

**DESARROLLO DE UN PLÁSTICO BIODEGRADABLE POR MEDIO DE LA
MICROALGA *Chlorella vulgaris* CULTIVADA EN AGUAS RESIDUALES
INDUSTRIALES.**

**DIEGO ALEXANDER CHAVARRO RIVERO
LAURA DEL PILAR CUERVO PARGA**

**Proyecto integral de grado para optar al título de
INGENIERO QUÍMICO**

Director

**JUAN ANDRÉS SANDOVAL HERRERA
Ingeniero químico**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.**

2022

Nota de aceptación

Nombre

Firma del Director

Nombre

Firma del Presidente Jurado

Nombre

Firma del Jurado

Nombre

Firma del Jurado

Bogotá D.C. Febrero de 2022

DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector de Claustro

Dr. Mario Posada García-Peña

Consejero Institucional

Dr. Luis Jaime Posada García-Peña

Vicerrectora Académica y de Investigaciones

Dra. Alexandra Mejía Guzmán

Vicerrector Administrativo y Financiero

Dr. Ricardo Alfonso Peñaranda Castro

Secretario General

Dr. José Luis Macías Rodríguez

Decano de la Facultad de Ingenierías

Dra. Naliny Patricia Guerra Prieto

Director de Programa

Dra. Nubia Liliana Becerra Ospina

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

TABLA DE CONTENIDO

| | pág. |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| RESUMEN | 13 |
| INTRODUCCIÓN | 14 |
| OBJETIVOS | 15 |
| 1. MARCO TEÓRICO | 16 |
| 1.1. Microalgas | 16 |
| 1.1.1. <i>Chlorella vulgaris</i> | 16 |
| 1.2. Curva de crecimiento microalgal | 17 |
| 1.3. Medios de cultivo para microalgas | 18 |
| 1.4. Sistemas de cultivo | 19 |
| 1.5. Fotobiorreactor (FBR) | 19 |
| 1.5.1. <i>Fotobiorreactores abiertos</i> | 19 |
| 1.5.2. <i>Fotobiorreactores cerrados</i> | 20 |
| 1.6. Aguas residuales | 23 |
| 1.6.1. <i>Aguas residuales industriales</i> | 23 |
| 1.6.2. <i>Técnicas de eliminación de microorganismos</i> | 24 |
| 1.6.3. <i>Demanda Química de Oxígeno (DQO)</i> | 25 |
| 1.6.4. <i>Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)</i> | 26 |
| 1.6.5. <i>Turbidez</i> | 26 |
| 1.6.6. <i>Sólidos suspendidos totales</i> | 26 |
| 1.6.7. <i>Sólidos volátiles</i> | 27 |
| 1.6.8. <i>Sólidos totales</i> | 27 |
| 1.7. Biopolímeros | 27 |
| 1.7.1. <i>Polihidroxialcanoatos (PHA)</i> | 27 |
| 2. SELECCIÓN DEL AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL PARA EL CRECIMIENTO DE <i>Chlorella vulgaris</i> | 31 |
| 2.1. Revisión bibliográfica de las condiciones de crecimiento propias de la microalga <i>Chlorella vulgaris</i> . | 31 |
| 2.1.1. <i>Temperatura</i> | 31 |
| 2.1.2. <i>pH</i> | 32 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.1.3. Luz | 32 |
| 2.1.4. Nutrientes | 33 |
| 2.1.5. Agitación | 34 |
| 2.2. Revisión bibliográfica de las propiedades fisicoquímicas de las aguas residuales de las industrias avícola, floricultora y láctea. | 35 |
| 2.2.1. Industria avícola | 35 |
| 2.2.2. Industria floricultora | 36 |
| 2.2.3. Industria láctea | 37 |
| 2.3. Selección del agua residual adecuada mediante el proceso de análisis jerárquico (AHP) | 38 |
| 2.3.1. Proceso de análisis jerárquico (AHP) de Thomas L. Saaty | 38 |
| 2.3.2. Implementación del AHP para la selección del agua residual industrial adecuada | 39 |
| 3. OBTENCIÓN DEL BIOPLÁSTICO MEDIANTE EL CULTIVO DE <i>Chlorella vulgaris</i> EN UN MEDIO DE AGUAS RESIDUALES LÁCTEAS | 45 |
| 3.1. Análisis bibliométrico | 45 |
| 3.1.1. Materiales y métodos | 45 |
| 3.1.2. Desarrollo del análisis bibliométrico mediante el software <i>Bibliometrix</i> | 46 |
| 3.2. Metodología planteada | 52 |
| 3.2.1. Pretratamiento del agua residual láctea | 52 |
| 3.2.2. Cultivo de biomasa microalgal | 53 |
| 3.2.3. Producción y extracción de PHA | 53 |
| 3.2.4. Caracterización del bioplástico | 54 |
| 4. DISEÑO CONCEPTUAL BÁSICO DE LA PRODUCCIÓN DE BIOPLÁSTICO MEDIANTE EL CULTIVO DE <i>Chlorella vulgaris</i> EN UN MEDIO DE AGUAS RESIDUALES LÁCTEAS | 59 |
| 4.1. Descripción del proceso | 59 |
| 4.2. Diagramas de proceso | 60 |
| 4.3. Balance de materia | 60 |
| 4.3.1. Filtro (FIL-101) | 62 |
| 4.3.2. Cámara de desinfección ultravioleta (V-101) | 62 |
| 4.3.3. Balance de fotobiorreactor (R-101) | 62 |

| | |
|---------------------------------------------------------------|------------|
| 4.3.4. Centrifuga (C-101) | 65 |
| 4.3.5. Tanque de lavado (T-101) | 65 |
| 4.3.6. Centrifuga (C-102) | 66 |
| 4.3.7. Tanque de tratamiento con hipoclorito de sodio (T-102) | 66 |
| 4.3.8. Incubadora (I-101) | 67 |
| 4.3.9. Centrifuga (C-103) | 67 |
| 4.3.10. Tanque de tratamiento con cloroformo (V-102) | 68 |
| 4.3.11. Tanque de precipitación (S-101) | 68 |
| 4.3.12. Centrifuga (C-104) | 69 |
| 4.3.13. Evaporador (F-101) | 69 |
| 4.4. Equipos | 71 |
| 4.4.1. Filtro | 71 |
| 4.4.2. Equipo de desinfección UV | 72 |
| 4.4.3. Fotobiorreactor | 72 |
| 4.4.4. Tanque de lavado | 73 |
| 4.4.5. Centrifuga | 74 |
| 4.4.6. Tanques de mezclado | 76 |
| 4.4.7. Incubadora | 76 |
| 4.4.8. Tanque de precipitación | 77 |
| 4.4.9. Evaporador | 78 |
| 4.5. Costos | 79 |
| 4.5.1. Capex | 79 |
| 4.5.2. Opex | 80 |
| 5. CONCLUSIONES | 84 |
| BIBLIOGRAFÍA | 86 |
| ANEXOS | 104 |

LISTA DE FIGURAS

| | pág. |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Figura 1. <i>Chlorella vulgaris</i> | 17 |
| Figura 2. Fases de crecimiento | 18 |
| Figura 3. Fotobiorreactor de sistema abierto. | 20 |
| Figura 4. Fotobiorreactor de columna de burbujeo | 21 |
| Figura 5. Fotobiorreactor de placa plana | 22 |
| Figura 6. Fotobiorreactor tubular - Airlift | 23 |
| Figura 7. Cuadro de características fisicoquímicas de las aguas residuales industriales | 24 |
| Figura 8. Cuadro de comparación para diferentes técnicas de eliminación de microorganismos | 25 |
| Figura 9. Estructura del PHA | 28 |
| Figura 10. Acumulación de PHA | 28 |
| Figura 11. Métodos de extracción de PHA | 30 |
| Figura 12. Producción científica anual | 48 |
| Figura 13. Crecimiento de diferentes fuentes a lo largo de los años | 49 |
| Figura 14. Nube de palabras clave de los autores | 50 |
| Figura 15. Autores más relevantes | 51 |
| Figura 16. Espectro FTIR de PHA en <i>Chlorella</i> sp. | 55 |
| Figura 17. Análisis TGA para bioplásticos de <i>C. vulgaris</i> en proporciones de glicerol | 56 |
| Figura 18. Análisis DSC para bioplásticos de <i>C. vulgaris</i> en proporciones de glicerol. | 57 |
| Figura 19. Diagrama de bloques (BFD) | 60 |
| Figura 20. Sistema por lotes de fotobiorreactor | 64 |
| Figura 21. Diagrama del balance de masa para la obtención de PHA | 70 |
| Figura 22. Filtro de membranas industrial | 71 |
| Figura 23. Equipo de desinfección UV | 72 |
| Figura 24. Fotobiorreactor | 73 |
| Figura 25. Tanque de lavado por aspersion | 74 |
| Figura 26. Centrifugadora horizontal | 75 |
| Figura 27. Centrifuga pequeña industrial | 75 |
| Figura 28. Tanque de mezclado | 76 |

| | |
|-------------------------------------------|----|
| Figura 29. Incubadora | 77 |
| Figura 30. Tanque de precipitación | 78 |
| Figura 31. Evaporador industrial | 79 |

LISTA DE TABLAS

| | pág. |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Tabla 1. Propiedades químicas de aguas residuales de la industria avícola | 36 |
| Tabla 2. Propiedades químicas de aguas residuales de la industria floricultora | 37 |
| Tabla 3. Propiedades químicas de aguas residuales de la industria láctea | 38 |
| Tabla 4. Escala de preferencias | 39 |
| Tabla 5. Matriz de comparación de criterios | 40 |
| Tabla 6. Matriz de comparación de alternativas con el criterio de pH | 41 |
| Tabla 7. Matriz de comparación de alternativas con el criterio de Nitrógeno | 41 |
| Tabla 8. Matriz de comparación de alternativas con el criterio de Fósforo | 41 |
| Tabla 9. Matriz de comparación de alternativas con el criterio de Turbidez | 42 |
| Tabla 10. Resultado de la selección del agua residual industrial por el proceso de análisis jerárquico | 43 |
| Tabla 11. Consistencia Aleatoria de la matriz | 43 |
| Tabla 12. Información general de las ecuaciones de búsqueda | 47 |
| Tabla 13. Top 10 de la producción científica por países | 50 |
| Tabla 14. Flujo de compuestos | 61 |
| Tabla 15. Balance de masa del equipo (FIL-101) | 62 |
| Tabla 16. Balance de masa del equipo (V-101) | 62 |
| Tabla 17. Balance de masa del equipo (C-101) | 65 |
| Tabla 18. Balance de masa del equipo (T-101) | 66 |
| Tabla 19. Balance de masa del equipo (C-102) | 66 |
| Tabla 20. Balance de masa del equipo (T-102) | 67 |
| Tabla 21. Balance de masa del equipo (I-101) | 67 |
| Tabla 22. Balance de masa del equipo (C-103) | 67 |
| Tabla 23. Balance de masa del equipo (V-102) | 68 |
| Tabla 24. Balance de masa del equipo (S-101) | 68 |
| Tabla 25. Balance de masa del equipo (C-104) | 69 |
| Tabla 26. Balance de masa del equipo (F-101) | 69 |
| Tabla 27. Costo maquinaria para el proceso de producción de PHA | 80 |
| Tabla 28. Costo materia prima para proceso de producción de PHA | 81 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 29. Costo energético generado por los equipos para la producción de PHA | 82 |
| Tabla 30. Costo total de producción | 82 |

LISTA DE ABREVIATURAS

μ : Velocidad específica de crecimiento [d^{-1}]

AHP: Proceso de análisis jerárquico

CI: Índice de consistencia

DBO: Demanda bioquímica de oxígeno

DQO: Demanda química de oxígeno

DSC: Calorimetría diferencial de barrido

FBR: Fotobiorreactor

FTIR: Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

n: Número de criterios

nmax: Promedio de los cocientes de la matriz $A \times P$

PHA: Polihidroxialcanoato

ST: Sólidos totales

SST: Sólidos suspendidos totales

SV: Sólidos volátiles

T_c: Temperatura de cristalización

T_d: Temperatura de descomposición

T_g: Temperatura de transición vítrea

TGA: Análisis termogravimétrico

T_m: Temperatura de fusión

vvm: Flujo de volumen de gas por unidad de volumen de líquido por minuto.

Y_{x/s}: Rendimiento de sustrato en biomasa del cultivo

RESUMEN

Debido al impacto que generan las aguas residuales al ambiente, se busca el aprovechamiento de estas para el cultivo de microalgas, ya que poseen una gran cantidad de nutrientes que permiten su crecimiento, es por esto que, se propone el uso de estos residuos para la producción de un biopolímero por medio de la microalga *Chlorella vulgaris* el cual pueda sustituir plásticos derivados del petróleo con el propósito de reducir el daño generado al medio ambiente.

Fueron evaluadas tres diferentes aguas residuales industriales pertenecientes al sector avícola, floricultor y lácteo, por medio de matrices de decisión planteadas por el método de análisis jerárquico, donde se obtuvo que la mejor industria corresponde a la láctea. Posteriormente, se llevó a cabo una revisión bibliométrica mediante la base de datos Scopus y el software Bibliometrix, con el fin de presentar la metodología más empleada en la obtención del bioplástico (polihidroxialcanoato), evidenciando que la técnica adaptada por diversos autores para la extracción de PHA es el método de cloroformo, permitiendo obtener un rendimiento del 13,24 % del bioplástico respecto a la biomasa microalgal.

Finalmente, se desarrolló un diseño conceptual básico con la finalidad de determinar las etapas del proceso, la esquematización de los diagramas de bloques y de flujo, en donde a partir de datos teóricos se elaboró el balance de masa, que permitió la selección de los equipos para un proceso a escala piloto, y así, establecer un análisis de costos teniendo en cuenta los costos de capital y de operación.

Palabras clave: Aguas residuales, Bibliometría, Bioplástico, *Chlorella vulgaris*, Microalga, Polihidroxialcanoato (PHA).

INTRODUCCIÓN

A lo largo de los años, el plástico ha sido uno de los mayores recursos en la sociedad por su variedad de usos o aplicaciones, lo cual supone una producción excesiva que se traduce en un problema serio para el medio ambiente ya que, si bien existen fuentes menos contaminantes, por ejemplo, los plásticos sintetizados a partir de materiales renovables, como ácido poliláctico, almidón y compuestos orgánicos bacterianos, más del 90 % de los plásticos producidos provienen de combustibles fósiles [1], que tardan entre 100 y 1.000 años en degradarse [2]. Existen diferentes pronósticos alarmantes que indican que hacia el año 2050 la producción de plástico se cuadruplicará, se estima que habrá 12.000 millones de toneladas de desechos plásticos en entornos naturales, de los cuales un 10 % ingresará al océano; de dicho porcentaje, el 94 % terminará en el lecho marino y el 6 % restante en las playas y flotando cerca de la superficie del océano [1].

Actualmente, se desarrollan diferentes alternativas para atacar el problema ambiental que genera el plástico, como lo es la producción de bioplásticos a partir de residuos orgánicos y microorganismos [3]. Los polihidroxialcanoatos son un claro ejemplo de estos bioplásticos, los cuales poseen propiedades similares al polipropileno (PP) y al polietileno (PE) con las ventajas de que pueden ser sintetizados a partir de fuentes de carbono renovables, son biodegradables y biocompatibles [4]. Las microalgas han tomado una mayor fuerza en la producción de bioplásticos debido a sus capacidades de adaptación a diferentes medios de cultivo donde incluso pueden crecer en aguas residuales, también aportan al sistema de economía circular por medio del aprovechamiento de residuos, así como la contribución a esquemas de biorrefinerías en cuanto a la producción de biocombustibles mediante el uso de la biomasa de estos microorganismos y, además, poseen un fuerte impacto en la limpieza y generación de subproductos.

Es por esto que el presente proyecto pretende estudiar de manera teórica la producción de bioplásticos a partir de microalgas cultivadas en un medio de aguas residuales industriales con el fin de determinar su viabilidad y potencial a futuro, para esto, se llevará a cabo una evaluación teórica de los criterios fundamentales de la microalga para su crecimiento y de las características de diferentes aguas residuales para seleccionar la mejor opción mediante una matriz de decisión, así como una revisión que permita adaptar la metodología más empleada para finalmente, realizar el diseño conceptual básico del proceso a escala piloto.

OBJETIVOS

Objetivo general

Desarrollar un bioplástico por medio de la microalga *Chlorella vulgaris* cultivada en aguas residuales industriales.

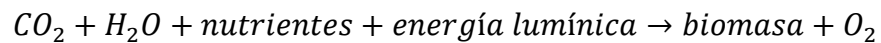
Objetivos específicos

1. Seleccionar el tipo de agua residual apropiado para el desarrollo de la microalga *Chlorella vulgaris*.
2. Identificar la metodología requerida para la obtención del bioplástico por medio de la microalga *Chlorella vulgaris* cultivada en aguas residuales.
3. Realizar el diseño conceptual básico de la producción de bioplástico mediante la microalga *Chlorella vulgaris* a escala piloto.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Microalgas

Las microalgas son microorganismos biológicos, mayormente unicelulares, capaces de capturar dióxido de carbono (CO_2) a través de la fotosíntesis [5]. A su vez, se caracterizan por ser organismos ubicuos debido a que se pueden encontrar en ambientes acuáticos ya sean marinos, salobres o dulceacuícolas, así como en áreas terrestres tanto en el suelo, rocas e incluso en entornos gélidos. Adicionalmente, las microalgas son capaces de producir más oxígeno (O_2) del que producen las plantas, siendo así responsables de casi el 50 % de la fotosíntesis de la tierra [5], debido a su alta eficiencia en la fijación del CO_2 y la utilización de energía solar para producir biomasa. La reacción que rige el proceso de producción de biomasa y oxígeno a partir de las microalgas es:



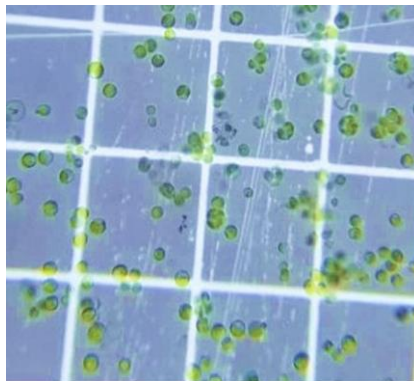
Con base en ello, la producción de estos microorganismos se puede dividir en aquellos que son fotoautótrofos (usan la luz como fuente de energía y los compuestos inorgánicos como fuente de carbono), fotoheterótrofos (obtienen la energía del sol y emplean compuestos orgánicos como fuente de carbono), mixotróficos (su fuente de energía puede ser tanto luz como materia orgánica y el carbono lo obtienen de compuestos orgánicos y del CO_2) y finalmente, heterótrofos (en ausencia de luz, utilizan solo compuestos orgánicos como fuente de carbono y energía) [6].

1.1.1. *Chlorella vulgaris*

Corresponde a una especie de microalga verde unicelular, esférica, cuyo diámetro mide entre 2 a 10 μm [7]. Su morfología se puede evidenciar en la figura 1. En cuanto a su taxonomía, pertenece al Dominio: Eukaryota, Reino: Protista, División: Chlorophyta, Clase: Trebouxiophyceae, Orden: Chlorellales, Familia: Chlorellaceae, Género: *Chlorella*, Especie: *Chlorella vulgaris* [8]. Puede desarrollarse en ambientes de agua dulce, marinos y terrestres debido a la facilidad que tiene para adaptarse a diferentes medios.

Figura 1.

Chlorella vulgaris



Nota. La figura representa la morfología de la especie microalgal *C. vulgaris* a nivel microscópico. Tomado de: J. A. Coronado-Reyes, J. A. Salazar-Torres, B. Juárez-Campos, and J. C. González-Hernández, “Chlorella vulgaris, a microalgae important to be used in Biotechnology: a review,” *Food Sci. Technol.*, vol. 2061, pp. 1–11, 2020, doi: 10.1590/fst.37320.

La composición química de la especie *C. vulgaris* está dada principalmente por proteínas que representan entre 42 – 58 % del peso seco en la biomasa; lípidos que constituyen del 5 al 40 % del peso seco de la biomasa; carbohidratos, presentados mayormente en forma de almidón y celulosa, así como azúcares reductores y, por último, contienen algunos pigmentos como la clorofila que componen del 1 al 2 % del peso seco de la biomasa [9].

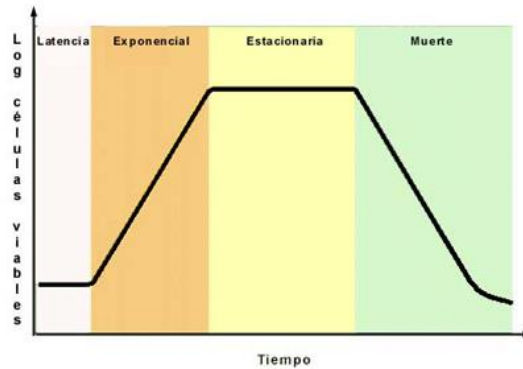
1.2. Curva de crecimiento microalgal

El crecimiento microalgal hace referencia al incremento del número de células microbianas de una población [10] y cuya curva de crecimiento consta de cuatro fases reflejadas en la figura 2, la primera fase conocida como “Fase de latencia” es aquella en donde el microorganismo se adapta al medio y permanece prácticamente constante por lo que no se refleja un crecimiento celular. Seguido a esto, se encuentra la “Fase exponencial” en la cual la velocidad de crecimiento es máxima y los microorganismos se multiplican con rapidez, creciendo exponencialmente. Posterior a ello, la “Fase estacionaria” en donde los nutrientes decaen y por ende algunas células crecen mientras que otras mueren, conocido como crecimiento críptico. Y finalmente, la “Fase de muerte”

en la que el equilibrio desaparece y hay mayor presencia de microorganismos muertos debido a la falta de nutrientes que permiten el crecimiento.

Figura 2.

Fases de crecimiento



Nota. La figura representa las fases de crecimiento de latencia, exponencial, estacionaria y de muerte para microorganismos a lo largo del tiempo. Tomado de: Modelos predictivos de ComBase, “Crecimiento bacteriano.” available: http://coli.usal.es/web/demos/demo_alteracion/FactoresCrecimiento/FactoresCrecimiento.html (accessed Sep. 01, 2021).

1.3. Medios de cultivo para microalgas

Existen diversos medios de cultivo establecidos para garantizar el correcto crecimiento y desarrollo normal de microalgas, garantizando una carga nutricional adecuada y la ausencia de microorganismos contaminantes. Para esto, es necesario aportarle las cantidades necesarias de nutrientes como el carbono, nitrógeno, fósforo y azufre, así como de minerales esenciales que pueden ser hierro, magnesio, silicio y oligoelementos [11].

“Éstos se pueden agrupar en tres diferentes clases, medios de cultivo completamente sintéticos, medios basados en aguas naturales enriquecidas con suplementos minerales y mediante el uso de aguas residuales” [12]. La elaboración de dichos cultivos debe satisfacer en gran cantidad los requerimientos de los microorganismos, de esta manera, se desarrollan cultivos que se caracterizan entre si por tener una composición cualitativa similar, donde la relación entre N/P oscila entre 5/1 y 10/1 en peso seco y entre N/Si de 0,5/1 y 1/1 [12].

1.4. Sistemas de cultivo

Los sistemas de cultivo contienen nutrientes, componentes y factores necesarios para generar el crecimiento y desarrollo de diversos organismos. Teniendo en cuenta la gran diversidad de microorganismos, existe gran variedad de medios de cultivo. Actualmente, existen medios de medios de cultivo que se producen de manera sintética en laboratorio o se usan directamente de aguas residuales o excedentes de fuentes agrícolas. “Dentro de los medios convencionales se encuentran la *Peptona proteasa*, el *Watanabe* o el *medio basal de Bold*, también conocido como medio BBM (Bold’s Basal Medium)” [13].

1.5. Fotobiorreactor (FBR)

Los fotobiorreactores (FBR) son dispositivos utilizados para el crecimiento de microorganismos fotótrofos [14], en donde es primordial mantener un medio estable en el que incluye la temperatura, pH, luz, baja concentración de O₂ y nutrientes necesarios [15]. Existen dos sistemas de cultivo que operan bajo diferentes diseños: los de sistema abierto y los de sistema cerrado.

1.5.1. Fotobiorreactores abiertos

Estos fotobiorreactores se caracterizan por estar en contacto con la atmósfera, ser poco profundos y de gran área [16], como se representan en la figura 3. Dentro de sus mayores ventajas se encuentran su fácil construcción y bajo coste, pero no cuentan con control de las variables del sistema como lo son la temperatura y el pH; así mismo, son susceptibles a la invasión de diversos microorganismos [15] por su exposición al medio ambiente.

Figura 3.

Fotobiorreactor de sistema abierto.



Nota. La figura representa un sistema de fotobiorreactor abierto, expuesto a la atmósfera. Tomado de: [17] R. Bustos, “Producción y cosechado de biomasa de microalgas para su aprovechamiento industrial,” Tesis pre. Facultad de ciencias químicas, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España, 2016.

1.5.2. Fotobiorreactores cerrados

1.5.2.a Fotobiorreactor de columna de burbujeo. Este tipo de fotobiorreactores representado en la figura 4, “se caracteriza por ser compactos, de bajo costo y fácil operación. Entre sus ventajas, se destaca la alta transferencia de masa, una buena mezcla, bajo consumo de energía y fácil esterilización. Sin embargo, tiene ciertas limitaciones las cuales incluyen pequeñas áreas de iluminación, materiales sofisticados para su construcción y un alto esfuerzo cortante de cultivos de algas” [16].

Figura 4.

Fotobiorreactor de columna de burbujeo



Nota. La figura representa un esquema y una fotografía de fotobiorreactores de columna de burbujeo. Tomado de: J. A. Piedrahita and S. Urbano, “Diseño del sistema de alimentación y control de temperatura en un fotobiorreactor para la producción de biomasa y ácidos grasos a partir del cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris*,” Tesis pre. Facultad de ingeniería, Universidad Autónoma de Occidente, Santiago de Cali, Colombia, 2012.

1.5.2.b. Fotobiorreactor de placa plana. Los fotobiorreactores de placa plana son similares a los de columna de burbujeo en lo que respecta a su funcionamiento, por ejemplo, la unión de la agitación e intercambio de materia en el mismo espacio en el que se capta la luz con la diferencia de que los de placa plana intentan mejorar aquellas desventajas de los de columna [17]; así pues, “es posible el escalamiento del fotobiorreactor mediante el incremento de la longitud, sin modificar la altura del líquido; pueden construirse inclinados y es posible orientarlos hacia el sol con el fin de maximizar la captación de la luz y consecuentemente su productividad” [17] representados en la figura 5.

Figura 5.

Fotobiorreactor de placa plana



Nota. La figura representa una serie de fotobiorreactores de placa plana para el cultivo de microalgas. Tomado de: R. Bustos, “Producción y cosechado de biomasa de microalgas para su aprovechamiento industrial,” Tesis pre. Facultad de ciencias químicas, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España, 2016.

1.5.2.c. Fotobiorreactor tubular. Están conformados principalmente por un colector solar, constituido por tubos rectos transparentes, evidenciados en la figura 6, los cuales tienen como función mejorar la captación de luz solar para el medio de cultivo; a su vez cuentan con un desgasificador donde se lleva a cabo el intercambio de materia y la desorción de oxígeno [15]. La circulación, la aireación y la desgasificación, generalmente se hace por un sistema denominado *Airlift* [16].

Los reactores *Airlift*, presentan grandes ventajas ya que permiten una correcta agitación y mezclado de los nutrientes que requiere el microorganismo, a su vez permiten un menor riesgo de contaminación y mayor facilidad para la transferencia de calor. Este reactor está diseñado con dos tubos, en los cuales se origina una mezcla líquido – gas debido a que en los tubos es inyectado un gas al medio y dicha mezcla asciende por una zona denominada “riser”, por otro lado, en la parte superior del reactor, existe una zona conocida como “downcomer” en la cual el gas se separa del medio provocando que este descienda por gravedad para posteriormente ingresar al riser logrando formar un ciclo de mezclado [18].

Figura 6.

Fotobiorreactor tubular - Airlift



Nota. La figura representa un sistema cerrado de fotobiorreactores tubulares, específicamente los *Airlift*. Tomado de: R. Bustos, “Producción y cosechado de biomasa de microalgas para su aprovechamiento industrial,” Tesis pre. Facultad de ciencias químicas, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España, 2016.

1.6. Aguas residuales

Las aguas residuales son aquellas que han sufrido algún tipo de cambio en sus características originales por actividades humanas, compuestas por aguas usadas y sólidos [19], debido a esto requieren un pretratamiento antes de ser reutilizadas, vertidas a cuerpos de agua y descargadas a sistemas de alcantarillado para mejorar su calidad [20].

1.6.1. Aguas residuales industriales

Son aguas contaminadas provenientes de actividades industriales en donde se usan generalmente durante la producción, transformación o manipulación [21]. Estas aguas generan un gran impacto ambiental porque tienen contaminantes minerales, orgánicos, térmicos, entre otros [21], los cuales se reflejan en la figura 7.

Figura 7.

Cuadro de características fisicoquímicas de las aguas residuales industriales

| Propiedades | Características | |
|-----------------------------|----------------------------------|--------------|
| <i>Propiedades Físicas</i> | - Color | - Sólidos |
| | - Olor | |
| | Compuestos Orgánicos: | |
| | - Grasas animales | - Pesticidas |
| | - Compuestos orgánicos volátiles | |
| <i>Propiedades Químicas</i> | Compuestos Inorgánicos: | |
| | - Nitrógeno | - Fósforo |
| | - pH | - Azufre |
| | - Metales pesados | - Sulfatos |
| | Compuestos Biológicos: | |
| | - Animales | - Plantas |
| | - Microorganismos | - Virus |

Nota. La figura representa las principales características físicas y químicas más comunes de las aguas residuales industriales y cuya información se adaptó de la referencia [22]. Tomado de: Metcalf & Eddy, *Ingeniería de aguas residuales, tratamiento, vertido y reutilización*, 3a ed. España: McGraw-Hill/Interamericana de España, S. A., 1995.

1.6.2. Técnicas de eliminación de microorganismos

Las aguas residuales industriales son ricas en diversos nutrientes propios para un crecimiento adecuado de las microalgas; no obstante, también presentan compuestos biológicos como se representa en la figura 8 entre los que se destacan los protozoos y rotíferos, conocidos por ser depredadores de microalgas [23]; y bacterias que tienen una mayor capacidad de obtención de nutrientes, limitando así, el desarrollo de biomasa microalgal [24].

Existen diversos tipos de pretratamientos de aguas residuales para eliminar parcial o totalmente esta carga microbiana, entre las cuales se destacan, la irradiación por luz ultravioleta (UV), la adición de agentes químicos como el hipoclorito de sodio o el ácido peracético. A continuación, se presenta una breve comparación de cada método para el pretratamiento en aguas residuales, mostrados en la figura 8.

Figura 8.

Cuadro de comparación para diferentes técnicas de eliminación de microorganismos

| Técnicas | Descripción | Ventajas | Desventajas |
|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Irradiación ultravioleta (UV) | Al someter a diversos microorganismos a este tipo de luz, ellos absorben la energía emitida y las reacciones fotoquímicas alteran los componentes moleculares esenciales (ARN y ADN) resultando en efectos germicidas. | <ul style="list-style-type: none"> • Sencillez de la operación y mantenimiento, además de que no se requieren productos químicos. • El tiempo de exposición requerido es muy corto | Reducción de la eficiencia cuando aumenta la turbiedad o el color del agua |
| Hipoclorito de Sodio | Es generalmente considerado un oxidante no selectivo altamente destructivo, que reacciona con una gran variedad de compuestos subcelulares y afecta los procesos metabólicos. | Es un oxidante fuerte, además de económico. | Es menos efectivo contra esporas bacterianas, hongos y protozoarios. |
| Ácido peracético | Su mecanismo de oxidación consiste en la transferencia de electrones de la forma oxidada del ácido a los microorganismos, provocando así su inactivación o incluso su muerte. | <ul style="list-style-type: none"> • Alto potencial oxidante sobre la membrana externa de las bacterias, endosporas, hongos, virus y levaduras. • Buena eficacia, esencialmente sin residuos tóxicos, fácil aplicación y relativamente bajo costo | Falta de estabilidad, particularmente después de la dilución, y potencial para corroer metales como el cobre. |

Nota. La figura muestra las principales técnicas de eliminación de microorganismos en donde se evidencian los aspectos más importantes como sus ventajas y desventajas. En primera instancia, para la sección de irradiación UV se tomó como referencia [24], [25], para el hipoclorito de sodio [26], [27] y finalmente para el ácido peracético [28].

1.6.3. Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La demanda química de oxígeno (DQO) “determina la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la materia orgánica en una muestra de agua, bajo condiciones específicas de agente oxidante, temperatura y tiempo” [29], dicha cantidad se expresa en mg/L O₂. El método DQO generalmente

se usa para medir aquellos contaminantes presentes en aguas naturales y residuales, así como también para evaluar la cantidad de desechos en aguas residuales municipales e industriales [30].

1.6.4. Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)

La demanda bioquímica de oxígeno corresponde a la cantidad de oxígeno que los microorganismos consumen durante la degradación de las sustancias orgánicas contenidas en una muestra de agua [31]. Este ensayo se realiza con el fin de determinar el grado de contaminación, y se cuantifica a 20°C durante un periodo de 5 días [32], con valores numéricos expresados en mg/L O₂.

1.6.5. Turbidez

La turbidez indica el grado de transparencia del agua debido a la presencia de partículas en suspensión. A mayor contenido de partículas la luz no se transmite a través del cuerpo de agua, sino que se dispersa y se absorbe [33]. De esta manera se entiende que, a mayor turbidez, mayor será la dispersión. Se expresa en unidades como lo son FTU, NTU, JTU y EBC.

Es uno de los parámetros más importantes en procesos de control de calidad del agua para el consumo humano, debido a que los sólidos que se encuentran en ella pueden indicar una carga o contaminación microbiana, así como metales pesados y compuestos orgánicos tóxicos [34].

1.6.6. Sólidos suspendidos totales

Los sólidos suspendidos totales (SST) representan a todo aquel material particulado que se mantiene en suspensión en corrientes de agua superficial y/o residual [35]. El propósito de analizar SST corresponde a una evaluación del estado de la calidad de agua y se expresa habitualmente en mg/L.

1.6.7. Sólidos volátiles

“Los sólidos volátiles (SV) son aquellos que se volatilizan a una temperatura de 550°C. Cuando los sólidos totales se someten a combustión bajo una temperatura de 550°C durante 20 minutos, la materia orgánica se convierte en dióxido de carbono y agua. Esta pérdida de peso se interpreta en términos de materia orgánica o volátil” [36].

1.6.8. Sólidos totales

“Los sólidos totales (ST), se definen como la materia que permanece como residuo después de la evaporación y secado a una temperatura de 103 – 105 °C. Dichos sólidos totales incluyen materias disueltas y no disueltas” [37].

1.7. Biopolímeros

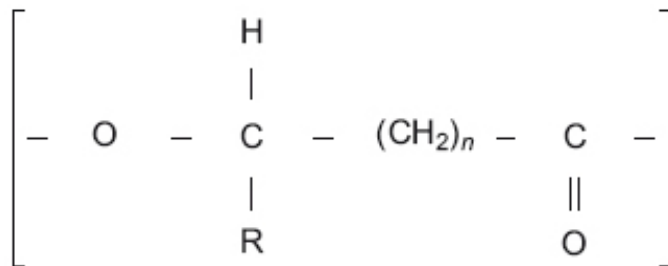
También conocidos como polímeros naturales, son compuestos sintetizados por los seres vivos y cumplen funciones biológicas, estructurales y de defensa [38]. Los biopolímeros naturales provienen de cuatro fuentes principales: “Origen animal (colágeno/gelatina), origen marino (quitina/quitosan), origen agrícola (lípidos, grasas, proteínas y polisacáridos) y origen microbiano (ácido poliláctico (PLA) y polihidroxialcanoatos (PHA))” [39].

1.7.1. Polihidroxialcanoatos (PHA)

Los polihidroxialcanoatos (PHA) son biopoliésteres que se sintetizan por algunos microorganismos intracelularmente a manera de reserva de carbono y energía en ambientes con exceso de carbono y presencia de otros nutrientes esenciales como nitrógeno, azufre, oxígeno y fósforo [39], una vez el PHA es extraído de la célula, presenta propiedades físicas similares a plásticos derivados del petróleo [4]. Su estructura se representa en la figura 9.

Figura 9.

Estructura del PHA

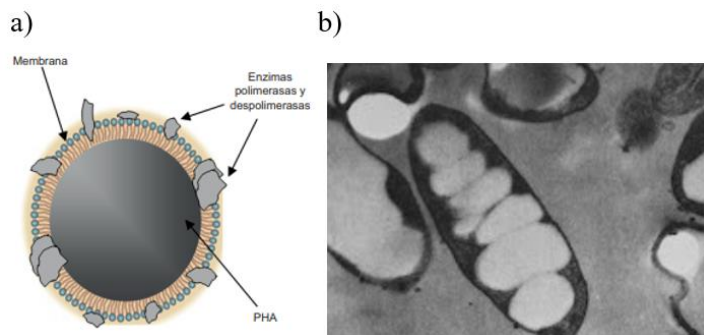


Nota. La figura representa la estructura química del PHA en donde el valor de n dependerá del grupo R y el microorganismo en el cual se produce el biopolímero. Tomado de: Y. González García, J. C. Meza Contreras, O. González Reynoso, and J. A. Córdova López, “Síntesis y biodegradación de polihidroxicanoatos: Plásticos de origen microbiano,” *Rev. Int. Contam. Ambient.*, vol. 29, no. 1, pp. 77–115, 2013.

El PHA se acumula en forma de gránulos que se observan en la figura 10, “como polímeros líquidos, móviles y amorfos durante las primeras etapas de crecimiento, alojándose en el citoplasma microbiano rodeados de una monocapa de fosfolípidos que contiene enzimas polimerasas y despolimerasas, el proceso de la producción del polímero cesa cuando su contenido alcanza cerca del 80 % del peso celular en base seca” [4].

Figura 10.

Acumulación de PHA



Nota. Esquema en el que se observa que cerca del 80 % corresponde a la acumulación de PHA y a su vez se encuentra la presencia de enzimas polimerasas y despolimerasas en la membrana. (a) Esquema del gránulo de PHA intracelularmente (b) Acumulación de gránulos de PHA en *Shaeoroides rhodobacter*. Tomado de: Y. González García, J. C. Meza Contreras, O. González Reynoso, and J. A. Córdova López, “Síntesis y biodegradación de polihidroxicanoatos: Plásticos de origen microbiano,” *Rev. Int. Contam. Ambient.*, vol. 29, no. 1, pp. 77–115, 2013.

1.7.1.a. Propiedades de los PHA. Los PHA se clasifican en tres principales grupos dependiendo de su cadena estructural o del número de carbonos que conforman el monómero. Generalmente, los PHAs son polímeros de alto peso molecular dentro en el rango de 100 – 1.000 KDa [39] y presentan propiedades similares a polímeros como el polipropileno. Existen los PHAs de cadena corta los cuales tienen de 3 a 5 carbonos, los de cadena media que tienen entre 6 a 14 carbonos y los de cadena larga que contienen más de 14 carbonos, dichas longitudes proporcionan características propias para los materiales [40]. Los PHA de cadena corta son termoplásticos y pueden moldearse por encima de su punto de fusión correspondiente a los 180 °C, por otro lado, los PHA de cadena media son altamente amorfos, con una temperatura de transición que abarca desde los -62 a -26 °C y una temperatura de fusión entre los 42 – 58 °C [41].

1.7.1.b. Aplicación industrial. Dado que los PHA presentan características termoplásticas con pesos moleculares relativamente altos, y buena biodegradabilidad, son buenas alternativas y potencialmente buenos para aplicaciones que involucran industrias de empaques, medicina, farmacia, agricultura, alimentos y producción de pinturas [4]. Cabe destacar que dependiendo del tipo de cadena que caracterice al polímero, beneficiará a ciertas industrias o procesos. Los biopolímeros de cadena corta son principalmente usados para la fabricación de botellas desechables de champú, contenedores para productos alimenticios, bolsas y otros productos desechables [4]. En aplicaciones biomédicas, poseen una propiedad esencial y es su biocompatibilidad con el tejido humano, así pues, se usan como hilo para suturas, sustitutos pericárdicos y fabricación de jeringas desechables [4]. En general, los PHA pueden fabricarse en diversas formas y materiales, mediante su procesamiento con equipos convencionales para plásticos como por moldeo y extrusión.

1.7.1.c. Métodos de extracción. Un paso fundamental en la producción de PHA corresponde a su respectiva extracción de la célula del microorganismo, acumulado intracelularmente en el citoplasma, pues de esto dependen sus características físicas y su aplicación industrial. Para ello, se debe desestabilizar la célula para extraer y purificar el PHA [42]. Existen diversos métodos de los cuales los más empleados se aprecian en la figura 11 con sus ventajas y desventajas.

Figura 11.

Métodos de extracción de PHA

| Método | Descripción | Ventajas | Desventajas |
|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Extracción con Solventes</i> | <p>Técnica que se divide en 3 pasos:</p> <p>I. Pretratamiento para la ruptura de las células y acceso de los gránulos de PHA.</p> <p>II. Uso de disolventes clorados como cloroformo, carbonato de 1,2-propileno para volver los gránulos solubles.</p> <p>III. Uso de un no disolvente para la precipitación del polímero (metanol o etanol).</p> | Alta pureza del biopolímero, ya que no lo degrada y también elimina las endotoxinas de la célula. | No es amigable con el medio ambiente y puede dañar las propiedades del biopolímero. |
| <i>Flotación</i> | Es la modificación de la extracción con solventes en la que se emplea una solvente para la extracción de PHA seguido de la autoflotación de los restos celulares. | Alta pureza de hasta un 98 % con eficiencias de recuperación del 85% p/p de PHA. Reducción del desperdicio del polímero. | No es amigable con el medio ambiente. |
| <i>Digestión</i> | Implican un mecanismo de digestión para liberar el PHA de las células, la digestión puede ser química o enzimática, ambas técnicas digieren la masa celular que no es PHA. En la digestión química se suele emplear hipoclorito de sodio con tensioactivos. | Método económico y fácil. Se puede mejorar el rendimiento si se combinan los mecanismos. | Bajo rendimiento y fácil degradación del polímero (hasta un 50 %). |
| <i>Fluidos supercríticos</i> | Se emplea por lo general CO ₂ en condiciones supercríticas por su presión y temperatura moderada, también se usa amoníaco y metanol. | Bajo costo, alta pureza y amigable con el medio ambiente. | Temperatura y presiones altas pueden modificar la membrana celular, dificultando la extracción del PHA. |
| <i>Extracción Acuosa en Dos Fases (ATPE)</i> | Se compone de dos fases únicas, es decir, agua y fase no volátil. El sistema ATPE utiliza agua para aislar, purificar y recuperar PHA. | Enfoque respetuoso con el medio ambiente y eficaz para aislar el PHA. | Bajo porcentaje de recuperación de PHA. |

Nota. Esta figura muestra los métodos más conocidos para la extracción de PHA con sus ventajas y desventajas. Tomado de: [43] Z. A. Raza, S. Abid, and I. M. Banat, “Polyhydroxyalkanoates: Characteristics, production, recent developments and applications,” *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 126, no. January 2017, pp. 45–56, 2018, doi: 10.1016/j.ibiod.2017.10.001.

2. SELECCIÓN DEL AGUA RESIDUAL INDUSTRIAL PARA EL CRECIMIENTO DE *Chlorella vulgaris*

Para el presente capítulo se pretenden evaluar diferentes aguas residuales industriales (avícola, floricultora y láctea) para el correcto crecimiento de la microalga *C. vulgaris* debido a factores como su disponibilidad en Colombia, la cantidad de nutrientes que estas aportan en la producción de biomasa microalgal y para contrarrestar el impacto negativo hacia el medio ambiente. Es por esto que, mediante diversas revisiones bibliográficas, se busca estudiar las características de cada agua residual, así como las condiciones propias del crecimiento de *C. vulgaris*, con el fin de seleccionar el agua residual adecuada para la microalga mediante una matriz de decisión, por el proceso de análisis jerárquico (AHP) de Thomas L. Saaty.

2.1. Revisión bibliográfica de las condiciones de crecimiento propias de la microalga *Chlorella vulgaris*.

En esta sección se realizó una revisión mediante bases de datos que permitió identificar las principales condiciones que afectan notoriamente el crecimiento de la microalga *C. vulgaris* y que permiten el diseño de la matriz de decisión.

2.1.1. Temperatura

La temperatura, al igual que otros factores es uno de los más importantes porque influye en aspectos claves del crecimiento microbiano. A temperatura óptima se va a generar mayor producción de biomasa. También influyen en las reacciones enzimáticas, el sistema de membrana celular y otras características de diversos microorganismos [44]. En las microalgas, dependiendo de la especie, existe una temperatura óptima correspondiente que por lo general abarca desde los 10 °C a los 39 °C [45].

Los cambios de temperatura pueden afectar en gran medida el metabolismo de las microalgas, por consiguiente, “a bajas temperaturas sufren reacciones espontáneas que pueden reducir la fluidez de las membranas celulares, disminuir su velocidad de crecimiento celular y en consecuencia

generar una menor producción de biomasa” [46]. Sin embargo, al incrementar excesivamente la temperatura se puede provocar el cese del crecimiento y la muerte celular. Para *C. vulgaris* la temperatura óptima reportada por diferentes autores se encuentra alrededor de los 30 °C [47], [48], [49], [50], [51].

2.1.2. pH

El pH, al igual que la temperatura, es uno de los factores más importantes debido a que afecta la eficiencia en la absorción de nutrientes, “una variación en la productividad que altera el crecimiento algal, la composición de la biomasa y la capacidad de remover el nitrógeno en sistemas de tratamiento de aguas” [52], notando así, una fuerte dependencia de las células con respecto al pH del medio de cultivo, es por esto que lo más común para controlar un desbalance del pH es la inyección de CO₂. Para *C. vulgaris*, esta especie es capaz de adaptarse en un rango de pH de 6,5 a 9 [53], en caso de que el pH esté fuera de este rango se refleja un menor crecimiento dado que la microalga no puede desarrollar su metabolismo porque no cuenta con los requerimientos nutricionales necesarios para subsistir. Así, diferentes autores reportan el pH óptimo para el crecimiento de *C. vulgaris* entre 7 a 8 [8], [53], [54], [55].

2.1.3. Luz

Debido a que las microalgas son organismos fotosintéticos, es fundamental tener en cuenta el comportamiento de la luz, los fotoperiodos y la intensidad lumínica para asegurar una correcta proliferación y respiración celular. Diferentes autores proponen fotoperiodos de luz-oscuridad en relación 12:12 horas, ya que esto garantiza un entorno semejante a su hábitat natural; [54], [56], [57] los periodos de oscuridad son necesarios porque dan inicio a la división celular donde también se activan enzimas que en periodos de luz están desactivadas [58].

La luz comprende dos aspectos claves que corresponden a la intensidad de la luz y a la longitud de onda. En lo que respecta a la intensidad lumínica puede incrementar la fotosíntesis hasta llegar a un punto específico de saturación de la luz en donde se alcanza la tasa máxima de crecimiento para el microorganismo; en el momento que se sobrepasa dicho punto, se afecta el crecimiento e

incluso se da la muerte celular debido a la fotoinhibición, ya que la microalga realiza su proceso fotosintético con la cantidad de luz necesaria, pero un exceso afecta notoriamente su integridad [59], [60], [61], [62].

Se han establecido rangos de intensidad de luz y longitudes de onda para un crecimiento adecuado de la microalga. En el caso de intensidad lumínica, según diversos autores el rango óptimo se encuentra entre 7 a 7,5 kLux [51], [56], [57], [63]. Por otro lado, los reportes con respecto a las longitudes de onda varían según el tipo de luz, para *C. vulgaris* la luz roja puede estar en rangos entre 630 a 665 nm y para luz azul 430 a 435 nm [64], aunque otro autor afirma que este tipo de microorganismos se desenvuelven bien en luces amarillas o blancas [65].

2.1.4. Nutrientes

Las microalgas requieren durante el cultivo una serie de nutrientes que contribuyen al crecimiento microalgal, producción de biomasa y contenido de lípidos y ácidos grasos, dichos nutrientes se clasifican en macro y micronutrientes. Los macronutrientes cumplen con el objetivo de mantener la presión osmótica y el equilibrio de electrolitos [66], entre los que se cuentan principalmente el nitrógeno (N), carbono (C), fósforo (P) e hidrógeno (H) en mayor proporción y sodio, potasio, calcio, azufre, magnesio y cloro en menores proporciones [67]. Mientras que, por otro lado, los micronutrientes actúan como cofactores de enzimas y se presentan en bajas proporciones [66]; los principales son hierro, zinc, manganeso, bromo, silicio, boro, molibdeno, vanadio, aluminio, entre otros [67].

En lo que corresponde al carbono su importancia radica en que es el componente esencial estructural y fuente de energía de las microalgas. Estos microorganismos pueden adquirir su fuente de carbono de dos formas: Carbono orgánico (Glucosa, acetato, glicerol, fructosa, entre otros) y carbono inorgánico (CO₂) [68], en donde para este último, “por lo general las microalgas toleran hasta 150 mg/mL de CO₂, por lo que los gases de combustión de plantas de energía pueden alimentar al medio de cultivo microalgal ya que contienen hasta 15 % (v/v) de CO₂” [69]. Por otra parte, para una buena selección de la fuente de carbono se debe tener en cuenta el metabolismo microalgal en donde se destacan fotoautótrofos, heterotróficos y mixotróficos. Según diversos

estudios, para la especie microalgal *C. vulgaris* se logran mayores productividades para cultivos heterotróficos y mixotróficos [70], y reportan que dentro de las mejores fuentes de carbono estarían el suministro de aire enriquecido con CO₂ del 2 % al 9 % [71], [72], [73].

Seguido a esto, el nitrógeno tiene un papel muy importante en los nutrientes dado que es el encargado de regular el crecimiento celular, el contenido de lípidos de las microalgas y la biomasa producida [51]. Por lo general, este macronutriente se suministra como nitrato (NO₃⁻), amonio (NH₄⁺) y urea, dado que registran tasas de crecimiento similares [67]. Varios estudios confirman que, ante una limitación de nitrógeno bajo una exposición de luz adecuada en el medio de cultivo, se producen más lípidos, pero hay una disminución de la tasa celular, esto debido a que se desvía el flujo de carbono fijado por la fotosíntesis a síntesis de lípidos o carbohidratos [68]. Por otro lado, el fósforo es un macronutriente fundamental que se incorpora como ortofosfato (PO₄²⁻) y se comporta de manera similar al nitrógeno, ya que una deficiencia de éste en el medio de cultivo genera una limitación del crecimiento microalgal dado que tiene la facilidad de unirse a otros iones como el hierro (Fe) y el carbonato (CO₃²⁻) generando una precipitación e imposibilidad de la microalga por absorberlo [67] y ayuda a la producción de lípidos y carbohidratos; sin embargo, cumple con funciones esenciales como la transferencia de energía, la biosíntesis de ácidos nucleicos, ADN, entre otros [67].

2.1.5. Agitación

Es importante destacar la función de la agitación mediante aireación y el efecto que genera en un cultivo de microalgas ya que permite una correcta dispersión de las microalgas en el medio, evitando su adherencia al recipiente del medio de cultivo y su sedimentación; por otra parte, este factor mejora la transferencia de masa debido a la presencia de fases gaseosa y acuosa [74], en vista de que como se mencionó anteriormente puede existir una inyección de CO₂, que generalmente “su tasa de flujo de gas total está entre 0,1 – 0,3 vvm (flujo de volumen de gas por unidad de volumen de líquido por minuto) [75], garantizando una buena disponibilidad de luz y homogenización del pH [76]. No obstante, se debe manejar adecuadamente porque si la agitación es muy fuerte, se podrían originar daños en la estructura celular y producción de metabolitos que

afectarían el pH del cultivo, y finalmente, en cuanto a una agitación insuficiente se puede provocar la sedimentación y muerte celular [74].

2.2. Revisión bibliográfica de las propiedades fisicoquímicas de las aguas residuales de las industrias avícola, floricultora y láctea.

Para la presente sección, se indagó respecto a las propiedades fisicoquímicas de las aguas residuales industriales mediante bases de datos con el fin de poderse comparar posteriormente en la matriz de decisión y que permitan la selección de la misma.

2.2.1. Industria avícola

Los mataderos de aves en Colombia son una de las industrias más representativas debido a su alta demanda, ya que se estimó para el año 2017 un consumo per cápita de 32,8 kg de pollo según la Federación Nacional de Avicultores en Colombia – FENAVI [77], lo que lo vuelve más dependiente de los recursos naturales, incidiendo en la transformación del medio ambiente. De esta manera, sus aguas residuales son una gran problemática ambiental ya que presentan altas concentraciones de materia orgánica biodegradable, coloidal y suspendida como grasas, proteínas y celulosa [78]. Uno de los mayores inconvenientes de este tipo de aguas residuales para ser empleadas como cultivo de microorganismos fotosintéticos recae en la cantidad de sangre presente en esta, debido a que altas cantidades de sangre pueden aumentar la turbidez del medio, lo cual puede disminuir la cantidad de luz que es transferida [79], como consecuencia, esto puede disminuir la producción de las microalgas presentes en un medio de cultivo de aguas residuales avícolas.

Estas aguas residuales tienen ciertas propiedades fisicoquímicas, de las cuales, algunas químicas se resumen en la tabla 1, y de las físicas se resalta la turbidez en un rango de 43,6 a 647 FAU [80]; el color desde 319 a 4.214 en escala de color [80] y los sólidos totales entre 2.000 y 3.139 mg/L [81], [82], [83].

Tabla 1.*Propiedades químicas de aguas residuales de la industria avícola*

| pH | Nitrógeno (mg/L) | Fósforo (mg/L) | DQO (mg/L O ₂) | DBO (mg/L O ₂) | Ref |
|-------------|------------------|----------------|----------------------------|----------------------------|------|
| 6,5 a 7,5 | 1,03 a 38,59 | 2,67 a 5,79 | 358 a 5.009 | 139,60 a 1.809 | [80] |
| - | 122,89 ± 1,91 | 27,9 ± 1,62 | 3.700 ± 720 | - | [81] |
| 6,5 a 7,0 | 147 a 233 | 33 a 128 | 2.360 a 4.690 | 1.190 a 2.624 | [82] |
| 8,0 a 11,0 | 122,90 | 27,90 | 3.694,70 | - | [83] |
| 6,38 ± 0,06 | 109,94 ± 7,53 | 9,60 ± 3,52 | 1.584,23 ± 197,48 | 1.136,20 ± 121,30 | [79] |
| 6,5 a 8,0 | 77 a 352 | 8 a 27 | 2.133 a 4.137 | 1.100 a 2.750 | [84] |
| 6,95 ± 0,01 | 122 ± 1 | 82 ± 1 | 559 ± 3 | - | [85] |

Nota. La tabla muestra propiedades químicas presentes en aguas residuales de la industria avícola como pH, cantidad de nitrógeno y fósforo, así como el DBO y DQO expresados en mg/L y cuyos valores están representados en rangos tomados de diferentes referencias. DBO = Demanda Bioquímica de Oxígeno, DQO = Demanda Química de Oxígeno.

2.2.2. Industria floricultora

Colombia es uno de los mayores productores de flores a nivel mundial dadas sus condiciones climatológicas, disponibilidad del recurso hídrico y terreno homogéneo [86]. Para el año 2016 la región con mayor producción de flores fue Cundinamarca con un 72 % según la Asociación Colombiana de Exportadores de Flores - ASOCOLFLORES [87], evidenciando así la floricultura como una de las principales actividades agropecuarias del país. Por otro lado, el mal uso de los terrenos y la cantidad de plaguicidas empleados produce que sus vertimientos de aguas residuales contaminen en gran medida el medio ambiente, estos plaguicidas presentes en el agua residual pueden representar una gran desventaja durante el proceso de fermentación de microalgas, debido a que muchos de estos están formulados de tal forma que se disminuya o elimine el crecimiento de diferentes microorganismos por lo que puede inhibir el proceso de producción de biomasa en el medio.

Sus características pueden variar, arrojando datos en sus propiedades químicas como los que se ven reflejados en la tabla 2, mientras que para sus propiedades físicas presentan olores desagradables [88], un color de 445 a más de 500 unidades de color [89], [90], una turbidez de 675 NTU [90] y sólidos suspendidos totales con valores entre 50 y 181 mg/L [89], [90], [91], [92].

Tabla 2.*Propiedades químicas de aguas residuales de la industria floricultora*

| pH | Nitrógeno (mg/L) | Fósforo (mg/L) | DQO (mg/L O₂) | DBO (mg/L O₂) | Ref. |
|-------------|-------------------------|-----------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------|
| 6,49 | 203,82 | 293,88 | - | - | [88] |
| 6,80 | 11,63 | - | 673,06 | 103,50 | [89] |
| 8,30 | 6 | 11,60 | 178 | 112 | [90] |
| 6,68 | 22,13 | 6,61 | 165 | 18 | [91] |
| 8,33 ± 0,18 | 692 ± 60 | 9,70 ± 1,10 | 5.750 ± 991 | 2.300 ± 50 | [92] |
| 8,40 | 4 | - | - | - | [93] |

Nota. La tabla muestra las propiedades químicas presentes en aguas residuales de la industria floricultora, como pH, cantidad de nitrógeno y fósforo, así como el DBO y DQO expresadas en mg/L y cuyos valores están representados en rangos tomados de diferentes referencias. DBO = Demanda Bioquímica de Oxígeno, DQO = Demanda Química de Oxígeno.

2.2.3. Industria láctea

El sector lechero, considerado uno de los más importantes en el ámbito agropecuario en Colombia, en el 2018 presentó una producción anual de 7.358 millones de litros de leche y aproximadamente 3,1 millones de kg en quesos [94]. Debido a sus elevados volúmenes se necesita un gran requerimiento de agua y por consiguiente genera una gran cantidad de aguas residuales que son vertidas al medio ambiente, este tipo de aguas tienen como características un elevado carácter orgánico (DBO y DQO), que se muestra en la tabla 3, una turbidez de entre 1.744 a 3.921 NTU [95] y, además de una “alta biodegradabilidad, presencia de aceites y grasas, altas concentraciones de fósforo y nitratos que se deben esencialmente a las actividades de limpieza y desinfección, cabe resaltar que no se tendrá en cuenta estos procesos de limpieza y desinfección dentro del agua residual, debido a que dichos procesos poseen detergentes y agentes de desinfección que pueden llegar a eliminar microorganismos dentro de una fermentación para la producción de biomasa.

Igualmente, este tipo de agua residual cuenta con una alta cantidad de aceites y grasas debido a la presencia de sólidos en suspensión (mayormente generados en la elaboración de quesos), y una conductividad elevada que se le atribuye de igual forma a las empresas productoras de queso” [96].

Tabla 3.*Propiedades químicas de aguas residuales de la industria láctea*

| pH | Nitrógeno(mg/L) | Fósforo(mg/L) | DQO (mg/L) | DBO (mg/L) | Ref. |
|---------------|-----------------|---------------|-------------------|----------------|-------|
| 6,3 a 7,6 | 104,4 a 636 | - | 3.900 a 24.813 | 2.300 a 12.500 | [95] |
| 5,3 a 9,4 | 15 a 180 | 11 a 160 | - | 450 a 4.790 | [96] |
| - | 90 | 10 | 1.500 | 850 | [97] |
| 4,6 ± 0,4 | 1,91 ± 0,7 | 49,1 ± 3,4 | 408 ± 378 | 728 ± 64 | [98] |
| 7,86 ± 0,01 | 27,70 | 19,5 ± 0,7 | 184 ± 2,64 | - | [99] |
| 7,36 ± 0,08 | 284,75 ± 7,13 | 77,94 ± 3,05 | 5.562,64 ± 153,78 | - | [100] |
| 7 a 10 ± 0,01 | 125 a 136 | 800 | - | - | [101] |

Nota. La tabla muestra las propiedades químicas presentes en aguas residuales de la industria láctea, como pH, cantidad de nitrógeno y fósforo, así como el DBO y DQO expresadas en mg/L y cuyos valores están representados en rangos tomados de diferentes referencias. DBO = Demanda Bioquímica de Oxígeno, DQO = Demanda Química de Oxígeno.

2.3. Selección del agua residual adecuada mediante el proceso de análisis jerárquico (AHP)

Esta sección comprenderá la metodología realizada mediante una matriz de decisión para la selección del agua residual adecuada, tomando en cuenta los factores investigados en la sección anterior que corresponden a las condiciones de crecimiento de *C. vulgaris* y las características fisicoquímicas de las diferentes aguas residuales.

2.3.1. Proceso de análisis jerárquico (AHP) de Thomas L. Saaty

Para la selección del agua residual, se empleó el proceso de análisis jerárquico (AHP) desarrollado por Thomas L. Saaty dado que es una de las técnicas más completas, ordenadas y efectivas para la simplificación de decisiones complejas que se aplica a la toma de decisiones multicriterio [102], para esto, se llevó a cabo una adaptación de los autores Shahnazaria, Rafieea, Rohania, Bhushan, Ebrahiminika y Aghkhanian [103] en donde, inicialmente, fue necesario tener claridad sobre las alternativas y criterios a evaluar, seguido a ello, se tuvo en cuenta la escala de importancia relativa propuesta por Thomas Saaty, representada en la tabla 4, la cual establece los niveles de importancia para la calificación de los criterios y alternativas en el desarrollo de las matrices de comparación y finalmente, se analizó la mejor alternativa de acuerdo a los pesos obtenidos.

Tabla 4.

Escala de preferencias

| Calificación Numérica | Planteamiento Verbal de la Preferencia |
|------------------------------|---------------------------------------------------|
| 9 | Extremadamente preferible |
| 8 | Entre muy fuertemente y extremadamente preferible |
| 7 | Muy fuertemente preferible |
| 6 | Entre fuertemente y muy fuertemente preferible |
| 5 | Fuertemente preferible |
| 4 | Entre moderadamente y fuertemente preferible |
| 3 | Moderadamente preferible |
| 2 | Entre igualmente y moderadamente preferible |
| 1 | Igualmente preferible |

Nota. Esta tabla muestra la escala de preferencias para los criterios que afectan la selección de la mejor alternativa en el proceso de análisis jerárquico (AHP). Tomado de: G. Toskano, “El Proceso de Análisis Jerárquico (AHP) como Herramienta para la Toma de Decisiones en la Selección de proveedores.,” 2005. available: https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/basic/toskano_hg/toskano_hg.pdf (accessed Aug. 18, 2021).

2.3.2. Implementación del AHP para la selección del agua residual industrial adecuada

Durante el proceso de análisis jerárquico se desarrollaron una serie de pasos para la selección del agua residual industrial propia, donde en primera instancia se tuvieron en cuenta las alternativas que corresponden a las industrias avícola, floricultora y láctea, así como los criterios que afectan en gran mayoría la decisión de las alternativas.

Estos criterios se basan en los requerimientos que tienen mayor relevancia para un adecuado desarrollo de la microalga *C. vulgaris* en el medio de cultivo, así pues, dichos criterios a considerar fueron: pH debido a que un valor diferente al óptimo puede generar una disminución en la productividad del microorganismo [52], también se tuvo presente la cantidad de nitrógeno porque es considerado uno de los nutrientes más importantes de la microalga ya que forma parte de las proteínas y nucleótidos de la biomasa [66], adicionalmente, el fósforo forma parte de importantes intermedios metabólicos, lípidos, enzimas y multitud de especies bioquímicas [66], y el último criterio evaluado fue la turbidez debido a que el aumento de este puede disminuir la intensidad

lumínica, lo cual es perjudicial para el crecimiento de estos microorganismos fotosintéticos [52]. Los criterios anteriormente mencionados se muestran en la tabla 5.

A continuación, se procedió a valorar cada uno de los criterios comparando el impacto que tienen entre sí, para esto, se consideró la valorización representada en la tabla 4. Por consiguiente, se realizó una matriz de decisión multicriterio reflejando el peso que tienen entre sí cada criterio respecto al otro, evidenciado en la tabla 5, posteriormente, se normalizó la matriz original de los criterios por medio de la suma de las columnas de cada criterio y se dividió cada valor por dicha suma, con el fin de obtener la ponderación correspondiente mediante el cálculo del promedio de las filas de dicha matriz normalizada.

Tabla 5.

Matriz de comparación de criterios

| CRITERIOS | pH | Nitrógeno | Fósforo | Turbidez | Matriz Normalizada | | | | Ponderación |
|------------------|------|-----------|---------|----------|--------------------|------|------|------|--------------------|
| pH | 1,00 | 2,00 | 5,00 | 6,00 | 0,54 | 0,57 | 0,48 | 0,40 | 0,49 |
| Nitrógeno | 0,50 | 1,00 | 4,00 | 5,00 | 0,26 | 0,29 | 0,38 | 0,33 | 0,31 |
| Fósforo | 0,20 | 0,25 | 1,00 | 3,00 | 0,10 | 0,07 | 0,09 | 0,20 | 0,11 |
| Turbidez | 0,17 | 0,20 | 0,33 | 1,00 | 0,08 | 0,05 | 0,03 | 0,06 | 0,06 |
| Suma | 1,87 | 3,45 | 10,33 | 15,00 | | | | | |

Nota. Esta tabla muestra la calificación sobre la importancia de los criterios de evaluación (pH, cantidad de nitrógeno, fósforo y turbidez) que permiten obtener una ponderación para evidenciar que criterios son más relevantes que otros.

Los resultados evidenciados en la tabla 5 indican que, por medio de las ponderaciones, el criterio con mayor importancia fue el pH, con un valor de 0,49, seguido del nitrógeno, fósforo y la turbidez del medio. Después, se procedió a realizar el mismo procedimiento, pero esta vez con las diferentes alternativas (industria avícola, floricultora y láctea) evaluando su importancia respecto a cada criterio, véase la tabla 6, para comparar las alternativas en cuanto al pH, la tabla 7, correspondiente al nitrógeno, posteriormente, la tabla 8 donde se encuentran las ponderaciones registradas para el fósforo y finalmente, la tabla 9 en cuanto a la turbidez. que se ven reflejadas en las tablas 6, 7, 8 y 9, donde en primera instancia se evalúan las alternativas respecto al criterio pH, seguido del criterio nitrógeno, fósforo y turbidez.

Tabla 6.
Matriz de comparación de alternativas con el criterio de pH

| pH | Avícola | Floricultora | Láctea | Matriz Normalizada | | | Ponderación | Vector Fila Total | Cociente |
|-------------------------------|---------|--------------|---------------------------------|--------------------|------|------|--------------------|----------------------------------------------|----------|
| Avícola | 1,00 | 1,00 | 2,00 | 0,40 | 0,40 | 0,40 | 0,40 | 1,2 | 3 |
| Floricultora | 1,00 | 1,00 | 2,00 | 0,40 | 0,40 | 0,40 | 0,40 | 1,2 | 3 |
| Láctea | 0,50 | 0,50 | 1,00 | 0,20 | 0,20 | 0,20 | 0,20 | 0,6 | 3 |
| Suma | 2,50 | 2,50 | 5,00 | | | | | Promedio (λ_{max}) | 3 |
| Índice de consistencia | 0 | | Relación de consistencia | | | 0% | | | |

Nota. En esta tabla se observan las ponderaciones de las alternativas con respecto a la escala de Saaty evaluando el criterio de pH.

Tabla 7.
Matriz de comparación de alternativas con el criterio de Nitrógeno

| Nitrógeno | Avícola | Floricultora | Láctea | Matriz Normalizada | | | Ponderación | Vector Fila Total | Cociente |
|-------------------------------|---------|--------------|---------------------------------|--------------------|------|--------|--------------------|----------------------------------------------|-------------|
| Avícola | 1,00 | 4,00 | 0,33 | 0,23 | 0,29 | 0,23 | 0,25 | 0,75 | 3,01 |
| Floricultora | 0,25 | 1,00 | 0,11 | 0,06 | 0,07 | 0,08 | 0,07 | 0,21 | 3,00 |
| Láctea | 3,00 | 9,00 | 1,00 | 0,71 | 0,64 | 0,69 | 0,68 | 2,05 | 3,02 |
| Suma | 4,25 | 14,00 | 1,44 | | | | | Promedio (λ_{max}) | 3,01 |
| Índice de consistencia | 0,01 | | Relación de consistencia | | | 0,795% | | | |

Nota. En esta tabla se observan las ponderaciones de las alternativas con respecto a la escala de Saaty evaluando el criterio de Nitrógeno.

Tabla 8.
Matriz de comparación de alternativas con el criterio de Fósforo

| Fósforo | Avícola | Floricultora | Láctea | Matriz Normalizada | | | Ponderación | Vector Fila Total | Cociente |
|-------------------------------|---------|--------------|---------------------------------|--------------------|------|-------|--------------------|----------------------------------------------|-------------|
| Avícola | 1,00 | 0,20 | 0,33 | 0,11 | 0,13 | 0,08 | 0,11 | 0,32 | 3,01 |
| Floricultora | 5,00 | 1,00 | 3,00 | 0,56 | 0,65 | 0,69 | 0,63 | 1,95 | 3,07 |
| Láctea | 3,00 | 0,33 | 1,00 | 0,33 | 0,22 | 0,23 | 0,26 | 0,79 | 3,03 |
| Suma | 9,00 | 1,53 | 4,33 | | | | | Promedio (λ_{max}) | 3,04 |
| Índice de consistencia | 0,02 | | Relación de consistencia | | | 3,34% | | | |

Nota. En esta tabla se observan las ponderaciones de las alternativas con respecto a la escala de Saaty evaluando el criterio de fósforo.

Tabla 9.
Matriz de comparación de alternativas con el criterio de Turbidez

| Turbidez | Avícola | Floricultora | Láctea | Matriz Normalizada | | | Ponderación | Vector Fila Total | Cociente |
|-------------------------------|---------|--------------|---------------------------------|--------------------|------|-------|--------------------|----------------------------------------------|-------------|
| Avícola | 1,00 | 5,00 | 8,00 | 0,76 | 0,79 | 0,67 | 0,74 | 2,28 | 3,10 |
| Floricultora | 0,20 | 1,00 | 3,00 | 0,15 | 0,16 | 0,25 | 0,19 | 0,56 | 3,03 |
| Láctea | 0,13 | 0,33 | 1,00 | 0,09 | 0,05 | 0,08 | 0,08 | 0,23 | 3,01 |
| Suma | 1,33 | 6,33 | 12,00 | | | | | Promedio (λ_{max}) | 3,04 |
| Índice de consistencia | 0,02 | | Relación de consistencia | | | 3,84% | | | |

Nota. En esta tabla se observan las ponderaciones de las alternativas con respecto a la escala de Saaty evaluando el criterio de Turbidez.

Luego, se tomaron las respectivas ponderaciones obtenidas de las alternativas con respecto a cada criterio y se organizaron en una matriz, la cual se multiplica por la matriz de las ponderaciones de los criterios, para obtener como resultado que el agua residual industrial más apta para el crecimiento de *C. vulgaris* fue la de la industria láctea con un valor de 0,35 y cuyos resultados se muestran en la tabla 10. Sin embargo, es necesario indicar que el agua residual de la industria avícola también representa una buena alternativa como medio de cultivo, ya que su resultado no difiere mucho del valor de la industria láctea.

Cabe resaltar que, al obtener resultados con valores cercanos, se requieren parámetros adicionales que permitan una decisión concreta del medio de cultivo, para ello, inicialmente se descarta la industria floricultora, debido a que su agua residual presenta alto contenido de plaguicidas y pesticidas que afecta en gran medida el crecimiento de la microalga, esto se debe a que baja los niveles de concentración final del microorganismo y adicionalmente forma halos de inhibición alrededor de las células [104].

Por otro lado, respecto a la industria avícola, se tomó en consideración que esta pertenece netamente a mataderos de aves y presenta valores óptimos como medio de cultivo, pero al compararse con la industria láctea, investigaciones realizadas por autores como J. Armijo, L. Qin y N. Streit indican que las aguas residuales del sector lácteo son una gran opción tanto para reducir la contaminación que generan, así como para la producción de biomasa microalgal. Los autores señalan que las aguas residuales derivadas de productos lácteos son una de las fuentes más importantes ya que se generan de 1 a 3 veces el volumen de leche procesada, que se traduce en una gran disponibilidad de materia prima, desde otro punto de vista, otro factor influyente

corresponde a que este medio de cultivo permite obtener grandes concentraciones de biomasa ya que estas aguas se caracterizan por presentar una alta cantidad de materia orgánica, así como elevadas concentraciones de grasas, nitrógeno y fósforo esenciales para el crecimiento de la microalga [23], [105], [106].

Tabla 10.

Resultado de la selección del agua residual industrial por el proceso de análisis jerárquico

| Ponderaciones de las Alternativas | | | | Ponderaciones de los Criterios | | Resultado | Industria |
|-----------------------------------|------|------|------|--------------------------------|------|------------------|------------------|
| 0,40 | 0,25 | 0,11 | 0,74 | | 0,49 | 0,34 | Avícola |
| 0,40 | 0,07 | 0,63 | 0,18 | | 0,31 | 0,31 | Floricultora |
| 0,20 | 0,68 | 0,26 | 0,08 | | 0,11 | 0,35 | Láctea |
| | | | | | 0,06 | | |

Nota. La tabla muestra los resultados obtenidos por la aplicación del proceso de análisis jerárquico de Thomas Saaty, permitiendo obtener los resultados de la mejor alternativa (Industria avícola, floricultora o láctea).

Finalmente, fue necesario conocer la relación de consistencia de los resultados obtenidos en la tabla 10, lo que permitió conocer si la matriz se planteó de manera correcta y los valores asignados a cada criterio fueron coherentes. Para ello, se tomó el índice de consistencia (ecuación 1) y se dividió entre la consistencia aleatoria de la matriz que está dada por Thomas L. Saaty [107], representada en la tabla 11.

Ecuación 1.

Índice de consistencia

$$CI = \frac{(nmax - n)}{2}$$

Nota. La ecuación permite determinar el índice de consistencia para reflejar si la matriz es consistente. nmax: Promedio de los cocientes de la matriz AxP; n: Número de criterios.

Tabla 11.

Consistencia Aleatoria de la matriz

| No. de Elementos que se Comparan | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-------------------------------------|---|---|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Consistencia Aleatoria de la Matriz | 0 | 0 | 0,58 | 0,89 | 1,11 | 1,24 | 1,32 | 1,40 | 1,54 | 1,49 |

Nota. La tabla muestra la consistencia aleatoria de la matriz a partir del rango o tamaño. Tomado de: T. Saaty, *The analytic hierarchy process: Planning, priority setting, resource allocation*: Thomas L. SAATY McGraw-Hill, New York, 1980, xiii, vol. 9, no. 1. New York: McGraw-Hill, 1988.

Dado que el tamaño de la matriz de criterios es de 4x4, la relación resultante debe ser inferior al 9 % obteniendo así un valor de 7,61 %, al igual que con las matrices de alternativas, al ser su tamaño de 3x3, el valor debe estar por debajo del 5 %, arrojando para pH, nitrógeno, fósforo y turbidez, valores de 0 %, 0,80 %, 3,34 % y 3,84 % respectivamente, reflejando así una ponderación razonable de los criterios, corroborando que la matriz es correcta y cuyo desarrollo se encuentra reflejado en las tablas 6, 7, 8 y 9.

3. OBTENCIÓN DEL BIOPLÁSTICO MEDIANTE EL CULTIVO DE *Chlorella vulgaris* EN UN MEDIO DE AGUAS RESIDUALES LÁCTEAS

La temática que se abordará en el presente capítulo corresponde a un análisis bibliométrico del panorama actual del proceso de producción de bioplástico a partir de microalgas, mediante una apreciación de diferentes investigaciones científicas. El objetivo es realizar una descripción detallada sobre la obtención del bioplástico por medio de la microalga *C. vulgaris* cultivada en un medio de aguas residuales de la industria láctea, que abarcará desde un pretratamiento de las aguas residuales hasta una caracterización por análisis térmico, pruebas mecánicas y de biodegradabilidad del bioplástico producido.

3.1. Análisis bibliométrico

Para lograr verificar el panorama y situación actual de la producción de bioplástico a partir de microalgas, se precisa de un análisis bibliométrico, el cual es considerado una herramienta sólida para comprender el crecimiento y las perspectivas de un área de investigación [108]. A su vez, este logra ofrecer a los investigadores conocimientos científicos cuantitativos y estadísticos de publicaciones a partir de información cienciométrica que se ubica en bases de datos o repositorios científicos como Scopus, Web of Science y Google Scholar, que permitan mediante la evaluación cuantitativa de los datos, evidenciar el crecimiento, la madurez, los autores principales y las tendencias de una comunidad científica [109]. Adicional a ello, se cuenta con diversas herramientas de software de análisis bibliométrico, como Citespace, Bibexcel, Publish or Perish, Bibliometrix, VOSviewer y Science of Science [108].

3.1.1. Materiales y métodos

El análisis bibliométrico inicialmente abarcó la evaluación de diferentes fuentes bibliográficas mediante la base de datos Scopus, dado que “contiene más de 70 millones de entradas de más de 5.000 editores, con registros que datan de 1788 y es la más confiable para investigaciones bibliométricas, especialmente porque cada registro está etiquetado con datos clave como el nombre del autor, la fuente, las palabras clave, la editorial, fecha de publicaciones y área de investigación”

[108]. De igual forma, se realizó la búsqueda de artículos publicados solo en inglés, debido a que es el idioma que contiene más del 90 % del total de documentos científicos [110].

Bibliometrix es la herramienta estadística de software usada para la investigación y organización cuantitativa de los estudios cuantitativos y bibliométricos, la cual viene desarrollada en lenguaje informático estadístico y gráfico R, que a su vez le proporciona flexibilidad y posibilidad de integrarse con otros paquetes R estadísticos, lo que representa una gran ventaja en una ciencia en constante cambio como la bibliometría [111]. De esta forma, permite el análisis bibliométrico mediante la construcción de matrices de datos para co-citas, acoplamientos, análisis de colaboración científica y de palabras conjuntas [111].

Mediante la implementación de indicadores bibliométricos básicos, se obtuvo la información proporcionada por el software Bibliometrix que permitió complementar el análisis bibliométrico, ya que proporciona información sobre los resultados del proceso investigador, volumen, evolución, visibilidad y estructura [112], por medio de su producción científica anual, palabras clave, número y distribución de publicaciones, ya sea por institución o por autor, y la dispersión de las publicaciones [112].

3.1.2. Desarrollo del análisis bibliométrico mediante el software Bibliometrix

Para lograr obtener una metodología adecuada respecto a la producción de PHA producido por microalgas, se desarrolló la investigación de fuentes bibliográficas mediante la base de datos Scopus, en donde se tuvieron en cuenta ecuaciones de búsqueda con las siguientes palabras: “Bioplastic production” AND PHA, Microalgae AND “Bioplastic production”, Microalgae AND PHA, Polyhydroxyalkanoate AND Bioplastic y Polyhydroxyalkanoate AND Chlorella. A continuación, se realizó la respectiva exportación hacia el software Bibliometrix, con el objetivo de organizar y evaluar la información estadística para cada ecuación, reflejada en la tabla 12.

Para esta sección se realizó el análisis respecto a los datos proporcionados por la ecuación de búsqueda Polyhydroxyalkanoate AND Bioplastic, esto debido a que se consideró como la más sobresaliente teniendo en cuenta la información proporcionada al tema en cuestión. Para este

punto, se contemplaron datos como la producción científica anual, el comportamiento de las fuentes a lo largo de los años, la cantidad de documentos producidos por cada país y las palabras clave más notables en dichos documentos.

Tabla 12.

Información general de las ecuaciones de búsqueda

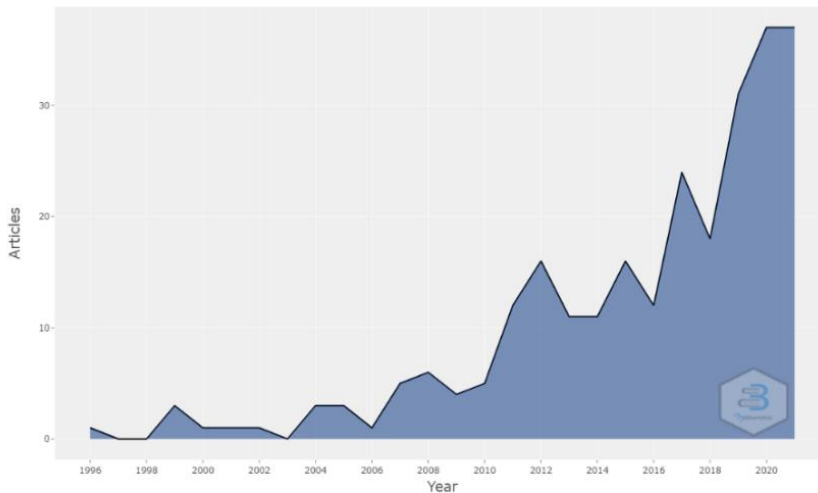
| Ecuación de búsqueda | País con mayor producción científica | Cantidad de autores | Cantidad de referencias | Palabras clave por autores | Cantidad de documentos |
|----------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| “Bioplastic production” AND PHA | India | 115 | 1969 | 115 | 27 |
| Microalgae AND “Bioplastic production” | Alemania | 41 | 644 | 39 | 10 |
| Microalgae AND PHA | Brasil | 111 | 2182 | 141 | 27 |
| Polyhydroxyalkanoate AND Bioplastic | USA | 997 | 14056 | 747 | 259 |
| Polyhydroxyalkanoate AND Chlorella | USA | 47 | 509 | 37 | 11 |

Nota. La tabla muestra un resumen de la información general obtenida correspondiente a cada ecuación de búsqueda en donde se destacan país con mayor producción científica, cantidad de autores, cantidad de referencias, palabras clave y cantidad de documentos en el análisis bibliométrico.

En primera instancia, la producción científica anual mostró la evolución de las investigaciones respecto a temas correspondientes a polihidroxiálcanoatos y bioplásticos, reflejando así, una tasa de crecimiento anual del 17,84 % evaluados en un periodo de 25 años, en donde si bien se evidencian en la figura 12 picos en la producción de artículos, en los últimos años se ve mayor investigación, dada la implementación de nuevas tecnologías o metodologías más rentables para los diferentes procesos de producción de bioplástico a partir de polihidroxiálcanoatos, donde se busca combatir una problemática ambiental desarrollada a lo largo de los años a causa de la contaminación del plástico y que sea beneficioso no solo en la actualidad sino a futuro. No obstante, un aumento significativo ha ocurrido desde los últimos 3 años, validando un creciente interés en esta área de investigación. De igual forma, en el anexo 1 se muestran respecto a las otras ecuaciones de búsqueda, su respectiva producción científica anual.

Figura 12.

Producción científica anual

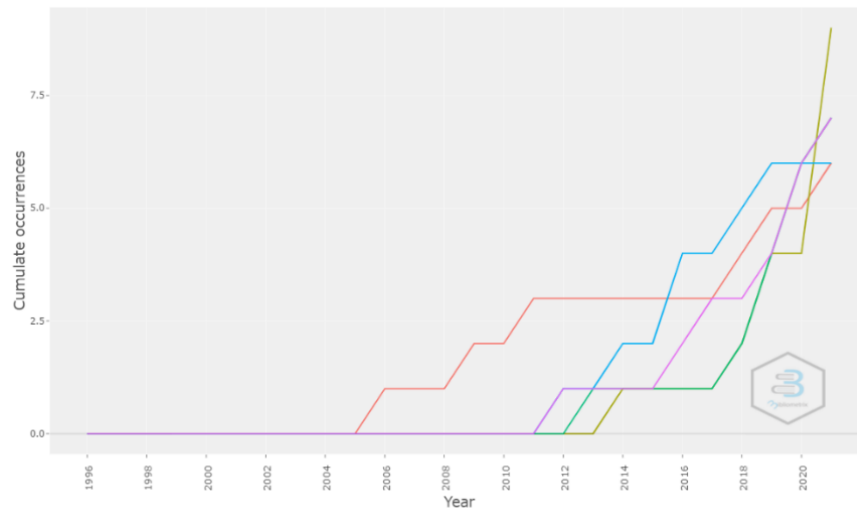


Nota. La figura muestra la producción de artículos generados cada año para la ecuación de búsqueda Polyhydroxyalkanoate AND Bioplastic arrojado por el software Bibliometrix.

Por otra parte, un parámetro fundamental para el análisis bibliométrico fue el crecimiento de las diferentes fuentes por año, de esta manera se evaluaron cinco fuentes principales sugeridas por el software Bibliometrix. En la figura 13 se representan las revistas con mayores producciones científicas y se observa que entre los años 1996 – 2004 estas no contribuyeron al desarrollo de este campo de estudio, así pues, comenzaron a contribuir hacia el año 2005 como la revista *Applied Microbiology and Biotechnology* y en el periodo del 2011 – 2013 empezaron a participar las demás fuentes principales, logrando así un reconocimiento global respecto a los polihidroxicanoatos y al bioplástico en el mundo a lo largo del tiempo. Igualmente, se representa este criterio para las demás ecuaciones de búsqueda que se encuentran en el anexo 2.

Figura 13.

Crecimiento de diferentes fuentes a lo largo de los años



Nota. La figura muestra el crecimiento acumulativo de las cinco principales fuentes en cada año para la ecuación de búsqueda Polyhydroxyalkanoate AND Bioplastic generado por el software Bibliometrix. El color naranja pertenece a la revista *Applied Microbiology and Biotechnology*, el color amarillo a *Bioresource Technology*, el color verde *International Journal of Biological Macromolecules*, el color azul corresponde a *Journal of Bioscience and Bioengineering* y finalmente el color morado se refiere a la revista *Journal of Cleaner Production*.

Luego, a partir de los datos recopilados por la ecuación de búsqueda, se obtuvieron las palabras clave de los documentos; estas representan aquellas palabras que se repiten o son más usadas en todas las publicaciones realizadas, Bibliometrix arroja 50 palabras clave más relevantes respecto al tema mostradas en la figura 14. Existe cierta relación de tamaño entre estas: las de tamaño superior reflejan mayor importancia porque se presentan con gran frecuencia a lo largo de los documentos y se relacionan con el tema en mayor proporción, permitiendo de esta manera obtener un panorama correspondiente a la tendencia global que presentan y a su vez enlazar los términos para la respectiva investigación, de igual forma, se encuentran las demás nubes de palabras claves en el anexo 3 para el resto de las ecuaciones de búsqueda.

Tabla 13. (Continuación)

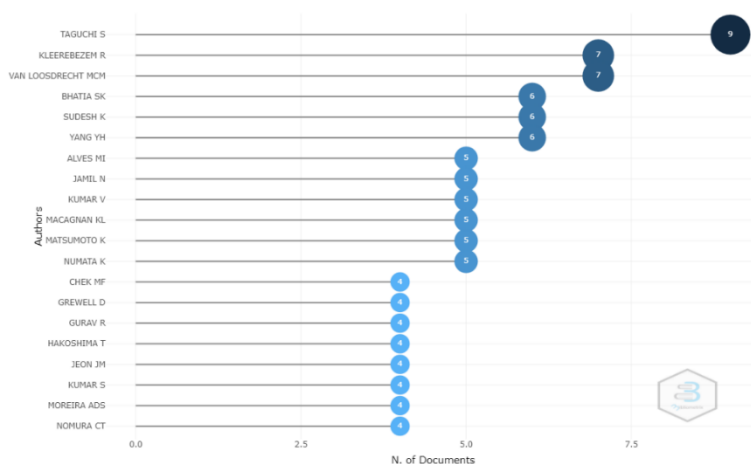
| | |
|---------------|----|
| Malasia | 41 |
| Corea del Sur | 41 |
| China | 39 |
| España | 25 |
| Italia | 21 |
| Pakistán | 20 |

Nota. La tabla muestra los principales resultados obtenidos para los países con mayor producción científica en donde encabeza la lista Estados Unidos para la ecuación de búsqueda Polyhydroxyalkanoate AND Bioplastic generado por el software Bibliometrix.

Finalmente, Bibliometrix también ofrece la posibilidad de realizar un análisis estadístico respecto a los autores en cuanto a quienes son los mayores productores científicos anuales y que han tenido gran importancia en la investigación respecto a polihidroxicanoatos y bioplástico. Los autores más destacados son Seiichi Taguchi, Robert Kleerebezem y Mark van Loosdrecht, que se registran en la figura 15 y para las demás ecuaciones de búsqueda desarrolladas en el presente trabajo, el análisis estadístico de los autores se encuentra en el anexo 5.

Figura 15.

Autores más relevantes



Nota. La figura muestra los principales autores de las diferentes publicaciones realizadas con la ecuación de búsqueda Polyhydroxyalkanoate AND Bioplastic generado por el software Bibliometrix y cuyo primer autor presenta un total de 9 documentos.

3.2. Metodología planteada

Durante esta sección mediante una revisión bibliográfica, se selecciona la metodología más apropiada para la producción de PHA mediante *C. vulgaris* cultivada en aguas residuales industriales lácteas, tomando en cuenta las metodologías más empleadas por diferentes autores.

3.2.1. Pretratamiento del agua residual láctea

El pretratamiento seleccionado para la eliminación de la carga microbiana de las aguas residuales de la industria láctea se realiza a través de la técnica de irradiación ultravioleta, usando como dispositivo de esterilización una cámara de desinfección con lámparas ultravioleta con un pico de irradiancia de 253,7 nm y cuya intensidad ultravioleta corresponde a $117 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ [23]. Es importante tener especial cuidado con el uso de este equipo ya que se emplea luz de tipo UV - C la cual se refiere a las ondas cortas con mayores cargas energéticas y dañinas tanto para el ser humano como para microorganismos, ya que pueden producir alteraciones en las estructuras moleculares, específicamente en el ADN [113], que provoca mutagénesis, así como la generación de un ambiente de ozono por medio de la exposición del aire a la radiación ultravioleta, el cual puede generar afectaciones al ser humano como irritaciones y daños en el sistema respiratorio, la formación de mutaciones y generación de enfermedades como el cáncer [114].

El proceso inicia con una filtración del agua residual a temperatura ambiente, la cual pasa por un filtro de membranas de polipropileno con un tamaño de poro 10 μm , debido a que la presencia de partículas de gran tamaño puede afectar la emisión de la luz ultravioleta y consecuentemente, evita la inactivación adecuada de microorganismos. Seguido a esto, se estabiliza la potencia y espectro de emisión en la cámara de desinfección ultravioleta, se enciende durante 30 minutos y posteriormente, se realiza una esterilización mediante una pequeña muestra del agua residual, luego, se ingresa el agua residual láctea filtrada en una habitación oscura a 25 °C por 15 minutos, con una distancia de 100 cm entre la luz y la superficie del agua residual. A continuación, el agua se transfiere al fotobiorreactor (FBR) [23].

3.2.2. Cultivo de biomasa microalgal

Según Y. Montero *et al.*, el diámetro del fotobiorreactor (FBR) debe estar entre un rango de 0,1 a 0,2 m debido a que sobrepasar este límite puede reducir la disponibilidad de luz del proceso mientras que un diámetro inferior puede incrementar las temperaturas afectando el crecimiento microalgal [115], [116]. Seguido a esto, se generan las condiciones adecuadas para el correcto crecimiento de la biomasa, donde en primera instancia, autores como P. Carlozzi *et al.*, indican que se adiciona el respectivo inóculo de *C. vulgaris* bajo condiciones de operación, como temperatura en un rango de 25 °C – 30 °C, luz blanca proporcionada por lámparas fluorescentes de 40 W e irradiancia de 3.000 lux, fotoperiodos de 12:12 horas luz/oscuridad, aireación en un rango de flujo de 2,4 a 2,7 veces mayor al tamaño del fotobiorreactor, a una concentración de CO₂ entre el 2 al 9 % donde el restante es aire, que será suministrado por medio de un compresor; y un tiempo estimado de cultivo microalgal de 12 a 20 días que se puede definir mediante la curva de crecimiento de la microalga, corroborando que se inicia la fase estacionaria [24], [71], [72], [73], [88], [117].

3.2.3. Producción y extracción de PHA

Durante el proceso de producción de PHA, cuando el cultivo alcanza la fase estacionaria aproximadamente a los 12 días, se establecen condiciones de estrés para incrementar la producción del biopolímero. La microalga, al no tener un medio óptimo, genera el bioplástico como reserva de carbono y energía. Así pues, dentro de las condiciones de estrés se dejan a las microalgas por 3 días más en el fotobiorreactor, acumulando un total de 15 días, para que en este tiempo, ellas agoten el suministro de nutrientes presentes en el agua residual, de igual forma, se limita el suministro total de la luz, mientras que, el suministro de CO₂ no se detiene, debido a que, al limitarse los nutrientes, la acumulación de PHA permite al microorganismo almacenar este exceso de carbono para poder utilizarlo cuando las reservas de energía se agoten. Con el fin de detectar el crecimiento del biopolímero, se deben realizar controles diarios mediante las técnicas de adición de Azul de Nilo A o Negro Sudán B [118], [119].

Para la extracción de PHA un método muy empleado es el del cloroformo hervido con purificación mediante hipoclorito de sodio y solventes levemente polares, como el metanol y etanol para retirar lípidos, proteínas y metabolitos secundarios con el objetivo de tener un polímero incoloro e inodoro [120], [121], [122]. Para ello, las células de *C. vulgaris* se recolectan al final de la fase estacionaria de su crecimiento mediante centrifugación entre 4.700 – 6.000 rpm durante un tiempo estimado entre los 7 y 10 minutos [120], [122]. Posteriormente, se recoge el sedimento y las células de *C. vulgaris* se lavan con etanol, encargado del proceso de suspensión de la biomasa; luego se centrifugan (1.637 rpm, 30 min, 10 °C) y se descarta el sobrenadante. A continuación, el sedimento celular se trata con hipoclorito de sodio al 4 % con el fin de obtener una alta pureza; luego se incuba durante 1 hora a 37 °C. Las células tratadas se recolectan por centrifugación (1.637 rpm, 30 min, 10 °C), se descarta el sobrenadante y el sedimento se trata con metanol y cloroformo caliente (usado para retirar excesos de biomasa) [122], [123]. Finalmente, el metanol se separa por centrifugación (6.000 rpm, 30 min) y el cloroformo se evapora a 61,2 °C para obtener el biopolímero en forma de películas delgadas [124], el cual se analiza mediante la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).

3.2.4. Caracterización del bioplástico

Una vez obtenido el bioplástico, es necesario realizar una caracterización que permita determinar sus propiedades más relevantes, es por esto que, se lleva a cabo una búsqueda respecto al análisis FTIR, ensayos para propiedades térmicas y mecánicas, así como para el análisis de biodegradabilidad.

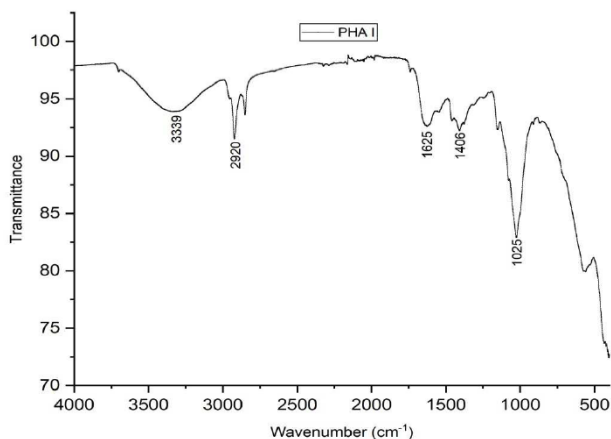
3.2.4.a. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). El análisis FTIR, permite obtener información acerca de la estructura del bioplástico respecto a los grupos funcionales de la película polimérica, este se realiza mediante un espectrofotómetro en donde las bandas se observan en una región entre los 400 y 4.000 cm^{-1} [123], [125], [126].

En un estudio realizado por K. Roja, R. Sudhakar, S. Anto y T. Mathimani [123], se evaluó el PHA producido por la especie *Chlorella sp.* en donde los autores registran la figura 16 y observan que existe una señal amplia en una absorbancia de 3.339 cm^{-1} indicando que ésta representa un

estiramiento de -OH dentro de los grupos carboxilo [123]. Por otra parte, se evidencia un pico en 2.921 cm^{-1} que muestra la vibración de estiramiento C - H de metilo y los grupos metileno en el polímero representado en la figura 16.

Figura 16.

Espectro FTIR de PHA en Chlorella sp.



Nota. La figura muestra el espectro FTIR realizado para el análisis de PHA producido por *Chlorella sp.* que permite observar la transmitancia a medida que disminuye la longitud de onda (cm^{-1}). Tomado de: K. Roja, D. Ruben Sudhakar, S. Anto, and T. Mathimani, “Extraction and characterization of polyhydroxyalkanoates from marine green alga and cyanobacteria,” *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, vol. 22, p. 101358, 2019, doi: 10.1016/j.bcab.2019.101358.

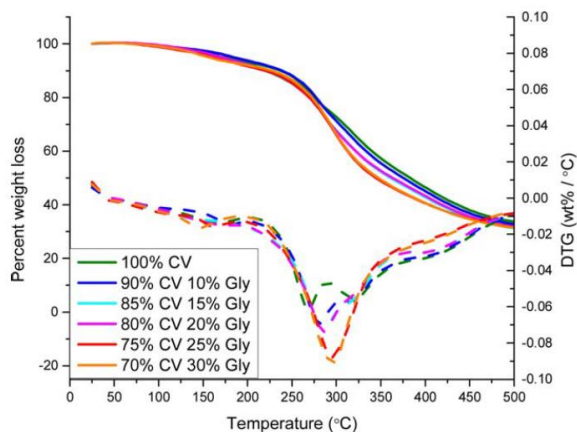
Los autores observaron un estiramiento del grupo $\text{C} = \text{O}$ a partir de las señales 1.625 cm^{-1} para esta especie microalgal; de igual forma, una absorbancia en la región de 1.400 cm^{-1} representa el estiramiento asimétrico y simétrico del grupo metilo presente en las muestras de PHA. Por último, se registran picos a 1.025 cm^{-1} lo que indica el estiramiento $\text{C} = \text{O}$ en el grupo éster [123]. Así pues, estas características señaladas y reportadas por los autores confirman la presencia de PHA y sus respectivos grupos funcionales.

3.2.4.b. Análisis termogravimétrico (TGA). Este análisis se usa principalmente para dar una idea del patrón de descomposición y estabilidad térmica de la muestra a analizar, lo que resulta útil para conocer las transiciones térmicas que sufre el material a medida que se procesa mediante una técnica de conformación. De esta manera, se sitúan alrededor de 5 a 10 mg de la muestra del

bioplástico en un equipo termogravimétrico SDT-Q600 de 25 a 800 °C con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min bajo una atmósfera de nitrógeno [123], [124], [127].

Figura 17.

Análisis TGA para bioplásticos de C. vulgaris en proporciones de glicerol



Nota. La figura muestra el análisis termogravimétrico en donde CV significa microalgas *Chlorella vulgaris* y Gly es glicerol. Tomado de: M. A. Zeller, R. Hunt, A. Jones, and S. Sharma, “Bioplastics and their Thermoplastic Blends from Spirulina and Chlorella Microalgae,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 000, pp. 0–000, 2013, doi: 10.1002/app.39559.

En un estudio para el análisis termogravimétrico realizado por M. Zeller, R. Hunt, A. Jones y S. Sharma [124], se observa el comportamiento de una muestra de bioplástico de la microalga *C.vulgaris* a diferentes concentraciones de glicerol como se muestra en la figura 17, obteniendo para muestras con menor cantidad de glicerol, una ligera degradación entre los 350°C a 475°C, mostrando una resistencia a la descomposición térmica. Adicionalmente se refleja un ligero pico aproximadamente a 180°C debido a la presencia de glicerol, producto de la degradación del mismo, esto significa que el glicerol interfiere con las interacciones de las macromoléculas lo cual permite una degradación más rápida del material.

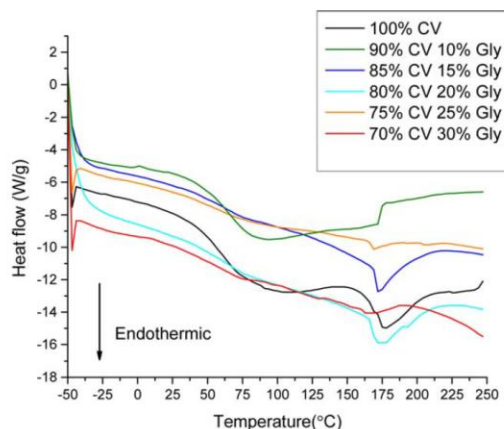
3.2.4.c. Calorimetría diferencial de barrido (DSC). La DSC permite determinar los comportamientos térmicos de la película polimérica de PHA extraído. Dentro de estos se incluye la temperatura de fusión (T_m), la temperatura de transición vítrea (T_g), la temperatura de cristalización (T_c) y la temperatura de descomposición (T_d) [126]. La muestra se estudia utilizando

un equipo Mettler Toledo DSC mediante la metodología planteada por la norma ASTM D3418-21 [127], [128], [129], para lo cual se recolectan muestras de 4 a 12 mg herméticamente en recipientes de aluminio con el fin de evitar la pérdida de masa durante el calentamiento desde -60 a 300 °C con una velocidad de 10 a 20 °C/min. Los experimentos se realizan en atmósfera de nitrógeno que actúa como gas de purga [125], [126], [124], [127], [128], [129].

Una investigación realizada por M. Zeller, R. Hunt, A. Jones y S. Sharma [124] muestra un análisis por calorimetría diferencial de barrido para una muestra de bioplástico de la especie *C. vulgaris* pura y mezclada con glicerol reflejada en la figura 18. Los autores resaltan un pico a 175 °C el cual se puede atribuir al inicio de la degradación y es más representativo en aquellas muestras que son menos plastificadas. Así mismo, se observa una transición vítrea a partir de los 40 °C para formulaciones de 100 % y 90 % de *C. vulgaris*. Los autores señalan que esto puede suponer un efecto anti plastificante; sin embargo, la transición vítrea se pierde con el uso creciente de plastificantes lo que sugiere que conduce a características similares al plástico, es por esto que, durante la investigación se recomienda que el glicerol no esté en porcentajes superiores al 25 % debido al pequeño tamaño de los picos de fusión.

Figura 18.

Análisis DSC para bioplásticos de C. vulgaris en proporciones de glicerol.



Nota. La figura representa el análisis de calorimetría diferencial de barrido en donde CV significa microalgas *Chlorella vulgaris* y Gly es glicerol. Tomado de: M. A. Zeller, R. Hunt, A. Jones, and S. Sharma, “Bioplastics and their Thermoplastic Blends from Spirulina and Chlorella Microalgae,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 000, pp. 0–000, 2013, doi: 10.1002/app.39559.

3.2.4.d. Propiedades mecánicas. Se determinan según la norma ASTM D882-10, la cual requiere que el espesor del material analizado sea menor a 1 mm. Este proceso se realiza en una máquina de prueba de tracción que permite calcular valores de fuerza de tensión, fuerza de fluencia, tensión de rotura y módulo de elasticidad [130], [131]. Inicialmente, es necesario el acondicionamiento de tiras de PHA con un tamaño de 10 mm × 100 mm mantenidos durante cuatro días a 25 °C y una humedad relativa de 50 a 55 %. Los ensayos de tracción se llevan a cabo a una velocidad de la cruceta de 1 mm/min hasta la fractura del material y se recomienda realizar varias réplicas [131]. A partir de los procedimientos realizados anteriormente, bajo diversos estudios, se reporta que dentro de las propiedades mecánicas esperadas del PHA, presenta un módulo de Young de 0,4 – 3,8 GPa, resistencia mecánica de 18 – 27 MPa, densidad de 1,17 – 1,25 g/cm³, una fuerza de tensión de 40 MPa y un porcentaje de elongación a rotura de 1,8 – 17 % [4], [132].

3.2.4.e. Análisis de biodegradabilidad. Con el propósito de comprobar la biodegradabilidad del bioplástico obtenido a partir de microalgas, se implementa la norma ASTM D5988 la cual especifica la metodología para la biodegradación de materiales plásticos en el suelo [131], [133]. Generalmente se emplea suelo comercial con características de 39 % de materia orgánica promedio, 33 % de humedad y un pH de 6,8 [131]. Posteriormente, autores como A. Pérez-Arauz *et al.*, reportan que alrededor de 0,1 g de películas de material se exponen a la biodegradación del suelo a una temperatura controlada (23 °C ± 4) durante 80 días, una vez finaliza este tiempo de biodegradación del suelo, se determina la pérdida de peso utilizando una balanza analítica [131].

4. DISEÑO CONCEPTUAL BÁSICO DE LA PRODUCCIÓN DE BIOPLÁSTICO MEDIANTE EL CULTIVO DE *Chlorella vulgaris* EN UN MEDIO DE AGUAS RESIDUALES LÁCTEAS

A lo largo de este capítulo se desarrollará el diseño conceptual básico de la producción de bioplástico (PHA) a partir de la microalga *C. vulgaris*, para ello, se tendrán presentes aquellas materias primas necesarias para el proceso y el producto generado, así como la elaboración de los respectivos diagramas de proceso, en el que se incluyen el diagrama de bloques y el de flujo de proceso. Posteriormente, se realiza el balance de materia que permite la selección de los equipos con su tamaño correspondiente para su operación a escala piloto, para realizar finalmente el análisis de los costos del proceso.

4.1. Descripción del proceso

Para la producción del bioplástico a partir de la microalga *C. vulgaris* cultivada en aguas residuales industriales lácteas, existen una serie de etapas esenciales para que el proceso se lleve de manera adecuada, las cuales se nombran a continuación:

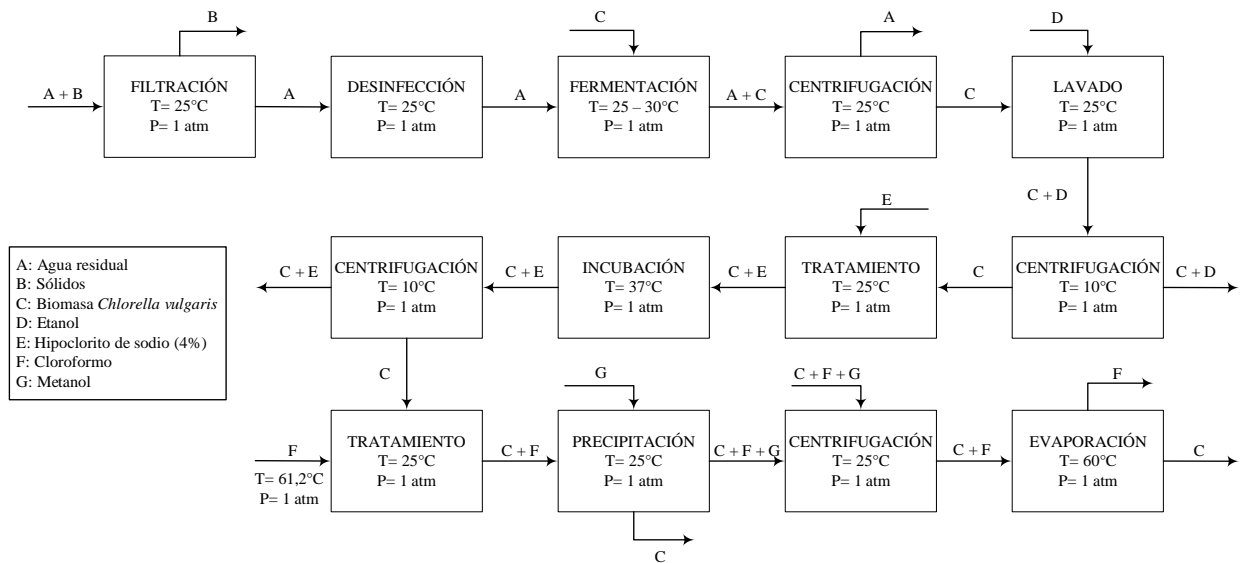
- Etapa 1: Corresponde al pretratamiento del agua residual láctea para asegurar el correcto crecimiento de *C. vulgaris*, eliminando así, partículas de gran tamaño y otros microorganismos que puedan alterar este factor.
- Etapa 2: Relacionada con el mayor crecimiento de la biomasa microalgal de *C. vulgaris*, mediante el control de condiciones óptimas como temperatura, pH, luz, agitación y nutrientes.
- Etapa 3: Hace énfasis en la producción del bioplástico (PHA), para lo cual, se generan condiciones de estrés que permitan a la microalga sintetizar este biopolímero.
- Etapa 4: Enfocado en la extracción y purificación del PHA, así como su respectiva caracterización térmica y mecánica.

4.2. Diagramas de proceso

Para el desarrollo del diseño conceptual básico, es fundamental la elaboración de diagramas de proceso que permitan representar el funcionamiento interno del sistema, así pues, se realizó un diagrama de bloques (BFD) representado en la figura 19 en donde se especificaron los procesos y la forma en que se representa la producción del bioplástico (PHA). Por otro lado, se llevó a cabo el diagrama de flujo del proceso (PFD) que se observa en el anexo 6 con el fin de indicar el flujo general de la producción del PHA, así como los equipos que se emplean junto con sus especificaciones para una planta a escala piloto.

Figura 19.

Diagrama de bloques (BFD)



Nota. La figura representa la elaboración del diagrama de bloques, en donde se evidencian las operaciones a realizar, la organización del proceso, así como las entradas y salidas para la producción de PHA.

4.3. Balance de materia

Con el objetivo de comprender el comportamiento de los diferentes componentes que pertenecen a este sistema, se realizó un balance de materia, el cual está dado por la ecuación general de balance representada en la ecuación 2. Dado que el proceso de producción tarda aproximadamente dos semanas, el balance se realizó por lote con el fin de obtener anualmente 24 lotes de bioplástico.

Inicialmente se trabajó con un flujo de 220,07 kg/lote de agua residual láctea, tomando como base de cálculo el tamaño del fotobiorreactor que corresponde a 500 L de los cuales 432 L de este son operativos, el volumen se tuvo en cuenta debido a que es necesario ingresar una cantidad de flujo que a medida que se produzca biomasa dentro del proceso de fermentación no supere la capacidad máxima del fotobiorreactor, esto con el objetivo de determinar el desarrollo de la biomasa y obtención de PHA, con un rendimiento del 13 % del bioplástico según A. Shrivastav, SK. Mishra y S. Mishra [134]. A lo largo del balance se presentan los flujos de los compuestos los cuales se nombran como se refleja en la tabla 14, solo se muestran las ecuaciones generales de cada operación y en el anexo 7 se evidencia la tabla del desarrollo del balance con sus respectivos valores de flujos y composiciones para cada corriente.

Ecuación 2.

Ecuación general de balance

$$\text{Entrada} + \text{Generación} - \text{Salida} = \text{Acumulación}$$

A continuación, se reflejan las abreviaciones de los flujos para cada compuesto que se usarán para el desarrollo del balance de energía

Tabla 14.

Flujo de compuestos

| | |
|-------|---------------------------------------------|
| f_A | <i>Flujo agua residual láctea (kg/lote)</i> |
| f_B | <i>Flujo sólidos (kg/lote)</i> |
| f_C | <i>Flujo biomasa (kg/lote)</i> |
| f_D | <i>Flujo etanol (kg/lote)</i> |
| f_E | <i>Flujo hipoclorito de sodio (kg/lote)</i> |
| f_F | <i>Flujo cloroformo (kg/lote)</i> |
| f_G | <i>Flujo metanol (kg/lote)</i> |

Nota. La tabla representa las abreviaciones para los flujos de los compuestos involucrados en el proceso de producción de PHA.

4.3.1. Filtro (FIL-101)

Ingresan 220,07 kg/lote de agua residual láctea con un 10 % de sólidos que se deben remover para permitir una correcta desinfección en el proceso posterior. De esta manera, se considera una eficiencia del equipo del 90,91 % removiendo así 20,01 kg/lote de sólidos.

Tabla 15.

Balance de masa del equipo (FIL-101)

| Ec. General | $F_1 = F_2 + F_3$ | Donde: |
|--------------------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Corriente 1 | $F_1 = f_A + f_B$ | $F_1 = \text{Flujo de entrada del filtro (kg/lote)}$ |
| Corriente 2 | $F_2 = f_A + f_B$ | $F_2 = \text{Flujo de salida de sólidos del filtro (kg/lote)}$ |
| Corriente 3 | $F_3 = f_A + f_B$ | $F_3 = \text{Flujo de salida de agua residual del filtro (kg/lote)}$ |

4.3.2. Cámara de desinfección ultravioleta (V-101)

El segundo proceso consta de una desinfección para la inactivación de microorganismos que presentan una amenaza para *C. vulgaris*. Así pues, ingresa un flujo de 199,65 kg/lote que corresponde al agua residual proveniente del filtrado y cuyo flujo será el mismo de salida debido a que en esta operación la masa no sufre ninguna transformación, ni hay acumulación ni pérdidas.

Tabla 16.

Balance de masa del equipo (V-101)

| Ec. General | $F_3 = F_4$ | Donde: |
|--------------------|-------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Corriente 3 | $F_3 = f_A + f_B$ | $F_3 = \text{Flujo de salida de agua residual del filtro (kg/lote)}$ |
| Corriente 4 | $F_4 = f_A + f_B$ | $F_4 = \text{Flujo de salida de cámara de desinfección (kg/lote)}$ |

4.3.3. Balance de fotobiorreactor (R-101)

Tomando en cuenta que la fermentación se realiza en un fotobiorreactor tipo *airlift* representado en la figura 20, se desea conocer los flujos de este, por lo que según N. Arraño [135] se plantea el cálculo de los flujos del fotobiorreactor que están dados por la ecuación 3, la cual permite

determinar el flujo de salida, a partir del flujo de entrada, la velocidad específica de crecimiento y el tiempo destinado al cultivo de la microalga.

Ecuación 3.

Flujo de salida de biomasa en el fotobiorreactor

$$F = F_0 e^{\mu t}$$

Nota. La ecuación permite determinar el flujo de salida de biomasa del fotobiorreactor. **F**: Flujo de salida del fotobiorreactor; **F₀**: Flujo de entrada del fotobiorreactor; **μ**: Velocidad específica de crecimiento del microorganismo; **t**: Tiempo de cultivo.

Para conocer la velocidad específica de crecimiento (μ), los autores formulan la ecuación 4, en donde es necesario conocer las concentraciones iniciales y finales de biomasa, así como el tiempo de cultivo.

Ecuación 4.

Velocidad específica de crecimiento μ

$$X_f = X_0 \exp(\mu t)$$

Nota. La ecuación permite calcular la velocidad específica de crecimiento mediante las concentraciones de biomasa. **X₀**: Concentración inicial de biomasa; **X_f**: Concentración final de biomasa.

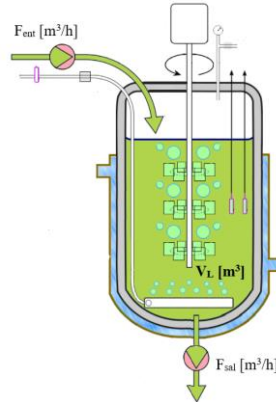
De esta manera, inicialmente se calcula la velocidad específica de crecimiento según A. Shrivastav, SK. Mishra y S. Mishra [134], el valor de concentración inicial y final de biomasa fue de 1,04 g/L y 2,20 g/L respectivamente, para un tiempo de 15 días de cultivo de un microorganismo con características similares a *C. vulgaris*. Con estos valores proporcionados, se reemplaza en la ecuación 4 y se obtiene un resultado de 0,04995 d⁻¹.

Tomando en cuenta un volumen de fotobiorreactor de aproximadamente 500 L, se asume un flujo inicial de 204 L/lote, logrando bajo la ecuación 3, un flujo a la salida del FBR de 431,54 L/lote. Para convertir en flujo másico se consideran las densidades tanto del agua residual láctea como de

biomasa de *C. vulgaris* con datos de 978,7 kg/m³ [136] y 1000,18 kg/m³ [18] respectivamente, así pues, da 199,65 kg/lote y un flujo de salida de 427,39 kg/lote pasados los 15 días de cultivo.

Figura 20.

Sistema por lotes de fotobiorreactor



Nota. La Figura muestra el esquema de un fotobiorreactor *airlift*, donde F_{ent} corresponde al flujo de entrada y F_{sal} al flujo de salida. Tomado de: [137] M. Bless and G. Conteri, “Simulación computacional del crecimiento de microalgas en un fotobiorreactor,” Tesis pre. Facultad de Ingeniería, Universidad Argentina de la Empresa, Buenos Aires, Argentina, 2016.

Cabe resaltar que es fundamental conocer el rendimiento de sustrato en biomasa del cultivo, el cual se asume constante solamente en la fase exponencial de la curva de crecimiento de la microalga, para ello, se sigue la ecuación 5, en donde se tienen en cuenta las concentraciones iniciales y finales tanto del sustrato que corresponde al agua residual láctea como de la biomasa.

Ecuación 5.

Rendimiento del sustrato en biomasa del cultivo

$$Y_{x/s} = \frac{\text{Concentración de biomasa final} - \text{Concentración de biomasa inicial}}{\text{Concentración de sustrato inicial} - \text{Concentración de sustrato final}}$$

Finalmente, según el estudio realizado por L. Qin *et al.* [23], se toma la concentración inicial de agua residual láctea con un valor de 1,7639 g/L y al final del cultivo una concentración de 0,4163 permitiendo así, sustituir dichos valores en la ecuación 5 y obtener un rendimiento del 86 %.

Para determinar la cantidad de CO₂ necesario para realizar diversas funciones como el burbujeo, la agitación del medio y la regulación del pH, se tendrá en cuenta el caudal del aire que corresponde a la ecuación 6, donde según la literatura se emplea para la tasa de flujo de gas total un valor de 0,2 vvm y, adicionalmente, se cuenta con un volumen de operación del fotobiorreactor de 432 L.

Ecuación 6.

Cálculo del caudal de aire

$$Q = \text{tasa de flujo de gas total} * V_{\text{operación}}$$

Así pues, reemplazando los valores anteriormente mencionados en la ecuación 6, se obtiene un caudal de 1.866.240 L/lote dentro del cual se estima un porcentaje del CO₂ basado en la literatura del 5,5 %, de esta manera, el valor correspondiente a CO₂ es de 102.643,20 L/lote que tomando la densidad de éste como 1,97 kg/m³ [138] equivale a 202,21 kg/lote.

4.3.4. Centrifuga (C-101)

Una vez obtenida la biomasa del fotobiorreactor, se separa del agua residual láctea en un flujo de 427,39 kg/lote mediante una centrifugación, asumiendo una eficiencia del 94 % de remoción del agua. Por consiguiente, a una velocidad de aproximadamente 5.000 rpm, el equipo separa un flujo de 160,41 kg/lote de agua residual proveniente del fotobiorreactor.

Tabla 17.

Balance de masa del equipo (C-101)

| Ec. General | $F_6 = F_7 + F_8$ | Donde: |
|--------------------|-------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Corriente 6 | $F_6 = f_A + f_C$ | $F_6 = \text{Flujo de salida del fotobiorreactor (kg/lote)}$ |
| Corriente 7 | $F_7 = f_A + f_C$ | $F_7 = \text{Flujo de salida agua residual (kg/lote)}$ |
| Corriente 8 | $F_8 = f_A + f_C$ | $F_8 = \text{Flujo de salida sedimento 1 (kg/lote)}$ |

4.3.5. Tanque de lavado (T-101)

Durante el proceso de lavado de la biomasa centrifugada se ingresa una corriente pura de etanol con un flujo de 87,90 kg/lote, para separar proteínas, lípidos y metabolitos secundarios que vienen

ligados al PHA. De esta manera, la corriente de salida del tanque presenta un flujo de 351,65 kg/lote con mayor composición de biomasa y etanol de 0,72 y 0,25 respectivamente. Las composiciones y flujos referentes a este proceso se ven reflejadas en el anexo 7.

Tabla 18.

Balance de masa del equipo (T-101)

| Ec. General | $F_8 + F_9 = F_{10}$ | Donde: |
|---------------------|----------------------------|------------------------------------------------------|
| Corriente 8 | $F_8 = f_A + f_C$ | $F_8 = \text{Flujo de salida sedimento 1 (kg/lote)}$ |
| Corriente 9 | $F_9 = f_D$ | $F_9 = \text{Flujo de entrada de etanol (kg/lote)}$ |
| Corriente 10 | $F_{10} = f_A + f_C + f_D$ | $F_{10} = \text{Flujo de salida lavado (kg/lote)}$ |

4.3.6. Centrifuga (C-102)

Esta nueva etapa busca retirar alrededor del 85 % de la biomasa residual después del uso del etanol, logrando obtener un sobrenadante con un flujo de 300 kg/lote compuesto de biomasa, etanol y agua. Por otro lado, se alcanza un flujo de 51,61 kg/lote de sedimento con mayor concentración de biomasa correspondiente al PHA producido por *C. vulgaris*.

Tabla 19.

Balance de masa del equipo (C-102)

| Ec. General | $F_{10} = F_{11} + F_{12}$ | Donde: |
|---------------------|----------------------------|---------------------------------------------------------|
| Corriente 10 | $F_{10} = f_A + f_C + f_D$ | $F_{10} = \text{Flujo de salida lavado (kg/lote)}$ |
| Corriente 11 | $F_{11} = f_A + f_C + f_D$ | $F_{11} = \text{Flujo de salida etanol (kg/lote)}$ |
| Corriente 12 | $F_{12} = f_A + f_C + f_D$ | $F_{12} = \text{Flujo de salida sedimento 2 (kg/lote)}$ |

4.3.7. Tanque de tratamiento con hipoclorito de sodio (T-102)

Este proceso consta de un tratamiento mediante hipoclorito de sodio al 4 %, el cual ingresa con un flujo de alrededor del 10 % del flujo de la corriente 12 (5,14 kg/lote), logrando así obtener un flujo de salida de 56,75 kg/lote con composiciones de agua residual, biomasa, etanol e hipoclorito de sodio con valores de 0,13, 0,67, 0,11 y 0,09 respectivamente.

Tabla 20.*Balance de masa del equipo (T-102)*

| Ec. General | $F_{12} + F_{13} = F_{14}$ | Donde: |
|---------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Corriente 12 | $F_{12} = f_A + f_C + f_D$ | $F_{12} = \text{Flujo de salida sedimento 2 (kg/lote)}$ |
| Corriente 13 | $F_{13} = f_E$ | $F_{13} = \text{Flujo de entrada hipoclorito de sodio (kg/lote)}$ |
| Corriente 14 | $F_{14} = f_A + f_C + f_D + f_E$ | $F_{14} = \text{Flujo de salida de tratamiento 1 (kg/lote)}$ |

4.3.8. Incubadora (I-101)

Durante el proceso de incubación, se generan las condiciones necesarias para mejorar la eficiencia del hipoclorito de sodio en la mezcla. De esta forma, no hay una transformación en la masa y, por ende, los flujos de entrada y salida son equivalentes con un valor de 56,75 kg/lote.

Tabla 21.*Balance de masa del equipo (I-101)*

| Ec. General | $F_{14} = F_{15}$ | Donde: |
|---------------------|-------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Corriente 14 | $F_{14} = f_A + f_C + f_D + f_E$ | $F_{14} = \text{Flujo de salida de tratamiento 1 (kg/lote)}$ |
| Corriente 15 | $F_{15} = f_A + f_C + f_D + f_E$ | $F_{15} = \text{Flujo de salida incubadora (kg/lote)}$ |

4.3.9. Centrifuga (C-103)

Con el fin de retirar el hipoclorito de sodio remanente y reducir las concentraciones de los compuestos restantes de la biomasa, se realiza una centrifugación que logra retirar el 87 % del hipoclorito de sodio y el 1,45 % de biomasa residual en la corriente 16 correspondiente al sobrenadante, teniendo un flujo de salida de 48,67 kg/lote de sedimento con mayor composición de biomasa con un valor de 0,77.

Tabla 22.*Balance de masa del equipo (C-103)*

| Ec. General | $F_{15} = F_{16} + F_{17}$ | Donde: |
|---------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Corriente 15 | $F_{15} = f_A + f_C + f_D + f_E$ | $F_{15} = \text{Flujo de salida incubadora (kg/lote)}$ |
| Corriente 16 | $F_{16} = f_A + f_C + f_D + f_E$ | $F_{16} = \text{Flujo de salida hipoclorito (kg/lote)}$ |
| Corriente 17 | $F_{17} = f_A + f_C + f_D + f_E$ | $F_{17} = \text{Flujo de salida centrifuga 3 (kg/lote)}$ |

4.3.10. Tanque de tratamiento con cloroformo (V-102)

Durante el proceso se realiza un segundo tratamiento, pero esta vez con cloroformo, por esta razón, dicho compuesto ingresa puro como la corriente 18 con un flujo de 10 kg/lote, así pues, a la salida del tanque de tratamiento se encuentra un flujo de 58,67 kg/lote con una composición superior de biomasa y cloroformo de 0,64 y 0,17 respectivamente, mientras que lo restante se encuentra en trazas de agua residual, etanol e hipoclorito.

Tabla 23.

Balance de masa del equipo (V-102)

| Ec. General | $F_{17} + F_{18} = F_{19}$ | Donde: |
|--------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Corriente 6 | $F_{17} = f_A + f_C + f_D + f_E$ | $F_{17} = \text{Flujo de salida centrifuga 3 (kg/lote)}$ |
| Corriente 7 | $F_{18} = f_F$ | $F_{18} = \text{Flujo de entrada cloroformo (kg/lote)}$ |
| Corriente 8 | $F_{19} = f_A + f_C + f_D + f_E + f_F$ | $F_{19} = \text{Flujo de salida tratamiento 2 (kg/lote)}$ |

4.3.11. Tanque de precipitación (S-101)

Para garantizar una purificación casi total del bioplástico se lleva a cabo una precipitación en donde se adiciona un corriente de metanol frío que permite eliminar los lípidos presentes en la biomasa, dicho flujo de metanol ingresa con 7,88 kg/lote puro y permite retirar el 4,65 % de dicha biomasa permitiendo un PHA casi puro, resultando un flujo de salida de la corriente 22 de 64,81 kg/lote.

Tabla 24.

Balance de masa del equipo (S-101)

| Ec. General | $F_{19} + F_{20} = F_{21} + F_{22}$ | Donde: |
|---------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Corriente 19 | $F_{19} = f_A + f_C + f_D + f_E + f_F$ | $F_{19} = \text{Flujo de salida tratamiento 2 (kg/lote)}$ |
| Corriente 20 | $F_{20} = f_G$ | $F_{20} = \text{Flujo de entrada metanol (kg/lote)}$ |
| Corriente 21 | $F_{21} = f_C$ | $F_{21} = \text{Flujo de salida precipitado (kg/lote)}$ |
| Corriente 22 | $F_{22} = f_A + f_C + f_D + f_E + f_F + f_G$ | $F_{22} = \text{Flujo de salida sobrenadante (kg/lote)}$ |

4.3.12. Centrifuga (C-104)

La última centrifugación se realiza con el fin de retirar la mayor cantidad de metanol y reducir las trazas existentes de otros compuestos que se encuentran a lo largo del proceso. Por consiguiente, gracias a esta operación, se logra eliminar completamente agua residual, hipoclorito de sodio y metanol por la corriente de sobrenadante con un flujo total de 21,72 kg/lote mientras que, para la corriente de sedimento, se obtiene un flujo de 43,09 kg/lote con composiciones de biomasa (0,79) y de cloroformo (0,21).

Tabla 25.

Balance de masa del equipo (C-104)

| Ec. General | $F_{22} = F_{23} + F_{24}$ | Donde: |
|---------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Corriente 22 | $F_{22} = f_A + f_C + f_D + f_E + f_F + f_G$ | $F_{22} = \text{Flujo de salida sobrenadante (kg/lote)}$ |
| Corriente 23 | $F_{23} = f_A + f_C + f_D + f_E + f_F + f_G$ | $F_{23} = \text{Flujo de salida solventes (kg/lote)}$ |
| Corriente 24 | $F_{24} = f_C + f_F$ | $F_{24} = \text{Flujo de salida centrifuga 4 (kg/lote)}$ |

4.3.13. Evaporador (F-101)

Finalmente, durante el proceso de evaporación, se pretende eliminar por completo aquellas trazas de cloroformo para obtener solamente el producto de interés que en este caso corresponde al bioplástico (PHA). En consecuencia, se evapora el cloroformo y este sale por la corriente 25 con un flujo de 9,15 kg/lote, logrando extraer en la corriente 26 solamente biomasa de PHA con un flujo de 33,94 kg/lote, reflejándose un porcentaje de rendimiento teórico del 13,24 % respecto a la biomasa obtenida de la corriente 8, cuyo valor se asemeja al reportado por los autores A. Shrivastav, SK. Mishra y S. Mishra [134], quienes obtienen un rendimiento del 13 %.

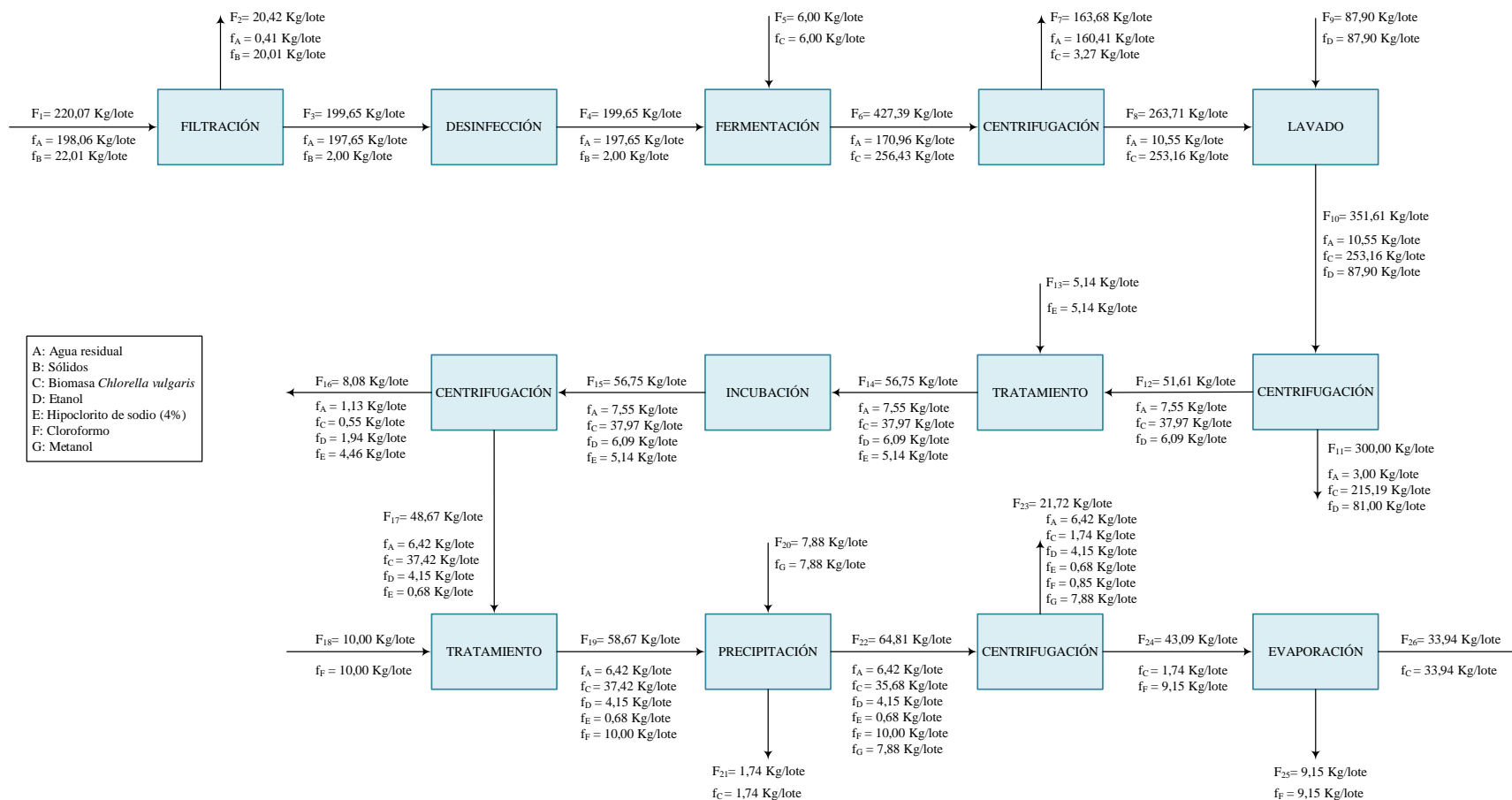
Tabla 26.

Balance de masa del equipo (F-101)

| Ec. General | $F_{24} = F_{25} + F_{26}$ | Donde: |
|---------------------|----------------------------|----------------------------------------------------------|
| Corriente 24 | $F_{24} = f_C + f_F$ | $F_{24} = \text{Flujo de salida centrifuga 4 (kg/lote)}$ |
| Corriente 25 | $F_{25} = f_F$ | $F_{25} = \text{Flujo de salida cloroformo (kg/lote)}$ |
| Corriente 26 | $F_{26} = f_C$ | $F_{26} = \text{Flujo de salida PHA (kg/lote)}$ |

Figura 21.

Diagrama del balance de masa para la obtención de PHA



Nota. La figura representa la elaboración del balance de masa, en donde se evidencian los flujos por corriente y por compuesto, expresados en kg/lote para la producción de PHA.

4.4. Equipos

A continuación, se describen los equipos empleados junto con sus características y la importancia que tienen en el proceso de producción de bioplástico mediante la microalga *C. vulgaris* cultivada en aguas residuales lácteas a escala piloto, para un sistema alimentado por lotes, cabe resaltar que el proceso se encuentra activo los 7 días de la semana, considerando que se trabaja una producción de 825,87 kg/año de PHA.

4.4.1. Filtro

Equipo encargado del tratamiento previo al proceso de desinfección ultravioleta, en donde su funcionamiento radica en la separación del agua residual y de partículas de gran tamaño presentes en el agua. El filtro destinado para esta operación de separación es de membranas de microfiltración que aíslan partículas que tienen un tamaño entre 0,1 mm y 10 mm (bacterias) y cuyo material es de polipropileno (PP) [139].

Figura 22.

Filtro de membranas industrial



Nota. La figura muestra el equipo destinado al proceso de filtración, el cual emplea membranas de microfiltración. Tomado de: “China Professional Manufacture 8 Inch 8040 Water Filter Membrane Housing - Buy Housing Membrane Filters Housing,8 Inch Membrane Housing,8040 Water Filter Membrane Housing Product on Alibaba.com.” <https://acortar.link/PT9su1> (accessed Sep. 30, 2021).

4.4.2. Equipo de desinfección UV

Cumple su función en la inactivación total o eliminación de aquellos microorganismos que puedan ser depredadores o competidores de *C. vulgaris*, se emplea como dispositivo de esterilización una cámara de desinfección de acero inoxidable 304 con una lámpara ultravioleta de 75 W modelo WUV-75HO, la cual opera con un pico de irradiancia de 253,7 nm y cuya intensidad ultravioleta corresponde a 117 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$, el material de la lámpara ultravioleta y su respectivo tubo protector está hecho de cuarzo, adicionalmente, el equipo debe cambiar de lámpara cada 9.000 horas de uso [140].

Figura 23.

Equipo de desinfección UV



Equipo WUV -75 HO

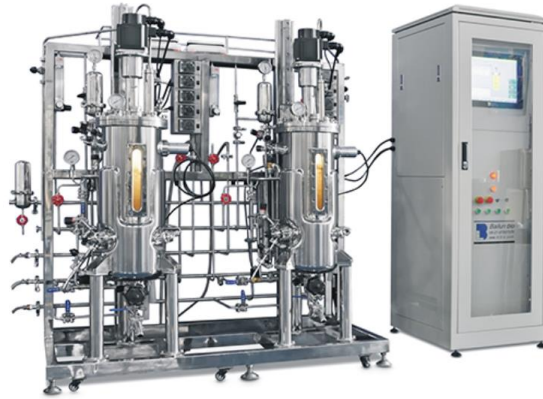
Nota. La figura muestra el equipo de desinfección UV, el cual opera con lámparas ultravioleta con irradiancia de 253,7 nm. Tomado de: “Ficha Técnica WUV- 75HO,” p. 304.

4.4.3. Fotobiorreactor

Durante la fermentación del proceso se emplea un fotobiorreactor para el crecimiento de biomasa microalgal de *C. vulgaris*, este equipo cuenta con una capacidad de 500 L, requiere de una potencia de 25 kW y los materiales que conforman el fermentador interna y externamente corresponden a acero inoxidable 316L y 304 respectivamente, cuenta con un suministro de doble luz, un compresor de aire integrado, así como sistemas control y detección de temperatura, espuma, presión y pH [141].

Figura 24.

Fotobiorreactor



Nota. La figura representa el equipo empleado para la fermentación, específicamente un fotobiorreactor de 500 L. Tomado de: “Advantages Of Conical Fermenter Type Of Bioreactors Photobioreactor - Buy Photobioreactor,Type Of Bioreactors,Advantages Of Conical Fermenter Product on Alibaba.com.” <https://acortar.link/TVHSvq> (accessed Nov. 05, 2021).

4.4.4. Tanque de lavado

El proceso de lavado de la biomasa mediante el uso de etanol se lleva a cabo en un tanque de lavado por aspersión con el objetivo de suspender parte de la biomasa del PHA. Este equipo es fabricado en lámina de acero inoxidable con una capacidad aproximada de 300 a 500 kg. A su vez, cuenta con una válvula de entrada para la sustancia con la cual se realiza el lavado por el sistema de riego por aspersión y tiene una válvula de desagüe que facilita la limpieza y permite la eliminación de residuos, sus dimensiones son 150 x 70 x 80 cm [142].

Figura 25.

Tanque de lavado por aspersion



Nota. La figura muestra el equipo encargado del proceso de lavado de la biomasa mediante etanol para la suspensión de la biomasa del biopolímero. Tomado de: Grupo Zingal, “Tanque de lavado de frutas (300-500Kg).” available: <https://www.grupozingal.co/producto/tanque-de-lavado-de-frutas-300-500-kg/> (accessed Oct. 01, 2021).

4.4.5. Centrifuga

Durante la producción del bioplástico se usan equipos de centrifugación, específicamente en los procesos de separación de agua residual láctea, etanol, hipoclorito de sodio y metanol. Para esto, inicialmente se cuenta con dos centrifugas horizontales de acero inoxidable a alta velocidad, que operan a 5.000 rpm durante 7 a 10 minutos, con dimensiones de 2.500 x 800 x 1.150 mm, la primera centrifuga corresponde a la separación de la biomasa de *C. vulgaris* del agua residual láctea y la segunda, se encarga de la separación de metanol de cloroformo con PHA [143].

Figura 26.

Centrifugadora horizontal



Nota. La figura representa la centrifuga utilizada en la primera etapa para la separación de biomasa microalgal del medio de cultivo. Tomado de: “Máquina De Deshidratación Centrífuga Horizontal,Centrífuga Industrial De Alta Velocidad Para El Campo De Fermentación - Buy Industrial Fermentation Centrifuge,Horizontal Centrifugal Dewatering Machine,Industrial Centrifuge High Speed Product on Alibaba.com.” <https://acortar.link/U3lc3z> (accessed Oct. 01, 2021).

Posteriormente, se cuenta con equipos de centrifugación cuyas características principales son un peso de 180 kg, requieren de 1,1 kW de energía y un voltaje desde 110 a 460 V, dimensiones 890 x 600 x 500 mm, las cuales operan a 1.637 rpm durante 30 minutos a 10 °C con el objetivo de separar el etanol y el hipoclorito de sodio con parte de la biomasa del biopolímero [144].

Figura 27.

Centrifuga pequeña industrial



Nota. La figura muestra el equipo empleado para los procesos de separación de etanol e hipoclorito de sodio con parte de biomasa residual. Tomado de: “Centrífuga Industrial Pequeña De 12 Pulgadas Para Líquido,Separación Sólida De Diferentes Materiales - Buy Small Industrial Centrifuge,Basket Centrifuge,Manual Discharge Centrifuge Product on Alibaba.com.” <https://acortar.link/zt8XTT> (accessed Oct. 01, 2021).

4.4.6. Tanques de mezclado

Equipo encargado de los tratamientos realizados a la biomasa, donde se le adicionan hipoclorito de sodio y cloroformo para retirar biomasa residual en forma de lípidos, carbohidratos, pigmentos, olores y obtener el biopolímero de alta pureza. Son dos tanques de mezcla que constan de un peso de 200 kg, hechos de un material de acero inoxidable, con diámetro y altura de 800 x 900 mm respectivamente, con una capacidad de hasta 500 L. Uno de los tanques cuenta con una chaqueta de acero inoxidable para calentar el cloroformo, ya que al calentarse este compuesto libera gases corrosivos y tóxicos [145].

Figura 28.

Tanque de mezclado



Nota. La figura muestra el tanque encargado de los tratamientos de hipoclorito de sodio y metanol, para la extracción de biomasa residual. Tomado de: “Mezclador De Gel Líquido Para Alimentos, Acero Inoxidable, Chaqueta De Calor Frío, Tanque De Mezcla - Buy Soap Making Machine Electric Heating Tank, Perfume Dairy Chemical Food Granule Liquid Cosmetic Liquid With Suspended Solids Viscous Fluid Powder Oil Water Cream Beverage, Steam Heating Tank Agitator Emulsifying Homogenizer Dispensers High Shear Mixer Product on Alibaba.com.” <https://acortar.link/9ONxZI> (accessed Oct. 01, 2021).

4.4.7. Incubadora

Su principal propósito es generar las condiciones adecuadas para que el hipoclorito de sodio haga su efecto sobre la biomasa tratada. Este equipo opera durante 1 hora a 37 °C. Tiene una cámara de acero inoxidable pulido, un controlador de temperatura, un sistema de alarma limitadora de temperatura, opera con una potencia de 0,35 kW y sus dimensiones son 710 x 705 x 605 mm [146].

Figura 29.
Incubadora



Nota. La figura representa la incubadora empleada para el proceso donde el hipoclorito de sodio hace su efecto en la biomasa tratada. Tomado de: BINDER, “Modelo BD 115 | Estándar-Incubadoras a convección natural,” pp. 1–5, 2019.

4.4.8. Tanque de precipitación

Con una capacidad de 50 a 8.000 L y dimensiones de 600 x 850 x 900 mm el tanque de precipitación hecho de acero inoxidable, es el encargado de retirar excesos de biomasa por medio de la acción de metanol, que permite precipitar las partículas correspondientes a la mezcla del biopolímero y el cloroformo, mientras que la biomasa residual queda como sobrenadante de la mezcla [147].

Figura 30.

Tanque de precipitación



Nota. La figura muestra el equipo encargado de separar la biomasa residual mediante el tratamiento con metanol. Tomado de: “De Acero Inoxidable De Alta Calidad Alcohol Sedimentación/precipitación Tanque - Buy Stainless Steel Tank,Alcohol Sedimentation Tank,Alcohol Precipitation Tank Product on Alibaba.com.” <https://acortar.link/vtRppx> (accessed Oct. 01, 2021).

4.4.9. Evaporador

Con el objetivo de garantizar la mayor pureza del bioplástico, se realiza una última etapa en la que se procede a la evaporación del cloroformo con el que se trata el polímero, para ello se emplea un evaporador de efecto simple, con una potencia de 10 kW, el cual viene diseñado según las especificaciones del proceso, hecho de acero inoxidable SUS304/316L [148].

Figura 31.

Evaporador industrial



Nota. La figura muestra el equipo empleado para la evaporación de cloroformo, como proceso final para obtener el bioplástico. Tomado de: “Evaporador/evaporador Industrial De Circulación Forjada,Fábrica De Shanghai Geling(shanghai) - Buy Evaporador Industrial,Double Effect Evaporator Evaporador Of Water Industry,Double Effect Evaporator Evaporador Of Water Industry Product on Alibaba.com.” <https://acortar.link/FTtKUi> (accessed Oct. 01, 2021).

4.5. Costos

En esta sección se estimaron los costos de capital (*Capex*) y de operación (*Opex*) haciendo énfasis en la materia prima, maquinaria y energía con el fin de hacer una estimación de los gastos generados en la producción de PHA a escala piloto.

4.5.1. Capex

Se refiere a los costos de inversión inicial, específicamente a la compra de los equipos para la producción de PHA, teniendo en cuenta precios obtenidos mediante cotizaciones con los respectivos fabricantes, así como el uso de páginas de distribuidores. Se realizaron los costos de los equipos descritos en la sección 4.4 en donde se tuvo en cuenta aspectos claves como la potencia y capacidad bajo los requerimientos del proceso, de esta manera, dichos valores se reflejan en la tabla 27.

Tabla 27.

Costo maquinaria para el proceso de producción de PHA

| Equipo | Cant. | Precio (COP) | Ref/Cotización |
|------------------|--------------|-----------------------|-------------------------------------------------|
| FIL – 101 | 1 | \$ 1.960.436 | [139] |
| V – 101 | 1 | \$ 1.937.490 | [149]; Ing. Nicolás Muñoz – Tel: +569 4144 4836 |
| R – 101 | 1 | \$ 103.266.680 | [141] |
| T – 101 | 1 | \$ 4.000.000 | [142]; Zingal S.A.S; Tel: +57 300 223 2212 |
| C – 101; C – 104 | 2 | \$ 128.182.380 | [143] |
| C – 102; C – 103 | 2 | \$ 20.735.385 | [144] |
| T – 102, V – 102 | 2 | \$ 10.000.000 | [145] |
| I – 101 | 1 | \$ 8.996.751 | [150]; BINDER Inc +1 631 4088 654 |
| S – 101 | 1 | \$ 3.016.056 | [147] |
| F – 101 | 1 | \$ 75.401.400 | [148] |
| | | \$ 357.496.578 | |

Nota. La tabla muestra el precio de los diferentes equipos empleados para la elaboración de PHA a partir de microalgas.

Tomando en cuenta los valores cotizados y representados en la tabla 27, el valor de inversión para los equipos corresponde a \$ 357.496.578 COP.

4.5.2. Opex

El opex hace referencia a aquellos costos variables que tenga la producción del bioplástico (PHA) a partir de *C. vulgaris*, la instalación y mantenimiento de los equipos, la compra de materias primas, así como los costos energéticos. Cabe destacar que la estimación de estos costos se realiza de manera conceptual, por lo que se genera una variación con un diseño a detalle.

De esta forma, inicialmente se cuenta con los gastos relacionados a la materia prima necesaria para el proceso, como el inóculo de la microalga, etanol, hipoclorito de sodio, cloroformo, metanol, CO₂ y agua residual láctea, cabe resaltar que esta última no tiene ningún costo de adquisición por lo cual no se evidencia en la tabla 28, consecuentemente, dichos costos están representados por litro y como se refleja en la sección 4.3 en donde se encuentra el balance, se permite conocer el precio total tomando en cuenta las cantidades requeridas por lote, así pues, se obtiene un valor total de materias primas de \$ 7.133.337,89 COP.

Tabla 28.*Costo materia prima para proceso de producción de PHA*

| Materias primas | Precio (COP/L) | Cantidad (L) | Precio Total (COP) | Ref/Cotización |
|----------------------------|-----------------------|---------------------|---------------------------|-----------------------------------------|
| Etanol | \$ 2.668,47 | 222,81 | \$ 594.571,46 | [151] |
| Hipoclorito de sodio | \$ 4.300,00 | 9,26 | \$ 39.823,42 | [152] |
| Cloroformo | \$ 109.896,58 | 13,42 | \$ 1.475.121,88 | [153] |
| Metanol | \$ 18.800,12 | 19,90 | \$ 374.103,40 | [154] |
| Inóculo <i>C. vulgaris</i> | \$ 380.000,00 | 12,00 | \$ 4.560.000,00 | [155]; Nutré ; Tel: +57 322 434 5483 |
| CO ₂ | \$ 0,44 | 205.286,40 | \$ 89.717,72 | [156] |
| | | | \$ 7.133.337,89 | |

Nota. La tabla representa los costos asociados a la materia prima empleada durante el proceso de producción de PHA a partir de microalgas, sin tener en cuenta el agua residual láctea.

Seguido a ello, es necesario costear aquellos gastos que implican la instalación y mantenimiento de los equipos dado que estos no vienen involucrados dentro del precio total en la tabla 27, debido a que no se consideran variables de ingeniería, cableado, entre otras. Así pues, para la producción de bioplástico (PHA) hay un costo de instalación del 6 % del valor total de la maquinaria [157], de esta forma, se obtiene un costo de \$21'449.794,68 COP, de igual forma, para el mantenimiento de los equipos, se tiene en cuenta que este es realizado anualmente y se estima alrededor del 2 % del costo de los equipos + instalación [158], por consiguiente, se alcanza un costo de \$7'043.620,16 COP.

Por último, se realizan los costos energéticos del proceso, en donde son integrados aquellos servicios de electricidad requeridos para el proceso, por lo tanto, dicha estimación tiene en cuenta la potencia de los equipos reflejada en kW y la cantidad de días en el que dichos equipos están en funcionamiento. A continuación, según lo regulado por la Comisión de Regulación de Energía y Gas (CREG) la tarifa de energía eléctrica del mes de septiembre del año 2021 para una zona no residencial, industrial que posee una propiedad compartida donde se labora diurna y nocturnamente, es de un valor próximo de \$ 685,9573 COP/kWh [159]. De esta manera, se estima finalmente el costo energético por mes para la producción de PHA teniendo un valor de \$12.377.894,07 COP, mostrado en la tabla 29.

Tabla 29.*Costo energético generado por los equipos para la producción de PHA*

| EQUIPO | Cant | Potencia (kW) | Horas | Tarifa (\$/kWh) | Costo (\$/kWh) | Días | Costo (\$/kWmes) |
|------------------|-------------|--------------------------|--------------|----------------------------|---------------------------|-------------|-----------------------------|
| FIL – 101 | 1 | 0 | 1,00 | 685,96 | - | | - |
| V – 101 | 1 | 0,075 | 0,25 | 685,96 | \$ 12,86 | 2 | \$ 25,72 |
| R – 101 | 1 | 25 | 24,00 | 685,96 | \$ 411.580,38 | 30 | \$ 12.347.411,40 |
| T – 101 | 1 | 0 | 0,50 | 685,96 | - | 2 | - |
| C – 101 | 1 | 15 | 0,17 | 685,96 | \$ 1.714,92 | 2 | \$ 3.429,84 |
| C – 104 | 1 | 15 | 0,50 | 685,96 | \$ 5.144,75 | 2 | \$ 10.289,51 |
| C – 102, C – 103 | 2 | 1,1 | 0,50 | 685,96 | \$ 754,56 | 2 | \$ 1.509,13 |
| T – 102, V – 102 | 2 | 1,5 | 0,50 | 685,96 | \$ 1.028,95 | 2 | \$ 2.057,90 |
| I – 101 | 1 | 1,35 | 1,00 | 685,96 | \$ 926,06 | 2 | \$ 1.852,11 |
| S – 101 | 1 | 0,75 | 1,00 | 685,96 | \$ 514,48 | 2 | \$ 1.028,95 |
| F – 101 | 1 | 10 | 0,75 | 685,96 | \$ 5.144,75 | 2 | \$ 10.289,51 |
| Total | | | | | | | \$ 12.377.894,07 |

Nota. La tabla muestra los costos energéticos generados por los diferentes equipos involucrados en el proceso de producción de PHA a partir de microalgas.

De este modo, en la tabla 30, se representa la inversión inicial de los costos del diseño conceptual básico en donde se consideran aquellos costes pertenecientes a materias primas, consumo energético y gasto de compra, mantenimiento e instalación de equipos.

Tabla 30.*Costo total de producción*

| | |
|---------------------------------|------------------|
| Materia prima | \$ 7.133.337,89 |
| Consumos energéticos | \$ 12.377.894,07 |
| Equipos | \$ 357.496.578 |
| Instalación de equipos | \$ 21.449.794,68 |
| Mantenimiento de equipos | \$ 7.578.927,454 |
| Total | \$ 385.337.019,7 |

Nota. La tabla muestra los costos totales del proceso de producción de PHA a partir de microalgas.

Finalmente, para determinar el costo de la producción del PHA, no se consideran los costos fijos relacionados a los costos de equipo, mantenimiento e instalación por lo cual los valores

correspondientes a materia prima y consumo energético se dividen entre la producción que se tiene por lote, en este caso 33,94 kg, obteniendo un valor de \$ 574.874,25 COP y un valor de \$ 16.937,96 COP/kg, equivalente a \$ 4,37 dólares/kg. De esta manera, se evidencia que el costo de producción se encuentra dentro del rango de PHA producido por diferentes industrias, en donde el costo de producción para 1 kg de plástico microbiano es de \$ 2,13 a \$ 6,25 dólares/kg [160]. Así pues, se observa un elevado costo debido a materias primas como el cloroformo, el inóculo de la microalga y específicamente en los costos energéticos al fotobiorreactor que se encuentra operando las 24 horas del día durante todo el mes.

5. CONCLUSIONES

A partir de la revisión bibliográfica respecto a las condiciones que requiere la microalga para su crecimiento como pH, nitrógeno, fósforo y turbidez, así como las características fisicoquímicas de las aguas residuales avícola, láctea y floricultora, se pudo concluir gracias a la implementación de la matriz de T. Saaty que la mejor alternativa corresponde al agua residual de la industria láctea, esto debido a que posee características de pH promedio de 7,1, concentraciones de nitrógeno y fósforo de 143,22 y 173,67 mg/L respectivamente, y con una turbidez de alrededor de 2.832,50 NTU, acercándose a un medio de cultivo propio para el desarrollo de biomasa de *C. vulgaris*, no obstante, se evidencia que las alternativas restantes también representan una buena opción, ya que no difieren mucho en el resultado obtenido por el proceso de análisis jerárquico.

Gracias al análisis bibliométrico, se logra identificar la metodología correspondiente a la producción de bioplástico a partir de microalgas cultivadas en aguas residuales lácteas, en donde se debe garantizar un medio propio para el crecimiento de la especie microalgal, por medio de operaciones como la filtración y la desinfección. Por otro lado, para la producción de biomasa y de PHA en el fotobiorreactor se tuvieron en cuenta factores a controlar como la temperatura, pH, aireación, intensidad de luz y tiempo de cultivo, donde un cambio significativo puede alterar drásticamente dicha producción.

Tras la investigación, se encontró que la técnica más empleada para la extracción y purificación del PHA corresponde a la de cloroformo caliente, permitiendo obtener una alta pureza del biopolímero. Sin embargo, al emplear otros solventes como el hipoclorito de sodio, metanol y etanol, algunos de los cuales son corrosivos, tóxicos e inflamables y otros contribuyen al efecto invernadero, se concluye que el proceso no es muy amigable con el medio ambiente, ya que no existen procesos posteriores para la recuperación de dichos solventes. Cabe resaltar que el PHA obtenido por este proceso posee propiedades de biodegradabilidad e impermeabilidad al agua, lo que permite llevarlo a un campo de implementación en industrias médicas y farmacológicas.

Según el diseño conceptual básico elaborado a escala piloto, se logran procesar 199,65 kg/lote de agua residual láctea y 6 kg/lote de inóculo de la microalga, logrando una concentración máxima

de 2,20 g/L de biomasa de *C. vulgaris*, que permiten obtener de manera teórica 33,94 kg/lote de PHA (814,56 kg/año), reflejando un rendimiento del 13,24 % respecto a la biomasa generada en el fotobiorreactor.

Dentro del análisis expuesto en el diseño conceptual básico respecto a los costos para la producción del bioplástico a escala piloto, se evidencia un costo elevado de producción debido al valor del cloroformo y el inóculo como materia prima (cabe resaltar que el inóculo es completamente natural y no una cepa modificada), teniendo en cuenta que se requieren 10 kg/lote y 6 kg/lote respectivamente, para producir los 33,94 kg/lote de PHA, así como un alto consumo energético generado principalmente por el fotobiorreactor que opera durante todo el mes. Así pues, se obtiene un valor total de inversión de \$ 385.337.019,7 y de producción de 16.937,96 COP/kg, lo cual permite evidenciar que el resultado se asemeja a los reportados por diferentes productores de PHA.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Greenpeace, “Colombia, mejor sin plásticos,” *Campaña Plásticos*, 2018. http://greenpeace.co/pdf/reporte_plasticos.pdf (accessed Mar. 12, 2021).
- [2] S. Roper, “¿Cuánto tarda en degradarse el plástico? - Descubre el Tiempo,” Apr. 15, 2020. <https://www.ecologiaverde.com/cuanto-tarda-en-degradarse-el-plastico-2693.html> (accessed Mar. 12, 2021).
- [3] S. Gibbens, “Todo lo que necesitas saber sobre los bioplásticos,” *National Geographic*, Nov. 16, 2018. <https://www.nationalgeographic.es/medio-ambiente/2018/11/todo-lo-que-necesitas-saber-sobre-los-bioplasticos> (accessed Mar. 12, 2021).
- [4] Y. González García, J. C. Meza Contreras, O. González Reynoso, and J. A. Córdova López, “Síntesis y biodegradación de polihidroxialcanoatos: Plásticos de origen microbiano,” *Rev. Int. Contam. Ambient.*, vol. 29, no. 1, pp. 77–115, 2013.
- [5] S. Konstantinos, *Grind Hardening Process*, 2015th ed. Italy: SpringerBriefs in Applied Sciences and Technology, 2015.
- [6] A. González Céspedes, “¿Qué son las microalgas?,” *Cajamar ADN Agro*, vol. 011, pp. 1–11, 2015, [Online]. Available: <https://www.cajamar.es/storage/documents/microalgas-1444391623-ca345.pdf>.
- [7] I. T. K. Ru, Y. Y. Sung, M. Jusoh, M. E. A. Wahid, and T. Nagappan, “Chlorella vulgaris : a perspective on its potential for combining high biomass with high value bioproducts ,” *Appl. Phycol.*, vol. 1, no. 1, pp. 2–11, Dec. 2020, doi: 10.1080/26388081.2020.1715256.
- [8] C. Safi, B. Zebib, O. Merah, P. Y. Pontalier, and C. Vaca-Garcia, “Morphology, composition, production, processing and applications of Chlorella vulgaris: A review,” *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 35, pp. 265–278, 2014, doi: 10.1016/j.rser.2014.04.007.
- [9] J. A. Coronado-Reyes, J. A. Salazar-Torres, B. Juárez-Campos, and J. C. González-Hernández, “Chlorella vulgaris, a microalgae important to be used in Biotechnology: a review,” *Food Sci. Technol.*, vol. 2061, pp. 1–11, 2020, doi: 10.1590/fst.37320.
- [10] Modelos predictivos de ComBase, “Crecimiento bacteriano.” available: http://coli.usal.es/web/demos/demo_alteracion/FactoresCrecimiento/FactoresCrecimiento.html (accessed Sep. 01, 2021).
- [11] Agrotendencia.tv, “Cultivo de Microalgas - Historia, Utilidad y Ventajas.” available:

- <https://agrotendencia.tv/agropedia/el-cultivo-de-microalgas/> (accessed Sep. 09, 2021).
- [12] J. Abalde, A. Cid, P. Fidalgo, E. Torres, and C. Herrero, *Microalgas: Cultivo y Aplicaciones*, Universida. España, 1995.
- [13] J. Tovar-Salamanca and J. Ruíz-Díaz, “Propuesta de escalamiento de un fotobiorreactor para la microalga *Chlorella vulgaris* a nivel piloto,” Tesis pre. Facultad de ingenierías, Fundación Universidad de América, Bogotá, Colombia, 2016.
- [14] D. Fajardo and A. Londoño, “Desarrollo de un biorreactor de bajo costo para la disminución de los requerimientos de oxígeno externo en un consorcio alga-bacteria para la producción de polihidroxialcanoatos (PHA),” Tesis pre. Facultad de ingenierías, Fundación Universidad de América, Bogotá, Colombia, 2020.
- [15] J. M. Fernandez, “Fotobiorreactores para el cultivo masivo de microalgas,” *Microalgal Biotechnology*, 2014. available: <https://w3.ual.es/~jfernand/ProcMicro70801207/tema-1---generalidades/1-7-fotobiorreactores.html> (accessed Sep. 16, 2021).
- [16] J. A. Piedrahita and S. Urbano, “Diseño del sistema de alimentación y control de temperatura en un fotobiorreactor para la producción de biomasa y ácidos grasos a partir del cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris*,” Tesis pre. Facultad de ingeniería, Universidad Autónoma de Occidente, Santiago de Cali, Colombia, 2012.
- [17] R. Bustos, “Producción y cosechado de biomasa de microalgas para su aprovechamiento industrial,” Tesis pre. Facultad de ciencias químicas, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España, 2016.
- [18] C. Gutiérrez and D. Guzman, “Propuesta de diseño de un sistema continuo para un fotobiorreactor air-lift a escala laboratorio,” Tesis pre. Facultad de ingenierías, Fundación Universidad de América, Bogotá, Colombia, 2016.
- [19] IDEAM, “Informe IDEAM sobre el tratamiento de aguas,” 2015. available: <http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/021318/03TextoCompleto.pdf>.
- [20] OEFA, “Fiscalización ambiental en aguas residuales,” *Org. Eval. y Fisc. Ambient.*, p. 36, 2014, [Online]. Available: https://www.oefa.gob.pe/?wpfb_dl=7827.
- [21] Laboratorio Louis Pasteur, “Aguas residuales industriales,” 2017. available: <http://lablouispasteur.pe/noticias/aguas-residuales-industriales/> (accessed Sep. 01, 2021).
- [22] Metcalf & Eddy, *Ingeniería de aguas residuales, tratamiento, vertido y reutilización*, 3a ed. España: McGraw-Hill/Interamericana de España, S. A., 1995.

- [23] L. Qin *et al.*, “Cultivation of *Chlorella vulgaris* in Dairy Wastewater Pretreated by UV Irradiation and Sodium Hypochlorite,” *Appl. Biochem. Biotechnol.*, pp. 1121–1130, 2013, doi: 10.1007/s12010-013-0576-5.
- [24] J. Medrano-Barboza, A. A. Aguirre-Bravo, P. Encalada-Rosales, R. Yerovi, and J. R. Ramírez-Iglesias, “Uso de aguas residuales de porcicultura y faenamiento para el crecimiento y obtención de biomasa algal de *Chlorella vulgaris*,” *Bionatura*, vol. 6, no. 2, pp. 1824–1831, 2021, doi: 10.21931/rb/2021.06.02.24.
- [25] CIDBIMENA, “Radiación ultravioleta,” Honduras, 4, ago, 2015. [PDF]. Accessed: Sep. 01, 2021. [Online]. Available: http://cidbimena.desastres.hn/docum/crid/CD_Agua/pdf/spa/doc14572/doc14572-4.pdf.
- [26] N. Dolores, R. Urueña, M. Gaudioso, and M. Castillo, “Bactericidia de hipoclorito de sodio sobre *Staphylococcus cohnii* productor de biofilm en una fábrica,” *Red Rev. Científicas América Lat.*, vol. 47, no. 4, pp. 693–700.
- [27] M. K. Wolfe, K. Gallandat, K. Daniels, A. M. Desmarais, P. Scheinman, and D. Lantagne, “Handwashing and Ebola virus disease outbreaks: A randomized comparison of soap, hand sanitizer, and 0.05% chlorine solutions on the inactivation and removal of model organisms Phi6 and *E. coli* from hands and persistence in rinse water,” *PLoS One*, vol. 12, no. 2, p. 162, Feb. 2017, doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0172734.
- [28] Betelgeux, “El ácido peracético (PAA): Biocida de amplio espectro y bajo en residuos,” *Blog sobre seguridad alimentaria*, 2018. available: <https://www.betelgeux.es/blog/2018/01/31/el-acido-peracetico-paa-biocida-de-amplio-espectro-y-bajo-en-residuos/> (accessed Sep. 01, 2021).
- [29] C. Rodriguez, “Demanda química de oxígeno por refluo cerrado y volumetría,” *Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial*, 2007. available: <http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38155/Demanda+Química+de+Oxígeno..pdf/20030922-4f81-4e8f-841c-c124b9ab5adb> (accessed Sep. 01, 2021).
- [30] Hanna instruments, “Demanda química de oxígeno.” available: <https://www.hannainst.es/blog/81/demanda-quimica-de-oxigeno> (accessed Sep. 01, 2021).
- [31] Induanalisis, “DBO y DQO,” 2019. available: https://www.induanalisis.com/publicacion/detalle/dbo_y_dqo_31 (accessed Sep. 01, 2021).
- [32] M. O. Navarro, “Demanda bioquímica de oxígeno 5 días, incubación y electrometría.”

2015. available: <http://www.ideam.gov.co/> (accessed Sep. 01, 2021).
- [33] Hanna instruments, “¿Qué es la turbidez?,” 2019. available: <https://hannainst.com.mx/boletines/que-es-la-turbidez/> (accessed Sep. 01, 2021).
- [34] A. Baños, “¿Que nos dice la turbidez sobre la calidad del agua potable?,” 2018. available: <https://higieneambiental.com/aire-agua-y-legionella/que-nos-dice-la-turbidez-sobre-la-calidad-del-agua-potable> (accessed Sep. 01, 2021).
- [35] Comunidad Andina, “Ficha técnica sistema de información del medio ambiente, odentificación de la variable sólidos suspendidos totales,” 2003. available: <http://institucional.ideam.gov.co/descargas?com=institucional&name=pubFile814&downloadname=> (accessed Sep. 03, 2021).
- [36] J. C. Cartagena and B. O. Malo, “Evaluación del uso de la microalga *Chlorella vulgaris* en la remoción de materia orgánica de las aguas residuales de la PTAR el salitre a nivel laboratorio,” Tesis pre. Facultad de ingenierías, Fundación Universidad de América, Bogotá, Colombia, 2017.
- [37] T. M. Carpio, “Sólidos totales secados a 103 - 105°C.,” *IDEAM*, 2017. available: <http://www.cambioclimatico.gov.co/documents/14691/38155/Sólidos+Totales+secados+a+103+--+105°C..pdf/d4faab4a-34e4-4159-bf4c-50353b101935>.
- [38] D. Rodriguez, V. López, G. Alpizar, and M. E. Calixto, *Biopolímeros: de principio a fin*. Querétaro: Handbooks-©ECORFAN-Mexico, 2020.
- [39] O. Vega and D. Montaña, “Biopolímeros, definiciones, caracterización y aplicaciones,” *Aportes en Investig. para la Ing.*, p. 14, 2020, [Online]. Available: https://www.researchgate.net/publication/343268488_Biopolimeros_definiciones_caracterizacion_y_aplicaciones.
- [40] A. Steinbuchel and H. E. Valentin, “Diversity of bacterial polyhydroxyalkanoic acids,” *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 128, pp. 219–228, 1995, doi: 10.1111/j.1574-6968.1995.tb07528.x.
- [41] O. Muñoz, “Evaluación del proceso de extracción y purificación del polímero poli(3-hidroxi butirato) P3HB obtenido de la cepa *Burkholderia cepacia* B27 con un solvente orgánico no halogenado,” Tesis pre. Facultad de ingenierías, Fundación Universidad de América, Bogotá, Colombia, 2019.
- [42] S. Serra, A. Lobo, M. Greque de Morais, J. A. Vieira, and J. I. Druzian, “Microalgae as

- source of polyhydroxyalkanoates (PHAs) — A review,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 131, pp. 536–547, 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.099.
- [43] Z. A. Raza, S. Abid, and I. M. Banat, “Polyhydroxyalkanoates: Characteristics, production, recent developments and applications,” *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, pp. 45–56, 2017, doi: 10.1016/j.ibiod.2017.10.001.
- [44] Y. Zeng *et al.*, “Development of a temperature shift strategy for efficient docosahexaenoic acid production by a marine fungoid protist, *Schizochytrium* sp. HX-308,” *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 164, no. 3, pp. 249–255, 2011, doi: 10.1007/s12010-010-9131-9.
- [45] M. Hernandez, “Efecto de la temperatura en el crecimiento de microalgas y la remoción de nutrientes en agua de invernaderos,” Tesis maestría. Facultad de ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México, 2017.
- [46] I. Nishida and N. Murata, “Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: The crucial contribution of membrane lipids,” *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, vol. 47, no. 1, pp. 541–568, 1996, doi: 10.1146/annurev.arplant.47.1.541.
- [47] S. Chinnasamy, B. Ramakrishnan, A. Bhatnagar, and K. C. Das, “Biomass Production Potential of a Wastewater Alga *Chlorella vulgaris* ARC 1 under Elevated Levels of CO₂ and Temperature,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 10, no. 2, p. 518, Feb. 2009, doi: 10.3390/IJMS10020518.
- [48] H. Xu, X. Miao, and Q. Wu, “High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters,” *J. Biotechnol.*, vol. 126, no. 4, pp. 499–507, Dec. 2006, doi: 10.1016/J.JBIOTECH.2006.05.002.
- [49] K. Cassidy, “Evaluating algal growth at different temperatures,” Master’s Thesis. Biosystems and Agricultural Engineering, University of Kentucky, Lexington, Kentucky, 2011.
- [50] R. Barghbani, K. Rezaei, and A. Javanshir, “Investigating the Effects of Several Parameters on the Growth of *Chlorella vulgaris* Using Taguchi’s Experimental Approach,” *Int. J. Biotechnol. Wellness Ind.*, vol. 1, no. 2, pp. 128–133, Jun. 2012, doi: 10.6000/1927-3037/2012.01.02.04.
- [51] S. Daliry, A. Hallajisani, J. Mohammadi Roshandeh, H. Nouri, and A. Golzary, “Investigation of optimal condition for *Chlorella vulgaris* microalgae growth,” *Glob. J. Environ. Sci. Manag.*, vol. 3, no. 2, pp. 217–230, Apr. 2017, doi:

10.22034/GJESM.2017.03.02.010.

- [52] A. Hernández-Pérez and J. I. Labbé, “Microalgas, cultivo y beneficios,” *Biol. Mar. y Oceanogr.*, vol. 49, no. 2, pp. 157–173, 2014, doi: 10.4067/S0718-19572014000200001.
- [53] R. García, “Producción de biomasa de microalgas rica en carbohidratos acoplada a la eliminación fotosintética de CO₂,” Tesis doctoral. Facultad de ciencias, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, 2011.
- [54] D. Rubio-Fernández and G. A. Hernández, “Evaluación de las incidencias de salinidad y pH sobre la biomasa, productividad y acumulación de lípidos en cultivos de *Chlorella vulgaris* en un fotobiorreactor de placa plana,” *ITECKNE*, vol. 13, no. 1, pp. 44–56, 2016, Accessed: Aug. 12, 2021. [Online]. Available: <http://www.scielo.org.co/pdf/itec/v13n1/v13n1a06.pdf>.
- [55] G. Yu, D. Shi, Z. Cai, W. Cong, and F. Ouyang, “Growth and Physiological Features of Cyanobacterium *Anabaena* sp. Strain PCC 7120 in a Glucose-Mixotrophic Culture,” *Chinese J. Chem. Eng.*, vol. 19, no. 1, pp. 108–115, Feb. 2011, doi: 10.1016/S1004-9541(09)60185-3.
- [56] A. Mayo, “Effects of temperature and pH on the kinetic growth of unialga *Chlorella vulgaris* cultures containing bacteria,” *Water Environ. Res.*, vol. 69, no. 1, pp. 64–72, 1997, Accessed: Aug. 13, 2021. [Online]. Available: <https://www.jstor.org/stable/25044843>.
- [57] A. Zehnder and P. Gorham, “Factors influencing the growth of *Microcystis aeruginosa* Kutz, emend, Elenkin,” *Can. J. Microbiol.*, vol. 6, pp. 645–660, Dec. 1960, doi: 10.1139/M60-077.
- [58] M. Al-Qasmi, N. Raut, S. Talebi, S. Al-Rajhi, and T. Al-Barwani, “A review of effect of light on microalgae growth,” *Proc. World Congr. Eng.*, vol. 1, pp. 608–610, 2012, [Online]. Available: https://www.researchgate.net/publication/263094270_A_Review_of_Effect_of_Light_on_Microalgae_Growth.
- [59] C. C. Flores, J. M. Peña-Castro, L. B. Flores-Cotera, and R. O. Cañizares-Villanueva, “Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas,” *Interciencia*, vol. 28, no. 8, pp. 450–456, 2003, Accessed: Aug. 13, 2021. [Online]. Available: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442003000800004&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

- [60] L. Martínez, “Eliminación de CO₂ con microalgas autóctonas,” Tesis doctoral. Área de ingeniería química, Universidad de León, León, España.
- [61] A. Richmond, *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. 2004.
- [62] J. Park, R. Craggs, and A. Shilton, “Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production,” *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 1, pp. 35–42, Jan. 2011, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2010.06.158.
- [63] Z. Amini Khoeyi, J. Seyfabadi, and Z. Ramezanzpour, “Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*,” *Aquac. Int. 2011 201*, vol. 20, no. 1, pp. 41–49, Apr. 2011, doi: 10.1007/S10499-011-9440-1.
- [64] M. F. Blair, B. Kokabian, and V. G. Gude, “Light and growth medium effect on *Chlorella vulgaris* biomass production,” *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 2, no. 1, pp. 665–674, 2014, doi: 10.1016/J.JECE.2013.11.005.
- [65] L. Blinová, A. Bartošová, and K. Gerulová, “Cultivation Of Microalgae (*Chlorella vulgaris*) For Biodiesel Production ,” *Res. Pap. Fac. Mater. Sci. Technol. Slovak Univ. Technol.*, vol. 23, no. 36, pp. 87–95, Jun. 2015, doi: 10.1515/rput-2015-0010.
- [66] J. Fernández, “Nutrientes y medios de cultivo de microalgas,” 2014. available: <https://w3.ual.es/~jfernand/ProcMicro70801207/tema-1---generalidades/1-3-nutrientes.html> (accessed Aug. 16, 2021).
- [67] J. U. Grobbelaar, “Mass cultivation of microalgae,” in *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*, A. Richmond, Ed. 2004, pp. 97–115.
- [68] M. Arias, A. Martínez, and R. Cañizares, “Producción de biodiesel a partir de microalgas: parámetros de cultivo que afectan la producción de lípidos,” *Acta biol. Colomb*, vol. 18, no. 1, pp. 43–68, 2013, Accessed: Aug. 16, 2021. [Online]. Available: <http://algaetec.com.au>.
- [69] L. Brennan and P. Owende, “Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products,” *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 14, no. 2, pp. 557–577, Feb. 2010, doi: 10.1016/J.RSER.2009.10.009.
- [70] Y. Liang, N. Sarkany, and Y. Cui, “Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions,” *Biotechnol. Lett. 2009 317*, vol. 31, no. 7, pp. 1043–1049, Mar. 2009, doi: 10.1007/S10529-009-9975-7.

- [71] Z. Guo, W. B. A. Phooi, Z. J. Lim, and Y. W. Tong, "Control of CO₂ input conditions during outdoor culture of *Chlorella vulgaris* in bubble column photobioreactors," *Bioresour. Technol.*, vol. 186, pp. 238–245, Jun. 2015, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2015.03.065.
- [72] E. Y. Ortiz Montoya, A. A. Casazza, B. Aliakbarian, P. Perego, A. Converti, and J. C. M. De Carvalho, "Production of *Chlorella vulgaris* as a source of essential fatty acids in a tubular photobioreactor continuously fed with air enriched with CO₂ at different concentrations," *Biotechnol. Prog.*, vol. 30, no. 4, pp. 916–922, 2014, doi: 10.1002/BTPR.1885.
- [73] S. M. Rendon, G. J. C. Roldan, and R. P. Voroney, "Effect of Carbon Dioxide Concentration on the Growth Response of *Chlorella vulgaris* Under Four Different Led Illumination," *Int. J. Biotechnol. Wellness Ind.*, vol. 2, no. 3, pp. 125–131, Sep. 2013, doi: 10.6000/1927-3037.2013.02.03.3.
- [74] R. Benavente, J. Montañez, C. Aguilar, A. Méndez, and B. Valdivia, "Tecnología de cultivo de microalgas en fotobiorreactores," *Rev. Científica la Univ. Autónoma Coahuila*, vol. 4, no. 7, p. 12, 2012, [Online]. Available: https://www.researchgate.net/publication/262560081_Tecnologia_de_Cultivo_de_Microalga_en_Fotobiorreactores.
- [75] V. Gossain and R. Mirro, "Linear scale-up of cell cultures," 2010. <https://bioprocessintl.com/upstream-processing/upstream-single-use-technologies/linear-scale-up-of-cell-cultures-307248/> (accessed Sep. 09, 2021).
- [76] J. Cartagena and B. Malo, "Evaluación del uso de la microalga *Chlorella vulgaris* en la remoción de materia orgánica de las aguas residuales de la PTAR El Salitre a nivel laboratorio," Tesis pre. Facultad de ingenierías, Fundación Universidad de América, Bogotá, Colombia, 2017.
- [77] Fenavi, "Consumo histórico de huevo y pollo en Colombia," 2018. available: <https://avicultura.info/fenavi-consumo-historico-huevo-pollo-colombia/> (accessed Aug. 20, 2021).
- [78] M. Kobya, E. Senturk, and M. Bayramoglu, "Treatment of poultry slaughterhouse wastewaters by electrocoagulation," *J. Hazard. Mater.*, vol. 133, no. 1–3, pp. 172–176, May 2006, doi: 10.1016/J.JHAZMAT.2005.10.007.
- [79] E. Gutierrez and Y. Caldera, "Aguas residuales de un matadero de aves : Características y

- tratamiento,” *Intellectus*, 2012, [Online]. Available: https://www.researchgate.net/publication/282723529_Aguas_residuales_de_un_matadero_de_aves_Caracteristicas_y_tratamiento.
- [80] K. Meiramkulova *et al.*, “Performance of graphite and titanium as cathode electrode materials on poultry slaughterhouse wastewater treatment,” *Materials (Basel)*, vol. 13, no. 20, pp. 1–17, Oct. 2020, doi: 10.3390/MA13204489.
- [81] A. Barata, “Microalgas: produção económica e ambientalmente sustentável,” 2016, Accessed: Aug. 18, 2021. [Online]. Available: <https://repositorio.ul.pt/handle/10451/23615>.
- [82] Y. Williams, “Treatment of poultry slaughterhouse wastewater using an expanded granular sludge bed anaerobic digester coupled with anoxic/aerobic hybrid side stream ultrafiltration membrane bioreactor,” Master’s thesis. Faculty of Engineering, Cape Peninsula University of Technology, Cape Town, South Africa, 2017.
- [83] A. C. Oliveira, A. Barata, A. P. Batista, and L. Gouveia, “Environmental Technology Scenedesmus obliquus in Poultry Wastewater Bioremediation Scenedesmus obliquus in Poultry Wastewater Bioremediation Scenedesmus obliquus in Poultry Wastewater Bioremediation,” *Environ. Technol.*, 2018, doi: 10.1080/09593330.2018.1488003.
- [84] M. Basitere, Y. Williams, M. S. Sheldon, S. K. O. Ntwampe, D. De Jager, and C. Dlangamandla, “Performance of an expanded granular sludge bed (EGSB) reactor coupled with anoxic and aerobic bioreactors for treating poultry slaughterhouse,” *Water Pract. Technol.*, vol. 11, no. 1, pp. 86–92, 2016, doi: 10.2166/wpt.2016.013.
- [85] M. Jiménez-Veuthey, L. M. Zapata, and M. L. Flores, “Phycoremediation and microalgae production using poultry effluent from anaerobic digestion as a culture medium,” *J. Environ. Biotechnol.*, vol. 8, no. 4, pp. 52–64, 2019, Accessed: Aug. 18, 2021. [Online]. Available: www.vinanie.com/jebr.
- [86] S. Cobo Romero, “Análisis y recopilación del consumo de agua en algunos cultivos de flores de La Sabana de Bogotá,” Tesis pre. Facultad de ingenierías, Universidad de la Salle, Bogotá, Colombia, 2016.
- [87] I. Villalobos and M. Villalobos, “Análisis del impacto ambiental de los floricultivos en Cundinamarca: Una perspectiva económica,” Tesis Magister. Facultad de ciencias naturales e ingeniería, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Bogotá, Colombia, 2018.

- [88] M. Gaitan, “Producción de biomasa microalgal a partir de aguas residuales de la industria floricultora a nivel laboratorio,” Tesis pre. Facultad de Ingenierías, Fundación Universidad de América, Bogotá, Colombia, 2018.
- [89] J. Castro, “Diseño de un sistema de tratamiento de aguas residuales del proceso de hidratación postcosecha de las rosas en la empresa Vicky Flowers y propuesta para la implementación,” Tesis pre. Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias, Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito, Ecuador, 2017.
- [90] BIOAMPEG CIA. LTDA., “Estudio de impacto ambiental ex post y plan de manejo ambiental de la florícola Flores La Alegría Aleflowers CIA. LTDA.,” 2015. Accessed: Aug. 18, 2021. [Online]. Available: <https://maeimbabura.files.wordpress.com/2015/05/4-eia-floriculta-la-alegria.pdf>.
- [91] A. Cevallos, “Ingeniería de aguas residuales procedenteas de actividades agroindustriales representativas en la sierra norte del Ecuador caso de la empresa Florícola Florecal S.A.,” Tesis pre. Facultad de Ingenierías, Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador.
- [92] L. K. Akula, R. K. Oruganti, D. Bhattacharyya, and K. K. Kurilla, “Treatment of marigold flower processing wastewater using a sequential biological-electrochemical process,” *Appl. Sci. Eng. Prog.*, vol. 14, no. 3, pp. 525–542, 2021, doi: 10.14416/j.asep.2021.04.001.
- [93] S. Ehmig Santillán, “Caracterización y diseño de un sistema de tratamiento para aguas residuales de una Empresa Florícola,” 2005, Accessed: Aug. 18, 2021. [Online]. Available: <http://localhost:8080/xmlui/handle/123456789/335>.
- [94] Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, “Cadena Láctea,” Colombia, 2018. Accessed: Aug. 20, 2021. [Online]. Available: [https://sioc.minagricultura.gov.co/SICLA/Documentos/2019-03-30 Cifras Sectoriales.pdf](https://sioc.minagricultura.gov.co/SICLA/Documentos/2019-03-30%20Cifras%20Sectoriales.pdf).
- [95] D. F. Tirado Armesto, L. A. Gallo García, D. Acevedo Correa, and J. A. Mouthon Bello, “Biotratamientos de aguas residuales en la industria láctea,” *Prod. + Limpia*, vol. 11, no. 1, pp. 171–184, 2016, doi: 10.22507/PML.V11N1A16.
- [96] A. J. Andraes, “Los Vertidos Del Sector Lácteo,” Tesis Master. Escuela Organización Industrial, Sevilla, España, 2008.
- [97] L. Gandarillas, T. Sánchez Moya, and R. Viedma Serrano, “Estación depuradora de aguas residuales de una industria láctea,” 2009. [Online]. Available: <https://acortar.link/Mjqi7X>.
- [98] T. Handayani, A. Mulyanto, E. Priyanto, and R. Nugroho, “Utilization of Dairy Industry

- Wastewater for Nutrition of Microalgae *Chlorella vulgaris*,” *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1655, p. 12123, 2020, doi: 10.1088/1742-6596/1655/1/012123.
- [99] P. Chawla, A. Malik, T. R. Sreekrishnan, V. Dalvi, and D. Gola, “Selection of optimum combination via comprehensive comparison of multiple algal cultures for treatment of diverse wastewaters,” *Environ. Technol. Innov.*, vol. 18, p. 100758, 2020, doi: 10.1016/j.eti.2020.100758.
- [100] C. Liu, S. Subashchandrabose, H. Ming, B. Xiao, R. Naidu, and M. Megharaj, “Phycoremediation of dairy and winery wastewater using *Diplosphaera* sp. MM1,” *J Appl Phycol*, 2016, doi: 10.1007/s10811-016-0894-4.
- [101] M. Khalaji *et al.*, “Treatment of dairy wastewater by microalgae *Chlorella vulgaris* for biofuels production,” *Biomass Convers. Biorefinery 2021*, pp. 1–7, Feb. 2021, doi: 10.1007/S13399-021-01287-2.
- [102] G. Toskano, “El Proceso de Análisis Jerárquico (AHP) como Herramienta para la Toma de Decisiones en la Selección de proveedores.,” 2005. available: https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/basic/toskano_hg/toskano_hg.pdf (accessed Aug. 18, 2021).
- [103] A. Shahnazari, M. Rafiee, A. Rohani, B. Bhushan Nagar, M. A. Ebrahimnik, and M. H. Aghkhani, “Identification of effective factors to select energy recovery technologies from municipal solid waste using multi-criteria decision making (MCDM): A review of thermochemical technologies,” *Sustain. Energy Technol. Assessments*, vol. 40, no. May, 2020, doi: 10.1016/j.seta.2020.100737.
- [104] D. Rivera, G. Estrada, M. Obando, R. Bonilla, and M. Camelo, “Efecto de diferentes plaguicidas sobre el crecimiento de *Azotobacter chroococcum*,” *Rev. Colomb. Biotecnol.*, vol. 12, no. 1, pp. 94–102, Jan. 2010, Accessed: Dec. 03, 2021. [Online]. Available: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/15566>.
- [105] J. Armijo, H. Azogue, ; Santiago Barragán, and ; Alexander Freire, “Biotreatment of wastewater in the dairy industry,” *J. Agro-Industry Sci.*, vol. 2, no. 1, pp. 21–26, 2021, [Online]. Available: <https://www.redunia.org/revista/index.php/reduniaDOI:http://dx.doi.org/10.17268/JAIS.2021.003Recibido:12/01/>.
- [106] N. M. Streit *et al.*, “Pigment production by *Aphanothece* microscópica *Nageli* from dairy

- industrial waste,” *Ingeniare. Rev. Chil. Ing.*, vol. 25, no. 2, pp. 350–358, 2017, doi: 10.4067/S0718-33052017000200350.
- [107] T. Saaty, *The analytic hierarchy process: Planning, priority setting, resource allocation: Thomas L. SAATY McGraw-Hill, New York, 1980, xiii*, vol. 9, no. 1. New York: McGraw-Hill, 1988.
- [108] G. Goel, C. Hélix-Nielsen, H. M. Upadhyaya, and S. Goel, “A bibliometric study on biomimetic and bioinspired membranes for water filtration,” *npj Clean Water* 2021 41, vol. 4, no. 1, pp. 1–12, Jul. 2021, doi: 10.1038/s41545-021-00131-4.
- [109] C. Granados-León, “Bibliometría: Una tendencia en la investigación en marketing.,” *Work. Pap. Maest. en Gerenc. Estratégica Mercadeo*, vol. 1, no. 4, 2020, doi: 10.15765/wpmgem.v1i4.1475.
- [110] K. Saikia, M. Vallès, A. Fabregat, R. Saez, and D. Boer, “A bibliometric analysis of trends in solar cooling technology,” *Sol. Energy*, vol. 199, pp. 100–114, Mar. 2020, doi: 10.1016/J.SOLENER.2020.02.013.
- [111] Bibliometrix, “Bibliometrix R Package.” available: <https://www.bibliometrix.org/index.html> (accessed Aug. 25, 2021).
- [112] D. Camps, “Limitaciones de los indicadores bibliométricos en la evaluación de la actividad científica biomédica,” *Colomb. Med.*, vol. 39, no. 1, pp. 74–79, 2008, [Online]. Available: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95342008000100009.
- [113] Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, “Lo que debes saber sobre las lámparas de desinfección UV,” 2020. <https://www.invima.gov.co/lo-que-debes-saber-sobre-las-lamparas-de-desinfeccion-uv> (accessed Dec. 03, 2021).
- [114] Servicio de prevención de Valencia, “Normas de higiene y seguridad en el uso de lámparas de radiación ultravioleta,” 2004. .
- [115] F. Lopez and R. Rojas, “Diseño y montaje de un fotobiorreactor a escala laboratorio para la producción de microalgas,” Tesis pre. Facultad de Ingenierías, Universidad Distrital de Santander, Bucaramanga, Colombia, 2010.
- [116] Y. Montero *et al.*, “Productividad de lípidos y composición de ácidos grasos de cinco especies de microalgas,” *Investig. y Saberes*, vol. 1, no. 2, pp. 37–43, 2012, Accessed: Sep. 09, 2021. [Online]. Available: <https://es.scribd.com/document/234469420/2012-Yatali-Publicacion-Algas>.

- [117] P. Rodríguez *et al.*, “Obtención de biomasa de microalga *Chlorella vulgaris* en un banco de prueba de fotobiorreactores de columna de burbujeo,” *Afinidad*, vol. 73, no. 574, pp. 125–129, 2016, [Online]. Available: <https://raco.cat/index.php/afinidad/article/view/312011>.
- [118] G. Pagliano *et al.*, “Polyhydroxyalkanoates (PHAs) from dairy wastewater effluent: bacterial accumulation, structural characterization and physical properties,” *Chem. Biol. Technol. Agric.*, vol. 7, no. 1, pp. 1–14, 2020, doi: 10.1186/s40538-020-00197-1.
- [119] T. K. Khan, I. Ul Haq, A. Nawaz, and H. Mukhtar, “Production and characterization of polyhydroxyalkanoates (Phas) produced from *Bacillus cereus* mul-a isolated from a biogas digester,” *Pakistan J. Bot.*, vol. 52, no. 6, pp. 2175–2182, 2020, doi: 10.30848/PJB2020-6(20).
- [120] G. García, J. E. Sosa-Hernández, L. I. Rodas-Zuluaga, C. Castillo-Zacarías, H. Iqbal, and R. Parra-Saldívar, “Accumulation of pha in the microalgae *Scenedesmus* sp. Under nutrient-deficient conditions,” *Polymers (Basel)*, vol. 13, no. 1, pp. 1–23, 2021, doi: 10.3390/polym13010131.
- [121] S. Y. Lee, “Bacterial Polyhydroxyalkanoates,” *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 49, pp. 1–14, 1996, doi: 10.1002/(SICI)1097-0290(19960105)49:1<1::AID-BIT1>3.0.CO;2-P.
- [122] P. Tyagi and A. Sharma, “Utilization of crude paper industry effluent for Polyhydroxyalkanoate (PHA) production,” *Environ. Technol. Innov.*, vol. 23, p. 101692, 2021, doi: 10.1016/j.eti.2021.101692.
- [123] K. Roja, D. Ruben Sudhakar, S. Anto, and T. Mathimani, “Extraction and characterization of polyhydroxyalkanoates from marine green alga and cyanobacteria,” *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, vol. 22, p. 101358, 2019, doi: 10.1016/j.bcab.2019.101358.
- [124] M. A. Zeller, R. Hunt, A. Jones, and S. Sharma, “Bioplastics and their Thermoplastic Blends from *Spirulina* and *Chlorella* Microalgae,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 000, pp. 0–000, 2013, doi: 10.1002/app.39559.
- [125] T. Lemaire *et al.*, “Study of Mechanical Properties of PHBHV/Miscanthus Green Composites Using Combined Experimental and Micromechanical Approaches,” 2021, doi: 10.3390/polym13162650.
- [126] A. M. Khattab, M. E. Esmael, A. A. Farrag, and M. I. A. Ibrahim, “Structural assessment of the bioplastic (poly-3-hydroxybutyrate) produced by *Bacillus flexus* Azu-A2 through cheese whey valorization,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 190, no. August, pp. 319–332, 2021,

- doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.08.090.
- [127] C. J. López Rocha, E. Álvarez-Castillo, M. R. Estrada Yáñez, C. Bengoechea, A. Guerrero, and M. T. Orta Ledesma, “Development of bioplastics from a microalgae consortium from wastewater,” *J. Environ. Manage.*, vol. 263, no. February, 2020, doi: 10.1016/j.jenvman.2020.110353.
- [128] R. M. González-Balderas, M. Felix, C. Bengoechea, A. Guerrero, and M. T. Orta Ledesma, “Influence of mold temperature on the properties of wastewater-grown microalgae-based plastics processed by injection molding,” *Algal Res.*, vol. 51, no. April, p. 102055, 2020, doi: 10.1016/j.algal.2020.102055.
- [129] R. M. Quiroga, “Metodología para la caracterización termo-mecánica de películas plásticas biodegradables,” *Prospectiva*, vol. 9, no. 1, pp. 46–51, 2011, [Online]. Available: <https://acortar.link/sT3zry>.
- [130] “The Definitive Guide to ASTM D882 - Tensile Testing of Thin Plastic Film - Instron.” <https://www.instron.com/en/testing-solutions/by-test-type/tension/astm-d882?region=Global Site&lang=en> (accessed Sep. 22, 2021).
- [131] A. O. Pérez-Arauz *et al.*, “Production and characterization of biodegradable films of a novel polyhydroxyalkanoate (PHA) synthesized from peanut oil,” *Food Packag. Shelf Life*, vol. 20, p. 100297, Jun. 2019, doi: 10.1016/J.FPSL.2019.01.001.
- [132] E. L. Sánchez Safont, “Desarrollo y caracterización de compuestos biodegradables basados en polihidroxialcanoatos y fibras lignocelulósicas para aplicaciones de un solo uso,” Tesis doctoral. Universitat Jaume I, Castellón de la Plana, España, 2018.
- [133] RespirTek, “Biodegradability Testing,” 2017. available: https://www.respirtek.com/biodegradability-testing/?gclid=Cj0KCQjwqKuKBhCxARIsACf4XuH0d9tS7FpAxeE2vVYiJgGdWbEBIzvg0Auyf4k8TVEpI09ivMNnANoaAks6EALw_wcB (accessed Sep. 22, 2021).
- [134] A. Shrivastav, S. K. Mishra, and S. Mishra, “Polyhydroxyalkanoate (PHA) synthesis by *Spirulina subsalsa* from Gujarat coast of India,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 46, no. 2, pp. 255–260, 2010, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2010.01.001.
- [135] N. Arraño, “Desarrollo de una Estrategia de Operación en Cultivo por Lote Alimentado de *Pichia pastoris* para la Producción de Lipasa Recombinante,” Tesis pre. Facultad de Ingeniería, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile, 2015.

- [136] N. Rodríguez, “Evaluación de una planta de tratamiento de aguas residuales de una industria láctea,” Tesis maestría, Instituto Politécnico Nacional, Victoria de Durango, México, 2010.
- [137] M. Bless and G. Conteri, “Simulación computacional del crecimiento de microalgas en un fotobiorreactor,” Tesis pre. Facultad de Ingeniería, Universidad Argentina de la Empresa, Buenos Aires, Argentina, 2016.
- [138] Indura, “Especificación de gases,” 2000. [Online]. Available: [http://www.cryogas.com.co/content/storage/ar/producto/ID4379_file_956_dioxido de carbono_ficha_tecnica.pdf](http://www.cryogas.com.co/content/storage/ar/producto/ID4379_file_956_dioxido_de_carbono_ficha_tecnica.pdf).
- [139] “China Professional Manufacture 8 Inch 8040 Water Filter Membrane Housing - Buy Housing Membrane Filters Housing,8 Inch Membrane Housing,8040 Water Filter Membrane Housing Product on Alibaba.com.” https://www.alibaba.com/product-detail/Filter-Membrane-China-Professional-Manufacture-8_1600276008466.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_image.71604dccchx1OL&s=p (accessed Sep. 30, 2021).
- [140] Biolight Tecnologías, “Ficha Técnica WUV- 75HO,” Santiago - Puerto Montt, 2021.
- [141] “Advantages Of Conical Fermenter Type Of Bioreactors Photobioreactor - Buy Photobioreactor,Type Of Bioreactors,Advantages Of Conical Fermenter Product on Alibaba.com.” https://www.alibaba.com/product-detail/advantages-of-conical-fermenter-type-of_1600370262769.html?spm=a2700.7724857.normal_offer.d_image.13d96a4emvMVa0 (accessed Nov. 05, 2021).
- [142] Grupo Zingal, “Tanque de lavado de frutas (300-500Kg).” available: <https://www.grupozingal.co/producto/tanque-de-lavado-de-frutas-300-500-kg/> (accessed Oct. 01, 2021).
- [143] “Máquina De Deshidratación Centrífuga Horizontal,Centrífuga Industrial De Alta Velocidad Para El Campo De Fermentación - Buy Industrial Fermentation Centrifuge,Horizontal Centrifugal Dewatering Machine,Industrial Centrifuge High Speed Product on Alibaba.com.” https://spanish.alibaba.com/product-detail/high-speed-horizontal-centrifugal-dewatering-machine-industrial-centrifuge-for-fermentation-field-1600278200135.html?spm=a2700.shop_plgr.41413.19.3f28115bPjQ1uW (accessed Oct. 01, 2021).

- [144] “Centrífuga Industrial Pequeña De 12 Pulgadas Para Líquido, Separación Sólida De Diferentes Materiales - Buy Small Industrial Centrifuge, Basket Centrifuge, Manual Discharge Centrifuge Product on Alibaba.com.” https://spanish.alibaba.com/product-detail/12-inch-small-industrial-centrifuge-for-liquid-solid-separation-of-different-materials-60690220959.html?spm=a2700.7724857.normal_offer.d_image.629b4a39URGzeN (accessed Oct. 01, 2021).
- [145] “Mezclador De Gel Líquido Para Alimentos, Acero Inoxidable, Chaqueta De Calor Frío, Tanque De Mezcla - Buy Soap Making Machine Electric Heating Tank, Perfume Dairy Chemical Food Granule Liquid Cosmetic Liquid With Suspended Solids Viscous Fluid Powder Oil Water Cream Beverage, Steam Heating Tank Agitator Emulsifying Homogenizer Dispensers High Shear Mixer Product on Alibaba.com.” https://spanish.alibaba.com/product-detail/food-grade-stainless-steel-food-liquid-gel-mixer-cool-heat-jacket-mixing-tank-62004307763.html?spm=a2700.galleryofferlist.topad_creative.d_title.de4b188cYp4AxE (accessed Oct. 01, 2021).
- [146] BINDER, “Modelo BD 115 | Estándar-Incubadoras a convección natural,” pp. 1–5, 2019.
- [147] “De Acero Inoxidable De Alta Calidad Alcohol Sedimentación/precipitación Tanque - Buy Stainless Steel Tank, Alcohol Sedimentation Tank, Alcohol Precipitation Tank Product on Alibaba.com.” https://spanish.alibaba.com/product-detail/high-quality-stainless-steel-alcohol-sedimentation-precipitation-tank-60763625132.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_title.1a452b49uM0msa (accessed Oct. 01, 2021).
- [148] “Evaporador/evaporador Industrial De Circulación Forjada, Fábrica De Shanghai Geling(shanghai) - Buy Evaporador Industrial, Double Effect Evaporator Evaporador Of Water Industry, Double Effect Evaporator Evaporador Of Water Industry Product on Alibaba.com.” https://spanish.alibaba.com/product-detail/shanghai-factory-geling-shanghai-forced-circulation-evaporator-evaporador-industrial-60281448766.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_image.4c7466eajj9H4z (accessed Oct. 01, 2021).
- [149] “Biolight Colombia - Expertos en desinfección UV - Ingeniería UVC.”

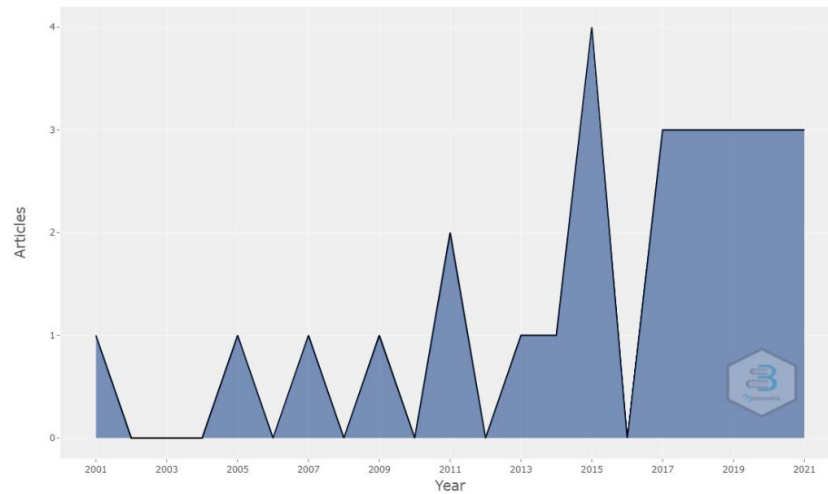
- <https://biouvc.com/co/> (accessed Nov. 06, 2021).
- [150] “Incubadora con convección natural serie BD de 115 litros de capacidad.” <https://www.binder-world.com/es/productos/estandar-incubadoras/serie-bd-avantgardeline/bd-115> (accessed Nov. 06, 2021).
- [151] “Federación Nacional de Biocombustibles de Colombia.” [https://www.fedebiocombustibles.com/estadistica-precios-titulo-Alcohol_Carburante_\(Etanol\).htm](https://www.fedebiocombustibles.com/estadistica-precios-titulo-Alcohol_Carburante_(Etanol).htm) (accessed Nov. 06, 2021).
- [152] “CAS 7681-52-9 | Sigma-Aldrich.” https://www.sigmaaldrich.com/CO/es/search/7681-52-9?focus=products&gclid=Cj0KCQjw5oiMBhDtARIsAJi0qk0E6P2xobh4Cfo6YDwW9Z1gEa3xEjm56hRCaZhdn4oZzvqCOaVbUFIAvGXEALw_wcB&page=1&perPage=30&sort=relevance&term=7681-52-9&type=cas_number (accessed Nov. 06, 2021).
- [153] Droguería El Barco Xativa, “Cloroformo Botella de 1 L,” 2020. Accessed: Nov. 06, 2021. [Online]. Available: <https://www.droguerielbarco.com/cloroformo-botella-de-1-l.html>.
- [154] “Alcohol Industrial (metanol) | MercadoLibre.” https://articulo.mercadolibre.com.mx/MLM-557698103-alcohol-industrial-metanol-_JM#position=5&search_layout=grid&type=item&tracking_id=08ae027f-3271-42d1-bed4-d8613b718e35 (accessed Nov. 06, 2021).
- [155] Nutre SAS, “Tienda - Nutre,” 2021. Accessed: Nov. 06, 2021. [Online]. Available: <https://nutre.com.co/tienda/>.
- [156] SendeCO2, “Precios CO2,” 2021. Accessed: Nov. 07, 2021. [Online]. Available: <https://www.sendeco2.com/es/precios-co2>.
- [157] “Asset Valuation (Equipment),” Accessed: Nov. 06, 2021. [Online]. Available: <http://www.fraziercapital.com/Chapter-9-Machinery&Equipment.pdf>.
- [158] Ingeniería del Mantenimiento, “El presupuesto anual de mantenimiento,” 2015. available: <http://ingenieriadelmantenimiento.com/index.php/26-articulos-destacados/10-el-presupuesto-de-mantenimiento> (accessed Nov. 06, 2021).
- [159] enel codensa, “tarifario-septiembre-2021.pdf.” 2021, [Online]. Available: <https://www.enel.com.co/content/dam/enel-co/español/personas/1-17-1/2021/tarifario-septiembre-2021.pdf>.
- [160] A. Flores, E. Idrogo, and C. Carreño, “Rendimiento de polihidroxialcanoatos (PHA) en microorganismos halófilos aislados de salinas,” *Rev. Peru. Biol.*, vol. 25, no. 2, pp. 153–

160, May 2018, doi: 10.15381/RPB.V25I2.14249.

ANEXOS

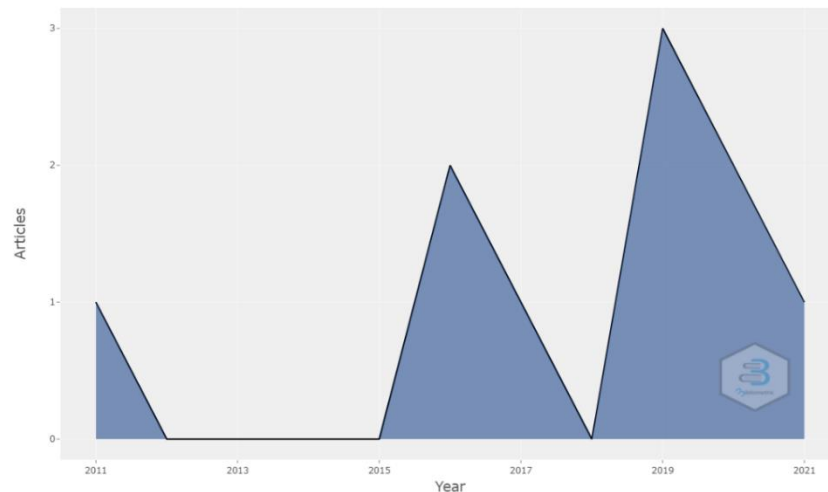
ANEXO 1. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA ANUAL

Producción científica anual de la ecuación “Bioplastic production” AND PHA



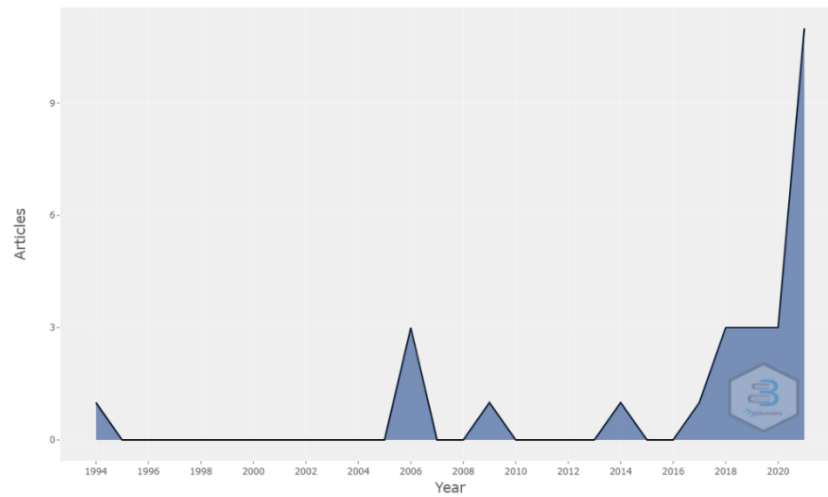
Nota. La figura muestra la producción de artículos generados cada año para la ecuación de búsqueda "Bioplastic production" AND PHA generado por el software Bibliometrix.

Producción científica anual de la ecuación Microalgae AND “Bioplastic production”



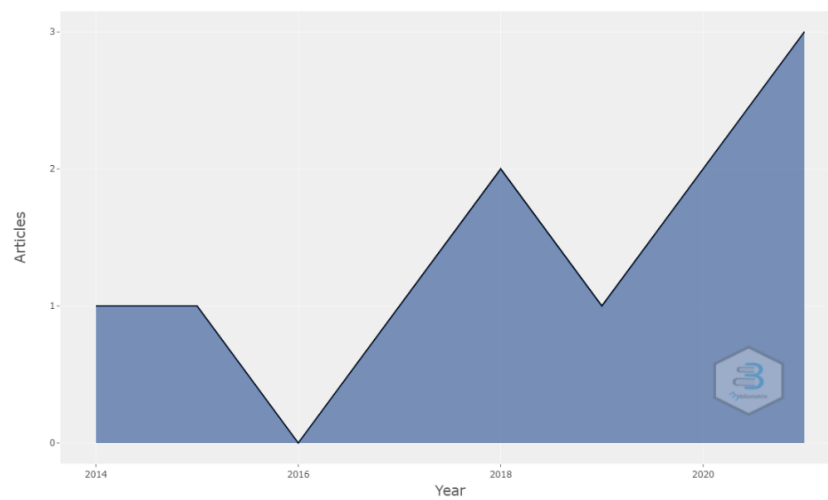
Nota. La figura muestra la producción de artículos generados cada año para la ecuación de búsqueda "Microalgae AND Bioplastic production" generado por el software Bibliometrix.

Producción científica anual de la ecuación Microalgae AND PHA



Nota. La figura muestra la producción de artículos generados cada año para la ecuación de búsqueda Microalgae AND PHA generado por el software Bibliometrix.

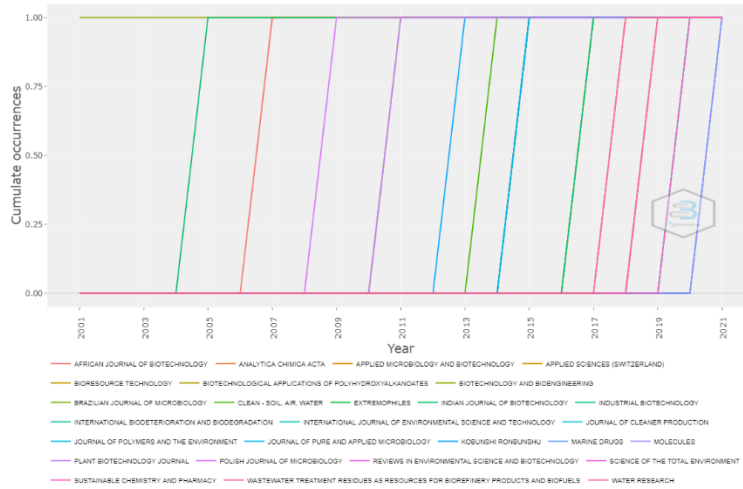
Producción científica anual de la ecuación Polyhydroxyalkanoate AND Chlorella



Nota. La figura muestra la producción de artículos generados cada año para la ecuación de búsqueda Polyhydroxyalkanoate AND Chlorella generado por el software Bibliometrix.

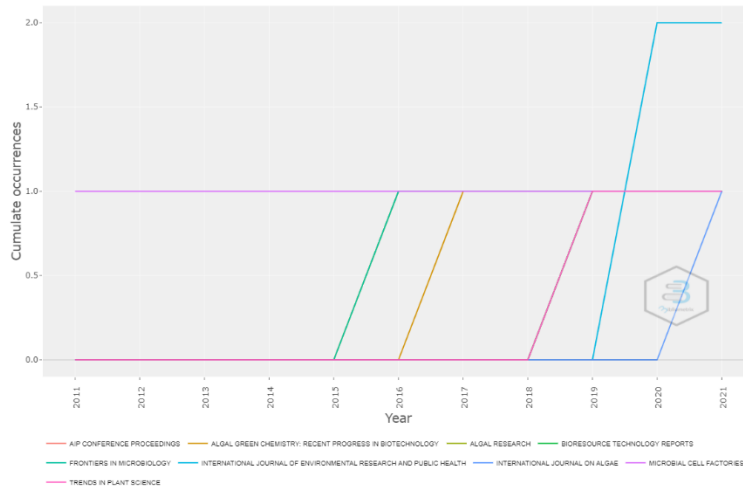
ANEXO 2. CRECIMIENTO DE LAS FUENTES

Crecimiento de las fuentes para la ecuación “Bioplastic production” AND PHA



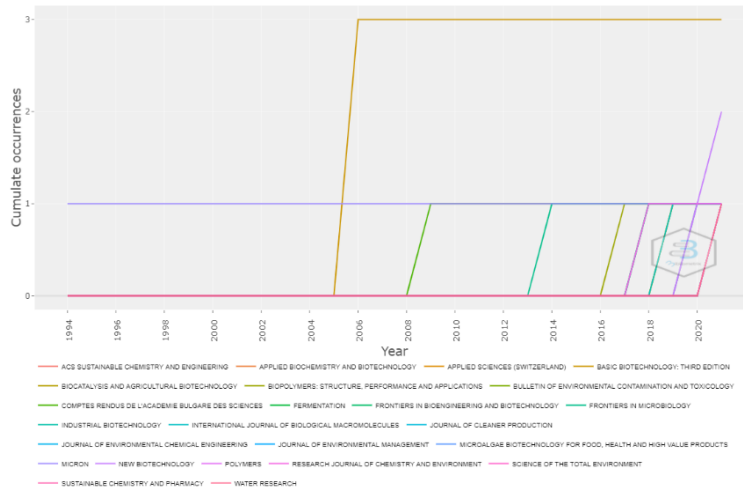
Nota. La figura muestra el crecimiento acumulativo de las cinco principales fuentes en cada año para la ecuación de búsqueda “Bioplastic production” AND PHA generado por el software Bibliometrix.

Crecimiento de las fuentes para la ecuación Microalgae AND “Bioplastic production”



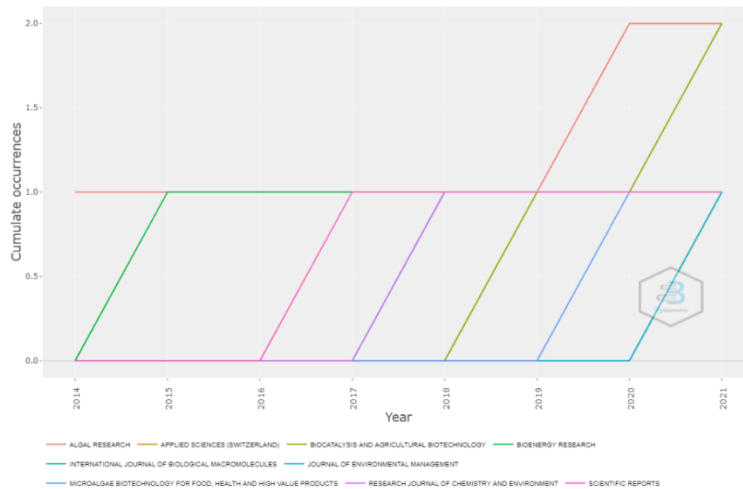
Nota. La figura muestra el crecimiento acumulativo de las cinco principales fuentes en cada año para la ecuación de búsqueda Microalgae AND “Bioplastic production” generado por el software Bibliometrix.

Crecimiento de las fuentes para la ecuación Microalgae AND PHA



Nota. La figura muestra el crecimiento acumulativo de las cinco principales fuentes en cada año para la ecuación de búsqueda Microalgae AND PHA generado por el software Bibliometrix.

Crecimiento de las fuentes para la ecuación Polyhydroxyalkanoate AND Chlorella



Nota. La figura muestra el crecimiento acumulativo de las cinco principales fuentes en cada año para la ecuación de búsqueda Polyhydroxyalkanoate AND Chlorella generado por el software Bibliometrix.

ANEXO 4. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA POR PAÍS

Países con mayor participación científica de la ecuación “Bioplastic production” AND PHA

| region | Freq |
|--------------|------|
| INDIA | 15 |
| SPAIN | 6 |
| USA | 6 |
| BRAZIL | 4 |
| SAUDI ARABIA | 4 |
| AUSTRALIA | 3 |
| CHINA | 3 |
| EGYPT | 3 |
| FINLAND | 3 |
| PAKISTAN | 3 |
| PORTUGAL | 3 |
| ESTONIA | 2 |
| JAPAN | 2 |
| NETHERLANDS | 2 |
| SOUTH KOREA | 2 |
| SWITZERLAND | 2 |
| UKRAINE | 2 |
| GERMANY | 1 |
| HUNGARY | 1 |
| OMAN | 1 |

Nota. La tabla muestra los principales resultados obtenidos para los países con mayor producción científica para la ecuación de búsqueda “Bioplastic production” AND PHA generado por el software Bibliometrix.

Países con mayor participación científica de la ecuación Microalgae AND “Bioplastic production”

| region | Freq |
|-------------|------|
| GERMANY | 6 |
| TURKEY | 4 |
| PORTUGAL | 3 |
| USA | 3 |
| AUSTRALIA | 2 |
| INDONESIA | 2 |
| NEW ZEALAND | 2 |
| BRAZIL | 1 |
| MALAYSIA | 1 |
| SWEDEN | 1 |

Nota. La tabla muestra los principales resultados obtenidos para los países con mayor producción científica para la ecuación de búsqueda Microalgae AND PHA generado por el software Bibliometrix.

Países con mayor participación científica de la ecuación Microalgae AND PHA

| region | Freq |
|-------------|------|
| BRAZIL | 9 |
| CHINA | 9 |
| INDIA | 9 |
| GERMANY | 6 |
| ITALY | 6 |
| SPAIN | 6 |
| USA | 5 |
| AUSTRIA | 2 |
| BULGARIA | 2 |
| BELGIUM | 1 |
| MALAYSIA | 1 |
| MEXICO | 1 |
| PORTUGAL | 1 |
| SOUTH KOREA | 1 |
| SWEDEN | 1 |
| UK | 1 |

Nota. La tabla muestra los principales resultados obtenidos para los países con mayor producción científica para la ecuación de búsqueda Microalgae AND PHA generado por el software Bibliometrix.

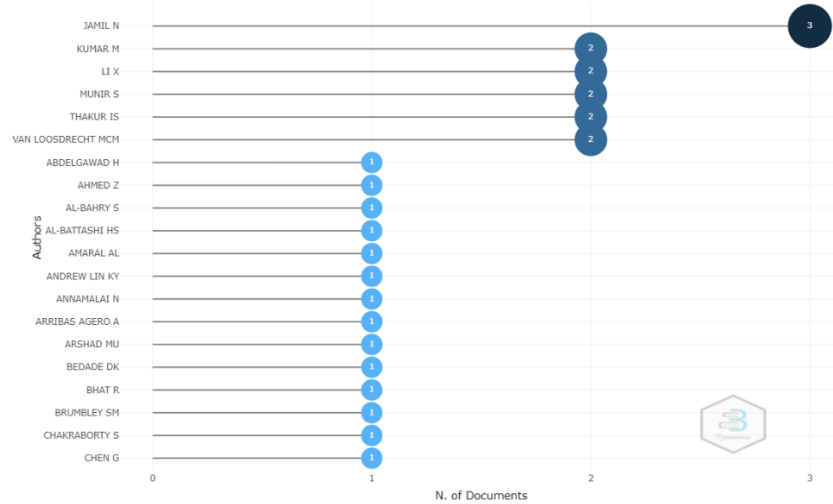
Países con mayor participación científica de la ecuación Polyhydroxyalkanoate AND Chlorella

| region | Freq |
|-------------|------|
| USA | 7 |
| BRAZIL | 5 |
| INDIA | 5 |
| CHINA | 3 |
| SOUTH KOREA | 3 |
| MALAYSIA | 1 |
| THAILAND | 1 |

Nota. La tabla muestra los principales resultados obtenidos para los países con mayor producción científica para la ecuación de búsqueda Polyhydroxyalkanoate AND Chlorella generado por el software Bibliometrix.

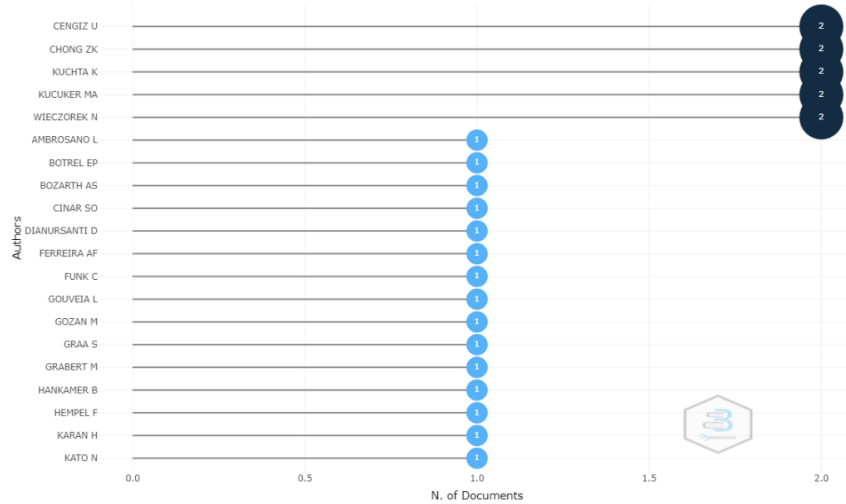
ANEXO 5. AUTORES MÁS RELEVANTES

Autores más relevantes para la ecuación “Bioplastic production” AND PHA



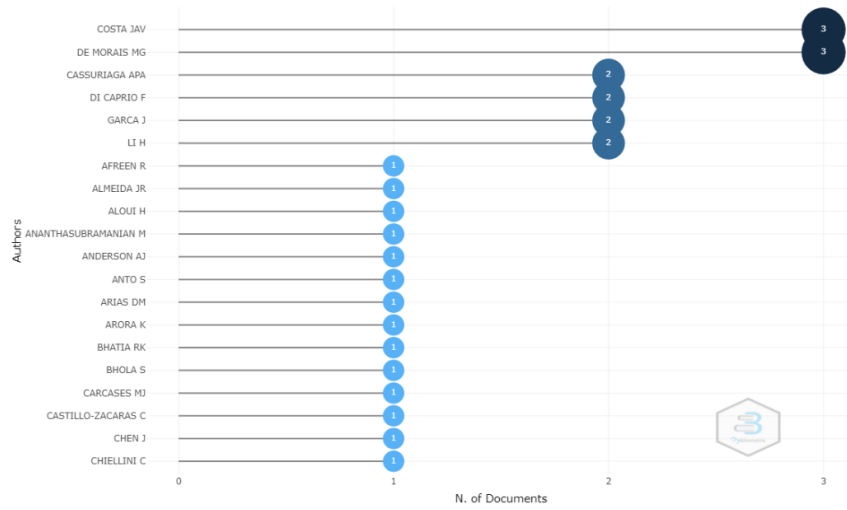
Nota. La figura muestra los principales autores de las diferentes publicaciones realizadas con la ecuación de búsqueda “Bioplastic production” AND PHA generado por el software Bibliometrix

Autores más relevantes para la ecuación Microalgae AND “Bioplastic production”



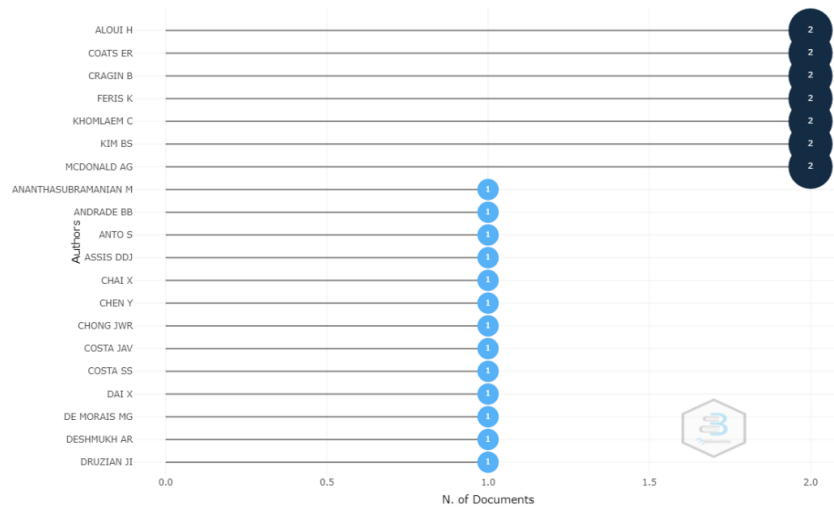
Nota. La figura muestra los principales autores de las diferentes publicaciones realizadas con la ecuación de búsqueda Microalgae AND “Bioplastic production” generado por el software Bibliometrix

Autores más relevantes para la ecuación Microalgae AND PHA



Nota. La figura muestra los principales autores de las diferentes publicaciones realizadas con la ecuación de búsqueda Microalgae AND PHA generado por el software Bibliometrix

Autores más relevantes para la ecuación Polyhydroxyalkanoate AND Chlorella

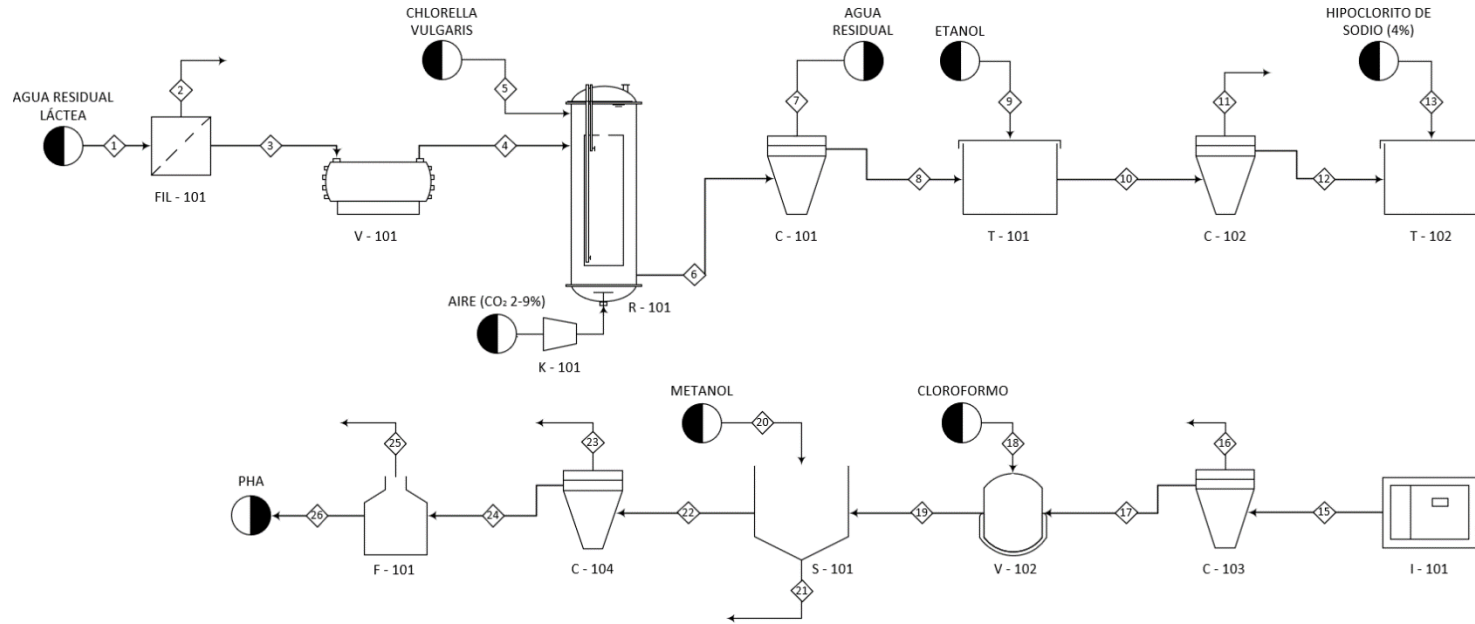


Nota. La figura muestra los principales autores de las diferentes publicaciones realizadas con la ecuación de búsqueda Polyhydroxyalkanoate AND Chlorella generado por el software Bibliometrix.

ANEXO 6.

DIAGRAMA DE FLUJO DE PROCESOS (PFD)

| | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------|
| FIL - 101 Filtro 25°C | V - 101 Cámara de desinfección 25°C 15 min | R - 101 Fotobiorreactor Airlift 25 - 30 °C 15 días | K - 101 Compresor 0,1 vvm | C - 101 Centrífuga 5.000 rpm 7 - 10 min | T - 101 Tanque de lavado | C - 102 Centrífuga 1.637 rpm 10°C 30 min | T - 102 Tanque de tratamiento con Hipoclorito de Sodio | I - 101 Incubadora 37°C 1 hora | C - 103 Centrífuga 1.637 rpm 10°C 30 min | V - 102 Recipiente de tratamiento con cloroformo caliente | S - 101 Sedimentador | C - 104 Centrífuga 6.000 rpm 30 min | F - 101 Evaporador 61,2°C |
|------------------------------------|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------|



| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 |
|------------------------|--------|-------|--------|--------|------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|------|-------|-------|------|-------|-------|-------|------|------|-------|-------|-------|------|-------|
| FLUJO (Kg/lote) | 220,07 | 20,42 | 199,65 | 199,65 | 6,00 | 427,39 | 163,68 | 263,71 | 87,90 | 351,61 | 300,00 | 51,61 | 5,14 | 56,75 | 56,75 | 8,08 | 48,67 | 10,00 | 58,67 | 7,88 | 1,74 | 64,81 | 21,72 | 43,09 | 9,15 | 33,94 |
| f_A (kg/lote) | 198,06 | 0,41 | 197,65 | 197,65 | 0,00 | 170,96 | 160,41 | 10,55 | 0,00 | 10,55 | 3,00 | 7,55 | 0,00 | 7,55 | 7,55 | 1,13 | 6,42 | 0,00 | 6,42 | 0,00 | 0,00 | 6,42 | 6,42 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| f_B (kg/lote) | 22,01 | 20,01 | 2,00 | 2,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| f_C (kg/lote) | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 6,00 | 256,43 | 3,27 | 253,16 | 0,00 | 253,16 | 215,19 | 37,97 | 0,00 | 37,97 | 37,97 | 0,55 | 37,42 | 0,00 | 37,42 | 0,00 | 1,74 | 35,68 | 1,74 | 33,94 | 0,00 | 33,94 |
| f_D (kg/lote) | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 87,90 | 87,90 | 81,00 | 6,09 | 0,00 | 6,09 | 6,09 | 1,94 | 4,15 | 0,00 | 4,15 | 0,00 | 0,00 | 4,15 | 4,15 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| f_E (kg/lote) | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 5,14 | 5,14 | 5,14 | 4,46 | 0,68 | 0,00 | 0,68 | 0,00 | 0,00 | 0,68 | 0,68 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| f_F (kg/lote) | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 10,00 | 10,00 | 0,00 | 0,00 | 10,00 | 0,85 | 9,15 | 9,15 | 0,00 |
| f_G (kg/lote) | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 7,88 | 0,00 | 7,88 | 7,88 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |

| | | | | | | | |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------|-------------------|---------------------------------|---------------|---------|
| TÍTULO | Diagrama de flujo de proceso (PFD) para la producción de un plástico biodegradable (PHA) por medio de la microalga <i>C. vulgaris</i> cultivada en agua residual láctea. | REVISIONES | | | | | |
| | | | | | | | |
| CONVENCIONES | A: Agua residual B: Sólidos C: Biomasa de <i>C. vulgaris</i> | D: Etanol E: Hipoclorito de sodio (4%) F: Cloroformo | G: Metanol | ESTUDIANTE | Diego Alexander Chavarro Rivero | CÓDIGO | 6171154 |
| | | | | ESTUDIANTE | Laura del Pilar Cuervo Parga | CÓDIGO | 6162919 |

ANEXO 7.
BALANCE DE MASA

| Corriente | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 |
|--------------------------------|--------|-------|--------|--------|------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|------|-------|-------|------|-------|-------|-------|------|------|-------|-------|-------|------|-------|
| FLUJO (kg/lote) | 220,07 | 20,42 | 199,65 | 199,65 | 6,00 | 427,39 | 163,68 | 263,71 | 87,90 | 351,61 | 300,00 | 51,61 | 5,14 | 56,75 | 56,75 | 8,08 | 48,67 | 10,00 | 58,67 | 7,88 | 1,74 | 64,81 | 21,72 | 43,09 | 9,15 | 33,94 |
| f_A (kg/lote) | 198,06 | 0,41 | 197,65 | 197,65 | 0,00 | 170,96 | 160,41 | 10,55 | 0,00 | 10,55 | 3,00 | 7,55 | 0,00 | 7,55 | 7,55 | 1,13 | 6,42 | 0,00 | 6,42 | 0,00 | 0,00 | 6,42 | 6,42 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| f_B (kg/lote) | 22,01 | 20,01 | 2,00 | 2,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| f_C (kg/lote) | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 6,00 | 256,43 | 3,27 | 253,16 | 0,00 | 253,16 | 215,19 | 37,97 | 0,00 | 37,97 | 37,97 | 0,55 | 37,42 | 0,00 | 37,42 | 0,00 | 1,74 | 35,68 | 1,74 | 33,94 | 0,00 | 33,94 |
| f_D (kg/lote) | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 87,90 | 87,90 | 81,00 | 6,09 | 0,00 | 6,09 | 6,09 | 1,94 | 4,15 | 0,00 | 4,15 | 0,00 | 0,00 | 4,15 | 4,15 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| f_E (kg/lote) | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 5,14 | 5,14 | 5,14 | 4,46 | 0,68 | 0,00 | 0,68 | 0,00 | 0,00 | 0,68 | 0,68 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| f_F (kg/lote) | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 10,00 | 10,00 | 0,00 | 0,00 | 10,00 | 0,85 | 9,15 | 9,15 | 0,00 |
| f_G (kg/lote) | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 7,88 | 0,00 | 7,88 | 7,88 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| X_A | 0,90 | 0,02 | 0,99 | 0,99 | 0,00 | 0,40 | 0,98 | 0,04 | 0,00 | 0,03 | 0,01 | 0,15 | 0,00 | 0,13 | 0,13 | 0,14 | 0,13 | 0,00 | 0,11 | 0,00 | 0,00 | 0,10 | 0,30 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| X_B | 0,10 | 0,98 | 0,01 | 0,01 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| X_C | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,00 | 0,60 | 0,02 | 0,96 | 0,00 | 0,72 | 0,72 | 0,74 | 0,00 | 0,67 | 0,67 | 0,07 | 0,77 | 0,00 | 0,64 | 0,00 | 1,00 | 0,55 | 0,08 | 0,79 | 0,00 | 1,00 |
| X_D | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,00 | 0,25 | 0,27 | 0,12 | 0,00 | 0,11 | 0,11 | 0,24 | 0,09 | 0,00 | 0,07 | 0,00 | 0,00 | 0,06 | 0,19 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| X_E | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,00 | 0,09 | 0,09 | 0,55 | 0,01 | 0,00 | 0,01 | 0,00 | 0,00 | 0,01 | 0,03 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| X_F | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,00 | 0,17 | 0,00 | 0,00 | 0,15 | 0,04 | 0,21 | 1,00 | 0,00 |
| X_G | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,00 | 0,00 | 0,12 | 0,36 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| TOTAL | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

Nota. La tabla representa el balance de materia para el proceso de producción de bioplástico (PHA) mediante la microalga *C. vulgaris* cultivada en aguas residuales lácteas con la composición de cada compuesto en cada corriente y sus respectivos flujos expresados en (kg/lote).

ANEXO 8.

RECOMENDACIONES

Si se desea incrementar la producción de PHA en la planta piloto, es recomendable la implementación de más fotobiorreactores dependiendo la necesidad.

Debido a que la cepa de microalga *C. vulgaris* es natural y no se modifica su especie, se recomienda tener un cultivo propio de esta o desarrollar una investigación con una cepa microalgal distinta, para disminuir costos relacionados a materia prima, ya que como se mencionó anteriormente, su valor es de 380.000 COP/L.

Teniendo en cuenta que durante el proceso se obtienen subproductos como los sobrenadantes de las centrifugas que contienen biomasa residual, como lo son lípidos, carbohidratos, metabolitos secundarios, proteínas, entre otros, se recomienda el aprovechamiento de estos para la elaboración de compostaje o biodiesel.

Con el objetivo de reducir costos y mejorar ambientalmente el proceso, se recomienda la recuperación y recirculación del cloroformo evaporado, mediante la implementación de un condensador que le permita reintegrarse al sistema.

Desarrollar un proceso que involucre solventes menos contaminantes y más económicos para la producción de PHA, manteniendo altos estándares de pureza.

Para mejorar las propiedades mecánicas y térmicas del PHA, dependiendo de la aplicación en el que se desee implementar, es recomendable realizar mezclas poliméricas a base de PHA con polímeros como polietileno y polipropileno.

Con el fin de disminuir el riesgo generado en el proceso de desinfección UV para el personal de la planta, se recomienda evaluar la implementación de otros métodos para la eliminación de microorganismos que afecten el crecimiento de la microalga, ya sea por autoclave o una ultrafiltración mediante el uso de membranas.