y ha sido estudiada en diferentes países del mundo y para su producción se han utilizado sistemas abiertos y cerrados los cuales han sido llamados fotobioreactores tema de estudio de este proyecto.

El objetivo de esta investigación fue la realización del diseño y fabricación de un Fotobioreactor a escala piloto con base en energía solar para la producción de la microalga *Chlorella vulgaris*, con el fin de simular las condiciones óptimas de crecimiento para la obtención de biomasa en el trópico a nivel de la Sabana de Bogotá. El desarrollo de este proyecto consideró aspectos como la selección de materiales, el control de las variables, los montajes y la utilización de energía solar como fuente energética para el diseño del Fotobioreactor. La investigación

se desarrolló en cuatro fases. La primera fase correspondió al diseño del equipo con base en los datos obtenidos en el estudio de las condiciones óptimas de crecimiento, se digitalizaron planos y se realizaron los cálculos estructurales correspondientes. En esta fase, se determinó a nivel de diseño y aplicando cargas, la resistencia mecánica del equipo para que respondiera a las necesidades planteadas a nivel experimental. En la segunda fase se realizó el estudio energético correspondiente a la radiación solar de acuerdo con el sitio, que arrojó un parámetro de diseño del equipo, igualmente se realizaron los estudios de la luminosidad, factor fundamental para que la microalga pueda realizar la fotosíntesis. La tercera fase consistió en la fabricación de un prototipo con una capacidad de cuarenta litros. Finalmente, en la cuarta fase, se realizó el diseño experimental y prueba del equipo con la microalga *Chlorella vulgaris*. Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente para validar el funcionamiento del equipo.

**Palabras clave:** Microalgas, Fotobioreactor, biomasa, energía solar

## ABSTRACT

Production systems in the tropics can be redirected to systemic concepts and ensure that some conditions such as wealth of biodiversity and the multitude of microclimates, leading to build an economic framework of systems, using the best of biodiversity within ecosystems as a basis for the creation of food, housing and employment. Agroindustries have penetrated into many fields in biotechnology, one of them is the case of study of the microalgae, living organisms from which various useful products can be obtained for the pharmaceutical, cosmetic, energy and nutrition industry by biological processes without polluting waste, the use of microalgae is also very important for the production of natural oils used in the production of Biodiesel. All of these processes where the microorganism capable of capturing carbon dioxide and producing oxygen develops and grows, make this technological field of the nature an alternative to solving environmental problems of global magnitude. The way to produce these microorganisms is diverse and has been studied in different countries around the world and for their production has been used open and closed systems which have been called fotobioreactores the topic of this project.

The objective of this research was the designing and manufacture of a Fotobioreactor pilot scale based on solar energy for the production of the microalgae *Chlorella vulgaris*, in order to simulate the optimal growth conditions for obtaining biomass in the tropics in the Sabana of Bogotá. The development of this project considered aspects such as material selection, control of variables, the assemblies and the use of solar energy as an energy source to design the Fotobioreactor.

The research was conducted in four phases. The first phase corresponded to the designing of the machine based on data obtained of the study of the optimal growth conditions, the plans were digitized and structural calculations were performed. At this stage, was determined at the designing level and applying loads, the mechanical strength of the machine in order to respond to the needs at the experimental level.

In the second phase was realized the energy study of solar radiation according to the place, it showed the designing parameter of the machine, were also realized studies of the luminosity, a key factor for the microalgae can perform photosynthesis. The third phase was the manufacturing of a prototype with a capacity of forty liters.

Finally, in the fourth phase was performed the experimental designing and testing of the equipment with the microalgae *Chlorella vulgaris*. The results were statistically analyzed in order to validate the operation of the machine.

Keywords: Microalgae, Fotobioreactor, biomass, solar energy.

## **1. OBJETIVOS.**

### **1.1 OBJETIVO GENERAL**

Diseñar y fabricar un Fotobioreactor a escala piloto con aprovechamiento de la energía solar para el cultivo de *Chlorella vulgaris*.

### **1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Diseñar el fotobioreactor partiendo de los parámetros de diseño y la caracterización de la microalga.
- Determinar el efecto de la radiación solar en Chía sabana de Bogotá sitio de prueba del cultivo en el Fotobioreactor.
- Realizar la ingeniería del Fotobioreactor examinando factores mecánico, eléctrico, térmico, y de control.
- Fabricar, probar y validar el equipo.

### 1.3. JUSTIFICACION

El uso adecuado de nuevas tecnologías en materia de energía hace que la universidad como centro académico se comprometa a realizar estudios que de una u otra forma aporten elementos para el uso racional de estas y además le brinden una salida adecuada al problema de la contaminación ambiental y al calentamiento global y a la generación de nuevos procesos de producción limpia, que no afecten los ecosistemas y el ambiente. El planeta tierra cada día esta siendo perturbado por todos los tratamientos que el hombre de una manera inadecuada hace de los combustibles fósiles, fruto de la emisión de gases a la atmósfera como el Dióxido de Carbono (CO<sub>2</sub>), metano y oxido nitroso entre otros. El planeta cada día esta sufriendo el resultado del calentamiento global y con la producción de cenizas y hollín se presenta el efecto de oscurecimiento global, la preocupación debe ser de todos.

Dicha emisión de gases a la atmósfera es la más alta presentada en los últimos 650 mil años, y en consecuencia de esto la temperatura del planeta es el doble de la presentada en el año 1700, esto explica que el efecto del calentamiento es fruto de las actividades humanas y no como algunas personas afirman, como un ciclo natural de la tierra posterior a la era glacial, las temperaturas en el planeta en el siglo XX se incrementó en 0.6 °C, en el siglo XXI se calcula que haya un aumento que oscila entre los 1.5 °C a 6 °C. (Laferriere. 2006)

Se han estudiado muchas maneras para dar solución al problema, en este proyecto se propone utilizar un producto de la naturaleza, con el cultivo de microalgas en Colombia, que unido con la idea de la generación de proyectos productivos, el estudio a fondo de Biosistemas, análisis de variables y fabricación de equipos a nivel de laboratorio y su escalado industrial, puede dar un aporte real a la disminución del impacto ambiental. No solamente se ayudara a dar salida al problema de la contaminación ambiental y producción de oxígeno, sino también



brindará una nueva alternativa de negocio basándose en la elaboración de productos extraídos de la biomasa de microalgas, como por ejemplo aceites para biocombustibles, fertilizantes, cosméticos, productos farmacéuticos, alimentos, entre otros. Así mismo, la creación de este tipo de mercado, habilitará la posibilidad de contar con el aprovechamiento del potencial de recursos naturales que tiene el país y el desarrollo de tecnologías limpias de producción, ya que se generarían residuos biodegradables reutilizables en procesos subsecuentes.

Toda proyección hacia nuevas tecnologías debe estar fundamentada en el desarrollo de las regiones en las que se implementan dichos adelantos, así como de crear un impacto social, traducido en la generación de empleos directos e indirectos y la integración de diferentes instituciones de orden académico, civil, ambiental y gubernamental que brinden garantías para la producción de biomasa en el territorio nacional, para ser aplicada en proyectos específicos, en el caso específico del proyecto en donde se impulsa al desarrollo de equipos para investigación y producción industrial y se expande la brecha de producción de biomasa de microalgas, la cual puede ser utilizada para desarrollo de múltiples productos.

## 2. MARCO TEORICO

### 2.1. MICROALGAS

La microbiología ha estudiado múltiples clasificaciones de los seres vivos en la naturaleza los cuales han dividido en reinos, a partir de los estudios y propuestas de Whittaker 1969 se propuso una clasificación de cinco reinos en la naturaleza:

- Monera incluye los procariotes.
- Protista que incluye microorganismos eucarióticos unicelulares.
- Fungi.
- Vegetal que contempla organismos multicelulares y multinucleados.
- Animal con organismos multicelulares animal.

El tema de los microorganismos se encuentra en tres de los cinco reinos, el Monera estudia algas azul verdosas y bacterias, el reino Protista profundiza en microalgas y protozoos y Hongos que incluyen levaduras y mohos. (Pelczar 1982),

Las microalgas son organismos de estructura eucariota, fotoautótrofos, capaces de realizar fotosíntesis transformando energía lumínica en energía química, pueden asimilar el carbono en forma de CO<sub>2</sub>, están presentes en medios acuáticos donde existan condiciones de nutrientes, temperaturas, y fuentes de carbono.

Las microalgas situadas dentro del reino protista han sido utilizadas desde hace tiempo, su uso se remonta a la segunda guerra mundial cuando los científicos Alemanes las empezaron a cultivar para obtener lípidos y proteínas (Harder & Von Withs, 1942; Von Denffer, 1949; Gummert et al 1953). Posteriormente, países como la Unión Soviética, Estados Unidos, Japón, entre otros realizaron estudios similares. En el año de 1957, Tamiya realiza la primera revisión sobre el tema. A nivel industrial se desarrolló la industria de las microalgas en los años 60 desarrollando procesos con *Chlorella*. En la década de los 70 se desarrollan investigaciones con *Spirulina* y en los 80 los estudios se inclinaron por *Dunaliella salina*. (García González et al 2000) Actualmente hay múltiples estudios sobre la biotecnología de las algas se realizan en todo el mundo, las aplicaciones se han dirigido a la utilización de la biomasa de microalgas en comida para animales, biofertilizantes y purificación de aguas residuales como un bioremediador (Goldman 1979 a). En estudios recientes se ha demostrado que las microalgas pueden producir una gran cantidad de compuestos como polisacáridos, lípidos, proteínas, pigmentos, vitaminas, esteroides, enzimas, antibióticos, productos químicos, farmacéuticos y biocombustibles (metanol, etanol) entre otras aplicaciones. La producción eficiente de microalgas a nivel industrial requiere tener en cuenta, el conocimiento de la fisiología y bioquímica de las microalgas, los procedimientos y verificación de los resultados de laboratorio, el diseño de equipos que garanticen el control de variables en los cultivos y la interdisciplinariedad con otras ramas del conocimiento para generar excelentes resultados. Actualmente las microalgas y cianobacterias cultivadas son: *Chlorella*, *Spirulina*, *Dunaliella*, *Nannochloris*, *Nitzsya*, *Cryptocodinium*, *Schizochytrium*, *Skeletonema*, *Isochrysis* y *Chaetoceros*. (Sánchez, 2008).

En general, las algas tiene características particulares, van desde unicelulares de 0,001 de diámetro (Microalgas) hasta las algas marinas que alcanzan hasta los 50

metros de largo (Macroalgas) (Falkowski 2004), estos seres participan en ecosistemas y se les reconoce porque:

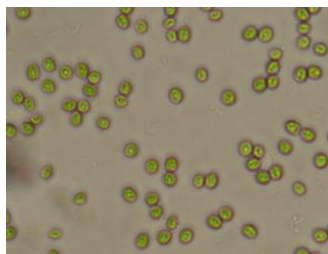
- Juegan un papel importante en la participación de la producción de oxígeno y ciclo del carbono.
- Interactúan con otros organismos permitiendo el funcionamiento de los ecosistemas.
- En asociación con los hongos forman líquenes, organismos colonizadores de la roca desnuda en ambientes extremos.
- Contribuyen en la cadena trófica del medio marino y agua dulce.
- Estos organismos microscópicos conforman el 1% de la biomasa fotosintetizadora del planeta pero son responsables del 45% del total de la producción primaria del planeta. (Aulados 2008).

## **2.2. CARACTERISTICAS DE LA MICROALGA *Chlorella vulgaris*.**

*Chlorella vulgaris* es un género de algas verdes unicelulares, del *Filo Chlorophyta*. De forma esférica, cerca de 2-10  $\mu\text{m}$  de diámetro, sin flagelo. *Chlorella* contiene los pigmentos verdes fotosintetizadores clorofila-a y -b en su cloroplasto. A través de la fotosíntesis se multiplica rápidamente requiriendo solo dióxido de carbono, agua, luz solar, y pequeñas cantidades de minerales, para reproducirse. El nombre *Chlorella* proviene del griego chloros: verde; y del sufijo diminutivo latino ella: "pequeño". El bioquímico alemán Otto Heinrich Warburg recibe el Premio Nóbel en Fisiología, de Medicina en 1931 por el estudio de la fotosíntesis en *Chlorella*. En 1961 Melvin Calvin de la Universidad de California recibe el Premio

Nóbel de Química por su estudio sobre los caminos de la asimilación del CO<sub>2</sub> en plantas usando esta microalga. (wikipedia 2009).

*Chlorella* puede servir como una fuente potencial de alimento y de energía debido a su eficiencia fotosintética, que puede alcanzar teóricamente el 8 %, que es comparable con otros cultivos altamente eficientes como caña de azúcar. También lo hace una atractiva fuente alimentaria por su alta proporción de proteína y otros nutrientes esenciales al humano; seco, tiene cerca de 45% proteína, 20% grasa, 20% carbohidrato, 5% fibra, 10% minerales y vitaminas. Sin embargo, debido a que es un alga unicelular, su cosecha presenta enormes dificultades prácticas para hacerlo en gran escala. Los métodos de producción de biomasa se están comenzando a usar para su cultivo en grandes depósitos artificiales. Sorokin y Krauss, en 1961, analizaron el efecto que tenía la luz sobre el crecimiento de *C. vulgaris* (Acien et al., 1997). De la misma forma en Venezuela, en la Facultad de Ciencias de La Universidad del Zulia se analizó la respuesta a la variación de diversos factores que se ven involucrados en el cultivo de *Chlorella sorkiana*. (Acien et al., 1998) Por su parte un grupo de Investigadores del Centro de Investigaciones de Energía Solar de Cuba, determinaron la composición bioquímica de la biomasa obtenida de cultivos de la microalga *C. vulgaris*. Otra serie de estudios se han enfocado en el área de biotecnología. Permitiendo el desarrollo de diversos equipos para el cultivo a escala industrial (Figura 1).



**Figura 1:** Cepa de *Chlorella Vulgaris* (Donada por IGV GmbH Alemania).

Colección de microalgas Universidad de la Sabana

## **2.3. CONDICIONES PARA LA PRODUCCION DE MICROALGAS**

Las microalgas se cultivan en condiciones controladas, uno de los factores iniciales para la realización de los cultivos son los inóculos de la especie que interese, estos deben ser manipulados de forma adecuada y en recipientes apropiados, muchas cepas han sido aisladas a la fecha (Anexo 1 y 2): En Colombia la Dra. Lucila Atehortua ha realizado estudios para la obtención de biodiesel a partir de microalgas plantea la investigadora que existen cepas como la microalga *Chlorella sp.* La cual posee un valor energético en contenido de aceite con un porcentaje de 28 – 32 % cada compañía que tiene la propiedad de las cepas genera también un manual de las condiciones necesarias para el cultivo de las mismas, el manejo de las microalgas a nivel de laboratorio o a nivel industrial requiere de plantas para la producción, llamados sistemas de cultivo (Álvarez et al 1989).

### **2.3.1. Sistema de Cultivo**

Se conocen dos tipos de sistemas de cultivo, los sistemas abiertos y sistemas cerrados. Los sistemas cerrados reducen la contaminación del cultivo por parte de otros organismos no deseados (algas competidoras, parásitos, epifitos), los cultivos pueden ser atacados por sustancias químicas que pueden resultar tóxicas para el alga. En el diseño de sistemas abiertos trabajado desde la antigüedad, se utilizan piscinas donde la agitación es realizada por paletas que impulsan el medio de forma circular, en algunos casos se emplean bombas, hélices pequeñas pendientes, inyección de gases (Aire y dióxido de carbono) (Figura 2) y en otros casos la agitación es lograda por un operario, en todos los casos el cultivo está expuesto a contaminación, el material del recipiente casi siempre es hormigón cubierto con plástico a una profundidad de 50 cm. (Richmond et al 1986). En el

presente proyecto se realizo un equipo para el cultivo de microalgas con el parámetro de cultivo cerrado.

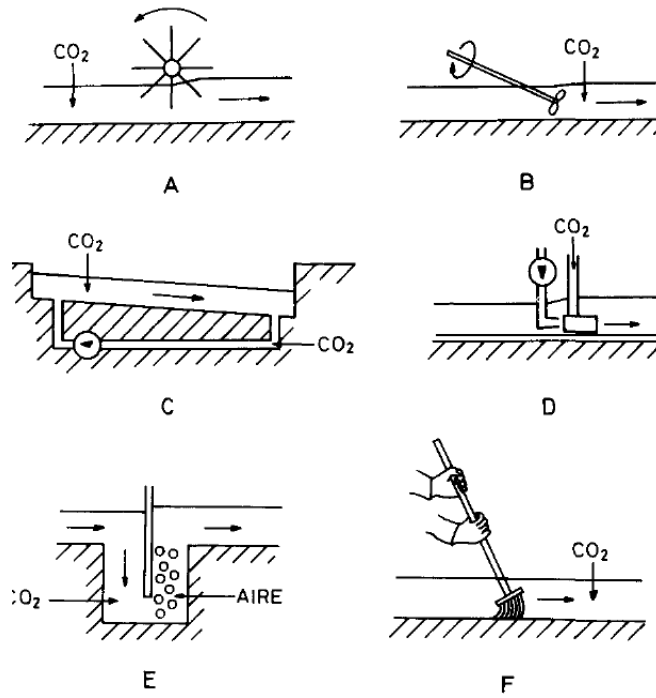


Figura 2: Principales sistemas de agitación en cultivos abiertos. Richmond & Becker 1986

Los sistemas cerrados se caracterizan por la facilidad de control de variables y son llamados fotobioreactores.

## 2.4. FOTOBIOREACTORES TUBULARES

### 2.4.1. Fotobioreactor tipo Serpentin

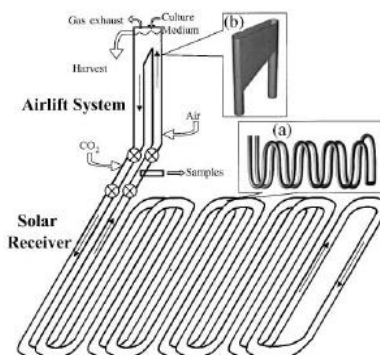


Figura 3: Reactor tubular serpentin. Acien Fernández 2000.

Los fotobioreactores tipo serpentin son sistemas en los cuales varios tubos rectos del cultivo son conectados en serie por curvas en U para formar un circuito plano que se pueda arreglar verticalmente u horizontalmente (Figura 3). El intercambio de gas y la adición de nutrientes ocurren en un recipiente separado. La circulación entre el circuito plano y el intercambio de gas son realizados mediante el uso de una bomba. Varios reactores de este tipo han sido desarrollados en las dos ultimas décadas siguiendo el diseño original de Tamiya (Tamiya.et al.1953). A comienzos de los ochentas, Gudin trabajando en el centro d' Etudes Nucleares de Cadarache, Francia, ideó (y actualmente están mas desarrollados) y estableció la principal característica de un reactor tipo serpentin horizontal, es el uso de un estanque de agua para obtener el control de la temperatura (un método anticipado por Tamiya) (Gudin.et al.1983). La primera versión consistía de tubos de 3 centímetros de diámetro, posteriormente se construyó un fotobioreactor de 10 m<sup>2</sup> y luego una planta de 100 m<sup>2</sup> usando un diámetro más grande de tubos plásticos flexibles. El sistema de 100 m<sup>2</sup>, experimentado de 1986 a 1989, estaba compuesto de cinco unidades idénticas de 20 m<sup>2</sup>, cada una consistía de 20 tubos, 20 m de



longitud y 6 cm. de diámetro, hecho de polietileno de baja densidad de 0,25 milímetros de espesor.

Aunque la inmersión por flotación en un pozo de agua puede proporcionar la termorregulación eficiente, el costo de tal sistema es muy alto para la mayoría de los usos. Los reactores de este tipo desarrollados por Gudín también están siendo usados por Molina Grima y sus compañeros de trabajo en España (Figura. 4a) (Acien et al, 1998, Molina et al 1995). Estos sistemas consisten en un circuito horizontal, hecho de tubos de Plexiglás (cerca de 100 m en longitud y 2.6 centímetros de diámetro), el cual está conectado al sistema de elevación de aire de 3m a 3,5m de altura.

El receptor solar tubular es sumergido en un estanque a poca profundidad para regular la temperatura. El oxígeno disuelto, el pH, y los sensores de la temperatura están conectados a una unidad de control en línea y una computadora para la adquisición de datos. A comienzos de los ochentas, Pirt y sus compañeros de trabajo desarrollaron un reactor tubular tipo serpentín en la Universidad de Londres (Pirt et al 1983). El fotobioreactor consistió en una plataforma formada por 52 tubos de cristal Pírex (cada uno aproximadamente 1 m de largo y un espesor de 1 cm.) apilados horizontalmente. Los tubos fueron conectados a tubería de cristal Pírex en forma de U usando silicona de caucho para formar un ciclo vertical. La salida del ciclo fue conectada a través de una canalización vertical con un desgasificador. Un segundo tubo conecta el desgasificador con la entrada del circuito. El reactor cubre un área de cerca de 0.5 m<sup>2</sup>. La suspensión del cultivo (cerca de 4.6 L) podía ser circulada por medio de una bomba peristáltica, una bomba rotativa de desplazamiento positivo; el último método fue preferido debido a los efectos nocivos observados con las dos bombas. El trabajo realizado por Pirt y sus compañeros de trabajo fue notable puesto que proporcionó el primer análisis detallado de los parámetros

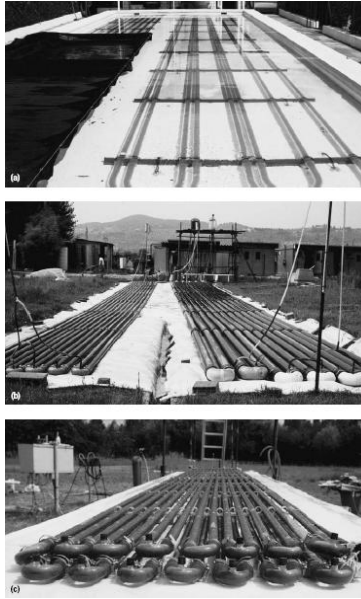
fundamentales de la ingeniería de un fotobioreactor cerrado. El análisis de Pirt, sin embargo, no consideraba el problema de la acumulación del oxígeno fotosintético generado, que representa un factor limitador clave en reactores tubulares a gran escala, y no hecho caso al efecto de saturación de luz, si se asume que las eficacias observadas a intensidad bajas de luz podrían ser alcanzadas con luz solar. Para el caso de la investigación del presente estudio se realiza el diseño del serpentín teniendo en cuenta el material de vidrio usado por la experiencia descrita anteriormente por Pirt con modificaciones en los codos y disponiéndolo en forma inclinada, y para no tener problemas con los gases en la presente investigación se realizó un sistema desgasificador en la unidad de cultivo, y el inconveniente del aumento del fotoperiodo se logra utilizando energía solar fotovoltaica.

Aunque el reactor tipo serpentín de Pirt solucionó, muchos de los problemas encontrados comúnmente en los sistemas cerrados, el concepto de una relación muy alta entre  $S/V$  (Superficie, Volumen) en los reactores revelaron todas sus desventajas cuando la disposición experimental fue escalada a nivel industrial. El reactor vertical tipo serpentín diseñado por Pirt fue patentado en 1983 (Patente 2.118.572). El serpentín múltiple y el vertical fueron diseñados hasta un tamaño comercial a finales de los años 80. A mediados de los años ochenta en el dei Microrganismi Autotrofi (Florencia, Italia), Florenzano y sus compañeros de trabajo comenzaron sus experimentos con fotobioreactores tubulares horizontales tipo serpentín para el cultivo de *Arthrospira* (Torzillo et al., 1986).

Uno de los primeros reactores piloto que armaron fue hecho de tubos de polietileno flexible de 14 centímetros de diámetro y 0.3mm de espesor. Debido a problemas de fugas, estos tubos flexibles fueron substituidos más adelante por tubos rígidos de Plexiglás. La unidad estándar consistía de tubos rectos, con un diámetro interno de 13 cm y 0.44 cm de espesor, puestos de forma paralela sobre

una hoja blanca y unidos por curvas en U de PVC para formar un circuito de 500 m de longitud (Figura. 4b). Al salir del reactor, la suspensión del cultivo fluye a un tanque de recepción, donde una bomba de diafragma levanta la suspensión a un tanque de alimentación colocado a 3 m sobre el nivel del suelo. Al tanque de alimentación le fue proporcionado un sifón que permite la descarga de alrededor de 340 L del cultivo dentro del fotobioreactor cada 4 minutos, así se sostiene el flujo del cultivo de 26 centímetros. El fotobioreactor tenía un volumen total de 8 m<sup>3</sup> y cubría un área de 80 m<sup>2</sup>. Para el diseño propuesto en este estudio se aprovechó la experiencia del uso de la bomba de diafragma y el problema de fugas se evitó usando un sistema de pega con silicona de alta resistencia entre el vidrio y el acero inoxidable, arrojando excelentes resultados.

La productividad de *Arthrospira* en este sistema fue más alta del 50% que en estanques abiertos, debido al mejor perfil de temperatura durante el día y al período extendido de cultivo. Posteriormente, el mismo grupo desarrolló un experimento con dos reactores planos tipo serpentín de 145 Litros (Torzillo et al., 1991) (Figura. 4c). El sistema consistió en un circuito con una longitud de 245 m hecho con tubos de Plexiglás de 2.6 cm. de diámetro interno dispuestos en dos planos para maximizar la captura de la radiación que afectaba al plano horizontal, y aumentar el área de producción. Los dos planos fueron conectados para formar un solo circuito y el cultivo, se hizo circular por medio de dos ductos aéreos, fluyó de un plano al otro. Un área máxima de productividad de 27.8 g m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>. Parecería que para tal sistema el alto costo, la pérdida de productividad volumétrica debido a sombra que genera el plano superior excedería las ventajas que provienen del aumento del área productiva y del ahorro de área de terreno.



**Figura 4 (a, b, c): Fotobioreactores tipo serpentín horizontales instalados en la universidad de Almería, España (Molina Grima, G Torzillo).Flickinger 1999.**

#### **2.4.2. Fotobioreactor múltiple.**

El fotobioreactor múltiple consiste en una serie de tubos paralelos que están conectados en los extremos a dos tuberías de acoplamiento, uno para la distribución y otro para la colección de la suspensión del cultivo. Este tipo de fotobioreactor representa una de las configuraciones más simples posibles. Cerca del 15% de la energía consumida para reciclar el cultivo en reactores tipo serpentín es empleado en el movimiento de la suspensión del cultivo alrededor de las curvas; así, con respecto a los reactores tipo serpentín, en los cuales el cultivo invierte la dirección del movimiento en cada vuelta, los sistemas múltiples permiten un ahorro significativo de la energía. En 1991 en Javan (Tadshikistan), Sagdiana PGT construyó y utilizó un reactor de vidrio a gran escala del tipo múltiple (Figura

5 a) (Dvorin et al., 1992) para el cultivo de *Chlorella*. El sistema, probablemente es el reactor de cristal más grande construido, estaba constituido por 10 unidades que consistían de dos bancos de 287.7 cm de diámetro interno, cada uno de 73.5 m de longitud, para un total de cerca de 41.000 m de tubería. Los tubos fueron conectados en paralelo a dos cabezales de metal cada uno de 20 cm de diámetro.

La suspensión del cultivo ( $13 \text{ m}^3$  en cada unidad) fue circulada entre los dos bancos de tubos a una velocidad de  $1.1 \text{ m s}^{-1}$  por una bomba de la capacidad de  $290 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ . Cada unidad fue provista con 3.6 m altura, 2.4 m de diámetro para el intercambiador del gas. El control de la temperatura fue obtenido a través de la circulación del agua de una torre de refrigeración que sirve para todas las 10 unidades. El reactor fue operado de agosto a octubre 1991, durante el cual produjo 0.5 toneladas de biomasa de *Chlorella*. Inestabilidad en el proceso de producción y contaminación del proceso por *Scenedesmus* fue reportada como un problema principal. Tredici y compañeros de trabajo, trabajando en la Universidad de Florencia (Italia), han desarrollado varios tipos de fotobioreactores múltiples horizontales (Figura 5 b) (Tredici et al 1991). En este fotobioreactor el control de la temperatura durante el día es obtenido rociando agua; se recoge el agua que se refrigera y se reutiliza. La unidad más grande experimentada hasta ahora ocupa un área de  $30 \text{ m}^2$  y contiene cerca de 600 L de cultivo. La característica principal de los reactores de NHTR desarrollados en Florencia es el uso de inyección de aire. El aire es inyectado en la parte inferior de cada tubo mediante un tubo perforado insertado en el colector inferior. En una configuración usada más recientemente, no son gasificados, y se utilizan como tubos de retorno de flujo para aumentar la velocidad de circulación del cultivo y obtener una mejor transferencia de masa. La adición de dióxido de carbono a la corriente del aire o en el retorno de los tubos se regula a través de un sistema de pH estadístico. (Figura 6). Para el caso de la presente investigación las condiciones en el diseño del fotobioreactor varían, el aire se mezcla con el  $\text{CO}_2$ , y es inyectado por tubing de

acero inoxidable grado 304 a través de dos puntos del serpentín, la temperatura no la tenemos que reducir sino aumentar, el caudal se obtiene por medio de una bomba de diafragma.

Un sistema múltiple elevado llamado el fotobioreactor tubular fue ideado y experimentado en Singapur (Figura 5 e). El reactor consistía de dos series de 10 tubos de PVC transparentes paralelos (25 m de largo con un diámetro interno de 2.5 cm.), ambos colocados en ángulo de 25° grados con la horizontal pero inclinados en direcciones opuestas. La suspensión de algas fue impulsada por la inyección del aire con una serie de canalizaciones verticales de PVC (3.5 cm. de diámetro, 5 m en altura) a un tanque de recepción de donde fluye hacia abajo a la primera serie de tubos inclinados. Éstos fueron conectados a la base de una segunda serie de canalizaciones verticales del aire que levanta el cultivo a otro tanque de recepción, de donde el cultivo desciende otra vez a través del segundo sistema de los tubos inclinados a la base de la primera serie de canalizaciones verticales. (Lee et al., 1995).

Este reactor elevado, contenía alrededor de 300 L de cultivo y cubría un área aproximadamente 12 m<sup>2</sup>, fue demostrado que se adapta bien a la operación en latitudes bajas. *Chlorella pyrenoidosa* fue cultivada por varios meses y alcanzó densidades celulares muy altas (>10 g L<sup>-1</sup>). Los problemas principales eran la biodegradación, que se solucionó inyectando el aire del extremo superior de los tubos inclinados, y la formación de espuma en las densidades celulares más altas (Figura 6). Una productividad relativa al área de 72 g m<sup>-2</sup> de tierra ocupada d<sup>-1</sup> fue reportada; según lo mencionado previamente, el último parámetro puede ser engañoso cuando se refiere a los sistemas de elevación.

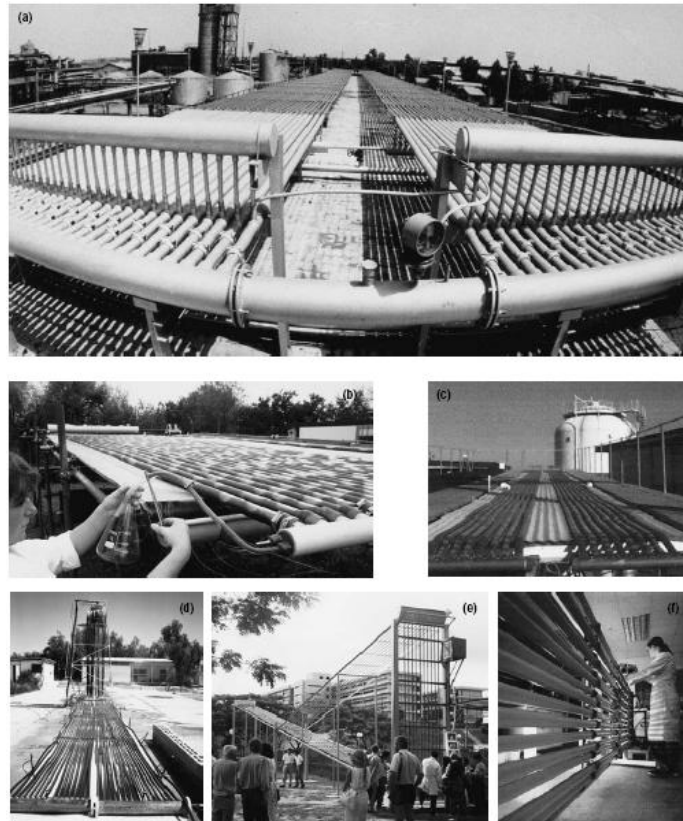


Figura 5: Fotobioreactores multiples. Flickinger 1999.

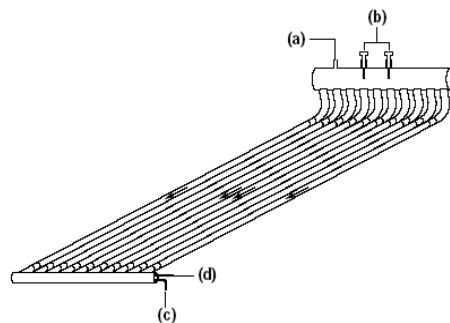


Figura 6: Esquema del Fotobioreactor de NHTR. (a), Salida del gas; (b), electrodos y sensores; (c), Salida de cultivo; (d), Punto de inyección de aire y CO<sub>2</sub>. Las flechas indican los tubos no-burbujeados usados para hacer circular el cultivo suspendido. Flickinger 1999.

### 2.4.3. Fotobioreactores planos

Los Fotobioreactores planos y los compartimientos planos de cultivo se han utilizado a menudo para crecimiento microorganismos fototrópicos en el laboratorio porque proporcionan una geometría simple y facilitan la medida de la radiación en la superficie del cultivo. A pesar de su simplicidad evidente, pocos sistemas han sido utilizados para el cultivo de microalgas. A mediados de los años ochenta, dos grupos que trabajaban independientemente en Francia y en Italia introdujeron paneles alveolares planos en este tipo de cultivo. Estos sistemas son construidos de PVC, policarbonato, o de hojas de metacrilato de polimetilo que internamente se reparten para formar canales rectangulares llamados alvéolos. Estas hojas están disponibles en el comercio en espesores estándar a partir de 4.5 a 40 milímetros.

Los primeros reactores de panel construidos y experimentados en Florencia por Tredici y sus compañeros de trabajo fueron colocados verticalmente, con los canales (y de ahí el flujo del cultivo) un diseño adoptado más adelante en Alemania por Pulz. Una bomba fue utilizada para circular la suspensión.

En el año de 1988 se emitieron patentes para diferentes diseños (Italia Patente 9357-A/88 Marzo 11, 1988) en que la placa fue colocada verticalmente, pero con los canales perpendiculares a la tierra; la mezcla fue alcanzada por las burbujas de aire en el fondo del reactor. Esta última versión (Figura 7 a) se ha utilizado extensivamente en Florencia para el cultivo al aire libre de cianobacterias (Tredici et al., 1997, 1998, 1992 Pushparaj et al., 1997). Las placas usadas en Florencia se construyen por lo general en hojas de plexiglás® de 16-mm de espesor, comúnmente. Las características principales que identifican estos reactores son la alta proporción  $S/V$  ( $80 \text{ m}^{-1}$ ), la vertical o la inclinación horizontal de los canales, y el hecho de que no se utiliza ningún dispositivo mecánico para mezclar la



suspensión, facilita que la circulación y la desgasificación del cultivo sea lograda a través de burbujas de aire en la base de cada canal.

El bajo funcionamiento alcanzado por cultivos en placas ha sido atribuido al hecho de que estos sistemas, a diferencia de los reactores tubulares, no alcanzan la difusión de luz (a no ser que ellos sean colocados en una alta inclinación con la horizontal) y así la producción en placas no son efectivas debido al efecto de saturación de luz y de fotoinhibición (Tredici et al., 1998). Las placas alveolares, como otros sistemas planos pequeños, se pueden utilizar provechosamente para la investigación o en pequeñas plantas de producción, sin embargo, debido al hecho de que el área superficial de la unidad de cultivo está limitada a algunos metros cuadrados, no son convenientes para el uso en plantas comerciales grandes. En el IGV Institut für Getreideverarbeitung (Bergholz-Rehbrücke, Alemania), se cultivaron unidades basadas en paneles alveolares de 32 mm de espesor que fueron desarrollados y operados por Pulz y sus compañeros de trabajo (Pulz et al., 1998). Las placas fueron colocadas verticalmente con los canales dispuestos horizontalmente, apenas 20 centímetros de separación, para formar una estructura compacta llamada PBR (Figura. 7b).

La característica principal del PBR es el embalaje estrecho de los paneles: 42 placas, para un volumen total de  $6 \text{ m}^3$ , pueden ser embalados en  $100 \text{ m}^2$  de tierra. Las productividades regionales de hasta  $130 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  han sido divulgadas para tales unidades compactas, pero estas figuras parecen excesivas y confirman de hecho la incorrección de referir la producción de reactores verticales a la unidad de tierra ocupada. El mérito principal del PBR, además de su alto grado de desarrollo técnico, es el logro de la dilución significativa de la luz. Richmond y sus colaboradores (Hu et al., 1996) desarrollaron un fotobioreactor modular inclinado que consistía en una serie de compartimientos de cristal plano, m de 0.7 m de alto, de 0.9 de largo, y de generalmente 2.6 cm. en el ancho interno, conectado en

cascada e inclinado al ángulo apropiado para maximizar la captura de radiación solar (Figura. 7c). El volumen del cultivo varió a partir 6 a 50 L según ancho del reactor. Dos métodos de mezclado fueron probados para este modelo: un sistema de puente aéreo que consistía en cinco columnas transparentes de PVC insertadas verticalmente dentro de los reactores con aire comprimido inyectado en la base de las columnas, y las burbujas de aire mezcladas por medio de dos tubos perforados que funcionan horizontalmente a lo largo de la longitud entera del reactor, uno en el fondo y el otro a una altura media. El segundo método produjo un mejor funcionamiento. Se alcanzó un registro de productividad de  $49.4 \text{ g m}^{-2}$  de la superficie iluminada  $\text{d}^{-1}$ , adoptando una ancho del reactor de 2.6 cm. y una mezcla vigorosa ( $2.5 \text{ L de aire L}^{-1}$  de suspensión de cultivo  $\text{min}^{-1}$ ). Cuando las superficies de la parte posterior y del lado del reactor fueron cubiertas para evitar la entrada de luz difusa, la productividad fue reducida cerca del 20%. Sin embargo, este proyecto es el más divulgado para una cianobacteria cultivada al aire libre. Usando este sistema modular plano, el grupo israelí ha contribuido a aclarar tales aspectos fundamentales de diseño del fotobioreactor como densidad celular referente a la trayectoria de la luz, el efecto de la inclinación del reactor, y la importancia del modo y la intensidad de la mezcla.



Figura 7: Bioespirales y Fotobioreactores planos. Flickinger 1999

## 2.5 VARIABLES INTERVINIENTES EN EL FUNCIONAMIENTO DE LOS FOTOBIOREACTORES

La función básica de un fotobioreactor es proporcionar un ambiente controlado en el cual se alcance un crecimiento óptimo y máxima biomasa o la síntesis del producto con una microalga específica (Torzillo et al., 1997). Esto significa que un fotobioreactor no puede ser diseñado correctamente sin el conocimiento adecuado de la fisiología del crecimiento del organismo que se cultivará, para ello se debe realizar primero la caracterización de los microorganismos con los cuales se va a realizar el cultivo y así poder ajustar las condiciones del equipo. Además, los microorganismos fototrópicos son altamente diversos en lo que concierne a su morfología, biología, nutrición, requerimientos de luz, y resistencia a las

tensiones, un solo diseño de fotobioreactor no puede adaptarse a todos los organismos y a todas las condiciones.

Para esta investigación los criterios de diseño para fotobioreactores deben tener como objetivo alcanzar alta eficiencia en la conversión de luz y proporcionar la confiabilidad y estabilidad necesarias en el proceso del cultivo, solucionando los problemas principales encontrados en la operación del fotobioreactor, tales como control de temperatura, acumulación de oxígeno, biodegradación, contaminación, y deterioro del material del sistema de exposición luminosa entre otros. Los criterios fundamentales de diseño para fotobioreactores que incluyen la configuración del reactor, el cociente  $S/V$ , los dispositivos de mezcla y desgasificación, la regulación de temperatura, la orientación, y el material usado para construir el sistema de exposición luminosa. La confiabilidad, facilidad de operación uso, escalamiento, y los costos de construcción y operación también adquieren importancia particular en lo referente al uso comercial de los fotobioreactores.

### **2.5.1. Importancia de la Luz**

En el diseño de fotobioreactores se requiere experimentar con fotoperiodos ampliados donde la luz natural ya no es viable (Horas nocturnas), la luz es indiscutiblemente un parámetro clave. Dos propiedades de la energía lumínica son importantes para el metabolismo y el crecimiento de las algas: Calidad y cantidad espectral (Lee et al., 1999). La calidad espectral es definida por el espectro de absorción por la clorofila y otros pigmentos activos fotosintéticamente, y la eficiencia fotosintética como una función de la calidad espectral. El espectro de luz emitida de la fuente de luz, la distribución de luz dentro del cultivo, la dispersión y la atenuación de luz dentro del cultivo debe ser

considerado. Sin embargo la distribución de fotones uniformemente sobre la superficie iluminada y la profundidad de penetración de fotones dentro del cultivo son otros problemas. Estructuras de antena en Fotobioreactores son tan eficientes que ellas pueden absorber todos los fotones que golpean sobre ellas aunque las células no pueden usar todos los fotones en la fotosíntesis. Esto a causa de una sombra mutua entre células, las células se protegen de la luz por otras células que no pueden recibir la luz y entonces consumen oxígeno por fotorespiración. Sin embargo el flujo de fotones fotosintético no puede ser incrementado hasta el infinito para superar la sombra mutua (Lee et al., 1999).

La cantidad total de material orgánico que puede ser producido por crecimiento celular como la cantidad de luz, se incrementa hasta cierto punto (intensidad de saturación) pero la cantidad producida por unidad de luz decrece rápidamente a medida que la intensidad de luz se incrementa más allá de ese punto. Altas intensidades de luz normalmente dañan las células. El término fotoinhibición es frecuentemente usado para el daño causado por el exceso de luz, la fotoinhibición es también una función de la temperatura y muestra una respuesta asociada con la fotorespiración metabólica de carbono. La sombra mutua que es generada en el proceso de crecimiento y reproducción de las células, hace que disminuya la porción de células expuestas a la luz, creando tiempos intermitentes de luz y oscuridad, este efecto se puede mejorar con la agitación del cultivo.

La Tasa de fotosíntesis  $F$  (capacidad de captación de fotones) depende de la energía luminosa que reciben las células. (Contreras et al 2003). Richmond 2000 estudia la curva dosis- respuesta donde el efecto de la luz presenta una respuesta frente a la disponibilidad del sustrato, hay una relación con los niveles de intensidad de la luz frente a la fotosíntesis, la constante específica  $E_k$  es propia para cada organismo indica a que nivel de energía luminosa comienza a saturarse el fotosistema de un organismo, cuando se exceden el número de

fotones relacionada con la eficiencia  $F/E$  se reduce el crecimiento por fotoinhibición. (Figura 8), es por ello que para la presente investigación se tomaron como factor de diseño del equipo, los conceptos de energía luminosa, se tuvo mucho cuidado con la selección del medio de cultivo y la elección de materiales adecuados.

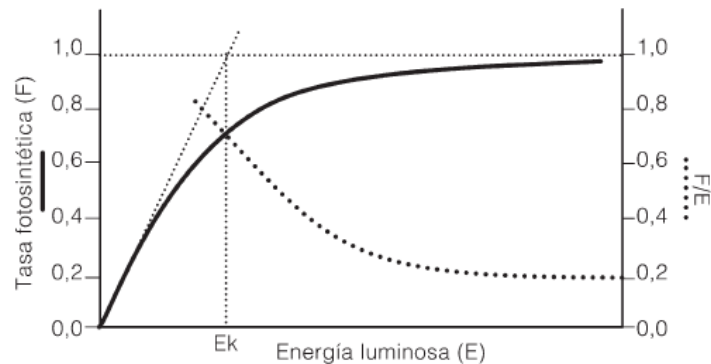


Figura 8: Efecto de la energía luminosa (E) en la tasa Fotosintética (F) y en la eficiencia Fotosintética (F/E).  $E_k$  es la constante de saturación. Richmond 2000, Contreras 2003.

### 2.5.2. Valores de luxes recomendados para el cultivo de microalgas

La actividad fotosintética de las microalgas requieren de una fuente de luz, pero aun no se conoce con precisión la intensidad y la duración en exposición del cultivo, en el diseño de equipos se requiere tener una fuente de luz, en las horas diurnas la luminosidad se puede obtener por medios naturales, ubicando el equipo en sitios adecuados, en horas nocturnas se debe proporcionar la luminosidad por medios artificiales. La selección del tipo de luz se hace con respecto a los pigmentos que se presentan en cada microalga, y con base en este dato se selecciona el tipo de luz y la longitud de onda mas conveniente, la excesiva longitud de onda produce el efecto de fotoinhibición y la baja longitud de onda produce la fotooxidación, los daños celulares menores ocasionados por

exposiciones largas pueden ser reparados si se coloca el medio de cultivo en la oscuridad, (Kommareddy, et al 2004).

La emisión de fotones en cada longitud de onda se seleccionan de acuerdo a la etapa de la fotosíntesis, y al tipo de luz elegido, cuando los fotones exceden de lo necesariamente requerido estos se convierten en energía térmica, para el caso de la investigación se clasifica a la *Chlorella vulgaris* como un microalga verde, la cual presenta como pigmentos mas representativos la Clorofila a y  $\beta$ -caroteno, las longitudes de onda mas adecuadas para alcanzar un alto nivel de eficiencia fotosintética las podemos lograr con LEDs que ofrecen una relativa baja eficiencia, luces fluorescentes y lámparas halógenas. Para el caso de la presente investigación se tendrán en cuenta los dos primeros, siendo los LEDs los mas adecuados por el bajo consumo de energía eléctrica y que con ellos podemos hacer mezclas de colores para lograr la longitud de onda adecuada. Se recomienda el uso de LEDs de luz roja al inicio del cultivo la cual maneja una longitud de onda pico cerca de 680 nm , y LEDs de luz azul en la fase de crecimiento puesto que esta penetra mas profundamente y maneja una longitud de onda entre 300 y 400 nm. (Kommareddy, et al 2004)

En investigaciones realizadas con intensidad de luz se presentan resultados de este efecto en cultivos de *Chlorella vulgaris*, la emisión de la luz se puede realizar por diversos medios, se han utilizado lámparas de diversos tipos en el diseño y fabricación de Fotobioreactores, la luz es utilizada para que la microalga realice la fotosíntesis, en este proceso efectuado por la microalga todavía no se ha precisado cual debe ser la intensidad y duración de la luz que se le debe aplicar a la biomasa, para obtener valores de crecimiento adecuados.

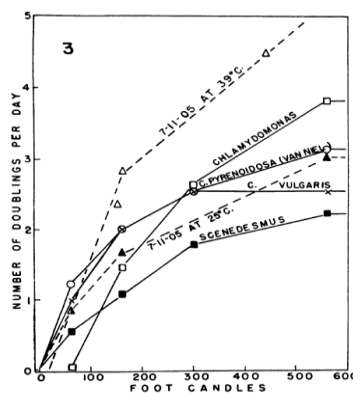
En investigaciones realizadas sobre efecto de la luz observable en el crecimiento de *Chlorella vulgaris* (Killam, et al 1956), se concluye que depende de las fases

tempranas de crecimiento exponencial y muestran los siguientes valores de tasa de crecimiento:

- En oscuridad presentó una tasa de crecimiento de 29%.
- Exponiendo el cultivo a 20 luxes el crecimiento de la microalga fue de 46% con una intensidad luminosa de 480 luxes.
- Presentó un crecimiento de 47%, exponiendo el cultivo a 1200.

Estos datos muestran una estimulación marcada de la tasa de crecimiento para bajos niveles de intensidad de luz de 20 luxes y una baja respuesta del crecimiento para incrementos en la intensidad de luz, los datos obtenidos por los investigadores fueron tenidos en cuenta para realizar el fotoperiodo de la presente investigación en horas nocturnas.

Otro estudio establece que para la microalga *Chlorella Vulgaris* el dato obtenido en los experimentos indica que un incremento en la intensidad de luz por encima de 250 ft-c (2690 luxes) a 300 ft-c (3228 luxes) no resultará en algún incremento en la tasa de crecimiento (Sorokin, et al 1957) (Figura 9).



**Figura 9:** Tasas de crecimiento de 5 especies de algas verdes medidas a intensidades de luz límite. Sorokin 1957



Otro investigador estudió el crecimiento de *Chlorella vulgaris* en cultivo continuo en relación a algunos factores físicos y químicos, para este propósito, el medio de cultivo se preparó en agua de mar y el cultivo permaneció bajo 4 combinaciones de suministro de dióxido de carbono y sistemas de luz, (Sen, et al 2005).

Cuatro combinaciones de régimen de luz y suministro de CO<sub>2</sub> fueron empleadas.

- Fase de luz de 24 horas y 24 horas de suministro de CO<sub>2</sub>
- Fase de luz de 12 horas y 24 horas de suministro de CO<sub>2</sub>
- Fase de luz de 24 horas y 12 horas de suministro de CO<sub>2</sub>
- Fase de luz de 24 horas sin suministro de CO<sub>2</sub>

La intensidad de luz fue ajustada de 2000 a 3000 luxes utilizando lámparas fluorescentes, la validación del equipo de la presente investigación tomo el primer fotoperiodo, es conveniente a futuro poder realizar las otras pruebas.

Para aplicar al proyecto en curso se establece el uso de fuentes emisoras de luz teniendo en cuenta la longitud de onda, el tipo de fuente y los luxes adecuados.

### **2.5.3. Cociente de Superficie/Volumen**

El cociente superficie-a-volumen del fotobioreactor (es decir, el cociente entre la superficie iluminada del reactor y su volumen) determina la cantidad de luz que entra al sistema por unidad de volumen y el régimen de luz a el cual la población de células está sujeta y consecuentemente es uno de los mas importantes problemas en el diseño de fotobioreactores. Entre mas alta la proporción S/V, más alta es la concentración celular y la productividad volumétrica del cultivo en los cuales el reactor es operado. La concentración celular, alternadamente, influencia el medio que maneja, y hasta cierto punto, el nivel de la contaminación. El perfil de temperatura y el comportamiento hidrodinámico de la suspensión del

cultivo también se ven afectados por este parámetro (Torzillo et al., 1997, Tredici et al., 1997, Weissman et al., 1988).

Por ejemplo, en sistemas tubulares de diámetro pequeño funcionando al aire libre, el tiempo requerido para alcanzar la temperatura óptima por la mañana se reduce, y por la tarde el volumen relativamente bajo del cultivo se enfría más rápidamente a temperatura ambiente en la noche, dando lugar a pérdidas respiratorias más bajas (Torzillo et al., 1997). Por estas razones, en años recientes hay una tendencia general hacia una reducción del diámetro de reactores tubulares y al espesor de paneles planos. Aun, debe ser precisado que aunque a una alta proporción de  $S/V$  los reactores pueden trabajar bien en el laboratorio, ellos pueden llegar a ser extremadamente ineficaces cuando están sobredimensionados. En una alta proporción de  $S/V$  todas las actividades volumétricas que dependen de la entrada de la energía lumínica por unidad de volumen (como la evolución de  $O_2$ , absorción de  $CO_2$ , agotamiento de nutrientes, excreción de metabolitos y producción de calor) el cultivo de microalgas cambia a una tasa alta, y ésta podría tener efectos negativos a largo plazo sobre la estabilidad del proceso. Estos efectos son raramente observados porque los experimentos no duran el tiempo suficiente para que lleguen a ser evidentes (Tredici et al., 1991), los anteriores inconvenientes en el manejo de la temperatura, y diámetro de tubos, para las condiciones del trópico se superaron en el diseño del fotobioreactor controlando las variables antes mencionadas.

#### **2.5.4. Acumulación del oxígeno**

La acumulación del oxígeno fotosintético generado es uno de los factores principales que limitan la ampliación a gran escala de un fotobioreactor. Las concentraciones de oxígeno disuelto sobre  $35 \text{ mg L}^{-1}$  (equivalente a cuatro veces la saturación de aire a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) pueden ser fácilmente alcanzados en cultivos de

microalgas densos al aire libre a mediodía. Los niveles altos de oxígeno son tóxicos para muchas microalgas, junto con la exposición prolongada a la luz del sol, pueden conducir a la muerte por foto-oxidación del cultivo (Torzillo et al., 1997, Richmond et al., 1990). Puesto que la producción volumétrica del oxígeno se relaciona directamente con la productividad volumétrica de la biomasa (cerca de 1 g del oxígeno se desarrolla por gramo de biomasa sintetizada), la acumulación del oxígeno se convierte en un problema serio especialmente en fotobioreactores operados al aire libre con una relación alta del cociente  $S/V$ . En los índices máximos de la fotosíntesis, un reactor tubular de un cm. de diámetro acumularía de 8 a 10 mg de oxígeno  $L^{-1} \text{ min.}^{-1}$  (Weissman et al., 1988). En tales sistemas, el mantenimiento del oxígeno disuelto por debajo de la concentración tóxica requiere la adopción de circuitos muy cortos y este hecho hace que el diseño del serpentín sea difícil de aumentar. La situación es menos dramática en tubos de mayor diámetro, puesto que el índice volumétrico de evolución de oxígeno decrece en proporción con la disminución del cociente  $S/V$ , pero ha sido demostrado que aun en reactores tubulares de 14 cm de diámetro reactores el oxígeno disuelto puede alcanzar niveles y reducir la productividad significativamente (Torzillo et al., 1986), los inconvenientes de acumulación de oxígeno descritas en las anteriores experiencias fueron superadas en la presente investigación ubicando un sistema de desgasificación en la unidad de cultivo o marmita.

En reactores tipo serpentín, el tiempo de ciclo (tiempo requerido para que el cultivo alcance el punto de desgasificación), la velocidad de circulación, y la longitud del ciclo debe ser cuidadosamente cambiada en relación a la productividad volumétrica esperada para prevenir la acumulación de concentraciones de oxígeno tóxicas. Por ejemplo, en un reactor tubular con un diámetro interno de 2.6 cm. y una velocidad de flujo en el cultivo de  $0.3 \text{ m/s}^{-1}$ , el tiempo del ciclo no debe exceder de 6 minutos, por lo tanto, la longitud del reactor debe ser menor que 100 m (Torzillo et al., 1997). Para aumentar la longitud del

reactor es necesario incrementar la velocidad de circulación del cultivo o reducir la relación S/V. Sistemas internos de intercambio de gas (columnas de burbujas) ofrece ventajas a este respecto. A diferencia de los reactores tipo serpentín, en los cuales el oxígeno acumulado durante el ciclo y se remueve solamente en el degasificador, las columnas de burbujas presentan la ventaja que todo el cultivo está sujeto simultáneamente a la acción de desgasificación de aire, las consideraciones del anterior estudio fueron importantes en el planteamiento del diseño del equipo en la presente investigación.

#### **2.5.5. Mezcla**

El tipo de dispositivo usado para mezclar y mover la suspensión del cultivo es esencial en el diseño de un fotobioreactor exitoso. La productividad y el costo de construcción y operación de un fotobioreactor son influenciados en gran parte por el tipo de dispositivo usado para mezclar (Ferry et al.,1985). Los efectos beneficiosos que la mezcla tiene sobre el crecimiento y la productividad de los cultivos de masas de microalgas son bien conocidos (Richmond et al., 1990), se debe tener cuidado en los procedimientos usados para la realización del mezclado. Se han utilizado sistemas de burbujeo con aire comprimido los cuales son efectivos ya que no someten a la célula a daño mecánico, también se encuentra el mezclado con dispositivos mecánicos y neumáticos como bombas peristálticas y de diafragma de desplazamiento positivo las cuales han dado buenos resultados cuando se controlan los caudales. Mezclar es necesario para evitar que las células se depositen, para evitar la estratificación termal, para distribuir los alimentos y disipar la difusión de gradientes a la superficie de la célula, para remover el oxígeno fotosintético generado, y, sobretodo, asegurar que todas las células experimentan períodos alternos de luz y de oscuridad. Se ha postulado que las células transportadas rápidamente dentro y fuera de la porción

iluminada del cultivo podrían tener la ventaja del “efecto de luz intermitente” para incrementar la eficiencia fotosintética, es por ello que estos sistemas se tomaron para el desarrollo del presente estudio.

Se han reportado resultados contradictorios, sin embargo, para fluctuaciones de luz y oscuridad de frecuencia media (es decir, en el orden de segundos a minutos) que prevalece en mezclas de masa de cultivos en lo que concierne a su efecto estimulante sobre la productividad, y el papel verdadero de la tasa de mezcla en la determinación de productividad, todavía continua sin ser clarificado (Richmond et al., 1990, Weissman et al., 1988, Ferry et al., 1985.). Con algunas excepciones, los efectos positivos significativos del mezclado intenso en la productividad de cultivos de masa de algas han sido observados solamente en los estanques de tubería con rueda hidráulica (25.28). Carozzi y Torzillo (Carozzi et al., 1996) quienes establecieron un aumento de 30 a 40% de la productividad en el crecimiento de *A. platensis* en reactores tubulares cuando la velocidad de flujo fue aumentada a partir de la 0.18 a 0.75 m/ s<sup>-1</sup>. Tredici y Chini Zittelli (Tredici et al., 1992) estudiaron la influencia de la tasa de burbujas en la productividad en *A. platensis* en placas planas inclinadas, donde la tasa de burbujas más alta realza la productividad proporcionando un régimen de luz más adecuado a las células, así como reducir el nivel del oxígeno en el cultivo. Hu y Richmond (Hu et al., 1996) lograron productividades asombrosamente altas con *A. platensis* cultivado en placas planas adoptando densidades ultra altas de la célula (más arriba de 15 g L<sup>-1</sup>) y proporcionando la mezcla a la tasa máxima permisible sin causar daños a la célula. La opción de la intensidad de mezcla y el sistema de mezcla se debe establecer de acuerdo con las características del organismo que se cultivará. A diferencia *Chlorella* o del alga marina *Nannochloropsis*, la cual esta dotada con membranas celulares fuertes, los cultivos de cianobacteria filamentosa y los dinoflagelates frágiles no pueden ser mezclados por bombas que someten las

células a los altos esfuerzos que conducen a la fragmentación de trichomas y a la lisis de la célula. Se ha divulgado que la productividad puede aumentar hasta 75% cuando las bombas son substituidas por los sistemas de puente aéreo (Gudin et al., 1991). Sin embargo, se sabe que aun las burbujas de aire producen cierta tensión en las células en la etapa de formación y desintegración de las burbujas (Torzillo et al., 1997).

### **2.5.6. Control de la temperatura**

Aunque se dice que los fotobioreactores proporcionan un mejor control del proceso que los estanques, el mantenimiento de temperaturas óptimas en reactores cerrados no es una tarea fácil, especialmente cuando los sistemas funcionan al aire libre. Los fotobioreactores se comportan como colectores solares: cualquier luz absorbida por las paredes del reactor o por el cultivo y no usada en fotosíntesis se convierte en energía térmica, y puede conducir a un aumento de la temperatura de la cultivo hasta 30°C o más sobre la temperatura ambiente, causando el colapso de la especie aun si la especie es tolerante (Tredici et al., 1991). Si el equipo de cultivo se encuentra en un lugar donde la temperatura ambiente es demasiado alta, se requiere refrigeración.

Entre las soluciones experimentadas para controlar el recalentamiento en Fotobioreactores al aire libre están: el sombreado, la inmersión en baño de agua, y la fumigación con agua. El sombreado para ser eficaz requiere que una proporción grande del reactor esté cubierta por varias horas al día, y esto reduce la radiación térmica en la superficie y, por lo tanto, la productividad del cultivo. Se ha demostrado que la refrigeración rociando agua es confiable y rentable cuando se utiliza en climas secos. La inmersión del reactor en una piscina de agua que refrigera es muy eficiente, pero no es rentable. Puede ser la única opción disponible en climas húmedos, donde el rociado de agua no proporciona la

refrigeración por evaporación. Aunque varía con el diseño del reactor, el clima local, y el organismo específico usado, la necesidad de refrigeración podría aumentar significativamente los costos de operación. En climas fríos y en regiones templadas durante el invierno, la calefacción se puede mantener la temperatura óptima del crecimiento, en el caso de la investigación se requiere mantener la temperatura del medio de cultivo por medio de una marmita con temperatura controlada.

### **2.5.7. Control de pH**

El pH en los equipos de cultivo de microalgas debe ser controlado, su variación depende de la inyección de mezcla de Aire- CO<sub>2</sub>, cuando se lleva a cabo el escalamiento de Fotobioreactores, el pH del medio de cultivo puede variar significativamente. En reactores tubulares, el pH al final del tubo se eleva al disminuir la concentración de CO<sub>2</sub> debido al consumo de las microalgas. La concentración de CO<sub>2</sub> puede ser controlada mediante su inyección en las zonas donde la concentración ya no permite la capacidad fijadora máxima. El pH se controlará al mismo tiempo debido al conocido equilibrio del CO<sub>2</sub> con el agua (Camacho *et al.*, 1999), en el presente proyecto el control de pH se realiza a diario, la mezcla de Aire- CO<sub>2</sub> se realiza por porcentajes utilizando válvulas de control de flujo.

### **2.5.8. Orientación del fotobioreactor y dilución de la luz**

Uno de los impedimentos principales para el uso eficiente de la energía solar es la variación continua de la radiación solar disponible a través del día. La radiación electromagnética solar es muy baja en la mañana y sobre las horas de la tarde y a mediodía lo suficientemente fuerte para inhibir la fotosíntesis. Aunque el patrón diurno de la radiación electromagnética solar en un reactor horizontal no puede ser modificado fácilmente, algunos sistemas de elevación pueden ser orientados a

varios ángulos de acuerdo con el sol y así ofrecen la posibilidad para variar, continuamente o discontinuamente la distribución de la luz que cae sobre la superficie del reactor.

Estudios han demostrado que el ángulo de la inclinación del reactor ejerce un efecto significativo sobre la productividad y eficiencia fotosintética. Los sistemas orientados para interceptar la radiación solar máxima sobre una base diaria inclinados de 10 a 30° en verano y en cerca de 60° en invierno alcanzaron las productividades más altas, aunque un cultivo puesto perpendicular a los rayos del sol a mediodía puede sufrir debido a la radiación electromagnética excesivamente alta (Tredici et al., 1998). La posición vertical o los sistemas orientados para diluir la radiación alcanzan productividades bajas pero eficiencias fotosintéticas más altas. Un objetivo importante del diseño del fotobioreactor debe ser reducir el efecto de saturación de luz de la fotosíntesis, la inclinación que se estableció en el fotobioreactor tema de estudio de la presente investigación fue de 45° por la posición del sol en la zona ecuatorial, como el equipo se compone de un serpentín tubular, el ingreso de luz por medio de las paredes de los tubos es suficiente para realizar la fotosíntesis ya sea en horas de la mañana o en las horas de la tarde, otro aspecto a resaltar es el largo fotoperiodo que se encuentra en la zona ecuatorial, establecido mediciones de fotoperiodo que oscilan en valores entre 11,75 horas y 12,29 horas según el mes. (Torres, 2006).

### **2.5.9. Materiales**

Los materiales para los fotobioreactores deben tener varias características: alta transparencia, alta resistencia mecánica, carencia de toxicidad, resistencia al desgaste (durabilidad), estabilidad química, superficie anti-incrustante, y bajo costo. Se ha realizado una investigación preliminar de la durabilidad de algunos materiales plásticos. En la Figura 10 se muestra la pérdida de transparencia de



seis diversos materiales de la tubería expuestos al desgaste por la acción atmosférica natural en Italia central. Los tubos de polietileno y del polipropileno son baratos, pero ambos pierden la transparencia muy rápidamente y presentan limitaciones serias en lo que concierne a fuerza biofouling y a la resistencia mecánica. (Zittelli et al, 1998).

Los tubos de Policarbonato son debilitados seriamente por las soluciones alcalinas y llegan a ser frágiles y fáciles de romper después de 2-3 años de exposición al aire libre; pierden la transparencia principalmente en el rango de 300 a 500 nanómetros. Ha sido mostrado que los tubos de polimetilo metacrilato o de teflón poseen alta resistencia al desgaste por la acción atmosférica y a las buenas propiedades en general. Los tubos de PVC pierden la transparencia perceptiblemente después de la hidratación. Algunos de los materiales plásticos flexibles probados han demostrado resistencia mecánica limitada que ha conducido a los problemas triviales (tales como escapes debido a los pinchazos causados por gatos y animales salvajes) que podrían llegar a ser daños serios en sistemas a gran escala.

El vidrio pírex es un material excelente para los fotobioreactores, debido a su alta transparencia, estabilidad química, y durabilidad. Los sistemas tubulares de cristal, sin embargo, requerirían sobre todo montaje de campo y numerosas conexiones, y esto aumentaría grandemente los costos de instalación; además, la fragilidad podría constituir una seria limitación para usar tubos de cristal en instalaciones a gran escala, por la calidad en los resultados de este material se ha seleccionado para la realización del montaje en el fotobioreactor de esta investigación.

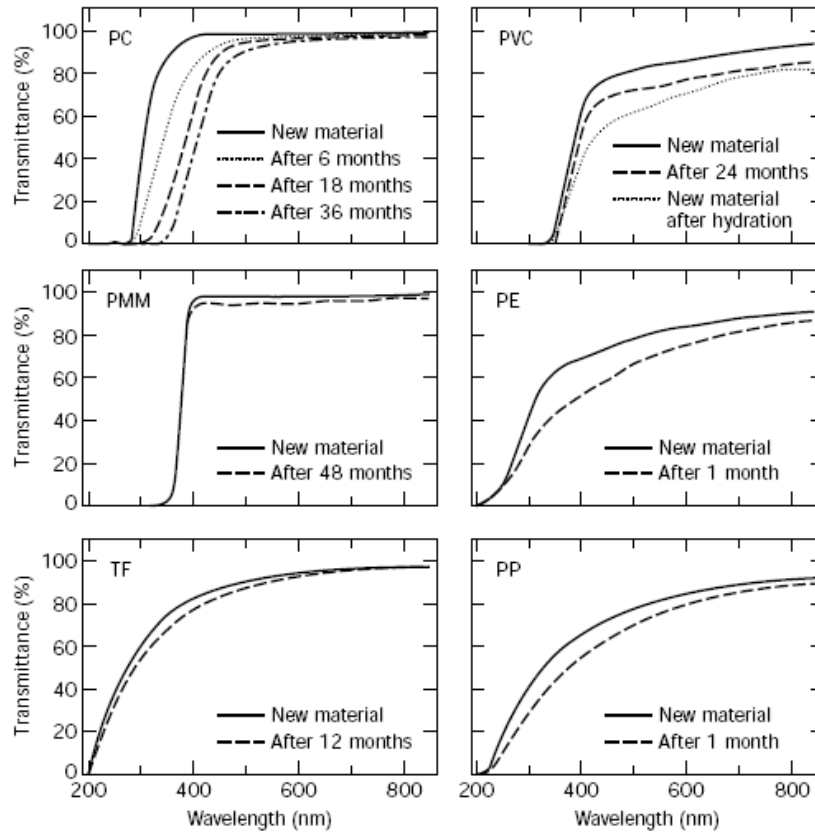


Figura 10: Pérdida de transmitancia de diferentes tubería plásticas expuestas al aire libre a las condiciones climáticas de Italia central 1998, PC, Policarbonato; PVC, Cloruro de polivinilo; PMM, Polimetilmetacrilato; PE, Polietileno; TF, Teflon; PP, Polipropileno. Grosor de la tubería: TF, 0.15 milímetros; PE, 0.2 milímetros; PP, 0.4 milímetros; PC y PVC, 1 milímetro; PMM, 2 milímetros. Flickinger 1999

### **3. FASE 1: DISEÑO DEL FOTOBIOREACTOR A ESCALA PILOTO BASADO EN LA CARACTERIZACION DE LA MICROALGA *Chlorella vulgaris*.**

#### **3.1. INTRODUCCION**

Para la generación de propuestas del equipo se realizo primero la caracterización de la microalga a nivel de laboratorio, donde se establecieron los parámetros óptimos de crecimiento en función del medio apropiado de cultivo, el fotoperiodo y el pH. Basado en los diseños propuestos por los investigadores citados en el marco teórico, se estudiaron propuestas para un diseño preliminar del equipo, se realizaron planos en software de diseño (Solid Edge®). Se seleccionaron los materiales mas adecuados para la fabricación del fotobio reactor, acordes a las condiciones iniciales de diseño.

Con la digitalización de planos, se realizaron los estudios estructurales. Fue pertinente hacer análisis de estructuras en el software CAE ANSYS Workbench®, dicha herramienta permite realizar cambios en el diseño para garantizar que bajo determinadas cargas el equipo no tenga fallas estructurales, es importante aclarar que este diseño establece parámetros de escalamiento de fotobio reactores.

#### **3.2. CRITERIOS DE DISEÑO.**

El desarrollo de la caracterización de la microalga *Chlorella vulgaris*, fue realizada por parte de un estudiante de pregrado de la Universidad de la Sabana el cual ejecutó el estudio efectuando tres cultivos en condiciones diferentes de fotoperiodo e inyección de aire- CO<sub>2</sub> , (Anexo 3). De los resultados del presente estudio se definieron los parámetros óptimos de crecimiento de la microalga, los

cuales aportan información adecuada para proponer el diseño del Fotobioreactor. (Mora 2008)

- Medio de cultivo Bristol.
- Realizar la inoculación con una cepa proveniente de un fotoperiodo de 24 horas.
- Manejo de fotoperiodos de luz largos, recomienda el investigador un fotoperiodo de 24 horas.
- Realización de una mezcla de aire- CO<sub>2</sub> adecuada (4%) con el fin de mantener un pH neutro.
- Uso adecuado de un material translucido en la fabricación del fotobioreactor.
- Uso adecuado de lámparas para aumentar el fotoperiodo.

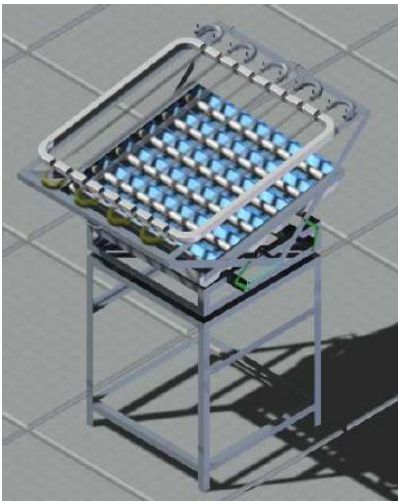
El estado del arte aportó las bases teóricas necesarias para presentar una propuesta inicial del fotobioreactor. El diseño fue ajustado a las necesidades de la presente investigación y el estudio estructural permitió realizar modificaciones al diseño inicial para finalmente presentar el modelo definitivo con el cual se realizó la fabricación y prueba del equipo. Para esta investigación fue factor importante la practicidad en su configuración, fabricación y ensamble, así como las solicitudes de movimiento y grados de libertad que este debe tener. Inicialmente se realizó la digitalización de planos de ingeniería basados en el estudio del estado del arte que se modelaron en el software CAD Solid Edge®, (Anexo 4); se dimensionaron piezas y elementos estructurales, para poder determinar un peso total y las cargas internas de la estructura, facilitando alcanzar el margen de seguridad que requiere el fotobioreactor. Los parámetros de diseño para fabricar el fotobioreactor se describen en la (Tabla 1).

TABLA 1: PARÁMETROS DE DISEÑO.

CONDICIONES OPTIMAS DEDISEÑO	PARAMETROS DE DISEÑO
UBICACIÓN GEOGRAFICA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sabana de Bogotá Chía Cundinamarca</li> </ul>
CEPA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Chlorella vulgaris</i></li> </ul>
MEDIO DE CULTIVO	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bristol</li> </ul>
VOLUMEN DE CULTIVO	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cuarenta litros 40 L.</li> </ul>
FOTOPERIODOS	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Variedad en la selección de acuerdo a la experimentación</li> </ul>
TIPO DE ENERGIA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Energía Eléctrica para lograr la temperatura de marmita.</li> <li>• Energía solar.</li> <li>• Energía solar fotovoltaica.</li> </ul>
TIPO DE LAMPARAS	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Leds de alta luminosidad.</li> </ul>
MEZCLA DE AIRE- CO <sub>2</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Manejo de mezclas según la experimentación recomendado 4%</li> </ul>
DESGASIFICACION	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Desgasificación en unidad de cultivo o marmita</li> </ul>
TEMPERATURA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gamas de temperaturas de 0 °C a 40 °C, controlada con apreciación de 1°C.</li> <li>• Control en unidad de cultivo y lectura en serpentín.</li> </ul>
AGITACION	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Por aire en marmita.</li> </ul>
CUDAL CONTROLADO	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bomba neumática de diafragma.</li> </ul>
MATERIALES	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acero inoxidable 304.</li> <li>• Vidrio pírex.</li> <li>• Mangueras de PVC.</li> <li>• Acero estructural.</li> <li>• Tornillería estandarizada.</li> <li>• Aluminio.</li> <li>• Aislamiento térmico.</li> </ul>
SISTEMAS DE CONTROL	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Electrónicos para temperatura.</li> <li>• Neumáticos para bomba.</li> <li>• Convencionales para pH.</li> </ul>

Autor 2009.

### 3.3. PROPUESTA PRELIMINAR



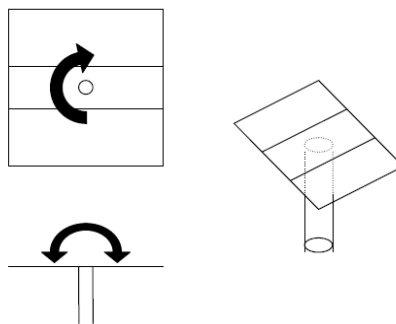
**Figura 11:** Vista general Diseño preliminar. Autor 2009

El diseño preliminar se propuso con base en sistemas de cultivo cerrados (Figura 11), donde se pretende realizar el cultivo de la microalga en condiciones óptimas, como base del diseño se busco fabricar un serpentín en tubería de vidrio (Fernández, et al 2000) (Pirt et al 1983), para la tubería del serpentín se eligió un diámetro de 25 mm (Coral, et al 2003) (Fernández, et al 1997, 1998) (Molina et al 1995) , el diseño de los codos y bridas en acero inoxidable se propone para facilitar la limpieza y la facilidad de montaje, la estructura base inicialmente del serpentín se proyecta de forma inclinada, para poder captar la mayor cantidad de luminosidad y radiación solar.

Está dispuesto un tanque de alimentación o marmita (Torzillo et al 1986), dispuesto con una bomba de diafragma la cual no produce rompimiento celular a la microalga, Se realiza en este diseño preliminar, hacer el control de temperatura de forma electrónica. (Tredici et al 1991). El mezclado en la unidad de cultivo se realiza por medio de agitación inyectando aire al sistema (Hu et al., 1996).

Con base en el estudio de diseños previos, se realizó digitalización de planos, posteriormente se simuló las cargas aplicadas en las piezas estructurales en el software CAE ANSYS Workbench® (Anexo 5) (Gutiérrez et al 2008), para determinar el comportamiento y puntos críticos de dichos elementos, evaluando los resultados (figura 21). Una vez se planteó el rediseño del fotobioreactor, se efectuó un segundo análisis, pero realizado sobre el diseño definitivo.

De acuerdo con el análisis realizado del primer diseño, se concluye que el comportamiento estructural no es óptimo, por su robustez los esfuerzos y deformaciones son excesivos en diferentes puntos de la estructura. En las soluciones está en la colocación de refuerzos, y modificación de geometrías en las piezas, de tal manera que haya una distribución de carga más uniforme, los inconvenientes se corregirán en el rediseño, puesto que el elevado peso que tiene todo el mecanismo no permite una disposición práctica de elementos que permitan los movimientos requeridos (Grados de libertad, giro de 180° del soporte giratorio alrededor del plano del suelo eje principal del equipo y giro de 90° máximo de ubicación del serpentín, para la ubicación del equipo en ángulos y posiciones para optimizar la captación de la energía solar y la luminosidad. (Figura 12).



**Figura 11:** Movimientos requeridos en el serpentín, similares a los de un panel solar. Autor 2009.

El elevado peso también incluyó altos costos de fabricación, representados en la cantidad de material y los procesos requeridos. El mecanismo era demasiado robusto para esta aplicación. Por estas razones, se propuso un nuevo diseño del fotobioreactor, basado en mecanismos particulares denominados seguidores. Estos dispositivos se utilizan para asignarle trayectorias de desplazamiento a paneles solares, provocando una exposición continua los rayos del sol, de manera que estos siempre incidan perpendicularmente sobre la superficie de dichos paneles

### 3.4. PARAMETROS PARA EL REDISEÑO DEL MECANISMO

En el rediseño se conservaron ciertos elementos del diseño preliminar, específicamente el serpentín, con todos los componentes de tubería de vidrio, bridas de montaje rápido en acero inoxidable, sistema de mezcla e inyección de CO<sub>2</sub> - aire y el correspondiente soporte en aluminio, las dimensiones del serpentín (Figura 13) se tomaron como referente para el nuevo diseño, ya que la estructura se dimensiona para soportarlo y para permitir su posicionamiento.

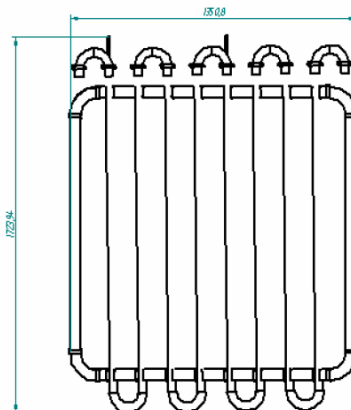


Figura 12: Dimensiones de serpentín. Autor 2009



Estas referencias permitieron implementar algunos mecanismos de seguidores para paneles solares que se fabrican en Europa (Figura 14), los cuales poseen dos grados de libertad o movimiento en dos ejes, como el que se desea utilizar.



Figura 13: Imágenes seguidores solares. Ades 2008.

La adaptación de los principios de funcionamiento de los seguidores que plantea Ades al del fotobioreactor, permite un ajuste mas sencillo entre el soporte del serpentín y la estructura, brindando una estabilidad adecuada para la aplicación.

Además, la nueva estructura es más ligera y de una apariencia mucho menos robusta que la anterior, sin incurrir en gastos adicionales y complejos mecanismos de sujeción, el punto de apoyo de la estructura con la base esta interconectado un rodamiento de carga combinada axial y radial. Después de todas estas consideraciones en el proceso de rediseño, se elaboró el Moldeamiento CAD del nuevo fotobioreactor; que cumple con los requerimientos establecidos para este fin (Figuras 15, y 16).

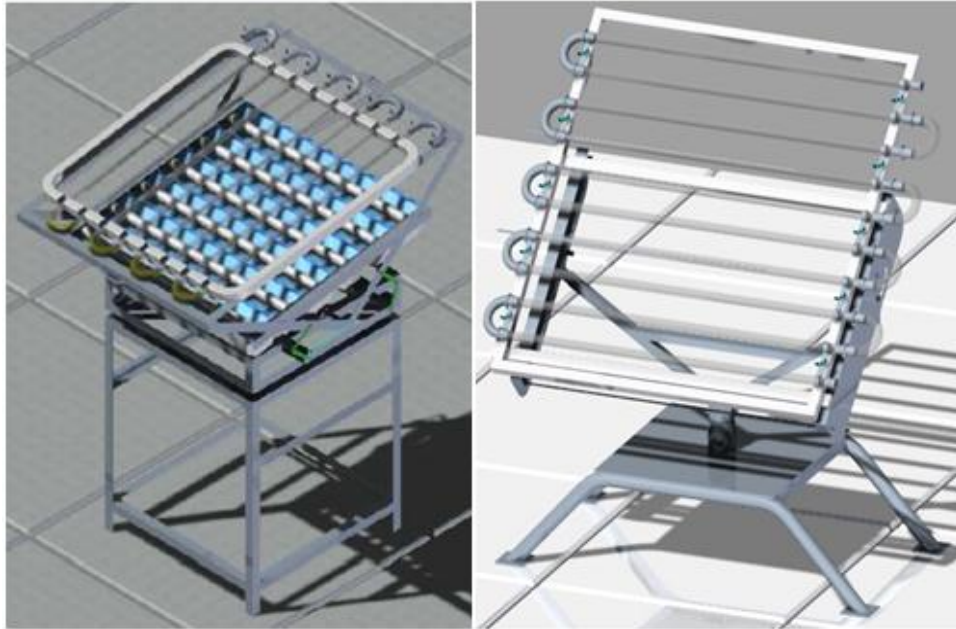


Figura 14: Fotobioreactor – Evolución del diseño. Autor 2009.

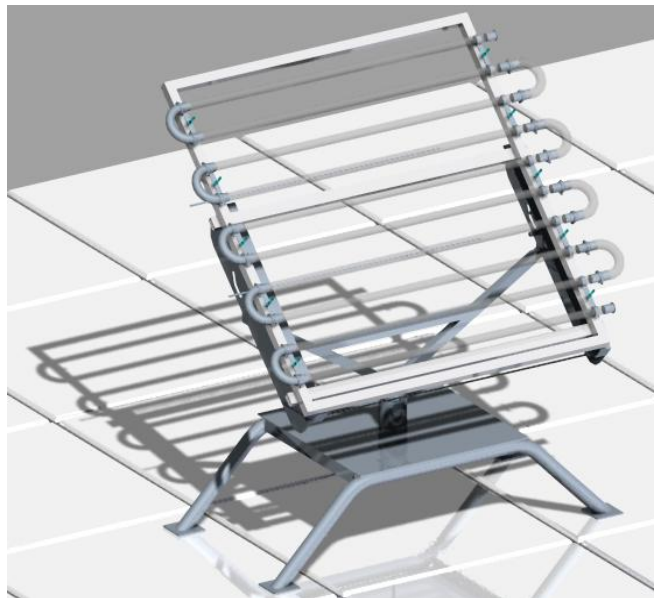


Figura 15: Fotobioreactor diseño final. Autor 2009

### 3.5. COMPARACION DE MASAS ENTRE LOS DISEÑOS DEL FOTOBIOREACTOR.



Figura 16: Masa total Reactor inicial. Autor 2009



Figura 17. Masa total Reactor final. Autor 2009.

La disminución en masa del diseño final con respecto al inicial es de aproximadamente un 30% (Figura 17 y 18), lo que permite afirmar que el diseño definitivo cumple con requerimientos de materiales y costos, y con solicitudes rotacionales sin una inercia tan grande como la presentada en el diseño

preliminar. De esta manera se determino el respectivo análisis por elementos finitos, y la determinación de sus cargas, (Anexo 5).

### 3.6. EL DISEÑO DEFINITIVO DEL FOTOBIOREACTOR INCLUYÓ:

A continuación se presentan las Figuras 19, 20, 21 que describen los elementos constructivos que compone el diseño definitivo del fotobio reactor.

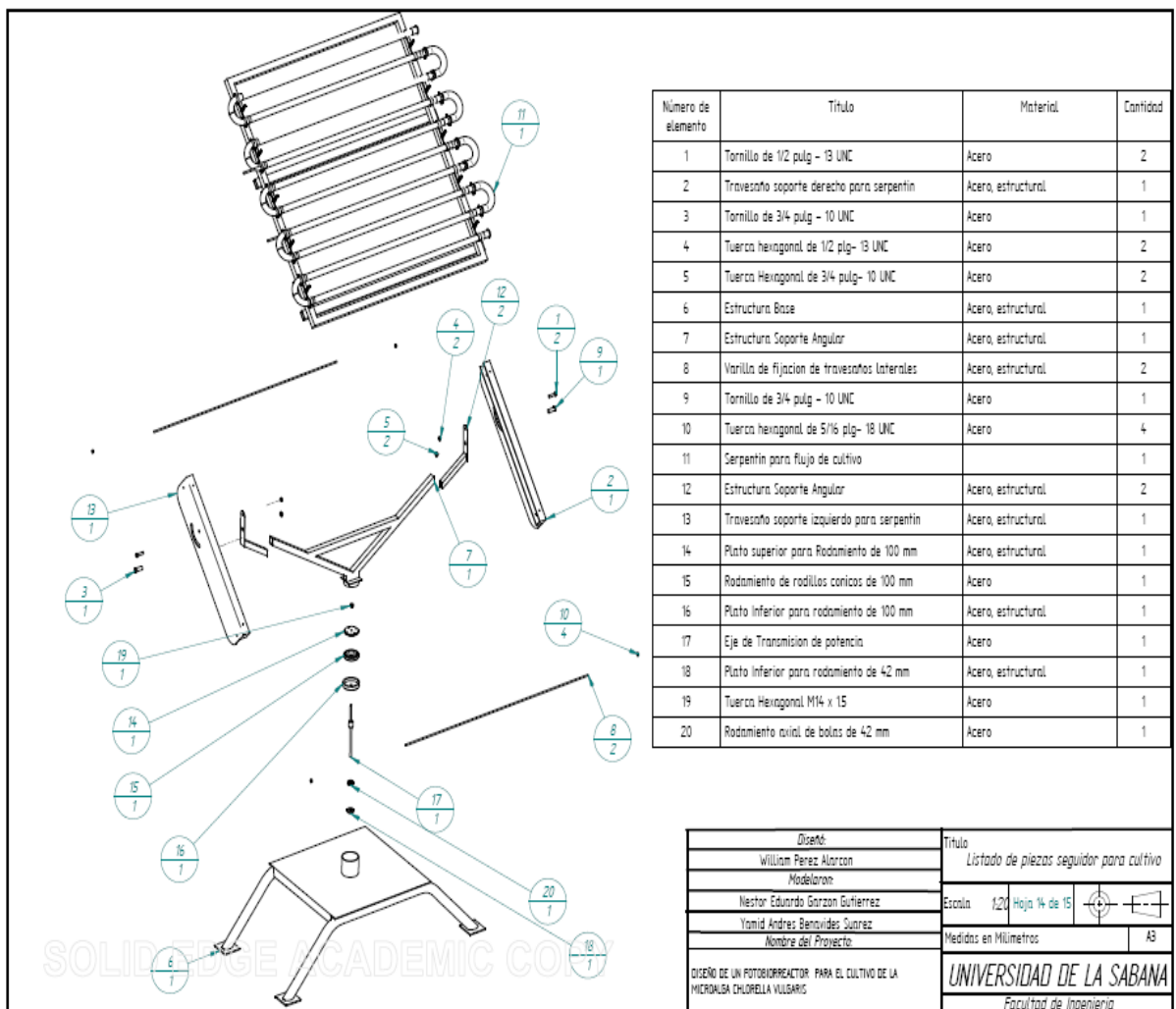


Figura 18: Estructura del fotobio reactor (Despiece). Autor 2009

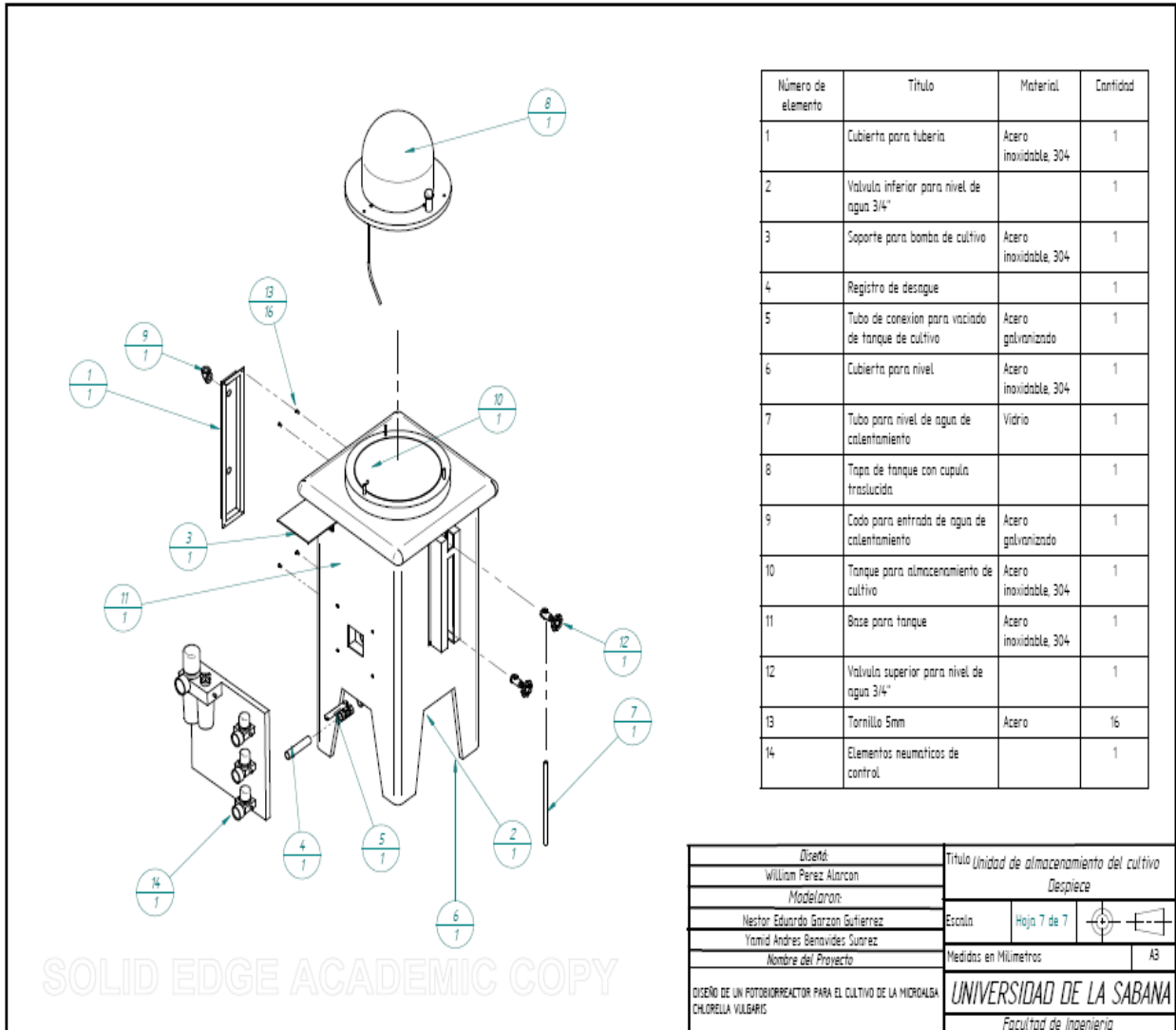


Figura 19: Estructura de la Unidad de Cultivo o Marmita (Despiece). Autor 2009

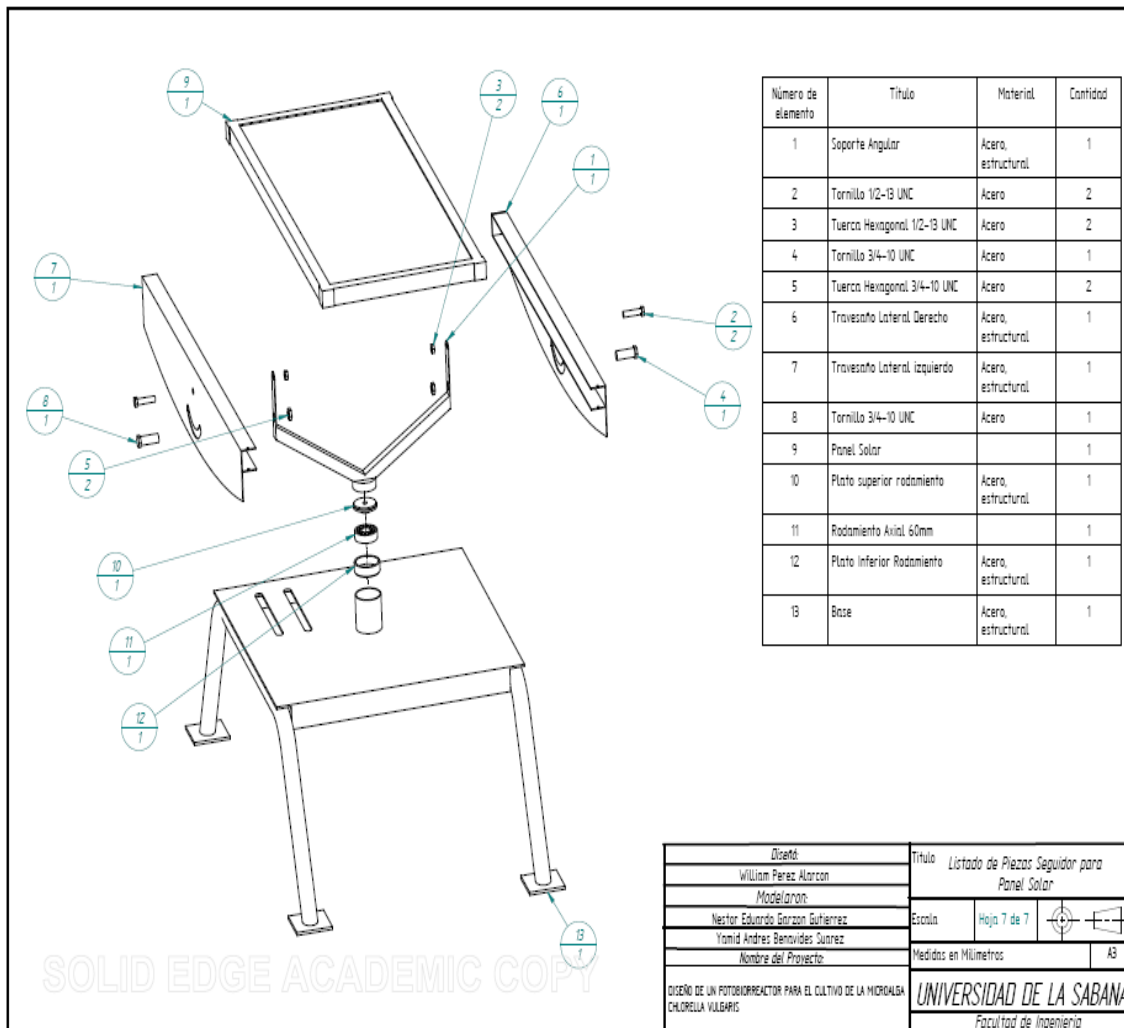


Figura 20: Unidad de energía solar Fotovoltaica (Despiece). Autor 2009

### 3.6.1. Estructura y conjunto de fotobioreactor

El Fotobioreactor requiere para funcionar bajo parámetros de diseño, una estructura para soportar la tubería en vidrio del serpentín, mangueras y acoples en acero inoxidable, a continuación se explica cada parte de la estructura (Figura 19):

- Sistema de flujo de cultivo o serpentín (Se realizaron modificaciones en cuanto al número de tubos en el sistema de flujo. En este diseño se disponen 10 tubos), en un serpentín el cual consta de tubería en vidrio de 1 ½" (Anexo 6), codos con terminación en brida de cierre rápido de 1 ½" en acero inoxidable 304 mangueras elásticas de PVC flexible de 1 ½" con refuerzo de alambre de acero tipo alimento (Anexo 7). Para la conexión de mangueras y tubos de vidrio fue necesario la fabricación de acoples en Empac con medidas adecuadas ya que comercialmente no se encuentra la aplicación.
- Sistema de mezcla Aire - CO<sub>2</sub> ; El sistema de mezcla incluye 2 flautas de inyección, fabricadas en tubing de acero inoxidable de ¼" , bridas de acople rápido en acero inoxidable 304, cada punto de inyección dispone de válvula independiente, la conexión al sistema neumático se realiza por medio de mangueras para alta presión, la línea neumática esta conectada a un compresor de pistón de 4 HP, esta llega a una unidad de mantenimiento (Sistema de regulación filtrado y regulación de ¼" Diámetro nominal) la cual limpia de impurezas el sistema y lubrica las líneas, el CO<sub>2</sub> es tomado de un tanque de 8 kg de este gas, que llega por medio de una manguera de alta presión a una válvula reguladora y acompañado este sistema de una válvula antirretorno por el manejo de bajas presiones de CO<sub>2</sub> , la línea de aire se toma de la salida de la unidad de mantenimiento disponiéndose a esta una válvula reguladora, una T hace las veces de mezclador y a la salida de esta se dispone de un filtro Milipore Aervent 50, protector de impurezas sólidas y microorganismos que se encuentren en la línea neumática para poder inyectar la mezcla lo mas pura posible , el porcentaje de mezcla se realiza por regulación de presión (PSI).

- Soporte para tubos de vidrio, fabricado con tubería cuadrada de aluminio de 50 mm.
- Abrazaderas dobles para ajuste de vidrios al soporte de aluminio.
- La conexión de entrada y salida del medio al fotobioreactor se realiza por medio de acoples mecanizados de forma especial en material de Empac.
- Travesaños laterales con pistas de inserción tipo carrusel para soporte de serpentín fabricado en lámina de acero estructural, y guías ranuradas para posicionamiento angular manual.
- Soporte triangular para serpentín y lámparas, fabricada en tubería cuadrada de acero estructural de 1" y 2mm de espesor, con apoyo en rodamiento de rodillos cónicos de cargas combinadas de 100 mm de diámetro exterior.
- Brazos de graduación para separación entre travesaños laterales.
- Estructura base principal fabricada en lámina de 3/16" de espesor, tubería de 1 1/2" de acero estructural y perfiles en L de 2" y alojamiento para rodamientos de rodillos cónicos y axiales de bolas, lo que permite suavidad en el movimiento de ubicación.

### **3.6.2 Diseño de unidad de cultivo o marmita**

La unidad de cultivo o marmita es un recipiente de formas y condiciones adecuadas para realizar la inoculación del medio de cultivo, los materiales seleccionados ofrecen las condiciones de asepsia. Los mecanismos de soporte energético están incluidos con sistemas de control de temperatura (Figura 22).

Como parte del modulo se encuentra la bomba de diafragma que permite succionar el medio y hacer que circule por el serpentín del reactor, cuenta con un



sistema de control neumático, la unidad de cultivo esta diseñada con un sistema de desgasificación sirviendo de pulmón al fotobioreactor.

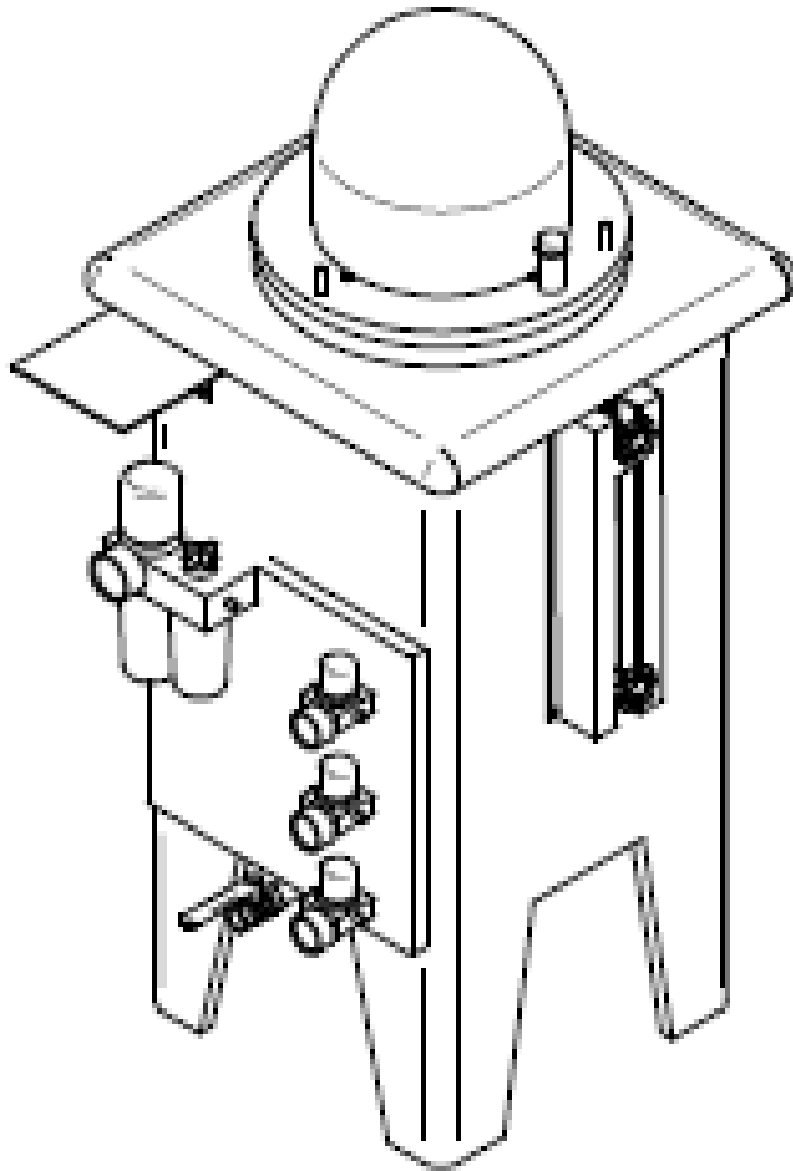


Figura 21: Unidad de cultivo o marmita. Autor 2009

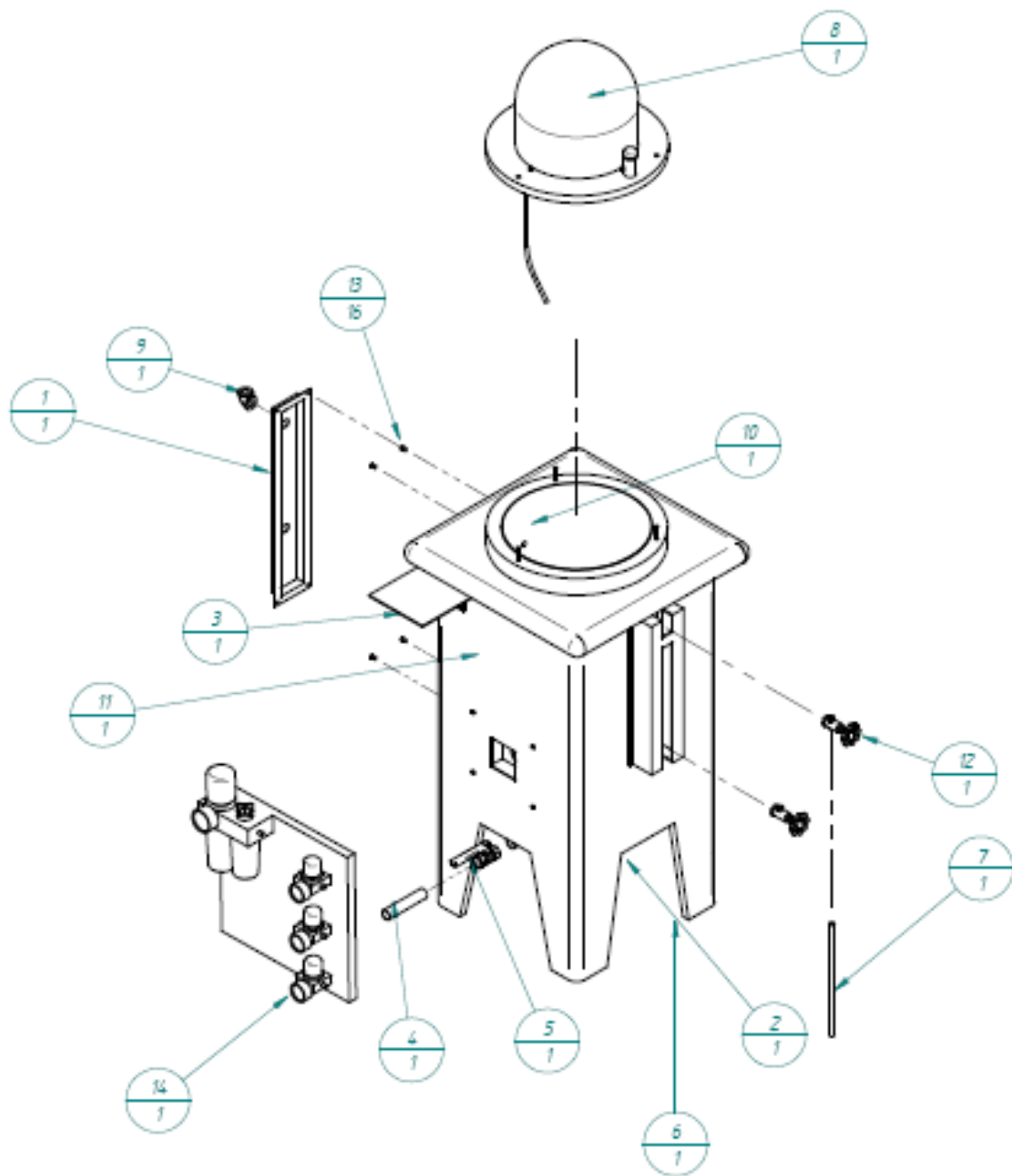


Figura 22: Despiece de los componentes de la Unidad de Cultivo o marmita. Autor 2009.

TABLA 2: LISTADO DE PARTES DE LA UNIDAD DE CULTIVO

NUMERO DE ELEMENTO	TITULO	MATERIAL	CANTIDAD
1	Cubierta para tubería.	Acero Inoxidable 304	1
2	Válvula inferior para nivel de agua De 3/4".		1
3	Soporte para bomba de cultivo.	Acero Inoxidable 304	1
4	Registro de desagüe.		1
5	Tubo de conexión para vaciado de tanque De cultivo.	Acero Inoxidable 304	1
6	Cubierta para columna de vidrio nivel.	Acero Inoxidable 304	1
7	Tubo para nivel de agua sistema de calefacción.		1
8	Tapa de marmita con cúpula traslucida.		1
9	Codo para entrada de agua de calentamiento.	Acero Inoxidable 304	1
10	Tanque para almacenamiento de cultivo.	Acero Inoxidable 304	1
11	Base para tanque.	Acero Inoxidable 304	1
12	Válvula superior para nivel de agua de 3/4".		1
13	Tornillo 5 mm.	Acero Inoxidable 304	16
14	Elementos neumáticos de control.		1

Autor 2009

A continuación se explica cada parte de la unidad de cultivo o marmita (Figura 23) (TABLA 2):

- Cubierta para tubería en acero inoxidable.
- Válvula para nivel de agua; este dispositivo muestra el nivel de agua al interior de la marmita, la transferencia de calor resistencia y pared de la marmita se hace por medio del agua.
- Soporte para bomba de diafragma; base en acero inoxidable.
- Válvula o registro para desagüe de ½"; Permite recoger el cultivo de la unidad.
- Tubo de conexión para vaciado o recolección de cultivo.
- Cubierta para nivel en acero inoxidable.
- Tubo o visor en vidrio para nivel de agua del interior de la unidad.
- Tapa de unidad con cúpula traslúcida en material de acrílico, permite el paso de la luz al interior de la unidad de cultivo, adicionalmente cuenta con dos entradas una para la Termocupla la cual realiza la lectura de temperatura del medio y controla la resistencia y un tubo en acero inoxidable que cumple con la función de desgasificación
- Codo para entrada de agua al interior de la unidad de cultivo, para conservar el nivel adecuado.
- Tanque para la unidad de cultivo fabricado en acero inoxidable.
- Tablero para elementos neumáticos, unidad de mantenimiento y 3 válvulas reguladoras.

La fabricación y prueba de la unidad de cultivo estuvo acorde con los parámetros de diseño, los materiales seleccionados ofrecen la calidad requerida par el cultivo de la microalga.

### 3.6.3. Modulo solar Fotovoltaico

Para dar un soporte energético, se dotó al equipo de un modulo solar fotovoltaico policristalino (Figura 24), (TABLA 3), el cual esta dispuesto en una estructura similar a la del fotobioreactor, presenta en su diseño dos grados de libertad para poder lograr la máxima captación de la radiación solar, la energía solar recibida por el panel es convertida en energía fotovoltaica la que a su vez se regula por un dispositivo electrónico y es almacenada en una batería o acumulador, en las horas nocturnas para lograr la iluminación se dispone de lámparas de diodos de alta luminosidad y bajo consumo energético.

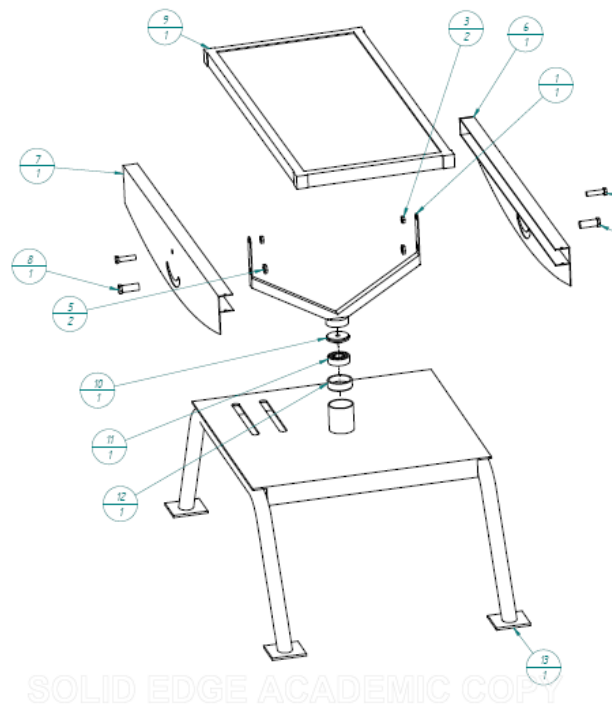


Figura 23: Modulo seguidor Fotovoltaico (Despiece). Autor 2009

TABLA 3: LISTADO DE PARTES DEL MODULO FOTOVOLTAICO

NUMERO DE ELEMENTO	TITULO	MATERIAL	CANTIDAD
1	Soporte	Acero estructural	1
2	Tornillo ½- 13 UNC	Acero	2
3	Tuerca hexagonal ½- 13 UNC	Acero	2
4	Tornillo ¾ -10 UNC	Acero	2
5	Tuerca hexagonal ¾ -10 UNC	Acero	2
6	Travesaño lateral derecho	Acero estructural	1
7	Travesaño lateral izquierdo	Acero estructural	1
8	Panel solar		1
9	Plato superior rodamiento	Acero estructural	1
10	Rodamiento axial		1
11	Plato inferior rodamiento	Acero estructural	1
12	Base	Acero estructural	1

Autor 2009.

El modulo solar fotovoltaico se compone de un panel solar policristalino (de 55 W a 12 V), la batería o acumulador (MTEK LFP 1255 12 V 55 A) y las lámparas de diodos son el sistema alternativo a la luz natural, cuando por la noche sea requerido un proceso de iluminación fotoperiodo. En estas condiciones es necesario que los diodos o leds de alta luminosidad puedan producir una cantidad suficiente de luz para asegurar el crecimiento de las microalgas, simulando las condiciones naturales.

Del capítulo 1 se conoce que:

- El crecimiento es acentuado cuando hay un bajo nivel de iluminación (está entre 28% y 46%), y parece quedar estancado a pesar de elevarse sustancialmente el nivel de iluminación.
- Entre 2000 y hasta 3000 luxes hay inhibición de fotosíntesis.

Además:

- A mayor tiempo de exposición a la luz se logra un mayor crecimiento.
- 1 foot-candle equivale a 10.7639 luxes.
- El modo de iluminación puede ser modificado con el uso de leds proyectores de luz, al formar un ángulo de incidencia distinto que el de la luz solar
- La frecuencia de luz puede controlarse de acuerdo al color emitido por el diodo emisor de luz, en un espectro muy estrecho.

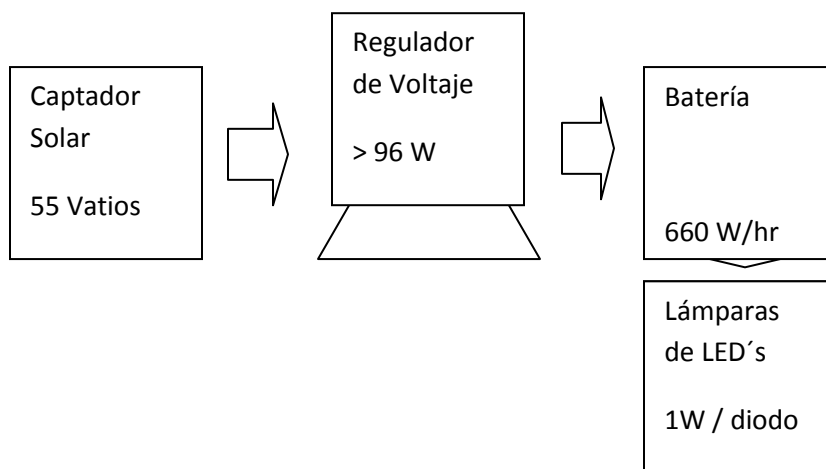
El panel solar consta de cuatro elementos básicos, El captador de la energía solar, un regulador de corriente continua, una batería de plomo-oxido y una pantalla de diodos emisores de luz LED's. El captador de la energía solar consiste en un empaquetamiento de estado sólido de Silicio policristalino con microestructuras que difieren en valencia electrónica, que cuando la luz llega a estos átomos (fotones) los electrones se activan, con gran sensibilidad, los electrones ordenadamente son incrementados a causa de la cantidad de fotones en una dirección de flujo creando una corriente continua la cual puede tener un bajo voltaje con un buen amperaje.

El regulador de corriente y voltaje se interpone para que el voltaje no aumente de acuerdo a la intensidad de exposición, sino tenga un límite superior de 12 voltios continuo y se mantenga este voltaje. La batería tiene como función la de conservar la cantidad o la carga de los electrones aportados por el captador.

La pantalla de diodos emisores de luz es donde el sistema tiene aprovechamiento técnico y donde las nuevas tecnologías y lo tradicional pueden juntarse para logros sorprendentes, la posibilidad de lograr muy estrechos márgenes de espectro luminoso no era fácilmente posible antes de aparecer los LED's y la posibilidad adicional de lograr potencias lumínicas puntuales muy grandes, el diodo de alta luminosidad se produce con procesos de microelectrónica y depósito superficial de Arseniuro de Galio y substratos de semiconductores de

diferentes clases que al ser cuidadosamente diseñados forma toda una diversidad de diodos emisores de luz. Las potencias reales de los LED's de potencia están expresadas en vatios de consumo que son de 1 W, 3 W y 5W. Con un máximo de 192 lúmenes. (Anexo 8)

### 3.7. CONCEPTO DE POTENCIA EN EL PANEL SOLAR.



**Figura 24:** Potencia Fotovoltaica. Autor 2009

Descripción del sistema fotovoltaico: El modulo de energía solar genera una máxima potencia disponible desde la batería de 55 vatios, porque es lo consumido por la pantalla de LED's, implica que la batería se recarga con el captador solar equivalentemente, sin embargo esto ocurrirá al cabo del tiempo en que retorne la exposición de luz.

La batería se descarga a la rata máxima de 660 W por hora, de tal forma que si en una hora se descargan 55 vatios la batería puede teóricamente durar unas 12 horas hasta que se agote la carga.

La batería en la realidad no puede bajar del 70% de la carga común que tenga y es bueno agregar que las baterías no operan exactamente igual una como otra,



el 30 % útil del tiempo de descarga es 3,6 horas que también se puede reducir con aplicar una carga mucho mas baja, la que puede ser de 16,5 vatios aplicados durante el periodo continuo de 12 horas para consumir 198 vatios. Teóricamente el captador solar puede cargar la batería en unas 4 horas, pero esto depende claramente de la actividad del estado del tiempo para mantener despejado el techo del recinto con la exposición al sol, de tal modo que si se tiene en cuenta que las estadísticas dicen que se pueden tener unas cuatro horas de luz plena, de tal forma que por la noche el sistema habrá cargado la batería, de no ser así el captador solar mínimo debe aportar 16,5 vatios por hora.

El ángulo de incidencia de la luz con respecto al fotobio reactor es importante ya que tanto la reflexión como la refracción disminuyen la cantidad de fotones que llegan a la biomasa, la cual esta expuesta en razón del volumen total del fotobio reactor a un volumen incidido por la luz, esto en el caso de una luz normal unidireccional, pero si se aplica un arreglo multidireccional una de las variables angulares cambia favorablemente por lo que se recomienda. En los cálculos de luz incidente no se tiene en cuenta la cantidad de frecuencia óptica no aprovechada, mientras que con los LED's la estrechez cromática favorece una mejor utilización de la energía utilizada. La iluminación entregada por los LED's no alcanza las cantidades referidas de Foto inhibición, porque esto esta plenamente cuantificado en razón del numero de fuentes lumínicas aplicadas

El diseño tiene las mismas partes de la estructura de fotobio reactor, las características adicionales del equipo se describen en la TABLA 3.

### **3.8. CONCLUSIONES DEL ESTUDIO DEL DISEÑO ESTRUCTURAL DEL FOTOBIOREACTOR**

- El diseño definitivo de fotobioreactor presenta mayor facilidad de montaje y una mejor distribución de carga, además de presentar menores restricciones en el movimiento debido a su menor peso.
- El equipo presenta una característica fundamental es el diseño de forma modular, el cual permite realizar variaciones en el montaje.
- La inyección de mezcla Aire - CO<sub>2</sub> se puede variar y con la dosificación al medio que el investigador crea pertinente.
- Los grados de libertad del sistema permiten la ubicación y el ángulo adecuado.
- La unidad de cultivo permite variar las condiciones de cultivo de microalgas con respecto a control de temperatura, agitación del medio, medición de pH y caudal.
- La energía utilizada para aumentar el fotoperiodo es gratuita y en su proceso de obtención no genera contaminación, las lámparas utilizadas se pueden cambiar fácilmente según el tipo y color.

## 4. FASE 2: ESTUDIO ENERGETICO DEL FOTOBIOREACTOR EXPERIMENTAL.

### 4.1. INTRODUCCION

En la tercera fase se presenta el análisis de las aplicaciones energéticas del fotobioreactor con respecto a consumos y pérdidas de energía, referente a la radiación solar, la temperatura de la unidad de cultivo o marmita, la que se produce por medio de una resistencia eléctrica, y la energía consumida por la bomba que genera el caudal en el reactor como factores importantes para el buen funcionamiento del equipo.

### 4.2. ANALISIS ENERGETICO

Para realizar un análisis de consumo y pérdidas de energía es necesario esquematizar todos los tipos de energía que requiere el fotobioreactor para su funcionamiento; el fotobioreactor está diseñado para un aprovechamiento de la energía solar ( $\dot{H}_\beta$ ), la cual se cuantifica mediante los estudios que hacen instituciones dedicadas a la caracterización del recurso energético del país, como el IDEAM y la Unidad de Planeación Minero Energética (UPME), quienes han elaborado un Atlas de Radiación solar para Colombia.

Existen otros dos tipos de energía que interactúan con el sistema en estudio.

La energía térmica ( $\dot{E}_T$ ) aportada por la resistencia eléctrica de calentamiento del fluido, instalada en la unidad de cultivo o marmita, no está inmersa directamente

en el medio de cultivo, la resistencia caliente agua depositada en un compartimiento externo a la marmita, rodeando el tanque contenedor de cultivo, manteniendo la temperatura de este.

La energía de flujo ( $\dot{W}_p$ ) aportada por la bomba neumática de diafragma, que funciona con aire comprimido alimentado de un compresor de pistón, y con el mecanismo neumático de acción entre los diafragmas, hace circular el medio inoculado por todo el sistema del fotobioreactor, venciendo pérdidas de presión en el trayecto y dando agitación al cultivo. Dichas energías se cuantificaron mediante cálculos teóricos tomando como base datos específicos del equipo. A continuación se muestra el esquema de los tipos de energía que el sistema consume y las pérdidas que se tienen en cuenta en el análisis. (Figura 26)

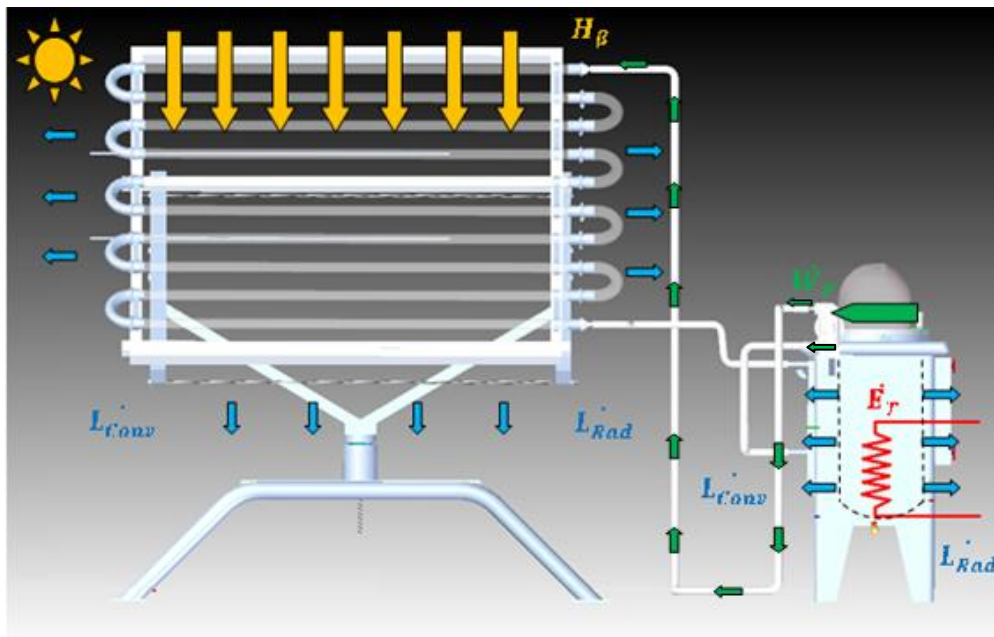


Figura 25: Esquema energético del fotobioreactor. Autor 2009.

Las pérdidas de energía se traducen en la transferencia de calor por convección ( $\dot{L}_{Conveccion}$ ), y las pérdidas por radiación hacia el exterior ( $\dot{L}_{Rad}$ ).

#### 4.2.1. Potencia energética solar diaria

El estudio de la potencia energética solar se realizó a partir de la ubicación geográfica del sitio en el cual se instala el equipo y determina la radiación solar incidente. La ubicación geográfica del sitio de instalación del fotobioreactor fue el biocentro de la Universidad de La Sabana en el municipio de Chía, al norte de Bogotá D.C., En la Figura 27 se muestra una fotografía satelital en donde se obtienen las coordenadas y ubicación geográfica exacta del lugar.



**Figura 26:** Fotografía satelital del Biocentro de la Universidad de La Sabana.  
Google Earth 2008.

Los datos obtenidos describen las siguientes coordenadas: La posición del sitio fue 4° 55' 25.53" Latitud Norte y 74° 01' 55.25" Longitud Oeste.

#### 4.2.2. Radiación solar atlas de radiación solar de Colombia

La radiación solar es la energía emitida por el Sol que se propaga en todas las direcciones a través del espacio mediante ondas electromagnéticas y partículas. La medición de la radiación solar se realiza en forma instantánea como el cociente

entre la cantidad de energía solar incidente en la unidad de área y de tiempo  $(\frac{Energia}{Area \cdot Tiempo}) (W/m^2)$  o integrada durante un lapso de tiempo que normalmente es un día  $(\frac{Energia}{Area}) (W/m^2 \text{ día})$ .

#### 4.2.3. Radiación global solar para el municipio de Chía.

El primer paso, fue identificar los mapas de radiación solar para los meses de agosto y septiembre ya que en estos meses se efectuó la validación del equipo.



Figura 27: Mapa de radiación global solar en el municipio de Chía para el mes de agosto. Atlas de radiación solar de Colombia.2005

Como se detalla en la Figura 28, el municipio de Chía se encuentra en la franja de color verde claro ( $4.0 - 4.5 \text{ kWh/m}^2$ ) y pertenece a la isolínea número 2 desde el valor más bajo ubicado en el límite con la franja azul claro ( $3.5 - 4.0$ ). Asociándose a cada isolínea un valor de 0.1, la radiación equivale a  $4 + 2 \cdot 0.1$ , es decir, **4.2 kWh/m<sup>2</sup> día**, siendo esta la radiación solar global promedio para el mes de Agosto en el municipio de Chía. De la misma manera, para el mes de septiembre se tiene que el municipio de Chía está en la franja verde claro, pero ahora ubicado en la isolínea número 1 desde el valor más bajo situado en la franja azul claro ( $3.5 - 4.0$ ). Finalmente, la radiación solar global para el mes de septiembre en el municipio de Chía para esta investigación es de **4.1 kWh/m<sup>2</sup> día**.

Es necesario aclarar que estos valores de radiación solar global, se aplican para superficies horizontales, paralelas al plano del suelo, el serpentín de vidrio ubicado en el fotobioreactor esta dispuesto en forma horizontal en uno de sus ejes y los tubos verticalmente se disponen con una inclinación de 45°, al ser de forma cilíndrica la sección trasversal del tubo la radiación llega al medio como si fuera una superficie horizontal, por lo tanto no hay necesidad de hacer cálculos para superficies inclinadas.

#### **4.2.4. Estudio lumínico**

Las medidas de Luxes según el estado del arte para el cultivo de *Chlorella* establecen un rango de luminosidad que va desde la oscuridad con un crecimiento del 0, 29%, a 20 luxes una tasa de crecimiento del 0,46 %, 480 luxes 0,47 % y 1200 luxes 0,49% (Allen William et al), la tasa de crecimiento no se recomienda por encima de 2690 luxes (Sorokin et al, 1961).

Se realizó análisis de luminosidad en el sitio de instalación del Fotobioreactor en los meses de agosto y septiembre arrojando una respuesta aceptable de luminosidad para el funcionamiento del equipo, las medidas fueron registradas con un luxómetro Mimipa.



Figura 28: Luminosidad promedio a lo largo del día. Autor 2009

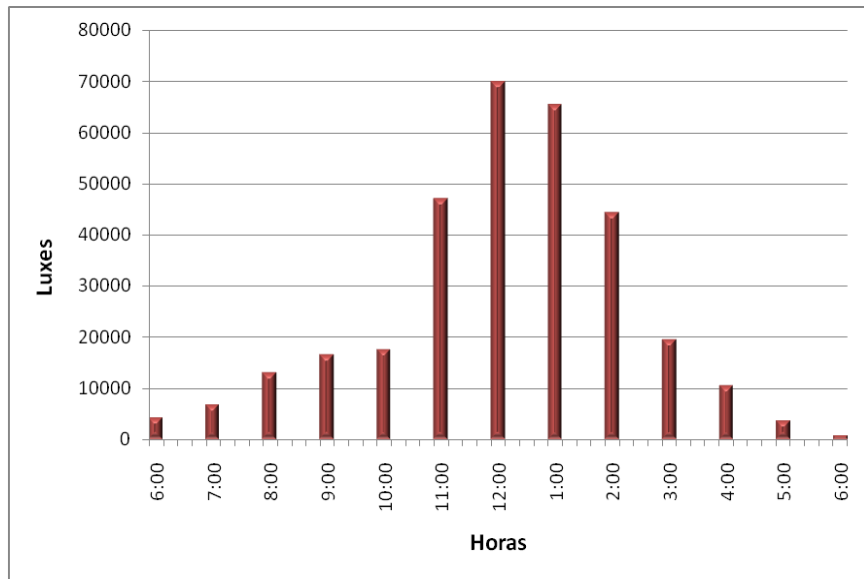


Figura 29: Luminosidad promedio por hora. Autor 2009.



De las Figuras 29 y 30 se obtiene que la mayor intensidad lumínica se presente entre las 10 de la mañana y las 3 de la tarde. Este comportamiento puede variar en días demasiado lluviosos o en días extremadamente soleados. Esta es una medición para un día promedio en el biocentro.

#### 4.3. ENERGIA MECANICA DE LA BOMBA NEUMÁTICA DE DIAFRAGMA

La instalación del fotobioreactor requiere colocar un dispositivo que haga que el medio de cultivo circule por el serpentín. Para la aplicación, se seleccionó una bomba neumática de doble diafragma Marca Wilden de referencia P 0.25, el mecanismo de funcionamiento de la bomba hace que no se generen esfuerzos cortantes a la célula de la microalga durante su funcionamiento, al contrario con lo que puede ocurrir con bombas centrifugas las cuales por la acción de la velocidad rotacional generan torque dañando el microorganismo (Anexo 9).

Las principales características de las bombas neumáticas de doble diafragma que se tuvieron en cuenta para este estudio fueron:

- Cuando este tipo de bombas esta apagada, no hay ningún consumo de potencia, este se da al existir un consumo de aire de entrada, en el momento que se abre la válvula de paso de aire y empieza a funcionar la bomba. El consumo de aire es aproximadamente proporcional al caudal de descarga. Para un consumo de aire mínimo, se tiene un caudal de descarga mínimo. Para un consumo de aire máximo, se tiene un caudal de descarga máximo. Esta característica permite que la bomba sea usada en aplicaciones en donde el caudal de descarga deba variarse dentro de un amplio rango.
- La presión de descarga disminuye igualmente para un caudal de líquido y una presión de aire suministrados, sin tener en cuenta la gravedad específica del

líquido a bombear. La cabeza de la descarga varía con la gravedad específica del fluido bombeado, porque es la presión de descarga y no la cabeza la que se controla con la presión de aire. Para las bombas centrífugas, la presión de la descarga es directamente proporcional a la gravedad específica del líquido bombeado, mientras la cabeza es fijada a un punto dado en la curva de la instalación. La presión de aire proporcionada, el caudal de descarga y la NPSH determinan la presión de la descarga para una bomba neumática, no la cabeza, la cual es una característica de las bombas centrífugas operadas a velocidades fijas.

- Durante el funcionamiento de la bomba, ocurre una mínima degradación de la viscosidad en materiales sensibles a esfuerzos cortantes, ya que la bomba no ejerce torque en la pared celular puesto que no es de tipo centrífugo. Lo citado anteriormente sirve como argumento para la selección de este tipo de bomba, a continuación se presentan las curvas de desempeño de la bomba, las cuales se elaboraron teniendo en cuenta los criterios mencionados.

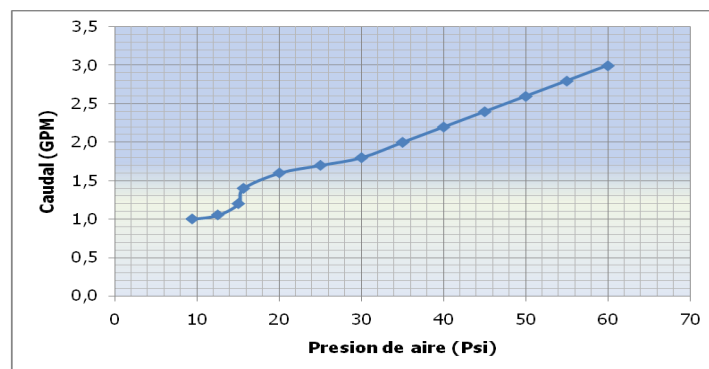


Figura 30: Curva de Presión de aire contra Caudal. Autor 2009.

Se puede observar que existe una proporcionalidad entre la presión de aire y el caudal de descarga. En la curva se detalla una proporción aproximadamente lineal. Nótese también que la bomba empieza a descargar fluido mínimo con una

presión aire de 9 psi, resultado que garantiza que se puede regular el caudal según los requerimientos del cultivo. En la curva de desempeño que aparece en la Figura 30, se tomaron directamente las presiones de descarga en la curva característica que proporciona el fabricante. (Figura 31)

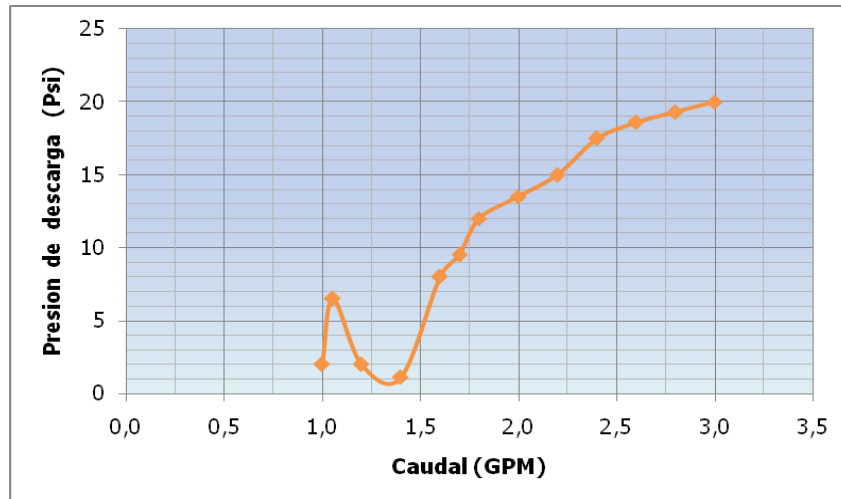


Figura 31: Curva de Caudal contra presión de descarga. Autor 2009.

Se observa un pequeño pico de presión de 6 psi, a un caudal de 1,1 GPM, lo que evidencia una especie de presión de inicio en la bomba, es decir, una ligera variación de presión de descarga posiblemente debido al golpeteo característico de las carreras del diafragma. Esto implica que se debe considerar que al inicio de funcionamiento del equipo se generan algunas presiones excesivas en la pared celular de la microalga. (Figura 32)

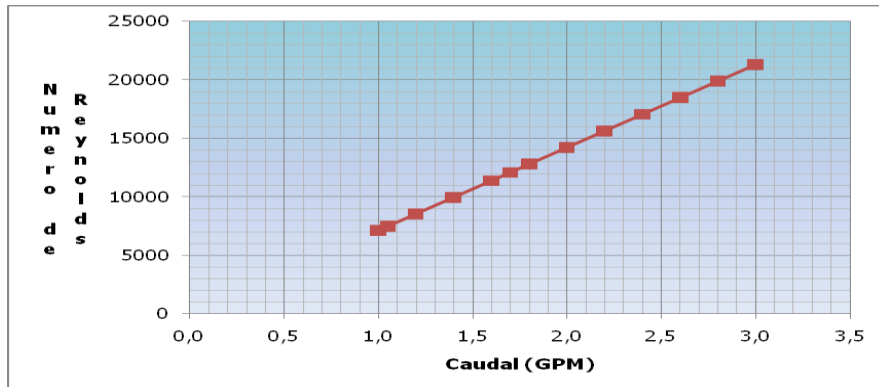


Figura 32: Caudal contra Numero de Reynolds para Mangueras de descarga y retorno (Diámetro 12.7 mm). Autor 2009.

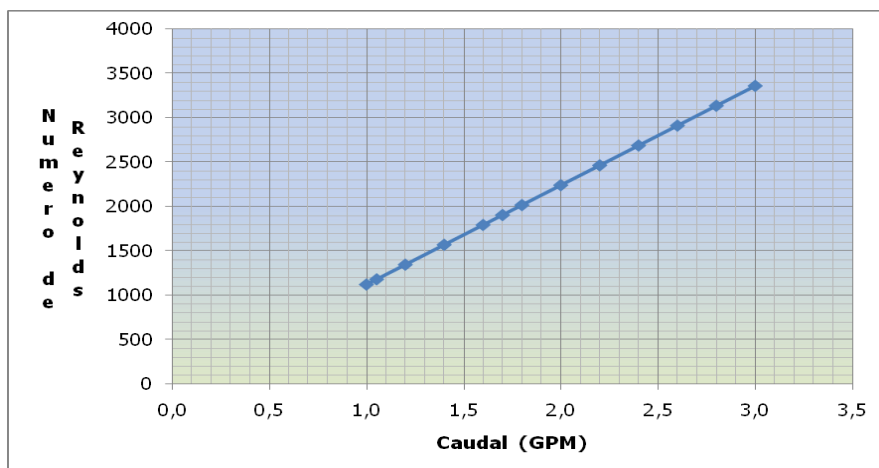


Figura 33: Numero de Reynolds - Caudal de descarga para tubería de vidrio (Diámetro 32 mm). Autor 2009.

Las figuras 33 y 34 muestran el numero de Reynolds para este estudio, el numero de reynolds ( $Re$ ) es la relacion de la fuerza de inercia sobre un elemento de fluido a la fuerza viscosa. La fuerza de inercia se desarrolla a partir de la segunda ley del movimiento de Newton  $F=m.a$  , la fuerza viscosa se relaciona con el producto del

esfuerzo cortante por el area. La Figura 31 nos muestra que el flujo a traves de la manguera es turbulento aunque los valores de viscosidad y velocidad son bajos, esto se debe a que la bomba vence una cabeza muy pequeña, ademas la distancia entre el punto de succion y descarga es corta, todo esto sumado a un diametro pequeño en la manguera permite obtener valores de flujo turbulento. Para el flujo en los tubos de vidrio se puede observar que de acuerdo con el incremento en el diametro con respecto a el diametro de las mangueras la velocidad disminuye de tal forma que hay una disminucion considerable en el flujo haciendo que se tengan algunos valores de flujo laminar y otros en la zona de transicion de flujo laminar a turbulento.

De acuerdo con experimentación realizada en este estudio se determinó que un valor adecuado de caudal de funcionamiento del equipo es de aproximadamente 1,3 GPM ( $8.2 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$ ), con una presión de aire de aproximadamente 12.5 psi. Con estos datos se obtiene de las curvas un valor de presión de descarga de 3.5 psi (24.13 kPa) aproximadamente. La presión de succión no tiene un valor significativo ( $P_s = 0$ ), debido a que la distancia entre la salida del tanque de almacenamiento y la conexión de succión de la bomba es muy corta (40 cm)

Potencia entregada por la bomba al medio

$$\dot{W}_P = Q(P_D - P_S) \quad (1)$$

Donde:

Q = Caudal de descarga en  $\text{m}^3/\text{s}$ ;  $Q = 8.2 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$

$P_D$  = Presión de descarga en Pascales (Pa);  $P_D = 24.13 \text{ kPa}$

$P_s$  = Presión de succión en Pascales (Pa);  $P_s \approx 0$

Reemplazando en la ecuación (1) la potencia de la bomba es: **1.97 vatios**

La potencia que suma la bomba al medio de cultivo es el resultado del trabajo mecánico necesario para que un volumen especificado por el caudal sea transportado por efecto de dos presiones que interactúan entre sí,  $P_D$  y  $P_s$ .

#### 4.4. TRANSFERENCIA DE CALOR EN EL SISTEMA DE CALENTAMIENTO Y SERPENTIN DEL FOTOBIOREACTOR.

##### 4.4.1. Condiciones de cálculo y trabajo.

Para determinar las pérdidas de energía se realizó un análisis energético de la forma como se logra la temperatura del medio, y los elementos del equipo que están sometidos a calentamiento y exposición al medio ambiente con posibilidad de pérdida de calor.

En las paredes de la unidad de cultivo o marmita hay una transmisión convectiva natural, y debe llegar a una temperatura superior a la requerida por el medio de cultivo, se debe mantener a 27 °C (300 K), sin que haya exposición de los microorganismos con las superficies internas de la marmita directamente con la resistencia, para evitar altos de temperatura y así no ocasionar daño a las microalgas, por lo cual se diseña el dispositivo al baño maría.

Se calcularon las pérdidas de energía teniendo en cuenta las temperaturas en la superficie externa de la marmita la cual se cubrió con lana de vidrio. En el caso del serpentín las temperaturas se tomaron al interior del cultivo y en el exterior, para el registro de temperaturas se utilizó un termómetro digital con apreciación de un grado centígrado.

Las paredes de la marmita son de acero inoxidable 304 calibre 18 (1,2 mm de grosor). El flujo del calor tiende desde el medio de calentamiento hacia adentro para calentar el medio de cultivo o UTILIDAD, que es la energía necesaria para el

crecimiento de la microalga y hacia fuera como PÉRDIDA, el cultivo tiene un consumo fijo. La pérdida se presenta a través de la pared exterior, la que está revestida por lana de vidrio y una superficie “Manifold de Aluminio” que transfiere por convección natural y por radiación a un medio confinado por una cobertura o carcasa, a partir de la temperatura registrada sobre la superficie Manifold de aluminio, se calculan las pérdidas de energía.

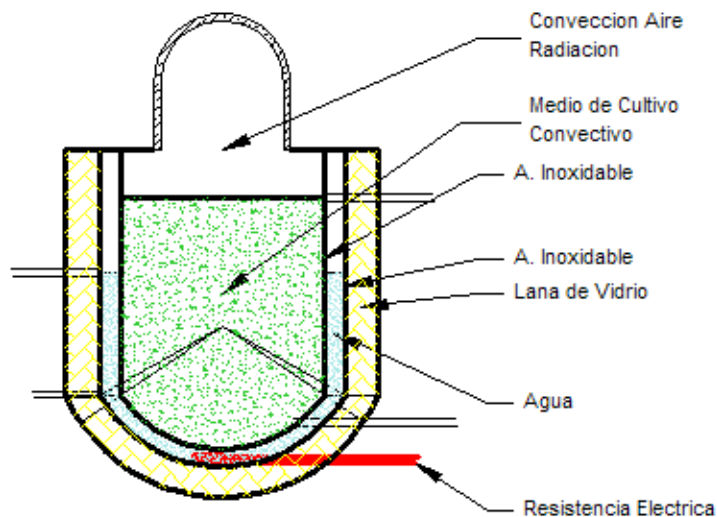


Figura 34 : Sistema de Calentamiento Indirecto del Medio de Cultivo. Autor 2009.

Las temperaturas que se registraron con un termómetro análogo instalado al final del serpentín, el cual registró una pérdida de temperatura de 2 °C, y se midieron las temperaturas en la unidad de cultivo con un termómetro digital el cual presenta una apreciación de 1°C, las medidas fueron las siguientes:

- Temperatura del medio 27 °C.

- Temperatura de la pared de acero interna en marmita 27 °C.
- Temperatura del medio de calentamiento 28°C.
- Temperatura de la pared de acero externa de la marmita 26 °C.
- Temperatura de la pared externa del aislamiento térmico de lana de vidrio 19 °C.
- Temperatura del medio ambiente 16 °C.
- Temperatura del medio de cultivo al final del serpentín 26 °C.

#### **4.4.2. Cálculos de la transferencia de calor en el sistema de calentamiento y el serpentín.**

Se tomaron las temperaturas correspondientes a los lugares claves de la marmita y el serpentín tal como se puede observar en el esquema, sin embargo para efectos de cálculo sólo se tienen en cuenta las superficies exteriores de la parte que puede presentar potencias en pérdida.

El calentamiento se obtiene desde una resistencia eléctrica cuyos parámetros físicos son: 210 voltios y 38,9 ohmios para una potencia de 1113 vatios ( $V^2/R = P$ ), (Orozco, et al 1993).

Las pérdidas consideradas son por los medios de convección y de radiación al exterior del compartimiento de calentamiento, por fuera de la protección de papel manifold aluminizado que recubre el aislante de lana de vidrio, cuya temperatura es de 19 C. La temperatura ambiente en el momento de la medición fue de 16 C.

Para el cálculo, se presentan los siguientes datos y ecuaciones tanto para la convección como para la radiación (TABLA 4).



**TABLA 4: PROPIEDADES DEL AIRE**

PROPIEDADES DEL AIRE ( 1 atm)						
<i>t</i>	<i>c<sub>p</sub></i>	<i>ρ</i>	<i>μ</i>	<i>ν</i>	<i>k</i>	<i>Pr</i>
10	1005,8	0,0012467	17,69	14,19	24,87	0,716
20	1006,1	0,0012042	18,17	15,09	25,64	0,713
C	J/kg C	kg/L	kg/m- s	m <sup>2</sup> /s	W/m C	
Unidades			10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>3</sup>	

Chapman. (1984)

#### 4.4.2.1. Principios y ecuaciones de la transferencia por convección

Los fluidos al contacto con una superficie caliente experimentan por la disminución de densidad un movimiento vertical debido al empuje realizado por el fluido más denso que está frío en la parte inferior. Weil. (1976).

El problema se trata como convección libre.

- El número de Nusselt es un valor adimensional que reporta la relación entre el calor transferido por convección y el valor del calor transferido por conducción del mismo medio.

$$\frac{dQ}{dQ'} = \frac{hL}{k} = Nu \quad (2)$$

- La relación adimensional entre el movimiento de materia (viscosidad) y el movimiento del calor (difusividad) es el número de Prandtl.

$$\frac{\nu C}{k} = \text{Pr} \quad (3)$$

- La relación también adimensional entre la fuerza ascensional de un cilindro vertical ( $\theta = T_{\text{Superficie}} - T_{\text{infinito}}$ ) y la fuerza retenedora viscosa es el número de Grashoff Chapman (1984).

$$\frac{g\beta\theta L^3}{\nu^2} = \text{Gr}_L \quad (4)$$

- .En el caso de tubería horizontal se aplica  $\text{Gr}_{Dm}$  es el diámetro el que significa.
- Por simplificación para la marmita. Gooding, (2003), se puede calcular un cilindro como una placa vertical plana si cumple que:

$$D > \frac{35L}{\text{Gr}_L^{0.25}} \quad (5)$$

- Si el diámetro  $D$  de diseño es mayor que el diámetro determinante indicado por Grashoff en la ecuación anterior es permitido calcular la transferencia de un cilindro como una placa vertical.
- Encontrar e interpolar en la TABLA 4 el número de Prandlt del aire a la temperatura ambiente (16 C ~ Pr = 0,7148)
- Se calcula el numero de Rayleigh el cual permite saber el régimen de flujo que sea el caso que sea mayor que  $10^9$  el flujo es turbulento esta dado por la igualdad:

$$Ra = Pr * Gr \quad (6)$$

- Si Ra es menor que  $10^9$ , por lo tanto confirma que el régimen no es turbulento y se aplica la ecuación siguiente para confrontar Nusselt promedio.
- A partir de los números de Pr y de Gr se determina el número de Nusselt como promedio y se despeja el h promedio

$$\bar{Nu} = \left\{ 0,825 + \frac{0,387 Ra^{1/6}}{\left[ 1 + \left( \frac{0,492}{Pr} \right)^{9/16} \right]^{8/27}} \right\}^2 \quad (7)$$

Ecuación de acuerdo al documento Cengel. (2006)

Este Nusselt se despeja de la ecuación 2, para encontrar el coeficiente de transferencia de calor por convección.

Por la ley del calentamiento de Newton, la cual aplica para estado en forma de convección de calor.

$$q_{Cilindro\_como\_placa\_vertical} = \bar{h} A_{equivalente} (T_s - T_\infty) \quad (8)$$

Se termina de calcular el calor perdido en esta forma, con ciertas modificaciones numéricas también se puede calcular la pérdida en tubos horizontales.

#### 4.4.2.2. Pérdida por convección para la marmita:

La temperatura de la superficie del papel manifold es 19 C y el ambiente es 16 C

CILINDRO como PLACA VERTICAL con los siguientes valores propiedades de entrada del aire a la temperatura de película =  $(19 + 16)/2 = 17,5$  C:

$$k = 0,02506 \text{ W/ (m C)}$$

$$\nu = 0,00001442 \text{ m}^2/\text{s}$$

$$\beta = 0,00344 \text{ K}^{-1}$$

$$\text{Pr} = 0,7153$$

El número de Rayleigh se calcula utilizando las ecuaciones 4 y 6

$$Ra = \frac{9,8 * 0,00344 * 3 * 0,49^3}{0,00001442^2} * 0,7153$$

$$Ra = 40984345,76$$

Es un valor inferior a  $10^9$  por lo cual el régimen de flujo es no turbulento.

El número de Nusselt se calcula utilizando la ecuación 7

$$\bar{Nu} = \left\{ 0,825 + \frac{0,387(40984345)^{1/6}}{\left[ 1 + \left( \frac{0,492}{0,7153} \right)^{9/16} \right]^{8/27}} \right\}^2$$

$$\bar{Nu} = 46,95$$

El valor del coeficiente de transferencia por convección es por la igualdad 2:

$$\bar{h} = Nu * k / L$$

$$\bar{h} = 2,402 \text{ W} * (\text{m}^2 \text{ C})$$

El calor perdido se calcula utilizando la ecuación 8

$$q_{\text{perdido}_{\text{convectivo}}} = 2,402 * 0,6927 (9 - 16)$$

$$q_{\text{perdido}_{\text{convectivo}}} = 4,99 \text{ vatios}$$

#### 4.4.2.3. Perdida por radiación para la marmita:

Para superficies paralelas y con una forma similar Faires. (1978), se aplica la ley de la radiación de Stefan Boltzman,  $\sigma = 5,669 \text{e-}08 \text{ W/m}^2\text{K}^4$

$$q_{\text{Radiacion}} = \epsilon \sigma A (T_1^4 - T_2^4)$$

Con los valores siguientes:

$\epsilon = 0,21$  del papel (manifold)

Área = 0,69 m<sup>2</sup>

T<sub>1</sub> = 19 C

T<sub>2</sub> = 16 C

$$q_{\text{Perdido\_Radiacion}} = 0,21 * \sigma * 0,6927 (292^4 - 289^4)$$

$$q_{\text{Perdido\_Radiacion}} = 2,43 \text{ vatios}$$

El calor total perdido por radiación y convección al medio ambiente es 7,42 vatios.

#### 4.4.2.4. Perdida por convección para el serpentín vidrio pyrex

La temperatura de la superficie del VIDRIO es 22 C y el ambiente es 16 C

Se calcula como CILINDRO HORIZONTAL con los siguientes valores propiedades de entrada del aire a la temperatura de película = (22 + 16)/2 = 19 C:

k = 0,0249 W/ (m C)

$\nu$  = 0,00001428 m<sup>2</sup>/s

$\beta$  = 0,003424 K<sup>-1</sup>

Pr = 0,7157

El número de Rayleigh se calcula con la ecuación 4 y 6

$$Ra = \frac{9,8 * 0,003424 * 6 * 0,035^3}{0,00001428^2} * 0,7157$$

$$Ra = 30302,1$$

Es un valor inferior a 10e6 por lo cual el régimen de flujo es no turbulento.

El número de Nusselt es por la ecuación modificada de la 7

$$\bar{Nu} = \left\{ 0,6 + \frac{0,387 Ra^{1/6}}{\left[ 1 + \left( \frac{0,559}{Pr} \right)^{9/16} \right]^{8/27}} \right\}^2$$

Aplicando números:

$$\bar{Nu} = \left\{ 0,6 + \frac{0,387 (30302,1)^{1/6}}{\left[ 1 + \left( \frac{0,559}{0,7157} \right)^{9/16} \right]^{8/27}} \right\}^2$$

$$\bar{Nu} = 5,68$$

El valor del coeficiente de transferencia por convección es por modificación de la igualdad 2 con un diámetro de 0,035 m:

$$\bar{h} = \frac{5,68 * 0,0249}{0,035} = 4,055 \text{ W} * (\text{m}^2 \text{ C})$$

El calor perdido de esta forma en esta área por la ecuación 8, aplicando el área superficial de los tubos horizontales.

$$q_{\text{perdido\_convectivo}} = 4,055 * 1,65 * (22 - 16) = 40,13 \text{ vatios}$$

#### 4.4.2.5. Perdida por radiación para serpentín

Para superficies paralelas y con una forma similar, se aplican los valores de factor de forma  $F_a = y$  y  $F_e =$  extractados de la grafica expuesta en la bibliografía Ozicic. (1979) se aplica la ley de la radiación de Stefan Boltsman,  $\sigma = 5,669\text{e-}08 \text{ W/m}^2\text{K}^4$

$$q_{\text{Radiacion}} = \varepsilon \sigma A (T_1^4 - T_2^4)$$

Con los valores siguientes:

$\varepsilon = 0,9$  del vidrio al boro silicato (PYREX)

Área = 1,64 m<sup>2</sup>

$T_1 = 22 \text{ C}$

$T_2 = 16 \text{ C}$



$$q_{Perdido\_Radiacion} = 0,9 * \sigma * 1,649 \left( 95^4 - 289^4 \right)$$

$$q_{Perdido\_Radiacion} = 50,3 \text{ vatios}$$

El calor total perdido por radiación y convección al medio ambiente en el serpentín es 90,33 vatios.

El calor total perdido por radiación y convección al medio ambiente en el serpentín y la marmita es de 97,75 vatios, el balance arroja que la potencia que se necesita para mantener la microalga a la temperatura adecuada a 27 °C, es de 1015.25 vatios, esta potencia no es continua puesto que la resistencia no siempre esta en funcionamiento.

#### **4.5. CONCLUSIONES DEL ESTUDIO ENERGÉTICO DEL FOTOBIOREACTOR**

- La radiación solar en la Sabana de Bogotá es óptima para el cultivo de microalgas.
- Se encuentra un rango de alta luminosidad entre las 10 A.M. y las 3 P.M. lo que a futuro puede permitir realizar estudios mas específicos sobre lo que le sucede a cultivos de microalgas en este trayecto del día.
- La bomba seleccionada es adecuada para el cultivo puesto que no daña los microorganismos y permite en un proceso experimental variar fácilmente el caudal del cultivo.
- El cálculo realizado tuvo en cuenta todas las posibles perdidas por radiación y convección para observar la cantidad de energía que el equipo esta

consumiendo y aprovechando en beneficio del crecimiento de las microalgas.

- La energía solar fue aprovechada primero por la captación de luminosidad que requiere el fotobioreactor y posteriormente para convertir la energía lumínica en energía fotovoltaica.
- La reducción de las pérdidas por convección y radiación es un método eficaz para mejorar el consumo en esta aplicación.
- El equipo demostró ser energéticamente viable puesto que las pérdidas son mínimas con respecto a la potencia de entrada, se presentó una pérdida en la tubería del serpentín de 2°C, con lo cual se concluye que el medio de cultivo no presenta choques térmicos que puedan afectar a la microalga.

## **5. FASE 3. FABRICACION E INSTALACIÓN DEL FOTOBIOREACTOR EXPERIMENTAL**

### **5.1 INTRODUCCION**

Después de realizado el diseño, cálculos y selección de materiales, se fabricó un prototipo de cuarenta litros 40 L. Se determinaron los procesos de fabricación adecuados que respondieran a las condiciones estipuladas en el diseño y al estudio energético complementario.

### **5.2. SELECCIÓN DE MATERIALES**

Para la selección de los dos materiales mas representativos, vidrio Pírex y Acero inoxidable AISI 304, se tuvo en cuenta el estudio de las experiencias referenciadas en el marco teórico.

Para la fabricación del serpentín se escogió el vidrio pírex, la presentación de la tubería que se montó en el serpentín del equipo comercialmente se encuentra de una medida de 1 ½" o 35 mm por una longitud de 1500mm, el diámetro esta recomendado por estudios revisados en el estado del arte (Coral., et al 2005), como propiedades químicas que presenta este material se encuentra la resistencia hidrolítica, la resistencia a los ácidos, resistencia a las bases. Entre las características físicas más representativas tenemos, la resistencia al calentar y resistencia a cambios repentinos de temperatura, resistencia a la temperatura al congelar, Con respecto a las características ópticas, el vidrio referenciado presenta una transmisión de longitud de onda en el rango visible que va de 400 nm a 1000 nm y en infrarrojo hasta 3000 nm. (Schott Duran 2008), por las anteriores características se seleccionó este material para la fabricación del equipo.

Con respecto a todos los elementos fabricados en acero inoxidable AISI 304 para los codos, los tubing de inyección de mezcla de aire y CO<sub>2</sub> y la marmita o unidad de cultivo, estos materiales se caracterizan por un contenido de cromo del 12% como mínimo, elemento que forma un compuesto oxidado en la superficie de la aleación que detiene o disminuye la corrosión (capa pasiva).

La estabilidad de la capa pasiva es el factor determinante para la resistencia a la corrosión en los aceros inoxidables. La diferencia de los aceros inoxidables con otros metales es que la capa pasiva la genera la propia aleación; la resistencia a la corrosión en los aceros inoxidables depende de la naturaleza del entorno corrosivo y de los elementos de aleación Cr, Ni, C, Mo, también depende de la condición de la superficie y del tratamiento de pasivación previo (Compañía general de aceros 2009), las sales del cultivo Bristol requieren materiales adecuados para poder lograr la asepsia en el proceso.

### **5.3. FABRICACION DEL FOTOBIOREACTOR.**

En la fabricación del equipo, se llevaron a cabo los siguientes procesos de manufactura.

- Corte por plasma de contorno y ranurado de lámina.
- Taladrado de agujeros de ajuste.
- Doblado de lámina.
- Doblado de tubería.
- Soldadura de argón para acero inoxidable.
- Soldadura de arco eléctrico.
- Soldadura MIG para unión de perfiles y tubería.

- Taladrado de agujeros de graduación de apertura del soporte.
- Procesos de torneado, fresado y ensamble.
- Pintura electrostática.

La estructura base del equipo (Figuras 36 y 37) se elaboro con travesaños laterales unidos por tornillería a un soporte triangular invertido el diseño de este elemento puede hacer extensible la ampliación del serpentín del fotobioreactor, los travesaños también están ajustados entre si por varillas de fijación transversales (Figura 38) que brindan estabilidad y uniformidad en el movimiento de ajuste angular del sistema de flujo (Serpentín de tubería en vidrio).

El soporte angular esta apoyado sobre un eje solidario con un rodamiento axial de rodillos cónicos de 100 mm de diámetro exterior (Figura 39), cuyo alojamiento se fija por tornillería a una base que consta de lámina de acero laminado en frío y tubería estructural doblada en forma trapezoidal del mismo material, a futuro puede realizarse la conexión de un moto reductor para un mecanismo de seguidor solar. Esta base se fabrico con platinas soldadas en sus cuatro apoyos, para dar nivelación a toda la estructura.



Figura 35: Vista Frontal para Estructura principal. Autor 2009



Figura 36: Vista en perspectiva de la Estructura principal. Autor 2009



Figura 37: Travesaños laterales con las varillas de estabilización y ranuras de ajuste y graduación angular. Autor 2009.

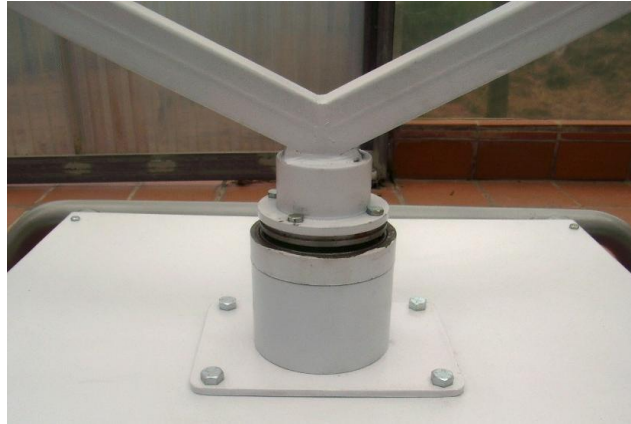


Figura 38: Detalle de unión de soporte triangular a rodamiento axial con la base principal. Autor 2009

Para soportar la tubería de vidrio a la estructura, se fabricó un soporte hecho con tubería cuadrada y rectangular de aluminio (Figura 40), la cual se ajustó a los travesaños laterales por tornillería (Figura 41). La fijación de la tubería de vidrio se realizó mediante la utilización de abrazaderas dobles, fabricadas exclusivamente para el equipo por troquelado y que son fijadas al soporte cuadrado por tornillería, dichas abrazaderas dobles fueron cubiertas en su parte curva con un caucho de amortiguación para evitar esfuerzos directos sobre la tubería de vidrio, evitando que estos se fracturaran en su montaje (Figura 42 y 43).



Figura 39: Soporte para fijación de la tubería de vidrio. Autor 2009.



Figura 40: Fijación de la estructura principal. Autor 2009.



Figura 41: Abrazaderas dobles para fijación de tubería a soporte. Autor 2009





Figura 42: Tubería de vidrio instalada en estructura principal. Autor 2009.

Uno de los aspectos que tomó más tiempo y trabajo en la instalación de los tubos, fue la unión de estos con las bridas de acero inoxidable que debían llevar en sus extremos. Estas bridas permitieron el acople rápido de los tubos con elementos que complementan el sistema de flujo (serpentín) tales como mangueras de PVC flexible alambrado y codos de 180 grados fabricados en acero inoxidable. En algunas experiencias estudiadas en el estado del arte muchos proyectos fracasaron por fugas que se presentaban en los acoples de la tubería.

La unión de metal con vidrio en este tipo de aplicaciones fue complicada, debido a que el material de unión no se debe degradar para evitar fugas. Por esta razón se optó por la aplicación de un sellador estructural de silicona utilizado en situaciones en que la unión de estos materiales (metal y vidrio) es sometida a esfuerzos significativos (Figura 44).

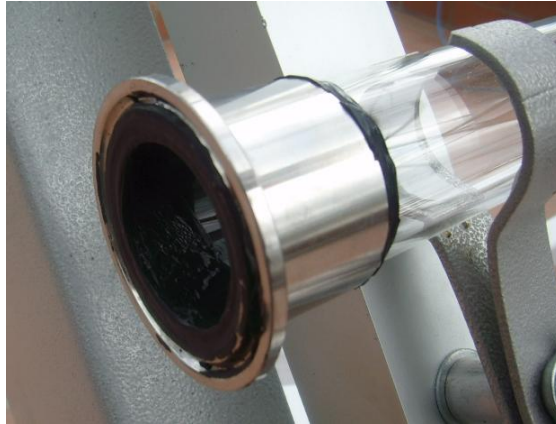


Figura 43: Sellador estructural de silicona color negro, aplicado para la unión de la tubería de vidrio con bridas de acero inoxidable 304. Autor 2009.



Figura 44: Sistema de control de temperatura en serpentín. Autor 2009.

Se dispuso un sistema de control de temperatura análogo, el cual censa la temperatura al final del serpentín, la caída de temperatura se puede llegar a corregir en la marmita. (Figura 45).

En la marmita que sirve como unidad de cultivo, se fijaron la bomba neumática de diafragma desplazamiento positivo y el tablero de control neumático de todo el sistema que contiene a la unidad de mantenimiento, válvulas reguladoras de presión y accesorios (Figura 46).



Figura 45: Marmita de almacenamiento con bomba neumática, tablero de control neumático, control de temperatura y Tanque de CO<sub>2</sub>. Autor 2009.



Figura 46: Cultivo de prueba de microalga *Chlorella vulgaris*. Autor 2009.

Al momento de iniciar el primer cultivo de microalga *Chlorella vulgaris* (Figura 47), que sirvió como validación del equipo, se instaló la totalidad del sistema de flujo que incluyó bomba neumática, serpentín y mangueras de succión y de descarga a marmita, el sistema de control de temperatura de lazo abierto que incluyó

termopar con display de muestreo y fijación manual de temperatura, termocupla y resistencia eléctrica, y el tablero de control neumático con unidad de almacenamiento, válvulas reguladoras de presión, mangueras neumáticas, válvulas de paso y anti retorno, además de la línea de CO<sub>2</sub> traída desde el tanque de almacenamiento de este gas.



Figura 47: Instalación completa del Fotobioreactor para cultivo de microalgas.

Autor 2009.

#### **5.4. SISTEMAS DE CONTROL EN EL EQUIPO**

Para la realización del primer cultivo de validación, se dispuso de un control directo de lazo abierto sobre las siguientes variables:

- Temperatura del cultivo en la marmita.
- Presión de flujo en la bomba neumática.
- Porcentaje de CO<sub>2</sub> mezclado con aire, suministrado al cultivo directamente en el serpentín.

## 5.5. CONTROL DE TEMPERATURA EN LA MARMITA DE ALMACENAMIENTO

El sistema estaba compuesto de una resistencia eléctrica con una capacidad de 210 voltios y 38,9 ohmios para una potencia de 1113 vatios de alimentación bifásica, un termopar de muestreo digital y fijación manual y un relé de contactos normalmente abiertos. Fijada la temperatura de cultivo en el termopar, la resistencia se alimentó hasta que el Sensor (termocupla) inmerso dentro del cultivo midiera el valor de temperatura deseado. Una vez esto ocurrió, se disparaba el relé de contactos y la resistencia dejaba de ser alimentada. (Figura 49)



Figura 48: Dispositivo de control de temperatura en la marmita. Autor 2009.

## 5.6. CONTROL DE PRESIÓN DE FLUJO EN LA BOMBA NEUMÁTICA

La alimentación neumática de la bomba requirió de la instalación de una válvula reguladora de presión a la entrada alimentadora de la misma. Los valores de presión de flujo de cultivo se determinaron realizando mediciones de caudal

entregado por la bomba, y buscando en la curva característica de esta los valores de presión de descarga. (Figuras 50 y 51)



Figura 49: Control de presión de alimentación de la bomba. Autor 2009.





Figura 50: Control de porcentaje de CO<sub>2</sub> mezclado con aire suministrado en el serpentín. Autor 2009.

Uno de los controles que fallaron en la etapa experimental fue el mezclado del Aire y CO<sub>2</sub> , por esta razón en el Fotobioreactor se dispuso de dos valvulas reguladoras las cuales dosificaron el porcentaje de 4% CO<sub>2</sub> 100% Aire los cuales se mezclaban antes de ser inyectados en el serpentín del reactor, a los sistemas electrico y neumatico se les realizo planos de montaje.

## 5.7. FICHA TECNICA DEL EQUIPO

Fotobioreactor con capacidad total de 40 L.

Relación S/V (Superficie volumen).

- Volumen en serpentín 16 L.
- Volumen en marmita o unidad de cultivo 24 L.

Total volumen 40 L.

Superficie 1.6 m<sup>2</sup>.

Tiempo de Residencia en el serpentín con un caudal de 3 GPM 1.40 seg.

Bomba de diafragma ¼" de diámetro, caudales de 1 GPM a 19 GPM

Sistema de mezcla Aire - CO<sub>2</sub>.

- Regulación por válvulas.
- Inyección por medio de tubing al interior del serpentín.

Control de temperatura en medio de cultivo .

- Sistema de medición y control pirómetro electrónico con apreciación de 1 °C.
- Termocupla a cultivo en PVC:
- Gama de temperaturas de 1 °C a 100 °C.
- Temperatura recomendada para la microalga *Chlorella vulgaris* 27 °C.

Control de temperatura en serpentín.

- Termometro análogo con apreciación de 1 °C.

Sistema de desgasificación en unidad de cultivo o marmita.

Mezcla.

- Por aire en unidad de cultivo o marmita.
- Por bomba en serpentín.

Control de pH.



- Modo manual.
- El pH se estabiliza por mezcla Aire CO<sub>2</sub>.

#### Fotoperiodo.

- Fuente por panel solar fotovoltaico policristalino 55 W 12 V, acumulador 55 A 12 V.
- Luminosidad por LEDs de potencia.
- Tiempo de fotoperiodo por temporizador electrónico.

#### Sistema neumático.

- Mangueras de alta presión.
- Válvulas reguladoras.
- Filtros tipo milipore aervent.

## **6. DISEÑO EXPERIMENTAL Y VALIDACION DEL FOTOBIOREACTOR**

### **6.1 INTRODUCCION**

Se realizó el mismo diseño experimental utilizado en la fase de caracterización del microorganismo, la cepa de microalga fue *Chlorella vulgaris*, la temperatura se estandarizó a 27°C controlada, se generó agitación en marmita con aire filtrado, la dosificación del CO<sub>2</sub> con aire fue de 4% - 100% y para el flujo se utilizó la bomba de diafragma, el alistamiento del Fotobioreactor es factor importante para lograr las condiciones óptimas de crecimiento de la microalga.

### **6.2. ALISTAMIENTO DEL EQUIPO PREVIO A CULTIVO**

Para lograr resultados se debe realizar el alistamiento del equipo, las condiciones de limpieza y asepsia son importantes para que el medio de cultivo no se contamine, los aspectos más importantes a seguir en la operación del equipo son los siguientes:

- Verificar la alineación de los tubos de vidrio del serpentín.
- Verifique que no hayan fugas dentro del sistema de flujo. Para esto es conveniente asegurarse de que las abrazaderas de ajuste rápido que conectan codos y mangueras estén apretadas y concéntricas tanto con el sello de caucho blanco, como con las respectivas bridas.
- Verifique que el equipo esté limpio, ya que la asepsia del sistema de flujo es vital a la hora de iniciar un cultivo.

- Verifique el funcionamiento del sistema de control de temperatura tanto en la unidad de cultivo o marmita como en el serpentín, y establezca la temperatura a la que se debe mantener el medio en la marmita.
- Revise las conexiones de mangueras neumáticas (Aire - CO<sub>2</sub>), y las conexiones del sistema de flujo. Verifique que no estén sueltas y que no tengan fugas
- Verifique que el compresor marque la presión de trabajo (100 psi) en el manómetro, y que este conectado a la red eléctrica.
- Verifique el funcionamiento de la bomba, abriendo la válvula de la unidad de mantenimiento y después la válvula reguladora de caudal en la línea de la bomba.
- Verifique el nivel del agua de calentamiento al interior de la marmita. Si es bajo agregue agua normal por el ducto de llenado.
- Asegúrese que la válvula de desagüe de la marmita este cerrada al momento de agregar fluido en el tanque contenedor.
- Verifique el funcionamiento del modulo solar fotovoltaico, y ajuste en el temporizador el tiempo del fotoperiodo.

### **6.2.1. Procedimiento para el lavado del sistema de flujo**

En primer lugar, se debe cerrar toda la alimentación neumática (válvulas de paso, reguladoras y la unidad de mantenimiento), retirarlas del sistema.

Luego se desmontan con cuidado las mangueras de alimentación y descarga del serpentín, aflojando las abrazaderas de ajuste rápido (Figura 52, 53). Después se hace lo mismo con las mangueras reforzadas en el serpentín, tener cuidado de no golpear los tubos, se pueden romper y causar heridas al operario.



**Figura 51:** Abrazadera de ajuste rápido para bridas. Autor 2009.



**Figura 52:** Bridas de unión hidráulica. Autor 2009.



**Figura 53:** Manguera de alimentación de serpentín (superior) y manguera reforzada con alambre (inferior). Autor 2009.



**Figura 54:** Manguera reforzada (arriba) y Manguera de descarga. Autor 2009.

Una vez realizado el anterior paso; en el otro extremo de la estructura, se desconectar la manguera neumática de alimentación de CO<sub>2</sub>, (Figura 54, 55). Seguidamente se desconectar la Te de unión de distribución del CO<sub>2</sub>, que une la tubería metálica de este sistema. (Figura 56)



**Figura 55:** Manguera neumática de alimentación de CO<sub>2</sub>, conectada con unión “Te” de tubería metálica. Autor 2009.

Se desmontan codos en acero inoxidable aflojando las abrazaderas de ajuste rápido, teniendo mucho cuidado con los codos que tienen soldada la tubería metálica, y el codo que tiene montado el termómetro al final del serpentín.



Figura 56: Codo de acero inoxidable apretado con abrazaderas de ajuste rápido.  
Autor 2009.



Figura 57: Tubería de vidrio montada en soportes. Autor 2009.

Una vez se hayan desmontado todos los codos y mangueras del sistema, (Figura 57, 58), desmontar tubería para realizar lavado, utilizar una sonda para limpiar al interior de la tubería.

Cada tubo se debe lavar con detergente disuelto en agua, después con una pequeña cantidad de hipoclorito de sodio disuelto en agua y por ultimo con agua destilada. Los otros elementos desajustados anteriormente (mangueras y codos) y la marmita, se deben lavar siguiendo el mismo procedimiento, posteriormente se arma el equipo y se hace circular agua con hipoclorito disuelto en agua durante 20 minutos aproximadamente, luego hacer circular suficiente agua destilada para enjuague.

### **6.3. RECOMENDACIONES PARA EL INICIO DE CULTIVO**

El llenado del tanque contenedor en la marmita debe hacerse hasta que el nivel de liquido este justo por debajo del ducto de retorno. (Figura 59)



Figura 58: Nivel de medio inicial. Autor 2009.

Se debe hacer circular el medio antes de la inoculación, graduando la válvula de presión de aire de la bomba a menos de 25 psi. Una vez la circulación sobre toda

la instalación sea uniforme. Una vez esto ocurra se debe adicionar el medio restante, hasta completar la capacidad total de medio 40 Litros, después, se puede proceder a hacer la inoculación correspondiente.

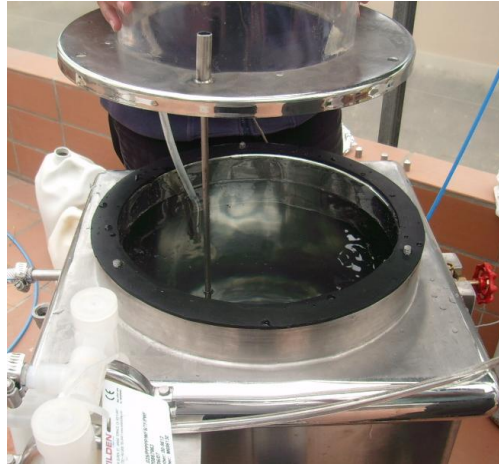


Figura 59: Medio inoculado y listo para inicio de cultivo. Autor 2009.

Se debe graduar la bomba a una presión de alimentación de aire adecuada según sea el parámetro para el tipo de microalga. La temperatura se debe graduar en el sistema de control, una vez se haya hecho la inoculación, la temperatura de trabajo varia dependiendo las características del microorganismo, al terminar el serpentín se puede medir la temperatura y controlar la caída de temperatura que es de aproximadamente 2°C en el día la variación de temperatura casi no tiene variación. (Figura 60)

#### **6.4. DISEÑO EXPERIMENTAL**

Para determinar la productividad (cel/ml) se tomaron muestras periódicas del medio de cultivo a diario, realizando conteos en cámara de Neubauer. Durante estos ensayos se midieron los valores de pH durante el ciclo de cultivo; este valor además de evaluarlo como parámetro de cultivo se tomó como referencia para



controlar la entrada de CO<sub>2</sub> y aire y la agitación del medio; así mismo, se realizaron observaciones y lecturas para determinar el comportamiento de esta variable (pH) con respecto al incremento de la densidad celular.

Con base en los resultados en esta fase, se tomaron en cuenta varios parámetros iniciales, dentro de los cuales el fotobioreactor debería empezar a funcionar.

La validación del fotobioreactor se efectuó con dos inoculaciones de la cepa de *Chlorella vulgaris*, la primera se hizo con un fotoperiodo de 12 horas y la segunda con un fotoperiodo de 24 horas. Dichos tiempos de luminosidad fueron los que presentaron los valores de crecimiento celular más altos en la experimentación previa. Para el fotoperiodo de 12 horas, se dejó funcionar al equipo en condiciones normales de luminosidad natural.

Para el fotoperiodo de 24 horas, se instalaron 3 lámparas incandescentes de 100 W, controladas por un temporizador que daba alimentación de 6 de la tarde a 6 de la mañana, cubriendo el ciclo nocturno natural de oscuridad.

La relación directa de inyección de CO<sub>2</sub> con el pH del medio llevó a realizar una mezcla de gases antes de adicionarlos al medio, para establecer la proporción adecuada de las presiones parciales de los gases en una mezcla con el porcentaje molar de los mismos. Se controlaron las presiones de CO<sub>2</sub> y aire antes de su mezcla, para así adicionarlos en el medio.

Los porcentajes de la mezcla fueron del 4% de CO<sub>2</sub> en aire (Myers et al., 1959), y la cual se reguló mediante válvulas reguladoras de presión instaladas en la línea de cada gas.

El caudal que se manejó en la línea hidráulica fue de aproximadamente de 1 galón por minuto (3.785 L/min), el cual de acuerdo al comportamiento de la bomba,

corresponde a una presión no mayor a 2 psi (0.14 bar), que es un valor muy bajo y óptimo para no generar daño en la pared celular de la microalga, y de esa manera afectar al microorganismo, estos valores de caudal y presión se mantuvieron constantes en el segundo cultivo.

El medio utilizado para la inoculación de validación fue el mismo que se utilizó en la experimentación previa. La inoculación se efectuó con 460 ml de microalga *Chlorella vulgaris*, adicionando 200 ml de vitamina compuesta por Tiamina y Biotina a un volumen de 40 litros.

La temperatura inicial del medio fue de 22 °C, y la temperatura ambiente del sitio fue de 27 °C. El sistema de control de temperatura se ajustó para que el cultivo estuviera a 27°C.



Figura 60: Vitamina Tiamina + Biotina (200 ml) e inóculo de *Chlorella vulgaris* (460 ml). Autor 2009.

Las figuras 62, 63 muestran las curvas de crecimiento obtenidas en las pruebas de validación, y el comportamiento del pH.

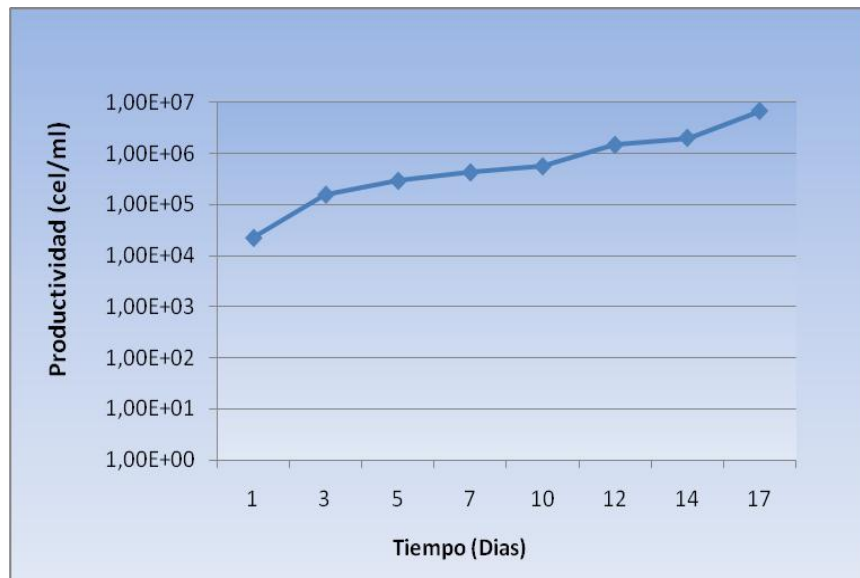
### 6.4.1. Cultivo preliminar

Para el cultivo preliminar se tuvieron las siguientes condiciones (TABLA 5):

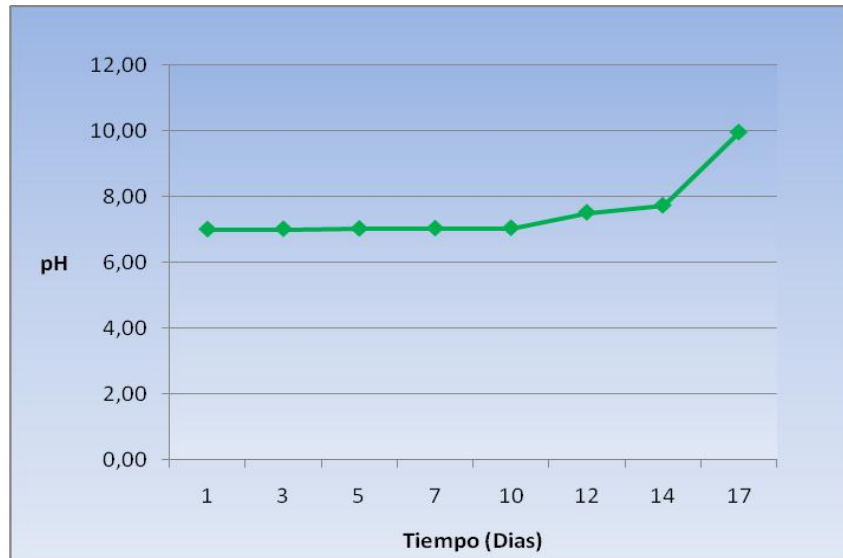
**TABLA 5.** CONDICIONES INICIALES DEL PRIMER CULTIVO DE VALIDACIÓN DEL EQUIPO

Fecha de inculo	11/08/2008
Inoculo inicial	2,01E+03
pH inicial	6,8
Fotoperiodo	12 h
Especie	<i>Chlorella vulgaris</i>

Los resultados de productividad se detallan mediante las curvas de crecimiento celular y pH.



**Figura 61:** Productividad (cel/ml) Fotobioreactor 40L. Primer cultivo. Autor 2009.



**Figura 62:** Comportamiento del pH Primer cultivo. Autor 2009.

La primera inoculación se efectuó en un cultivo preliminar, en el que se verificó el control de las variables (Temperatura, caudal, CO<sub>2</sub>, pH). Este cultivo se mantuvo bajo condiciones de luminosidad natural (luz día). La máxima productividad alcanzada para *C. vulgaris* fue de 6,75E+06 cel/ml en un tiempo total de 17 días calendario. Se presentó una buena adaptabilidad al medio y a las condiciones de cultivo en la etapa de inicio. El caudal que se manejó en esta prueba fue de aproximadamente 1,5 galones por minuto. El pH tuvo un comportamiento constante hasta el día 12. Después este valor se elevó bruscamente hasta un pH de 10. Estas variaciones no afectaron la productividad de la microalga.

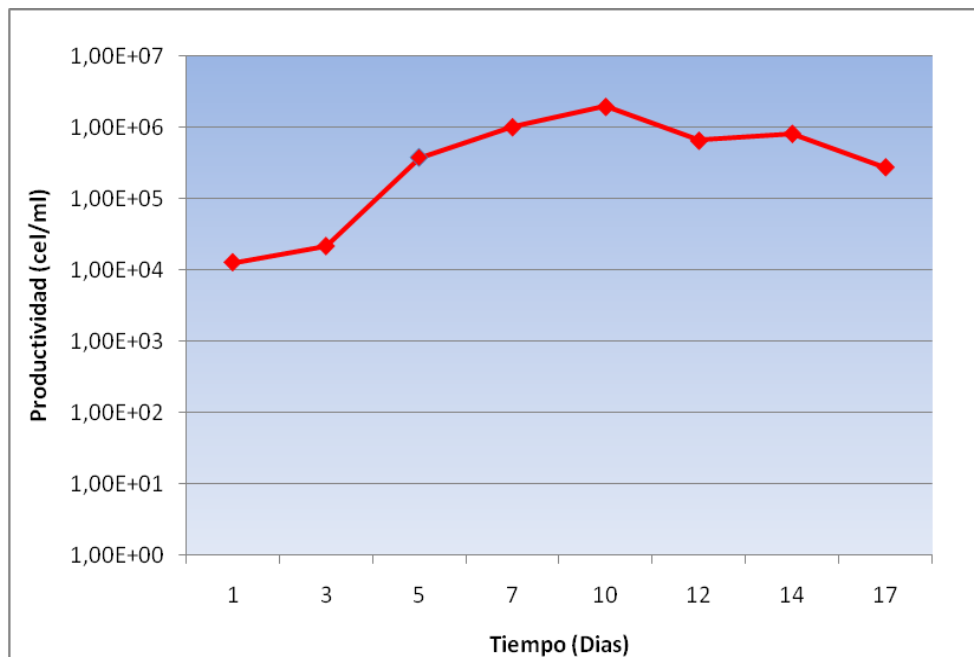
#### 6.4.2. Cultivo de validación

Se realizaron dos cultivos para realizar la evaluación definitiva del equipo, en el que se controlaron las variables que intervinieron en el crecimiento desde la inoculación (TABLA 6 y 7).

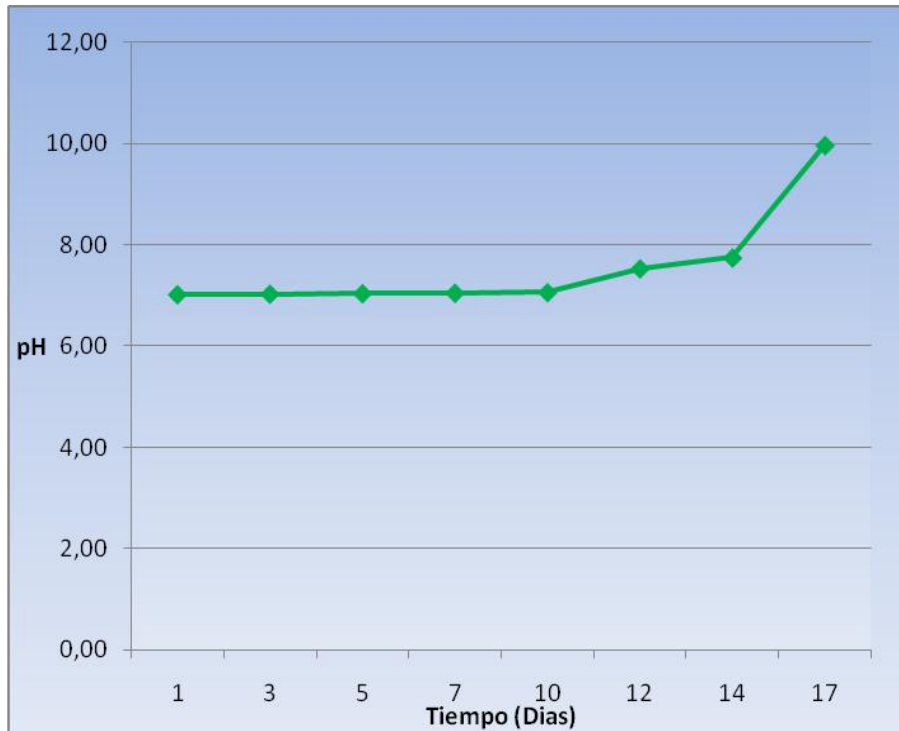
**TABLA 6.** CONDICIONES DEL SEGUNDO CULTIVO DE VALIDACIÓN

<b>Fecha inoculación</b>	29/08/2008
<b>Inoculo inicial</b>	1,26E+04
<b>pH</b>	6,8
<b>Fotoperiodo</b>	24h
<b>Especie</b>	<i>Chlorella vulgaris</i>

Las figuras 64, 65 muestran la productividad y el comportamiento del pH del segundo cultivo de validación.



**Figura 63:** Productividad (cel/ml) Fotobioreactor 40L, Segundo cultivo. Autor 2009.



**Figura 64:** Comportamiento del pH, Segundo cultivo. Autor 2009.

En la figura 64 se observa dos puntos de descenso del crecimiento entre los días 10 y 12, y también entre los días 15 y 17, los cuales puede atribuirse a un cambio de pH por un incremento inesperado del flujo de  $\text{CO}_2$  al medio de cultivo. Esto puede significar que en la etapa final de crecimiento las microalgas requirieron una mayor cantidad de  $\text{CO}_2$  para su desarrollo.

La tendencia de la microalga *C. vulgaris* de adherirse a las superficies evidencia que el efecto de auto-sombreado impide que la luz necesaria para el crecimiento llegue a todas las células del medio y se ocasionen fotoinhibición y fotolimitación en las microalgas presentes en el sistema.

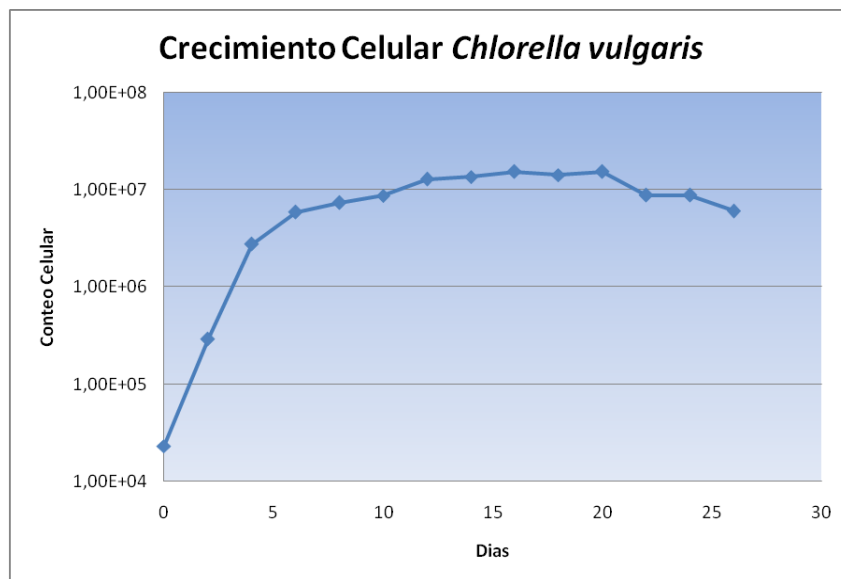
Referente al funcionamiento del equipo se presentaron acumulaciones de aire en el serpentín lo que se supero en la ultima prueba donde se modifico la entrada del medio de cultivo, antes la entrada se realizaba por la parte superior del serpentín y

el medio descendía con la ayuda de la gravedad, en el último cultivo se cambió la entrada, el medio asciende por la tubería y luego retorna a marmita.

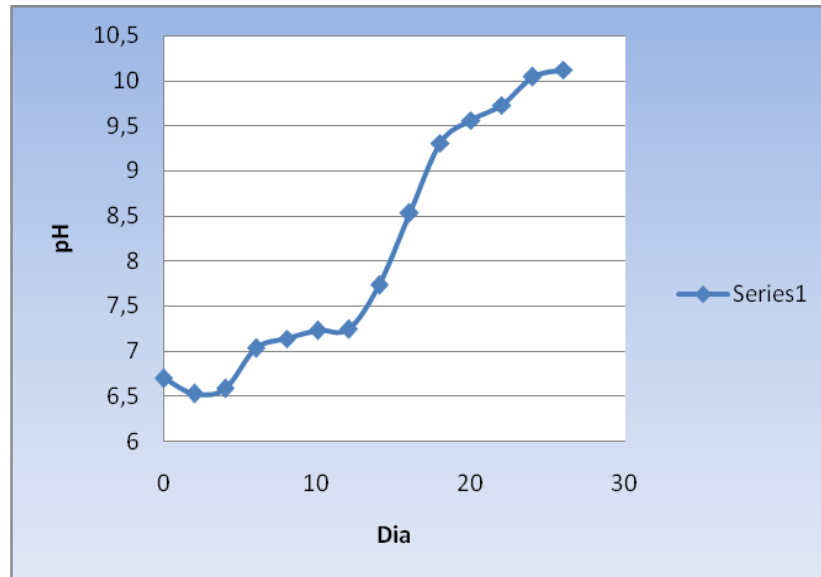
TABLA 7. CONDICIONES DEL ÚLTIMO CULTIVO DE VALIDACIÓN

<b>Fecha inoculación</b>	09/02/2009
<b>Inoculo inicial</b>	2,30E+04
<b>pH</b>	6,7
<b>Fotoperiodo</b>	24h
<b>Especie</b>	<i>Chlorella vulgaris</i>

Las figuras 66, 67 muestran la productividad y el comportamiento del pH del último cultivo de validación.



**Figura 66:** Productividad (cel/ml) Fotobioreactor 40L, Último cultivo. Autor 2009.



**Figura 67:** Comportamiento del pH, Ultimo cultivo. Autor 2009.

En el último cultivo de validación del Fotobioreactor se tuvo mayor rigurosidad en el proceso de limpieza del equipo y en el seguimiento del cumplimiento de las variables, se aprecia en la grafica de crecimiento que en un tiempo de cultivo de 12 días logramos un crecimiento de  $8,75E+06$  validando de esta forma el correcto funcionamiento del equipo.

## 6.5. CONCLUSIONES DE LA VALIDACION DEL FOTOBIOREACTOR EXPERIMENTAL

- Con la validación y prueba del fotobioreactor se comprueba que el equipo es funcional, el protocolo de funcionamiento es el adecuado para lograr estandarizar cultivos de diferentes cepas de microalgas.
- De acuerdo con los datos obtenidos para los dos cultivos se pudo establecer que en el segundo ensayo de validación se logró en términos generales incrementar la productividad en células/ml de la microalga *Chlorella vulgaris*.
- Los valores inesperados en lo referente a la población se vieron afectados en el cultivo de validación, ya que después del día 10 con una población de



1.95E06, la productividad de la microalga *Chlorella vulgaris*, se vio disminuida en el segundo ensayo en el orden de  $10^6$  a  $10^5$ . Esto pudo ser ocasionado por la tendencia de la microalga a adherirse a las paredes, variable que debe tenerse en cuenta para posteriores

## CONCLUSIONES

- El diseño de equipos para investigación en Colombia es un factor fundamental para impulsar el trabajo en laboratorio y es un aspecto que las Universidades deben establecer como líneas de investigación en las facultades de Ingeniería
- Se realizó el diseño, fabricación y prueba de un fotobioreactor apropiado para el cultivo de microalgas a nivel de la sabana de Bogotá.
- Se lograron controlar las variables, temperatura, inyección de mezcla-aire CO<sub>2</sub>, agitación y caudal.
- El uso combinado de vidrio Pírex y acero inoxidable arrojó un resultado positivo en la fabricación y validación del equipo.
- Se utilizó la aplicación de energía fotovoltaica como una estrategia del uso de un procedimiento energético limpio y gratuito
- Por la ubicación geográfica la sabana de Bogotá presenta condiciones de radiación solar y luminosidad adecuadas para realizar cultivos de microalgas en fotobioreactores.
- El diseño garantiza facilidad en el manejo, para la iniciación, monitoreo del cultivo, y para los procesos de mantenimiento del mismo.
- El fotobioreactor respondió positivamente en la validación con el cultivo de *Chlorella vulgaris*.
- La disposición de forma modular para garantizar diversos montajes para el desarrollo de futuras investigaciones.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda adelantar la Instrumentación y sistematización de datos para poder tener acceso a históricos con más exactitud de temperatura, pH, control de caudal y crecimiento celular.
- Es conveniente una ampliación de la dimensiones del serpentín en longitud de tubería.
- Se puede implementar la instalación de seguidores solares al Fotobioreactor y al módulo solar fotovoltaico, para optimizar la captación de radiación solar.
- Se recomienda instalar un sistema térmico solar para poder mantener la temperatura sin el uso de energía eléctrica.
- El diseño y montaje de una película para lograr un balance de luminosidad es conveniente desarrollarlo cuando hay exceso de luz para evitar la Fotoinhibición.



## BIBLIOGRAFIA

- Acien Fernández, F. G. García Camacho, F. Sánchez Pérez, J. A. Fernández Sevilla, J. M. y Molina Grima. E. 1997. *Biotechnol. Bioeng.* N° 55, 701–714.
- Acien Fernández, F. G. García Camacho, F. Sánchez Pérez, J. A. Fernández Sevilla, J. M. y Molina Grima. E. 1998. *Biotechnol. Bioeng.* N° 58, 605–616.
- Álvarez, C.M. y T. Gallardo 1989: Una revisión sobre la biotecnología de las algas. *Bot. Comp.* (15): 9-60.
- Atlas de Radiación solar. 2005 Unidad de planeación minero energética UPME, Instituto de hidrológica, Meteorología y estudios ambientales IDEAM.
- Camacho Rubio, F. Acien Fernández, F. G. Sánchez Pérez, J.A. García Camacho, F. y Molina Grima. E. 1999. *Biotechnol. Bioeng.* N° 62, 71–86.
- Carlozzi y G. Torzillo. 1996, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* N° 45, 18–23.
- Cengel, Y A. 2004. *Transferencia de calor.* Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. 2da Edición. México D.F. Pág. 468.

- Chapman, Allan. (1984) Heat Transfer, Mc Millan Pág.546 , 556
- Coral Contreras-Flores, Julián Mario Peña-Castro, Luis Bernardo Flores-Cotera y Rosa Olivia Cañizares-Villanueva. 2003, Avances en el diseño conceptual de fotobioreactores para el cultivo de microalgas. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN. México. Interciencia.
- Denffer, D. von Die plantische Massenkultur pennater Grunddiatomeen. Arch Mikrobiol 14: 159-202.
- Dvorin, S.A. Kretschmer, IN P. Pulz, O. y Gudin, C. Eds.1992. Proc. 1st Eur. Workshop Microalgal Biotechnology “Algology,” Print Express K. Beyer, Potsdam, Alemania, pp. 91–92.
- Faires, V. (1978) Termodinámica UTEHA España Pág. 695, 703, 769, 770
- Falkowski, P.G. 2004. The Evolution of Modern Eukaryotic Phytoplankton. Science vol. 305. No 5682, p. 354
- Flickinger M.C. y Drew S.W. 1999. Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis, and Bioseparation. VOLUMES 1 - 5. Estados Unidos. Editorial John Wiley & Sons. pp 395-418
- Goldman, J. C. 1979. Outdoor algal mass cultures. II. Photosynthetic yield limitations. Wat. Res. 13: 119-136.

- Gooding, N. (2003) *Transferencia de Calor, Libro de Teoría*, Bogotá. Universidad Nacional, Pág. 8
- Gudin C, Chaumont D. 1983, Solar biotechnology study and development of tubular solar receptors for controlled production of photosynthetic cellular biomass. En Palz W, Pirrwitz D (Eds.) *Proceedings of the Workshop and EC Contractor's Meeting in Capri*. Reidel. Dordrecht, Holanda. Pp. 184-193.
- Gudin y D. Chaumont.1991, *Bioresource Technol.* 38, 145–151
- Gummert, M, F. Meffert & H, Stratman. 1953, Non Steril large scale cultura of *Chlorella* in greenhouse and open air. In J,S. Burlew (Ed), *algal culture from laboratory to pilot plant: 166-176*. Carnegie Institute Pub No 600 Washington.
- Gutiérrez Néstor, Yamid Benavides. 2008, *Estudio y validación de un fotobioreactor experimental con base en energía solar para el cultivo de la microalga Chlorella vulgaris*. Universidad Libre De Colombia tesis de pregrado.
- Harder, R & H Von Witsch. 1942, *Über Massenkultur von Diatomeen*. *Ber deustche Bot Ges* 140- 152.
- Killam y J. Myers. 1956. A Special Effect of Light on the Growth of *Chlorella vulgaris* *American Journal of Botany*, Vol. 43, No. 8 pp. 569-572 *Botanical Society of America*.

- Kommareddy, Anil, Anderson Gary. 2004 Estudio de los requerimientos de luz de un fotobio reactor , Universidad de Dakota.
- Hu, Q. y Richmond. A. 1996. J. appl. Phycol. N° 8, 139–145
- Italia Patente 9357-A/88 (Marzo 11, 1988), M.R. Tredici, D. Mannelli, y R. Materassi (Para Consiglio Nazionale delle Ricerche).
- Laferriere Ricardo, Mecanismo de desarrollo limpio del Protocolo de Kyoto 2006 Buenos Aires Argentina
- Lee, Y. K. Ding, S. Y. Low, C. S. Chang, Y.C. Forday, W. L. y Chew. P. C.1995. J. appl. Phycol. 7, 47
- Lee.1999.Calculation of light penetration depth in photobioreactors. Biotechnol. Bioprocess Eng. 4.78-81
- Mercedes García-González, José Moreno, J. Carlos Manzano, F. Javier Florencio and Miguel G. Guerrero, Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis, Consejo Superior de Investigaciones Científicas-Universidad de Sevilla, Centro de Investigaciones Científicas Isla de la Cartuja, Avda. Américo Vespucio, s/n, 41092 Sevilla, Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía, C/Juan de Lara Nieto s/n, 41013 Sevilla. 2004
- Michael J. Pelczar. 1982, Microbiología. Editorial Mc. Graw Hill, Cuarta Edición, México.



- Molina Grima, E. Sánchez Pérez, J. García Camacho, F. Fernández Sevilla, J. M. Acien Fernández, F. J. Urda, J. Cardona.1995. Appl. Microbiol. Biotechnol. N° 58, 605–616
- Mora Calderón Andrés Humberto, 2008, Determinación de parámetros óptimos de crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*. Universidad de la sabana Facultad de Ingeniería.
- Orozco, C. López, J. Villabona, S. Ocampo, F. (1993) Termodinámica Básica para Ingenieros, Pereira, Universidad Tecnológica de Pereira, Pág. 99
- Ozisik Necati (1979) Transferencia de Calor Mc Graw Hill México Pág. 332
- Pirt, S. J. Lee, Y. K. Walach, M.R. Pirt, M. W. Balyuzi, H. H. M. y Bazin, M. J.1983. A tubular bioreactor for photosynthetic production of biomass from carbon dioxide: Design and performance. Chem. Tech. Biotechnol. N° 33B, 35–58
- Pitts, D. Sissom, L. (1981), Transferencia de Calor. Mc Graw Hill, Pág. 17
- Pulz, O y Scheibenbogen K.1998. en T. Scheper ed., Bioprocess and Algae Reactor Technology, Apoptosis, Springer-Verlag, Berlin, pp. 123–152.
- Pushparaj, B., Pelosi, E., Tredici, M., Pinzani, E., Materassi, R. 1997, An integrated culture system for outdoor production of microalgae and

cyanobacteria. *Journal of Applied Phycology*, v. 9, p. 113-119.

- Richmond D, A, Becker, E. W. : Technological aspects of mass cultivation a general outline Boca Raton Florida 1986. Pag. 245- 263.
- Richmond, A. 2000 Microalgal biotechnology at the turn of the millennium: a personal view. *J. Appl. Phycol.* 12: 441-451.
- Richmond, D.1990, en F.E. Round and D.J. Chapman eds., *Progress in Phycological Research*, vol. 7, Biopress, Bristol, Reino Unido, pp. 269–330.
- Robert H. Whittaker. 1969. New concepts of kingdoms or organisms. Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. *Science* 163: 150-160.
- Sánchez, Raquel, *Biotecnología de las microalgas, producción de carotenos por Dunaliella salina.*
- Sorokin y Krauss R.W..1957.The effects of light intensity on the growth rates of green algae. Department of botany-. University of Maryland, College park, Maryland.
- Sen, M.T Kocer .2005. Studies on Growth of marine microalgae in batch Cultures: *Chlorella vulgaris*. *Asian Journal of Plant Sciences*.
- Szyper, J.P. Brandon, A. Y. Benemann, M.R. Tredici, y O.R. Zaborsky, O. R.1997., *Int. Conf. Biological Hydrogen Production*, Kona, Hawaii, June 23–

26.

- Tamiya, H. 1957, Mass culture of algae. *Ann Rev Physiol.* 8: 309- 334.
- Tamiya, H.; Hase, E.; Shibata, K.; Mituya, A.; Iwamura, T.; Nihei, T. & Sasa, T. 1953: Kinetics of growth of chlorella with special reference to its dependence on quantity of available light and temperature. - In: Burlew, I. S. (Ed.): *Algal Culture: From Laboratory to Pilot Plant*, p. 204-233. Publ. No. 600, The Camegie Institution Washington, O. C.
- Torres Ruiz, Edmundo, 2006, *Agrometeorología.* 47- 57 Ed. Trillas UAAN México.
- Torzillo G, Pushparaj B, Bocci F, Balloni W, Materassi R, Florenzano G. 1986, Production of Spirulina biomass in closed photobioreactors. *Biomass* 11: 61-64.
- Torzillo, G. Carlozzi, P. Pushparaj, B. Montaini, E. y Materassi, R.1993. *Biotechnol. Bioeng.* N° 42, 891–898
- Torzillo, G. Pushparaj, B. Bocci, F. Balloni, W. Materassi, R. y Florenzano, G. 1986. *Biomass* N° 11, 61–74
- Torzillo, G., Sachi, A. and Materassi, R. (1991) Temperature as an important factor affecting productivity and night biomass loss in spirulina platensis grown outdoors in tubular photobioreactors, *Bioresourse Technol.*,

38, 95.

- Torzillo.1997, en A. Vonshak ed., *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, Cell Biology, and Biotechnology, Taylor & Francis, Londres, pp. 101–115.
- Tredici M.R., Carlozzi P., Chini Zittelli G., Materassi R. 1991, A vertical alveolar panel (VAP) for outdoor mass cultivation of microalgae and cyanobacteria. *Biores. Technol.* 38, 153-159.
- Tredici M.R., Margheri M.C., De Philippis R., Bocci F., Materassi R.1988, Marine cyanobacteria as a potential source of biomass and chemicals. *Int. J. Solar Energy* 6, 235-246.
- Tredici M.R., Materassi R. 1992, From open ponds to vertical alveolar panels: the Italian experience in the development of reactors for the mass cultivation of phototrophic microorganisms. *J. Appl. Phycol.*, 4, 221-231.
- Tredici y G. Chini Zittelli. 1998, *Biotechnol. Bioeng.* N° 57, 187– 197
- Tredici, P. Carlozzi, G. Chini Zittell, y R. Materassi.1991, *Biores. Technol.* 38, 153–159
- Tredici G. Chini Zittell.1997, en A. Vonshak ed., *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, Cell Biology and Biotechnology, Taylor & Francis, Londres, pp. 117–130.

- U.K. Patente 2.118.572;. Pirt S.J (Marzo 17, 1983) (Queen Elizabeth College, University of London).
- U.S. Patente 5.541.056; (Julio 22, 1994), Huntley, M.R. Nijler, P. P. y Rodalje, D. (Aquaserch Inc.).
- Vásquez Curiel Rosa, Manual de Microbiología
- Weil Louis 1976 Transmisión del Calor Labor Barcelona Pág. 61,172
- Weissman, R.P. Goebel y J.R. Benemann.1988. Biotechnol. Bioeng. N° 31, 336–344.

## **INFOGRAFIA**

- [www.ades.tv](http://www.ades.tv)
- [www.aulados.net/Botanica/Curso\\_Botanica/Algas\\_pardas/7\\_Phaeophyta\\_diaapos.pdf](http://www.aulados.net/Botanica/Curso_Botanica/Algas_pardas/7_Phaeophyta_diaapos.pdf) -
- [www.aulados.net](http://www.aulados.net).Botanica 2008.
- <http://www.biodiesel.com.ar>

- [www.schott.com/duran](http://www.schott.com/duran)
- <http://es.wikipedia.org/wiki/Chlorella>

# **ANEXO: 1**

## ANEXO 1 : CEPAS

TABLE 1. Algas mass culture productivity (gr. (dry weight) · m<sup>-2</sup> · d<sup>-1</sup>). Annual averages are given if available. / numbers have been approached to their nearest integer.

País	Alga	Producción	Referencia
<i>Cyanophyceae</i>			
España	<i>Anabaena variabilis</i>	13	GARCIA FONTES et al. (1982)
URSS	<i>A. variabilis</i>	4- 7	GRAMOV & PINEVICH (1972)
USA	<i>Anabaenopsis</i> sp.	7-15	WEISSMAN et al. (1978)
India	<i>Spirulina platensis</i>	8-12	BECKER & VENKATARAMAN (1982)
Israel	<i>S. platensis</i>	10-50	RICHMOND & VONSHAK (1986)
México	<i>S. platensis</i>	10-15	SANTILLAN (1982)
URSS	<i>S. platensis</i>	9-20	GROMOV & PINEVICH (1972)
USA	<i>S. platensis</i>	14-21	BEDELL (1985)
Japón	<i>Tolypothrix tenuis</i>	6- 8	WATANABE et al. (1959)
<i>Chlorophyceae</i>			
Japón	<i>Chlorella</i> sp.	21-26	TSUKADA et al. (1977)
Kuwait	<i>Chlorella sorokiniana</i>	8-22	PROKOP & FEKRI (1984)
Taiwan	<i>Chlorella</i> sp.	20-40	SOONG (1980)
URSS	<i>Chlorella</i> sp.	15-25	DODGE (1976)
España	Chlorococcales	33	VELASCO et al. (1975)
Filipinas	Chlorococcales	3- 5	RODULFO et al. (1982)
Israel	Chlorococcales	16-24	SHELEF et al. (1978)
Singapur	Chlorococcales	15-20	GOH (1986)
URSS	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	20-40	SPECTOROVA et al. (1982)
USA	<i>D. primolecta</i>	12	THOMAS et al. (1986b)
USA	<i>Micractinium</i> sp.	7-20	BENEMANN et al. (1978)
Alemania Occidental	<i>Scenedesmus obliquus</i>	10-15	SOEDER (1976)

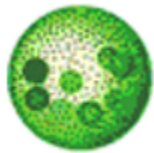


Pais	Alga	Producción	Referencia
Bulgaria	<i>S. obliquus</i>	17-20	DILOV et al. (1985)
Checoslovaquia	<i>S. obliquus</i>	12-16	VENDLOVA (1969)
Egipto	<i>S. obliquus</i>	12-16	EL-FOULY et al. (1984)
India	<i>S. obliquus</i>	15-20	BECKER & VENKATARAMAN (1982)
Perú	<i>S. obliquus</i>	15-25	HEUSSLER et al. (1978a)
Polonia	<i>S. obliquus</i>	10-14	VENDLOVA (1969)
Rumania	<i>S. obliquus</i>	18-25	VENDLOVA (1969)
Tailandia	<i>S. obliquus</i>	12-17	PAYER et al. (1978)
<i>Diatomophyceae</i>			
España	<i>Chaetoceros gracilis</i>	7-17	LUBIAN (1986)
Inglaterra	<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	7-13	ANSELL et al. (1963)
USA	<i>P. tricorutum</i>	22	THOMAS et al. (1984a)
USA	Cultivo mixto	13-25	GOLDMAN et al. (1975)
<i>Euglenophyceae</i>			
Italia	<i>Euglena</i> sp.	17-22	BALLONI et al. (1980)
<i>Eustigmatophyceae</i>			
España	<i>Nannochloropsis</i> sp.	5-39	LUBIAN (1986)
USA	<i>Isochrysis</i> sp.	48	THOMAS et al. (1984c)
<i>Phaeophyceae</i>			
USA	<i>Sargassum muticum</i>	55	GELLENBECK & CHAPMAN (1986)
<i>Prasinophyceae</i>			
Canadá	<i>Chondrus crispus</i>	30	SHARP (1987)

Pais	Alga	Producción	Referencia
Filipinas	<i>Eucheuma striatum</i>	4	PARKER (1974)
Sudáfrica	<i>Gelidium pristoides</i>	2,5-5	CARTER & SIMONS (1987)
USA	<i>Gracilaria foliifera</i>	18-44	LAPOINTE & RYTHER (1979)
China	<i>G. sjostedtii</i>	10-27	LI REN et al. (1984)
USA	<i>G. tikvahiae</i>	22-25	HANISAK & RYTHER (1986)
Taiwan	<i>G. verrucosa</i>	4-12	YOUNG MENG (1981)
USA	<i>G. verrucosa</i>	6- 9	DAUGHERTY & BIRD (1988)
USA	<i>Hypnea musciformis</i>	18	LAPOINTE et al. (1976)
Canadá	<i>Palmaria palmata</i>	10-28	MORGAN et al. (1980)
Francia	<i>Porphyridium cruentum</i>	4- 8	THEPENIER et al. (1988)
<i>Xanthophyceae</i>			
USA	<i>Monallantus salina</i>	14	THOMAS et al. (1984c)

Tomado de: UNA REVISION SOBRE LA BIOTECNOLOGIA DE LAS ALGAS Miguel Álvarez Cobelas y Tomas Gallardo, departamento de Biología vegetal, Facultad de Biología Universidad Complutense Madrid.

# **ANEXO 2**



[www.sbs.utexas.edu/utex/mediaGrowth.aspx](http://www.sbs.utexas.edu/utex/mediaGrowth.aspx)

## Notes on Growth Media

Growth media are prepared according to recipes, put into appropriate culture vessels and stored until needed. All culture vessels are glass and reusable. Before use, they are cleaned with detergent and rinsed thoroughly with hot and cold distilled water. Agar cultures are grown in 20 x 125 mm screw-capped test tubes containing 10 mL of medium. Axenic liquid cultures are grown in metal-capped 18 x 150 mm test tubes containing 20 mL of medium. Soilwater and soil-seawater cultures are grown in half-pint bottles (200 mL) fitted with glass covers from small petri dishes. Most macroalgae are grown in 100 mm diameter x 80 mm deep culture dishes. All other liquid cultures are grown in metal-capped 175 mL Erlenmeyer flasks.

After autoclaving, the prepared media are refrigerated. Tubed agar media are kept in the refrigerator unslanted, and are melted, slanted and cooled to room temperature on the day of use. Liquid media are warmed to room temperature one day before use.

At the time cultures are sent to investigators, the name of the medium in which the culture is maintained is indicated on the culture tube label. It must be emphasized that the maintenance medium is not always the best medium for the cultivation of the alga. In order to reduce the number of different media required for the entire operation, and in some cases to decrease the time intervals between transfers, some cultures are maintained on media which are adequate, but not necessarily the best for growth. Investigators are urged to consult the available literature for alternative media if optimum growth is an important consideration in their research.

### General Maintenance Conditions

Although achieving the growth of large quantities of algae in a short time is desired by many who receive UTEX cultures, such goals are not consistent with the needs of the Collection. On the contrary, it is more efficient for us to grow small cultures slowly, so as to minimize the use of space, materials and staff work, all of which contribute to cost. With this thought in mind, the following account of how UTEX cultures are maintained is not to be interpreted as our recommendations for the best growth conditions and media to achieve optimal growth rates and large quantities of algae. Such information must be acquired in other literature or through careful experimentation. Those who receive cultures are encouraged to duplicate within reason the conditions used in the Collection, when handling newly acquired cultures, to reduce the chance of losing the culture. After a stock culture is established, subcultures may be used for testing other conditions.

### The Environment in the Room

<i>Temperature:</i>		20°		C
<i>Light source:</i>	cool-white		fluorescent	lamps
<i>Intensity:</i>	3200		lux	(maximum)
<i>Periodicity:</i>	12/12		h	L/D

Set up: with the exception of *Volvox*, all cultures are maintained in a single room having approximately 500 square feet of floor space. The temperature of the room is kept at  $20 \pm 1^\circ \text{C}$  using a chilled water cooling system and air circulator. The relative humidity is kept at  $50 \pm 1\%$ . Racks of metal shelves having no lights are placed on the north wall near three windows, and cultures placed on these shelves may benefit from this natural light. The remaining cultures are maintained in five incubators located on the perimeter of the remaining walls. The temperature in four of the incubators is kept at  $20 \pm 1^\circ \text{C}$ . The fifth incubator is kept at  $25 \pm 1^\circ \text{C}$  and maintains Dasycladales and some tropical chlorophytes. Four workstations, one each parallel to the east and west walls, and two parallel to the north wall, are equipped with a pair of 4 foot cool-white fluorescent light tubes mounted approximately 10 inches above each of three shelves. During the life of the cultures, none are aerated or

agitated.



### Culture Production

The serial transfer of all agar cultures into new medium is performed in a transfer unit of the small room type (Starr 1973). Transfers are made with metal bacteriological loops appropriately sterilized with the flame of a Bunsen burner. Culture tubes are also flamed before and after they are entered with the loop. The serial transfer of all axenic liquid cultures is made in the transfer unit also. An aliquot of the culture suspension is inoculated into fresh medium using a Pasteur pipet and 1 mL bulb. Flaming is not necessary. All xenic cultures are transferred in open work areas of the culture rooms.

Newly transferred cultures are usually placed on a lighted shelf and allowed to grow or reproduce asexually until the desired size or population density is achieved. Then the culture is placed on one of the shelves away from the lights until it is needed. This initial growth period usually takes one to two weeks, but more or less time may be required. The frequency at which cultures are transferred varies from two weeks to nine months and is determined through experience and close observation of the cultures.

Of note are cultures which are never placed under bright lights, e.g., the colorless strains of the euglenoids (*Astasia*, *Menoidium*, *Rhabdomonas* and some *Euglena* strains), the greens (*Polytoma*, *Polytomella* and *Prototheca*); heterotrophs (*Ochromonas*, *Poterioochromonas* and *Chlorella* cultures 1663-1671); and other light-sensitive algae, which are adversely affected by high light intensity. All reds except *Porphyridium*, the browns, and the macrophytic marine greens grow well in the dimly lighted areas of the culture room or in front of the windows. However, blue-green algae are especially troublesome, because they may bleach out under high light intensity or otherwise achieve little growth in dimly lighted areas. It has been found that most do well on the lighted shelf when the light intensity is diminished by placing a neutral density filter such as a sheet of white bond paper between the cultures and the lights.

NOTES OF GROWTH MEDIA

Growth media are prepared according to recipes, put into appropriate culture vessels and stored until needed. All culture vessels are glass and reusable. Before use, they are cleaned with detergent and rinsed thoroughly with hot and cold distilled water. Agar cultures are grown in 20 x 125 mm screw-capped test tubes containing 10 mL of medium. Axenic liquid cultures are grown in metal-capped 18 x 150 mm test tubes containing 20 mL of medium. Soilwater and soil-seawater cultures are grown in half-pint bottles (200 mL) fitted with glass covers from small petri dishes. Most macroalgae are grown in 100 mm diameter x 80 mm deep culture dishes. All other liquid cultures are grown in metal-capped 175 mL Erlenmeyer flasks.

After autoclaving, the prepared media are refrigerated. Tubed agar media are kept in the refrigerator unslanted, and are melted, slanted and cooled to room temperature on the day of use. Liquid media are warmed to room temperature one day before use.

At the time cultures are sent to investigators, the name of the medium in which the culture is maintained is indicated on the culture tube label. It must be emphasized that the maintenance medium is not always the best medium for the cultivation of the alga. In order to reduce the number of different media required for the entire operation, and in some cases to decrease the time intervals between transfers, some cultures are maintained on media which are adequate, but not necessarily the best for growth. Investigators are urged to consult the available literature for alternative media if optimum growth is an important consideration in their research.

### **Bristol Medium**

#### **Directions**

H.C. Bold's modification of Bristol's recipe (Bold 1949). General purpose freshwater medium and as bristol's solution, an essential component of other media--see Bold 1NV, Bold 3N, Bristol-NaCl, LDM, Proteose, Soil extract, and Trebouxia.

- For 1 L Total
1. To approximately 900 mL of dH<sub>2</sub>O add each of the components in the order specified while stirring continuously.
  2. Bring total volume to 1 L with dH<sub>2</sub>O.
  - \*For 1.5% agar medium add 15 g of agar into the flask; do not mix. Cover and autoclave medium.
  4. Store at refrigerator temperature.

#	Component	Amount	Stock	Solution Final
---	-----------	--------	-------	----------------

			Concentration	Concentration
1	NaNO <sub>3</sub>	10 mL/L	10 g/400mL dH <sub>2</sub> O	2.94 mM
2	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	10 mL/L	1 g/400mL dH <sub>2</sub> O	0.17 mM
3	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	10 mL/L	3 g/400mL dH <sub>2</sub> O	0.3 mM
4	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10 mL/L	3 g/400mL dH <sub>2</sub> O	0.43 mM
5	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	10 mL/L	7 g/400mL dH <sub>2</sub> O	1.29 mM
6	NaCl	10 mL/L	1 g/400mL dH <sub>2</sub> O	0.43 mM

### **Taxonomic Scope of the Strains in the Culture Collection of Algae**

No simple definition can be applied to all organisms that are generally recognized as algae while excluding all organisms that do not appear to be algae. A loose and rather widely recognized definition is as follows: Algae are oxygenic photosynthetic organisms that do not possess a highly differentiated vascular system nor multicellular sterile tissues surrounding their gametes. Stated in slightly expanded form, they are typified by the following characters:

- Algae generally have the ability to perform photosynthesis with the production of molecular oxygen, which is always associated with the presence of chlorophyll a.
- Algae generally do not have specialized transport tissues consisting of interconnected cells that move nutrients and metabolites among different sites within the organism.
- Algae that reproduce sexually produce gametes that generally are not surrounded by specialized protective multicellular parental tissue.

This description distinguishes algae from most plants, animals, fungi, nonphotosynthetic protists and nonoxygenic prokaryotes. It is a practical definition for many ecological and physiological considerations, and is convenient for broad taxonomic identifications. Yet, it has very little phylogenetic (evolutionary) relevance.

The Culture Collection of Algae at the University of Texas at Austin (UTEX) generally adheres to the loose definition given above in determining which strains of living organisms are appropriate to maintain in the Collection. However, a few strains in the Collection fall outside of these boundaries. For example, certain colorless, nonphotosynthetic strains are so similar morphologically and genetically to typical algae that they are universally recognized as belonging to the algae.

## **Taxonomic Designations Within the Algae**

The algae fall into two broad categories: cyanobacteria and eukaryotic algae. The cyanobacteria (also called blue-green algae, blue-green bacteria, chloroxybacteria or cyanophytes) are prokaryotic organisms. The eukaryotic algae represent an extremely diverse assemblage of organisms that do not form a coherent phylogenetic group (i.e. they are not monophyletic).

Traditionally the algae have been classified according to the rules of botanical nomenclature. Accordingly, the primary groupings are designated as "divisions", secondary groupings as "classes", etc. This system is impractical for prokaryotes and has become virtually intractable for protists (including algae) since the organisms associated with these traditional categories do not form well-defined phylogenetic groups. Most traditional divisions of eukaryotic algae are more closely related to major groups of non-algal protists than to any other algal division. Modern methods of phylogenetic analysis, especially DNA sequence data, are continually altering the ways that algae are classified.

Names and inferred phylogenetic relationships at practically every taxonomic level are in flux for most algal taxa. Thus, it may be impossible to assign names that remain valid over time, or that will be universally accepted even at the time they are assigned. For that reason UTEX does not attempt to determine the most recently assigned names for strains in the Collection. A new strain is accessioned into the Collection only when there is reason to believe that the depositor has correctly identified the strain and designated it with an accurate name based on information available at the time of deposition. The strain is then accessioned under that name. The accession name, along with its corresponding accession number, remains with the strain as long as it is maintained in continuous culture. UTEX personnel do not actively search the literature for revised names, but when UTEX personnel become aware of a name change for a UTEX strain recommended by an established expert, then the new name, along with a reference to the published manuscript describing the change, will be included in the list of cultures. The new name will be listed alphabetically by genus and specific epithet, designated as "a.k.a." and cross-referenced to the accession name. The a.k.a. (aka-nym) designation means that the name is believed correspond to the strain in the Collection listed under a different accessioning name.

A unique accession number is assigned to each separate isolate accessioned into the Collection. Thus, no two isolates in UTEX are ever assigned the same number, and no isolate is assigned more than one number. Even when an accessioned strain has been lost for many years, its accession number is not re-assigned to a different isolate.



## **Replacement of UTEX Strains That Have Been Lost to the Collection**

On occasion a strain that previously had been accessioned is lost. Under most circumstances the accession number is then retired, and is never used again for a UTEX strain. Any other accessioned isolate, even it appears identical to the lost strain and is isolated from the same location as was the lost strain, is assigned a different accession number.

When the same isolate prepared as a unialgal culture is deposited in UTEX and also in another collection, then a replacement culture may be requested from the other collection if the strain is lost to UTEX. Under this circumstance the acquired culture will be assigned the same accession number as the culture originally deposited in UTEX. The primary name of the strain will be assigned the name under which it is listed in the other collection, which may not be the same as the name of under which the strain was first accessioned by UTEX.

## **Verification of the Taxonomic Identity of UTEX Strains**

Only unialgal strains are accessioned into the collection, and only when identified and named by an established authority. UTEX makes no guarantee regarding the correct and most recent names of strains held in the Collection. Nor do UTEX personnel systematically examine strains in the Collection to assure their correct taxonomic identity.

In order to maintain healthy cultures many hundreds algal transfers are made every month. Although internal checks eliminate nearly all mistakes, on rare occasion a culture is mislabeled or is contaminated with another strain. Any culture that appears to be mislabeled is immediately discarded. Cultures of uncertain strain identity are discarded even if that means the permanent loss of an accessioned UTEX strain.

Copyright 2005 UTEX and University of Texas at Austin  
LAST UPDATED MARCH 23, 2006

### **edible algae**

*Chlorella* is a single-celled freshwater alga that contains a high concentration of chlorophyll and protein. *Chlorella* is well known for its ability to detoxify heavy metals and pesticides. It is used commercially as a food supplement in Japan, because of its high nutrient value and reported ability to strengthen the immune system.

# ANEXO 3

## **DETERMINACIÓN DE PARAMETROS OPTIMOS DE CRECIMIENTO DE LA MICROALGA *Chlorella vulgaris*.**

**Andrés Humberto Mora Calderón <sup>a</sup>**

**Universidad de La Sabana, Facultad de Ingeniería**

**Programas de Ingeniería de Producción Agroindustrial e Ingeniería Industrial**

**Palabras Claves: Microalga, cinética de crecimiento, fotoperiodo, actividad metabólica, pH**

**Key Words: Microalgae, growth kinetics, light cycle, metabolic activity, pH**

### **RESUMEN**

*La producción de algas y la obtención de sus productos derivados ha sido tal vez uno de los campos menos explorados de la Biotecnología en Colombia. A nivel mundial, ya no solo se ven las algas, específicamente las microalgas, como las potenciales despensas mundiales de proteína, sino que se ha avanzado con grandes éxitos en la obtención de productos activos tanto para las industrias farmacéutica y cosmética, así como en la obtención de suplementos alimenticios y nutricionales de consumo humano y animal. Por otro lado, el cultivo de Microalgas se presenta como una de las mejores alternativas para la solución de problemas mundiales como el calentamiento global, ya que sus propiedades fotosintéticas las llevan a ser captadores de CO<sub>2</sub> en altas concentraciones. En el presente estudio se estudiaron y definieron los parámetros óptimos de crecimiento tomando como base el cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris*. La microalga se sometió a tres fotoperiodos de 24, 12 y 6 horas de luz, en las que se realizaron recuentos celulares por medio de Cámara de Neubauer y se tomaron los valores de pH. En base a los datos obtenidos se pudo determinar que la microalga *Chlorella vulgaris* aumenta su velocidad de crecimiento cuando el inoculo con el cual se siembra el medio esta metabólicamente activo; el pH del medio está entre valores de 6 y 8; y los fotoperiodos están compuestos por cortos periodos de oscuridad o luz continua.*

### **ASBTRACT**

*Microalgae production and obtaining of derivate products have been probably one of the less studied topics in Colombia. Worldwide algae and specifically, microalgae, are not just seen as potential protein source, but it has moved on, with total success obtaining active products for pharmaceutical and cosmetic industries , also obtaining food and nutritional supplements for human and animal consuming. On the other hand, microalgae culturing is one of the best alternatives for worldwide problems like global warming, because*

*their photosynthetic properties make them CO<sub>2</sub> collectors, in high concentrations. In the present study there were determined the optimum growth parameters taking as a base Chlorella vulgaris cultures. The microalga was exposed to three light cycles of 24, 12 and 6 hours of light, in which cell counts were made by Neubauer Chamber and pH values data were taken. Based on these data, it could be determined that Chlorella vulgaris increased its growth rate when the inoculum is metabolically active; pH value is between 6 or 8; and light cycles are composed by longer or continuous light periods*

<sup>a</sup> Estudiante Programa Doble Titulación en Ingeniería Industrial e Ingeniería de Producción Agroindustrial, Universidad de La Sabana, e\_mail:andres.mora2@unisabana.edu.co

## INTRODUCCIÓN:

Gracias a su composición bioquímica, debido, básicamente a sus altos contenidos proteicos, potenciados por el hecho de poseer un buen balance de aminoácidos y bajos valores de ácidos nucleicos (Abalde, Fidalgo, Torres y Herrero. 1995), las microalgas, son objeto de estudio en diversos grupos de investigación alrededor del mundo. De otra parte se ha visto como estos microorganismos fotosintéticos son capaces de producir otros compuestos bioquímicos de alto interés científico e industrial, como lípidos, polisacáridos, pigmentos, entre otros.

Los estudios desarrollados han permitido determinar cómo influyen los diversos factores ambientales (luz<sup>1</sup>, temperatura, nivel de CO<sub>2</sub>, etc.) en el crecimiento y composición bioquímica de las microalgas, en específico sobre la microalga *Chlorella vulgaris*

Sorokin y Krauss, en 1961, analizaron el efecto que tenía la luz sobre el crecimiento de *C. vulgaris*<sup>2</sup>. De la misma forma en Venezuela en la Facultad de Ciencias de La Universidad del Zulia se analizó la respuesta a la variación de diversos factores que se ven involucrados en el cultivo de *Chlorella sorkiana*.<sup>3</sup> Por su parte un grupo de Investigadores del Centro de Investigaciones de Energía Solar de Cuba, determinaron la composición bioquímica de la biomasa obtenida de cultivos de la microalga *C. vulgaris*<sup>4</sup>

Otra serie de estudios se han enfocado en el área de biotecnología. Permitiendo el desarrollo de diversos equipos para el cultivo a escala industrial de microalgas, como son los fotobiorreactores, en países como Alemania, Brasil, España e Israel<sup>5</sup>.

---

Sorokin, C., & Krauss, R. (1961). THE EFFECTS OF LIGHT INTENSITY ON THE GROWTH RATES OF GREEN ALGAE. *Plant Physiology*, 109 - 113  
Ibid.

R. Moronta, R. M. (2006). Respuesta de la microalga *Chlorella sorokiniana* al pH, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas. *Revista Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia*, 23, 27-41.

Morris, Quintana, Almarales, & Hernandez. (1999). COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA Y EVALUACIÓN DE LA CALIDAD PROTEICA DE LA BIOMASA AUTOTRÓFICA DE *Chlorella vulgaris*. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 13 (2), 123-128

Richmond, A. (2004). *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford, El Reino Unido: Blackwell Science.

El objetivo de este trabajo es describir la respuesta de la microalga *Chlorella vulgaris*, respecto a su crecimiento, cuando es sometida a tres fotoperiodos (24 horas, 12 horas y 6 horas luz) en condiciones ambientales locales controladas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Activación y purificación de la cepa:

La cepa de *Chlorella vulgaris* (Figura 1) utilizada fue donada del IGV GmbH de Alemania. Esta cepa fue cultivada en medio Bristol, recomendado por el Instituto CIBNOR de México, para el cultivo de *Chlorella sp.*, el cual tiene la siguiente composición, en g/l: 0,25 NaNO<sub>3</sub>, 0,025 CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0,075 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,075 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,175 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,025 NaCl, 0,0045 Na<sub>2</sub>EDTA·2H<sub>2</sub>O, 5,82X10<sup>-4</sup>, FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, 2,46X10<sup>-4</sup> MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 3X10<sup>-5</sup> ZnCl<sub>2</sub>, 1,2X10<sup>-5</sup> CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 2,4X10<sup>-5</sup> Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 1,75X10<sup>-5</sup> Tiamina, 2,5X10<sup>-5</sup> Biotina.



Figura 1. Cepa de *Chlorella vulgaris* utilizada

La cepa fue cultivada, inicialmente, en tubos de ensayo con tapa rosca, en volúmenes de medio de 10 ml, con el fin de realizar una reactivación y acondicionamiento a las condiciones de cultivo a las que sería sometida, ya que al inicio del estudio la cepa se encontraba conservada en tubos con agar, en cultivos pico de flauta. Este proceso tomó 20 días al cabo de los cuales se observó el crecimiento y la morfología de la cepa, como se puede observar en la figura 1.

Posteriormente la cepa fue purificada con Penicilina Cloranfenicol para reducir la población bacteriana. Para esto se tomaron dos tubos de ensayo, a los cuales se agregó 10 ml de medio de cultivo y 10 y 20 µl del antibiótico, para luego ser inoculados con 1 ml de medio que contenía la cepa de *C. vulgaris*. Estos tubos fueron dejados en incubación por un periodo de 48 horas al cabo del cual se realizó una nueva inoculación, tomando 1 ml del medio inoculado y vertiéndolo en tubos de ensayo con 10 ml de medio fresco. Estos tubos fueron incubados por un periodo de 20 días.

### Control del pH e de la inyección de CO<sub>2</sub>:

Para este procedimiento se utilizó un potenciómetro de campo, con el cual se tomó el pH a aproximadamente 4 ml de medio.

Estas medidas se realizaron cada 2 días. En los primeros dos montajes el valor que alcanzó el pH del medio, fue tomado al finalizar el cultivo, a diferencia del tercer montaje donde se controló a lo largo de todo el periodo de incubación.

Con los datos de pH, que se obtuvieron en el tercer montaje se graficaron curvas del valor del pH del medio respecto al tiempo.



Figura 2. Incubación de *C. vulgaris* con CO<sub>2</sub> al 99%

#### **Toma de muestras, recuentos celulares, y cálculo de la cinética de crecimiento:**

Para determinar el crecimiento de la microalga se utilizó la metodología de Visual Haemocytometry<sup>6</sup>, para recuentos celulares de glóbulos rojos y blancos, en cámara de Neubauer, recomendada por la OMS, ya que la morfología de *C. vulgaris* se asemeja a la de un glóbulo rojo.

Los conteos se realizaron tomando aproximadamente 1 ml de muestra de medio con una población desconocida, en microtubos eppendorf. Estas muestras se diluyen según se observe la concentración del medio en agua destilada.

Paralelamente se prepara la cámara de Neubauer, eliminando cualquier partícula que pueda influir en el conteo.

De la muestra diluida se toman entre 20 y 100 µl con micropipeta, los cuales son transferidos a las áreas de conteo, llenándolas con la muestra que se va a contar.

Se cuantifica el número de células encontradas en las regiones que se cuente la población total en células/ml se calcula por medio de la siguiente ecuación<sup>7</sup>:

$$cel/ml = n \times (D/A) \times 10 \times 10^3 \quad (1)$$

WHO. (27 de Abril de 2006). *Guidelines on Standard Operating Procedures for HAEMATOLOGY -Visual Haemocytometry*. (W. H. Organization, Editor) Recuperado el 1 de Junio de 2008, de [http://www.searo.who.int/en/Section10/Section17/Section53/Section480\\_1731.htm](http://www.searo.who.int/en/Section10/Section17/Section53/Section480_1731.htm)

Ibid.

Donde:

n= Número de células cuantificadas

D= Dilución (Ej: Dilución 1:20 → D=21)

A= Área de la región de conteo

10 = Factor de corrección para convertir el área en volumen (μl)

10<sup>3</sup>= Factor de corrección para convertir μl a ml

Los conteos se realizaron cada dos días obteniendo de esta forma las respectivas curvas de crecimiento, para cada replica.

Con estos datos y las curvas obtenidas se procedió a llevar a cabo el cálculo de los parámetros cinéticos de crecimiento, como son tiempo de generación, velocidad instantánea de crecimiento y constante de velocidad de crecimiento, los cuales fueron calculados en la fase exponencial del crecimiento de la microalga, en cada muestra

Para el cálculo de los parámetros cinéticos se utilizan las siguientes ecuaciones:

$$n = \frac{\log(X) - \log(X_0)}{0,301} \quad (2)$$

$$g = \frac{t}{n} \quad (3)$$

$$\ln X = \ln X_0 + \mu(t) \quad (4)$$

$$\mu = \frac{0,693}{g} \quad (5)$$

$$k = \frac{1}{g} \quad (6)$$

Donde:

**X**= Población al tiempo t

**X<sub>0</sub>**= Población al tiempo 0

**t**=Tiempo transcurrido al medir el crecimiento



$\mu$ = constante de velocidad de crecimiento instantáneo

$g$ = tiempo de generación, es el tiempo que se emplea para generar una duplicación celular.

$k$ = Constante de crecimiento para cultivos cerrados.

$n$ = numero de generaciones que ocurrieron en el transcurso del tiempo

**0,301**= Constante que equivale al Log2. Esta contante proviene al despejar  $n$  de la ecuación  $X=X_02^n$

**0,693**= Constante que equivale al Ln2. Esta constante proviene al despejar  $g$  de la ecuación

$$2 = e^{\mu g}$$

### **Calculo del consumo de Nitrógeno:**

Ya que el nitrógeno es uno de los principales componentes de las proteínas se optó por analizar de manera teórica, como *C. vulgaris* toma del medio este compuesto y lo asimila.

Este cálculo se llevo a cabo tomando como base de cálculo una célula bacteriana la cual se comparó con una célula de *C. vulgaris* y se hizo la relación peso – diámetro (Klotz, Bernadette, Junio 28 de 2008, Transmisión oral).

Teniendo en cuenta este peso teórico unicelular, que el porcentaje total de nitrógeno presente en la microalga es de 7,13% (Morris, Quitan, Almaris y Hernández. 1999) y realizando un balance de materia con el que se determinó el porcentaje de Nitrógeno presente en el medio al iniciar el cultivo se puede hacer una aproximación del consumo de este compuesto.

### **Diseño experimental y montaje:**

Para llevar a cabo la evaluación de la productividad de la microalga *C. vulgaris*, se procedió a cultivar la cepa purificada en tres fotoperiodos de 24 horas, 12 horas y 6 horas de luz, tomando como fuente de luz tubos de neón incandescentes.

Para este procedimiento se llevaron a cabo tres montajes, en los cuales se prepararon 18 litros de medio para cada montaje, los cuales fueron distribuidos en volúmenes de 2 litros, en 9 recipientes de vidrio, transparente, a los cuales se les introdujo una manguera siliconada, estéril, a la cual en uno de sus extremos

se le adaptó una tee en polipropileno blanco, a la cual, a su vez le fueron adaptadas dos puntas para micropipeta de 10 – 100 µl.

A los recipientes se les agregó 20 ml (20% v/v) de inóculo con una población del orden de  $10^6$  células/ml, para obtener una población inicial en los 2 litros de medio del orden de  $10^4$  células/ml.

Para las cámaras de incubación que correspondían a los fotoperiodos de 12 y 6 horas luz, se adaptaron temporizadores análogos marca General Electric, con los cuales se programaron los ciclos de encendido y apagado de las lámparas.

Para garantizar oscuridad total en los fotoperiodos de 12 y 6 horas, las cámaras de incubación fueron cubiertas con plástico negro. Además para obtener un rango de temperatura uniforme, las tres cámaras fueron cubiertas con plástico vinilo transparente y las superficies de las mismas fueron cubiertas con papel aluminio para garantizar que una mayor cantidad de luz fuera utilizada por la microalga.

Respecto a la aireación, los recipientes fueron conectados a una red de gases elaborada con manguera para gases de ¼" de diámetro conectada con tees y codos en polipropileno. Esta red se conectó inicialmente a un tanque de CO<sub>2</sub> (primer montaje), observándose un flujo uniforme en las tres cámaras de incubación. Para el segundo y tercer montaje esta red fue conectada a motores de acuario y al tanque de CO<sub>2</sub> (Tercer montaje)

## **RESULTADOS Y DISCUSION**

### **Preparación del inóculo y población inicial de los cultivos:**

En cada montaje el inóculo que se utilizó tenía una población inicial que se encontraba en  $6,92 \times 10^7$  y  $1,02 \times 10^7$  células/ml, para los montajes 2 y 3, respectivamente.

Al realizar la dilución para obtener un inóculo con una población del orden de  $10^6$  células/ml, las poblaciones de los inóculos quedaron en  $1,16 \times 10^6$  y  $1,18 \times 10^6$  células/ml, para los montajes 2 y 3, respectivamente. De estos inóculos diluidos se tomaron 20 ml y se inocularon en medios de 2 litros, con lo cual se obtuvieron poblaciones iniciales de  $1,16 \times 10^4$  y  $1,18 \times 10^4$  células/ml, respectivamente.

### **Cinética del crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris*:**

Con los datos de población obtenidos en los recuentos celulares se realizaron las respectivas curvas de crecimiento para el segundo y tercer montaje, ya que en el primero no se presentó crecimiento alguno (Figura 3).



*Figura 3. Réplicas incubadas por un periodo de una semana con inyección de CO<sub>2</sub> al 99%*

En el anexo 3 se muestran las curvas de crecimiento para el segundo y el tercer montaje.

Observando estas graficas se evidencia una mayor velocidad de crecimiento en las muestras del tercer montaje comparadas con las muestras correspondientes al segundo montaje. Esta diferencia se da ya que en el segundo montaje el inoculo que se utilizó se encontraba expuesto a oscuridad total, por un periodo de tiempo aproximado de 1 mes. En contraste, en el tercer montaje se tomo un inoculo que se encontraba expuesto a un fotoperiodo de 24 horas luz por un periodo de incubación de cinco días.

Por lo tanto se puede deducir que al tener un inóculo con una actividad metabólica alta, la microalga crece en un menor intervalo de tiempo (Tabla 2), comparado con inóculos que se encuentran con metabolismo inactivo, en los cuales la microalga debe tener un periodo de adaptación.

De otro lado al analizar la tabla 1, en donde se muestran los datos cinéticos de crecimiento para los dos montajes en cada fotoperiodo en la fase exponencial, se puede inferir: que en la etapa de crecimiento exponencial se dan en promedio de 7 a 9 generaciones, obteniendo, en promedio, una duplicación en el valor de la velocidad de crecimiento, de un montaje a otro.

Montaje 2					
Fotoperiodo	N	g (días)	$\mu$ (días <sup>-1</sup> )	k (días <sup>-1</sup> )	F. Exp (días)
24 Horas Luz	9,91±1,79	0,8±0,09	0,87±0,09	1,26±0,13	8±2,26
12 Horas Luz	7,83±1,61	1,11±0,33	0,65±0,18	0,94±0,26	8,67±2,61
6 Horas Luz	8,53±1,25	3,61±0,26	0,19±0,01	0,28±0,02	30,67±3,97
Montaje 3					
Fotoperiodo	N	g (días)	$\mu$ (días <sup>-1</sup> )	k (días <sup>-1</sup> )	F. Exp (días)
24 Horas Luz	9,01±0,35	0,44±0,02	1,56±0,06	2,25±0,09	4
12 Horas Luz	7,11±0,92	0,74±0,1	0,94±0,13	1,36±0,19	5,33±1,31
6 Horas Luz	7,12±2,58	1,29±0,14	0,54±0,06	0,78±0,09	8,33±1,73

Tabla 1. Datos cinéticos del crecimiento de *C. vulgaris* en los dos montajes realizados (En el tercer montaje no se obtuvieron datos de población)

### Efecto de la luz:

Los fotoperiodos de luz también tienen una gran influencia en lo que respecta a la cinética de crecimiento de *C. vulgaris*, ya que el crecimiento de las microalgas es diferente según el nivel de saturación de luz al que son expuestas. (Sorokin y Krauss, 1961). De esta forma se puede asegurar que en la medida que la microalga se exponga a periodos más largos de luz, esta crecerá con

una velocidad mayor, ya que el número de fotones que podrán ser absorbidos por cada célula será mayor. Sin embargo se debe tener en cuenta que a medida que el cultivo crece las células generan sombra entre ellas mismas lo cual reduce la cantidad de luz que una célula es capaz de absorber.

### Efecto del pH:

El pH del medio de cultivo es un parámetro muy importante ya que determina la solubilidad del dióxido de carbono, de los minerales del medio, la proporción de las distintas especies inorgánicas del carbono en disolución ( $H_2CO_3$ ,  $HCO_3^-$ ,  $CO_3^{2-}$ ) e influye directamente en el metabolismo de las microalgas.

En el primer montaje, que se llevo a cabo por un periodo de dos semanas, con inyección de  $CO_2$  al 99% (Figura 2), el crecimiento de la microalga se vio inhibido, ya que gran cantidad del  $CO_2$  inyectado se disolvió en el medio causando una acidificación de este. Los valores de pH que se obtuvieron estuvieron entre 4,7 y 5,5 (Tabla 2). Este comportamiento se debe a que en condiciones xénicas, la microalga pierde su viabilidad a pH con valores menores o iguales a 5,9 (Anexo 3), mientras que en el segundo montaje donde la inyección se dio con aire, los valores para pH estuvieron entre 7,5 y 10,5, puesto ya que se tiene una fuente de aire con un porcentaje tan bajo de dióxido de carbono (0.033%), y una alta demanda de  $CO_2$ , se genera que iones  $CO_3^{2-}$  o  $OH^-$  reaccionen con algunas de las sales del medio, alcalinizándolo.

Sánchez Varo, Raquel. Biotecnología de Microalgas, Producción de Carotenos por Dunaliella Salina. Universidad de Sevilla. España. Pág. 20.

R. Moronta, R. M. (2006). Respuesta de la microalga Chlorella sorokiniana al pH, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas. *Revista Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia*, 23, 27-41.

Andersen, R. (2005). *ALGAL CULTURING TECHNIQUES*. San Diego, California, USA: Elsevier.

Para el tercer montaje (mezcla CO<sub>2</sub> aire) se vio que a medida que la microalga llega a su fase estacionaria el pH se incrementa proporcionalmente (Anexo 3). Este fenómeno confirma lo dicho anteriormente, a medida que la densidad celular aumenta la demanda de CO<sub>2</sub> se incrementa, y la disponibilidad de este componente disminuye tomando valores de pH por el rango de 9 y 10.

Sin embargo al comparar el comportamiento del pH en los tres fotoperiodos se observa que al exponer la microalga a una fuente lumínica continua, y dado que el crecimiento se da a una mayor velocidad, esta no logra compensar la poca concentración de CO<sub>2</sub> que se tiene en el medio contra la gran demanda de este gas por parte de la microalga, debido a la alta densidad celular que se tiene en tan poco tiempo.

En contraste en las replicas expuestas a fotoperiodos de 12 y 6 horas se observa, igualmente, un incremento del pH, mas sin embargo este no es tan marcado y tiende a mantenerse en valores de pH neutros lo cual no ocurre con las replicas con iluminación continua. Este comportamiento se da puesto que el metabolismo de la microalga es más lento cuando se expone a ciclos luz-oscuridad, originando que la microalga pueda tener una mejor adaptación a las condiciones ambientales a las cuales es expuesta.

Cabe aclarar que aunque este comportamiento se analizó experimentalmente, no se conto con una cuantificación de los caudales de los gases (Aire-CO<sub>2</sub>) por lo cual este análisis debe ser verificado, teniendo en cuenta estos parámetros.

<b>Muestra</b>	<b>pH montaje 1</b>	<b>pH montaje 2</b>
24 horas M1	5,06	10.15
24 horas M2	5.19	10.50
24 horas M3	5.51	10.30
12 horas M1	4.78	9.04
12 horas M2	4.74	9.02
12 horas M3	4.75	9.18
6 horas M1	4.97	7.54
6 horas M2	4.7	7.60
6 horas M3	4.96	8.6

Tabla 2. pH obtenidos al final del cultivo del primer y segundo montaje

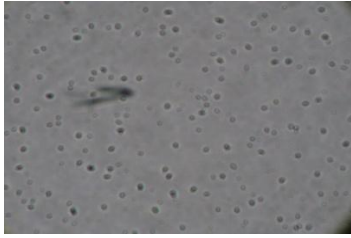


Figura 4. *C. vulgaris* incubada con CO<sub>2</sub> al 99%

### Consumo de Nitrógeno:

La descripción del consumo de nutrientes se realizó en base al nitrógeno ya que por ser un elemento fundamental en la composición de las proteínas, es de interés determinar como la microalga toma este elemento de los compuestos nitrogenados del medio y lo transforma en parte constituyente de su fisiología.

Al llevar a cabo este cálculo, el cual es netamente teórico, se tomó como base de cálculo el peso y diámetro de una célula bacteriana (coco), la cual puede llegar a pesar 1 pg. ( $1 \times 10^{-12}$ g) y medir 10  $\mu$ m ( $1 \times 10^{-6}$ m), en promedio. Comparando estos datos con una célula de *C. vulgaris*, la cual mide entre 4 y 7,5  $\mu$ m, se tomó el promedio del diámetro y se llevó a cabo la comparación entre las dos especies unicelulares (Klotz, Bernadette, Junio 28 de 2008, Transmisión oral) (Tabla 3).

Célula Humana promedio		Célula <i>Chlorella vulgaris</i>	
Peso (ng)	Diámetro ( $\mu$ m)	Peso (ng)	Diámetro ( $\mu$ m)
1	10	0,57	5,75

Tabla 3. Comparación teórica del peso y masa entre una célula humana promedio y una célula de *C. vulgaris*

Teniendo el diámetro promedio, el porcentaje de Nitrógeno en base seca presente en la biomasa de *C. vulgaris* el cual asciende a 7,13%11, la humedad de una pasta de *Chlorella vulgaris* después de ser centrifugada (70%12), las poblaciones obtenidas en los recuentos llevados a cabo y el nivel de nitrógeno

Morris, Quintana, Almarales, & Hernandez. (1999). COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA Y EVALUACIÓN DE LA CALIDAD PROTEICA DE LA BIOMASA AUTOTRÓFICA DE *Chlorella vulgaris*. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 13 (2), 123-128

Romero, & Hernández. (2002). Contenido Proteico y Digestibilidad de la pasta de *Chlorella vulgaris* acidulada. *Revista de Investigación Marina*, 215 - 219.

inicial que se tiene en el medio, se llevó a cabo un balance de materia en el que se obtuvo el nivel de nitrógeno en el medio. Debe aclararse que para realizar este cálculo se omitieron los valores de crecimiento negativo en cada replica, ya que estos datos originaban que se aumentara el nivel del nitrógeno en el medio.

En el anexo 3 se observan las gráficas de la reducción teórica de nitrógeno en el medio en los dos montajes comparado con el crecimiento celular en cada medio.

Con los datos obtenidos se llevó a cabo una regresión cuadrática, obteniendo modelos con ajustes estadísticos entre el 90 y 99%. (Tabla 4)

Obsérvese que en poblaciones entre  $10^4$  y  $10^6$  células/ml la velocidad con que la microalga consume nitrógeno es menor, comparada con el consumo al alcanzar poblaciones superiores a  $10^7$  células/ml, en donde se incrementa drásticamente. Esto ocurre puesto que al alcanzar densidades celulares altas el consumo de este elemento se potencia, ya que un número superior a diez millones de células por mililitro están consumiendo las sales del medio comparado con el número de células que consumen este mismo medio en la fase exponencial.

<b>Montaje 1</b>	
<b>Replica</b>	<b>Ecuación</b>
<b>24 Horas 1</b>	$y = -2 \times 10^{-4}x^2 + 1 \times 10^{-3}x + 8,26 \times 10^{-2}$
<b>24 Horas 2</b>	$y = -5 \times 10^{-5}x^2 + 1 \times 10^{-4}x + 8,31 \times 10^{-2}$
<b>24 Horas 3</b>	$y = -8 \times 10^{-5}x^2 + 3 \times 10^{-4}x + 8,31 \times 10^{-2}$
<b>12 Horas 1</b>	$y = -1 \times 10^{-5}x^2 + 1 \times 10^{-4}x + 8,29 \times 10^{-2}$
<b>12 Horas 2</b>	$y = -3 \times 10^{-5}x^2 + 3 \times 10^{-3}x + 8,26 \times 10^{-2}$
<b>12 Horas 3</b>	$y = -1 \times 10^{-5}x^2 + 6 \times 10^{-5}x + 8,31 \times 10^{-2}$
<b>6 Horas 1</b>	$y = -2 \times 10^{-6}x^2 + 4 \times 10^{-3}x + 8,3 \times 10^{-2}$
<b>6 Horas 2</b>	$y = -3 \times 10^{-6}x^2 + 7 \times 10^{-5}x + 8,29 \times 10^{-2}$
<b>6 Horas 3</b>	$y = -2 \times 10^{-6}x^2 + 3 \times 10^{-5}x + 8,31 \times 10^{-2}$

Montaje 3	
24 Horas 1	$y = -1 \times 10^{-5}x^2 - 3 \times 10^{-4}x + 8,31 \times 10^{-2}$
24 Horas 2	$y = -4 \times 10^{-7}x^2 - 9 \times 10^{-4}x + 8,39 \times 10^{-2}$
24 Horas 3	$y = -2 \times 10^{-5}x^2 - 3 \times 10^{-4}x + 8,31 \times 10^{-2}$
12 Horas 1	$y = -1 \times 10^{-5}x^2 - 6 \times 10^{-5}x + 8,34 \times 10^{-2}$
12 Horas 2	$y = -6 \times 10^{-6}x^2 - 3 \times 10^{-4}x + 8,37 \times 10^{-2}$
12 Horas 3	$y = -2 \times 10^{-6}x^2 - 2 \times 10^{-4}x + 8,35 \times 10^{-2}$
6 Horas 1	$y = -3 \times 10^{-6}x^2 - 2 \times 10^{-5}x + 8,31 \times 10^{-2}$
6 Horas 2	$y = -2 \times 10^{-6}x^2 - 7 \times 10^{-6}x + 8,32 \times 10^{-2}$
6 Horas 3	$y = -3 \times 10^{-6}x^2 - 1 \times 10^{-5}x + 8,32 \times 10^{-2}$

Tabla 4. Modelos matemáticos para el consumo de Nitrógeno

En relación a los modelos matemáticos se obtuvo un modelo genérico como el siguiente

$$y = -\frac{a}{2}x^2 \pm bx + c$$

Donde

**y**=gramos de nitrógeno que se encuentran en el medio en un determinado periodo de tiempo.

**a/2**= parámetro del comportamiento del consumo

**b**= tasa de consumo inicial

**c**= gramos de nitrógeno al iniciar el cultivo

De otro lado en los modelos matemáticos, se puede observar una diferencia significativa, en la constante del segundo término de las ecuaciones, el cual corresponde a la velocidad inicial de consumo de nitrógeno. Para



el segundo montaje este término es positivo, mientras que para el tercer montaje es negativo. Esta diferencia de signos es congruente con el análisis previamente realizado. En el segundo montaje la microalga se encontraba con una actividad metabólica baja, lo cual ocasionaba que esta tuviera que someterse a un periodo de adaptación antes de poder comenzar su fase de crecimiento exponencial. En cambio en el montaje 3, la microalga por encontrarse con metabolismo más activo, al ser inoculada en un medio fresco no necesito adaptarse y de inmediato empezó a tomar nutrientes del medio para su crecimiento.

## CONCLUSIONES

Respecto al comportamiento que se obtuvo en los dos montajes, donde hubo crecimiento celular, se puede concluir que el nivel de actividad metabólica del inóculo con que se siembre el medio de cultivo, influye directamente en la velocidad de crecimiento, ya que de este factor depende si el microorganismo debe adaptarse al medio o inicia con un crecimiento exponencial. De esta forma el incremento en la velocidad de crecimiento de un inóculo con baja actividad metabólica, respecto a un inóculo con un alto metabolismo es, en promedio, del  $101\% \pm 79\%$ , con un nivel de confianza del 95%.

De la misma forma el fotoperiodo al que se exponga la microalga, tiene un efecto en la velocidad de crecimiento. Es así que, a mayor periodo de luz al que se exponga la microalga, mayor será la velocidad de crecimiento.

En relación al pH se puede asegurar que la microalga *C. vulgaris* inhibe su crecimiento a valores de pH menores de 5 y mayores de 9. De otro lado se pueden utilizar valores de pH altos obtenidos en mediciones hechas al medio como un bioindicador que la microalga ha llegado a su fase estacionaria.

Con respecto al consumo de nitrógeno, este permite verificar que tan activo es el metabolismo de la microalga, y si el inóculo necesita una fase de adaptación o su crecimiento inicia en fase exponencial. De la misma forma con el análisis teórico que se realizó se pudo observar que este elemento no es un factor limitante en el crecimiento de *C. vulgaris*, ya que el nivel de nitrógeno se disminuye de un valor inicial de  $8,2 \times 10^2 \text{g}$  a un valor remanente de nitrógeno al final del cultivo, en promedio, de  $7,59 \times 10^{-2} \text{g} \pm 2,79 \times 10^{-3} \text{g}$ .

En general se puede asegurar que sometiendo la microalga a un fotoperiodo de 24 horas, teniendo un inóculo, con una previa activación metabólica y con un pH que tienda a mantenerse neutro, se puede

obtener una mayor, productividad por parte de *C. vulgaris*, comparada con las productividades obtenidas en los otros fotoperiodos

## RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS

Los análisis teóricos deben ser verificados por medios experimentales de tal forma que se puedan realizar correcciones a los modelos matemáticos que surgen y poder acercarlos más a la realidad.

De otra parte hay que tener en cuenta los factores que afectan los resultados que se están analizando como es el caso de los caudales de CO<sub>2</sub> y aire, el sistema de agitación y la intensidad lumínica (cantidad de fotones) a los que la microalga está siendo expuesta.

## BIBLIOGRAFÍA

Andersen, R. (2005). *ALGAL CULTURING TECHNIQUES*. San Diego, California, USA: Elsevier.

Incorporated, I. L. (9 de Marzo de 2007). *The MSDS HyperGlossary: Carbon Dioxide*. (I. L. Incorporated, Editor, & I. L. Incorporated, Productor) Recuperado el 14 de Mayo de 2008, de <http://www.ilpi.com/msds/ref/carbondioxide.html>

Keffer, J., & Kleinheinz, G. (2002). Use of *Chlorella vulgaris* for CO<sub>2</sub> mitigation in a photobiorreactor. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 29, 275-280.

Morris, Quintana, Almarales, & Hernandez. (1999). COMPOSIIÓN BIOQUÍMICA Y EVALUACIÓN DE LA CALIDAD PROTEICA DE LA BIOMASA AUTOTRÓFICA DE *Chlorella vulgaris*. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 13 (2), 123-128.

R. Moronta, R. M. (2006). Respuesta de la microalga *Chlorella sorokiniana* al pH, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas. *Revista Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia*, 23, 27-41.

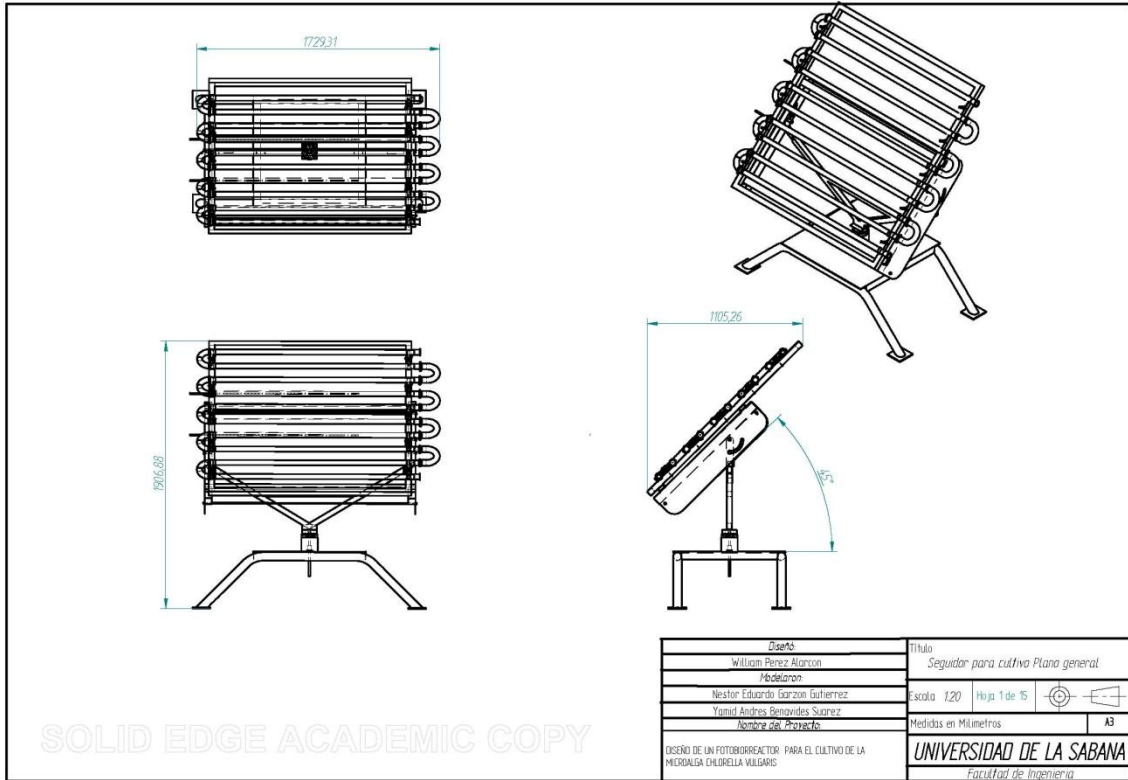
Richmond, A. (2004). *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford, El Reino Unido: Blackwell Science.

Romero, & Hernandez. (2002). Contenido Proteico y Digestibilidad de la pasta de *Chlorella vulgaris* acidulada. *Revista de Investigación Marina*, 215 - 219.

Sorokin, C., & Krauss, R. (1961). THE EFFECTS OF LIGHT INTENSITY ON THE GROWTH RATES OF GREEN ALGAE. *Plant Physiology*, 109 - 113.

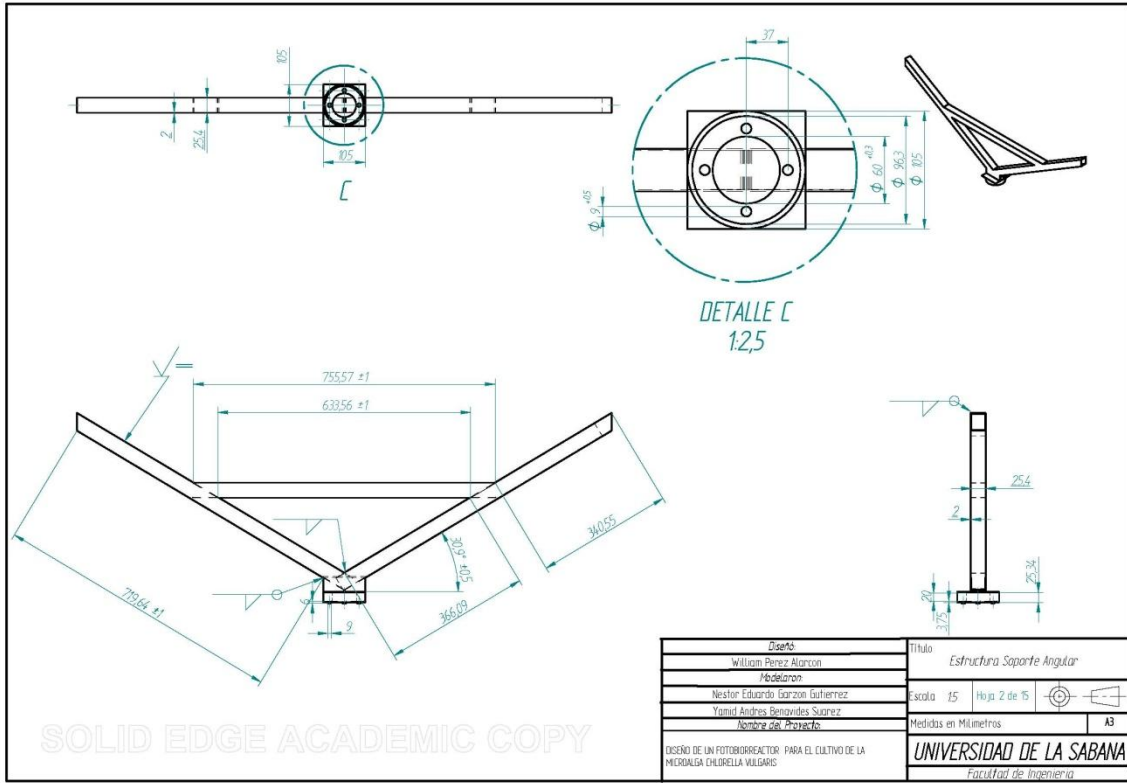
WHO. (27 de Abril de 2006). *Guidelines on Standard Operating Procedures for HAEMATOLOGY -Visual Haemocytometry*. (W. H. Organization, Editor) Recuperado el 1 de Junio de 2008, de [http://www.searo.who.int/en/Section10/Section17/Section53/Section480\\_1731.htm](http://www.searo.who.int/en/Section10/Section17/Section53/Section480_1731.htm)

# ANEXO 4

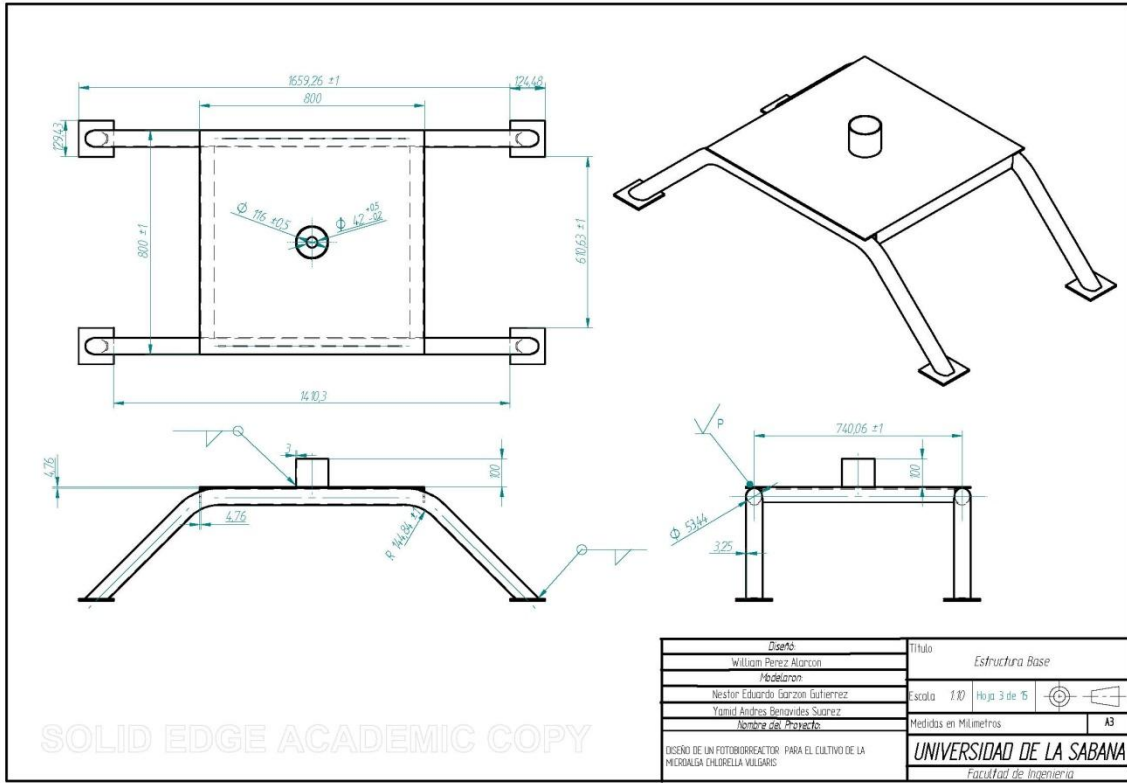


SOLID EDGE ACADEMIC COPY

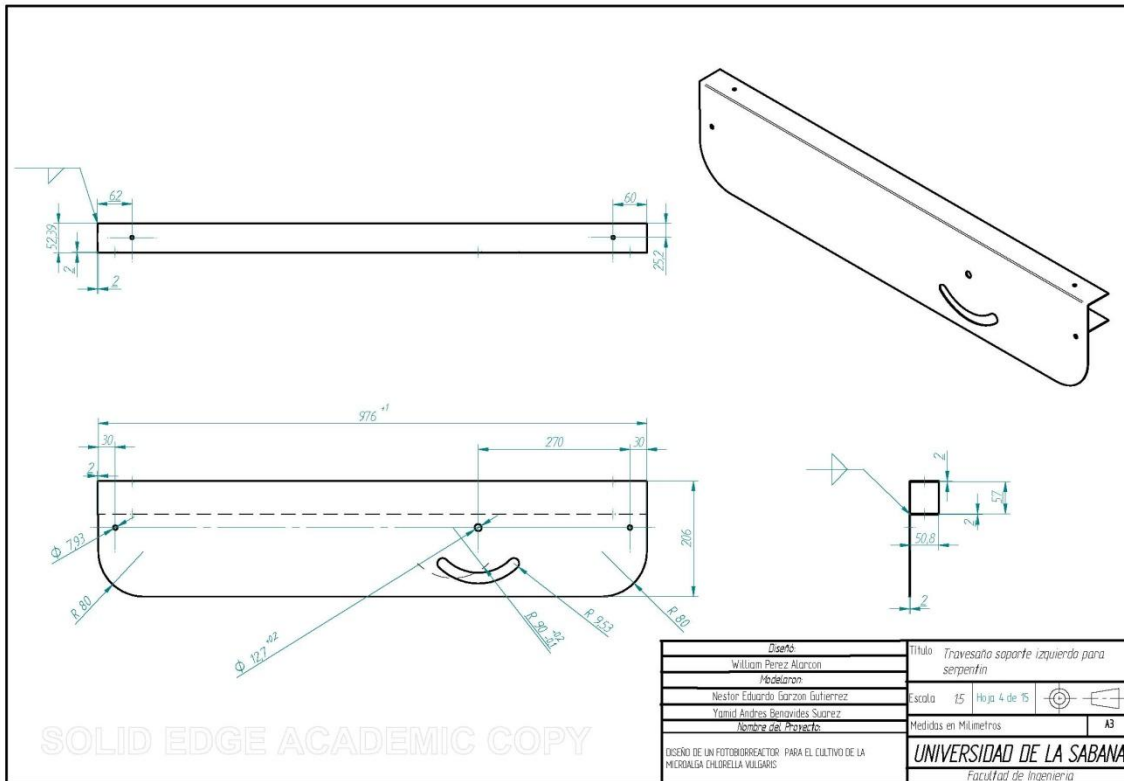
Diseñó: William Pérez Alarcón Modificó: Nestor Eduardo Garzon Gutierrez Yamid Andrés Benavides Suarez Nombre del Proyecto:		Título: <i>Seguidor para cultivo Plano general</i>	
DISEÑO DE UN FOTODORREACTOR PARA EL CULTIVO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS		Escala: 1:20	Hoja 1 de 15
		Medidas en Milímetros	A3
		<b>UNIVERSIDAD DE LA SABANA</b> <i>Facultad de Ingeniería</i>	



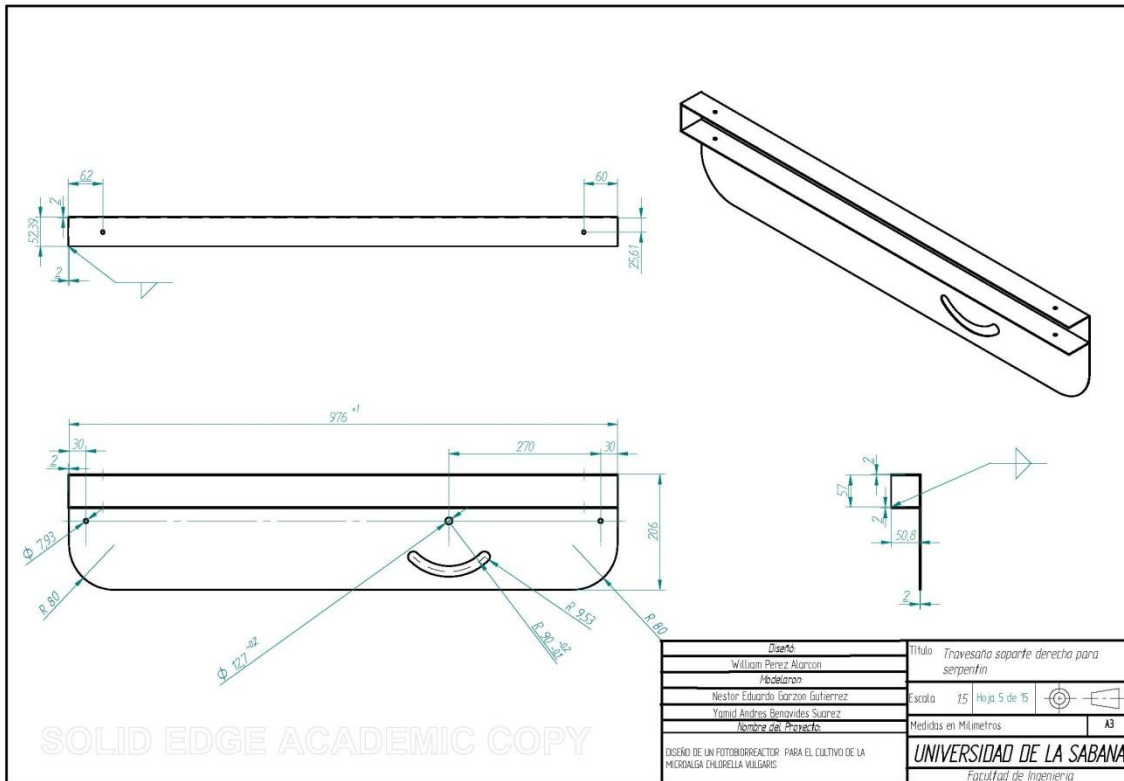
Diseño		Título	
William Perez Alarcon		Estructura Soporte Angular	
Modelaron		Escala	
Nestor Eduardo Garzon Gutierrez		15	Hoja 2 de 15
Yamid Andres Benaydes Suarez		Medidas en Milímetros	
Nombre del Proyecto		A3	
DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR PARA EL CULTIVO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS		UNIVERSIDAD DE LA SABANA	
		Facultad de Ingeniería	



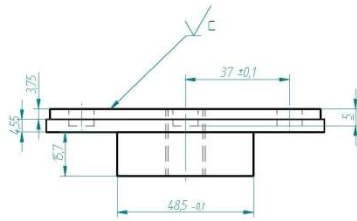
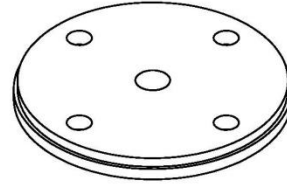
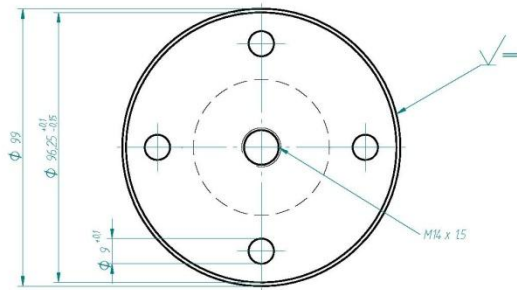
SOLID EDGE ACADEMIC COPY





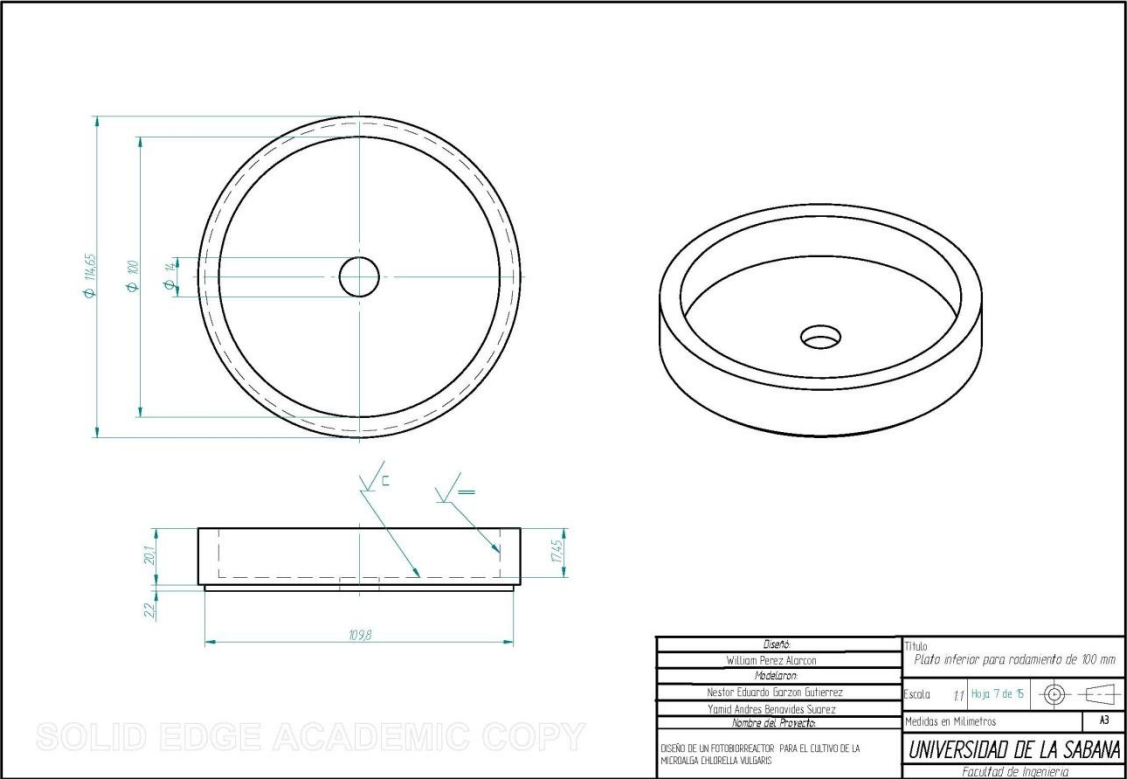


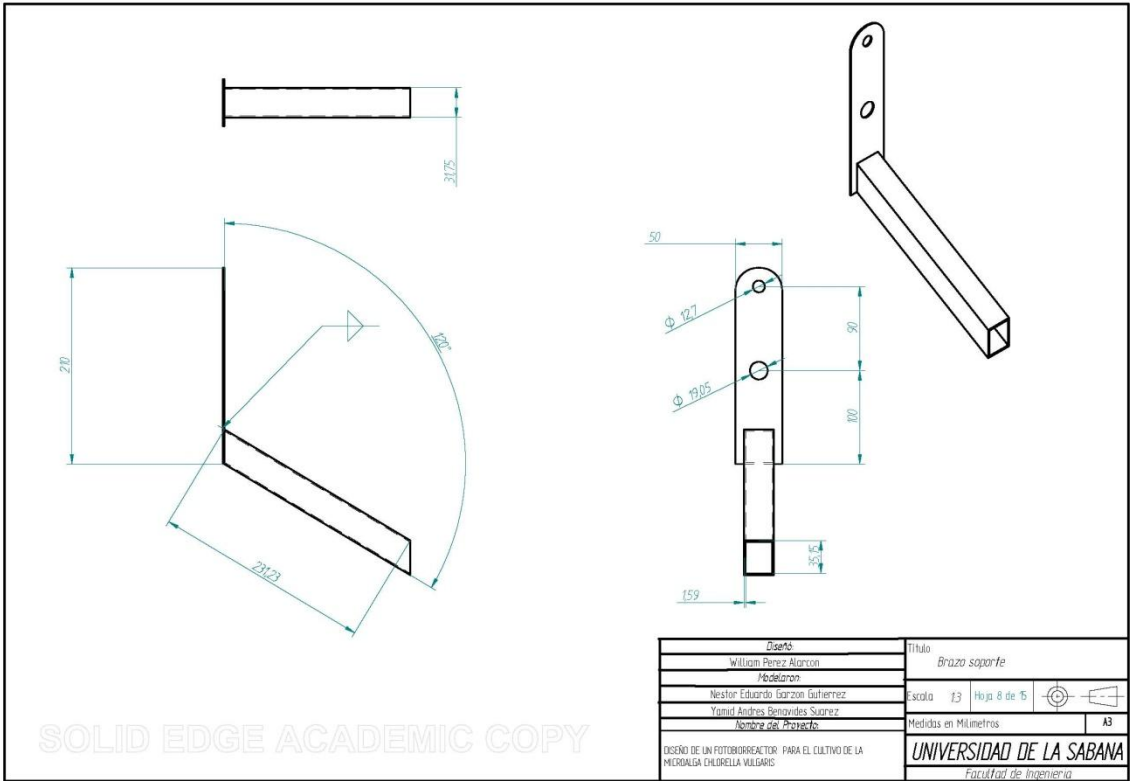
Diseño		Título	
William Pérez Alarcón		Travesaño soporte derecha para	
Modelaron		serpentina	
Nestor Eduardo Garzon Gutierrez		Escala	1:5
Yamid Andres Benaydes Suarez		Hoja 5 de 15	
Nombre del Proyecto		Medidas en Milímetros	A3
DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR PARA EL CULTIVO DE LA		<b>UNIVERSIDAD DE LA SABANA</b> Facultad de Ingeniería	
MICROALGA CHLORELLA VULGARIS			

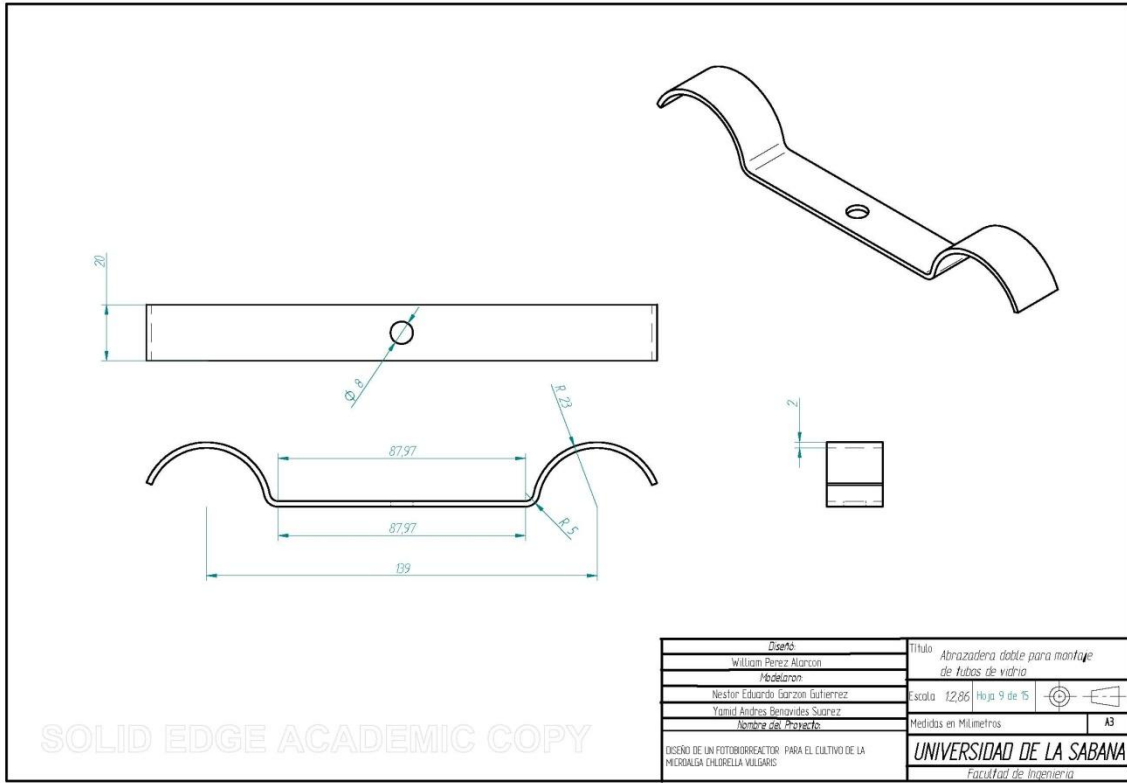


Diseño		Título	
William Perez Alarcon		Plata superior para radamiento de 100 mm	
Modelaron			
Nestor Eduardo Garzon Gutierrez		Escuela	Hoja 6 de 15
Yamid Andres Benaydes Suarez		Medidas en Milímetros	
Nombre del Proyecto		A3	
DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR PARA EL CULTIVO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS		UNIVERSIDAD DE LA SABANA Facultad de Ingeniería	

SOLID EDGE ACADEMIC COPY

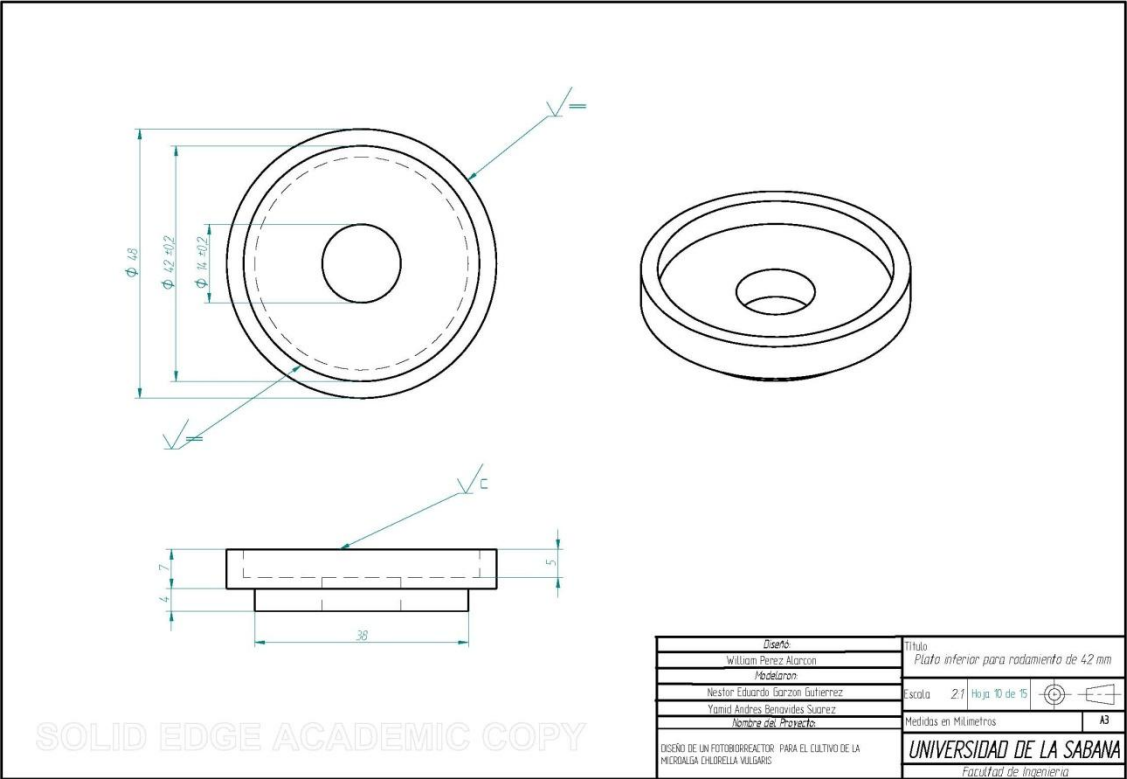




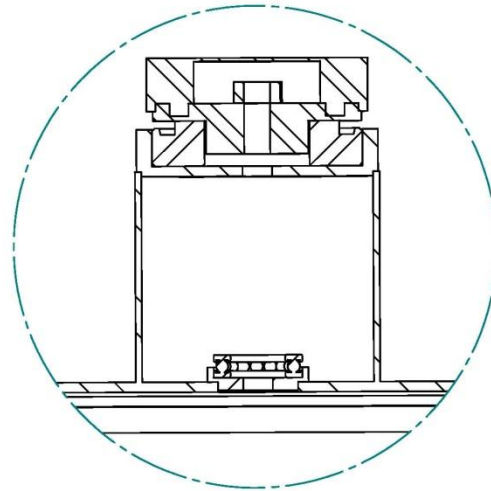
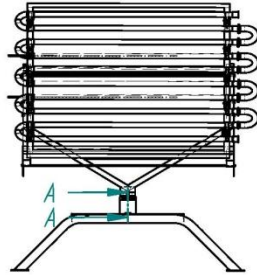


SOLID EDGE ACADEMIC COPY

<i>Diseño</i>	Título	Abrazadera doble para montaje de tubos de vidrio	
William Perez Alarcon	Escuela	12,86	Hoja 9 de 15
Modelaron	Medidas en Milímetros	A3	
Nestor Eduardo Garzon Gutierrez			
Yamid Andres Benaydes Suarez			
Nombre del Proyecto	UNIVERSIDAD DE LA SABANA		
DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR PARA EL CULTIVO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS	Facultad de Ingeniería		



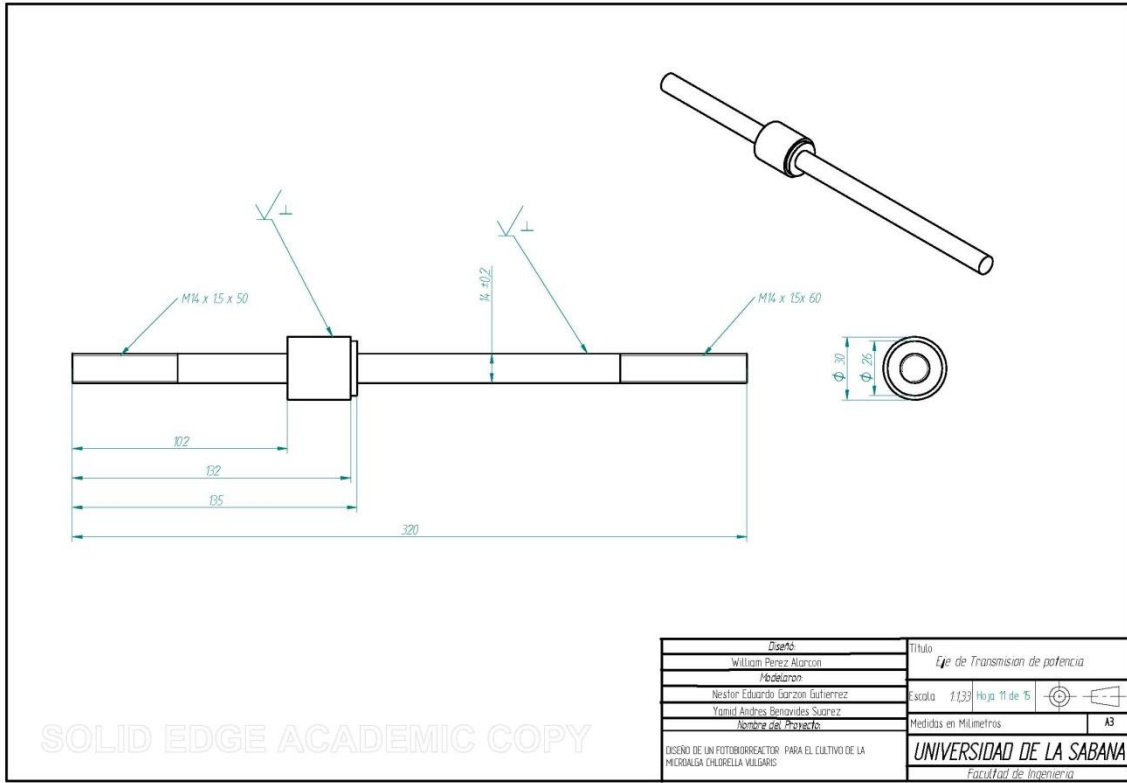
SOLID EDGE ACADEMIC COPY



DETALLE B

SOLID EDGE ACADEMIC COPY

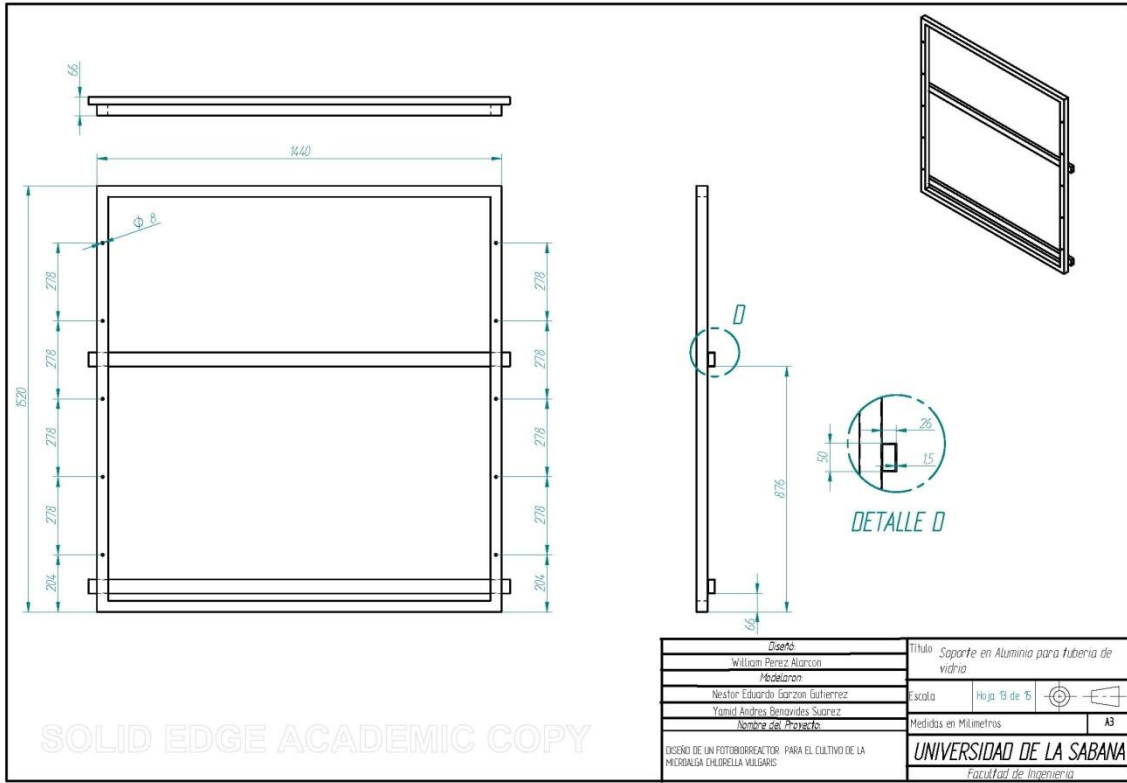
Diseño		Título	
William Pérez Alarcón		Vista de detalle para rodamientos	
Modelaron			
Nestor Eduardo Garzon Gutierrez		Escala	Hoja 12 de 15
Yamid Andres Benaydes Suarez			
Nombre del Proyecto			
DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR PARA EL CULTIVO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS		Medidas en Milímetros	A3
		UNIVERSIDAD DE LA SABANA	
		Facultad de Ingeniería	



SOLID EDGE ACADEMIC COPY

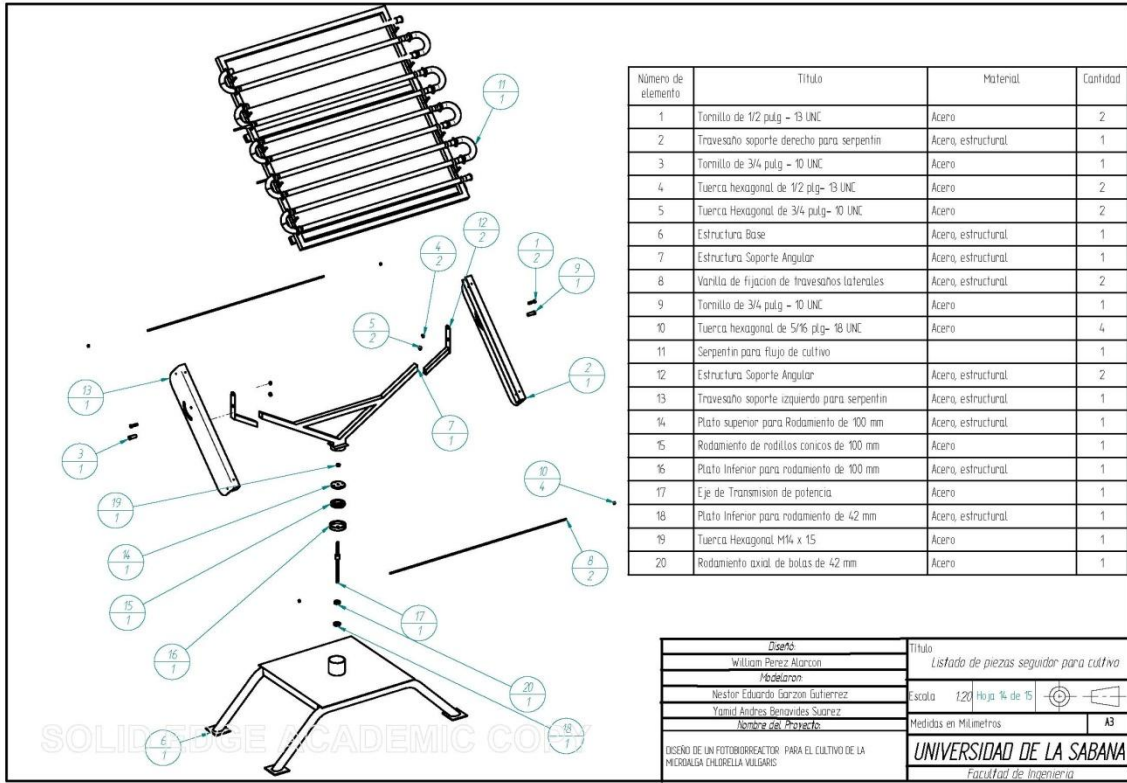
Diseño		Título	
William Pérez Alarcón		Eje de Transmisión de potencia	
Modelaron		Escala 1:1,30 Hoja 11 de 15	
Néstor Eduardo Garzón Gutiérrez		Medidas en Milímetros	
Yamid Andrés Benaydes Suárez		A3	
Nombre del Proyecto		UNIVERSIDAD DE LA SABANA	
DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR PARA EL CULTIVO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS		Facultad de Ingeniería	





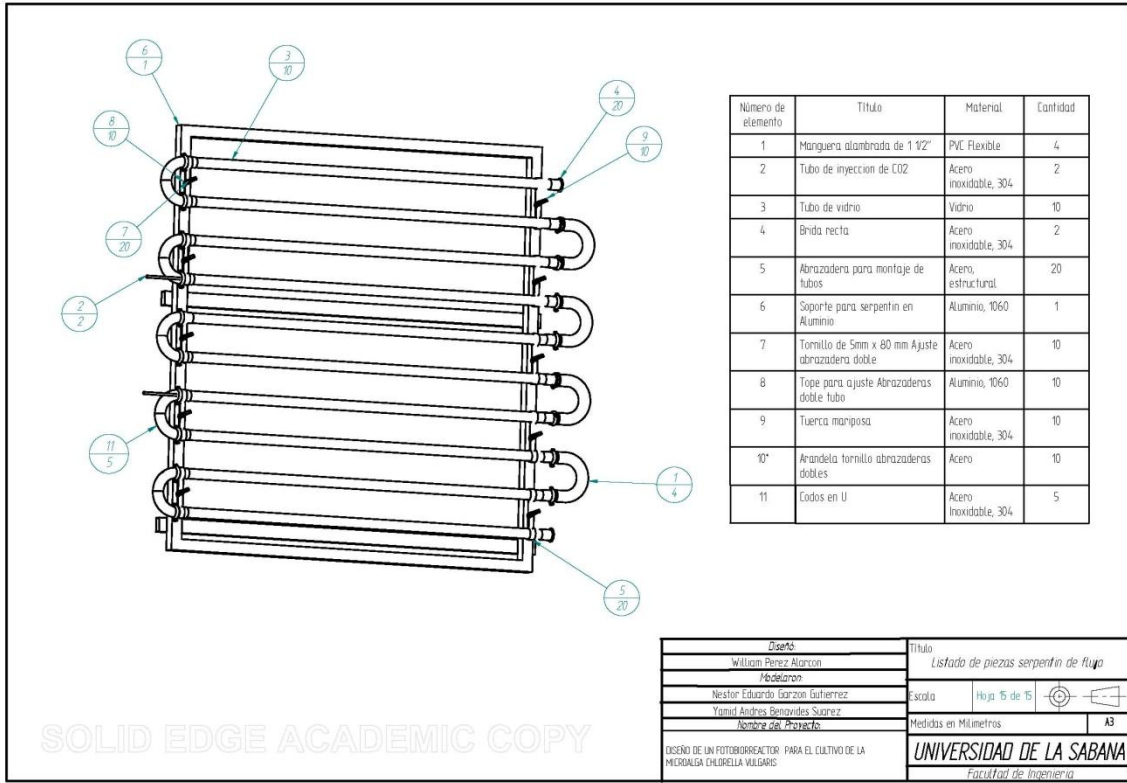
SOLID EDGE ACADEMIC COPY

Diseño		Título	
William Perez Alarcon		Soparte en Aluminio para tuberia de vidrio	
Modelaron		Escala	
Nestor Eduardo Garzon Gutierrez		Hoja 13 de 15	
Yamid Andres Benaydes Suarez		Medidas en Milímetros	
Nombre del Proyecto		A3	
DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR PARA EL CULTIVO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS		UNIVERSIDAD DE LA SABANA	
		Facultad de Ingenieria	



Número de elemento	Título	Material	Cantidad
1	Tornillo de 1/2 pulg - 13 UNC	Acero	2
2	Travesaño soporte derecho para serpiente	Acero, estructural	1
3	Tornillo de 3/4 pulg - 10 UNC	Acero	1
4	Tuerca hexagonal de 1/2 pulg- 13 UNC	Acero	2
5	Tuerca Hexagonal de 3/4 pulg-10 UNC	Acero	2
6	Estructura Base	Acero, estructural	1
7	Estructura Soporte Angular	Acero, estructural	1
8	Varilla de fijacion de travesaños laterales	Acero, estructural	2
9	Tornillo de 3/4 pulg - 10 UNC	Acero	1
10	Tuerca hexagonal de 5/16 pulg- 18 UNC	Acero	4
11	Serpentin para flujo de cultivo		1
12	Estructura Soporte Angular	Acero, estructural	2
13	Travesaño soporte izquierdo para serpiente	Acero, estructural	1
14	Plato superior para Rodamiento de 100 mm	Acero, estructural	1
15	Rodamiento de rodillos cónicos de 100 mm	Acero	1
16	Plato Inferior para rodamiento de 100 mm	Acero, estructural	1
17	Eje de Transmision de potencia	Acero	1
18	Plato Inferior para rodamiento de 42 mm	Acero, estructural	1
19	Tuerca Hexagonal M14 x 15	Acero	1
20	Rodamiento axial de bolas de 42 mm	Acero	1

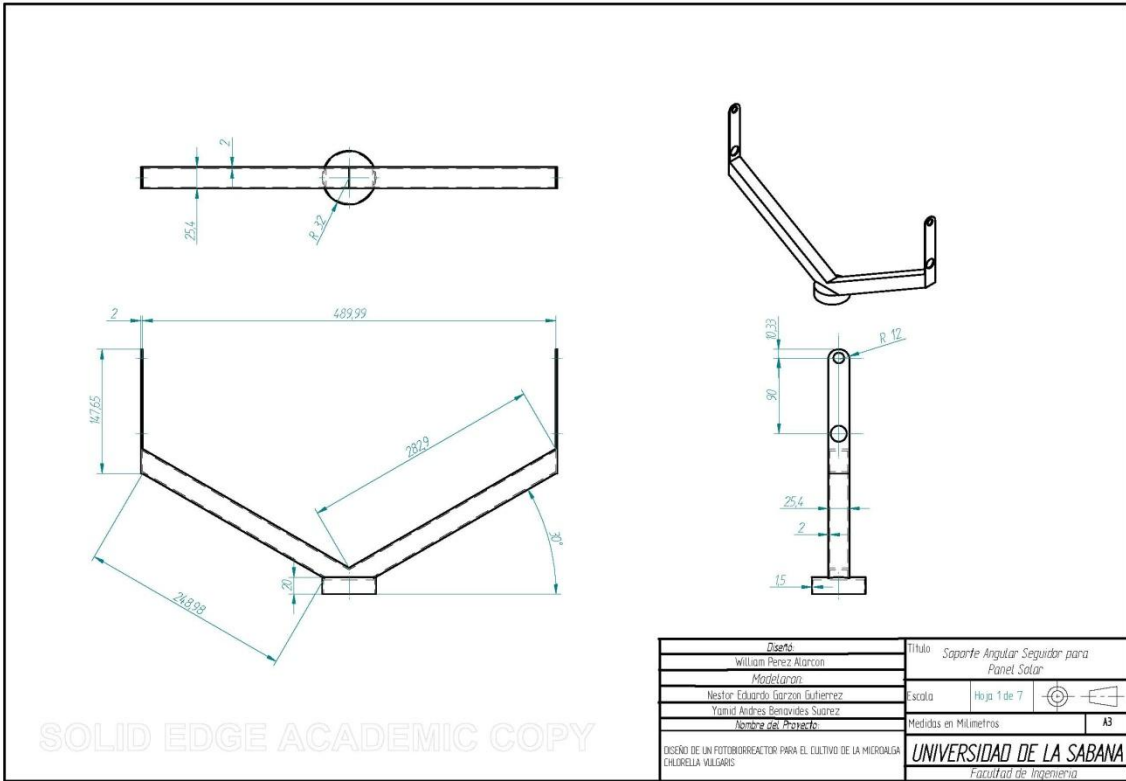
Diseño		Título	
William Perez Alarcon		Lista de piezas segund para cultivo	
Modelaron			
Nestor Eduardo Garzon Gutierrez		Escala	1:20 Hoja 4 de 15
Yamid Andres Benaydes Suarez		Medidas en Milímetros	
Nombre del Proyecto		A3	
DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR PARA EL CULTIVO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS		UNIVERSIDAD DE LA SABANA Facultad de Ingenieria	

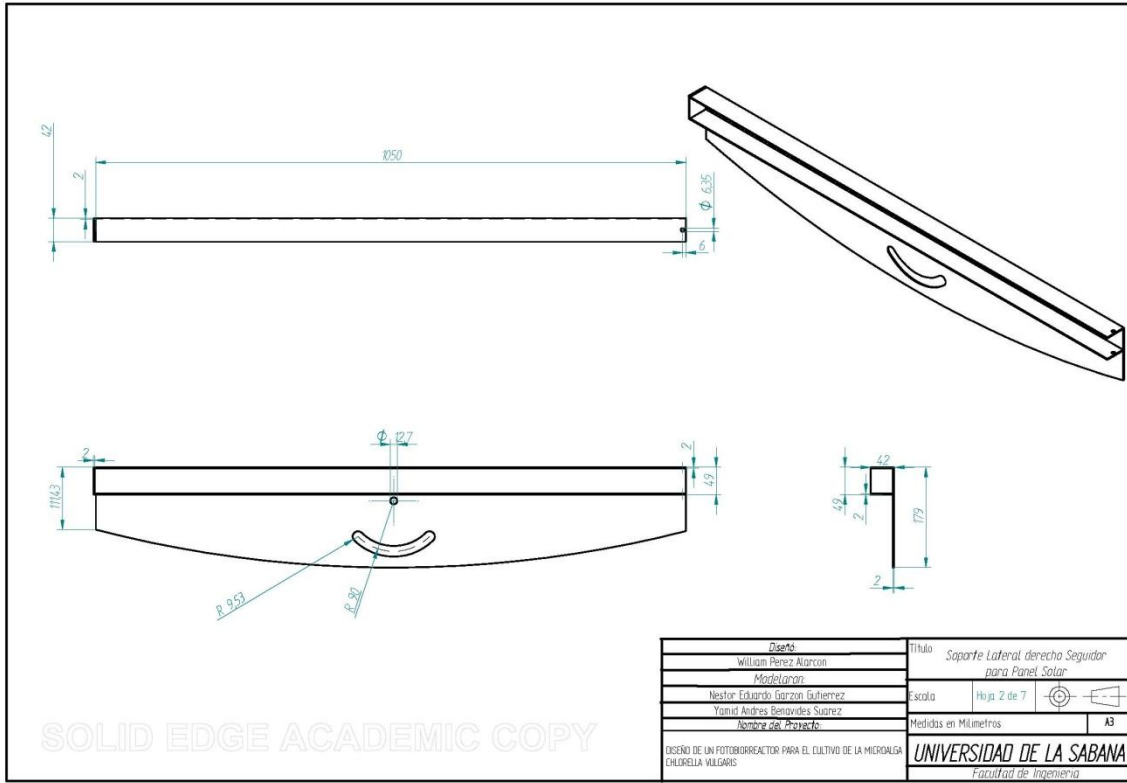


Número de elemento	Título	Material	Cantidad
1	Manguera alambrada de 1 1/2"	PVC Flexible	4
2	Tubo de inyección de CO2	Acero inoxidable, 304	2
3	Tubo de vidrio	Vidrio	10
4	Brida recta	Acero inoxidable, 304	2
5	Abrazadera para montaje de tubos	Acero, estructural	20
6	Soporte para serpiente en Aluminio	Aluminio, 1060	1
7	Tornillo de 5mm x 60 mm Ajuste abrazadera doble	Acero inoxidable, 304	10
8	Tope para ajuste Abrazaderas doble tubo	Aluminio, 1060	10
9	Tuerca manopasa	Acero inoxidable, 304	10
10	Arandela tornillo abrazaderas dobles	Acero	10
11	Codos en U	Acero inoxidable, 304	5

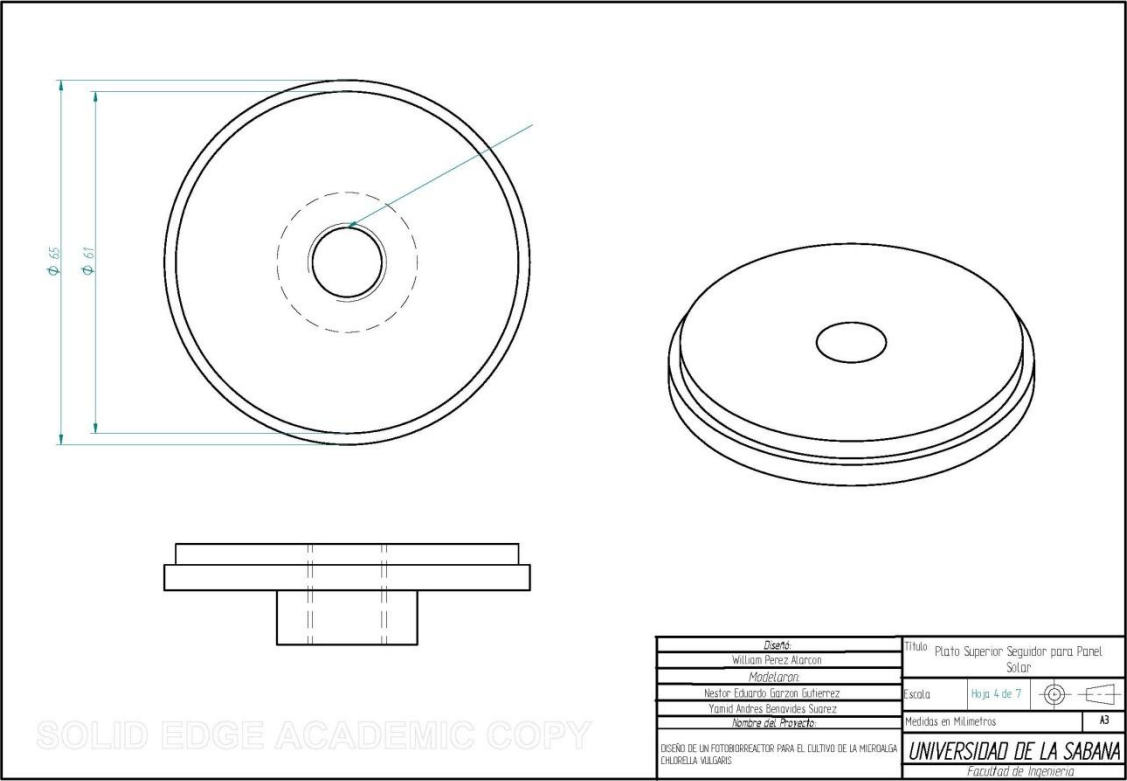
<i>Diseño</i>		Título	
William Perez Alarcon		Lista de piezas serpiente de tubo	
<i>Modelaron</i>			
Nestor Eduardo Garzon Gutierrez		Escala	Hoja 15 de 15
Yamid Andres Benaydes Suarez			
<i>Nombre del Proyecto</i>			
DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR PARA EL CULTIVO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS		Medidas en Milímetros	A3
		<b>UNIVERSIDAD DE LA SABANA</b> <i>Facultad de Ingeniería</i>	

SOLID EDGE ACADEMIC COPY

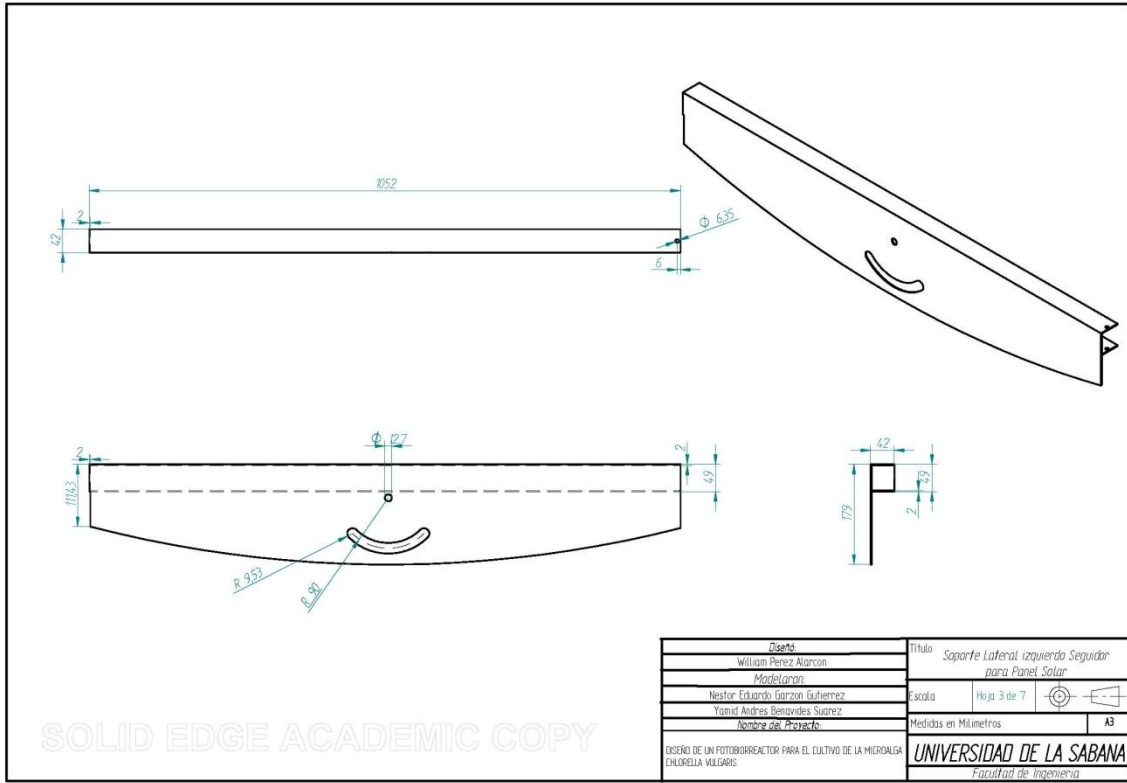




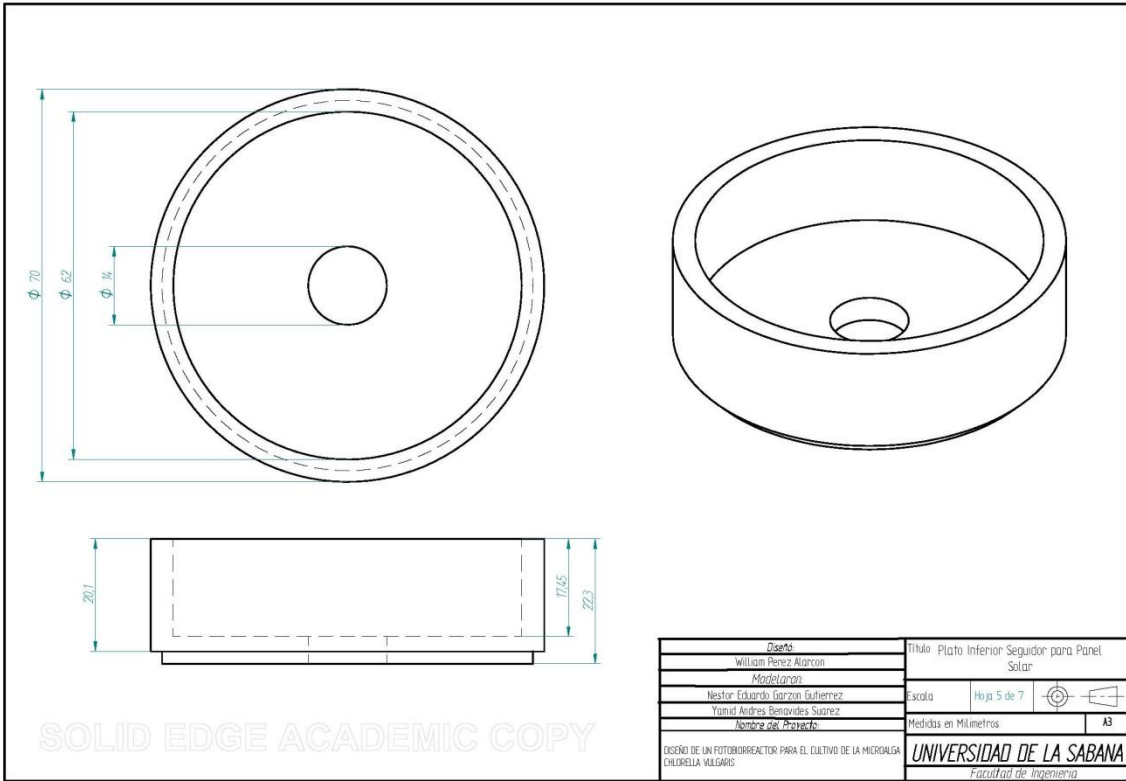
<i>Diseño</i>		Título	
William Pérez Narcon		Soporte Lateral derecho Segundo para Panel Solar	
<i>Modelador</i>		Escala	
Nestor Eduardo Garzon Gutierrez		Hija 2 de 7	
Yamid Andres Benavides Suarez		Medidas en Milímetros	
<i>Nombre del Proyecto</i>		A3	
DISEÑO DE UN FOTODIÓXIDO PARA EL CULTIVO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS		UNIVERSIDAD DE LA SABANA	
		Facultad de Ingeniería	



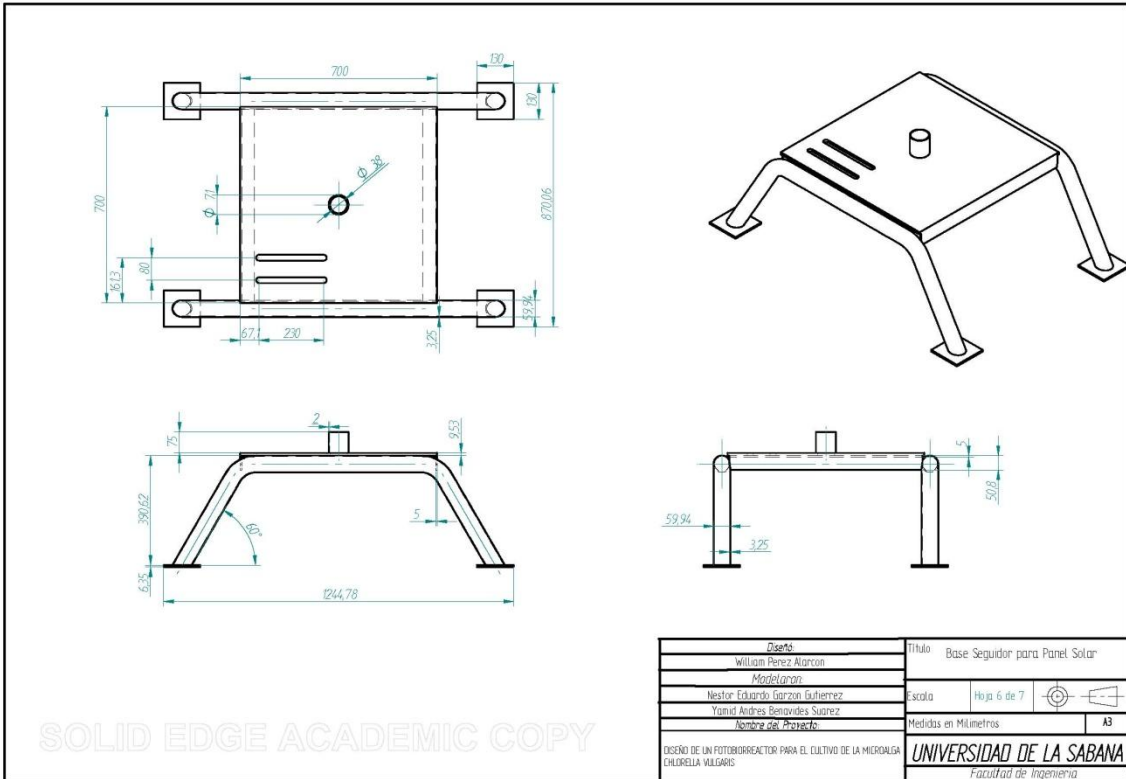
<i>Diseño</i>		Título	
William Pérez Narcon		Plato Superior Seguidor para Panel Solar	
<i>Modelaron</i>		Escala	
Nestor Eduardo Garzon Gutierrez		Hija 4 de 7	
Yamid Andres Benavides Suarez		Medidas en Milímetros	
<i>Nombre del Proyecto</i>		A3	
DISEÑO DE UN FOTODORREACTOR PARA EL CULTIVO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS		UNIVERSIDAD DE LA SABANA	
		Facultad de Ingeniería	



Diseño		Título	
William Pérez Narcon		Soporte Lateral izquierdo Segundo para Panel Solar	
Modelador		Escala	
Nestor Eduardo Garzon Gutierrez		Hoja 3 de 7	
Yamid Andres Benavides Suarez		Medidas en Milímetros	
Nombre del Proyecto		A3	
DISEÑO DE UN FOTODIÓXIDO PARA EL CULTIVO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS		UNIVERSIDAD DE LA SABANA	
		Facultad de Ingeniería	





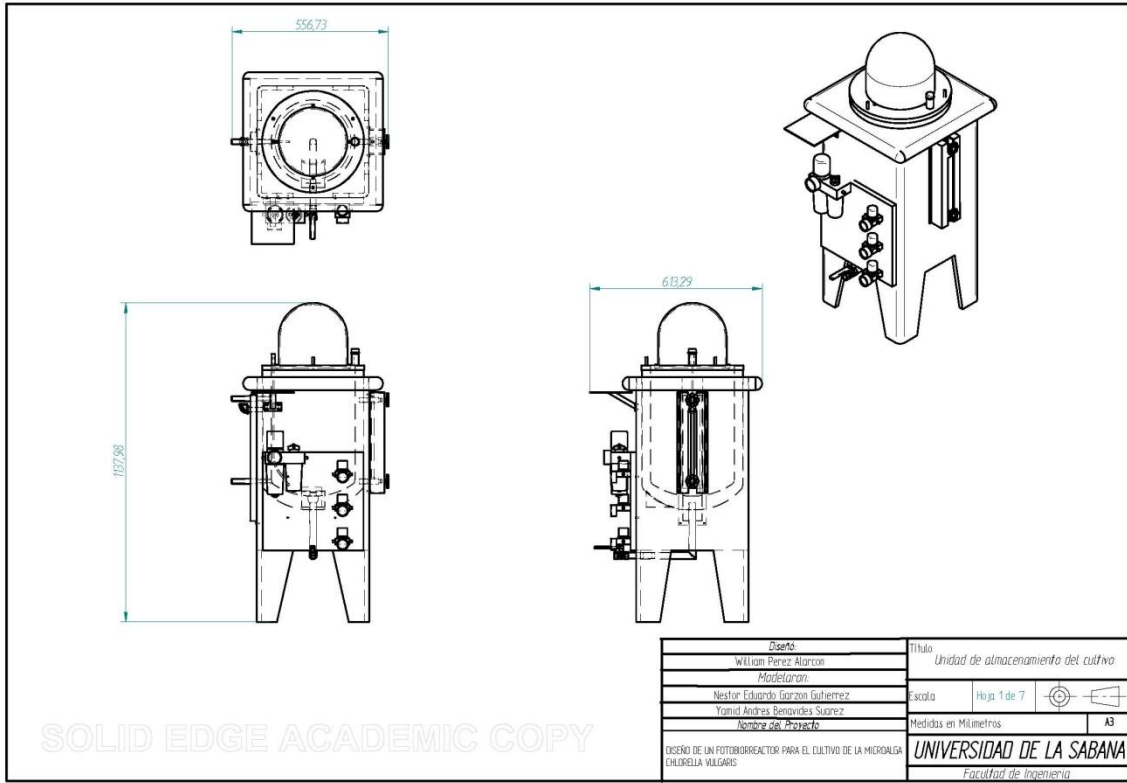


SOLID EDGE ACADEMIC COPY

Número de elemento	Título	Material	Cantidad
1	Soporte Angular	Acero, estructural	1
2	Tomillo 1/2-13 UNC	Acero	2
3	Tuercia Hexagonal 1/2-13 UNC	Acero	2
4	Tomillo 3/4-10 UNC	Acero	1
5	Tuercia Hexagonal 3/4-10 UNC	Acero	2
6	Travesaño Lateral Derecho	Acero, estructural	1
7	Travesaño Lateral izquierdo	Acero, estructural	1
8	Tomillo 3/4-10 UNC	Acero	1
9	Panel Solar		1
10	Plato superior rodamiento	Acero, estructural	1
11	Rodamiento Axial 60mm		1
12	Plato Inferior Rodamiento	Acero, estructural	1
13	Base	Acero, estructural	1

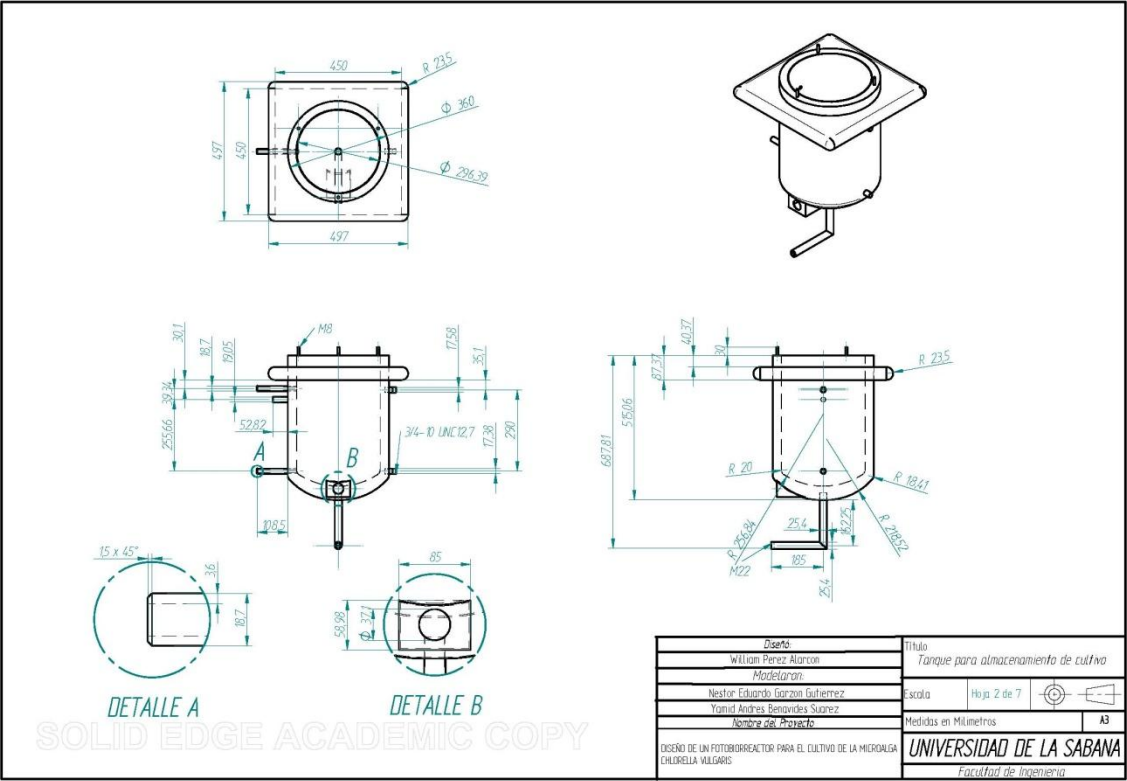
<i>Diseño</i>		Título	
William Pérez Narcon		Lista de Piezas Segundo para Panel Solar	
<i>Modelaron</i>			
Nestor Eduardo Garzon Gutierrez		Escala	Hoja 7 de 7
Yamid Andres Benaydes Suarez			
<i>Nombre del Proyecto</i>			
DISEÑO DE UN FOTODORREACTOR PARA EL CULTIVO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS		Medidas en Milímetros	A3
		<b>UNIVERSIDAD DE LA SABANA</b> Facultad de Ingeniería	

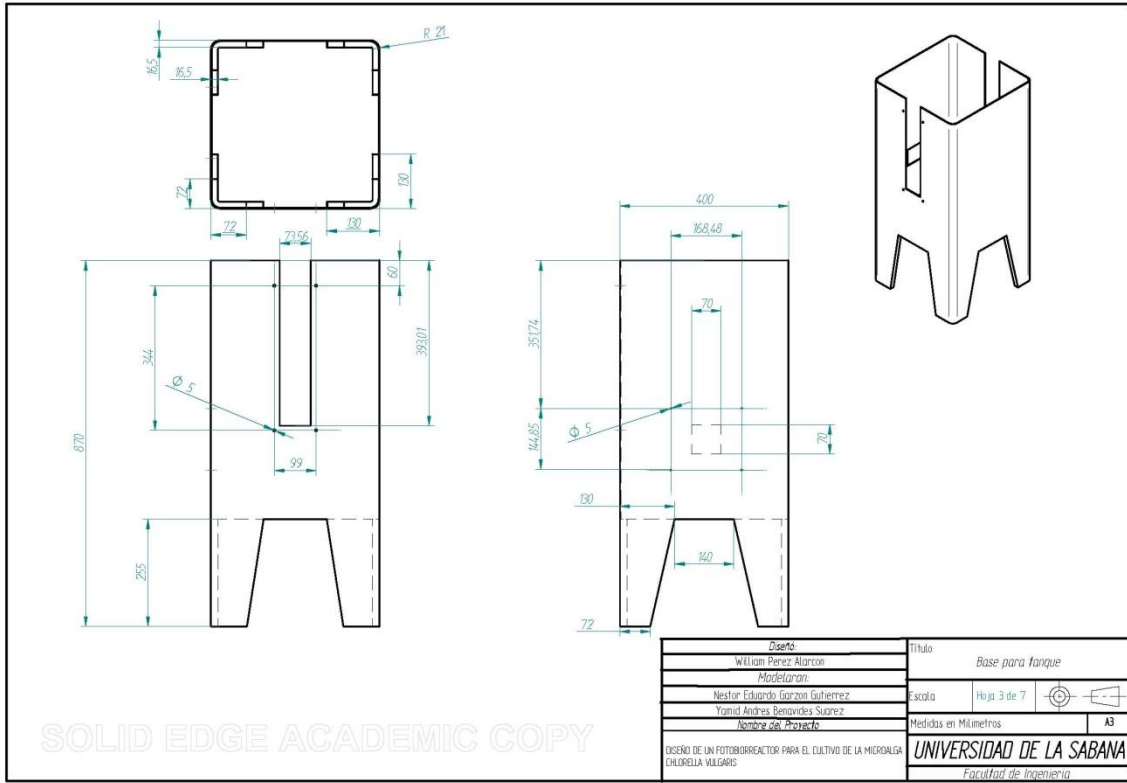
SOLID EDGE ACADEMIC COPY



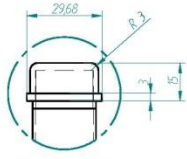
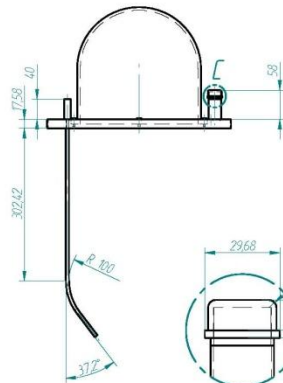
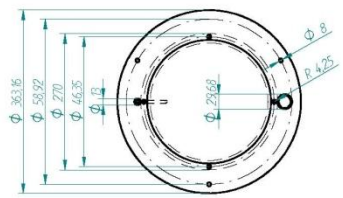
SOLID EDGE ACADEMIC COPY

Diseño William Perez Alarcon Madelaran Nestor Eduardo Garzon Gutierrez Yamid Andres Benjardes Suarez Nombre del Proyecto		Título Unidad de almacenamiento del cultivo	
DISEÑO DE UN FOTODERECTOR PARA EL CULTIVO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS		Escuela	Hoja 1 de 7
		Medidas en Milímetros	A3
		<b>UNIVERSIDAD DE LA SABANA</b> Facultad de Ingeniería	

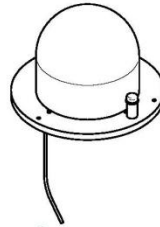
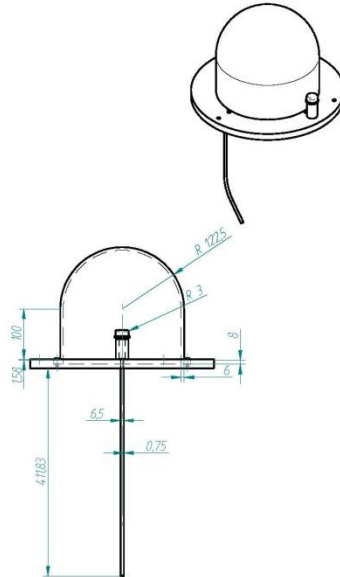




SOLID EDGE ACADEMIC COPY

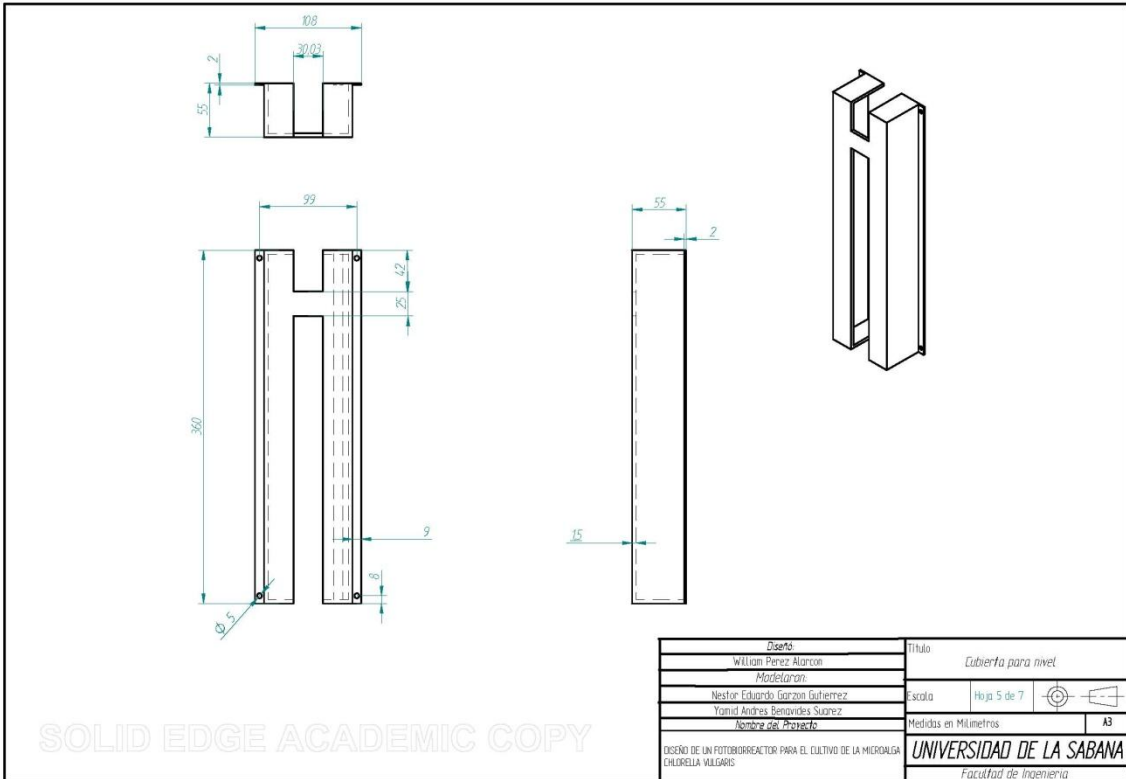


DETALLE C

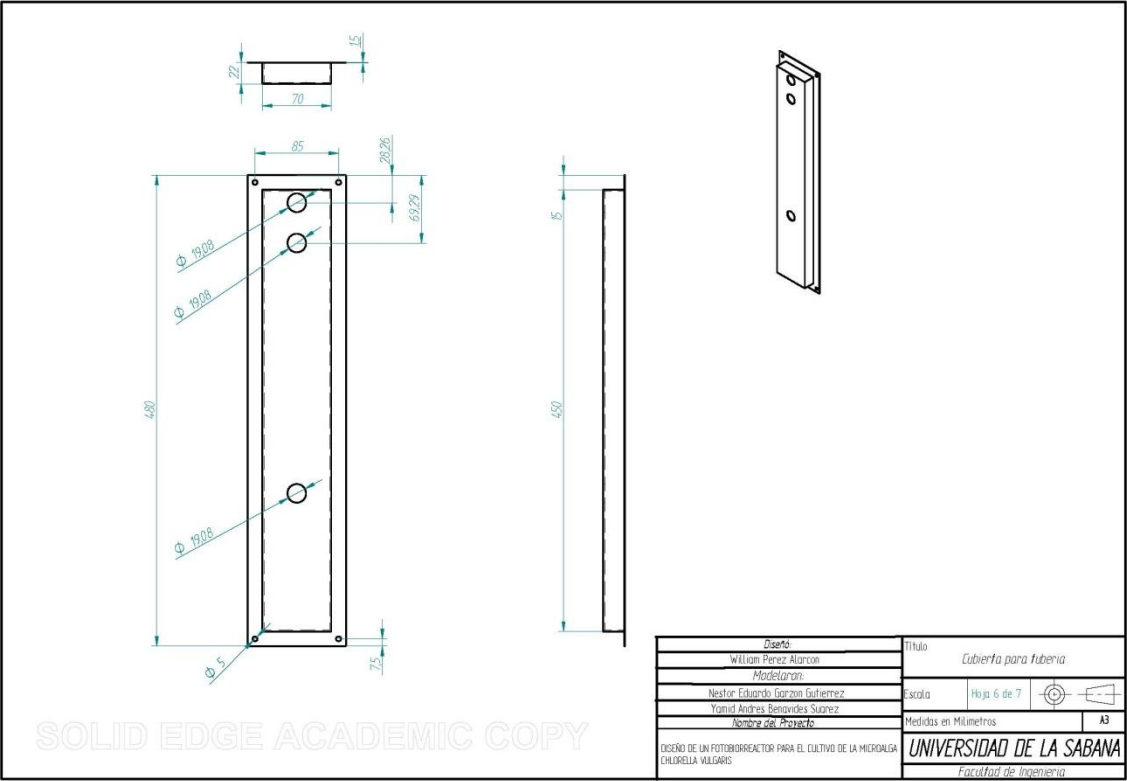


SOLID EDGE ACADEMIC COPY

Diseño		Título	
William Perez Alarcon		Tapa Tanque	
Madelaran			
Nestor Eduardo Garzon Gutierrez		Escuela	Hija 4 de 7
Yamid Andres Benjardes Suarez			
Nombre del Proyecto			
DISEÑO DE UN FOTODIORREACTOR PARA EL CULTIVO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS		Medidas en Milímetros	A3
		<b>UNIVERSIDAD DE LA SABANA</b> Facultad de Ingeniería	

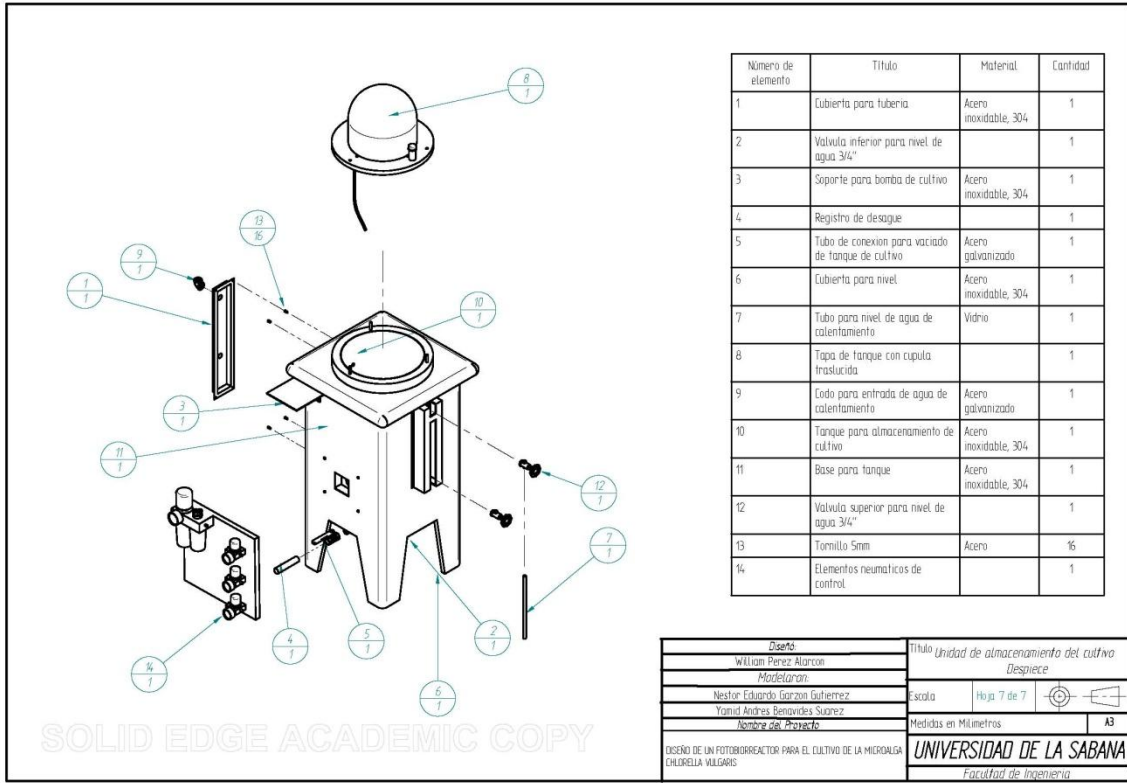


SOLID EDGE ACADEMIC COPY



SOLID EDGE ACADEMIC COPY





SOLID EDGE ACADEMIC COPY

Numero de elemento	Titulo	Material	Cantidad
1	Cubierta para tuberia	Acero inoxidable, 304	1
2	Valvula inferior para nivel de agua 3/4"		1
3	Soporte para bomba de cultivo	Acero inoxidable, 304	1
4	Registro de desague		1
5	Tubo de conexion para vaciado de tanque de cultivo	Acero galvanizado	1
6	Cubierta para nivel	Acero inoxidable, 304	1
7	Tubo para nivel de agua de calentamiento	Vidrio	1
8	Tapa de tanque con cupula frasturida		1
9	Codo para entrada de agua de calentamiento	Acero galvanizado	1
10	Tanque para almacenamiento de cultivo	Acero inoxidable, 304	1
11	Base para tanque	Acero inoxidable, 304	1
12	Valvula superior para nivel de agua 3/4"		1
13	Tornillo 5mm	Acero	16
14	Elementos neumaticos de control		1

<i>Diseño</i>		Título <i>Unidad de almacenamiento del cultivo</i>	
William Perez Alarcon		Despiece	
<i>Modelaron</i>			
Nestor Eduardo Garzon Gutierrez		Escala	Hoja 7 de 7
Yamid Andres Benavides Suarez			
<i>Nombre del Proyecto</i>			
DISEÑO DE UN FOTOBIOREACTOR PARA EL CULTIVO DE LA MICROALGA CHLORELLA VULGARIS		Medidas en Milímetros	A3
		<b>UNIVERSIDAD DE LA SABANA</b> <i>Facultad de Ingeniería</i>	

# ANEXO 5

## ANEXO 5: ANALISIS ESTRUCTURAL DEL FOTOBIORREACTOR EXPERIMENTAL

En la elaboración de cualquier diseño en ingeniería mecánica deben existir ciertas consideraciones que involucran la factibilidad del mismo y la forma en que este puede ser una solución eficaz a un problema determinado. En este caso particular se analizará el diseño preliminar de un fotobiorreactor experimental tubular en el que se busca como aspecto primordial la practicidad en su configuración, fabricación y ensamble, así como las solicitudes de movimiento y grados de libertad que este debe tener.

En primer lugar se evaluó el diseño preliminar modelado en el software CAD SolidEdge®, realizado en una etapa previa a este proyecto; del cual se han tomado masas de piezas y elementos estructurales, para poder determinar un peso total y las cargas internas de la estructura.

Seguidamente se simuló las cargas aplicadas en las piezas estructurales en el software CAE ANSYS Workbench®, para determinar el comportamiento y puntos críticos de dichos elementos. Posteriormente se evaluaron los resultados. Una vez se planteó el rediseño del fotobiorreactor, se efectuó un segundo análisis, pero realizado sobre el diseño definitivo. (Yamid Benavides, Nestor Garzón U libre 2008)

### 3.7. Evaluación del diseño preliminar

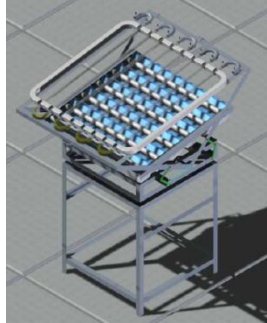
El diseño preliminar incluía:

- Sistema de flujo de cultivo en el equipo, compuesto por un serpentín el cual contiene tubería en vidrio de 32 mm, codos de 1 ½" en acero inoxidable 304, mangueras elásticas de 1 ½" en PVC flexible, flautas de inyección de CO<sub>2</sub> y conexiones en acero inoxidable 304.
- Estructura soporte para serpentín y lámpara, fabricada en perfil en L de 2" y 3 mm de espesor
- Soporte giratorio fabricada en perfil en L de 2" y 3mm de espesor
- Estructura soporte principal fabricada en perfil en L de 2" y 3mm de espesor
- Arreglo de lámparas (6 Unidades)<sup>13</sup>

---

<sup>13</sup> El número de lámparas varía dependiendo de las necesidades de luminosidad del sistema y del tipo de lámparas.

Figura 1. Vista general Diseño preliminar



**3.7.1.** Establecimiento de los elementos estructurales a analizar en el fotobioreactor. De acuerdo con el diseño de este dispositivo, existen dos piezas netamente estructurales que soportan la mayor carga en el equipo. Estas se muestran a continuación:

Figura 65. Pieza 1: Estructura giratoria de apoyo a la pieza soporte de tubería y

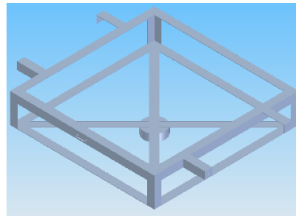
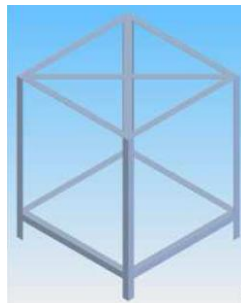


Figura 66. Pieza 2: Soporte general del sistema giratorio



**3.7.2.** Determinación de cargas que actúan sobre las piezas a analizar

El software Solid Edge v18®; en el cual fue modelado el diseño preliminar, puede calcular la masa aproximada de cada una de las piezas que componen estructuralmente al fotobiorreactor, y

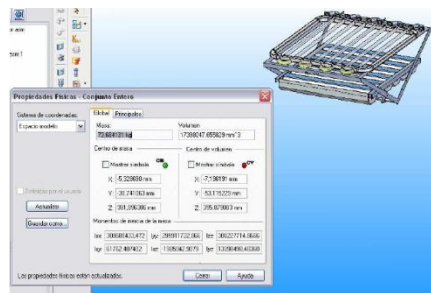
consecuentemente, la masa de total del mismo. De esta manera se calculó la masa de cada subsistema para determinar cargas específicas sobre las piezas a analizar.

En primer lugar, se obtuvo el valor de la masa del subconjunto (i) conformado por:

el serpentín de flujo del cultivo, las flautas de adición de CO<sub>2</sub>, las lámparas de radiación nocturna y el soporte prismático estructural que aloja a todos estos elementos. El peso de los mismos es el que debe soportar la pieza 1 (estructura giratoria), teniendo como única entrada a esta operación la densidad de cada pieza de dicho conjunto.

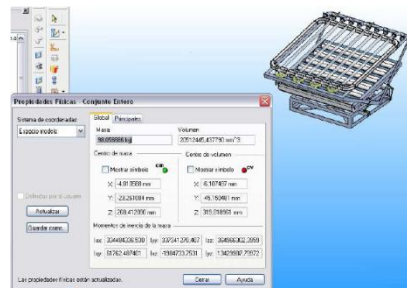
A continuación se muestran los resultados del cálculo de las cargas que soporta cada elemento.

Figura 67. Masa total del subconjunto (i) soportado por la estructura giratoria



Después, para el soporte general del sistema giratorio se tomó el mismo subconjunto (i), adicionando la masa de la estructura giratoria y los ajustes articulados de inclinación siguiendo el mismo procedimiento.

Figura 68. Masa total del subconjunto (ii) soportado por la estructura base

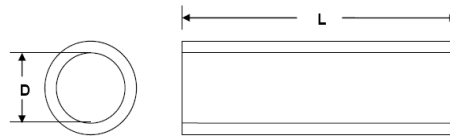


Posteriormente se calcula la masa del fluido de cultivo, teniendo como referente el volumen interior del serpentín. Estos cálculos se muestran a continuación:

### 3. Cálculo del volumen interior del serpentín

#### 3. Volumen interior en los tubos:

Figura 69. Esquema dimensional para tubos de serpentín



Para los tubos de vidrio,  $D = 32 \text{ mm}$  y  $L = 1500 \text{ mm}$ ; se tiene

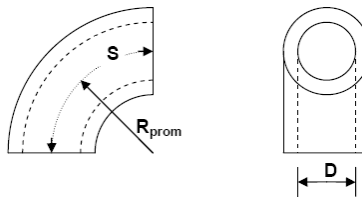
$$V = \frac{\pi D^2}{4} L \quad (1)$$

$$V = 1,2064 \times 10^6 \text{ mm}^3 = 1.2064 \times 10^{-3} \text{ m}^3$$

$$\text{Volumen interior de los 8 tubos del serpentín} = 9,651 \times 10^{-3} \text{ m}^3 \text{ (A)}$$

#### 4. Volumen interior en los codos:

Figura 70. Esquema dimensional para codos de serpentín



Para los codos,  $D = 34,8 \text{ mm}$  y  $R_{prom} = 69,85 \text{ mm}$ ; se tiene

$$S = \theta R_{prom} \quad (2)$$

$$\text{Si } \theta = \pi/2 \gg S = 109,72 \text{ mm}$$

para encontrar el volumen interior de cada codo, aplicamos la ecuación:

$$V = \frac{\pi D^2}{4} S \quad (3)$$

$$V \text{ interior Codo} = 0.1044 \times 106 \text{ mm}^3 = 1.0436 \times 10^{-4} \text{ m}^3$$

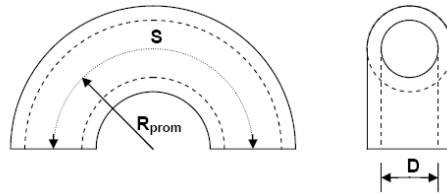
$$V \text{ par de codos} = V \text{ interior mitad codo} \times 2 = 2.0872 \times 10^{-4} \text{ m}^3$$

$$\text{Volumen interior en los codos} = V \text{ par de codos} \times 5$$

$$\text{Volumen interior en los codos del serpentín} = 1.0436 \times 10^{-3} \text{ m}^3 \text{ (B)}$$

#### 5. Volumen Interior en las mangueras

Figura 71. Esquema dimensional para mangueras de serpentín



Para las mangueras,  $D=38.1 \text{ mm}$  y  $R_{\text{prom}}=68,92 \text{ mm}$ ; en la ecuación 2 donde  $\theta= \pi (180^\circ)$ , se tiene:

$$S= 216,52 \text{ mm}$$

y reemplazando en la ecuación 3, obtenemos:

$$\text{Volumen interior manguera} = 0.24685 \times 10^{-6} \text{ mm}^3 = 2.4685 \times 10^{-4} \text{ m}^3$$

$$\text{Volumen interior en las mangueras} = V \text{ interior manguera} \times 4$$

$$\text{Volumen interior en las 4 mangueras} = 9.874 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \text{ (C)}$$

#### 6. Volumen interior total en el serpentín:

$$V \text{ Total} = (A) + (B) + (C) \quad (4)$$

Reemplazando los valores A, B y C en la ecuación 5, se obtiene:

$$V \text{ Total} = 11.682 \times 10^{-3} \text{ m}^3 = 0.011682 \text{ m}^3$$

Asumiendo una densidad del fluido similar a la del agua<sup>14</sup> ( $\rho = 1000 \text{ Kg/m}^3$ ) y con la ecuación:

$$m = \rho V \quad (5)$$

De aquí, obtenemos una masa de fluido de **11,682 Kg**. fluyendo dentro del serpentín, la cual se sumara a las cargas obtenidas anteriormente para realizar un cálculo más preciso del comportamiento en operación del equipo.

Tabla 1. Comparacion de pesos soportadas por las piezas a analizar\*

Elemento	Masa que descansa sobre el elemento (Kg)	Fuerza actuante (N)
Estructura giratoria de apoyo a la pieza soporte de la tubería y lámparas	85.36	836.53
Soporte general del sistema giratorio	101.73	996.95

\*Estos valores se calcularon con el modelo CAD suministrado al inicio del proyecto.

### 3.7.3. Realización del análisis estructural por elementos finitos al diseño preliminar del fotobiorreactor modelado en Solid Edge; utilizando el Software Tipo CAE ANSYS 10.0

De acuerdo con lo obtenido, se determinaron los puntos sobre los cuales actúan dichas fuerzas en las respectivas piezas. Además de esto, se establecieron las condiciones de carga que presenta cada pieza.

---

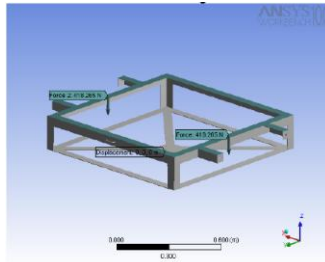
Existe un aumento en la densidad del medio durante el proceso. Sin embargo se utilizara la densidad del agua debido a que dicha variación no es significativa. Esto se hace simplemente para propósitos de carga.



Para la pieza 1, la fuerza se dividió en dos debido a que el soporte prismático se apoya en dos puntos simétricos. A continuación se muestran los datos de entrada suministrados al software ANSYS para dicho análisis.

- *Pieza 1 A: Estructura giratoria de apoyo a la pieza soporte de tubería y lámparas*

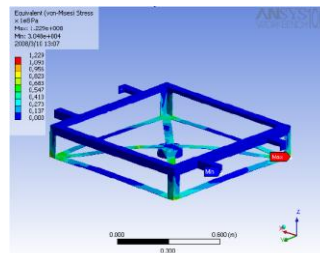
Figura 72. Condiciones de carga Pieza 1 A



La fuerza que actúa en esta estructura se divide en dos debido a que la pieza situada justo encima se apoya en estos puntos ubicados simétricamente. Es la condición de máxima carga para esta pieza.

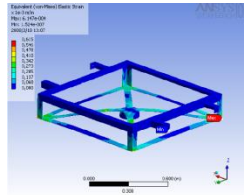
El punto de desplazamiento cero representa el apoyo de la pieza 1.

Figura 73. Esfuerzo equivalente Pieza 1 A



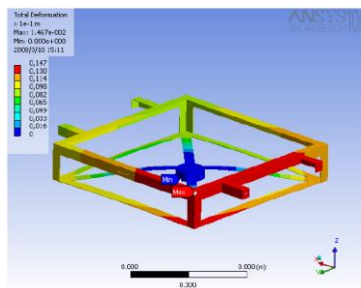
De acuerdo con la figura 10; los puntos de máxima energía de distorsión representada en los esfuerzos de Von-Misses, se encuentran en las esquinas inferiores de la estructura, lo que implica la mayor probabilidad de presencia de deformación plástica en dichos puntos.

**Figura 74. Deformación elástica equivalente. Pieza 1 A**



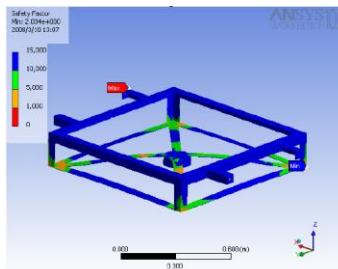
De la misma manera, la deformación equivalente muestra un mayor valor en las esquinas inferiores de la pieza, lo que demuestra el efecto directo del esfuerzo equivalente en estos puntos.

Figura 75. Deformación Total Pieza 1 A



El máximo valor de deformación total alcanza más de un centímetro, lo que evidencia la necesidad de modificar el diseño para evitar un desplazamiento similar en las esquinas inferiores de la estructura.

Figura 76. Factor de seguridad Pieza 1 A



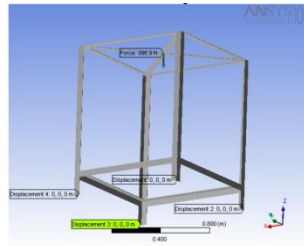
El factor de seguridad mínimo evidentemente se presenta en los mismos puntos. Si bien estos puntos no presentan una situación crítica, si merecen una consideración a nivel de diseño en la pieza.

Tabla 2. Resultados Estructurales Pieza 1 A

Ítem	Mínimo	Máximo
Esfuerzo Equivalente	30480.37 Pa	123 MPa
Deformación elástica equivalente	$1.52 \times 10^{-7}$ m/m	$6.15 \times 10^{-4}$ m/m
Deformación Total	0.0 m	0.01 m
Factor de seguridad	2.03	15

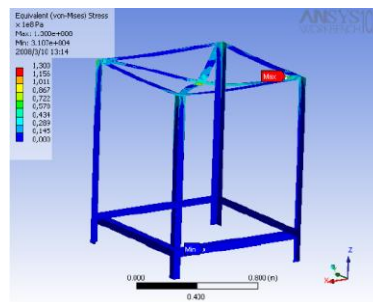
- *Pieza 1 B: Soporte general sistema giratorio*

Figura 77. Condiciones de carga Pieza 1 B



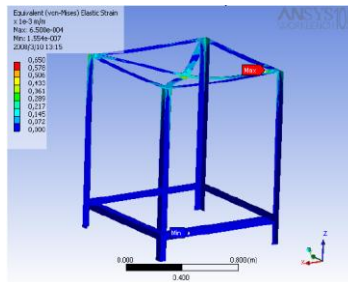
La única fuerza que actúa sobre la estructura se representa justo en el punto de contacto con la estructura analizada anteriormente. Además de situar los cuatro desplazamientos nulos en las bases de la estructura.

Figura 78. Esfuerzo equivalente Pieza 1 B



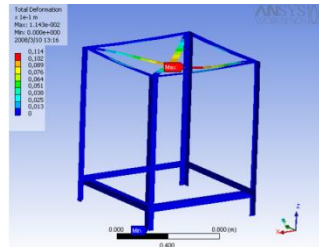
De acuerdo a lo observado, ocurre un comportamiento similar al de la pieza anterior, pero esta vez en las esquinas superiores, Además de esto, hay un valor representativo de esfuerzo en el punto de apoyo del soporte giratorio en esta pieza.

Figura 79. Deformación elástica equivalente Pieza 1 B



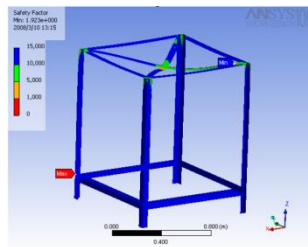
En la figura 16 se observa el consecuente comportamiento de la deformación elástica debida a la energía de distorsión ocasionada por los esfuerzos triaxiales en la estructura. Esto es proporcional a lo ocurrido con el esfuerzo de Von Misses.

Figura 80. Deformación total Pieza 1 B



La deformación total de la pieza 2 presenta un valor mucho mayor en el punto de apoyo de la pieza 1 (Análisis anterior) sobre esta. También se recomiendan modificación en el diseño para disminuir este desplazamiento.

Figura 81. Factor de seguridad Pieza 1B



En cuanto al factor de seguridad, la estructura no presenta un comportamiento crítico, pero se presentan valores mínimos en las esquinas superiores y el punto de apoyo de la pieza 1.

Tabla 3. Resultados Estructurales Pieza 1 B

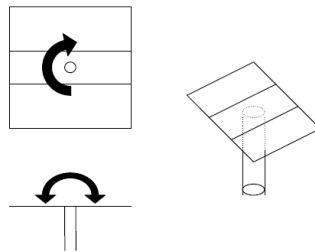
Ítem	Mínimo	Máximo
<b>Esfuerzo equivalente</b>	31072.24 Pa	130 MPa
<b>Deformación elástica equivalente</b>	$1.55 \times 10^{-7}$ m/m	$6.5 \times 10^{-4}$ m/m
<b>Deformación Total</b>	0.0 m	0.0114 m
<b>Esfuerzo equivalente</b>	1.92	15

### 3.7.4. Conclusiones del análisis estructural al diseño preliminar

De acuerdo con todo el análisis realizado, se concluye que el comportamiento estructural es bastante aceptable, ya que los esfuerzos y deformaciones son excesivos en diferentes puntos de la estructura. Esto se debe solucionar mediante la colocación de refuerzos, y modificación de geometrías en las piezas, de tal manera que haya una distribución de carga más uniforme.

Además de esto, el elevado peso que tiene todo el mecanismo no permite una disposición práctica de elementos que permitan los movimientos requeridos (Giro de 180° del soporte giratorio alrededor del plano del suelo y giro de 90° max. La estructura de soporte del serpentín con respecto a un plano perpendicular al anterior) para su operación.

Figura 82. Movimientos requeridos en el serpentín, similares a los de un panel solar



Además de esto, el elevado peso también incluye costos de fabricación altos, representados en la cantidad de material y los procesos requeridos. El mecanismo es demasiado robusto para esta aplicación. Por estas razones, el director del proyecto rediseñó el fotobiorreactor, basándose en mecanismos particulares denominados seguidores. Estos dispositivos son utilizados para asignarle

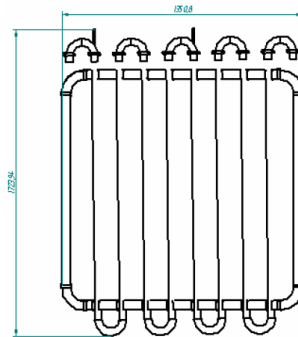
trayectorias de desplazamiento a paneles solares, provocando una exposición continua los rayos del sol, de manera que estos siempre incidan perpendicularmente sobre la superficie de dichos paneles.

### 3.8. Parámetros para el rediseño del mecanismo

En esta etapa se mantuvo ciertos elementos del diseño preliminar, específicamente el serpentín para flujo de cultivo y su correspondiente soporte en PVC, y convertir sus características físicas como parámetros específicos de diseño.

Las dimensiones del serpentín se tomaron como referente para el nuevo diseño, ya que la estructura se dimensiona para soportarlo y para permitir su posicionamiento.

Figura 83. Dimensiones de serpentín



Como se mencionó anteriormente se tomaron como referencia algunos mecanismos de seguidores para paneles solares que se fabrican en Europa, los cuales permiten un movimiento en dos ejes, como el que se desea utilizar.

Figura 84. Imágenes seguidores solares ADES15



---

Catalogo ADES Seguidores Solares. [www.ades.tv](http://www.ades.tv)

La adaptación de este diseño al del fotobioreactor, permite un ajuste mas sencillo entre el soporte del serpentín y la estructura posible, brindando una estabilidad adecuada para la aplicación.

Además, la nueva estructura debía ser más ligera y de una apariencia mucho menos robusta que la anterior, claro esta sin incurrir en gastos adicionales y complejos mecanismos de sujeción.

Después de todas estas consideraciones en el proceso de rediseño, se elaboró el modelamiento CAD del nuevo fotobiorreactor; que cumple con los requerimientos mencionados anteriormente. Este se muestra en la siguiente figura:

Figura 85. Fotobioreactor – Evolución del diseño

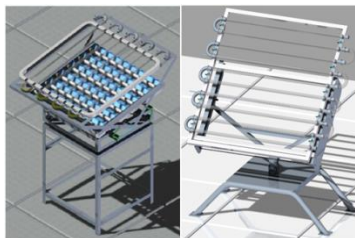


Figura 86. Seguidor para serpentín



El diseño definitivo incluye:

- Sistema de flujo de cultivo<sup>16</sup>, compuesto por un serpentín el cual contiene tubería en vidrio de 32 mm, codos de 1 ½" en acero inoxidable 304, mangueras elásticas de PVC flexible de 1 ½" con refuerzo de alambre de acero , flautas de inyección de CO<sub>2</sub> y bridas de acople rápido en acero inoxidable 304.
- Soporte para tubos de vidrio, fabricado con tubería cuadrada de aluminio de 50 mm.
- Abrazaderas dobles para ajuste de vidrios al soporte de aluminio.
- Travesaños laterales con pistas de inserción para soporte de serpentín fabricado en lámina de acero estructural, y guías ranuradas para posicionamiento angular manual de ¾" de ancho.

---

Se realizaron modificaciones en cuanto al número de tubos en el sistema de flujo. En este diseño se disponen 10 tubos.

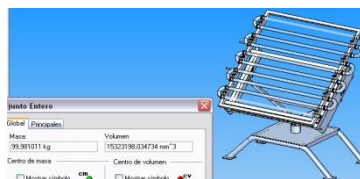
- Soporte triangular para serpentín y lámparas, fabricada en tubería cuadrada de acero estructural de 1" y 2mm de espesor, con apoyo en rodamiento de rodillos cónicos.
- Brazos de graduación para separación entre travesaños laterales.
- Estructura base principal fabricada en lámina de 3/16" de espesor, tubería de 1 1/2" de acero estructural y perfiles en L de 2" y alojamiento para rodamientos de rodillos cónicos y axiales de bolas.

### 3.8.1. Comparación en masa de ambos diseños

Figura 87. Masa total reactor inicial



Figura 88. Masa total Reactor final



La disminución en masa del diseño final con respecto al inicial es de aproximadamente un 30%, lo que permite afirmar que el diseño definitivo no solo cumple con requerimientos de materiales y costos, sino también cumple con solicitudes rotacionales sin una inercia tan grande como la presentada en el diseño preliminar.

De esta manera procedemos a determinar cuales piezas serán sometidas al respectivo análisis por elementos finitos, y la determinación de sus cargas.

### 3.8.2. Establecimiento de los elementos estructurales a analizar en el fotobiorreactor experimental definitivo

De acuerdo con el nuevo diseño, someteremos a análisis a tres elementos estructurales, los cuales se muestran a continuación.



Figura 89. Pieza 2 A-Travesaño lateral para soporte de serpentín

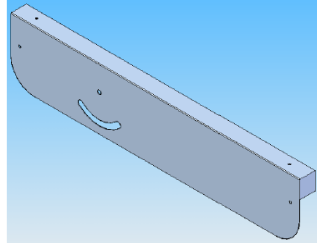


Figura 90. Pieza 2 B-Estructura Soporte Angular

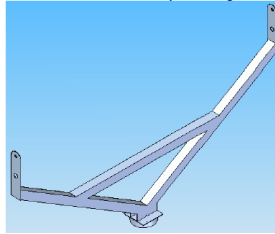
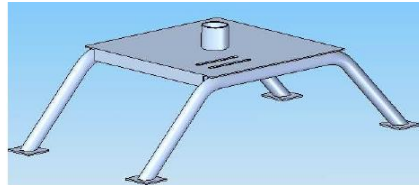


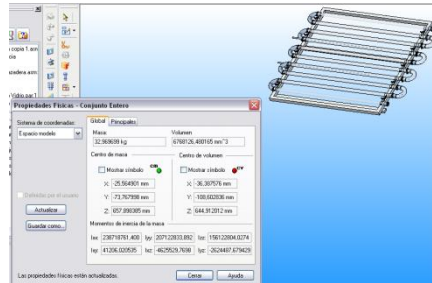
Figura 91. Pieza 2 C-Estructura Base



### 3.8.3. Determinación de cargas que actúan sobre las piezas a analizar

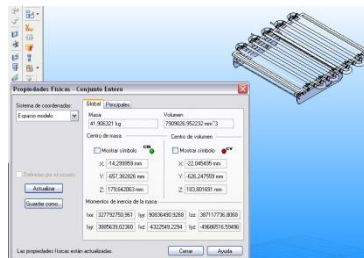
De la misma manera en que se procedió con el diseño preliminar, se encontrar las cargas que actúan sobre las piezas anteriores.

Figura 92. Masa del serpentín y su respectivo soporte



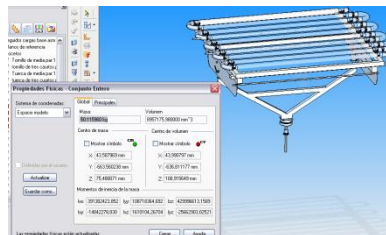
Esta masa descansa sobre los dos travesaños laterales que tiene el mecanismo, por lo tanto esta se dividirá en dos, al efectuar la simulación.

Figura 93. Masa que descansa sobre el soporte angular



Al igual que el anterior, esta masa también se dividirá en dos y se aplicara a lado y lado de los brazos del soporte angular.

Figura 94. Masa que descansa sobre la estructura base



A cada valor de masa obtenido en las figuras 28, 29 y 30; se le sumará la masa del fluido de cultivo calculada para el análisis del diseño preliminar (11,682 Kg.), para incluir este efecto dentro de los resultados.

Tabla 4. Comparación de pesos soportadas por las piezas a analizar

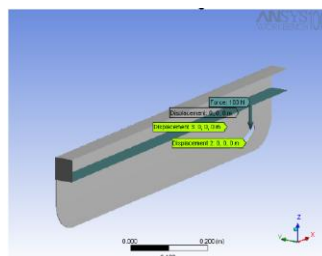
Elemento	Masa que descansa sobre el elemento (Kg)	Fuerza actuante (N)
Travesaño lateral para soporte de serpentín	$32.96 / 2 = 16.48$	162.83
Estructura soporte angular	41.906	412.44
Estructura Base	50.115	494.82

### 3.9. Realización del análisis estructural por elementos finitos al diseño definitivo del fotobiorreactor experimental

A continuación se muestra el análisis por elementos finitos de las piezas mencionadas anteriormente:

- *Pieza 2 A: Travesaño lateral soporte para serpentín*

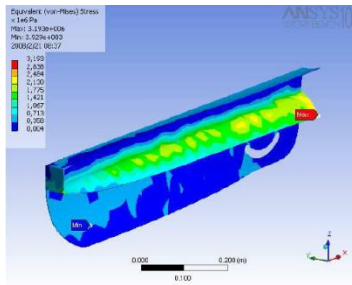
Figura 95. Condiciones de carga Pieza 2 A



Se aplicó la fuerza en una posición de alineación con el centro de gravedad del subconjunto de serpentín y su respectivo soporte, además de las restricciones de desplazamiento en los agujeros

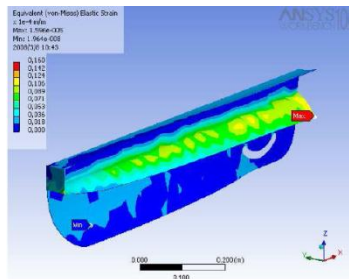
de ajuste al soporte angular y en la guía ranurada para inclinación. La fuerza es aplicada sobre el plano de contacto con el soporte del serpentín.

Figura 96. Esfuerzo equivalente Pieza 2 A



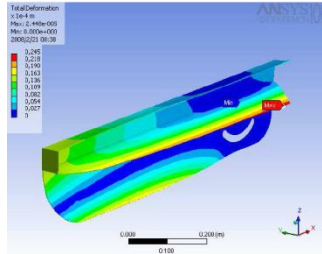
El máximo punto de esfuerzo se ubica en el borde de la lámina inferior de la pista de inserción, lo que podría suponer un estado de máxima tensión en ese punto debido a la flexión causada en el elemento por la aplicación de la fuerza. Sin embargo el valor no sobrepasa los 4 MPa.

Figura 97. Deformación Elástica Equivalente Pieza 2 A



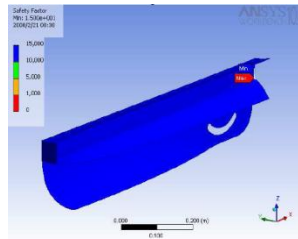
Debido a la proporcionalidad entre el esfuerzo y el porcentaje de deformación, la figura 33 muestra un comportamiento similar de la pieza durante la aplicación de la carga, además de indicar una elongación representativa en la unión de la pequeña platina tope situada a la izquierda de la imagen, con la lamina inferior de la pista. Este podría estar entre los 1.24 y los 1.42 % de elongación.

Figura 98. Deformación Total Pieza 2A



La deformación total máxima se presenta en el borde de la lamina inferior de la pista, pero en realidad es bastante pequeña ya que alcanza el orden de los 0.02 mm. Debido a esto, no habría riesgo de desplazamiento excesivo de estos puntos en la aplicación de la carga. En la parte Inferior de la pieza se observa también algún desplazamiento, tal vez causado por las restricciones establecidas.

Figura 99. Factor de seguridad Pieza 2 A



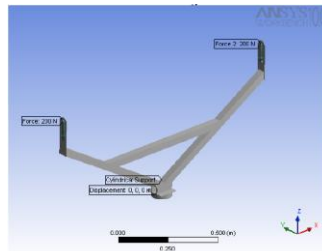
En cuanto al factor de seguridad, un mínimo de 1.5 permite definir la no existencia de deformaciones permanentes en el material y su ubicación precisa en la unión entre la lamina lateral y la lamina inferior de pista, evidencia la necesidad de de una buena aplicación de soldadura.

Figura 100. Resultados Estructurales Pieza 2 A

Ítem	Mínimo	Máximo
<b>Esfuerzo equivalente</b>	3928.68 Pa	3.19 MPa
<b>Deformación elástica equivalente</b>	$1.96 \times 10^{-8}$ m/m	$1.6 \times 10^{-5}$ m/m
<b>Deformación total</b>	0.0 m	$2.45 \times 10^{-5}$ m
<b>Factor de seguridad</b>	15	

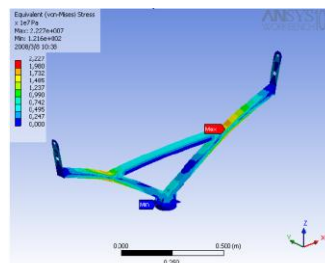
- *Pieza 2 B: Estructura Soporte Angular*

Figura 101. Condiciones de carga Pieza 2 B



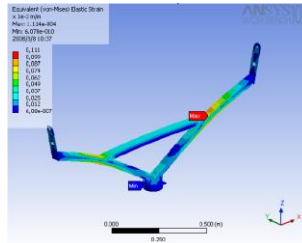
Tal como se indico anteriormente, la carga determinada para esta pieza se aplica distribuyéndola en los dos puntos como muestra la figura 36. Las restricciones son el soporte cilíndrico de la parte inferior ya que se dispondrá de un plato de ajuste de esta pieza a un rodamiento, y el desplazamiento cero del plano inferior.

Figura 102. Esfuerzo Equivalente Pieza 2 B



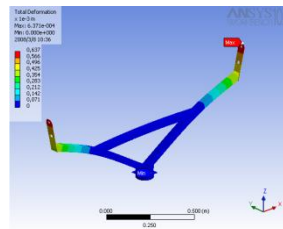
El punto de mayor esfuerzo se ubica en la unión del tubo horizontal con los dos brazos de la estructura, lo que hace estimar una necesidad de tener una buena aplicación de soldadura en estos puntos; a pesar de que el valor de esfuerzo no sea tan elevado (22 MPa).

Figura 103. Deformación Elástica Equivalente Pieza 2 B



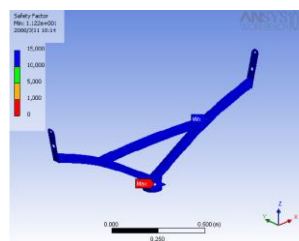
De igual manera se visualiza en la deformación elástica equivalente durante la aplicación de la carga, y su valor de 0.1 mm puede ser despreciado debido a que es mucho menor que las dimensiones de la estructura.

Figura 104. Deformación Total en Pieza 2 B



El máximo desplazamiento se presenta en los puntos de aplicación de la carga, y causado por la flexión de los segmentos de brazos soporte ubicados por encima del tubo horizontal. Este alcanza un valor de 0.67 mm, Sin embargo, debido a que uno de los parámetros de diseño fue la longitud del serpentín, habría que tener una tolerancia mayor en la medida de separación de los dos brazos soporte.

Figura 105. Factor de seguridad Pieza 2 B



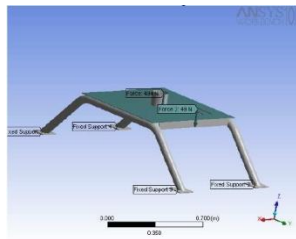
El factor de seguridad mínimo es de 1.12, justo en los puntos de mayor esfuerzo equivalente, hecho que ratifica la importancia de una buena aplicación de soldadura esta unión y algún tipo de refuerzo que permita disminuir el esfuerzo.

Tabla 5. Resultados Estructurales Pieza 2 B

Ítem	Mínimo	Máximo
Esfuerzo equivalente	121.55 Pa	22.3 MPa
Deformación elástica equivalente	$6.08 \times 10^{-10}$ m/m	$1.11 \times 10^{-4}$ m/m
Deformación Total	0.0 m	$6.37 \times 10^{-4}$ m/m
Factor de seguridad	11.22	

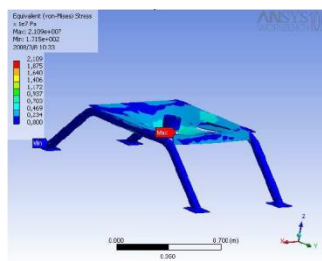
*Pieza 2 C: Estructura Base*

Figura 106. Condiciones de carga Pieza 2 C



Se visualiza la aplicación de la carga mayor debida a la estructura soporte angular y a los elementos que permiten el movimiento. Las restricciones son soportes fijos que se apoyan sobre el suelo. Una carga de 49 N se asume para ver el efecto del peso del moto reductor en la estructura.

Figura 107. Esfuerzo equivalente Pieza 2 C

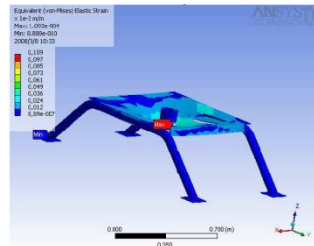


El punto de mayor esfuerzo se detalla en todo el centro de la lámina base, justo en la unión con la parte cilíndrica, este tiene un valor de 21 MPa. Esto es lo esperado ya que es en ese lugar donde



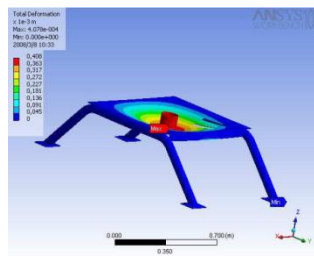
actúa la mayor parte de la carga. La fuerza que ejerce el motoreductor no produce ningún efecto representativo. En general el comportamiento es óptimo.

Figura 108. Deformación Elástica equivalente Pieza 2 C



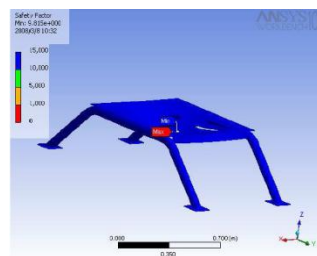
La máxima elongación se presenta en el mismo punto de mayor esfuerzo. No es representativa comparada con las dimensiones de la estructura.

Figura 109. Deformación Total Pieza 2 C



Al igual que las figuras anteriores, en punto de máximo desplazamiento se presenta en la unión de la lámina base y la parte cilíndrica. Es de aproximadamente 0.5 mm. Es aceptable.

Figura 110. Factor de seguridad Pieza 2 C



El factor de seguridad es óptimo y no hay riesgo de deformaciones permanentes.

Tabla 6. Resultados Estructurales Pieza 2 C

Ítem	Mínimo	Maximo
<b>Esfuerzo Equivalente</b>	171.53 MPa	21. 1 MPa
<b>Deformación elástica equivalente</b>	$8.89 \times 10^{-10}$ m/m	$1.09 \times 10^{-4}$ m/m
<b>Deformación Total</b>	0.0 m	$4.08 \times 10^{-4}$ m
<b>Factor de seguridad</b>	9.82	

### 3.10. Conclusiones del estudio estructural del fotobioreactor

En la elaboración del diseño preliminar no se tuvo en cuenta aspectos fundamentales para la operación del equipo como las condiciones de carga movimiento de la estructura, ya que inicialmente el mecanismo era demasiado robusto y algo complejo en cuanto a la estabilidad de los soportes del serpentín. En adición a esto, el mantenimiento de este equipo sería algo complicado debido a la dificultad de montaje.

El nuevo diseño de fotobioreactor presenta mayor facilidad de montaje y una mejor distribución de carga, además de presentar menores restricciones en el movimiento debido a su menor peso. Sin embargo, el análisis por elementos finitos evidencia algunas consideraciones en la fabricación del soporte angular, ya que algunas uniones especificadas se deben reforzar para disminuir el esfuerzo y aumentar el factor de seguridad del equipo.

# **ANEXO 6**

## ANEXO 6: TUBOS DE VIDRIO

# SCHOTT DURAN®: Características físicas y químicas



### Datos físicos

Coefficiente medio de dilatación lineal térmica $\alpha$ (20 °C; 300 °C) según la norma ISO 7991	3,3 · 10 <sup>-6</sup> K <sup>-1</sup>
Temperatura de transformación T <sub>g</sub>	525 °C
Temperaturas del vidrio para 10 <sup>13</sup> (temperatura enfriamiento superior)	560 °C
las viscosidades $\eta$ en dPa · s : 10 <sup>7,6</sup> (temperatura reblandecimiento)	825 °C
10 <sup>4</sup> (temperatura de trabajo)	1260 °C
Temperatura máxima admisible para uso de corta duración	500 °C
Densidad $\rho$ a 25 °C	2,23 g · cm <sup>-3</sup>
Módulo de elasticidad E (Young's modulus)	63 · 10 <sup>3</sup> N · mm <sup>-2</sup>
Índice de Poisson $\mu$	0,20
Conductividad térmica $\lambda_w$ a 90 °C	1,2 W · m <sup>-1</sup> · K <sup>-1</sup>
Temperatura para la resistencia eléctrica específica de 10 <sup>8</sup> $\Omega \cdot \text{cm}$ (norma DIN 52 326) t <sub>k 100</sub>	250 °C
Logaritmo de la resistencia eléctrica	a 250 °C 8
volumétrica ( $\Omega \cdot \text{cm}$ )	a 350 °C 6,5
Propiedades dieléctricas (1 MHz, 25 °C)	
Constante dieléctrica $\epsilon$	4,6
Factor de pérdida dieléctrica tan $\delta$	37 · 10 <sup>-4</sup>
Índice de refracción ( $\lambda = 587,6 \text{ nm}$ ) n <sub>d</sub>	1,473
Coefficiente de tensión óptica (norma DIN 52 314) K	4,0 · 10 <sup>-6</sup> mm <sup>2</sup> · N <sup>-1</sup>

### Resistencia a la presión de tubos y capilares de DURAN

Los valores que siguen se refieren a tubos resp. cuerpos huecos cilíndricos de sección circular no sometidos a tensiones, con un espesor de pared uniforme y extremos abiertos, libres de cargas térmicas, para una presión interior positiva y exterior negativa.

Cálculo de la resistencia a la presión (p)  
para un espesor de pared (ESP)  
y un diámetro exterior (DE):

$$p = \frac{ESP \cdot 20 \cdot \frac{R}{S}}{DE - ESP}$$

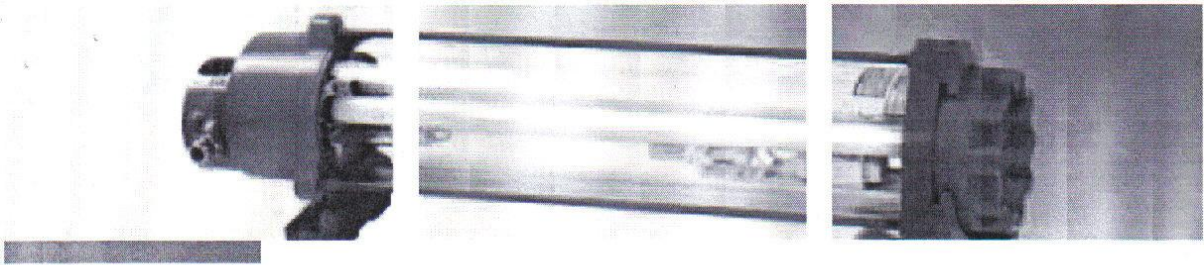
Cálculo del espesor de pared (ESP)  
para una resistencia a la presión (p)  
y un diámetro exterior (DE):

$$ESP = \frac{DE \cdot p}{20 \cdot \frac{R}{S} + p}$$

DE = Diámetro exterior, en mm      ESP = Espesor de pared, en mm

p = Resistencia a la presión       $\frac{R}{S}$  = Valor característico de resistencia = 7  $\frac{N}{\text{mm}^2}$

Con arreglo a la norma EN 1595 *Equipos a presión de vidrio borosilicato 3.3 – Reglas generales de diseño, fabricación y ensayo*, el vidrio borosilicato de DURAN es un material homologado, que puede ser empleado en la fabricación de equipos a presión. El fabricante de equipos a presión asume toda la responsabilidad sobre la elección de la calidad de los tubos de vidrio, así como sobre el tipo de diseño y el modo de fabricación correctos.



La resistencia a la presión (p) puede verse influida además por los siguientes factores:

- diferencia de temperaturas entre la pared interior y la pared exterior
- calidad de la superficie
- acabado de los extremos
- cumplimiento de las condiciones de montaje de la normativa sobre recipientes a presión
- longitud del tubo

En caso de necesidad podemos facilitarle cálculos exactos.

Además deben considerarse en este sentido:

- Ficha técnica "AD" N 4, edición 9.83: Recipientes a presión de vidrio, con Anexo 1, edición 6.85: Valoración de defectos en las paredes de recipientes a presión de vidrio
- Ficha técnica "AD" B 1, edición 6.86: Casquetes cilíndricos y esféricos bajo una sobrepresión interna

### Resistencia a los cambios de temperatura

La resistencia a los cambios de temperatura en base a la norma ISO 718 es la temperatura diferencial a la que, al sumergir la probeta muy caliente en un baño de agua fría (temperatura ambiente), un 50 % de las probetas muestran inicios de fisuras cuando la inmersión en agua se efectúa de forma rápida. La resistencia a los cambios de temperatura de tubos, capilares y varillas depende del espesor de la pared, de la forma y tamaño de la superficie enfriada repentinamente, del estado de la superficie, de las tensiones existentes y del acabado de los extremos. El calentamiento o enfriamiento irregular y rápido provoca fácilmente la rotura a causa de las tensiones de tracción generadas. Por ello se recomienda que la temperatura diferencial no sea superior a 120 °C. Para espesores de pared grandes esta temperatura diferencial está limitada a valores más pequeños. Como ejemplos de la resistencia de los tubos y varillas Duran de vidrio borosilicato 3.3 citamos a continuación algunos valores de medición que únicamente pueden ofrecerse a título orientativo, ya que pueden darse variaciones considerables entre piezas de dimensiones idénticas:



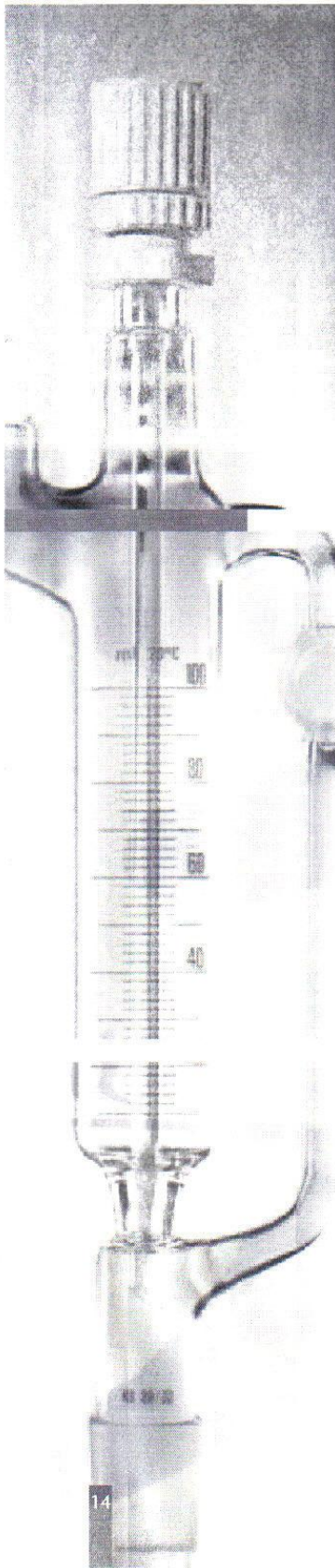
#### Tubos

DE 50,5/ ESP 5,00 mm: 220 °C  
 DE 133,0/ ESP 7,00 mm: 180 °C  
 DE 120,0/ ESP 8,00 mm: 180 °C

#### Varilla

Diámetro 24,0 mm: 140 °C





## SCHOTT DURAN®: Características físicas y químicas

Composición química en %-peso aprox.  
(componentes principales)

SiO <sub>2</sub>	B <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Na <sub>2</sub> O + K <sub>2</sub> O	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
81	13	4	2

### Resistencia química

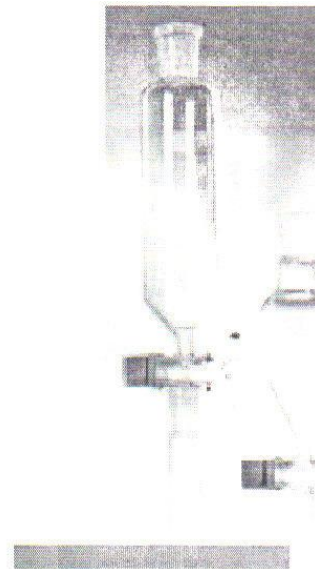
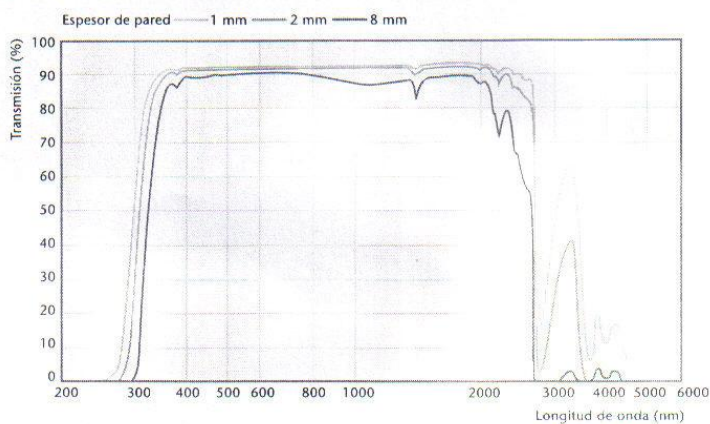
Clase hidrolítica (ISO 719)	HGB 1
Clase de resistencia a los ácidos (DIN 12116)	Clase S 1
Clase de resistencia a los álcalis (ISO 695)	Clase A 2

DURAN® vidrio borosilicato 3.3 es muy resistente al agua, a las soluciones neutras y ácidas, a los ácidos fuertes y sus mezclas, así como al cloro, al bromo, al yodo y a las sustancias orgánicas. También con tiempos de exposición prolongados y temperaturas superiores a 100° C, su resistencia química supera a la de la mayoría de los metales y otros materiales.

Mediante la acción del agua y los ácidos sólo se desprenden del vidrio pequeñas cantidades, principalmente de iones monovalentes, formándose entonces sobre la superficie del vidrio una capa de gel de sílice muy fina y poco porosa, que impide el ataque ulterior. El ácido fluorhídrico, el ácido fosfórico y las soluciones alcalinas atacan la superficie del vidrio dependiendo de la concentración y de la temperatura.



## Transmisión



## Indicaciones técnicas para la transformación

Las características favorables del material de los tubos, capilares y varillas DURAN® determinan su facilidad de transformación mediante los procedimientos usuales para la fabricación de vidrios técnicos, como el formado y corte. Para eliminar las tensiones temporales que se originan durante la transformación se calienta uniformemente el vidrio a como máximo 550 °C y se mantiene esta temperatura durante 30 minutos como máximo. Con espesores de pared reducidos, generalmente resulta suficiente una fracción de este tiempo. Considerando la resistencia química del vidrio, el tiempo de distensión deberá ser lo más corto posible. Para el consiguiente enfriado se recomiendan las velocidades de enfriamiento señaladas en la tabla siguiente:

### Velocidad de enfriamiento

Espesor de pared, en mm	Intervalo de temperaturas		
	550 a 480 °C	480 a 400 °C	400 a 20 °C
3	12 °C/min	24 °C/min	hasta 480 °C/min
6	3 °C/min	6 °C/min	hasta 120 °C/min
12	0,8 °C/min	1,6 °C/min	hasta 32 °C/min

Cuando sea preciso enfriar repetidas veces un mismo artículo, la suma de todos los tiempos de distensión no debería superar las dos horas para una temperatura de 550 °C. Los productos DURAN® pueden soldarse con vidrios borosilicato del mismo tipo sin que se generen tensiones y pueden trabajarse y distensionarse a las mismas temperaturas. Los tubos, capilares y vidrios DURAN® pueden imprimirse con pinturas de plata-cobre aplicables por difusión y con pinturas para serigrafía.

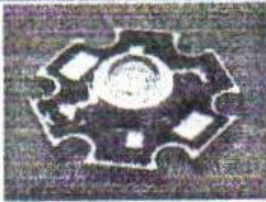
# **ANEXO 7**

**ANEXO 7: MANGUERA**



# **ANEXO 8**

ANEXO 8: DATOS TECNICOS LED DE POTENCIA



## LED DE POTENCIA

### DATOS TECNICOS

Voltaje		Longitud de Onda (Nm)		Intensidad Luminica (Mcd)		Flujo Luminoso (Lm)		Angulo
Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	

#### 1W

Amarillo	3.6	3.8	585	587.5	30.000	40.000	30.6	39.8	120
Azul	3.2	3.4	470	475	30.000	40.000	10.7	13.9	120
Rojo	2.8	3.0	610	615	30.000	40.000	39.8	51.7	120
Verde	3.2	3.4	520	525	40.000	60.000	67.2	87.4	120
Blanco	3.4	3.6	3200 k	3500 k	40.000	60.000	45.3	51.7	120

#### 3W

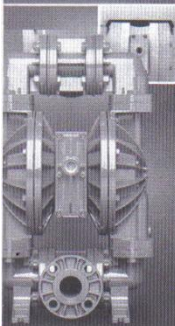
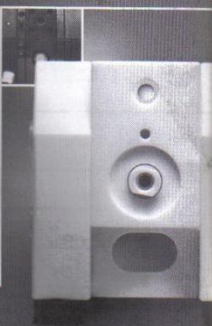
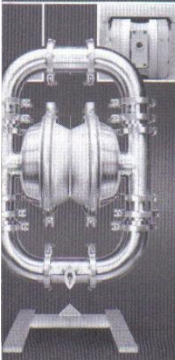
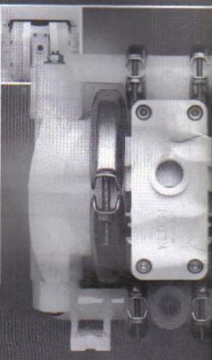
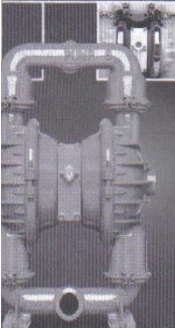

Amarillo	2.2	2.4	595	597.5	30.000	40.000	45.3	51.7	120
Azul	3.4	3.6	455	460	30.000	40.000	18.1	23.5	120
Rojo	3.0	3.2	620	630	30.000	40.000	59.8	67.2	120
Verde	3.6	3.8	5000 K	5500 K	40.000	60.000	129.5	147.7	120
Blanco	3.4	3.6	3200 K	3500 K	40.000	60.000	87.4	99.7	120

#### 5W

Amarillo	2.2	2.4	595	597.5	30.000	40.000	59.8	67.2	120
Azul	3.2	3.4	460	465	30.000	40.000	30.6	34.9	120
Rojo	2.6	2.8	620	630	30.000	40.000	99.7	113.6	120
Verde	3.6	3.8	510	530	40.000	60.000	168.4	192	120
Blanco	3.2	3.4	3000 K	3200 K	40.000	60.000	129.5	147.7	120

# ANEXO 9

ANEXO 9: MANUAL DE LA BOMBA

	<p><b>ADVANCED SERIES</b></p> <p><b>Advance Your Process</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Advanced wetted path designs</li> <li>Lower the cost of operation</li> <li>Maximize product containment</li> <li>Longer MTBF (Mean Time Between Failures)</li> <li>Enhanced internal clearance</li> <li>The result of advanced thought</li> </ul>	<p><b>UNITEC SERIES</b></p> <p><b>Enrich Your Process</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Simplicity of design</li> <li>Unique Technology</li> <li>Reliable, leak-free &amp; quiet</li> <li>Validated &amp; certified</li> <li>Intrinsically safe</li> <li>The result of unique thought</li> </ul>	
	<p><b>SANIFLO</b> SANITARY PUMP TECHNOLOGY</p> <p><b>Refine Your Process</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Designed for sanitary applications</li> <li>Minimize product degradation</li> <li>Improved production yields</li> <li>Easy to inspect, clean &amp; assemble</li> <li>Minimized water requirements</li> <li>The result of progressive thought</li> </ul>	<p><b>ULTRAPURE</b> PTFE PROCESS PUMPS</p> <p><b>Optimize Your Process</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Validated &amp; certified</li> <li>Clean room assembled</li> <li>Low particle count</li> <li>Compact, efficient &amp; quiet</li> <li>Runs on clean-dry air</li> <li>The result of pure thought</li> </ul>	
	<p><b>ORIGINAL SERIES</b></p> <p><b>Simplify Your Process</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Long standing design simplicity</li> <li>Portable &amp; submersible</li> <li>Variable connection options</li> <li>Fewest parts in industry</li> <li>Solutions since 1955</li> <li>The result of original thought</li> </ul>	<p><b>ACCESSORIES</b></p> <p><b>Maximize Your Process</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Electronic control &amp; monitoring</li> <li>Level control &amp; containment</li> <li>Pulsation dampening</li> <li>Drum unloading systems</li> <li>Complete system solutions</li> <li>The result of innovative thought</li> </ul>	
<p><b>WILDEN®</b> A DOVER COMPANY</p> <p>22069 VAN BUREN STREET • GRAND TERRACE, CA 92313-5607 (909) 422-1730 • FAX (909) 783-3440 www.wildenpump.com</p>		<p>Your Local Authorized Distributor:</p> <div style="border: 1px solid black; height: 80px; width: 100%;"></div> <p>Printed in the U.S.A. Copyright 2005, Wilden Pump &amp; Engineering, LLC</p>	






## DECLARATION OF CONFORMITY

Page 10

---

Manufacturer: Wilden Pump & Engineering, LLC  
Address : 22069 Van Buren Street  
Grand Terrace, CA 92313-5607

The Wilden product listed conforms to the standards and directives described below.  
Wilden Representative (Responsible Person): Gary K. Lent Position: V.P. of Engineering

Signature:  Date: 12/06/07

---

Model Number: 00-9612  
Serial Number: 0020867963  
Description : P.025/PPPPP/WES/TF/PWF  
Manufacturing no: M696130

---

WF01 - The Wilden product listed conforms to the Machinery Directive  
98/37/EC; Part 1 of Annex I and complies with the relevant requirements  
of EN ISO 12100-1: Safety of machinery



# MANUAL DE SEGURIDAD



## SPANISH / ESPAÑOL



### MANUAL DE SEGURIDAD

Wilden Pump & Engineering, LLC.

Suplemento del Manual de Ingeniería, Operación y Mantenimiento

### IMPORTANTE



LEA ESTE MANUAL ANTES DE INSTALAR, OPERAR, INSPECCIONAR Y EFECTUAR EL MANTENIMIENTO DEL PRODUCTO

Este manual de seguridad se aplica a todas las bombas y supresores de pulsaciones Tilden, y ofrece instrucciones para su segura instalación, operación, inspección y mantenimiento. No hacer caso de estas instrucciones podrá resultar en graves lesiones personales, incluso la muerte, y causar importantes daños al producto y a la propiedad.

Este documento es un suplemento del Manual de Ingeniería, Operación y Mantenimiento. Es importante consultar el Manual de Ingeniería, Operación y Mantenimiento para obtener información adicional acerca de productos específicos.

#### CONSIDERACIONES GENERALES DE SEGURIDAD

- Verifique que el modelo recibido coincida con la orden de compra u hoja de especificaciones.
- Cerciórese de que todos los operadores estén adecuadamente capacitados y observe las reglas seguras de operación y mantenimiento descritas en este Manual de Seguridad, la Guía del Usuario de la Bomba, y del Manual de Ingeniería, Operación y Mantenimiento del producto específico.
- Utilice equipos de seguridad adecuados durante la instalación, operación, inspección y mantenimiento del producto. Tome las precauciones necesarias para evitar el contacto con los fluidos de proceso, limpieza y demás químicos. Puede ser necesario el uso de guantes, ropa de trabajo, protección facial y otros equipos para proteger adecuadamente al personal. Todo el personal debe examinar la Hoja de Datos de Seguridad del Material (MSDS - Material Safety Data Sheet) para todos los fluidos de proceso y limpieza, y observar las instrucciones para su manejo.
- Utilice protección ocular y equipos de seguridad adicionales durante la operación de la bomba. De producirse la rotura de un diafragma, el material bombeado puede escapar por la tubería de escape de aire.
- Utilice siempre protección para los oídos. El ruido de la bomba puede exceder los 75 dBA bajo ciertas condiciones de operación.

#### INSTALACIÓN DEL PRODUCTO

- Consulte siempre las instrucciones detalladas de instalación suministradas en el Manual de Ingeniería, Operación y Mantenimiento.
- Verifique y vuelva a ajustar todos los pernos, tornillos y elementos de sujeción conforme con las especificaciones suministradas en el Manual de Ingeniería, Operación y Mantenimiento.
- Al seleccionarse tuberías y mangueras de succión y descarga deben tenerse en cuenta las presiones y temperaturas de la aplicación, las presiones máximas del producto y un factor aceptable de seguridad. Con todas las bombas Rhino de alta presión de la serie H deben tomarse precauciones adicionales debido a la elevada presión de descarga que producen. Consulte el Manual de Ingeniería, Operación y Mantenimiento del producto o a su vendedor local para obtener información adicional al respecto.
- Durante su funcionamiento, la bomba puede producir movimientos indeseados. Todas las bombas deben estar apertadas a una superficie segura, plana y nivelada.
- Enjuague a fondo las bombas antes de la instalación para reducir la posibilidad de contaminación de fluidos de proceso o de reacción química.
- Las bombas y accesorios sujetos a regulaciones de la FDA, USDA y 3A deben limpiarse o desinfectarse antes de ponerse en uso.
- Asegure la ventilación adecuada de cualquier tanque o depósito de líquidos. La bomba puede generar alta succión de entrada y condiciones de presión de descarga. Una ventilación inadecuada puede ocasionar la ruptura del depósito de líquidos.
- Al usarse cualquier gas que no sea aire comprimido para activar el producto, verifique que el entorno disponga de ventilación adecuada. El escape de gases o fugas del sistema pueden desplazar aire del ambiente creando riesgos de sofocación.  
Para situaciones de emergencia deberá instalarse una válvula de cierre de aire (suministrada por el usuario) sobre la bomba. La válvula de cierre de aire debe estar ubicada a suficiente distancia de la bomba como para que pueda tenerse acceso a la misma de forma segura en una situación de emergencia.
- En caso de un corte energía, de no desearse que se reinicie el sistema una vez restaurado el servicio eléctrico, deberá cerrarse la válvula de cierre.

#### FUNCIONAMIENTO DEL PRODUCTO

- No exceda la presión máxima de suministro de aire. Consulte el Manual de Ingeniería, Operación y Mantenimiento para obtener información acerca de la presión máxima de suministro de aire.
- No exceda la presión máxima del pasaje de fluido de la bomba. Consulte el Manual de Ingeniería, Operación y Mantenimiento o comuníquese con la fábrica para obtener información al respecto.
- La presión de suministro de aire no deberá exceder 3.4 barías (50 psig) en modelos listados en UL 79.
- La presión de entrada de fluido no debe exceder 0.7 baría (10 psig) para reducir la posibilidad de desgaste prematuro y fallo de las piezas

WILDEN PUMP & ENGINEERING, LLC • 22069 VAN BUREN STREET • GRAND TERRACE, CA 92313 TEL (909) 422-1730 FAX (909) 783-3440

www.wildenpump.com



# MANUAL DE SEGURIDAD

## MANTENIMIENTO DEL PRODUCTO

- Observe todas las instrucciones de mantenimiento suministradas en el Manual de Ingeniería, Operación y Mantenimiento.
- Utilice siempre elementos de protección para manos y ojos para impedir lesiones durante los trabajos de instalación y mantenimiento.  
Por ejemplo: La remoción de una tapa del sistema de distribución de aire Turbo-Flo® con aire comprimido puede despedirla con fuerza considerable.
- Antes de efectuar cualquier trabajo de mantenimiento o reparación, debe desconectarse la línea de aire comprimido al producto y dejarse escapar toda la presión de aire. Cierre las válvulas del sistema para aislar la entrada y la descarga del producto. Cuidadosamente quite la presión de entrada y descargue las tuberías antes de efectuar la desconexión del producto. Quite cualquier fluido de las bombas poniéndolas en posición invertida y déjelo caer dentro de un recipiente adecuado. Enjuague las bombas a fondo antes de efectuar el mantenimiento.

## CUMPLIMIENTO CON LAS REGULACIONES

- Verifique siempre que la instalación, operación, inspección y mantenimiento del producto se ajuste a lo dispuesto por todas las leyes, regulaciones y códigos aplicables.
- No todos los productos cumplen con todas las normas regulatorias. Consulte a su vendedor local acerca de los modelos que cumplen con los requisitos regulatorios de su zona.

## PREVENCIÓN DE INCENDIOS Y EXPLOSIONES – USO DE PRODUCTOS EN ZONAS DE EXPLOSIONES

- Existen riesgos de incendio y/o explosión bajo ciertas condiciones. Estas condiciones incluyen, aunque no se limitan, a las siguientes:
  - El bombeo de fluidos inflamables (en algunos casos puede existir riesgo adicional debido a la formación de vapores o gases al producirse escapes del fluido procesado a través de una fuga, fallo de componentes o mantenimiento inadecuado)
  - El uso del producto en atmósferas inflamables (las atmósferas pueden ser inflamables debido a la presencia de gases, polvos o vapores)
  - La ubicación de materiales inflamables cerca del producto
  - Los productos impulsados por gases inflamables (por ejemplo, gas natural o mezcla de aire y aceite de compresor inflamable)
- Los modelos de bombas Wilden estándar no deben alimentarse con gases inflamables. Consulte a la fábrica acerca de los modelos específicos diseñados para su alimentación con gases inflamables.
- Téngase en cuenta los peligros asociados con la aplicación específica y el entorno de la aplicación. Observe todas las leyes, regulaciones y códigos aplicables.
- No utilice el producto si hubiera cualquier duda acerca de la seguridad de su aplicación.
- El funcionamiento del equipo y los fluidos en las tuberías pueden generar electricidad estática. Para aplicaciones potencialmente inflamables o explosivas es necesario usar equipos con conexión a tierra para prevenir descargas de electricidad estática. La bomba, tuberías, válvulas, depósitos y otros equipos deben estar conectados a tierra. Para asegurar que el equipo esté en condiciones de operar con seguridad deben realizarse inspecciones periódicas de las conexiones a tierra.
- La temperatura de la superficie del equipo debe mantenerse por debajo de la temperatura de ignición de cualquier atmósfera potencialmente explosiva. La temperatura de la superficie es afectada por la temperatura del fluido bombeado y la energía cinética agregada por la bomba y su aplicación (p. ej., recirculación del medio empleado en el proceso). El usuario final debe verificar que la temperatura máxima del medio empleado en el proceso y el equipo sea aceptable para el entorno.
- Los equipos eléctricos tienen consideraciones especiales cuando se los usa en entornos explosivos. Verifique que los equipos eléctricos posean el régimen de utilización correcta para la aplicación del caso.

## CONSIDERACIONES ACERCA DE LA DIRECTIVA ATEX PARA BOMBAS

- Los productos sujetos a la directiva ATEX fueron evaluados para su uso en atmósferas potencialmente explosivas de acuerdo con la Directiva Europea 94/9/EC (ATEX 100a). Los usuarios de productos sujetos a la directiva ATEX deben estar familiarizados con los requisitos de ATEX y observar todas las indicaciones de seguridad.
- Todas las etiquetas de identificación de productos sujetos a la directiva ATEX indican el régimen de utilización del modelo específico. Verifique que el régimen de utilización de la directiva ATEX sea apropiado para la aplicación.
- Es responsabilidad del usuario final de los productos sujetos a la directiva ATEX asegurar que el lugar de uso haya sido correctamente evaluado conforme con la Directiva 1999/92/EC ANEXO I (ATEX 137), y que el equipo instalado en servicio sea compatible con esa clasificación.
- La bomba debe tener conexión a tierra. La conexión a tierra se marca con una etiqueta con el símbolo de la conexión.
- Los equipos del Grupo I, Categoría M2, de la directiva ATEX deben estar desconectados en una atmósfera explosiva. Esto se logra desconectando el suministro de aire.
- Cuando se reemplacen componentes desgastados o dañados a productos utilizados en entornos sujetos a la directiva ATEX, utilice solamente piezas aprobadas para uso en dichos entornos.

## REQUISITOS DE U.L. PARA BOMBAS

- La presión de suministro de aire o de descarga de fluidos no deberá exceder 3.4 barías (50 psig) en modelos listados en UL 79.
- Todas las conexiones de tuberías deben hacerse con compuesto para tubos resistente a la gasolina conforme a las clasificaciones de UL.
- Todas las instalaciones deben cumplir con el Código de Líquidos Inflamables y Combustibles NFPA 30 o el Código de Estaciones de Servicio Automotor o Marino NFPA 30A, y todos los demás códigos aplicables.
- El escape de la bomba debe conectarse a una tubería o tubo con salida al exterior u otros lugares equivalentes.
- La bomba debe estar equipada con una válvula de seguridad de presión con régimen de utilización máximo de 3.4 barías (50 psig). Esta válvula debe estar conectada a la línea de descarga de la bomba para dar salida a la presión resultante de la expansión térmica. La válvula de seguridad de presión debe incorporar una línea de retorno al tanque de abastecimiento.
- La bomba debe tener conexión a tierra. La conexión a tierra se marca con una etiqueta con el símbolo de la conexión.



# MANUAL DE SEGURIDAD

## REQUISITOS DE CSA INTERNATIONAL PARA BOMBAS

- La bomba debe tener conexión a tierra mediante el conductor suministrado. Una conexión a tierra inadecuada puede ocasionar la operación inadecuada y peligrosa del equipo.
- La salida de gas de la bomba debe ventilarse a un lugar seguro conforme con los códigos locales o, en su ausencia, de códigos industriales o nacionalmente reconocidos con jurisdicción sobre la instalación específica.

## REQUISITOS ELÉCTRICOS

- Verifique que las conexiones eléctricas se efectúen conforme con el Manual de Ingeniería, Operación y Mantenimiento y las leyes, regulaciones y códigos locales.
- Desconecte siempre el suministro de energía antes de efectuar los procedimientos de instalación o mantenimiento.
- Proteja todas las conexiones eléctricas para evitar su exposición al entorno y fluidos.

## APLICACIONES SUMERGIBLES

- No todas las bombas pueden usarse en aplicaciones sumergibles. Consulte el Manual de Ingeniería, Operación y Mantenimiento.
- Cuando se use una bomba sumergible, tanto el pasaje de fluido de la bomba como los componentes externos deben ser compatibles con el elemento en que será sumergida la bomba.
- Las bombas sumergidas deben tener una manguera adosada al escape de aire y la tubería de escape debe estar por encima del nivel del líquido.

## REQUISITOS QUÍMICOS Y DE TEMPERATURA

- Verifique que todos los componentes en contacto con los líquidos, incluso los elastómeros, sean químicamente compatibles con todos los fluidos del proceso o de limpieza para minimizar los riesgos a reacciones químicas peligrosas. Por ejemplo: El bombeo de solventes hidrocarbúricos halogenados con una bomba de aluminio crea el potencial de explosión por la corrosión de los componentes de aluminio.
- La compatibilidad química puede cambiar con la concentración y temperatura del fluido del proceso.
- Verifique los límites de temperatura de todos los componentes, incluso los elastómeros. Por ejemplo: El elastómero Viton® tiene un límite máximo de temperatura de 176.7°C (350°F) pero el polipropileno tiene un límite máximo de sólo 79°C (175°F), por lo tanto, una bomba de polipropileno equipada con Viton® está limitada a una temperatura de 79°C (175°F).
- Los límites máximos de temperatura y presión se basan solamente en la fatiga mecánica. Ciertos químicos reducirán significativamente la temperatura máxima de operación y/o presión seguras.
- Consulte siempre la Guía de Resistencia Química de Wilden o comuníquese con su distribuidor local respecto de productos específicos.

## LÍMITES DE TEMPERATURA

Envuelta de la bomba		
Acetal	-28.9°C a 82.2°C	-20°F a 180°F
Acetal con fibras de carbón	-28.9°C a 65.6°C	-20°F a 150°F
Nylon	-17.8°C a 93.3°C	0°F a 200°F
Polipropileno	0°C a 79°C	32°F a 175°F
PVDF	-12°C a 107°C	10°F a 225°F
Teflon® PFA (UPII)	-28.9°C a 148.9°C	-20°F a 300°F
Teflon® PFA (todas las demás variedades)	-28.9°C a 107.2°C	-20°F a 225°F
Elastómeros		
Buna-N	-12.2°C a 82.2°C	10°F a 180°F
Neopreno	-17.8°C a 93.3°C	0°F a 200°F
Nordel®	-51.1°C a 137.8°C	-60°F a 280°F
Poliuretano	-12.2°C a 65.6°C	10°F a 150°F
Saniflex™	-28.9°C a 104.4°C	-20°F a 220°F
Teflon® PTFE (UPII)	4.4°C a 148.9°C	40°F a 300°F
Teflon® PTFE (todas las demás variedades)	4.4°C a 104.4°C	40°F a 220°F
Viton®	-40°C a 176.7°C	-40°F a 350°F
Wil-Flex™	-40°C a 107.2°C	-40°F a 225°F
Rhino™	-12.2°C a 65.6°C	10°F a 150°F
límites de temperatura de Unitec™		
Polietileno conductivo	0.0°C a 70.0°C	32°F a 158°F
Teflon® PTFE		
Serie UU, UA.025, UA.	038 0.0°C a 100.0°C	32°F a 212°F
UU de alta temperatura	0.0°C a 200.0°C	32°F a 392°F
Todos los demás	0.0°C a 120.0°C	32°F a 248°F





### ADVANCED S E R I E S

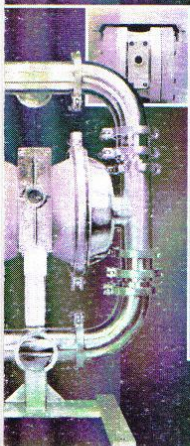
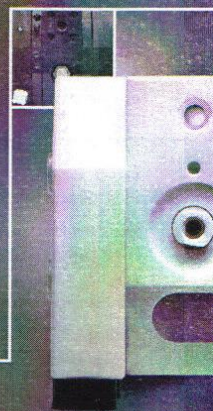
#### Advance Your Process

- Advanced wetted path designs
- Lower the cost of operation
- Maximize product containment
- Longer MTBF (Mean Time Between Failures)
- Enhanced internal clearance
- The result of advanced thought

### UNITEC S E R I E S

#### Enrich Your Process

- Simplicity of design
- Unique Technology
- Reliable, leak-free & quiet
- Validated & certified
- Intrinsically safe
- The result of unique thought



### SANIELO SANITARY PUMP TECHNOLOGY

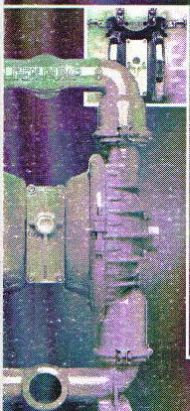
#### Refine Your Process

- Designed for sanitary applications
- Minimize product degradation
- Improved production yields
- Easy to inspect, clean & assemble
- Minimized water requirements
- The result of progressive thought

### ULTRAPURE PTFE PROCESS PUMPS

#### Optimize Your Process

- Validated & certified
- Clean room assembled
- Low particle count
- Compact, efficient & quiet
- Runs on clean-dry air
- The result of pure thought



### ORIGINAL S E R I E S

#### Simplify Your Process

- Long standing design simplicity
- Portable & submersible
- Variable connection options
- Fewest parts in industry
- Solutions since 1955
- The result of original thought

### ACCESSORIES

#### Maximize Your Process

- Electronic control & monitoring
- Level control & containment
- Pulsation dampening
- Drum unloading systems
- Complete system solutions
- The result of innovative thought



# WILDEN®

A DOVER COMPANY

22069 VAN BUREN STREET • GRAND TERRACE, CA 92313-5607  
(909) 422-1730 • FAX (909) 783-3440  
www.wildenpumps.com

Your Local Authorized Distributor:

Printed in the U.S.A.      Copyright © 2005 Wilden Pumps, Inc.      11-0

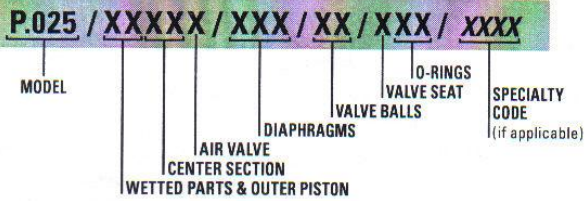


**WILDEN PUMP DESIGNATION SYSTEM**

**P.025 ORIGINAL™  
 PLASTIC**

**6 mm (1/4") Pump  
 Maximum Flow Rate:  
 18.2 lpm (4.8 gpm)**

**LEGEND**



**MATERIAL CODES**

**WETTED PARTS & OUTER PISTON**

- KK = PVDF / PVDF
- KZ = PVDF / NO PISTON
- PP = POLYPROPYLENE / POLYPROPYLENE
- PZ = POLYPROPYLENE / NO PISTON

**CENTER SECTION**

- LL = ACETAL
- PP = POLYPROPYLENE

**AIR VALVE**

- L = ACETAL
- P = POLYPROPYLENE

**DIAPHRAGMS**

- BNS = BUNA-N (Red Dot)
- TNL = PTFE W/ NEOPRENE BACK-UP O-RING, IPD (White)
- WFS = WIL-FLEX™ [Santoprene® (Orange Dot)]

**VALVE BALL**

- TF = PTFE (White)

**VALVE SEAT**

- K = PVDF
- P = POLYPROPYLENE

**VALVE SEAT O-RING**

- BN = BUNA-N (Red Dot)
- TV = PTFE ENCAP. VITON®
- WF = WIL-FLEX™ [Santoprene®]

**SPECIALTY CODES**

- 0502 PFA coated hardware
- 0512 Adapter block, no muffler, Pro-Flo®, center section

Viton® is a registered trademark of Dupont Dow Elastomers.

HOW IT WORKS

The Wilden diaphragm pump is an air-operated, positive displacement, self-priming pump. These drawings show flow pattern through the pump upon its initial stroke. It is assumed the pump has no fluid in it prior to its initial stroke.

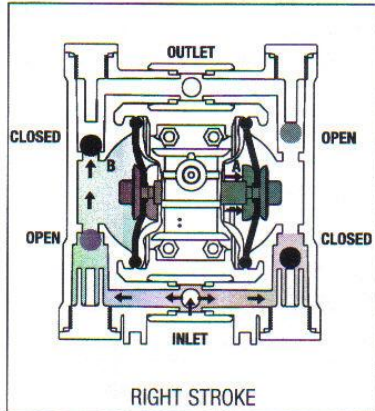


FIGURE 1 The air valve directs pressurized air to the back side of diaphragm A. The compressed air is applied directly to the liquid column separated by elastomeric diaphragms. The diaphragm acts as a separation membrane between the compressed air and liquid, balancing the load and removing mechanical stress from the diaphragm. The compressed air moves the diaphragm away from the center block of the pump. The opposite diaphragm is pulled in by the shaft connected to the pressurized diaphragm. Diaphragm B is on its suction stroke; air behind the diaphragm has been forced out to the atmosphere through the exhaust port of the pump. The movement of diaphragm B toward the center block of the pump creates a vacuum within chamber B. Atmospheric pressure forces fluid into the inlet manifold forcing the inlet valve ball off its seat. Liquid is free to move past the inlet valve ball and fill the liquid chamber (see shaded area).

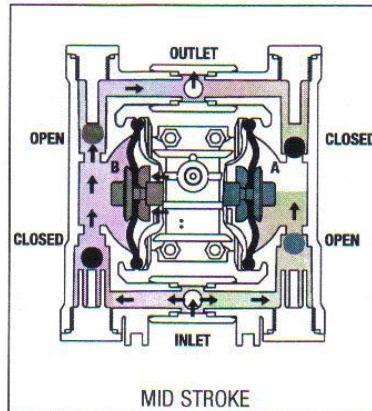


FIGURE 2 When the pressurized diaphragm, diaphragm A, reaches the limit of its discharge stroke, the air valve redirects pressurized air to the back side of diaphragm B. The pressurized air forces diaphragm B away from the center block while pulling diaphragm A to the center block. Diaphragm B is now on its discharge stroke. Diaphragm B forces the inlet valve ball onto its seat due to the hydraulic forces developed in the liquid chamber and manifold of the pump. These same hydraulic forces lift the discharge valve ball off its seat, forcing fluid to flow through the pump discharge. The movement of diaphragm A toward the center block of the pump creates a vacuum within liquid chamber A. Atmospheric pressure forces fluid into the inlet manifold of the pump. The inlet valve ball is forced off its seat allowing the fluid being pumped to fill the liquid chamber.

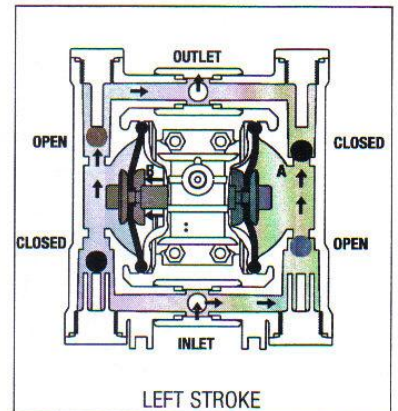


FIGURE 3 At completion of the stroke, the air valve again redirects air to the back side of diaphragm A, which starts diaphragm B on its exhaust stroke. As the pump reaches its original starting point, each diaphragm has gone through one exhaust and one discharge stroke. This constitutes one complete pumping cycle. The pump may take several cycles to completely prime depending on the conditions of the application.

HOW IT WORKS—AIR DISTRIBUTION SYSTEM

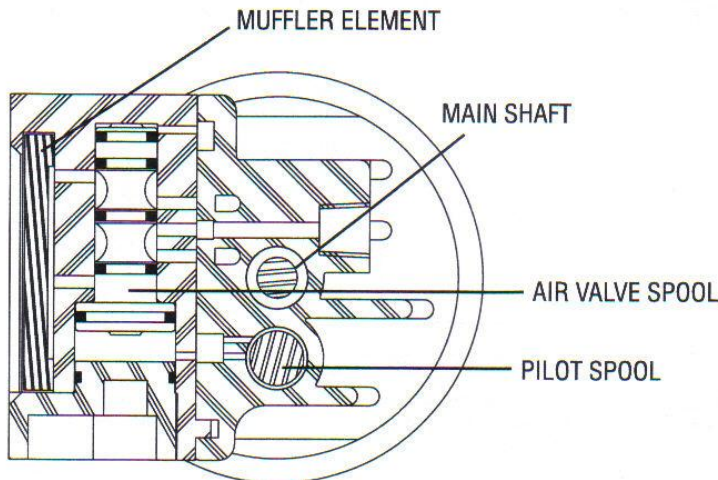
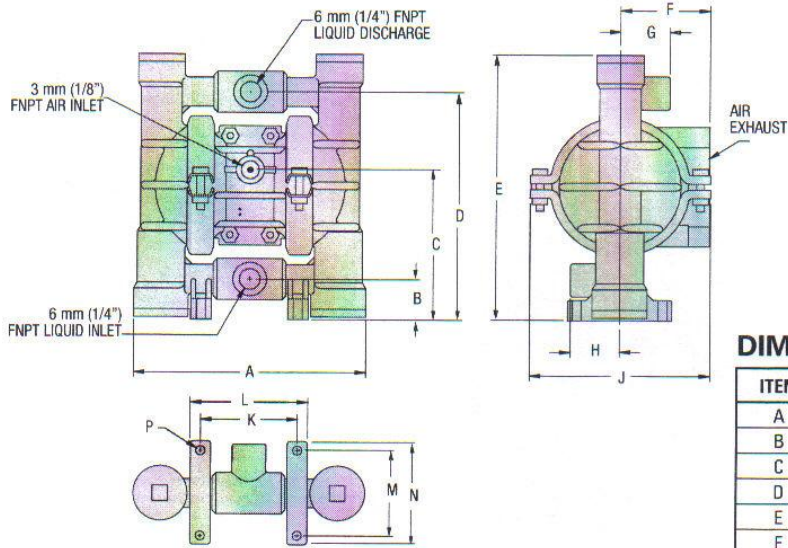


Figure 1 The Pro-Flo<sup>®</sup> patented air distribution system incorporates three moving parts: the air valve spool, the pilot spool, and the main shaft/diaphragm assembly. The heart of the system is the air valve spool and air valve. As shown in Figure 1, this valve design incorporates an unbalanced spool. The smaller end of the spool is pressurized continuously, while the large end is alternately pressurized and exhausted to move the spool. The spool directs pressurized air to one chamber while exhausting the other. The air causes the main shaft/diaphragm assembly to shift to one side — discharging liquid on one side and pulling liquid in on the other side. When the shaft reaches the end of its stroke, it actuates the pilot spool, which pressurizes and exhausts the large end of the air valve spool. The pump then changes direction and the same process occurs in the opposite direction, thus reciprocating the pump.



**DIMENSIONAL DRAWINGS**



**DIMENSIONS**

ITEM	METRIC (mm)	STANDARD (inch)
A	145	5.7
B	25	1.0
C	94	3.7
D	140	5.5
E	163	6.4
F	56	2.2
G	30	1.2
H	30	1.2
J	114	4.5
K	61	2.4
L	74	2.9
M	53	2.1
N	64	2.5
P	Ø13	Ø.5

**P.025 PLASTIC RUBBER-FITTED**

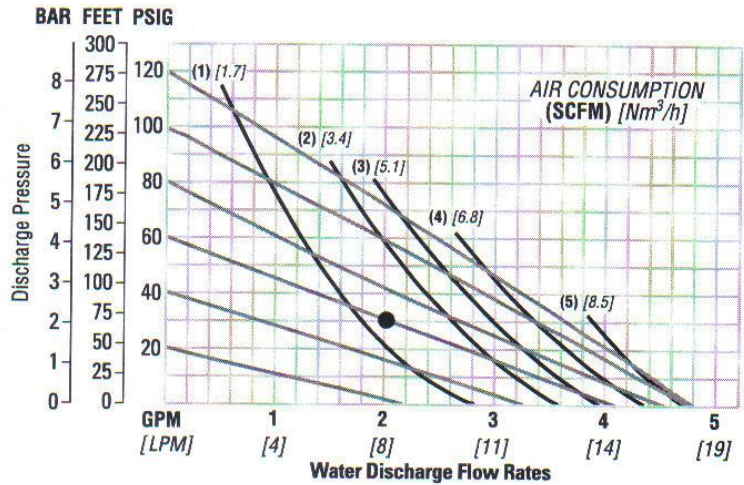
Height.....163 mm (6.4")  
 Width.....145 mm (5.7")  
 Depth.....115 mm (4.5")  
 Est. Ship Weight.....Polypropylene 1.4 kg (3 lbs)  
 PVDF 1.4 kg (3 lbs)  
 Air Inlet.....3 mm (1/8")  
 Inlet.....6 mm (1/4")  
 Outlet.....6 mm (1/4")  
 Suction Lift.....2.74 m Dry (9')  
 9.45 m Wet (31')

Displacement per Stroke .....0.02 l (0.004 gal.)<sup>1</sup>  
 Max. Flow Rate.....18.1 lpm (4.8 gpm)  
 Max. Size Solids.....0.4 mm (1/64")

<sup>1</sup>Displacement per stroke was calculated at 4.8 bar (70 psig) air inlet pressure against a 2 bar (30 psig) head pressure.

**Example:** To pump 7.6 lpm (2 gpm) against a discharge pressure head of 2 bar (30 psig) requires 4.1 bar (60 psig) and 2.0 Nm<sup>3</sup>/h (1.2 scfm) air consumption. (See dot on chart.)

**Caution:** Do not exceed 8.6 bar (125 psig) air supply pressure.



Flow rates indicated on chart were determined by pumping water.

For optimum life and performance, pumps should be specified so that daily operation parameters will fall in the center of the pump performance curve.

**P.025 PLASTIC TPE-FITTED**

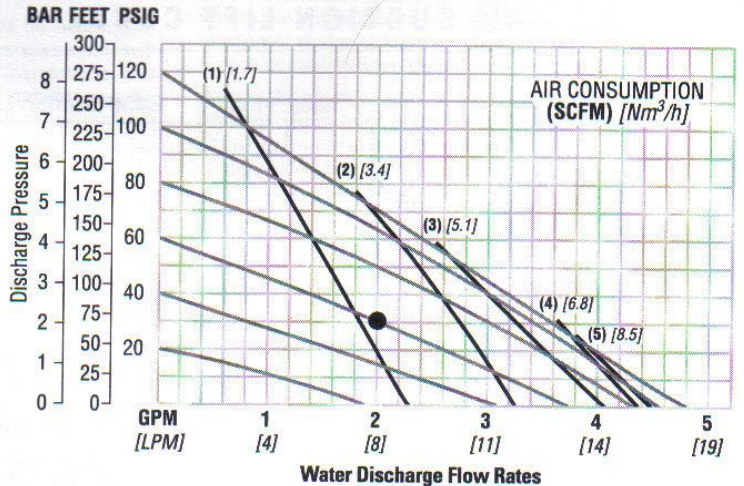
Height.....163 mm (6.4")  
 Width.....145 mm (5.7")  
 Depth.....115 mm (4.5")  
 Est. Ship Weight.....Polypropylene 1.4 kg (3 lbs)  
 PVDF 1.4 kg (3 lbs)  
 Air Inlet.....3 mm (1/8")  
 Inlet.....6 mm (1/4")  
 Outlet.....6 mm (1/4")  
 Suction Lift.....3.05 m Dry (10')  
 8.84 m Wet (29')

Displacement per Stroke .....0.02 l gal. (0.005)<sup>1</sup>  
 Max. Flow Rate.....18.1 lpm (4.8 gpm)  
 Max. Size Solids.....0.4 mm (1/64")

<sup>1</sup>Displacement per stroke was calculated at 4.8 bar (70 psig) air inlet pressure against a 2 bar (30 psig) head pressure.

**Example:** To pump 7.6 lpm (2 gpm) against a discharge pressure head of 2 bar (30 psig) requires 4.1 bar (60 psig) and 2.0 Nm<sup>3</sup>/h (1.2 scfm) air consumption. (See dot on chart.)

**Caution:** Do not exceed 8.6 bar (125 psig) air supply pressure.



Flow rates indicated on chart were determined by pumping water.

For optimum life and performance, pumps should be specified so that daily operation parameters will fall in the center of the pump performance curve.



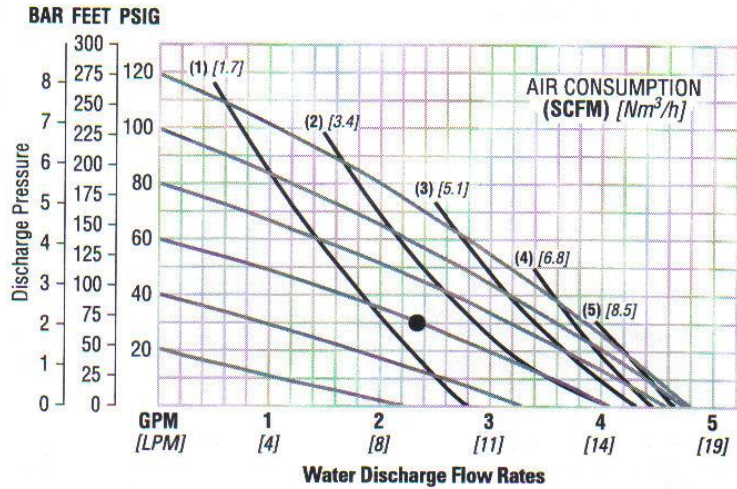
**P.025 PLASTIC  
PTFE-FITTED**

Height.....163 mm (6.4")  
 Width.....145 mm (5.7")  
 Depth.....115 mm (4.5")  
 Est. Ship Weight.....Polypropylene 1.4 kg (3 lbs)  
 PVDF 1.4 kg (3 lbs)  
 Air Inlet.....3 mm (1/8")  
 Inlet.....6 mm (1/4")  
 Outlet.....6 mm (1/4")  
 Suction Lift.....2.44 m Dry (8')  
 8.84 m Wet (29')  
 Displacement per  
 Stroke.....0.02 l (0.005 gal.)<sup>1</sup>  
 Max. Flow Rate.....18.1 lpm (4.8 gpm)  
 Max. Size Solids.....0.4 mm (1/64")

<sup>1</sup>Displacement per stroke was calculated at 4.8 bar (70 psig) air inlet pressure against a 2 bar (30 psig) head pressure.

**Example:** To pump 8.7 lpm (2.3 gpm) against a discharge pressure head of 2 bar (30 psig) requires 4.1 bar (60 psig) and 2.4 Nm<sup>3</sup>/h (1.4 scfm) air consumption. (See dot on chart.)

**Caution:** Do not exceed 8.6 bar (125 psig) air supply pressure.

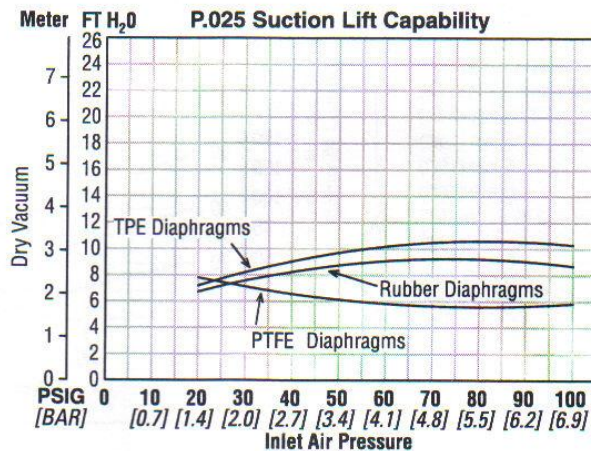


Flow rates indicated on chart were determined by pumping water.

For optimum life and performance, pumps should be specified so that daily operation parameters will fall in the center of the pump performance curve.

**Section 5B SUCTION LIFT CURVE**

**P.025 PLASTIC**



Suction lift curves are calibrated for pumps operating at 1,000' (305 m) above sea level. This chart is meant to be a guide only. There are many variables which can affect your pump's operating characteristics. The number of intake

and discharge elbows, viscosity of pumping fluid, elevation (atmospheric pressure) and pipe friction loss all affect the amount of suction lift your pump will attain.



## SUGGESTED INSTALLATION

The Pro-Flo® model P025 has a 6 mm (1/4") inlet and 6 mm (1/4") outlet and is designed for flows to 18.7 lpm (4.8 gpm). The P025 Plastic pump is manufactured with wetted parts of pure, unpigmented PVDF or polypropylene. The center section of the P025 Plastic is constructed of virgin Acetal or polypropylene. A variety of diaphragms and o-rings are available to satisfy temperature, chemical compatibility, abrasion and flex concerns.

The suction pipe size should be at least 6 mm (1/4") diameter or larger if highly viscous material is being pumped. The suction hose must be non-collapsible, reinforced type as the P025 is capable of pulling a high vacuum. Discharge piping should be at least 6 mm (1/4"); larger diameter can be used to reduce friction losses. It is critical that all fittings and connections are airtight or a reduction or loss of pump suction capability will result.

**INSTALLATION:** Months of careful planning, study, and selection efforts can result in unsatisfactory pump performance if installation details are left to chance.

Premature failure and long term dissatisfaction can be avoided if reasonable care is exercised throughout the installation process.

**LOCATION:** Noise, safety, and other logistical factors usually dictate that "utility" equipment be situated away from the production floor. Multiple installations with conflicting requirements can result in congestion of utility areas, leaving few choices for siting of additional pumps.

Within the framework of these and other existing conditions, every pump should be located in such a way that four key factors are balanced against each other to maximum advantage.

1. **ACCESS:** First of all, the location should be accessible. If it's easy to reach the pump, maintenance personnel will have an easier time carrying out routine inspections and adjustments. Should major repairs become necessary, ease of access can play a key role in speeding the repair process and reducing total downtime.

2. **AIR SUPPLY:** Every pump location should have an air line large enough to supply the volume of air necessary to achieve the desired pumping rate (see pump performance chart). Use air pressure up to a maximum of 8.6 bar (125 psig) depending on pumping requirements.

Sound levels are reduced below OSHA specifications using the standard Wilden muffler element.

3. **ELEVATION:** Selecting a site that is well within the pump's dynamic lift capability will assure that loss-of-prime troubles will be eliminated. In addition, pump efficiency can be adversely affected if proper attention is not given to site location.

4. **PIPING:** Final determination of the pump site should not be made until the piping problems of each possible location have been evaluated. The impact of current and future installations should be considered ahead of time to make sure that inadvertent restrictions are not created for any remaining sites.

The best choice possible will be a site involving the shortest and straightest hook-up of suction and discharge piping. Unnecessary elbows, bends, and fittings should be avoided. Pipe sizes should be selected so as to keep friction losses within practical limits. All piping should be supported independently of the pump. In addition, the piping should be aligned so as to avoid placing stresses on the pump fittings.

Flexible hose can be installed to aid in absorbing the forces created by the natural reciprocating action of the pump. If the pump is to be bolted down to a solid location, a mounting pad placed between the pump and the foundation will assist in minimizing pump vibration. Flexible connections between the pump and rigid piping will also assist in minimizing pump vibration. If quick-closing valves are installed at any point in the discharge system, or if pulsation within a system becomes a problem, a Wilden SD1/2 Equalizer® surge dampener should be installed to protect the pump, piping and gauges from surges and water hammer.

When pumps are installed in applications involving flooded suction or suction head pressures, a gate valve should be installed in the suction line to permit closing of the line for pump service.

The P025 cannot be used in submersible applications.

If the pump is to be used in a self-priming application, be sure that all connections are airtight and that the suction lift is within the model's ability. Note: Materials of construction and elastomer material have an effect on suction lift parameters. Please consult Wilden distributors for specifics.

Pumps in service with a positive suction head are most efficient when inlet pressure is limited to 0.4–0.7 bar (7–10 psig). Premature diaphragm failure may occur if positive suction is 0.7 bar (10 psig) and higher.

**THE MODEL P025 WILL PASS 0.4 MM (1/64") SOLIDS. WHENEVER THE POSSIBILITY EXISTS THAT LARGER SOLID OBJECTS MAY BE SUCKED INTO THE PUMP, A STRAINER SHOULD BE USED ON THE SUCTION LINE.**

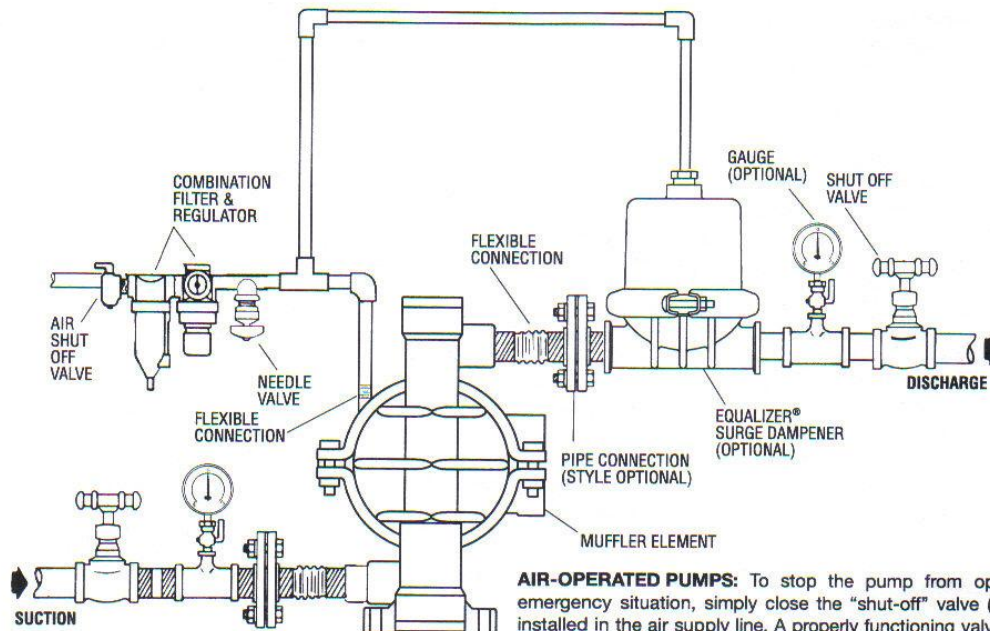
**CAUTION: DO NOT EXCEED 8.6 BAR (125 PSIG) AIR SUPPLY PRESSURE.**

**BLOW OUT AIR LINE FOR 10 TO 20 SECONDS BEFORE ATTACHING TO PUMP TO MAKE SURE ALL PIPE LINE DEBRIS IS CLEAR.**

The Pro-Flo® pump is not submersible.



**SUGGESTED INSTALLATION**



**AIR-OPERATED PUMPS:** To stop the pump from operating in an emergency situation, simply close the "shut-off" valve (user supplied) installed in the air supply line. A properly functioning valve will stop the air supply to the pump, therefore stopping output. This shut-off valve should be located far enough away from the pumping equipment such that it can be reached safely in an emergency situation.

**NOTE:** In the event of a power failure, the shutoff valve should be closed, if the restarting of the pump is not desirable once power is regained.

**SUGGESTED OPERATION & MAINTENANCE**

For best results, the pumps should use an air filter and regulator. The use of an air filter before the pump will insure that the majority of any pipeline contaminants will be eliminated. The P.025 is permanently lubricated, and does not require in-line lubrication. Additional lubrication will not damage the pump, however if the pump is heavily lubricated by an external source, the pump's internal lubrication may be washed away. If the pump is then moved to a non-lubricated location, it may need to be disassembled and re-lubricated as described in the ASSEMBLY/DISASSEMBLY INSTRUCTIONS.

Pump discharge rate can be controlled by limiting the volume and/or pressure of the air supply to the pump (preferred method). A regulator is used to regulate air pressure. A needle valve is used to regulate air volume. Pump discharge rate can also be controlled by throttling the pump discharge by installing a valve in the discharge line of the pump. This is useful when the need exists to control the pump from a remote location. When the pump discharge pressure equals or exceeds the air

supply pressure, the pump will stop; no bypass or pressure relief valve is needed, and pump damage will not occur. When operation is controlled by a solenoid valve in the air line, two-way or three-way valves may be used. Pumping volume can be set by counting the number of strokes per minute.

**INSPECTIONS:** Periodic inspections have been found to offer the best means for preventing unscheduled pump downtime. Personnel familiar with the pump's construction and service should be informed of any abnormalities that are detected during operation.

**RECORDS:** When service is required, a record should be made of all necessary repairs and replacements. Over a period of time, such records can become a valuable tool for predicting and preventing future maintenance problems and unscheduled downtime. In addition, accurate records make it possible to identify pumps that are poorly suited to their applications.



***Pump will not run or runs slowly.***

1. Ensure that the air inlet pressure is at least 5 psig above startup pressure and that the differential pressure (the difference between inlet and discharge pressures) is not less than 10 psig.
2. Check air inlet filter for debris (see recommended installation).
3. Check for extreme air leakage which would indicate worn out seals/bores.
4. Disassemble pump and check for obstructions in the air passageways or objects which would obstruct the movement of internal parts.
5. Check for sticking ball check valves. If material being pumped is not compatible with pump elastomers, swelling may occur. Replace ball check valves and seals with proper elastomers. Also, as the check valve balls wear out, they become smaller and can become stuck in the seats. In this case, replace balls and seats.

***Pump runs but little or no product flows.***

1. Check for pump cavitation; slow pump speed down to match thickness of material being pumped.
2. Verify that vacuum required to lift liquid is not greater than the vapor pressure of the material being pumped (cavitation).
3. Check for sticking ball check valves. If material being pumped is not compatible with pump elastomers, swelling may occur. Replace ball check valves and seals with proper elastomers. Also, as the check valve balls wear out, they become smaller and can become stuck in the seats. In this case, replace balls and seats.
4. Ensure that all suction connections are tight, especially lower valve ball retainers.

***Pump air valve freezes.***

1. Check for excessive moisture in compressed air. Either install a dryer or hot air generator for compressed air. Alternatively, a coalescing filter may be used to remove the water from the compressed air in some applications.

***Air bubbles in pump discharge.***

1. Check for ruptured diaphragm.
2. Check tightness of outer pistons.
3. Check tightness of clamp bands and integrity of o-rings and seals, especially at intake manifold.
4. Ensure pipe connections are airtight.

***Product comes out air exhaust.***

1. Check for diaphragm rupture.
2. Check tightness of pistons to shaft.

***Pump rattles.***

1. Create false discharge head or suction lift.



## PUMP DISASSEMBLY

**CAUTION:** Before any maintenance or repair is attempted, the compressed air line to the pump should be disconnected and all air pressure allowed to bleed from pump. Disconnect all intake, discharge, and air lines. Drain the pump by turning it upside down and allowing any fluid to flow into a suitable container. Wetted flushing of parts may be required prior to handling.

The Wilden model P.025 (Figure 1) is an air-operated, double-diaphragm pump with all wetted parts of polypropylene or PVDF. The single-piece center section, consisting of center block and air chambers, is molded from Acetal or polypropylene. All fasteners and hardware are stainless steel. The air valve is manufactured of Acetal or polypropylene. All o-rings used in the pump are of special materials and should only be replaced with factory-supplied parts.

To expedite parts ordering, please find an exploded view of the P.025 model at the back of this manual.

PLEASE read all directions before starting disassembly.

**TOOLS REQUIRED:**

5/32" Hex Key (Allen wrench)  
7/16" Wrench or Socket (Qty. 2)  
5/16" Wrench  
3/8" Wrench  
1/4" Socket Drive  
O-ring Pick  
3/16" Rod or Equivalent

**DISASSEMBLY:**

Figure 1

**Step 1.**

Before actual disassembly is started, turn pump upside down and drain all liquid trapped in the pump into a suitable container. Be sure to use proper caution if liquid is corrosive or toxic.

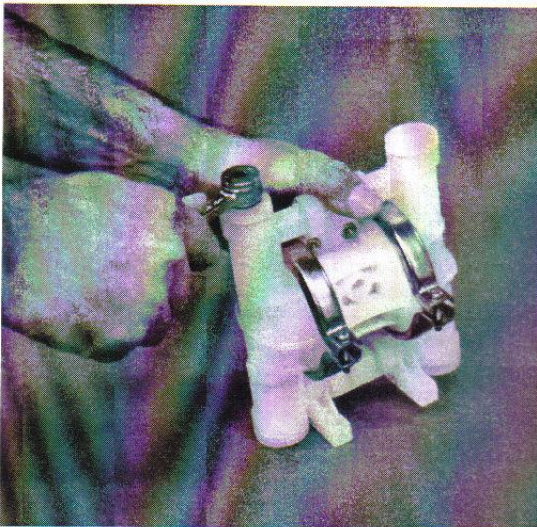
**Step 2.**

Figure 2

Remove top retainer with 1/4" socket wrench.

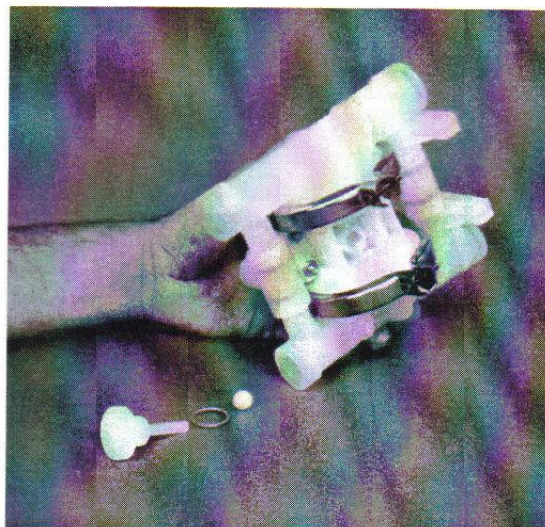
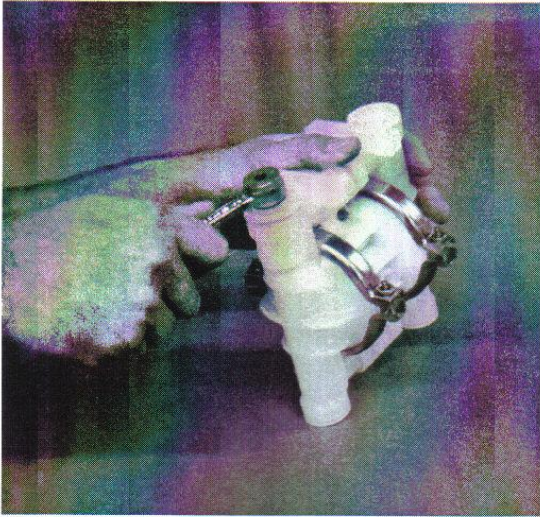
**Step 3.**

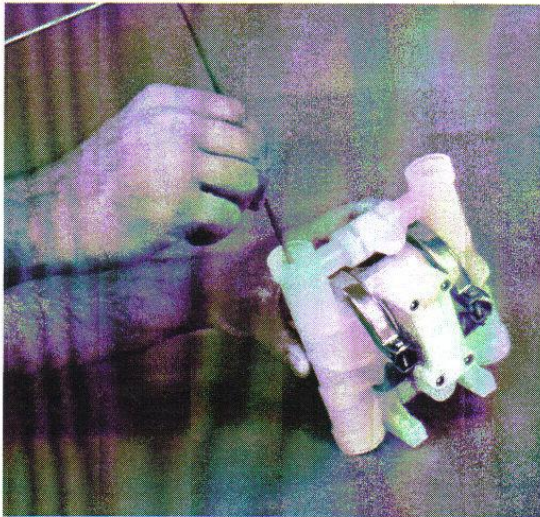
Figure 3

Inspect the ball retainer, retainer o-ring, and valve ball. If swelling, cracking or other damage is apparent, these parts must be replaced with genuine Wilden parts.

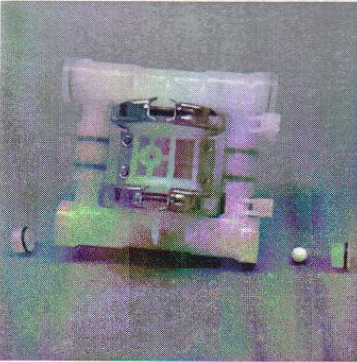




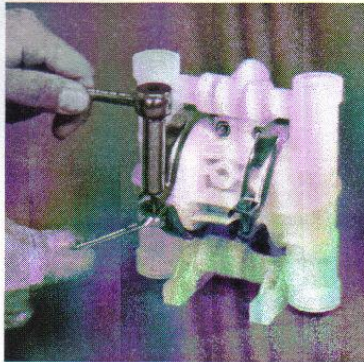
**Step 4.** *Figure 4*  
Turn pump upside down and loosen bottom retainer.



**Step 5.** *Figure 5*  
To remove valve seats, use approximately 3/16" rod or equivalent and push seats out from top to bottom.



**Step 6.** *Figure 6*  
Inspect ball and seats for abrasion. Inspect seat o-rings and bottom retainer o-rings for swelling, cracking, or other damage. These parts should be replaced if damage is observed.



**Step 7.** *Figure 7*  
Loosen clamp band with 5/16" socket and 3/8" wrench. Remove screw and nut.

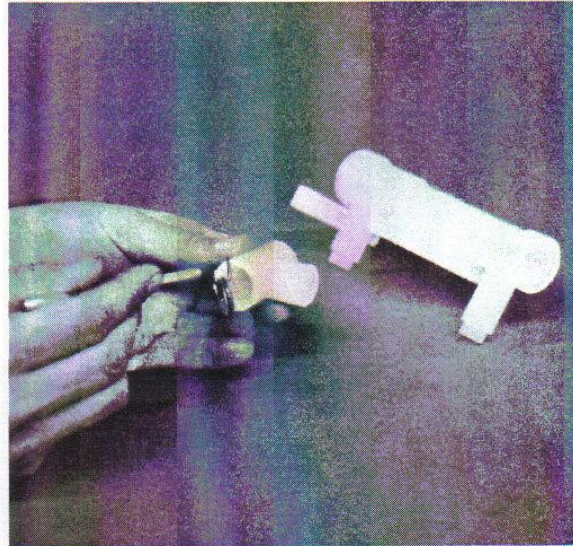


**Step 8.** *Figure 8*  
Rotate clamp band as shown and remove by sliding the clamp band up.





**Step 9.** *Figure 9*  
Remove liquid chambers by pulling chamber away from center section and inlet-discharge T-sections.



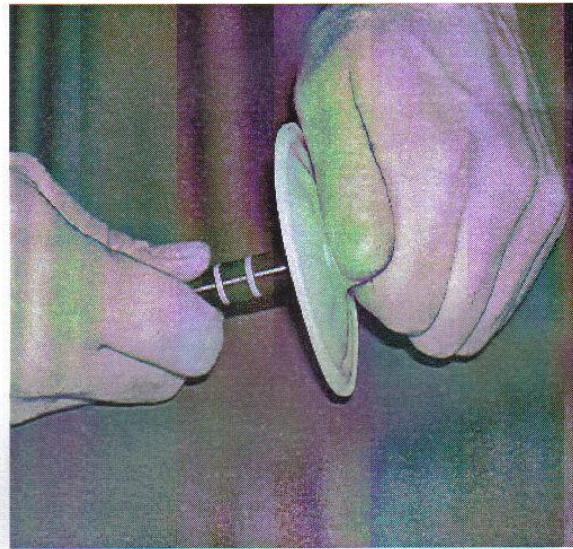
**Step 10.** *Figure 10*  
Remove T-section from liquid chamber. Remove T-section o-rings from T-section with an o-ring pick. Care should be utilized to not damage o-ring. Inspect and replace as necessary.



**Step 11.** *Figure 11*  
Loosen outer piston, with 7/16" wrench and 7/16" socket and twist off outer piston. Remove diaphragm and inner piston.

NOTE: PTFE-fitted pumps employ a PTFE diaphragm with an integral outer piston. Turn diaphragm counterclockwise to loosen.

NOTE: PTFE-fitted pumps utilize a neoprene back-up o-ring. Rubber- or TPE-fitted pumps do not.



**Step 12.** *Figure 12*  
Pull the remaining diaphragm which is attached to the shaft through the center section. Hold diaphragm and remove outer piston with 7/16" wrench for rubber/TPE fitted pumps (not shown). Inspection of diaphragms, inner pistons, disc spring, outer pistons and shaft is now possible.



**AIR VALVE/CLEANING & INSPECTION**

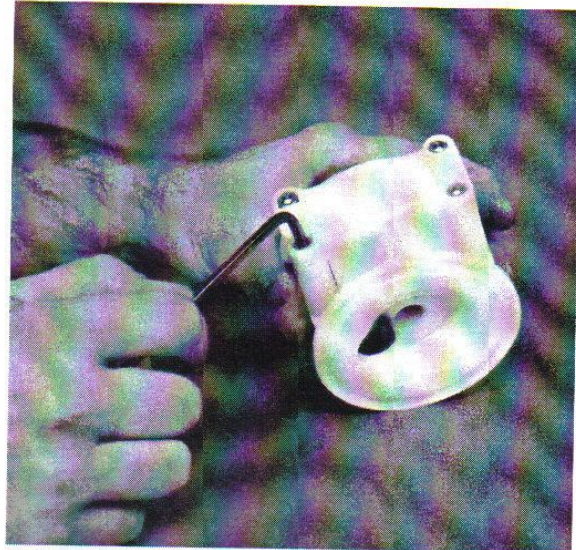
**AIR VALVE DISASSEMBLY:**

**CAUTION:** Before any maintenance or repair is attempted, the compressed air line to the pump should be disconnected and all air pressure allowed to bleed from the pump. Disconnect all intake, discharge, and air lines. Drain the pump by turning it upside down and allowing any fluid to flow into a suitable container. Be aware of hazardous effects of contact with your process fluid.

The Wilden Plastic P.025 utilizes a revolutionary Pro-Flo® air distribution system. A 3 mm (1/8") air inlet connects the air supply to the center section. Proprietary composite seals reduce the coefficient of friction and allow the P.025 to run lube-free. Constructed of Acetal or polypropylene, the Pro-Flo® air distribution system is designed to perform in on/off, non-freezing, non-stalling, tough duty applications.

**TOOLS REQUIRED:**

- 5/32" Hex Head Wrench
- O-ring Pick



**Step 1.**

*Figure 1*

Remove air valve screws from center section with a 5/32" hex key (Allen wrench).

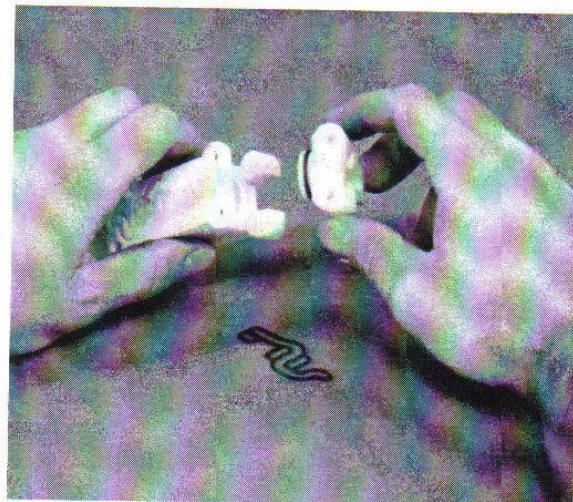


**Step 2.**

*Figure 2*

Take care while removing air valve not to damage gasket.

**NOTE:** Air valve has molded-in alignment pins for proper positioning during assembly.

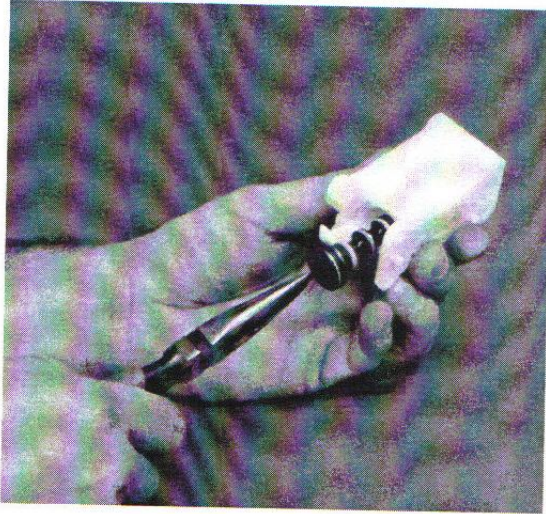


**Step 3.**

*Figure 3*

Remove air valve end cap by simply pulling it away from air valve body (no tools required). Inspect o-ring and replace as needed with genuine Wilden parts.

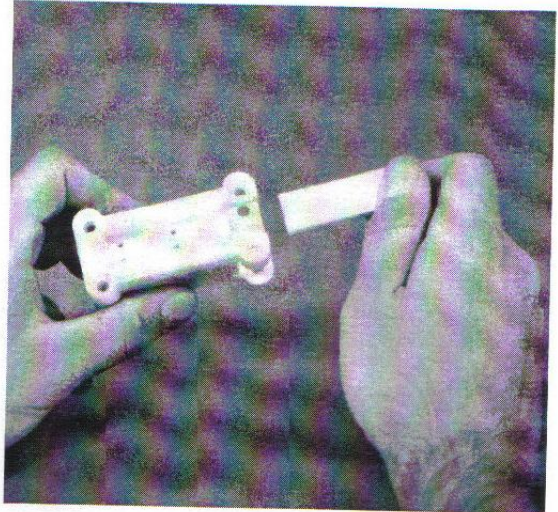




**Step 4.**

*Figure 4*

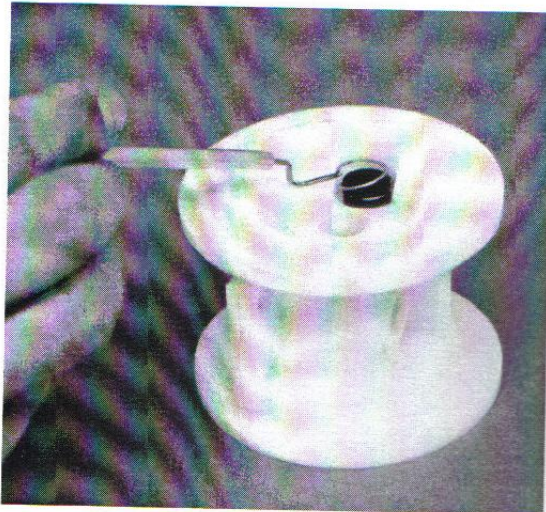
The air valve spool can now be removed. A 4-40 UNC (Unified National Coarse thread) screw can be screwed into the threaded hole located in the center of the spool. Grip the screw with pliers and remove. If a 4-40 UNC screw is not available, the spool can be tapped out against a wood block or blown out with compressed air. Upon reassembly, lubricate air valve with NLGI grade 2 white EP bearing grease or equivalent.



**Step 5.**

*Figure 5*

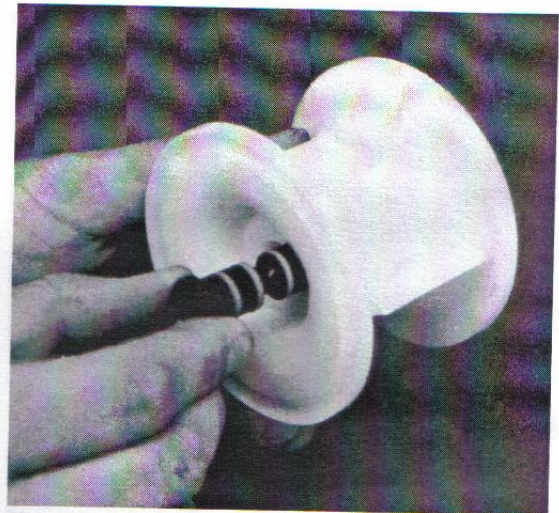
Remove the porous polyethylene muffler element by sliding it toward the end cap opening. The element can be cleaned by soaking it in a cleaning solution (no solvents). If the muffler restricts the air exhaust, replace muffler element.



**Step 6.**

*Figure 6*

Remove pilot spool retaining ring with an o-ring pick.

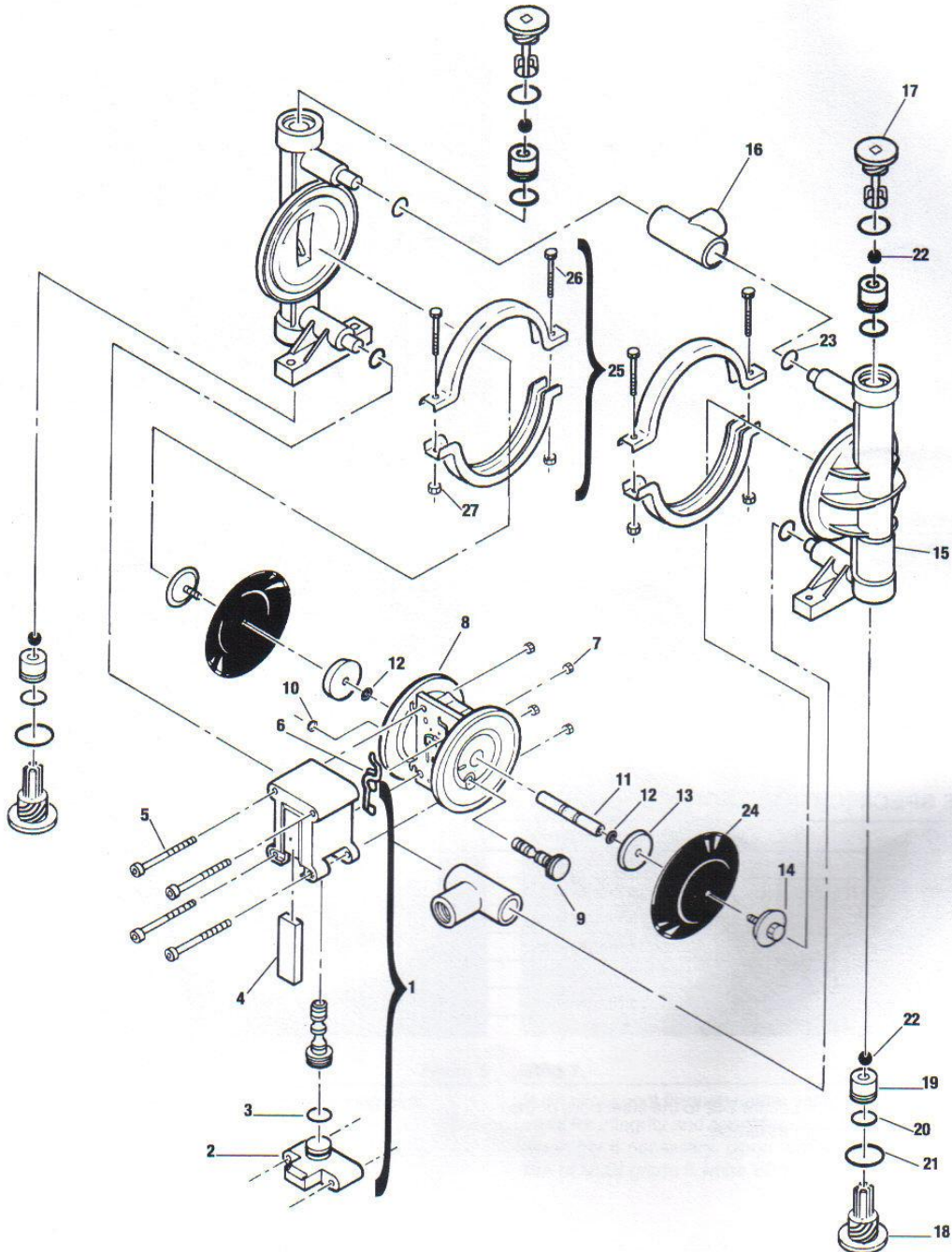


**Step 7.**

*Figure 7*

Push pilot spool through center section and remove. Inspect spool seals for integrity and spool for damage. Replace pilot spool assembly if necessary. Upon reassembly of spool, apply a film of NLGI grade 2 white EP bearing grease or equivalent.





**EXPLODED VIEW & PARTS LISTING**

**P.025 PLASTIC**

**RUBBER/TPE-FITTED**

**PARTS LISTING**

Item #	Description	Qty. per Pump	P.025/PPPP P/N	P.025/KKPPP P/N
1	Pro-Flo® Air Valve Assembly <sup>1</sup>	1	00-2000-20-700	02-2000-20-700
2	Pro-Flo® Air Valve End Cap	1	00-2300-20-700	00-2300-20-700
3	End Cap O-Ring (-017)	1	00-2390-52-700	00-2390-52-700
4	Muffler Element	1	00-3240-26-700	00-3240-26-700
5	Air Valve Bolt	4	00-6000-03-700	00-6000-03-700
6	Air Valve Gasket	1	00-2600-52-700	00-2600-52-700
7	Air Valve Nut	4	01-6400-03	01-6400-03
8	Pro-Flo® Center Section	1	00-3150-20-700	00-3150-20-700
<b>9</b>	<b>Pilot Spool Assembly</b>	<b>1</b>	<b>00-3850-99-700</b>	<b>00-3850-99-700</b>
10	Pilot Spool Retaining Ring	1	00-2650-03-700	00-2650-03-700
11	Shaft	1	00-3800-99-700	00-3800-99-700
12	Disc Spring	2	00-6800-08	00-6800-08
13	Inner Piston for Rubber/TPE	2	00-3700-20-700	00-3700-20-700
14	Outer Piston	2	00-4570-20	00-4570-21
15	Liquid Chamber	2	00-5001-20	00-5001-21
16	Manifold Tee-Section	2	00-5160-20	00-5160-21
17	Top Retainer	2	00-5411-20	00-5411-21
18	Bottom Retainer	2	00-5420-20	00-5420-21
<b>19</b>	<b>Valve Seat</b>	<b>4</b>	<b>00-1130-20</b>	<b>00-1130-21</b>
<b>20</b>	<b>Valve Seat O-Ring*</b>	<b>4</b>	<b>*</b>	<b>*</b>
<b>21</b>	<b>Combo Retainer O-Ring*</b>	<b>4</b>	<b>*</b>	<b>*</b>
<b>22</b>	<b>Valve Ball</b>	<b>4</b>	<b>00-1080-55</b>	<b>00-1080-55</b>
<b>23</b>	<b>Tee Section O-Ring*</b>	<b>4</b>	<b>*</b>	<b>*</b>
<b>24</b>	<b>Diaphragm*</b>	<b>2</b>	<b>*</b>	<b>*</b>
25	Clamp Band Assembly	2	00-7300-03	00-7300-03
26	- Clamp Band Bolt	4	01-6100-03	01-6100-03
27	- Clamp Band Nut	4	01-6400-03	01-6400-03

\*Refer to Elastomer Options in Section 10.  
<sup>1</sup>Air Valve Assembly includes items 2, 3, and 4.

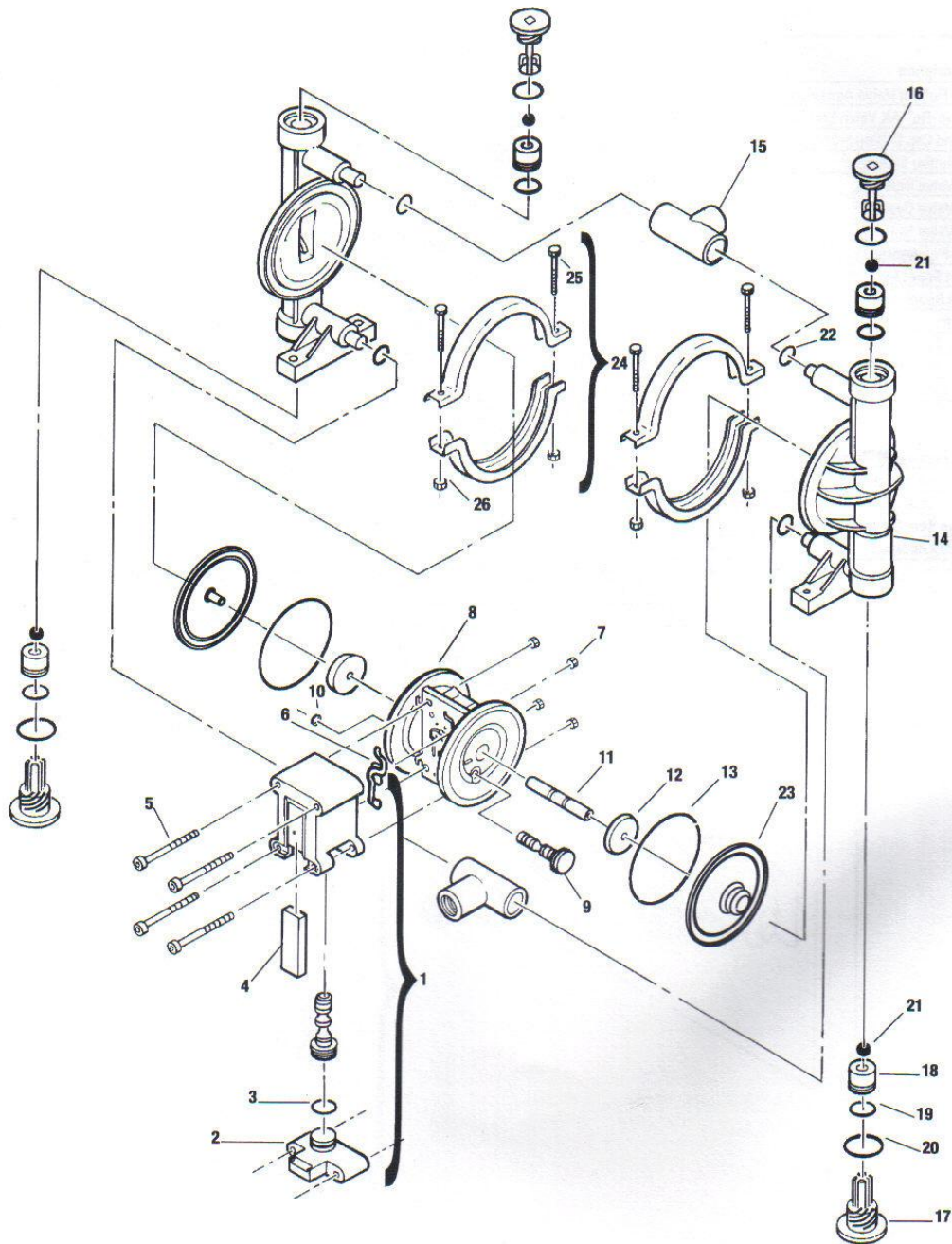
All boldface items are primary wear parts.



**P.025 PLASTIC**

**PTFE-FITTED**

**EXPLODED VIEW**



**EXPLODED VIEW & PARTS LISTING**

**P.025 PLASTIC**

**PTFE-FITTED**

**PARTS LISTING**

**P.025 PTFE-Fitted**

Item #	Description	Qty. per Pump	P.025/PZPPP/0502 P/N	P.025/KZPPP/0502 P/N
1	Pro-Flo® Air Valve Assembly <sup>1</sup>	1	00-2000-20-700	00-2000-20-700
2	Pro-Flo® Air Valve End Cap	1	00-2300-20-700	00-2300-20-700
3	End Cap O-Ring (-017)	1	00-2390-52-700	00-2390-52-700
4	Muffler Element	1	00-3240-26-700	00-3240-26-700
5	Air Valve Bolt	4	00-6000-05-700	00-6000-05-700
6	Air Valve Gasket	1	00-2600-52-700	00-2600-52-700
7	Air Valve Nut	4	01-6400-05	01-6400-05
8	Pro-Flo® Center Section	1	00-3150-20-700	00-3150-20-700
<b>9</b>	<b>Pilot Spool Assembly</b>	<b>1</b>	<b>00-3850-99-700</b>	<b>00-3850-99-700</b>
10	Pilot Spool Retaining Ring	1	00-2650-03-700	00-2650-03-700
11	Shaft	1	00-3800-99-700	00-3800-99-700
12	Inner Piston for PTFE Fitted	2	00-3750-20-700	00-3750-20-700
13	Back-Up O-Ring <sup>2,3</sup>	2	00-1070-51	*
14	Liquid Chamber	2	00-5001-20	00-5001-21
15	Manifold Tee-Section	2	00-5160-20	00-5160-21
16	Top Retainer	2	00-5411-20	00-5411-21
17	Bottom Retainer	2	00-5420-20	00-5420-21
<b>18</b>	<b>Valve Seat</b>	<b>4</b>	<b>00-1130-20</b>	<b>00-1130-21</b>
19	Valve Seat O-Ring*	4	*	*
20	Combo Retainer O-Ring*	4	*	*
21	Valve Ball*	4	00-1080-55	00-1080-55
22	Tee Section O-Ring*	4	*	*
<b>23</b>	<b>Diaphragm</b>	<b>2</b>	<b>00-1030-55</b>	<b>00-1030-55</b>
24	Clamp Band Assembly	2	00-7300-05	00-7300-05
25	- Clamp Band Bolt	4	01-6100-05	01-6100-05
26	- Clamp Band Nut	4	01-6400-05	01-6400-05

\*Refer to Elastomer Options in Section 10.

<sup>1</sup>Air Valve Assembly includes items 2, 3, and 4.

<sup>2</sup>Part used only on PTFE-fitted pumps.

<sup>3</sup>Neoprene back-up o-ring standard (P/N 00-1070-51).

**All boldface items are primary wear parts.**

**ELASTOMER OPTIONS**
**P025 Plastic**

Material	Valve Seat O-Ring	Combo Retainer O-Ring	Diaphragm	Back-Up Diaphragm O-Ring	Valve Ball	Tee Section O-Ring
Wil-Flex™	00-1200-58	00-1260-58	00-1010-58	00-1070-58	00-1080-58	00-1300-58
Buna-N	00-1200-52	00-1260-52	00-1010-52	—	00-1080-52	00-1300-52
Viton®	—	—	—	—	00-1080-53	—
PTFE	—	—	00-1030-55	—	00-1080-55	—
Stainless Steel	—	—	—	—	00-1080-03	—
PTFE-Encapsulated Viton®	00-1200-60 <sup>1</sup>	00-1260-601	—	—	—	00-1300-60 <sup>1</sup>
Fluoro-Seal™	—	—	—	—	—	00-1300-34 <sup>1</sup>
Neoprene	—	—	—	00-1070-51	—	—

<sup>1</sup>For PVDF pumps only.



**WARRANTY**

Each and every product manufactured by Wilden Pump and Engineering, LLC is built to meet the highest standards of quality. Every pump is functionally tested to insure integrity of operation.

Wilden Pump and Engineering, LLC warrants that pumps, accessories and parts manufactured or supplied by it to be free from defects in material and workmanship for a period of five (5) years from date of installation or six (6) years from date of manufacture, whichever comes first. Failure due to normal wear, misapplication, or abuse is, of course, excluded from this warranty.

Since the use of Wilden pumps and parts is beyond our control, we cannot guarantee the suitability of any pump or part for a particular application and Wilden Pump and Engineering, LLC shall not be liable for any consequential damage or expense arising from the use or misuse of its products on any application. Responsibility is limited solely to replacement or repair of defective Wilden pumps and parts.

All decisions as to the cause of failure are the sole determination of Wilden Pump and Engineering, LLC.

Prior approval must be obtained from Wilden for return of any items for warranty consideration and must be accompanied by the appropriate MSDS for the product(s) involved. A Return Goods Tag, obtained from an authorized Wilden distributor, must be included with the items which must be shipped freight prepaid.

The foregoing warranty is exclusive and in lieu of all other warranties expressed or implied (whether written or oral) including all implied warranties of merchantability and fitness for any particular purpose. No distributor or other person is authorized to assume any liability or obligation for Wilden Pump and Engineering, LLC other than expressly provided herein.

**PLEASE PRINT OR TYPE AND FAX TO WILDEN**

PUMP INFORMATION			
Item # _____		Serial # _____	
Company Where Purchased _____			
YOUR INFORMATION			
Company Name _____			
Industry _____			
Name _____		Title _____	
Street Address _____			
City _____		State _____	Postal Code _____ Country _____
Telephone _____	Fax _____	E-mail _____	Web Address _____
Number of pumps in facility? _____		Number of Wilden pumps? _____	
Types of pumps in facility (check all that apply): <input type="checkbox"/> Diaphragm <input type="checkbox"/> Centrifugal <input type="checkbox"/> Gear <input type="checkbox"/> Submersible <input type="checkbox"/> Lobe			
<input type="checkbox"/> Other _____			
Media being pumped? _____			
How did you hear of Wilden Pump? <input type="checkbox"/> Trade Journal <input type="checkbox"/> Trade Show <input type="checkbox"/> Internet/E-mail <input type="checkbox"/> Distributor			
<input type="checkbox"/> Other _____			

**ONCE COMPLETE, FAX TO (909) 783-3440**

NOTE: WARRANTY VOID IF PAGE IS NOT FAXED TO WILDEN  
WILDEN PUMP & ENGINEERING, LLC

**TABLE OF CONTENTS**

**SECTION 1 CAUTIONS** .....1

**SECTION 2 PUMP DESIGNATION SYSTEM** .....2

**SECTION 3 HOW IT WORKS (PUMP & AIR SYSTEMS)** .....3

**SECTION 4 DIMENSIONAL DRAWING** .....4

**SECTION 5 PERFORMANCE CURVES**

    A. P.025 PLASTIC Rubber-Fitted .....5

        P.025 PLASTIC TPE-Fitted .....5

        P.025 PLASTIC PTFE-Fitted .....6

    B. Suction Lift Curves .....6

**SECTION 6 SUGGESTED INSTALLATION** .....7

    Suggested Operation and Maintenance .....8

    Troubleshooting .....9

**SECTION 7 PUMP DISASSEMBLY** .....10

    Air Valve/Cleaning & Inspection .....13

    Reassembly .....15

**SECTION 8 EXPLODED VIEW & PARTS LISTING**

    P.025 PLASTIC Rubber/TPE-Fitted .....16

    P.025 PLASTIC PTFE-Fitted .....18

**SECTION 9 ELASTOMER OPTIONS** .....20



**CAUTIONS—READ FIRST!**

**TEMPERATURE LIMITS:**

Polypropylene	0°C to 79°C	+32°F to 175°F
PVDF	-12°C to 107°C	+10°F to 225°F
Buna-N	-12.2°C to 82.2°C	+10°F to +180°F
Viton®	-40°C to 176.7°C	-40°F to +350°F
Wil-Flex™	-40°C to 107.2°C	-40°F to +225°F
PTFE	+4.4°C to 104.4°C	+40°F to +220°F



**CAUTION:** When choosing pump materials, be sure to check the temperature limits for all wetted components. Example: Viton® has a maximum limit of 176.7°C (350°F) but polypropylene has a maximum limit of only 79°C (175°F).



**CAUTION:** Maximum temperature limits are based upon mechanical stress only. Certain chemicals will significantly reduce maximum safe operating temperatures. Consult engineering guide for chemical compatibility and temperature limits.



**CAUTION:** Always wear safety glasses when operating pump. If diaphragm rupture occurs, material being pumped may be forced out air exhaust.



**WARNING:** Prevention of static sparking — If static sparking occurs, fire or explosion could result. Pump, valves, and containers must be properly grounded when handling flammable fluids and whenever discharge of static electricity is a hazard.



**CAUTION:** Do not exceed 8.6 bar (125 psig) air supply pressure.



**CAUTION:** Before any maintenance or repair is attempted, the compressed air line to the pump should be disconnected and all air pressure allowed to bleed from pump. Disconnect all intake, discharge and air lines. Drain the pump by turning it upside down and allowing any fluid to flow into a suitable container.



**CAUTION:** Blow out air line for 10 to 20 seconds before attaching to pump to make sure all pipe line debris is clear. Use an in-line air filter. **A 5µ (micron) air filter is recommended.**



**NOTE:** Tighten clamp bands and retainers prior to installation. Fittings may loosen during transportation.



**NOTE:** When installing PTFE diaphragms, it is important to tighten outer pistons simultaneously (turning in opposite directions) to ensure tight fit.



**NOTE:** Before starting disassembly, mark a line from each liquid chamber to its corresponding air chamber. This line will assist in proper alignment during reassembly.



**CAUTION:** Verify the chemical compatibility of the process and cleaning fluid to the pump's component materials in the Chemical Resistance Guide. (see E4).



**NOTE:** Plastic series pumps are made of virgin plastic and are not UV stabilized. Direct sunlight for prolonged periods can cause deterioration of plastics.



**CAUTION:** The P025 pump is not submersible.



# P.025

Original™ Series **PLASTIC** Pumps

# EOM

Engineering  
Operation &  
Maintenance



Simplify your process

**PROFLO**  
PROGRESSIVE PUMP TECHNOLOGY

# WILDEN®

A DOVER COMPANY



WIL10090-E-03  
REPLACES WIL10090-E-02



# **ANEXO 10**



## **ANEXO 10: MANUAL DE MANTENIMIENTO**

### **MANUAL DE OPERACIÓN DEL FOTOBIORREACTOR EXPERIMENTAL**

Para el uso del equipo es importante tener en cuenta las siguientes precauciones:

8. Verifique que no hallan fugas dentro del sistema de flujo. Para esto es conveniente asegurarse de que las abrazaderas de ajuste rápido estén apretadas y concéntricas tanto con el sello de caucho blanco, como con las respectivas bridas.
9. Verifique que el equipo este limpio, ya que la asepsia del sistema de flujo es vital a la hora de iniciar un cultivo.
10. Verifique el funcionamiento del sistema de control de temperatura, y establezca la temperatura a la que se debe mantener el medio en la marmita.
11. Revise las conexiones de mangueras neumáticas (Aire o CO<sub>2</sub>), y las del sistema de flujo. Verifique que no estén sueltas y que no tengan fugas
12. Verifique que el compresor marque la presión de trabajo (100 psi) en el manómetro, y que este conectado a la red eléctrica.
13. Verifique el funcionamiento de la bomba, abriendo la válvula de la unidad de mantenimiento y después la válvula reguladora de caudal en la línea de la bomba.
14. Verifique el nivel del agua de calentamiento en la marmita. Si es bajo agregue agua normal por

15. Asegúrese que la válvula de desagüe de la marmita este cerrada al momento de agregar fluido en el tanque contenedor.

- Procedimiento para el lavado del sistema de flujo

En primer lugar, se debe cerrar toda la alimentación neumática (válvulas de paso, reguladoras y la unidad de mantenimiento).

Luego se desmontan las mangueras de alimentación y descarga del serpentín con mucho cuidado, aflojando las abrazaderas de ajuste rápido. Después se hace lo mismo con las mangueras reforzadas en el serpentín.

Figura 1. Abrazadera de ajuste rápido para bridas

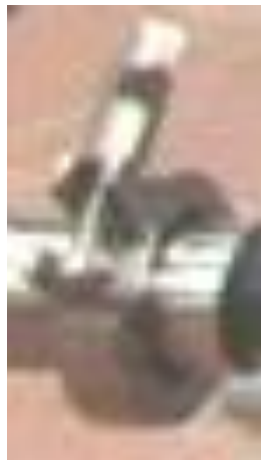


Figura 2. Bridas de unión hidráulica



Figura 3. Manguera de alimentación de serpentín (arriba) y manguera reforzada con alambre (abajo)



Figura 4. Manguera reforzada (arriba) y Manguera de descarga



Una vez realizado el anterior paso; en el otro extremo de la estructura, se debe desconectar la manguera neumática de alimentación de CO<sub>2</sub>. Seguidamente se debe desconectar la Te de unión de distribución del CO<sub>2</sub>, que une la tubería metálica de este sistema.

Figura 5. Manguera neumática de alimentación de CO<sub>2</sub> conectada con Te de unión de tubería metálica



Se debe desmontar también los codos en acero inoxidable aflojando las abrazaderas de ajuste rápido, teniendo mucho cuidado con los codos que tienen soldada la tubería metálica.

Figura 6. Codo de acero inoxidable apretado con abrazaderas de ajuste rápido.



Figura 7. Tubería de vidrio montada en soportes



Una vez se hayan desmontado todos los codos y mangueras del sistema (imagen anterior), se debe utilizar una manguera común (diferente a las del sistema de

flujo) para llevar agua normal a través de los tubos, **SIN DESMONTARLOS**. Se debe hacer circular agua en cada tubo.

Cada tubo se debe lavar con detergente disuelto en agua, después con una pequeña cantidad de hipoclorito de sodio disuelto en agua y por último con agua destilada.

Se deben utilizar dichos líquidos para lavar también los elementos desajustados anteriormente (mangueras y codos), además de hacerlo con la marmita.

- Recomendaciones para el inicio de cultivo

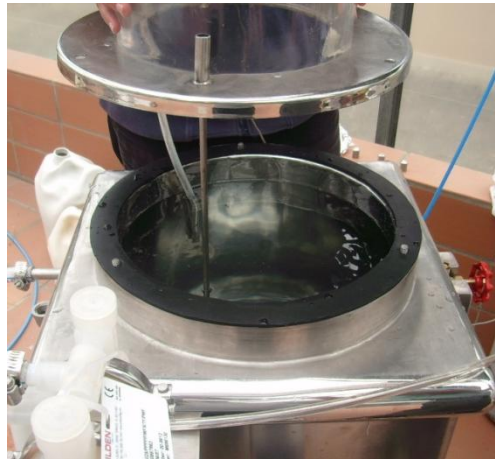
El llenado del tanque contenedor en la marmita debe hacerse hasta que el nivel de líquido este justo por debajo del ducto de retorno.

Figura 8. Nivel de medio inicial



Se debe primero hacer circular el medio antes de la inoculación, graduando la válvula de presión de aire de la bomba a menos de 25 psi. Una vez la circulación sobre toda la instalación sea uniforme. Una vez esto ocurra se debe adicionar el medio restante, hasta completar la capacidad la marmita (40 Litros). Después, se puede proceder a hacer la inoculación correspondiente.

Figura 9. Medio inoculado y listo para inicio de cultivo



Se debe graduar la bomba a una presión de alimentación de aire muy baja (entre 6 y 18 psi) para evitar algún tipo de turbulencia excesiva en el medio, nocivos para el crecimiento de los microorganismos.

La temperatura se debe graduar en el sistema de control, una vez se haya hecho la inoculación y todo el medio este en el fotobiorreactor. Esta varia dependiendo las características del microorganismo.

- Mantenimiento del fotobiorreactor

Para el mantenimiento del fotobiorreactor, este se ha dividido en dos subsistemas: la bomba de diafragma y la red neumática. Se darán recomendaciones para la red de de aire comprimido, ya que el fabricante de la bomba suministra dichas recomendaciones en el manual de operación.<sup>17</sup>

- Mantenimiento de la red de aire comprimido<sup>18</sup>

- *Filtros*

El propósito de los filtros de aire comprimido es suministrar aire libre de contaminantes a los diferentes puntos de aplicación. Contaminantes tales como agua, aceite, polvo, partículas sólidas, neblinas, olores, sabores y vapores, pueden atacar su sistema.

### **Figura 10. Filtros**

---

El manual de la bomba se anexa al documento electrónico. Sin embargo se puede descargar de [www.wildenpumps.com](http://www.wildenpumps.com)

Tomado de “Redes de aire comprimido”. Esteban Hincapié, Juan Arboleda, Santiago Cardona. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Universidad EAFIT. Depto. de Ing. Mecánica. 2003





## Mantenimiento

Dichos elementos son recambiables y deben ser reemplazados periódicamente puesto que se van saturando y ocasionan altas pérdidas de presión.

- *Unidad de Mantenimiento*

Este aditamento está compuesto por un filtro de partículas de baja eficiencia, un regulador con manómetro y un lubricador; su función principal es la de acondicionar una corriente determinada para su uso en una máquina. El filtro de partículas sirve para eliminar algunos contaminantes de tipo sólido, el regulador se encarga de disminuir la presión y el lubricador dosifica una cantidad requerida en algunas ocasiones por el equipo.

**Figura 11. Unidad de mantenimiento**



## Mantenimiento

El mantenimiento de las válvulas acondicionadoras de presión es de cierta manera más complejo que el del resto de elementos de la unidad. Dicho mantenimiento se basa en las pruebas de fuga de aire las cuales consisten principalmente en suministrarle aire a altas presiones al regulador por sus dos entradas. Si suministramos una alta presión sólo a la entrada del regulador, no debe fluir aire hacia la salida. Esto se comprueba palpando el

ducto de salida con el dedo húmedo. La otra prueba que se realiza es calibrando el resorte para una máxima presión de salida y suministrándole sólo aire a presión por la salida. Si esta es inferior a la máxima del resorte, no debería salir aire por el ducto opuesto de la válvula (la entrada).

Los nivel de lubricante deben mantenerse adecuadamente una o más veces por jornada. Es por eso que los operarios deben tener a su alcance lubricante suficiente. Si hubiera condensados de agua, se eliminan por el grifo de purga ya que el aceite es más ligero y flota sobre ella, por lo cual esta operación debería hacerse con regularidad, ya que si el nivel del agua alcanza el tubo de aspiración se produciría la pulverización del agua hacia la aplicación. En condiciones normales, la limpieza o eliminación de sedimentos cada seis meses suele ser suficiente.

- *Preparación y tratamiento de aire*

En la práctica, la calidad del aire comprimido desempeña un papel primordial, tanto en algunas aplicaciones de producción propiamente dicha como por ejemplo el sector de alimentos, como en la parte del mantenimiento y conservación de los equipos y accesorios de la red de aire comprimido.

- *Impurezas*

Las impurezas en forma de partículas de suciedad u óxido, residuos de aceite lubricante y humedad dan origen muchas veces a averías en las instalaciones neumáticas y a la destrucción de los elementos neumáticos.

Mientras que la mayor separación del agua de condensación tiene lugar en el separador, después de la refrigeración, la separación fina, el filtrado y otros tratamientos del aire comprimido se efectúan en el puesto de aplicación.

Para evitar las impurezas, se debe procurar un filtrado correcto del aire aspirado por el compresor, la utilización de compresores exentos de aceite es una buena alternativa.

## MANTENIMIENTO DEL EQUIPO

Limpiar los filtros reutilizables y sustituir los desechables tanto en la aspiración como en la impulsión (Pre y post filtros). Los filtros sucios incrementan el consumo energético y el consumo de aire.

Tabla 7. Cuadro de diagnostico para líneas flexibles de distribución de aire

TIPO DE LINEA	POSIBLE CAUSA DEL PROBLEMA	SOLUCION
Sistema de líneas flexibles	Fugas	Revisar deterioro en las juntas de los extremos.  Proteger mangueras sujetas a difíciles condiciones ambientales  Considerar el uso de líneas en espiral que se recogen automáticamente.
	Excesiva caída de presión	Revisar manguera por agujeros  Asegurarse que le tamaño de la manguera sea el adecuado.