

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFÍA

“ALBERTO CAZORLA TALLERI”



Diseño de un sistema de producción de concentrado de biomasa de microalgas marinas para la nutrición de organismos hidrobiológicos de interés comercial

**Trabajo de Suficiencia Profesional para optar el Título de
Licenciado en Biología**

Milagro del Rocío Abril Surichaqui

Lima, Perú

2022

Asesor:

Dr. Alexander Pérez Segovia

Revisores:

M. Sc. Luis Rossi Mayo

Dr. Pedro Tapia Ormeño

Tabla de contenido

RESUMEN	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. OBJETIVOS.....	4
3. ANTECEDENTES.....	5
4. JUSTIFICACIÓN.....	6
5. METODOLOGÍA	7
5.1. Diseño del sistema de producción de concentrado de microalgas	7
5.2. Propuesta de protocolo para la optimización de parámetros de operación del sistema de producción de concentrado de microalgas	10
6. RESULTADOS	11
6.1. Diseño del sistema de producción de concentrado de microalgas	11
6.1.1. Diseño del fotobiorreactor tubular	11
6.1.2. Diseño del sistema de concentración de microalgas.....	19
6.2. Protocolo para la optimización de parámetros de operación del sistema de producción de concentrado de microalgas.....	21
6.2.1. Optimización de condiciones fisicoquímicas ideales del fotobiorreactor.....	21
6.2.2. Optimización de las condiciones de floculación para la obtención de concentrado de biomasa de microalgas.....	23
6.3. Resultados esperados de la optimización de desempeño	25
6.3.1. Resultados esperados sobre el desempeño del fotobiorreactor tubular	25
6.3.2. Condiciones esperadas de procesos de concentración de microalgas.....	26
7. DISCUSIÓN.....	27
8. CONCLUSIONES	32
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
ANEXOS	38

RESUMEN

La microalgas marinas son un suministro nutricional indispensable para el cultivo de larvas de organismos hidrobiológicos de interés comercial. Los altos costos de instalación y mantenimiento de un laboratorio de microalgas es una limitante en el desarrollo rentable de hatcheries o larvarios. El presente proyecto propone un diseño de un sistema de producción de concentrado de microalgas adaptado a las especies *Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros calcitrans*, utilizadas ampliamente en acuicultura. El diseño se divide en dos fases: sistema de cultivo y sistema de concentración. Para el primer caso se propone el desarrollo de un fotobiorreactor tubular de forma semi-empírica para lo que se hace uso de información obtenida en ensayos preliminares, información bibliográfica y ecuaciones de diseño en base a modelos propuestos en literatura científica. Se definieron parámetros de diseño como diámetro de tuberías y altura de la columna del tanque de desgasificación, así como parámetros de operación como la tasa de dilución y flujo de dióxido de carbono para cada especie de microalga indicada. Para el diseño del sistema de concentración se propuso una estructura de sedimentador que se utiliza por lotes y el uso del floculante LT25 usado anteriormente en desarrollo de concentrado de microalgas. Se identificaron las dimensiones tomando en cuenta la biomasa estimada por volumen de cultivo y datos recogidos en bibliografía en relación al volumen del flóculo esperado. Se proponen a continuación dos protocolos que incluyen prácticas para llevar a cabo la optimización de los parámetros de operación de los diferentes sistemas, así como los resultados esperados de estos procesos para lo que se hace uso de revisión bibliográfica de ensayos previos similares. Finalmente, con esta propuesta tecnológica se busca promover el desarrollo de concentrados de microalgas a nivel nacional de forma que beneficie a la industria acuícola marina.

Palabras clave: microalgas, acuicultura, fotobiorreactores.

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura de organismos hidrobiológicos es actualmente una de las actividades prioritarias para el país, representando para los últimos años un 24.9% del PBI de pesca y acuicultura total (PRODUCE, 2020a). Asimismo, datos del 2019 muestran que las exportaciones organismos cultivados en ambientes marinos (Ej. concha de abanico, langostinos, etc.) alcanzaron valores de casi 360 millones de dólares (PRODUCE, 2020b), lo cual demuestra ser una actividad de gran importancia económica para el Perú.

Según estudios de la cadena de valor de los principales organismos hidrobiológicos de importancia comercial de ambientes marinos, existen algunos problemas que involucran la falta de trazabilidad. Con esto, se entiende que existe una baja capacidad de controlar cada uno de los procesos acuícolas, desde la adquisición de larvas y semillas hasta la producción, consumo y eliminación de desechos, suponiendo así un gran riesgo a nivel sanitario (SANIPES, 2020). Por ejemplo, en el caso de conchas de abanico (*Argopecten purpuratus*), uno de los principales problemas es la alta dependencia que presentan estos organismos a su hábitat natural durante su etapa larvaria (Mendo et al. 2016). Debido a esto solo un pequeño porcentaje de productores recurren a larvarios o “*hatcheries*” para obtener semillas o larvas, mientras, la gran mayoría depende del uso de bancos naturales (Sánchez, 2017; Mendo et al. 2020). Lamentablemente estos bancos naturales no están disponibles todo el año, ya que se ven impactados rápidamente ante cambios de temperatura del mar y ante eventos climatológicos extremos (Ej. Fenómeno de El Niño) (Mendo et al. 2003; Mendo et al. 2016). Por otro lado, en el caso de langostinos (*Litopenaeus vannamei*) el desarrollo de larvarios en el Perú es prácticamente inexistente (Del Carpio, 2020), por lo que los productores deben importar las post-larvas creando una alta dependencia al mercado extranjero y un alto riesgo a la transmisión de enfermedades virales (Ej. virus del síndrome de la mancha blanca) (Guevara et al. 2012; Pretell-Monzón et al. 2020).

Una de las limitaciones más importantes que frenan la producción rentable y sostenible de larvas y semillas en *hatcheries*, es el alto costo que presenta la producción de biomasa de microalgas marinas, suministro nutricional indispensable de estas larvas (Sánchez, 2017; Oostlander et al, 2020). Por tanto, una solución a este problema sería contar con la capacidad de producción de biomasa concentrada de microalgas para generar este suministro, la cual hasta la fecha no se ha desarrollado eficientemente en el mercado nacional. Esto debido a la existencia de algunas brechas tecnológicas como el limitado desarrollo en diseño de fotobiorreactores y la limitada disposición de sistemas de concentración de biomasa a gran escala.

En este proyecto se propone el diseño de un sistema de producción para la obtención de biomasa concentrada de microalgas marinas, capaz de ser utilizada como suministro nutricional en cualquier tipo de larvario de organismos hidrobiológicos de interés comercial.

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Diseñar un sistema que produzca eficientemente concentrado biomasa de microalgas marinas (*Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros calcitrans*) mediante el uso de un fotobiorreactor y técnicas de floculación.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar el tipo de fotobiorreactor y la aproximación de diseño a usar para desarrollar un sistema de cultivo eficiente de microalgas a través del uso de algoritmos de diseño.
- Estimar los parámetros de diseño y operación ideales del fotobiorreactor para el cultivo eficiente de microalgas a través del uso de ecuaciones teóricas sobre hidrodinámica, distribución de luz y parámetros de crecimiento celular
- Determinar un protocolo de prácticas necesarias para la optimización de los parámetros de operación y condiciones fisicoquímicas ideales del fotobiorreactor propuesto mediante la aplicación de diseños factoriales experimentales que permitan la obtención de máxima productividad por volumen de cultivo.
- Determinar un protocolo de prácticas necesarias para la selección de las mejores condiciones de floculación para la obtención de concentrado de biomasa de microalgas mediante la aplicación de diseños factoriales que permitan la obtención de un máximo porcentaje de recuperación.

3. ANTECEDENTES

El cultivo de microalgas marinas utilizando fotobiorreactores se ha reportado para diferentes especies con resultados importantes en productividad: para la producción de *Nannochloropsis sp.*, utilizando paneles planos (Cheng-Wu et al. 2001), para *Phaeodactylum tricornutum*, utilizando columnas tipo airlifts (Acién-Fernandez et al., 2001; Molina et al. 2001), *Chaetoceros calcitrans* utilizando también columnas tipo airlifts (Krichnavaruk et al. 2005) y para cultivo de *Isochrysis galbana* utilizando un fotobiorreactor cerrado semicontinuo (Niu et al. 2013).

Por otro lado, el uso de biomasa concentrada de microalgas para cultivo de organismos hidrobiológicos es una práctica que está teniendo éxito en diferentes países alrededor del mundo (Hair et al., 2011; Haesman et al. 2000; Yang et al., 2011). Siendo este producto obtenido mediante el uso de diferentes tecnologías que incluyen técnicas de centrifugación, floculación, filtración, entre otras (Borowitzka, 1999; Parwadani, 2011).

Por ejemplo, se ha reportado el éxito del cultivo del organismo *Holothuria scabra*, utilizando concentrado biomasa de microalgas (Hair et al., 2011). Esta experiencia involucró el uso de biomasa de microalgas marinas concentrada comercial *InstantAlgae*® hecha en base a diversos organismos (ej. *Pavlova lutheri*, *Isochrysis sp.*, *Tetraselmis sp.*, *Pavlova lutheri* y *Thalassiosira weissflogii*). Por otro lado, Haesman et al. (2000) también reportan el éxito del cultivo de diferentes bivalvos utilizando biomasa de microalgas de alta concentración. La experiencia involucró el uso de biomasa concentrada de diversas especies (ej. *Pavlova lutheri*, *Isochrysis*, *Chaetoceros sp.*, *Skeletonema costatum*, etc.), utilizando procesos de floculación, coagulación y centrifugación para su obtención. Knuckey et al. (2006) hicieron lo propio utilizando biomasa concentrada de microalga *Chaetoceros muelleri* obtenida a través de floculación para alimentación de *Crassostea gigas* y *Pecten fumatus*. Asimismo, también se comprobó la eficacia de biomasa concentrada para cultivo de larvas de ostra perlera, *Pteria penguin* (Southgate et al. 2016; Wassnig et al. 2016).

4. JUSTIFICACIÓN

El suministro de microalgas es fundamental en la producción de larvas y juveniles de una gran diversidad de organismos hidrobiológicos debido a su alta calidad nutricional ya que no existe aún en el mercado otras dietas que puedan servir de suplemento (Brown *et al.*, 1994; Helm *et al.*, 2006). Si bien, las microalgas se encuentran en el agua de mar de forma natural, la cantidad es insuficiente para garantizar el crecimiento de grandes densidades de organismos hidrobiológicos que se cultivan en los larvarios (Helm *et al.*, 2006; Singh *et al.* 2015). Es por eso que, a nivel mundial, el cultivo en condiciones especiales *in situ* o la compra de suministros como biomasa concentrada de microalgas es esencial para el éxito de una acuicultura eficiente ya que permiten una disponibilidad importante de este suministro (Catarina *et al.*, 2012; Becker, 2004).

En el Perú no existen laboratorios o empresas capaces de producir biomasa concentrada de microalgas, es por ello que los larvarios requieren llevar a cabo la producción de microalgas *in situ*, lo que representa un alto costo de inversión. Además, el mantenimiento de este tipo de laboratorios involucra un costo fijo muy alto, estimándose en hasta un 40% del costo de producción de microalgas total para el caso de cultivo de bivalvos (Borowitzka *et al.* 1999; Helm *et al.*, 2006).

Por otro lado, algunas investigaciones en el Perú han descrito que, incluso con el funcionamiento de un laboratorio de producción de microalgas, los larvarios en el Perú no llegan a abastecer su demanda (Mendo *et al.* 2020). Esto probablemente debido al uso de tecnología poco eficiente para la productividad de algas y a la falta de técnicas para el almacenamiento de las mismas. Actualmente no se han implementado formas de producir eficientemente biomasa concentrada de microalgas, lo cual mejoraría significativamente la viabilidad y rentabilidad de la producción de larvas en la acuicultura (Oostlander *et al.* 2020).

En el Perú aún no existe un producto de biomasa concentrada de microalgas ya que la brecha tecnológica en el desarrollo de fotobiorreactores y en la aplicación de tecnologías de concentración es amplia. Sin embargo, con la aplicación de algunos tipos de fotobiorreactores como fotobiorreactores tubulares o fotobiorreactores con sistemas que incluyen *airlifts* sería posible obtener una alta productividad de microalgas de gran calidad nutricional (Contreras-Flores *et al.*, 2003; Ugwu *et al.*, 2008) y con procesos fisicoquímicos como floculación, sería posible obtener biomasa en alta concentración (Haesman *et al.* 2000; Knuckey *et al.* 2006).

5. METODOLOGÍA

5.1. Diseño del sistema de producción de concentrado de microalgas

El diseño de un sistema de producción ideal para obtener concentrado de microalgas, requiere de tres pasos fundamentales. El diseño del sistema de cultivo de microalgas, que involucra al fotobiorreactor, el diseño del sistema de concentración de microalgas y finalmente la identificación de prácticas que permitan la optimización del desempeño de ambos procesos.

Es por tanto que se pretende primero generar una propuesta general de la disposición de los recursos más importantes siendo este los tanques de alimentación, cosecha, el fotobiorreactor y el sedimentador. A continuación, se desarrollarán los diseños de estas unidades de procesamientos que deberán estar de acorde a la capacidad de producción estimada. Se debe tener en cuenta que el diseño que se escoja debe de ser posible de escalarse a grandes volúmenes de producción (de 1m^3 a 100m^3) de forma directa, es decir, haciendo uso de las mismas ecuaciones de diseño.

Finalmente, con los resultados obtenidos se seleccionan las características de los recursos necesarios para el funcionamiento del sistema de producción de concentrado de microalgas (volumen de tanques, volumen de sedimentador bombas peristálticas, aireador, equipos de iluminación, entre otros).

5.1.1. Diseño del fotobiorreactor

a) Elección del fotobiorreactor y aproximación de diseño

Para llevar a cabo el diseño del fotobiorreactor se propone en primer lugar un algoritmo para efectuar la elección del tipo de fotobiorreactor para un cultivo fotoautotrófico de microalgas (Figura 1). En el algoritmo propuesto no se considera tipos de fotobiorreactor que no sean posibles de ser escalables a grandes volúmenes como los diseños que incluyen fotobiorreactores de tanque agitados o tipo columnas *airlift*. Este tipo de diseños son excluidos debido a la baja razón de área-volumen que se genera en su escalamiento lo que limita la exposición de luz (Singh *et al.* 2012), de la misma forma no se incluyen disposiciones de alta complejidad en su escalamiento como las presentaciones helicoidales, o por ejemplo, *airlift* multitubulares (Sukacova *et al.* 2021). Asimismo, tampoco se incluyen sistemas de cultivo en *batch* o en lote debido a que a nivel de gran escala se prefiere disminuir el nivel de manejo y limpieza requerido de forma que se maximice el tiempo de uso activo de un sistema.

A continuación, se propone un algoritmo que permite definir el tipo de aproximación para el desarrollo de la propuesta de diseño del fotobiorreactor requerido (Figura 2). El algoritmo nos permite identificar el nivel de complejidad dependiendo de la eficiencia requerida y referente a la información teórica o experimental disponible para los objetivos propios del cultivo.

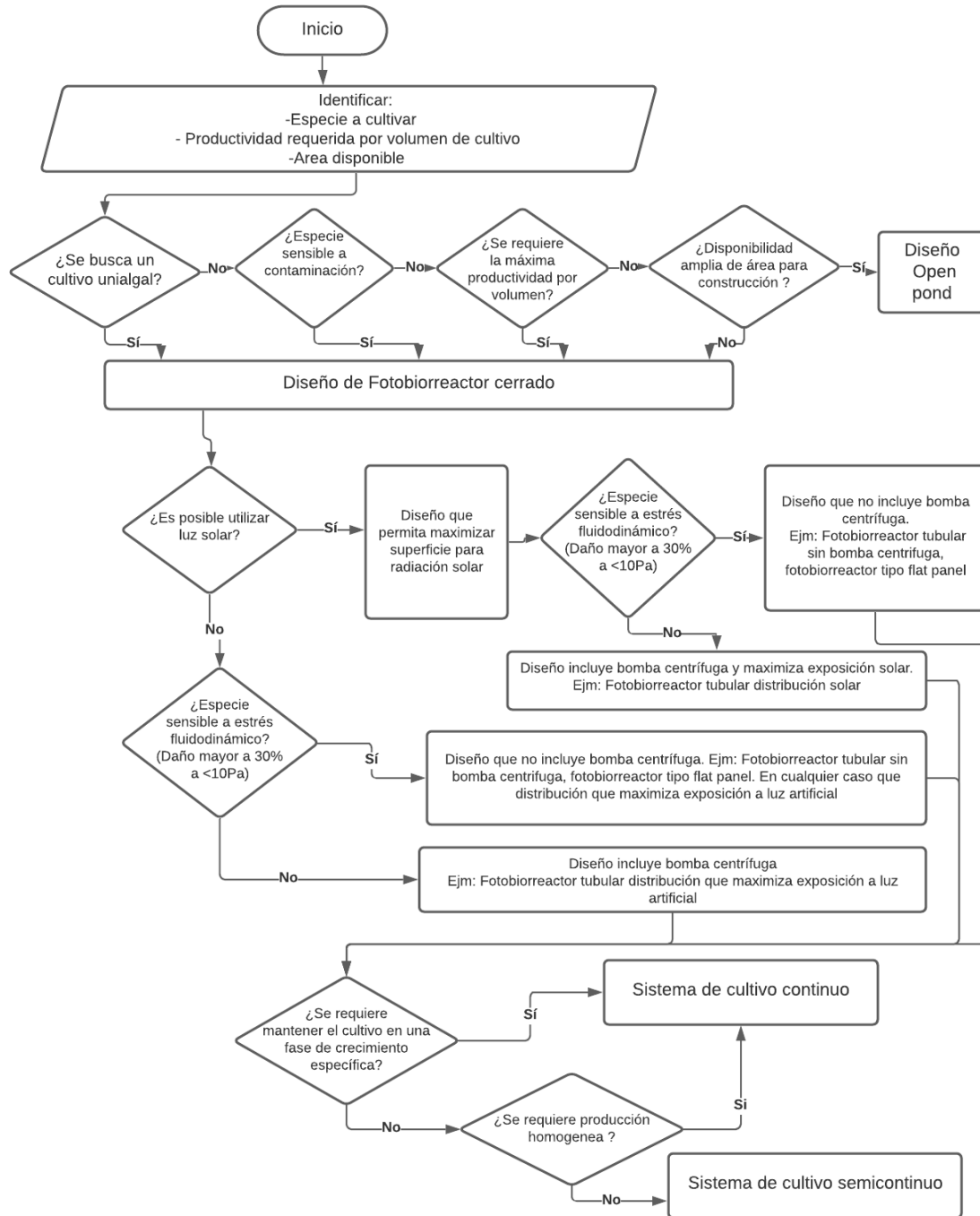


Figura 1. Algoritmo para identificar el tipo de fotobiorreactor a diseñar para el cultivo de organismos fotoautótrofos con posibilidad de ser escalado en forma dire

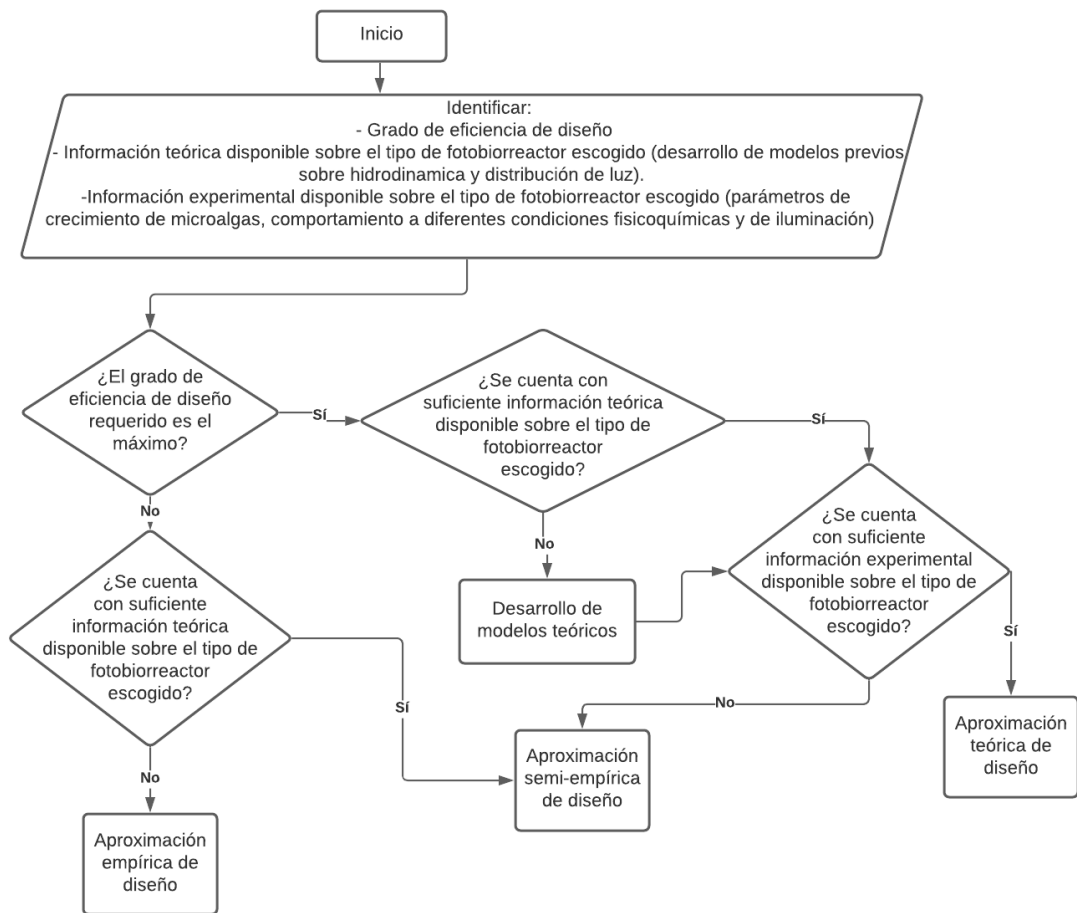


Figura 2. Algoritmo para identificar la aproximación de diseño del fotobiorreactor

b) Parámetros de diseño y operación del fotobiorreactor

Para la estimación de parámetros de diseño se hicieron uso de ecuaciones teóricas sobre hidrodinámica y distribución de luz desarrolladas para el modelo seleccionado, por su lado para llevar a cabo la estimación de los parámetros de operación ideales del fotobiorreactor, se hicieron uso de ecuaciones teóricas que tomaron en cuenta parámetros de crecimiento celular.

Para el desarrollo de los cálculos se hizo uso de información experimental sobre crecimiento de las microalgas a trabajar. La información experimental fue recolectada a partir de pruebas preliminares desarrolladas en las instalaciones de *Science Support S.A.C.*

Para las pruebas preliminares se obtuvieron cepas de microalgas marinas del banco de germoplasma de Instituto del mar del Perú (Imarpe – Callao). Las especies utilizadas fueron: *Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros calcitrans* y los cultivos fueron desarrollados en recipientes con volúmenes de 6 Litros usando como medio de cultivo el medio Guillard F/2 para *Isochrysis galbana* y *Nannochloropsis oculata*. Para el caso de *Chaetoceros calcitrans* se utilizó medio de cultivo el medio

Guillard F/2 y 0.4mM de metasilicato de sodio (Anexo 1). Las condiciones de cultivo fueron de temperatura de 20° C para todas las especies y las condiciones de luz fueron específicas para cada una de ellas (Anexo 2).

5.1.2. Diseño del sistema de concentración de microalgas

Para el diseño del sistema de concentración de microalgas se deberá tomar en cuenta la biomasa requerida de concentrado de microalgas y la concentración de biomasa máxima estimada por especie de microalgas. Con ello se hará la propuesta de un sistema que incluya un sedimentador que se use por lotes.

5.2.Propuesta de protocolo para la optimización de parámetros de operación del sistema de producción de concentrado de microalgas

5.2.1. Optimización de condiciones fisicoquímicas ideales del fotobiorreactor

Se propone se desarrollen las siguientes prácticas para lograr la optimización de parámetros de operación y condiciones fisicoquímicas ideales del fotobiorreactor tubular propuesto.

1. Tratamiento del inóculo para pruebas en fotobiorreactor
2. Determinación de productividad
3. Desarrollo del diseño factorial experimental para obtener la máxima productividad por volumen de cultivo.

5.2.2. Optimización de las condiciones de floculación para la obtención de concentrado de biomasa de microalgas

Se propone se desarrollen las siguientes prácticas para lograr la optimización de obtención de concentrado de biomasa de microalgas.

1. Desarrollo del diseño factorial experimental para obtener el máximo porcentaje de recuperación
2. Determinación de porcentaje de recuperación

6. RESULTADOS

6.1. Diseño del sistema de producción de concentrado de microalgas

Se propone la siguiente disposición de recursos más importantes para el sistema de producción de concentrado de microalgas (Figura 3), el que incluye un tanque de medio de cultivo que se conecta de forma continua al fotobiorreactor, que es donde se produce el cultivo de microalgas. A continuación, un tanque de cosecha conectado de forma continua al fotobiorreactor, el cual a su vez estará conectado a un sedimentador el que funcionará por lotes y en donde se realizará la dosificación de floculante. Finalmente se realizará el proceso de obtención del concentrado de microalgas que será retirado de la parte inferior del sedimentador.

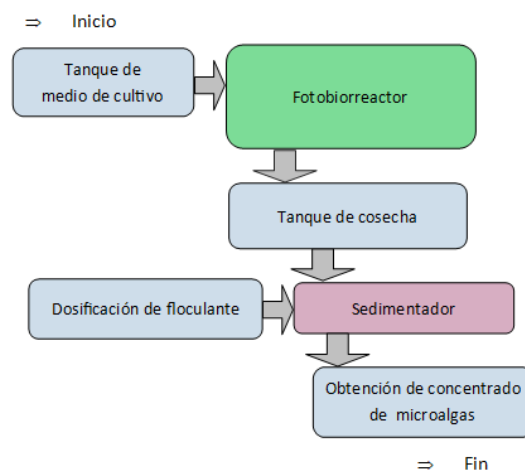


Figura 3. Disposición de unidades de procesamiento del sistema de producción de concentrado de microalgas

6.1.1. Diseño del fotobiorreactor tubular

a) Elección del fotobiorreactor y aproximación de diseño

A partir del algoritmo de selección del tipo de fotobiorreactor, se identifica el diseño de fotobiorreactor tubular sin uso de bomba centrífuga con disposición que maximiza el uso de luz artificial para el proceso de producción de cultivo de microalgas. Por otro lado, se identifica que la aproximación a utilizarse será semi-empírica. Se propondrá un diseño de fotobiorreactor a partir de un diseño teórico ya existente el que deberá ser ajustado a nivel empírico para la optimización de la operación de su funcionamiento.

Se toma por tanto como base el fotobiorreactor tubular propuesto por Molina *et al.* (2001) (Figura 4). Los procesos que se llevan a cabo dentro del fotobiorreactor fueron los siguientes: en primer lugar, el medio de cultivo y el inóculo ingresan a la altura del desgasificador. Este flujo de entrada es controlado por una bomba peristáltica. A continuación, el medio de cultivo y el inóculo se tornan parte del cultivo el cual es

transportado por acción del desgasificador hacia su sección final. Luego se impulsa el ingreso del cultivo a la sección tubular por la acción de la gravedad. La sección tubular consta de tubos transparentes que permitirán una gran superficie expuesta a la luz (Figura 4). El flujo llega al final de la sección tubular con una carga mayor de biomasa y de oxígeno gaseoso, por tanto, retorna al desgasificador. Con ayuda de otra bomba peristáltica, se retira continuamente cosecha luego de recorrer el desgasificador, antes de ingresar a la sección final de este. Se propone para la iluminación el uso de tipo led (Melnicki et al. 2013) para evitar el incremento de temperatura. Se propone también el uso de un flujómetro de dióxido de carbono para el monitoreo del flujo de ingreso de dióxido de carbono al sistema. Como longitud total del fotobiorreactor se propone 20 metros, el valor a calcular será el diámetro de tuberías. El esquema del desgasificador propuesto se indica en la Figura 5, siendo el valor a calcular la altura del mismo.

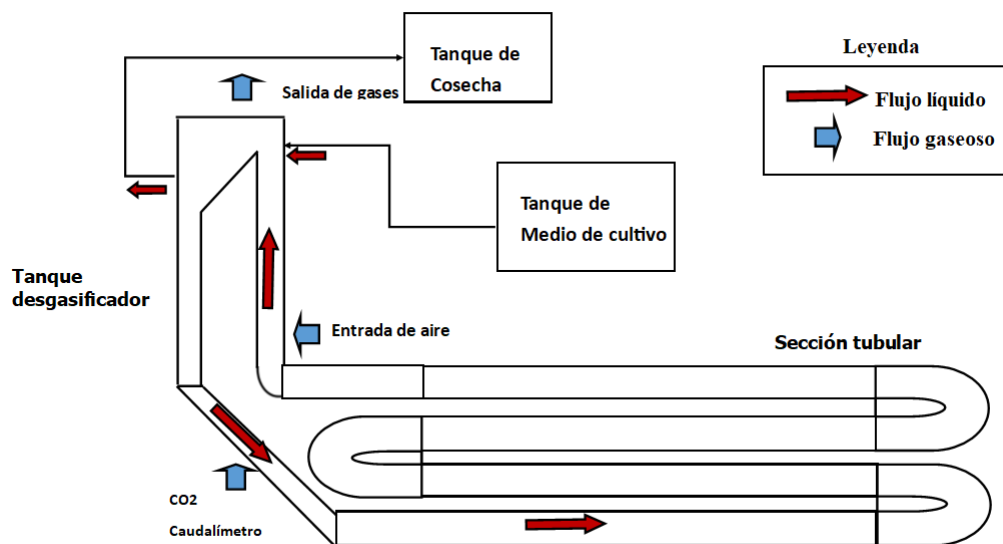


Figura 4. Esquema de un fotobiorreactor cerrado tipo tubular. Modificado de Molina et al. (2001).

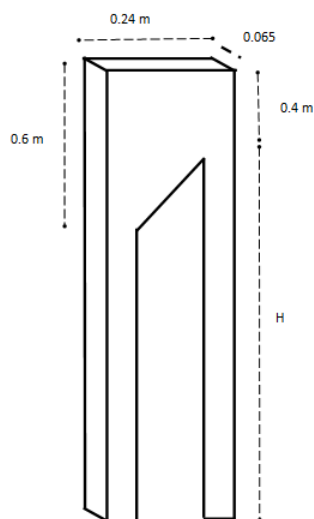


Figura 5. Esquema del desgasificador. Modificado de Velásquez et al. (2015).

Se determinaron los parámetros de diseño y operación del fotobiorreactor tubular propuesto. Entre los parámetros de diseño se evaluó la longitud del diámetro de tubos, d_t y la altura del tanque desgasificador, H . Por otro lado, también se identificaron los parámetros de operación, datos que son necesarios establecer para el funcionamiento del reactor para cada especie de microalga. Para obtener estos parámetros se hicieron uso de ecuaciones matemáticas, así como información obtenida previamente en los laboratorios *Science Support Perú S.A.C.* y aquella encontrada en bibliografía para las especies de microalgas a trabajar (*Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros calcitrans*).

b) Parámetros de diseño y operación del fotobiorreactor tubular

Para llevar a cabo el cálculo de los parámetros de diseño y operación se recabó información sobre características del cultivo de microalgas para las especies seleccionadas como lo son: coeficiente de extinción, irradiancia máxima, concentración de biomasa máxima y tasa de crecimiento máxima para cada especie de microalga a trabajar (Tabla 1).

Tabla 1. Información recabada de las diferentes especies de microalgas

	<i>Isochrysis galbana</i>	<i>Nannochloropsis oculata</i>	<i>Chaetoceros calcitrans</i>
Coeficiente de extinción (m ² /g)	0.17 ^a	0.17 ^a	0.17 ^a
Irradiancia máxima (umol m ⁻² s ⁻¹) Tubo led de luz fría 6500K	67 (aprox 3900 Lux) ^b	50 (aprox. 2900 Lux) ^b	78 (aprox. 4500 Lux) ^b
Concentración de biomasa máxima (mg L ⁻¹)	1006 ^c	1020 ^d	3500 ^e
Tasa de crecimiento máxima (h ⁻¹)	0.029 ^a	0.031 ^a	0.025 ^a

^a Cadelina et al. 2017 ^b Información obtenida de ensayos preliminares en instalaciones de Science Support S.A.C. (Anexo 2) ^cAlkhamis et al. 2013 ^dMillán-Oropeza et al. 2016 ^eVelasco et al. 2017

El coeficiente de extinción, el cual fue utilizado para establecer relación entre la biomasa y la absorbancia, se encontró que fue de 0.17 m²g⁻¹. Por otro lado, la irradiancia máxima, el cual nos dió información para la cantidad de intensidad luminosa que puede

soportar una especie de microalga, fue de $67 \text{ umolm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para *Isochrysis galbana*, $50 \text{ umolm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para *Chaetoceros calcitrans* y de $78 \text{ umolm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para *Nannochloropsis oculata* indicando que esta última especie es la más fotosensible. La concentración de biomasa máxima obtenida fue de 1006 mgL^{-1} para *Isochrysis galbana*, 1020 mgL^{-1} para *Chaetoceros calcitrans* y 3500 mgL^{-1} para *Nannochloropsis oculata*.

A continuación, se presentan los diferentes parámetros de diseño para el desarrollo de la propuesta de diseño del fotobiorreactor tubular y las ecuaciones matemáticas que permiten su cálculo.

Tabla 2. Ecuaciones para cálculo de parámetros de diseño del fotobiorreactor tubular

Parámetro de diseño	Ecuación matemática	Fuente bibliográfica
Diámetro de tuberías	<p>A partir de ecuación de irradiancia promedio.</p> $I_{av} = \frac{I_0}{Ka * Cb * L} * (1 - \exp(-Ka * Cb * L)) \quad (\text{Ec.1})$ <p>Donde:</p> <p>I_{av}: Irradiancia promedio ($\text{umol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)</p> <p>$I_0$: Irradiancia incidente disponible (2 veces el valor de compensación, $12.7 \text{ umol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, Regaudie et al. 2010)</p> <p>Ka: Coeficiente de extinción de luz</p> <p>Cb: Concentración de biomasa máxima (g L^{-1})</p> <p>L: distancia de recorrido de la superficie al seno del líquido o diámetro del tubo (m)</p>	Molina et al. 2001
Velocidad superficial del líquido	<p>Se requiere hacer una gráfica que permita identificar la máxima velocidad de flujo superficial que puede utilizarse, teniendo en cuenta el tamaño de micro remolinos (λ)</p> $\lambda = \left(\frac{\mu_L}{\rho} \right)^{\frac{3}{4}} \xi^{\frac{-1}{4}} \quad (\text{Ec. 2})$ <p>Donde:</p> <p>μ_L: Viscosidad del medio de cultivo ($\text{kg m}^{-1}\text{s}^{-1}$)</p> <p>$\rho$: Densidad el medio de cultivo (kg m^{-3})</p> <p>ξ= Disipación de energía (W/kg)</p> <p>A su vez, la disipación de energía se calcula:</p> $\xi = \frac{2xC_f x U_L^3}{d} \quad (\text{Ec. 3})$ <p>Donde:</p> <p>C_f=Constante de Fanning</p>	Molina et al. 2000

U_L =Velocidad de flujo laminar (m/s)

d_t : Diámetro de las tuberías (m),

$$C_f = 0,0791 \text{ Re}^{-0,25} \quad (\text{Ec. 4})$$

Donde:

Re= Constante de Reynolds

Altura de la columna del degasificador

A partir de las dos ecuaciones siguientes: velocidad superficial del líquido en las tuberías, U_L Molina et al. 2001

$$U_L = \left(\frac{g \varepsilon_r \cdot H \cdot d_t^{1,25}}{0,3164 \cdot \left(\frac{\mu_L}{\rho} \right)^{0,25} \cdot L_{eq}} \right)^{4/7} \quad (\text{Ec.5})$$

Donde:

g : Aceleración de la gravedad, $9,8 \frac{m}{s^2}$,

ε_r : Fracción de gas en el líquido o gas *hold-up*,

d_t : Diámetro de las tuberías (m),

H : Altura de la columna del degasificador (m)

μ_L : Viscosidad del medio de cultivo ($\text{kg m}^{-1}\text{s}^{-1}$)

ρ : Densidad el medio de cultivo (kg m^{-3})

L_{eq} : Longitud equivalente del bucle solar (m)

Y la ecuación de la fracción de gas (*gas hold-up*).

$$\varepsilon_r = \frac{\beta}{\lambda + U_G + U_L} \quad (\text{Ec.6})$$

Donde:

β : Razón de la velocidad superficial del gas a la velocidad superficial total,

λr : Parámetro del perfil de velocidad radial

U_b : Velocidad de la subida de burbujas (m s^{-1})

U_G : Velocidad del gas en la zona de subida del degasificador (m s^{-1})

U_L : Velocidad superficial del líquido (m s^{-1})

Los parámetros de diseño, tanto el diámetro de las tuberías y la altura del tanque degasificador, son necesarios para identificar las medidas del fotobiorreactor. A partir de las ecuaciones es evidente que para determinar el diámetro de las tuberías d_t , se toma en cuenta la irradiancia máxima, así como el valor de irradiancia promedio y el coeficiente de extinción en la ecuación 1. Por otro lado, para el cálculo de la altura del tanque degasificador, se debe tomar en cuenta el diámetro de las tuberías calculado anteriormente y se debe seleccionar la velocidad superficial del líquido tomando en cuenta que este valor no debe permitir un valor de tamaño de microremolinos (λ) mayor a 17 micrómetros. Para selección de la velocidad estimada se realiza el cálculo del tamaño de microremolinos a diferentes velocidades laminares (Gráfico 3).

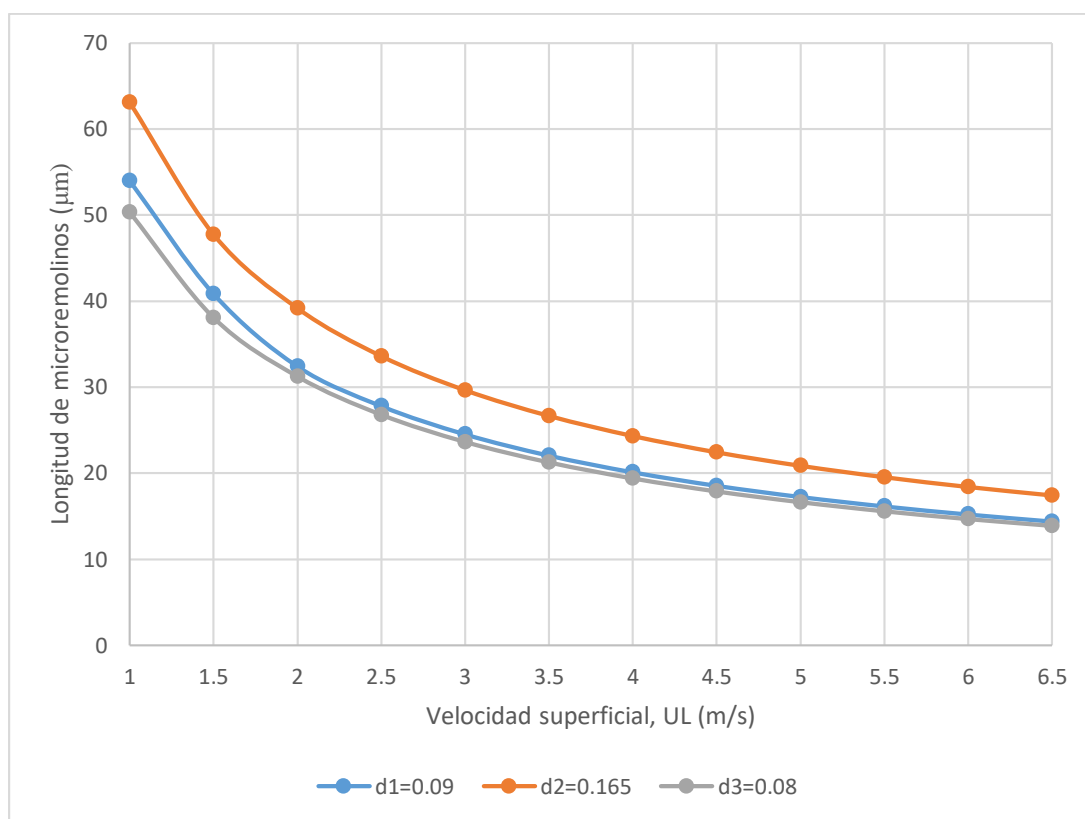


Figura 5. Efecto de la velocidad superficial (m/s) en la longitud de microremolinos (μm) a diferentes diámetros de tubería (m)

A continuación, los resultados de los cálculos realizados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Parámetros de diseño de fotobiorreactor calculados para las diferentes especies de microalgas

	<i>Isochrysis galbana</i>	<i>Nannochloropsis oculata</i>	<i>Chaetoceros calcitrans</i>
Díámetro de tuberías, dt (cm)	9.12	16.51	8.09
Velocidad laminar estimada (m/s)	4	4.5	4
Altura de la columna de desgasificación, H (m)	4.8	2.81	5.50

El mayor diámetro se estima para *Nannochloropsis oculata*, con 16.51 cm de diámetro, siendo para *Isochrysis galbana* un aproximado de 9.12cm y para *Chaetoceros*

calcitrans de 8.09cm. Con respecto a la velocidad laminar seleccionada, se puede ver que en la Figura 5 que el efecto del diámetro es que a medida que este es mayor, mayor será el diámetro de microremolinos producido. Asimismo, es evidente que, a mayor velocidad laminar, la longitud de microremolinos que se formen es menor. Debido a que es necesario que el tamaño mínimo de microremolinos sea de 17 micrómetros (Velasquez et al. 2015), se requiere de máximo una velocidad laminar de 4 m/s para *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros calcitrans*. En el caso de *Nannochloropsis oculata*, es posible utilizar una velocidad de 4.5 m/s. Para llevar a cabo los cálculos para la altura del desgasificador, se trabajó con las variables encontradas en Molina et al. 2000 para el cultivo de microalgas. Siendo el valor para ε_r , o la fracción de gas en el líquido (*hold-up*), de 0.0002, para μ_L , viscosidad del medio de cultivo y para ρ , densidad del medio de cultivo, 0.0009 kg m⁻¹s⁻¹ y 997 kg m⁻³ respectivamente. Finalmente para L_{eq} , la longitud equivalente del bucle solar fue de 0.03 m. Asimismo, el valor de β , la razón de la velocidad superficial del gas a la velocidad superficial total, se estimó a 0.001, mientras que el valor de λr , parámetro del perfil de velocidad radial, se identificó como 1.1 y para U_b , velocidad de la subida de burbujas fue de 0.4 m s⁻¹.

Entre los parámetros de operación que se busca calcular se tiene: tasa de dilución y flujo de dióxido de carbono. La tasa de dilución se define como el número de veces que el volumen del biorreactor circula a través del sistema por unidad de tiempo (o la inversa del tiempo de residencia) (Hochfeld, 2006). En un sistema continuo, donde se busca tener un cultivo en fase exponencial durante el tiempo que dure este, el estado estable se alcanza al igualar la tasa de dilución a la tasa de crecimiento. Si la tasa de crecimiento fuera mayor a la tasa de dilución, el cultivo deja de encontrarse en la fase exponencial y entra a una fase de decrecimiento. Si la tasa de crecimiento fuera menor a la tasa de dilución, la cantidad de sustrato es mayor al utilizado y también se deja de encontrarse en su máxima concentración (Pepper *et al.*, 2015).

Para una fijación óptima del dióxido de carbono en el proceso de la fotosíntesis, es necesario que el dióxido de carbono sea transferido adecuadamente a la fase líquida desde la fase gaseosa, lo que puede ser entendido como un coeficiente de transferencia de masa conocido como $k_L a$ (Razzak *et al.* 2016). Para determinar el flujo dióxido de carbono (mol L⁻¹ h⁻¹), se hacen uso de las ecuaciones matemáticas mostradas a continuación (Tabla 4), teniendo en cuenta la tasa de crecimiento de cada especie de microalgas a utilizar.

Tabla 4. Ecuaciones para el cálculo de los parámetros de operación del fotobiorreactor tubular

Parámetro de diseño	Ecuación matemática	Fuente bibliográfica
Tasa de dilución	Para definir la tasa de dilución se realiza el cálculo de la siguiente ecuación. $D = \mu_{max}$ (Ec.7) Donde: D= Tasa de dilución (h ⁻¹)	Pepper <i>et al.</i> , 2015

μ_{max} =Tasa de crecimiento máximo (h^{-1})

Para definir el flujo de dióxido de carbono se realiza el cálculo de las siguientes ecuaciones.

Concentración equivalente de dióxido de carbono.

$$C_i = H_{CO_2} * Y_{CO_2} P \quad (Ec.8)$$

Donde:

C_i = Concentración equivalente de dióxido de carbono en fase líquida ($mol L^{-1}$)

H_{CO_2} = Constante de Henry de dióxido de carbono ($mol L^{-1}atm^{-1}$)

Y_{CO_2} = Fracción molar de dióxido de carbono en la fase gaseosa

P = presión atmosférica (atm)

Flujo de dióxido de carbono

Razzak et al.
2016

Flujo molar de dióxido de carbono

$$FlujoCO_2 = \frac{\mu_{max} * C_i}{R_{CO_2}} \quad (Ec.9)$$

Donde:

$FlujoCO_2$ = Flujo molar de dióxido de carbono ($mol L^{-1} h^{-1}$)

μ_{max} =Tasa de crecimiento (h^{-1})

C_i = Concentración equivalente de dióxido de carbono en fase líquida ($mol L^{-1}$)

R_{CO_2} = Rendimiento de dióxido de carbono (g/mol)

De forma similar, a partir de la información recabada y con ayuda de ecuaciones indicadas anteriormente, se obtuvieron también los parámetros de operación de fotobiorreactor para las diferentes especies de microalgas de interés (Tabla 5).

Tabla 5. Parámetros de operación de fotobiorreactor para las diferentes especies de microalgas

	<i>Isochrysis galbana</i>	<i>Nannochloropsis oculata</i>	<i>Chaetoceros calcitrans</i>
Tasa de dilución, D (h^{-1})	0.029	0.031	0.025
Flujo de dióxido de carbono ($mol L^{-1} h^{-1}$)	0.0017	0.0027	0.0015

La tasa de dilución para *Isochrysis galbana* fue de 0.029 h^{-1} , para *Nannochloropsis oculata* de 0.031 h^{-1} , mientras que para *Chaetoceros calcitrans* fue de 0.025 h^{-1} . Con respecto al flujo de dióxido de carbono, este dependió de la tasa de crecimiento encontrada experimentalmente para cada especie de microalga. Se realizó el cálculo teniendo en cuenta un rendimiento aproximado de dióxido de carbono de 33.8 g/mol y un valor de C_i aproximado a 2 mol L^{-1} (Molina et al. 2001). Para *Isochrysis galbana* la tasa de crecimiento fue de $0.0017 \text{ mol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, para *Nannochloropsis oculata* fue de $0.0027 \text{ mol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, mientras que para *Chaetoceros calcitrans* fue de $0.0015 \text{ mol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Se hizo evidente que, a mayor tasa de crecimiento de las microalgas, se da una mayor demanda de flujo de dióxido de carbono.

6.1.2. Diseño del sistema de concentración de microalgas

El sistema de concentración de microalgas incluye un sedimentador. El sedimentador es un sedimentador simple con 60° de inclinación en la base que se trabaja por lotes (Moros et al. 2017). El esquema se muestra en la Figura 5.

El volumen total del sedimentador será tomado en cuenta a partir de la concentración de biomasa estimada, pero para términos de diseño inicial, se tomará en cuenta el dato de productividad estimado encontrado en los ensayos preliminares.

$$V_c = \frac{Br}{C_e} \quad (\text{Ec. 10}).$$

Donde:

V_c = Volumen de cosecha (L)

C_e = Concentración de biomasa máxima estimada (mg/L)

Br = Biomasa requerida (mg)

Asimismo, se define el volumen del floculo a partir de Knuckey et al. 2006, que estima para la microalga *T. pseudonana* un aproximado de 3.8% de volumen del flóculo para los primeros 15 minutos de sedimentación. A continuación, estima su variación hasta un 0.56% de flóculo del volumen inicial para las 24 horas de sedimentación. Se tomará en cuenta este primer volumen del flóculo (mayor volumen), para el diseño para poder asegurarnos que el flóculo se encuentre en la zona de sedimentación. Este valor nos permitirá identificar las dimensiones del sedimentador (Ec. 8).

$$V_f = 0.038(V_c) \quad (\text{Ec. 11}).$$

Donde:

V_f = volumen del floculo (L)

V_c= volumen de cosecha (L)

El volumen del sedimentado deberá igualarse al volumen del floculo. El sedimentador que tendrá 60° para permitir su deslizamiento por gravedad deberá tener entonces un radio calculado a partir de la siguiente ecuación (Ec. 9), la que se desarrollará por iteración.

$$r = \sqrt{\frac{(V_f \times 3)}{\pi \times (0.2499 \times r)}} \quad (\text{Ec. 12}).$$

Donde:

V_t= volumen total del sedimentador (L)

V_{ft}= volumen total funcional del sedimentador (L)

Tabla 6. Dimensiones de sedimentador calculados para producción de 250g de biomasa concentrada de diferentes especies de microalgas marinas

	<i>Isochrysis galbana</i>	<i>Nannochloropsis oculata</i>	<i>Chaetoceros calcitrans</i>
Volumen de cosecha, V _c (L)	248.50	245.10	71.40
Volumen del flóculo, V _f (L)	9.568	9.436	2.750
Radio del sedimentador, r (m)	0.198	0.196	0.131
Diámetro del sedimentador, D	0.472	0.468	0.338
Altura del Sedimentador, H _s (m)	0.236	0.233	0.156
Altura del cilindro, H _c (m)	1.939	1.954	1.274
Altura total, H _t (m)	2.175	2.187	1.430

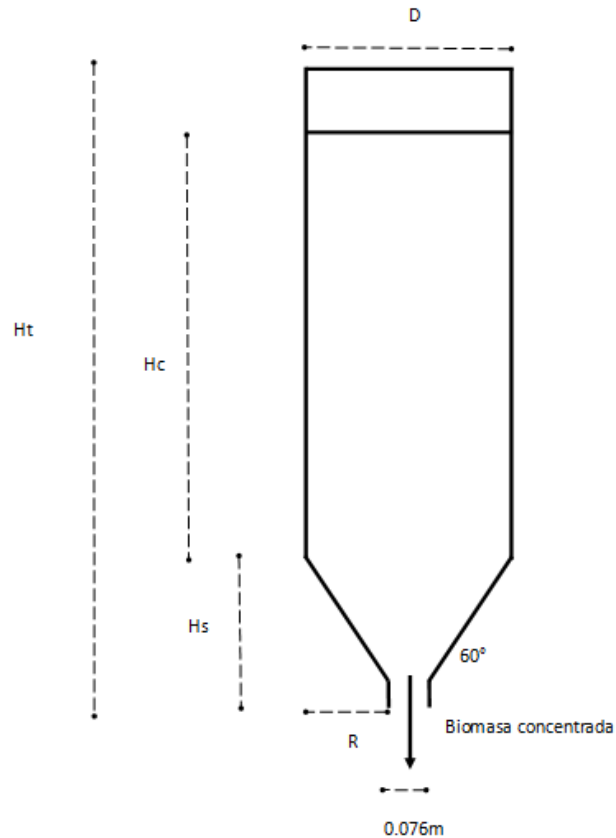


Figura 5. Propuesta de sedimentador para recolección de concentrado de microalgas .

6.2. Protocolo para la optimización de parámetros de operación del sistema de producción de concentrado de microalgas

6.2.1. Optimización de condiciones fisicoquímicas ideales del fotobiorreactor

a) Tratamiento del inóculo para pruebas en fotobiorreactor

Se produce el volumen necesario, aproximadamente un total de 10 L de inóculo, en recipientes de 6L con medio Guillard F/2, a 20°C y bajo luz artificial (intensidad de luz utilizada previamente en este tipo de recipientes en el laboratorio de *Science Support Perú S.A.C.* A continuación, se vierte el 10% del volumen efectivo del fotobiorreactor como inóculo. El 90% restante es agua de mar filtrada a $50\mu\text{m}$ con un sistema de filtro mecánico y a $1\mu\text{m}$ con una manga filtrante. Asimismo, se desinfecta previamente con hipoclorito de sodio en una concentración de 25mg/L (0.0025% p/v) (OIE, 2009).

b) Determinación de productividad para cada condición evaluada

Para determinar la productividad de biomasa de forma práctica se realiza en primer lugar una curva de calibración que permita relacionar biomasa obtenida de un volumen de muestra en unidades de g/L versus valores de absorbancia medidos usando espectrofotometría UV-Vis (Santos et al. 2015). Para ello se debe obtener la medición de biomasa a diferentes fases del cultivo, pueden ser muestras retiradas cada 12 horas, con las que se procede con lo siguiente. Se remueve la humedad de los papeles filtro utilizando una estufa por 20 min a 60°C, luego se enfría con un desecador por 20min y son pesados a continuación en una balanza analítica con 4 cifras decimales hasta peso constante (Béchet et al., 2016). A continuación, se filtra 5ml de cada muestra de cultivo a 0.22um y se enjuaga con 3ml de formiato de amonio al 30 g/L (Béchet et al., 2016). Se llevan a estufa a 60°C por 24h y se dejan enfriar al desecador por 20 minutos. Finalmente se registran los pesos en balanza de cuatro dígitos restando los pesos registrados de los filtros.

Se realiza la medición de las diferentes muestras de cultivo a espectrofotometría UV-Vis. Para ello se miden los valores de absorbancia a 688 nm para cultivos de *Chaetoceros calcitrans*, 682 para *Isochrysis galbana* y 682nm para *Nanochloropsis oculata* (Santos et al. 2015). A continuación, la información obtenida se deberá graficar en un gráfico de dispersión donde se deberá correlacionar la biomasa (g/L) y la absorbancia obtenida. Esta curva de calibración nos permitirá identificar de forma directa la biomasa del cultivo.

Para obtener valores de productividad en valores de mg/l-día para los diferentes días de cultivo, se deberá tomar en cuenta las medidas de biomasa obtenida en cada día. La productividad volumétrica (P_v) se define como la cantidad de biomasa por volumen obtenida por unidad de tiempo en días (Posten et al, 2009) (Ec.13).

$$P_v = \frac{X_f - X_i}{\Delta t} \quad (\text{Ec.13})$$

Donde,

X_i = concentración inicial de biomasa (mg/l)

X_f = concentración máxima de biomasa (mg/l)

Δt = intervalo de tiempo entre la inoculación y la obtención de la concentración máxima de biomasa (día).

c) Desarrollo del diseño factorial experimental para obtener la máxima productividad por volumen de cultivo.

Para determinar las condiciones fisicoquímicas ideales para el cultivo eficiente de microalgas dentro del fotobiorreactor tubular, se realizarán cultivos previos usando 10% de inóculo de microalgas usando como medio de cultivo agua filtrada a 50um y desinfectada con hipoclorito de sodio en una concentración de 25mg/L (0.0025%p/v) (OIE, 2009). A continuación, se realizarán mediciones de los niveles de pH y temperatura haciendo uso de un multiparámetro WTW 3620

(Ynga et al., 2019). Las mediciones de intensidad luminosa serán llevadas a cabo mediante el uso de un luxómetro Amprobe LM-120 (Ynga et al., 2019). Se identificarán las condiciones ideales para el cultivo llevando a cabo pruebas experimentales mediante un diseño tipo Taguchi L9, que incluye 3 factores a 3 niveles, siendo los factores: pH, temperatura e intensidad luminosa (Tabla 1), y se medirá para todos los mencionados tratamientos los valores de biomasa por volumen (g/L) recuperada, así como la productividad volumétrica (g/L-día).

Tabla 7. Diseño experimental tipo Taguchi L9 para calibración de condiciones fisicoquímicas para determinar el desempeño del fotobiorreactor tubular

Tratamiento	pH	Temperatura (C°)	Intensidad luminosa (Lux)
T1	8	20	3000
T2	8	21	3500
T3	8	22	4000
T4	8.5	20	3500
T5	8.5	21	4000
T6	8.5	22	3000
T7	9	20	4000
T8	9	21	3000
T9	9	22	3500

Finalmente se analizan los resultados haciendo uso del paquete estadístico Minitab18. Se evalúa que efecto presenta la mayor interacción y que condiciones permiten la obtención de mayor cantidad de biomasa por volumen y productividad volumétrica.

6.2.2. Optimización de las condiciones de floculación para la obtención de concentrado de biomasa de microalgas

Se propone se desarrollen las siguientes prácticas para lograr la optimización de obtención de concentrado de biomasa de microalgas.

a) Determinación de porcentaje de recuperación

Se estimará la biomasa esperada a partir de los valores de productividad identificados en una muestra de 20ml de cosecha obtenida luego de una mezcla

homogénea. A continuación, se realizará el proceso de floculación. La biomasa floculada se separa por sedimentación y se recupera en un papel filtro. Se remueve la humedad del papel filtro utilizando una estufa por 20 min a 60°C, luego se enfría con un desecador por 20min y se pesa a continuación en una balanza analítica con 4 cifras decimales hasta peso constante (Béchet et al., 2016). A continuación, se llevan a estufa a 60°C por 24h y se dejan enfriar al desecador por 20 minutos. Finalmente se registran los pesos en balanza de cuatro dígitos restando los pesos registrados de los filtros. Se registra este valor como biomasa real. A continuación, el porcentaje de recuperación se obtiene haciendo uso de la siguiente ecuación (%R):

$$\%R = \frac{Be-B}{B} \times 100\% \quad (\text{Ec.14})$$

Donde,

Be= Biomasa esperada (mg/l)

B= Biomasa obtenida real (mg/l)

- b) Desarrollo del diseño factorial experimental para obtener el máximo porcentaje de recuperación

El proceso de concentración de microalgas que se tomará en cuenta es el de floculación haciendo uso del método desarrollado con floculante LT-25 con 500uM de FeCl₃.6H₂O (Knuckey et al., 2006). Para ello se tomarán muestras de 10 litros de cosecha de microalgas, las que se ajustarán a un pH de 10.5. A continuación, se añade una dosis de floculante LT-25 y 500uM de FeCl₃.6H₂O. Se deja en reposo durante 24-72 horas. Para ello se realizarán pruebas con diferentes dosis de floculante (0.25, 0.5, 1mg/L) ya que la literatura indica que la concentración de floculante puede variar dependiendo de la especie de microalga a tratar (Knuckey et al., 2006). Los flóculos formados se llevarán a 4°C hasta el día siguiente. Luego se añade HCl concentrado hasta pH 8-9. para retirar el exceso de sales de sodio que se hayan formado en la superficie (Knuckey et al., 2006).

A continuación, se presenta el tipo de diseño factorial experimental propuesto (Tabla 8).

Tabla 8. Diseño experimental tipo Taguchi L9 para identificación de condiciones ideales de concentración de microalgas

Tratamiento	Dosis de floculante LT-25 (mg/L)	Tiempo de reposo (horas)	pH
T1	0.25	24	8
T2	0.25	48	8.5

T3	0.25	72	9
T4	0.5	24	8.5
T5	0.5	48	9
T6	0.5	72	8
T7	1	24	9
T8	1	48	8
T9	1	72	8.5

Finalmente se analizan los resultados haciendo uso del paquete estadístico Minitab18. Se evalúa que condición tiene mayor efecto en el porcentaje de recuperación así como las condiciones que permiten una optimización del proceso de concentración.

6.3. Resultados esperados de la optimización de desempeño

6.3.1. Resultados esperados sobre el desempeño del fotobiorreactor tubular

Se realizaron las pruebas de productividad de acuerdo a la metodología indicada de forma que se obtuvieron las condiciones fisicoquímicas ideales para el desempeño del fotobiorreactor (Tabla 9).

Tabla 9. Condiciones fisicoquímicas ideales para el cultivo de las diferentes especies de microalgas en el fotobiorreactor tubular

	<i>Isochrysis galbana</i>	<i>Nannochloropsis oculata</i>	<i>Chaetoceros calcitrans</i>
pH	8.2	8.2	8.2
Temperatura	20	22	20
Intensidad Luminosa	4000	3000	4000

Los valores ideales de pH y temperatura para las especies de microalgas cultivadas en el fotobiorreactor tubular fueron las que se muestran en la tabla 4. Para las tres especies de microalgas se determinó un pH de 8.2. Con respecto a la temperatura, para *Isochrysis galbana*, se determinó una temperatura de 20°C, para *Nannochloropsis oculata* de 22°C, mientras que para *Chaetoceros calcitrans* 20°C. Con respecto a la intensidad luminosa, se encontró que la menor intensidad luminosa fue mejor para el cultivo de *Nannochloropsis oculata* con aproximadamente 3000

Lux, por otro lado, para *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros calcitrans* se vio un mejor desempeño a 4000 Lux.

La productividad de biomasa fue un dato importante en este proyecto, ya que se buscó que con este sistema de cultivo se tenga un aproximado de 135- 200% (De Vree et al. 2015). Por tanto, los resultados se aproximaron a los siguientes datos teóricos (Tabla 10).

Tabla 10. Productividad de biomasa microalgal esperada para el cultivo de las diferentes especies de microalgas usando el fotobiorreactor tubular

	<i>Isochrysis galbana</i>	<i>Nannochloropsis oculata</i>	<i>Chaetoceros calcitrans</i>
Máxima productividad (mg/L)	1358.1 – 2012 ^a	1377-2040 ^a	4725 – 7000 ^a

^a Aproximado a partir de De Vree et al. 2015

6.3.2. Condiciones esperadas de procesos de concentración de microalgas

El proceso de concentración de microalgas involucró el uso de diferentes dosis de floculante LT-25 y de condiciones diferentes (Tiempo de reposo y pH). Es en las condiciones mostradas en la tabla 6 donde se evidenció un estado óptimo de viabilidad.

Tabla 11. Condiciones de concentración esperadas por especies de microalgas

	<i>Isochrysis galbana</i>	<i>Nannochloropsis oculata</i>	<i>Chaetoceros calcitrans</i>
Tiempo de reposo (horas)	24-48	48-72	24-48
Concentración de floculante (mg/L)	1	1	0.25-1
pH	8	9	8

7. DISCUSIÓN

7.1. Diseño del sistema de producción de concentración de microalgas

El sistema propuesto incluye un diseño que toma en cuenta los objetivos de cultivo, así como las condiciones de crecimiento para las especies de microalgas propuestas. Para ello se recabó información bibliográfica y se hizo uso de información obtenida a nivel de laboratorio para ensayos preliminares realizados en las instalaciones de *Science Support Perú S.A.C.* Se llevó a cabo la selección del tipo de diseño y aproximación teniendo en cuenta algoritmos de diseño (Figura 1 y 2) que toman en cuenta los objetivos de cultivo. A continuación, se logró definir una disposición de las unidades de procesamiento (Figura 3) que une cada una de las partes del sistema. Con respecto al diseño del fotobiorreactor, se escogió un sistema tubular que permite una amplia superficie de exposición a la luz para la interacción de las microalgas con los fotones (Cañedo *et al.* 2016). Si bien, en la literatura se ha podido verificar la existencia de modelos que maximizan aún más la proporción de superficie expuesta, resulta en mayor complejidad su construcción y mantenimiento como lo es por ejemplo el sistema de fotobiorreactor tubular de tubos helicoidales (Sukacova *et al.*, 2021) o tubulares cónicos (Morita *et al.* 2001), por lo que la presente propuesta se enfoca en el desarrollo de un fotobiorreactor tubular. El diseño de este tipo de fotobiorreactor se encuentra en las Figura 5, en donde se identifica la dirección de los flujos y la disposición de las partes del fotobiorreactor: sección tubular y tanque desgasificador. Se identifica asimismo el diseño del tanque desgasificador en la Figura 6. Diseños similares al tanque desgasificador escogido se encuentran en diferentes propuestas en la bibliografía (Michels *et al.* 2014, Velásquez *et al.* 2015). Esta sección del fotobiorreactor busca eliminar la concentración en exceso de oxígeno producto de una alta tasa fotosintética característica en este tipo de sistemas (Molina *et al.* 2001). Una concentración alta de oxígeno resulta contraproducente para la productividad ya que inhibe el crecimiento celular debido a que compite con el dióxido de carbono por la enzima Rubisco involucrada en la fijación de dióxido de carbono para generar biomasa (Raso *et al.* 2011).

Para llevar a cabo los diferentes cálculos se hace uso de información recabada tanto en bibliografía como en los ensayos preliminares (Tabla 1). Luego, se llevaron efectivamente los cálculos de diámetro de tubería para el fotobiorreactor tubular haciendo uso de las ecuaciones de diseño propuestas (Tabla 2), las cuales incluyen factores importantes como la irradiancia máxima que puede soportar una especie de microalga antes de darse la fotoinhibición, fenómeno que se define como la alteración y eventual inactivación del fotosistema 2 o PSII, de forma que se afecta a cadena de transporte de electrones en la cadena de reacciones que reducen NADP⁺ a NADPH (Pedruzi *et al.* 2020). También se toma en cuenta la irradiancia promedio que se espera tener en el seno del tubo siendo este valor el doble del valor de compensación identificado en literatura (Regaudie *et al.* 2010). Este valor es importante tomar en

cuenta ya que un valor menor induciría un cambio en el metabolismo en las microalgas, prefiriendo así una vía heterotrófica a autotrófica para la obtención de energía lo que no permite maximizar la tasa fotosintética (Regaudie et al. 2010). Es así que se logra estimar valores de diámetro identificados en la Tabla 3. El hacer uso de un diámetro menor, influenciaría en una inhibición de crecimiento y daño de estructuras celulares identificados en estudios previos con sistemas tubulares donde se evidencia fotoinhibición (Huarachi-Olivera, 2015).

A continuación, se estiman valores de velocidad de flujo máximos que son posibles de utilizar con los diámetros encontrados previamente. Ello se calcula tomando en cuenta la ecuación de longitud de microremolinos, disipación de energía y constante de fricción de Fanning (Molina *et al.* 2000). Se puede inferir a partir de la Figura 5, que tanto la velocidad superficial como el diámetro de la tubería tienen un efecto en la longitud de microremolinos que pueden generarse. Por tanto, un mayor diámetro de tubería permite hacer uso de una mayor velocidad superficial. A continuación, se logra estimar valores máximos aproximados tomando en cuenta que es necesario tener un mínimo de longitud de 17 micrómetros de microremolinos para evitar el daño en las células (Velásquez *et al.* 2015). Los valores se encuentran en la Tabla 3 y con ello se prosigue con los cálculos para determinar la altura del desgasificador.

El diseño del tanque desgasificador incluye un sistema *airlift*, que no solo permite eliminar la concentración de oxígeno en exceso, sino que permite el movimiento de la masa acuosa por el sistema (Molina *et al.* 2000). Este tipo de diseño se propone para el cultivo especies de microalgas de alta sensibilidad que no podrían ser cultivadas en sistemas impulsados con el uso de bombas centrífugas. Por tanto, es evidente que este tipo de diseño es apropiado para especies como *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros muelleri*, siendo en ambos casos sensibles a valores de 1.2Pa de estrés fluidodinámico (Michels *et al.*, 2016) y catalogadas como “sensibles” en un estudio previo (Wang *et al.* 2018). Con respecto a la especie *Nannochloropsis oculata* se indica que tiene una pared rígida (Oliveira, 2017), pero no se tienen valores específicos de sensibilidad, por tanto, si bien puede aplicarse este tipo de diseño, se recomienda hacer estudios experimentales para determinar la sensibilidad de *Nannochloropsis oculata* para poder utilizarse en sistemas que involucren una bomba centrífuga lo cual permitiría escalar su producción a volúmenes mucho mayores (Fan et al. 2021).

Los cálculos para la altura del desgasificador, fueron trabajados con las variables encontradas en Molina et al. 2001 referentes a las características del fluido y el valor de la razón recomendada entre las velocidades de líquido y de gas, así como los valores de diámetro de tubería calculados anteriormente. Se debe tener en cuenta que el diseño propuesto busca maximizar la transferencia en la interfase gas – líquido en el sistema de forma que se disperse el oxígeno disuelto a la atmósfera. Asimismo, se busca minimizar el efecto de cizallamiento que pueda generar la ruptura de las células al generar estrés significativo en ellas (Yap et al., 2015). Se logró identificar

valores aproximados para el diseño del tanque de desgasificación (Tabla 3), donde se obtuvo que es necesario utilizar una mayor altura de columna de desgasificación para un menor de diámetro de tubería requerido.

Si bien se toman en cuenta valores especificados en la literatura, no se incluye en este diseño el cálculo de la longitud de las tuberías en el sistema con respecto a la saturación del oxígeno (Molina *et al.* 2000). Ello se debe a que se estima que se requerirían de al menos 320 metros de tubería para alcanzar un valor de oxígeno aproximado al 300% de saturación (Velásquez *et al.*, 2015). Este cálculo sin embargo debe ser realizado si se requiere un diseño de una escala mayor para evitar la concentración excesiva de oxígeno que se daría en ese caso (Molina *et al.* 2000). Otro factor que no es tomado en cuenta en los cálculos es un aumento de concentración celular mayor a lo esperado, que podría darse como resultado de un valor mayor de productividad, el cual tendría un cultivo con menor acceso a la luz o fotolimitado. Por otro lado, debe evitarse la posibilidad de formación de biopelículas que generarían un efecto de sombreado el cual influiría negativamente en la tasa fotosintética y por ende en la productividad (Ramírez *et al.* 2013).

Con respecto a los parámetros de operación calculados según diferentes ecuaciones propuestas en la literatura (Tabla 4), se lograron identificar tanto el flujo de dilución necesario (Tabla 5) que permite realizar la selección de la bomba peristáltica que cumpla con ese requerimiento, así como el flujo estimado de dióxido de carbono teniendo en cuenta la tasa de crecimiento llevada a cabo en ensayos preliminares, el que puede variar al momento del desarrollo del sistema de fotobiorreactor si este permite un mayor crecimiento.

Finalmente, para el diseño del sistema de concentración de microalgas, se logró llevar a cabo la identificación de las dimensiones del sistema (Tabla 6), asimismo se propone el esquema del sistema (Figura 5). Este sistema incluye un ángulo de 60° que permite que los flóculos de biomasa de concentrado de microalgas generados puedan ser recuperados por la base por acción de la gravedad. Asimismo, se toma en cuenta el volumen de los flóculos (Knuckey *et al.* 2006) en los cálculos de dimensión del sedimentador, de forma que los flóculos no se depositen en zonas que no permitan su fácil extracción. Cabe mencionar, sin embargo, que el volumen ocupado por el flóculo puede ser mucho menor al indicado en este diseño y puede variar dependiendo de la especie de microalga y condiciones a trabajar.

7.2.Optimización de parámetros de operación

Con respecto a la optimización de los parámetros de operación del sistema, se propone dos protocolos. El primero de ellos enfocado a la optimización del cultivo en el fotobiorreactor tubular. El segundo protocolo enfocado a la optimización de las condiciones de concentración en el sistema de concentración. El protocolo de optimización de parámetros de operación de fotobiorreactor incluye tanto la

preparación de inóculos para llevar a cabo los cultivos en fotobiorreactor como las prácticas para determinar la cantidad de biomasa por volumen y los valores de productividad volumétrica (Posten et al. 2009). Se propone asimismo una serie de experimentos a diferentes condiciones fisicoquímicas que permitirán optimizar la operación del fotobiorreactor tomando en cuenta un diseño experimental tipo Taguchi L9 el que podrá ser evaluado mediante análisis estadístico haciendo uso del paquete estadístico Minitab18.

La metodología por matriz ortogonal de Taguchi es un enfoque basado en factores que fusiona estadísticas y técnicas de ingeniería. Además, el análisis de los datos experimentales que permite este diseño a través de análisis de varianzas proporciona información sobre factores estadísticamente significativos y sus niveles óptimos para el diseño de parámetros experimentales. (Taguchi, 1986). El método Taguchi se ha utilizado anteriormente con éxito para estudiar una gran cantidad de variables con una pequeña cantidad de experimentos, ahorrando tiempo y dinero en la investigación de cultivos de microalgas (Chiranjeevi et al. 2016).

El protocolo de optimización de parámetros de operación del sedimentador propone una serie de experimentos a diferentes condiciones de floculación las que permitirán optimizar la operación del sistema de concentración tomando en cuenta también un diseño experimental tipo Taguchi L9 el que podrá ser evaluado mediante análisis estadístico haciendo uso del paquete estadístico Minitab18. En estudios similares para determinar dosis y condiciones de floculación para *Nanochloropsis* sp. utilizando hidróxido de sodio, se encontró que los datos eran homocedásticos por lo que se aplica Kruskal-Wallis y de comparaciones múltiples de Dun para su análisis (Rojo et al. 2016)

7.3.Resultados esperados de la optimización de desempeño

Los valores esperados de la optimización de desempeño del fotobiorreactor están de acuerdo a bibliografía encontrada para prácticas similares (Tabla 9 y 10). Se recomienda llevar a cabo el análisis de la tasa de crecimiento en este tipo de sistema ya que es posible que este varíe en la práctica y por tanto requiera realizar ajustes en tanto a la tasa de dilución y flujo de dióxido de carbono. Se ha evidenciado que la aplicación de un cultivo en fotobiorreactor permita un 135- 200% de tasa de crecimiento de la observada a nivel de laboratorio (De Vree et al. 2015). Por tanto, se recomienda que para poder mantener un sistema homogéneo que permita un sistema continuo de cultivo se deberá ajustar la dilución a la nueva tasa de crecimiento (Chen *et al.* 2021). Es necesario acotar en este punto que si bien, una mayor tasa de crecimiento requiere ajustes en los parámetros de operación propuestos, resulta de beneficio para la obtención de producto ya que se consigue una mayor producción en un mismo volumen de medio de cultivo lo que permite obtener un producto más competitivo.

Se ha podido recabar información de experiencias similares en cultivos de fotobiorreactor tubular para *Chaetoceros calcitrans* y *Nannochloropsis oculata*, donde se ha visto una obtención de biomasa máxima de 8.82 y 8.10 g/L

respectivamente a condiciones de pH 8 (Ramanathan *et al.* 2011). En este caso se trabajó con 15 centímetros de diámetro de tubería y 1200 lux de intensidad luminosa. No se especifica el flujo de dióxido de carbono pero se evidencia que se permite una producción de biomasa significativa. Con respecto a experiencias previas para cultivo en fotobiorreactor para *Isochrysis galbana*, se ha podido identificar una obtención de biomasa por volumen de 2g/L (Molina *et al.* 1994), en este caso se realizaron cultivos con intensidad de luz variante ya que el fotobiorreactor estuvo expuesto a luz solar y por tanto con presencia de fotoperiodo.

Los valores esperados de la optimización de desempeño del sistema de concentración (Tabla 11), indican la aplicación de tiempos de reposo entre 24- 48h, así como concentraciones de floculante entre 0.25 y 1 mg/L (Knuckey *et al.*, 2006) y un pH mayor para *Nanochloropsis sp.* (Rojo *et al.* 2016). Aún no se cuenta con suficiente bibliografía para poder identificar condiciones más exactas y posiblemente requiera de un mayor ajuste en la práctica. En el caso de las dosis propuestas de floculante, se puede proponer dosis más cercanas a aquellas que fueron exitosas y volver a optimizar la práctica siguiendo los mismos protocolos de forma que se logra hacer uso de una dosis mínima necesaria y se evita el empleo de una dosis mayor que significaría un desperdicio de reactivo. Asimismo, se espera que el tiempo de espera pueda ser optimizado. Finalmente se recomienda hacer pruebas comparativas con floculantes que permitan una recuperación importante de biomasa y que no requieran del uso de volúmenes importantes de soluciones acidas o básicas, como por ejemplo quitosano (Chen *et al.* 2014).

Este paso final de identificación efectiva de las mejores condiciones de operación del sistema de producción permite disminuir costos al reducir el uso de recursos en el laboratorio lo que permite que el producto obtenido sea más competitivo a nivel mundial.

8. CONCLUSIONES

- Se logró identificar el tipo de fotobiorreactor y la aproximación de diseño a usar para desarrollar un sistema de cultivo eficiente de microalgas a través del uso de algoritmos de diseño siendo el resultado un fotobiorreactor tubular y una aproximación semi-empírica.
- Se estimaron los parámetros de diseño y operación ideales del fotobiorreactor para el cultivo eficiente de microalgas a través del uso de ecuaciones teóricas sobre hidrodinámica, distribución de luz y parámetros de crecimiento celular tomando en cuenta condiciones específicas para el cultivo de cada especie de microalga de interés.
- Se logró generar un protocolo de prácticas necesarias para la optimización de los parámetros de operación y condiciones fisicoquímicas ideales del fotobiorreactor propuesto mediante la aplicación de diseños factoriales experimentales que permitan la obtención de máxima productividad por volumen de cultivo.
- Se logró generar un protocolo de prácticas necesarias para la selección de las mejores condiciones de floculación para la obtención de concentrado de biomasa de microalgas mediante la aplicación de diseños factoriales que permitan la obtención de un máximo porcentaje de recuperación.

Finalmente, la presente propuesta de diseño incluye protocolos de optimización y resultados esperados para servir de guía en el diseño de un sistema que pueda ser escalable y aplicable para la producción de concentrado de biomasa de microalgas que son de importancia en la industria acuícola ya que sirven de suministro nutricional para el cultivo de organismos hidrobiológicos en *hatcheries*.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acién-Fernández, F., Fernández, J., Sánchez, J., Molina, E., Chisti, Y., 2001. Airlift-driven external loop tubular photobioreactors for outdoor production of microalgae: assessment of design and performance. *Chem. Eng. Sci.* 56, 2721–2732.
- Alkhamis, Y., Qin, J. (2013). Cultivation of *Isochrysis galbana* in Phototrophic, Heterotrophic, and Mixotrophic Conditions. En *BioMed Research International* (Vol. 2013, pp. 1-9). Hindawi Limited.
- Béchet, Q., Moussion P., Bernard O. (2016) Calibration of a productivity model for the microalgae *Dunaliella salina* accounting for light and temperature. *Algal Research - Biomass, Biofuels and Bioproducts*, Elsevier 21, pp.156 - 160.
- Becker, W. (2004) Microalgae for aquaculture. The nutritional value of microalgae for aquaculture. In Richmond, A. (ed.), *Handbook of Microalgal Culture*. Blackwell, Oxford, pp. 380–391.
- Borowitzka M. (1999) Production of microalgae concentrates for aquaculture (Part 1: Algae Culture). Final Report to the Fisheries Research and Development Corporation Project 93/123. Murdoch, W.A: Murdoch University/Fisheries Research and Development Corporation. pp. 52-60.
- Brown, M., Jeffrey, S., Volkman J., Dunstan G. (1997) Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151, (1–4), 315-331.
- Cadelina, P. (2017). *Hydrodynamics, Sediment Transport and Light Extinction Off Cape Bolinao, Philipines*. CRC Press, 145-146.
- Cañedo, J., Lizárraga, G. (2016). Considerations for Photobioreactor Design and Operation for Mass Cultivation of Microalgae. En *Algae - Organisms for Imminent Biotechnology*. InTech.
- Catarina, A., Xavier, F. (2012). Nutritional Value and Uses of Microalgae in Aquaculture. En *Aquaculture*. InTech.
- Chen, G., Zhao, L., Qi, Y., & Cui, Y.-L. (2014). Chitosan and Its Derivatives Applied in Harvesting Microalgae for Biodiesel Production: An Outlook. En *Journal of Nanomaterials* (Vol. 2014, pp. 1-9). Hindawi Limited.
- Chen S., Gao K. (2021) Microalgae Continuous and Semi-continuous Cultures. In: Gao K., Hutchins D.A., Beardall J. (eds) *Research Methods of Environmental Physiology in Aquatic Sciences*. Springer, Singapore.
- Cheng-Wu, Z., Zmora, O., Kopel, R., Richmond, A., 2001. An industrialize flat glass reactor for mass production of *Nannochloropsis sp.* (Eustigmatophyceae). *Aquaculture* 195, 35–49

- Chiranjeevi, P., Venkata-Mohan, S. (2016). Critical parametric influence on microalgae cultivation towards maximizing biomass growth with simultaneous lipid productivity. *Renew. Energy*.
- Contreras - Flores C., Peña-Castro, J. Flores-Cotera L., Cañizares-Villanueva R.(2003) Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. *Interciencia* 28(8): 450-456
- Del Carpio, O. (2020) Cadena de valor del langostino - Estudio de prospectiva del langostino. Programa Nacional De Innovación En Pesca y Acuicultura.
- Knuckey, R., Brown, M., Robert, R., Frampton, D. (2006). Production of microalgal concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds. *Aquacultural Engineering*, 35(3), 300-313.
- Krichnavaruk, S., Loataweesup, W., Powtongsook, S., Pavasant, P. (2005). Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor. *Chemical Engineering Journal*, 105(3), 91–98.
- Fan, F., Fei, Z., Wan, M., Huang, J., Wang, W., Bai, W., He, M., Li, Y. (2021). The optimization of centrifugal pump driving horizontal tubular photobioreactor for enhancing astaxanthin production using heterotrophic *Haematococcus pluvialis*. *En Journal of Biotechnology* (Vol. 341, pp. 168-174). Elsevier BV.
- Guevara, M., Alfaro, R. (2012). Patógenos introducidos al Perú en post larvas de *Litopenaeus vannamei* importadas. *Revista Peruana de Biología*, 19(2), 181-186.
- Hair C., Kaure T., Southgate P., Pickering T. (2011). Potential breakthrough in hatchery culture of sandfish (*Holothuria scabra*) by using algal concentrate as food. *SPC Beche-de-mer Information Bulletin* 31, 60–61
- Heasman, M., Diemar, J., O'connor, W., Sushames, T., Foulkes, L. (2000), Development of extended shelf-life microalgae concentrate diets harvested by centrifugation for bivalve molluscs – a summary. *Aquaculture Research*, 31: 637-659.
- Helm, M.; Bourne, N.; Lovatelli, A. (comp./ed.) Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. FAO Documento Técnico de Pesca. No. 471. Roma, FAO. 2006. 184 pp.
- Hochfeld, W. (2006). *Producing biomolecular substances with fermenters, bioreactors, and biomolecular synthesizers*. Boca Raton, FL: CRC/Taylor & Francis.
- Huarachi , R., Yapo , U., Dueñas, A., Condori J., Pacheco, D., Soto, J. (2015). *Cultivo de Arthrospira platensis (Spirulina) en fotobiorreactor tubular doblemente curvado a condiciones ambientales en el sur del Perú*. *En Revista Colombiana de Biotecnología* (Vol. 17, Issue 1, pp. 143-150). Universidad Nacional de Colombia.

- Mendo, J. Wolff, M. (2003). *El impacto de El Niño sobre la producción de la concha de abanico (Argopecten purpuratus) en la Bahía Independencia*, Pisco, Perú. *Ecología Aplicada*. 2(1):51-57.
- Mendo, J., Wolff, M., Mendo, T., Ysla, L. (2016). *Scallop Fishery and Culture in Peru*. En *Scallops - Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries* (pp. 1089-1109).
- Mendo, J, Quevedo I. (2020) Cadena de valor de la Concha de abanico – Serie Estudio Prospectivo N°1. Programa Nacional De Innovación En Pesca y Acuicultura, 76-77.
- Mendoza, D., Berger C., Berger K. (2016) La acuicultura peruana – Una mirada al 2025. *Infopesca* 63, 18-19.
- Millán-Oropeza, A., & Fernández-Linares, L. (2016). Biomass and lipid production from *Nannochloropsis oculata* growth in raceway ponds operated in sequential batch mode under greenhouse conditions. En *Environmental Science and Pollution Research* (Vol. 24, Issue 33, pp. 25618-25626). Springer Science and Business Media LLC.
- Ministerio de la Producción del Perú [PRODUCE] (2020a) PBI Acuícola, 2015 – 2019.
- Ministerio de la Producción del Perú [PRODUCE] (2020b) Anuario estadístico pesquero y acuícola 2019, 134-135.
- Molina, E., Sánchez, J., García, F., García, J., Acién, F., López, D. (1994) Outdoor culture of *Isochrysis galbana* ALII-4 in a closed tubular photobioreactor. *J. Biotechnol.* 37, 159–166.
- Molina, E., Fernández, J., Acién, F., Chisti, Y., 2001. Tubular photobioreactor design for algal cultures. *J. Biotechnol.* 92, 113–131
- Morita, M., Watanabe, Y., Okawa, T., Saiki, H. (2001). Photosynthetic productivity of conical helical tubular photobioreactors incorporating *Chlorella sp.* under various culture medium flow conditions. En *Biotechnology and Bioengineering* (Vol. 74, Issue 2, pp. 136-144). Wiley.
- Niu, C., Zhang, J., Hu, X. (2013). Cultivation of *Isochrysis galbana* in a Semicontinuous Photobioreactor. *Advanced Materials Research*, 699, 367–370.
- Organismo Nacional de Sanidad Pesquera [SANIPES] (2020) Informe de la Subdirección de Sanidad Acuícola 2017 – 2019, 109-110.
- Organización mundial de Sanidad Animal [OIE] (2009). *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals* Paris, France: Office International des épizooties, 31-42.
- Oostlander, P., van Houcke, J., Wijffels, R., & Barbosa, M. (2020). *Microalgae production cost in aquaculture hatcheries*. *Aquaculture*, 525, 735310.
- Pedruzi, G., Amorim, M., Santos, R., Martins, M., & Vaz, M. (2020). Biomass accumulation-influencing factors in microalgae farms. En *Revista Brasileira de*

- Engenharia Agrícola e Ambiental (Vol. 24, Issue 2, pp. 134-139). FapUNIFESP (SciELO).
- Pepper, I., Gerba, C. & Gentry, T. (2015). *Environmental microbiology*. San Diego, CA London, UK Waltham, MA Amsterdam Boston: Academic Press Imprint of Elsevier.
- Posten, C. (2009). Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae. En *Engineering in Life Sciences* (Vol. 9, Issue 3, pp. 165-177). Wiley.
- Pretell-Monzón, K., Saavedra-Olivos, K., Calderón-Romero, A., Quevedo Alvarado, V., Alemán de Lama, D., Boada Mata, B., Gómez-Sánchez, M. (2020). Vigilancia sanitaria de peneidos silvestres en los principales canales de marea de Tumbes, Perú.
- Raso, S., van Genugten, B., Vermuë, M., Wijffels, R. H. (2011). Effect of oxygen concentration on the growth of *Nannochloropsis sp.* at low light intensity. En *Journal of Applied Phycology* (Vol. 24, Issue 4, pp. 863-871). Springer Science and Business Media LLC.
- Razzak, S., Al-Aslani, I., Hossain, M. (2016). Hydrodynamics and mass transfer of CO₂ in water in a tubular photobioreactor. *Engineering in Life Sciences*, 16(4), 355-363.
- Ramanathan, G., Rajarathinam, K., Boothapandi, M., Abirami, D., Ganesamoorthy, G., Duraipandi (2011). Construction of vertical tubular photobioreactor for microalgae cultivation. *J. Algal Biomass Utiln.*, 2(2):41–52.
- Rojó Cebreros, A., Morales Plascencia, M., Ibarra Castro, L., Martínez Brown, J., & Medina Jasso, M. (2016). Floculación de *Nannochloropsis sp.* inducida por hidróxido de sodio: eficiencia de floculación, efecto sobre la viabilidad microalgal y su uso como alimento para rotíferos. En *Latin American Journal of Aquatic Research* (Vol. 44, Issue 4, pp. 662-670). Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
- Sánchez, L. (2017) Análisis sectorial de la cadena de valor, bajo el enfoque value links, para la concha de abanico en la Bahía de Sechura. Tesis para optar el título de Ingeniero pesquero. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Santos-Ballardo, D., Rossi, S., Hernández, V., Gómez, R., Del Carmen Rendón-Unceta, M., Caro-Corrales, J., Valdez-Ortiz, A. (2015). A simple spectrophotometric method for biomass measurement of important microalgae species in aquaculture. *Aquaculture*, 448, 87-92.
- Singh, P., Gupta, S., Guldhe, A., Rawat, I., Bux, F. (2015). Microalgae Isolation and Basic Culturing Techniques. En *Handbook of Marine Microalgae* (pp. 43-54). Elsevier.

- Singh, R., Sharma, S. (2012). Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. En *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 16, Issue 4, pp. 2347-2353). Elsevier BV.
- Southgate, P., Beer, A., Ngaluafe, P. (2016). Hatchery culture of the winged pearl oyster, *Pteria penguin*, without living micro-algae. *Aquaculture*, 451, 121-124
- Sukačová, K., Lošák, P., Brummer, V., Máša, V., Vícha, D., Zavřel, T. (2021). Perspective Design of Algae Photobioreactor for Greenhouses—A Comparative Study. En *Energies* (Vol. 14, Issue 5, p. 1338). MDPI AG.
- Ugwu, C., Aoyagi, H., Uchiyama, H. (2008). Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource Technology*, 99(10), 4021-4028
- Velasco, L., Carrera, S., Barros, J. (2017). *Isolation, culture and evaluation of Chaetoceros muelleri from the Caribbean as food for the native scallops, Argopecten nucleus and Nodipecten nodosus*. En *Latin American Journal of Aquatic Research* (Vol. 44, Issue 3, pp. 557-568). Pontificia Universidad Catolica de Valparaiso.
- Yap, B., Dumsday, G., Scales, P., Martin, G. (2015). Energy evaluation of algal cell disruption by high pressure homogenisation. *Bioresource Technology*, 184, 280-285.
- Ynga G. Niño A. (2019) Manual para producción de microalgas marinas en el Instituto del Mar del Perú. Informe IMARPE;46(1), 2019

ANEXOS

Anexo 1: Preparación medio Guillard F/2 para microalgas marinas

Se preparan las soluciones stock R1, R2, R3 y R4 de acuerdo a las tablas 1-4.

Tabla 1: Preparación para 1L de solución R1 o solución de macronutrientes

Reactivos	Masa Molecular	Masa (g)	Molaridad final
NaNO ₃	84.9947	75	8.82E-04
NaH ₂ PO ₄ . 2H ₂ O	156	5	3.21E-05

Tabla 2: Preparación para 1L de solución R2 o solución de Metales Traza

Reactivo	Masa Molecular	Masa (g)	Molaridad final
Na ₂ EDTA . 2H ₂ O	372.2368	0.436	1.17E-06
FeCl ₃ . 6 H ₂ O	270.2957	0.315	1.17E-06
CuSO ₄ . 5 H ₂ O	249.685	0.01	4.01E-08
ZnSO ₄ . 7 H ₂ O	287.5496	0.022	7.65E-08
CoCl ₂ . 6 H ₂ O	237.9309	0.01	4.20E-08
MnCl ₂ . 4 H ₂ O	197.9052	0.18	9.10E-07
Na ₂ MoO ₄ . 2 H ₂ O	241.9677	0.006	2.48E-08

Tabla 3: Preparación para 100mL de solución R3 o solución de Vitaminas.

Reactivo	Masa Molecular	Masa (g)	Molaridad final
tiamina HCl (vit. B1)	337.3	0.2	2.96E-07
cianocobalamina (vit. B12)	1355.38	0.25	9.22E-08
biotin (vit. H)	244.31	0.01	2.05E-08

Tabla 4: Preparación para 1L de solución R4 o solución de Silicatos.

Reactivo	Masa Molecular	Masa (g)	Molaridad final
Na ₂ SiO ₃ .5H ₂ O*	212.1396	30	1.06E-04

A continuación, se vierte 1ml de solución de R1, R2 Y R3 por cada litro de medio de cultivo a preparar. Asimismo, se vierte 100 ml de solución de R3 por cada litro de cultivo a preparar.

Anexo 2: Datos preliminares obtenidos en laboratorio *Science Support Perú S.A.C.*

A) Datos de cultivo de diferentes especies de microalgas

a. Cultivo de *Chaetoceros calcitrans*

Fecha:	Marzo de 2021			Temperatura AC:	20 °C			
Especie	<i>Chaetoceros calcitrans</i>			Iluminación :	4120 lux			
Código :	CHAEC 10A			Fuente de luz:	2 - Led T8 16W 6500K			
Medio de cultivo	Medio Guillard F/2 + S			Distancia:	15 cm			
Volumen:	6 L			pH inicial:	8.2			
	Día	15	16	17	18	19	20	21
Conteo en cuadrantes de 0.025mm (cel/ml / 250 000)	1° Conteo	2	4	9	12	24	32	30
	2° Conteo	3	4	6	14	21	35	39
	3° Conteo	6	6	8	16	25	38	36
	4° Conteo	2	3	9	14	28	31	34
	5° Conteo	4	5	8	12	26	31	38
Día de cultivo		0	1	2	3	4	5	6
Promedios x 250 000 (cel/ml)		8.5E+05	1.1E+06	2.0E+06	3.4E+06	6.2E+06	8.4E+06	8.9E+06
Desv. Est x 250 000 (cel/ml)		4.18E+05	2.85E+05	3.06E+05	4.18E+05	6.47E+05	7.62E+05	8.94E+05
Tiempo de duplicación			64.229	27.700	31.208	27.564	55.624	284.752
Tasa de crecimiento			0.011	0.025	0.022	0.025	0.012	0.002

b. Cultivo de *Isochrysis galbana*

Fecha:	Abril del 2021			Temperatura AC:	20 °C			
Especie	<i>Isochrysis galbana</i>			Iluminación :	3750 lux			
Código :	ISO 11A			Fuente de luz:	Led T8 16W 6500K			
Medio de cultivo	Medio Guillard F/2			Distancia:	18 cm			
Volumen:	6 L			pH inicial:	8.1			
	Día	5	6	7	8	9	10	11
Conteo en cuadrantes de 0.025mm (cel/ml / 250 000)	1° Conteo	3	4	12	21	28	30	30
	2° Conteo	6	8	10	24	32	35	33
	3° Conteo	4	7	14	24	29	39	39
	4° Conteo	8	8	13	25	32	31	34
	5° Conteo	4	9	9	21	35	28	31
Día de cultivo		0	1	2	3	4	5	6
Promedios x 250 000 (cel/ml)		1.3E+06	1.8E+06	2.9E+06	5.8E+06	7.8E+06	8.2E+06	8.4E+06
Desv. Est x 250 000 (cel/ml)		5.00E+05	4.81E+05	5.18E+05	4.68E+05	6.94E+05	1.10E+06	8.77E+05
Tiempo de duplicación			45.414	34.723	24.193	54.309	377.271	683.067
Tasa de crecimiento			0.015	0.020	0.029	0.013	0.002	0.001

c. Cultivo de *Nannochloropsis oculata*

Fecha:	Abril del 2021				Temperatura AC:	20 °C		
Especie	<i>Nannochloropsis oculata</i>				Iluminación :	2890 lux		
Código :	NANO 7A				Fuente de luz:	Led T8 16W 6500K		
Medio de cultivo	Medio Guillard F/2				Distancia:	22 cm		
Volumen:	6 L				pH inicial:	8		
	Día	19	20	21	22	23	24	25
	Dilución	1	1	1	4	4	4	4
Conteo en cuadrantes de 0.025mm (cel/ml / 250 000)	1° Conteo	15	12	19	12	28	29	30
	2° Conteo	14	19	25	15	25	27	31
	3° Conteo	15	18	25	14	21	30	30
	4° Conteo	12	20	28	12	28	28	32
	5° Conteo	19	22	24	11	26	30	25
Día de cultivo		0	1	2	3	4	5	6
Promedios x 250 000 (cel/ml)		3.8E+06	4.6E+06	6.1E+06	1.3E+07	2.6E+07	2.9E+07	3.0E+07
Desv. Est x 250 000 (cel/ml)		6.37E+05	9.42E+05	8.18E+05	1.64E+06	2.88E+06	1.30E+06	2.70E+06
Tiempo de duplicación			85.638	58.119	22.098	23.891	140.597	604.402
Tasa de crecimiento			0.008	0.012	0.031	0.029	0.005	0.001

B) Datos sobre ensayos preliminares de irradiancia máxima para diferentes especies de microalgas

Tabla 1: Tasa de crecimiento a diferentes exposiciones de irradiancia para *Isochrysis galbana*

Irradiancia (Lux)	Tasa de crecimiento máxima para <i>Isochrysis galbana</i>
3102	0.026
3750	0.029
3988	0.028
4210	0.019

Irradiancia máxima aproximada= aprox. 3900 Lux

Tabla 2: Tasa de crecimiento a diferentes exposiciones de irradiancia para *Nannochloropsis oculata*

Irradiancia (Lux)	Tasa de crecimiento máxima para <i>Nannochloropsis oculata</i>
2545	0.021
2890	0.031
3499	0.025
3750	0.024

Irradiancia máxima aproximada= aprox. 2900 Lux

Tabla 3: Tasa de crecimiento a diferentes exposiciones de irradiancia para *Chaetoceros calcitrans*

Irradiancia (Lux)	Tasa de crecimiento máxima para <i>Chaetoceros calcitrans</i>
2581	0.017
4120	0.025
4495	0.025
5124	0.021

Irradiancia máxima aproximada= aprox. 4500 Lux