

**DISEÑO CONCEPTUAL DE UN PROCESO DE CULTIVO Y  
OBTENCIÓN DE *Cyanobacteria Arthrospira Platensis***

**BERNARDO DAVID TORRES URANGO**

**DANIEL CORREA TRUJILLO**

**UNIVERSIDAD EAFIT**

**ESCUELA DE INGENIERÍA**

**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE PROCESOS**

**MEDELLÍN**

**2008**

**DISEÑO CONCEPTUAL DE UN PROCESO DE CULTIVO Y  
OBTENCIÓN DE *Cyanobacteria Arthrospira Platensis***

**BERNARDO DAVID TORRES URANGO**

**DANIEL CORREA TRUJILLO**

**Proyecto de grado para optar al título de  
Ingeniero de Procesos**

**Asesor: LUIS ORLANDO MÁRQUEZ VARGAS  
INGENIERO MECÁNICO MSc. EN MANTENIMIENTO INDUSTRIAL**

**UNIVERSIDAD EAFIT  
ESCUELA DE INGENIERÍA  
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE PROCESOS  
MEDELLÍN**

**2008**

**Nota de aceptación:**

---

---

---

---

---

---

---

**Firma del jurado**

---

**Firma del jurado**

---

**Firma del jurado**

**Fecha y Ciudad:**

## TABLA DE CONTENIDO

GLOSARIO .....	11
RESUMEN.....	14
INTRODUCCIÓN .....	15
OBJETIVOS.....	17
OBJETIVO GENERAL .....	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
1. MARCO TEÓRICO .....	18
1.1 Cyanobacteria Arthrospira Platensis .....	18
1.2 Componentes del alga de Spirulina.....	19
1.3 Medios de cultivo.....	21
1.3.1 Medio Zarrouk.....	21
1.3.2 Medio Urea .....	23
1.3.3 Medio Utex.....	24
1.4 Diseño conceptual.....	26
2. Diseño metodológico .....	28
2.1 Evaluación de la influencia del tipo de medio de cultivo en el crecimiento de la Spirulina .....	28
2.1.1 Ubicación .....	28
2.1.2 Obtención de la cepa.....	28
2.1.3 Obtención del inóculo .....	28
2.1.4. Medios de Cultivos.....	29
2.1.5. Condiciones del cultivo .....	29

2.1.6 Toma de muestras .....	30
2.1.7 Medición de la biomasa .....	30
2.2 Determinación del contenido proteico .....	30
3. Análisis de resultados y discusión .....	32
3.1 Crecimiento de Spirulina .....	32
3.2 Extracción del alga del medio de cultivo .....	33
3.3 Producción de la Spirulina.....	34
3.4 Análisis proteico .....	35
3.5 Análisis estadístico.....	37
3.5.1 Modelo estadístico.....	37
3.5.2 Análisis de varianza para medios de cultivos .....	37
3.5.3 Análisis de rangos múltiples para medios de cultivo.....	38
3.5.4 Análisis de varianza y de rangos múltiples entre medios de cultivo y sus duplicados .....	40
3.6 Diseño conceptual.....	42
3.6.1 Preparación del inóculo .....	42
3.6.2 Capacidad de producción .....	42
3.6.3 Requerimientos del proceso. ....	43
3.6.4 Diagramas .....	45
3.6.5 Balance de materia.....	47
3.6.6 Estimación de costos.....	55
CONCLUSIONES .....	60
RECOMENDACIONES.....	62
Bibliografía.....	63

ANEXO 1 ..... 66

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1. Composiciones estándar del polvo seco de la Spirulina (Jiménez et al., 2003) .....</b>	<b>20</b>
<b>Tabla 2. Medio de cultivo Zarrouk (Zarrouk, 1966).....</b>	<b>22</b>
<b>Tabla 3. Medio de Cultivo con Urea.....</b>	<b>24</b>
<b>Tabla 4. Solución 1 para el Medio de Cultivo Utex (Utex, 2006).....</b>	<b>25</b>
<b>Tabla 5. Solución 2 para el Medio de Cultivo Utex (Utex, 2006).....</b>	<b>25</b>
<b>Tabla 6. Concentración obtenida en cada uno de los medios de cultivo .....</b>	<b>34</b>
<b>Tabla 7. Análisis de varianza de los medios de cultivos en cada uno de los días en los cuales se desarrolló el proyecto.....</b>	<b>38</b>
<b>Tabla 8. Análisis de rangos múltiples para los tres medios de cultivo..</b>	<b>39</b>
<b>Tabla 9. Análisis de varianza de los medios de cultivos y sus duplicados .....</b>	<b>40</b>
<b>Tabla 10. Análisis de rangos múltiples para los tres medios de cultivos y sus duplicados.....</b>	<b>41</b>
<b>Tabla 11. Valores asumidos para la corriente de aire.....</b>	<b>47</b>
<b>Tabla 12. Características principales del equipo P-101.....</b>	<b>49</b>
<b>Tabla 13. Características principales del equipo R-101 .....</b>	<b>49</b>
<b>Tabla 14. Características principales del equipo F-101.....</b>	<b>50</b>
<b>Tabla 15. Características principales del equipo S-101.....</b>	<b>50</b>
<b>Tabla 16. Tabla de Corrientes (los datos están expresados para la producción de un lote lo equivalente a una semana).....</b>	<b>52</b>
<b>Tabla 17. Condiciones climáticas y geodésicas (Ideam, 2006).....</b>	<b>53</b>
<b>Tabla 18. Costo de las materias primas por medio Zarrouk .....</b>	<b>55</b>

<b>Tabla 19. Costo de las materias primas por medio Utex.....</b>	<b>56</b>
<b>Tabla 20. Mano de obra requerida mensual.....</b>	<b>57</b>
<b>Tabla 21. Costo de los servicios.....</b>	<b>58</b>
<b>Tabla 22. Costos de capital.....</b>	<b>59</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1. Sistema en el cual se dio el crecimiento del cultivo de Spirulina .....</b>	<b>32</b>
<b>Figura 2. Figura 2a (izquierda) Vista microscópica de la Spirulina adquirida. Figura 2b (derecha) Vista microscópica del inóculo de Spirulina antes de la siembra .....</b>	<b>33</b>
<b>Figura 3. Spirulina luego del proceso de filtrado.....</b>	<b>33</b>
<b>Figura 4. Muestra de Spirulina del medio Urea y Utex después del filtrado.....</b>	<b>37</b>
<b>Figura 5. Diagrama General de Entradas y Salidas .....</b>	<b>45</b>
<b>Figura 6. Diagrama Genérico de Bloques.....</b>	<b>45</b>
<b>Figura 7. Diagrama de Bloques del Proceso .....</b>	<b>46</b>
<b>Figura 8. Diagrama de Flujo de Procesos (PFD) .....</b>	<b>51</b>
<b>Figura 9. Distribución de la planta .....</b>	<b>54</b>

## LISTA DE GRAFICOS

<b>Gráfica 1. Aumento de la concentración de Spirulina dentro de los medios de cultivo.....</b>	<b>35</b>
<b>Grafico 2. Porcentajes del contenido proteico.....</b>	<b>36</b>
<b>Gráfico 3. Gráfico de medias para cada uno de los cultivos utilizados. .</b>	<b>39</b>
<b>Gráfico 4. Gráfico de medias para cada uno de los cultivos y sus duplicados.....</b>	<b>42</b>

## GLOSARIO

**Aminoácidos Esenciales:** Un aminoácido es una biomolécula orgánica formada por un carbono unido a un grupo carboxil, un grupo amino, un hidrógeno y una cadena R de composición variable según la cual se conocen 20 tipos de aminoácidos diferentes. La unión de varios aminoácidos da lugar a cadenas llamadas péptidos. Se hablará de proteína cuando la cadena polipeptídica supere los 50 aminoácidos o el peso molecular total supere los 5000. Los aminoácidos esenciales son aquellos que no se pueden sintetizar a partir de otros recursos de la dieta. Esto implica que la única fuente de estos aminoácidos en esos organismos es la ingesta directa a través de la dieta.

**ANOVA:** En estadística, análisis de varianza (ANOVA, según terminología inglesa) es una colección de modelos estadísticos y sus procedimientos asociados. El análisis de varianza sirve para comparar si los valores de un conjunto de datos numéricos son significativamente distintos a los valores de otro o más conjuntos de datos. El procedimiento para comparar estos valores está basado en la varianza global observada en los grupos de datos numéricos a comparar. Típicamente, el análisis de varianza se utiliza para asociar una probabilidad a la conclusión de que la media de un grupo de puntuaciones es distinta de la media de otro grupo de puntuaciones.

**Biomasa:** Es la abreviatura de masa biológica, cantidad de materia viva producida en un área determinada por organismos de un tipo específico.

**Cianobacteria:** Viene del griego ciano = azul y es el nombre de un filo del reino Bacteria (único del dominio del mismo nombre) que comprende a las cianobacterias y, en algún sentido, a sus descendientes por endosimbiosis, los plastos. Las cianobacterias fueron designadas durante mucho tiempo como cianófitas (Cyanophyta, literalmente plantas azules) o cianofíceas

(Cyanophyceae, literalmente algas azules), castellanizándose lo más a menudo como algas verdeazuladas.

**Efecto invernadero:** Un invernadero (o invernáculo) es una construcción de vidrio o plástico en la que se cultivan plantas, a mayor temperatura que en el exterior. Aprovecha el efecto producido por la radiación solar que, al atravesar un vidrio u otro material traslúcido, calienta los objetos que hay detrás; estos, a su vez, emiten radiación con una longitud de onda mayor que la solar (radiación infrarroja). En ausencia de un recubrimiento el calor absorbido se eliminaría por corrientes convectivas y por la emisión de radiación infrarroja (longitud de onda superior a la visible). La presencia de los cristales impide el transporte del calor acumulado hacia el exterior por convección y obstruye la salida de una parte de la radiación infrarroja. El efecto neto es el de acumulación de calor y aumento de temperaturas del recinto.

**FAO:** Organización para la Alimentación y la Agricultura de Naciones Unidas  
FAO por sus siglas en inglés provenientes de “Food and Agriculture Organisation”.

**Fotólisis:** La fotólisis es la ruptura de enlaces químicos por causa de energía radiante. Se llama fotólisis o fotolisis a la disociación de moléculas orgánicas complejas por efecto de la luz.

**Microalga:** Las microalgas son protistas fotosintéticos. En general, son los más eficientes conversores de energía solar debido a su sencilla estructura celular. Además, al estar suspendidas en agua, tienen un mejor acceso al CO<sub>2</sub> y otros nutrientes. Se encuentran ampliamente distribuidas en la biósfera adaptadas a una gran cantidad de condiciones.

**Proceso batch:** También conocido como proceso por lotes, es un proceso discontinuo, en el que se presenta un ingreso puntual de ciertas materias primas y se obtienen los productos después de un cierto tiempo determinado,

no presenta flujos constantes de producto, sino que como su nombre lo indica se da una producción por lotes.

**Tricomas cilíndricas:** En histología vegetal, se conoce como tricoma a cualquier estructura epidérmica que tenga aspecto de pelo. Los tricomas se enemistan en glandulares, es decir, los que elaboran sustancias y los no glandulares, que no secretan nada más que su propia pared.

## RESUMEN

Se evaluó el crecimiento del alga *Spirulina Platensis* en la ciudad de Medellín a presión y temperatura promedio de 0.84 atm y 24°C respectivamente, en tres medios de cultivo: Medio Zarrouk, Medio Utex y Medio Urea (experimental). Las pruebas fueron realizadas a escala de laboratorio en tanques de 2 l, con aireación constante, la agitación fue proporcionada por la aireación, rango de pH entre 9-11; se realizaron mediciones diarias para controlar la variable de crecimiento mediante el cálculo del peso seco y se cuantificó el contenido proteico del alga cultivada en cada uno de los medios.

De los resultados obtenidos se definió el medio Utex como la mejor alternativa, debido a que presentó el mayor crecimiento, 11 g/l partiendo de una concentración inicial de 1.5 g/l y un contenido proteico de 46.8% en peso seco.

Se presenta un diseño conceptual para la producción de Spirulina partiendo de los resultados obtenidos y escalando el proceso para obtener una producción de 11 Kg de Spirulina por semana, la capacidad de producción se definió para un proceso a baja escala, de modo que personas de bajos recursos puedan realizar pequeñas producciones para consumo familiar y local, recibiendo beneficio económico de ventas y beneficio nutricional del consumo del alga.

El estudio económico muestra las ventajas y facilidad de implementación este tipo de cultivo y determina la factibilidad del proyecto.

## INTRODUCCIÓN

La *Cyanobacteria Arthrospira Platensis* es una micro-alga presente en la tierra desde sus inicios y crece en estado natural en los lagos salados y alcalinos de las regiones calientes de la tierra. Vista desde un microscopio, aparece bajo la forma de un muelle cilíndrico, por lo cual fue llamada Spirulina. Es un alimento con alto contenido proteico, entre un 60 a un 70 % en peso seco de proteínas, es conocida porque sus proteínas son de excelente calidad y contiene todos los ácidos esenciales (Jourdan, 1999).

Actualmente, en Colombia se cuenta con poca investigación y desarrollo sobre el tema de la Spirulina, y pocas personas utilizan ésta alga como suplemento alimenticio o conocen sus altos valores nutricionales. La Spirulina que se encuentra en el mercado colombiano es importada por varias empresas, entre las que se encuentra “Inali” ubicada en la ciudad de Cali, y se puede conseguir en algunas tiendas naturistas.

Con este proyecto de investigación se desea profundizar sobre el cultivo y el análisis de diferentes condiciones en las cuales se puede desarrollar dicho cultivo del alga Spirulina en Medellín y su producción como una fuente alternativa de suplemento alimenticio para una alimentación adecuada. La Spirulina por su alto contenido de proteínas, es usada en algunos países para combatir la desnutrición y problemas alimenticios, en países como China, India y Sudáfrica; el producto de este proyecto de investigación puede ser apoyado por gobiernos locales en regiones colombianas que sufran de altos niveles de desnutrición en la población, como se ve en los departamentos del Chocó, la Guajira, Antioquia y el Amazonas puesto que según lo observado, con este estudio realizado en la Universidad EAFIT y en la Universidad Nacional Sede Medellín, los cultivos poseen bajos costos de

producción y de mantenimiento y representan una alternativa viable, sostenible y de alto contenido proteico.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Diseñar un proceso productivo para la obtención de la Spirulina como suplemento alimenticio mediante la evaluación de diferentes condiciones de crecimiento.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar diferentes condiciones de cultivo (tipo de abono) en el crecimiento de la micro-alga Spirulina con el fin de determinar cuáles presentan mayores rendimientos y/o productividades.
- Emplear medios manuales de bajo costo para la extracción de la Spirulina, con el fin de brindar alternativas de desarrollo sostenible en poblaciones de bajos recursos económicos.
- Determinar la calidad de la Spirulina mediante la cuantificación del contenido proteico, de cada uno de los cultivos, por el método de Kjeldahl.
- Diseñar un proceso productivo (diseño conceptual), que permita obtener la Spirulina en polvo para uso doméstico y/o local como materia prima para la preparación e incorporación en los alimentos.

## 1. MARCO TEÓRICO

El cultivo comercial de microalgas y cianobacterias a escala industrial comenzó con la cultura de *Chlorella* en Japón alrededor de 1960 y seguida por el cultivo de *Spirulina* en México, Estados Unidos y China en 1970. En los últimos 30 años, la industria biotecnológica de microorganismos fotosintéticos ha crecido y se ha diversificado. Los microorganismos fotosintéticos más importantes comercialmente producidos son *Spirulina*, *Chlorella* y *Dunaliella*. Una característica de estas es que por crecer en un medio altamente selectivo pueden ser cultivadas en sistemas abiertos y permanecer relativamente libres de contaminación por otros microorganismos (Radmann, *et al.*, 2007). Sin embargo estudios realizados desde 1950 muestran que algas como *Chlorella* y *Scenedesmus* presentan altos costos de extracción y secado, además de la presencia de una membrana celulosa con baja digestibilidad, caso que no se presenta en la *Spirulina platensis* ya que esta tiene una membrana polisacárida (Danesi *et al.*, 2002).

### 1.1 Cyanobacteria *Arthrospira Platensis*

La *Cyanobacteria Arthrospira Platensis*, llamada también alga azul, o más comúnmente *Spirulina*, apareció en la tierra hace 3500 millones de años. La *Spirulina* consiste en células que miden 3.5-10  $\mu\text{m}$  de ancho y se alinean una al lado de la otra. El filamento tiene una forma de espiral con un diámetro de 20-100  $\mu\text{m}$ , o se vuelve recto en culturas artificiales (Desmorieux y Decaen, 2005). Posee un arreglo multicelular de tricomas cilíndricos, con una hélice abierta a mano derecha a lo largo de toda la estructura del filamento (Colla *et al.*, 2007).

Tanto en cultivos (batch) abierto como cerrados, la composición de la *Spirulina Platensis* está considerablemente influenciada por las condiciones

del cultivo, incluyendo pH, intensidad de la luz, presencia de contaminantes, temperatura, presencia de iones de bicarbonato, fuente de nitrógeno, tipo de biorreactor, concentración de biomasa inicial y densidad de la población. (Radmann *et al.*, 2007)

Esta crece en regiones con altos contenidos de salinidad, por lo que su cultivo es ideal para ser realizado en zonas costeras incluso en zonas áridas. Para su crecimiento, la *Spirulina* necesita aguas alcalinas con contenidos o potenciales de hidrogeno (pH) entre valores de 9 a 11, pudiendo desarrollar así cinco veces más proteína que la carne y un patrón bien equilibrado de los aminoácidos comparado con el de otras algas. (Desai y Sicakami, 2006).

## **1.2 Componentes del alga de Spirulina**

La biomasa de la *Spirulina Platensis* está constituida por 70% de proteínas aproximadamente; todos los aminoácidos presentes en ésta se encuentran en proporciones recomendadas por el FAO, exceptuando la metionina. Este microorganismo también posee un contenido considerable de lípidos, básicamente constituido por ácidos grasos poli-insaturados, como el linolénico y el linoléico, en proporciones de 1.24% y 1.04%, respectivamente. Esta microalga posee alto contenido de vitaminas (10 de ellas especialmente B12 y  $\beta$ -caroteno), y algunos pigmentos como carotenoides, xantofilas, ficobiliproteínas y clorofila (Danesi *et al.*, 2002). La tabla 1 muestra algunos de los componentes más representativos de la *Spirulina* y sus proporciones.

**Tabla 1. Composiciones estándar del polvo seco de la Spirulina (Jiménez et al., 2003)**

Composición	
Ficocianina (g/Kg)	140
Clorofila (g/Kg)	6.1-10
Carotenoides (g/Kg)	3.7
$\beta$ -Caroteno (g/Kg)	1.5-1.9
Proteínas (%)	55-70
Humedad (%)	4-7
Cenizas (%)	6-13

La Spirulina es utilizada por sus propiedades terapéuticas ya que la ficocianina (pigmento azul usado como colorante para comidas y bebidas en Japón (Pelizer *et al.*, 2003) es un antiinflamatorio y un antioxidante. Las sustancias oxidantes tienen efectos directos o conducen indirectamente a varias enfermedades tales como la diabetes, Alzheimer, artritis, cáncer, envejecimiento, entre otras. (Desai y Sivakami, 2006), los polisacáridos tienen efectos anti-tumores y antivirales y el ácido gamma linolénico se usa para la reducción del colesterol. Además, su uso no es tóxico y por su alto contenido proteico, la agencia europea espacial lo seleccionó para la dieta de los astronautas y es usado en clínicas para tratar la malnutrición (Desmorieux y Decaen, 2005), igualmente está siendo considerado por la NASA como un alimento ideal y es aclamada como el alimento del futuro (Raouf *et al.*, 2006), también algunos estudios clínicos y pre-clínicos sugieren otros usos

terapéuticos como disminución del colesterol en la sangre, protección contra algunos cánceres, mejora del sistema inmune, incremento de lactobacilos intestinales, reducción de nefrotoxicidad por metales pesados y drogas, protección contra la radiación, reducción de hiper-lipidemia y obesidad, y algunos extractos acuosos de la *Spirulina platensis* parcialmente inhiben replicación del VIH-1 en algunas células humanas (Jiménez *et al.*, 2003).

### **1.3 Medios de cultivo**

#### **1.3.1 Medio Zarrouk**

El primer medio sintético formulado para el cultivo de la *Spirulina* fue el medio de Zarrouk, el cual es todavía usado como medio estándar. Este fue definido por primera vez en 1966, y trabajos anteriores muestran que algunos componentes de este medio pueden ser diluidos un poco ya que la concentración de algunos de sus nutrientes es lo suficientemente alta (Radmann *et al.*, 2007). El medio se muestra en la Tabla 2.

En los componentes del medio Zarrouk el fósforo tiene un rol esencial ya que mantiene altas tasas de producción en cultivos de microalgas, la mayor forma en que el alga adquiere el fósforo es a través de fosfatos inorgánicos como  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  o  $\text{HPO}_4^{2-}$  y la *Spirulina* puede utilizar satisfactoriamente el fósforo en la forma  $\text{P}_2\text{O}_5$ . También el potasio juega un papel importante, es un cofactor para muchas enzimas, está involucrado en la síntesis de proteínas, regulación osmótica y es esencial para el crecimiento.

**Tabla 2. Medio de cultivo Zarrouk (Zarrouk, 1966)**

Sustancia	Concentración (g/L)
NaHCO <sub>3</sub>	13.61
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	1.03
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.50
NaNO <sub>3</sub>	2.50
KSO <sub>4</sub>	1.00
NaCl	0.20
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.04
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.01
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.05
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2.86
MnCl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	1.81
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.22
NaMoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.39
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0.079
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0.049
VO <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	49.6 mg
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	96.0 mg
NiSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	47.8 mg
Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	17.9 mg
TiOSO <sub>4</sub>	33.3 mg
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	44.0 mg

El sulfuro es un constituyente de algunos aminoácidos esenciales, vitaminas y sulfolípidos, que ayudan al crecimiento del alga. El bicarbonato actúa no solo como fuente de carbonos, sino que regula las condiciones alcalinas en el cultivo. La Spirulina por ser una cianobacteria no-diazotrófica requiere

nitrógeno en el medio generalmente suministrado por el  $\text{NaNO}_3$ . Además, este último es fundamental para el crecimiento y no se debe tener en concentraciones menores a 2.5 g/l (Raouf *et al.*, 2006), el nitrógeno también es requerido para la síntesis de aminoácidos que hacen las proteínas y otros componentes celulares como la ficocianina (Colla *et al.*, 2007). Una reducción en el NaCl refleja una reducción en el crecimiento, por lo que NaCl es requerido en pequeñas proporciones. El magnesio ocupa una posición estratégica en el aparato fotosintético como centro de la molécula de clorofila, entonces, todas las cianobacterias tienen un absoluto requerimiento de este elemento, así mismo tiene un rol en la agregación de ribosomas en unidades funcionales y en la formación de catalasa. Por último, la reducción de  $\text{CaCl}_2$  conduce a un decrecimiento significativo del crecimiento del alga, y el calcio es un requerimiento esencial para la actividad en la membrana celular y un catalizador en reacciones enzimáticas (Raouf *et al.*, 2006).

### **1.3.2 Medio Urea**

El medio utilizado consta básicamente de una fuente de carbono y una de nitrógeno esto es bicarbonato y urea, respectivamente, como se muestra en la tabla 3. La urea, también conocida como carbamida, carbonildiamida o ácido arbamídico, es el nombre del ácido carbónico de la diamida, cuya fórmula química es  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ . Es una sustancia nitrogenada producida por algunos seres vivos como medio de eliminación del amoníaco. La urea se presenta como un sólido cristalino y blanco de forma esférica o granular. Es una sustancia higroscópica, es decir, que tiene la capacidad de absorber agua de la atmósfera y presenta un ligero olor a amoníaco. Es muy soluble en agua, alcohol y amoníaco. Poco soluble en éter y otros a temperatura ambiente. Soluciones neutras de urea, se hidrolizan muy lentamente en ausencia de microorganismos, dando amoníaco y dióxido de carbono. La cinética aumenta a mayores temperaturas, con el agregado de ácidos o

bases y con un incremento de la concentración de urea (Textos científicos, 2007).

**Tabla 3. Medio de Cultivo con Urea.**

Sustancia	Concentración
Bicarbonato de sodio	25,61 gr/l agua destilada
Urea	3,5 gr / 500 ml agua destilada

La urea seleccionada como fuente de nitrógeno para la *Spirulina* incrementa la producción de biomasa y también el contenido de clorofila. La urea se hidroliza a amoníaco en un medio alcalino y puede ser tóxica para el alga en concentraciones altas (esto es en el orden de 10mM en el pH utilizado) y debido a la volatilidad del amoníaco puede causar un déficit en la nutrición del alga pero se puede solucionar con la continua adición de urea (Danesi *et al.*, 2002).

### **1.3.3 Medio Utex**

Como recomendaciones de este medio se debe prevenir la formación de precipitados preparando dos soluciones descritas en las tablas 4 y 5. Luego de completar las dos soluciones, se debe verter la solución 2 en la solución 1 y agitar para mezclar completamente, y se recomienda mantener a temperaturas bajas para mayor conservación del medio. (Utex, 2006)

**Tabla 4. Solución 1 para el Medio de Cultivo UTEX (UTEX, 2006)**

Sustancia	Concentración
NaHCO <sub>3</sub>	13.61 g/500 mL H <sub>2</sub> O
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	4.03 g/500 mL H <sub>2</sub> O
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5 g/500 mL H <sub>2</sub> O

**Tabla 5. Solución 2 para el Medio de Cultivo UTEX (UTEX, 2006)**

Sustancia	Concentración
NaNO <sub>3</sub>	2.5 g/500 mL
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 g/500 mL
NaCl	1 g/500 mL
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.2 g/500 mL
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.04 g/500 mL
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	0.75 g/L
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.097 g/L
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.041 g/L
ZnCl <sub>2</sub>	0.005 g/L
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.002 g/L
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.004 g/L
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.02 g/L
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.044 g/L
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.02 g/L
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.012 g/L
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.012 g/L
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.62 g/L
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	0.05 g/L
HEPES buffer pH 7.8	2.4 g/200 mL H <sub>2</sub> O
Vitamina B <sub>12</sub>	0.027 g/ 200 mL H <sub>2</sub> O

## 1.4 Diseño conceptual

“El diseño de Ingeniería es un proceso iterativo, o sea que se modifica continuamente hasta cumplir un criterio de calidad aceptable desde el punto de vista de los siguientes elementos:

- La ética, la más fundamental de todas las decisiones de Diseño
- La seguridad
- El costo
- La función
- La estética

Desde el punto de vista de las operaciones que constituyen su objeto de énfasis, el proceso de diseño se puede ocupar de:

- Operaciones del Diseño
- Operaciones de Producción
- Operaciones de Mercado

El producto del Diseño conceptual, como su nombre lo indica, es un concepto, el cual se refiere a la combinación de principios físicos, químicos y biológicos, que satisfacen la función o propósito, características, restricciones, atributos y deseos; después de analizar y escoger la mejor entre las mejores alternativas.

El Diseño Conceptual es crucial para el éxito o fracaso del proceso como tal y tiene gran impacto desde el punto de vista económico, para el Ingeniero de procesos este diseño se ocupa entonces de producir todos y cada uno de los siguientes resultados:

- El que proviene de un proceso de abstracción, en el cual se establece claramente la función o propósito que se debe aplicar a las entradas

(Materia, Energía, Información) para convertirlas en Productos (Materia, Energía, Información). Esto es asimilable al Diagrama General de Entradas y Salidas (Overall Diagram), Diagrama de Bloques de proceso (BFD), Diagrama Genérico de Bloques.

- Una matriz morfológica (Funciones, operaciones Unitarias vs. Portadores de función, alternativas)
- La estimación de los Costos (Capital y Manufactura), del tipo Orden de magnitud /Estudio.
- La definición de una función objetivo que permita sustentar la escogencia de la mejor alternativa.
- La producción de una estructura funcional, asimilable al Process Flow Diagram, PFD, que incluye:
  - Flowsheet, o secuencia de las operaciones (Incluye los lazos básicos de Control)
  - Tabla Resumen de los Equipos (Código de los equipos, Variables dependientes del Diseño)
  - Tabla de Corrientes (Exige el balance de masa y energía)
  - Descripción del Proceso

La escogencia de las alternativas o rutas químicas y físicas para desarrollar un proceso industrial, realizado durante la etapa Conceptual, encierra también la mayor oportunidad para la identificación de procesos inherentemente limpios desde el punto de vista ambiental” (Escobar, 2005).

## **2. DISEÑO METODOLÓGICO**

### **2.1 Evaluación de la influencia del tipo de medio de cultivo en el crecimiento de la Spirulina**

#### **2.1.1 Ubicación**

Los cultivos para el análisis de la influencia de los medios de cultivo en el crecimiento del alga se realizaron en la ciudad de Medellín. Los análisis, pruebas y diseño de experimento correspondiente a este trabajo se realizaron en la Universidad EAFIT sede Medellín, en los laboratorios de Biotecnología y Orgánica.

El análisis proteico del alga en los diferentes medios de cultivos se realizó en el laboratorio de análisis químico y bromatológico de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín.

#### **2.1.2 Obtención de la cepa**

La cepa de Spirulina utilizada para llevar a cabo este trabajo fue donada por el Ingeniero Químico Mauricio Posada, dedicado al cultivo y venta de peces, propietario del Acuario Calipso en Medellín.

#### **2.1.3 Obtención del inóculo**

La cepa adquirida se encontraba a concentraciones muy bajas y en condiciones no aptas para realizar un cultivo adecuado, por lo que se hizo necesario re-cultivarla en un medio que permitiera aumentar la concentración (g/ml), para poder extraer de esta el inóculo que permitiera realizar la siembra del alga en los diferentes medios de cultivo.

La activación de la cepa, para extraer los inóculos, se realizó en recipientes de 2 litros, con medio de cultivo Utex (Utex, 2006), las concentraciones y las sales componentes de este medio se describen en las tabla 4 y 5.

La Spirulina se dejó en este medio por un tiempo aproximado 6 semanas hasta alcanzar una concentración de 1.5 g/l, a partir de la cual se sacó el inóculo para realizar las siembras en los diferentes medios de cultivo.

#### **2.1.4. Medios de Cultivos**

En este trabajo se utilizaron tres medios de cultivos, dos encontrados en la bibliografía y otro preparado que fue llamado Medio Urea, debido al uso de esta en el medio; de esta forma, los medios utilizados se denominaran de aquí en adelante de la siguiente manera:

- Medio Zarrouk: Medio de cultivo tradicional para el cultivo del alga (Zarrouk, 1966). Para preparación del medio ver Tabla 2.
- Medio Utex: Medio de Cultivo publicado en la pagina web de la Universidad de Texas (Utex, 2006). Para preparación del medio ver Tablas 4 y 5.
- Medio Urea: medio experimental diseñado a partir de los medios Utex y Zarrouk. Para preparación del medio ver Tabla 3.

En el medio de cultivo experimental, los componentes se calcularon tomando como referencia el promedio de las sales con mayores cantidades de carbonatos y nitratos presentes en los medios Zarrouk y Utex. La tabla 3 muestra las sustancias y las concentraciones que se deben tenerse en cuenta en la elaboración de este medio de cultivo.

#### **2.1.5. Condiciones del cultivo**

Los cultivos fueron realizados en un área de 2 metros de largo por 1 metro de ancho, en una zona despejada para que en ellos hubiera mayor incidencia de la luz solar; para evitar cambios drásticos de temperatura o temperaturas bajas en épocas de lluvias, el área de cultivo fue forrado con plástico traslucido de 3 milímetros de espesor para asimilar el efecto invernadero, además, se instaló un bombillo de 100 vatios a una altura de 40 cm para

iluminar y aumentar la temperatura en dicha área (ver figura 1), sin embargo no hubo necesidad de utilizarlo debido a que se contó con un buen promedio de temperatura en la ciudad de Medellín para los medios de cultivo, 24 °C.

Volúmenes de 200 ml de inóculo fueron adicionados en recipientes con un volumen de 2 litros de medio de cultivo. La oxigenación de los cultivos se llevó a cabo con bombas de aire de pecera “Power Life P-500”, el burbujeo permitió agitar los cultivos por lo que no se hizo necesario agitación mecánica.

#### **2.1.6 Toma de muestras**

Las muestras fueron tomadas en intervalos de tiempo de 24 horas, el primer muestreo se tomó inmediatamente después de haber realizado la inoculación de los cultivos, cada muestreo fue de 1,5 mililitros, sacando 4 muestras por cultivo y su duplicado; las muestras se tomaron de puntos aleatoriamente y agitación para garantizar distribución homogénea.

#### **2.1.7 Medición de la biomasa**

La medición de la biomasa se llevó a cabo mediante la técnica de filtrado con una bomba de vacío referencia “Vacuubrand MZ 2C Diaphragm Pumps” y utilizando papel filtro Schleicher & Schuell # 595 Ø110mm.

La biomasa fue secada bajo las condiciones del Laboratorio de Biotecnología de la Universidad EAFIT, 20 °C y 35% de humedad relativa; se empleó un tiempo de secado de 24 horas, cada muestra filtrada fue de 1,5 mililitros de medio de cultivo, extrayendo de cada cultivo 4 muestras por día.

### **2.2 Determinación del contenido proteico**

La determinación del contenido proteico del alga en los diferentes medios de cultivos se realizó en el Laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico de

la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, mediante la utilización del método de Kjeldahl.

Este análisis fue realizado por personal de dicha universidad y costado por los realizadores de este trabajo de grado.

### 3. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Crecimiento de Spirulina

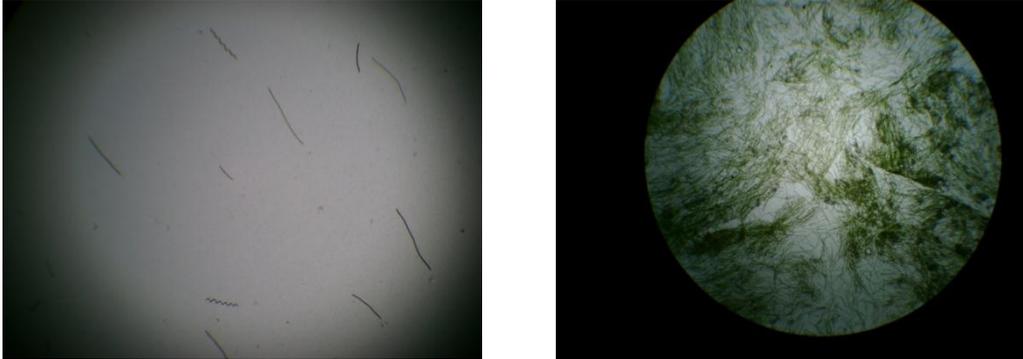
El crecimiento de la Spirulina se generó dentro de recipientes plásticos translucidos redondos de 30 centímetros de diámetro y 10 centímetros de altura, con capacidad para cuatro litros, en la figura 1 se muestra el sistema en el cual se llevó a cabo el crecimiento de la Spirulina en los diferentes medios.

***Figura 1. Sistema en el cual se dio el crecimiento del cultivo de Spirulina***



En las figuras 2a y 2b, se presenta una vista microscópica de la Spirulina, en la cual se puede ver la forma espirada y alargada (debido al medio artificial) del alga, se puede comparar visualmente el crecimiento que esta tuvo desde le momento en que fue adquirida para este trabajo hasta el momento en el cual se extrajo el inóculo para la siembra.

**Figura 2. Figura 2a (izquierda) Vista microscópica de la Spirulina adquirida. Figura 2b (derecha) Vista microscópica del inóculo de Spirulina antes de la siembra**



### **3.2 Extracción del alga del medio de cultivo**

La extracción de la Spirulina de cada uno de los medios se realizó mediante el proceso de filtración al vacío, en la figura 3 se observa la forma como se deposita la Spirulina en el papel filtro después de dicho proceso.

**Figura 3. Spirulina luego del proceso de filtrado**



El color verde intenso que se aprecia en algunos de los papeles filtro son del medio Utex, este color significa que el alga está creciendo en muy buenas condiciones y con buenos niveles de clorofila.

### 3.3 Producción de la Spirulina

Los resultados experimentales del crecimiento del alga obtenidos en el proyecto se muestran en la tabla 6, estos datos son el promedio de los datos utilizando la comparación de medias por método de Duncan (García *et al.*, 2001) para cada uno de los medios de cultivo.

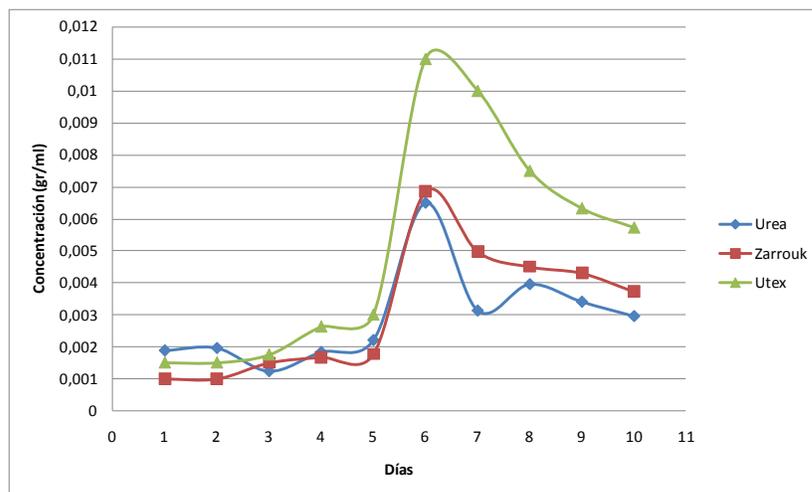
**Tabla 6. Concentración obtenida en cada uno de los medios de cultivo**

Día	Urea (g/ml)	Zarrouk (g/ml)	Utex (g/ml)
1	0.001875	0.001000	0.001500
2	0.001950	0.001000	0.001500
3	0.001225	0.001500	0.001750
4	0.001825	0.001675	0.002625
5	0.002200	0.001775	0.003000
6	0.006500	0.006850	0.011000
7	0.003125	0.004975	0.010000
8	0.003950	0.004500	0.007500
9	0.003400	0.004300	0.006325
10	0.00295	0.003725	0.005725

Los resultados obtenidos en cada uno de los medios y tabulados en la tabla 6, son mostrados en la gráfica 1, donde se aprecia que el mayor crecimiento

se logró en el medio de cultivo Utex; en los medios Zarrouk y Urea el crecimiento es muy similar.

**Gráfica 1. Aumento de la concentración de Spirulina dentro de los medios de cultivo**



Las ratas de crecimiento presentan tendencias muy similares; en el día sexto se da el mayor aumento de la concentración de biomasa y por ende el mayor crecimiento de la Spirulina.

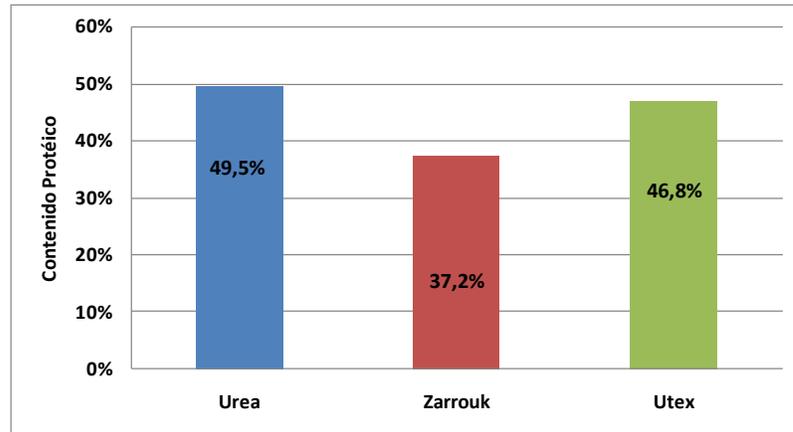
### 3.4 Análisis proteico

El contenido proteico del alga en cada uno de los medios fue realizado siguiendo la norma técnica del Icontec NTC 4657 que especifica el método para determinar y cuantificar del contenido de nitrógeno en alimentos para animales por el proceso Kjeldahl, y luego, dicho contenido de nitrógeno es tenido en cuenta para determinar el contenido de proteína presente en el alga (NTC 4657, 1999).

El análisis realizado determinó cual de los cultivos presentó el mayor porcentaje de proteínas, el error de la medición o incertidumbre que reporta el proveedor de este servicio, Laboratorio de análisis químico y bromatológico de la Universidad Nacional, es de +/- 0.7% (Anexo 1). El

gráfico 2 muestra el porcentaje proteico que presentó cada uno de los medios evaluados.

**Grafico 2. Porcentajes del contenido proteico**

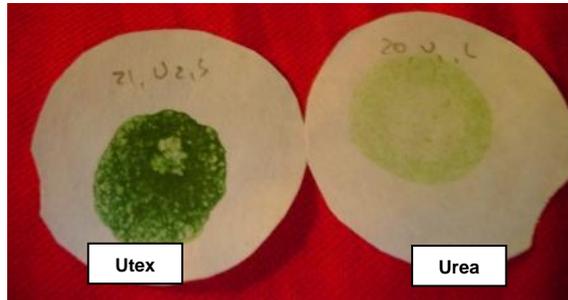


El mayor contenido proteico obtenido se presentó en el medio Urea (medio sugerido en este trabajo), seguido por el medio Utex y por último el medio Zarrouk.

El alto contenido proteico del medio Urea es debido a una hiper-nitración del cultivo, lo que a los ojos de la prueba Kjeldahl se ve como más proteínas ya que esta prueba cuantifica cantidad proteica con base en cantidad de nitrógeno; entonces este medio aun teniendo el mayor contenido de proteínas no es recomendado debido a que al medio le hacen falta otros componentes que son importantes para el desarrollo del alga (*Ver Numeral 1.3.1 en Marco teórico*).

Lo mencionado anteriormente pudo, además, ser apreciado visualmente durante el desarrollo del cultivo y el proceso de filtrado. En este último, la coloración del alga fue débil, no de un verde intenso como se da bajo las mejores y óptimas condiciones para el crecimiento. El color presentado en el medio Urea fue verde pálido casi amarillento, la figura 4 muestra la diferencia de color entre el medio Urea y el medio Utex.

**Figura 4. Muestra de Spirulina del medio Urea y Utex después del filtrado**



### **3.5 Análisis estadístico**

#### **3.5.1 Modelo estadístico**

Las condiciones tenidas en cuenta para llevar a cabo el análisis estadístico de los datos de crecimiento del alga Spirulina en diferentes medios de cultivo se presentan a continuación:

- Modelo estadístico empleado: Análisis de varianza de un factor, ANOVA simple.
- Prueba de comparación de medias de tratamiento: Duncan.
- Factor: Medios de cultivos (Urea, Urex y Zarrouk).
- Nivel de confianza: 95%.
- Nivel de significancia: 0.05.
- Variable de respuesta: Concentración de biomasa del alga.

#### **3.5.2 Análisis de varianza para medios de cultivos**

A continuación se presentan los resultados obtenidos del procesamiento de los datos con el software STATGRAPHICS Plus versión 5.1, del efecto del uso de los tres medios de cultivos.

**Tabla 7. Análisis de varianza de los medios de cultivos en cada uno de los días en los cuales se desarrolló el proyecto**

Fuente	Suma de Cuadrados	G. de L.	Cuadrado medio	Coef F	P Valor
Entre medios	0.000116151	2	0.00005807	0.3	0.0002
Intra medios	0.000730432	117	0.00000624	3.55	0.073
Total	0.000846583	119			

### 3.5.3 Análisis de rangos múltiples para medios de cultivo

Debido a que los medios de cultivos utilizados (Utex, Zarrouk y Urea) para el crecimiento de la Spirulina influyen significativamente ( $P \text{ value} < 0.05$ ), se hace necesario llevar a cabo un análisis de rangos múltiples que permita determinar el medio de cultivo en el cual se obtiene el mayor crecimiento del alga.

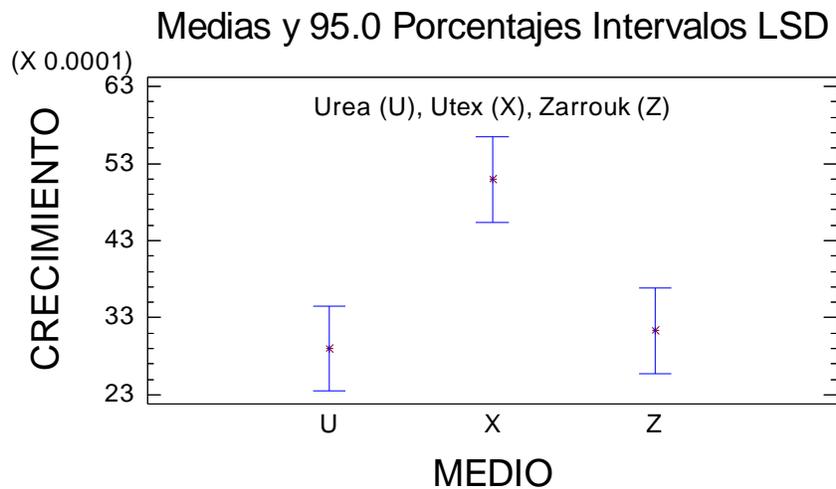
Para este análisis se empleó el método Duncan debido a que este método permite comparar todos los pares de medias, detecta diferencias reales, es empleado para tamaño de muestras iguales y sirve para evaluar pruebas de rangos múltiples. Este método es el más usado para la agricultura. (García *et al.*, 2001)

A continuación se presentan los resultados obtenidos con STATGRAPHICS para el análisis de rangos múltiples y la gráfica para la media de cada uno de los medios de cultivo utilizados.

**Tabla 8. Análisis de rangos múltiples para los tres medios de cultivo**

Medio de Cultivo	Frecuencia	Media (Duncan)	Grupos Homogéneos
Urea	40	0.0029	X
Zarrouk	40	0.00313	X
Utex	40	0.0050925	X
Contraste		Diferencias	
Urea – Utex		*-0.0021925	* Diferencia estadísticamente significativa
Urea – Zarrouk		-0.00023	
Utex – Zarrouk		*0.001962515	

**Gráfico 3. Gráfico de medias para cada uno de los cultivos utilizados**



Se aprecia en la gráfica 3 que el mayor crecimiento del alga se presenta para el medio Utex y éste presenta diferencia estadísticamente significativa con respecto a los otros dos medios de cultivo, esto es respaldado con los datos de la tabla 8.

### **3.5.4 Análisis de varianza y de rangos múltiples entre medios de cultivo y sus duplicados**

Se presenta en la Tabla 9 el análisis estadístico realizado con el fin de determinar si hay diferencia estadísticamente significativa o no entre los medios de cultivo y sus duplicados para determinar si los cultivos son o no replicables.

***Tabla 9. Análisis de varianza de los medios de cultivos y sus duplicados***

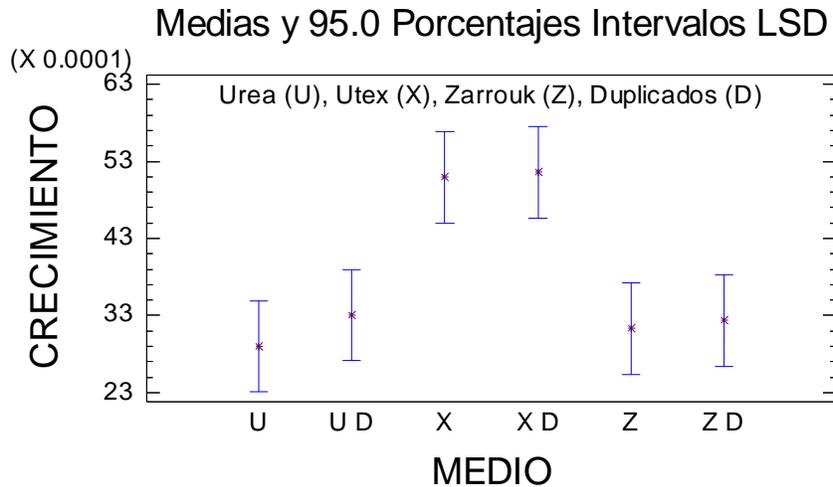
<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>G. de L.</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>Coef. F</b>	<b>P Valor</b>
Entre medios	0.000213829	5	0.0000427	5.93	0.0000
Intra medios	0.00168835	234	0.0000072		
Total	0.001902	239			

**Tabla 10. Análisis de rangos múltiples para los tres medios de cultivos y sus duplicados**

Medio de Cultivo	Frecuencia	Media (Duncan)	Grupos Homogéneos
Urea	40	0.0029	X
Urea D	40	0.003305	X
Zarrouk	40	0.00313	X
Zarrouk D	40	0.003235	X
Utex	40	0.0050925	X
Utex D	40	0.00516	X
Contraste		Diferencias	
Urea – Urea D		-0.0004025	* Diferencia estadísticamente significativa
Zarrouk – Zarrouk D		0.00015	
Utex – Utex D		-0.000105	

Entre cada uno de los medios y sus duplicados no hay diferencias estadísticamente significativas en los 10 días en los que se desarrolló el análisis, lo que indica que el diseño de experimento es replicable; a continuación se muestra la gráfica de medias con desviaciones (Gráfico 4).

**Gráfico 4. Gráfico de medias para cada uno de los cultivos y sus duplicados**



### 3.6 Diseño conceptual

#### 3.6.1 Preparación del inóculo

La preparación del inóculo para realizar la siembra del alga debe realizarse replicando la cepa cada 6 días, según los datos obtenidos esta crece a una relación de 1:7.33 cada 6 días en medio de cultivo Utex, replicando el volumen de medio a la misma relación.

De esta forma, si se adquiere una cepa con una concentración de 1.5 gramos por litro en 10 mililitros de solución, replicando el cultivo en un medio nuevo de Utex, se debe esperar alrededor de 5 semanas para tener una concentración cercana a los 11 gramos por litro en un volumen de aproximadamente 213 litros de solución de cultivo.

#### 3.6.2 Capacidad de producción

La capacidad de producción fue definida teniendo en cuenta que los principales consumidores serán personas de bajos recursos como

campesinos y personas con desnutrición, a su vez estos serán los encargados de la producción.

Se asumió un valor de aproximadamente 10 Kilogramos de producción semanal; cantidad que puede ser usada por el productor para su consumo personal y familiar, y satisfacer pequeñas demandas locales. Si se requieren mayores cantidades de producción se pueden realizar un mayor número de cultivos como el que en el texto se describe, en caso de que desee producir la Spirulina a gran escala, se debe escalar el proceso, usar medios de agitación mecánica, mejores técnicas de filtrado, mayor automatización, y para esto se le recomienda consultar la literatura.

### **3.6.3 Requerimientos del proceso.**

Para llevar a cabo el proceso de crecimiento de la Spirulina y convertirla en producto de consumo humano se requieren materias primas, servicios y mano de obra. En los siguientes numerales se explica cada uno de los requerimientos que deben tenerse en cuenta para llevar a cabo este proceso.

#### **3.6.3.1 Requerimientos de materias primas.**

Para llevar a cabo el proceso de producción de la Spirulina se requieren las siguientes materias primas.

- Cepa del alga: la cepa de Spirulina debe cultivarse hasta alcanzar una buena concentración, para evitar que al pasarla al medio de cultivo esta sea destruida por fotólisis. La concentración mínima que se recomienda en este trabajo es de 1,5 g/L.
- Medio de cultivo: se recomienda el medio de cultivo UTEX para obtener el mayor crecimiento con mayor contenido proteico, la preparación de este medio se muestra en las tablas 4 y 5.
- Agua: se requiere el agua como materia prima en la preparación del cultivo y para suministrar al reactor en caso de evaporación en

periodos de alta temperatura, además para lavar la Spirulina y retirarle impurezas (como restos de sales) mientras se lleva a cabo el proceso de filtrado.

### **3.6.3.2. Servicios**

Los servicios requeridos para el proceso son:

- Energía eléctrica (a 110 v y 220 v): para suministrarle a las bombas de aire, al sistema de alumbrado y equipos de medición y control.
- Agua: para lavar los tanques y equipos, para uso del personal y usos varios.

### **3.6.3.3 Mano de obra**

Debido a que el proceso es del tipo Batch y no requiere controles de alta complejidad durante el tiempo de residencia del cultivo en el reactor, se requiere un operador en un turno de 8 horas que esté monitoreando las condiciones del cultivo y las condiciones ambientales alrededor de este, de igual manera se necesita controlar el nivel del medio del cultivo.

Luego de terminado el lote, el operador, se encargará de filtrar la Spirulina que está en el medio de cultivo y realizar su posterior almacenamiento y empaque; Finalizado esto, el operador debe encargarse, de ser necesario, de lavar el reactor y los equipos y realizar la adecuación para llevar a cabo el nuevo lote.

De igual forma, se requiere un ingeniero de proceso que brinde una asesoría por lote y se encargue de optimizar las condiciones para alcanzar la mejor y más alta productividad del cultivo.

### 3.6.4 Diagramas

#### 3.6.4.1 Diagrama General de Entradas y Salidas

A continuación se muestran las materias primas y los productos que son involucrados en el proceso(Figura 5).

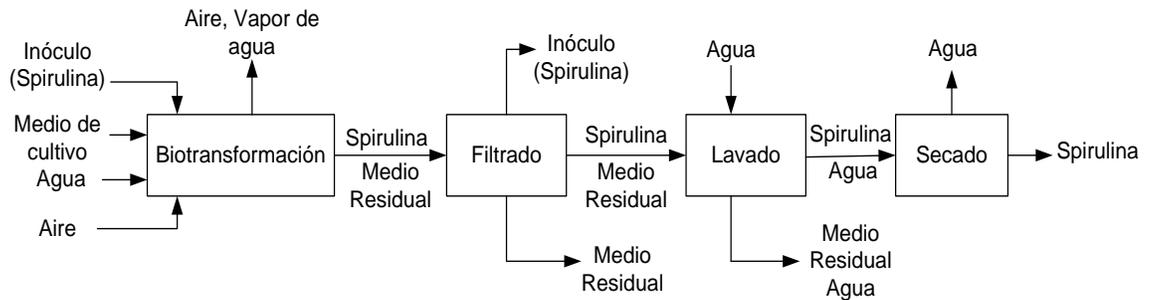
**Figura 5. Diagrama General de Entradas y Salidas**



#### 3.6.4.2 Diagrama Genérico de Bloques

En la figura 6 se describen las principales operaciones que son requeridas en el proceso.

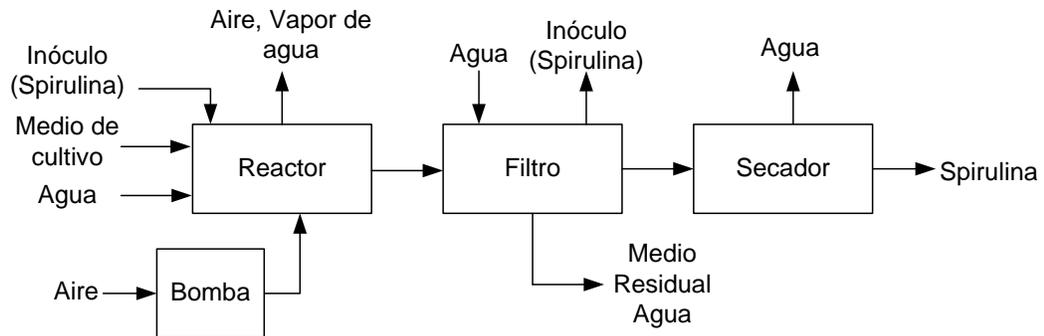
**Figura 6. Diagrama Genérico de Bloques**



### 3.6.4.3 Diagrama de Bloques del Proceso

En la figura 7 se muestran los equipos necesarios en el proceso y las corrientes que entran y salen de estos.

**Figura 7. Diagrama de Bloques del Proceso**



### 3.6.4.4 Selección de equipos

Ya definidos las operaciones que se llevan a cabo, se procede a seleccionar los equipos que más se ajustan a lo requerido (Ver figura 8):

- P-101. Bomba de aire: Esta bomba de aire se elige por su aplicación, tanto para airear el cultivo como para agitarlo sin llegar a perjudicar el alga en esta operación, además, se selecciona por su bajo costo.
- R-101. Tanque abierto (Recubierto con malla protectora): Como la Spirulina crece en un medio altamente selectivo, puede ser cultivado en sistemas abiertos y estar relativamente libre de contaminación por otros microorganismos (Radmann *et al.*, 2007), además, su selección se da debido al bajo costo. La malla protectora debe ser de un diámetro aproximado de 1.5 mm, para evitar que el cultivo se contamine con animales, insectos y otros.
- F-101. Filtro de malla: Se escoge este filtro de malla por su bajo costo, se usa una malla entre 20-100  $\mu\text{m}$ , que garantice una separación total del alga del medio en el cual se encuentra, permite también tener un

control visual, es de fácil manipulación y permite realizar un buen lavado y control manual de la Spirulina.

- S-101 Área de secado: Para este equipo se recomienda un área plana, con recubrimiento en los lados, para evitar esparcimiento o pérdida del producto por vientos o derrames, y de un material liso para garantizar la fácil recolección de la Spirulina.

### 3.6.5 Balance de materia

#### 3.6.5.1 Bomba

Para bombas centrífugas, la caudal mínimo reportado es de 0.378 m<sup>3</sup>/min que corresponde a una eficiencia de 45%,  $\varepsilon = 0.45$ ; debido a que la bomba que se necesita para este proceso, posee un caudal por debajo del mínimo reportado por la literatura, se asume un  $\varepsilon = 0.45$  (Turton y Bailie, 2003). Las condiciones de operación se muestran en la Tabla 11, seguida por los cálculos realizados para calcular la potencia de la bomba de aire.

**Tabla 11. Valores asumidos para la corriente de aire.**

Temperatura (°C)	25
Aumento de la Presión (Bar)	0.4
Fracción de vapor	0
Flujo volumétrico (m <sup>3</sup> /h)	1

$$P(KW) = \frac{F(m^3/\min) * \Delta P(bar)}{\varepsilon}$$

P=Potencia de la bomba

F= flujo volumétrico

$\Delta P$ =Aumento de presión en la bomba

$$P(KW) = \frac{0.017(m^3/\min) * (0.4)(bar)}{0.45} = 0.015KW$$

La potencia requerida por la bomba para nuestro proceso será de 15 W.

### **3.6.5.2 Escalado del Reactor**

Para el cálculo del escalamiento del reactor, se tomó como base trabajos realizados anteriormente a gran escala, que reportan una profundidad en el reactor de 30 cm (Jiménez *et al.*, 2003), esto para garantizar una mayor área superficial, un mayor contacto con el aire y mayor área de incidencia solar

El volumen se escaló en un rango aproximado de 1:500 para la obtención de 1000 litros, con base en los cálculos realizados en este proyecto, y se mantuvieron las mismas condiciones iniciales, 1.5 g/l de concentración. De lo mencionado anteriormente, se obtiene que el diámetro del reactor será de 2.2 metros, para alcanzar un volumen de 1140 litros.

### 3.6.5.3 Descripción de equipos

A continuación se presentan en las Tablas 12, 13, 14 y 15 las características principales de cada uno de los equipos que requiere el proceso.

**Tabla 12. Características principales del equipo P-101**

Equipo	P-101
Material	Plástico y Metal
Tipo	Bomba de aire
Potencia	15 vatios
Flujo	1000 L/hora
Temperatura	25 °C

**Tabla 13. Características principales del equipo R-101**

Equipo	R-101
Material	Plástico
Tipo	Tanque abierto recubierto con malla
Dimensiones	Diámetro: 2.2 metros Altura: 0.3 metros
Volumen Total	1140 litros
Temperatura (°C)	20 - 40°C
Presión (atm)	1 atm

**Tabla 14. Características principales del equipo F-101**

Equipo	F-101
Material	Tela
Malla	20 $\mu\text{m}$ – 100 $\mu\text{m}$
Área	1 m <sup>2</sup>

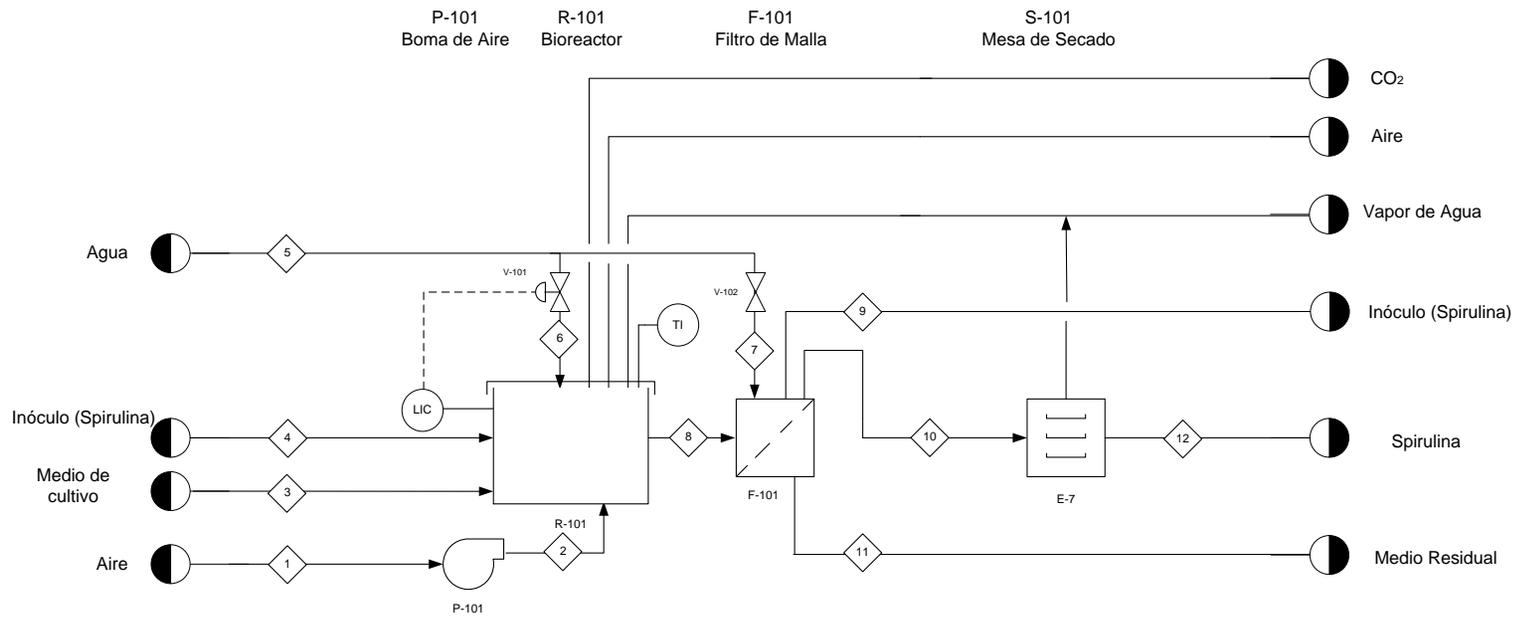
**Tabla 15. Características principales del equipo S-101**

Equipo	S-101
Material	Aluminio
Dimensiones	1 m <sup>2</sup>
Otras especificaciones	Mesa con resalto en el borde

### 3.6.5.5 Diagrama de Flujo de Procesos (PFD)

A continuación se presenta el diagrama de flujo de procesos en la Figura 8 y en la Tabla 16 se muestra la tabla de corrientes del proceso mostrado en el PFD (Figura 8).

**Figura 8. Diagrama de Flujo de Procesos (PFD)**



### 3.6.5.6 Tabla de corrientes

**Tabla 16. Tabla de Corrientes (los datos están expresados para la producción de un lote lo equivalente a una semana)**

Corriente	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Temperatura(°C)	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
Presión (atm)	0,84	1.23	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84
Masa (Kg)	-	-	-	1.5					1.5	9.5		9.5
Volumen (L)	144000	144000	1000	-	200	LIC	200	1000			1000	

### 3.6.5.7 Clima y condiciones geodésicas

Las condiciones climáticas de Cereté, Medellín y El Santuario se resumen en la tabla 17, donde se muestra principalmente la temperatura promedio y la ubicación de estos tres municipios, esto con el fin de observar con base en las temperaturas promedios, dónde se podría dar la mayor producción y obtener el mejor beneficio económico.

**Tabla 17. Condiciones climáticas y geodésicas** (Ideam, 2006)

		Medellín <sup>1</sup>	Cereté <sup>1</sup>	El Santuario <sup>1</sup>
Localización	Latitud	Norte 6° 15'	Norte: 08°53'08"	Norte: 06° 08'
	Longitud	Oeste 75° 36'	Oeste: 75°47'08"	Oeste: 75°15'
Presión		640 mm Hg (0,84 atm)	-	-
Altitud (MSNM)		1538	12	2150
Temperatura promedio		24 °C	28° C	17°C

Observando los datos en la tabla anterior se puede ver que la temperatura promedio de Cereté es la más apropiada para el cultivo, en lugares como El Santuario se debe que tener control sobre la temperatura para incrementarla a rangos cercanos a 30°C para alcanzar el mayor crecimiento del alga, lo que implica un incremento directo en los costos debido a la consecución de equipos como resistencias y costos en la adecuación del lugar. La temperatura de 30°C es en la cual se alcanza la mayor densidad de biomasa

y la mayor productividad (Colla *et al.*, 2007), en el caso de Medellín, se usó un invernadero para conservar un poco el calor.

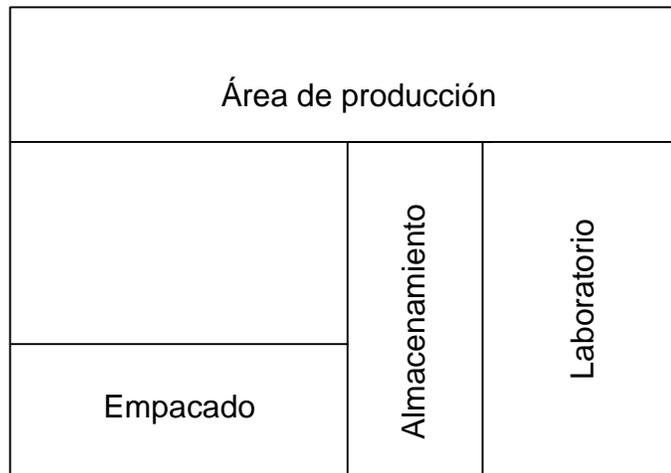
### 3.6.5.8 Obras requeridas para el terreno de la planta

Para el diseño de la planta se requiere un área aproximada de 10 m<sup>2</sup>, en donde se ubicaran los equipos descritos y se debe tener el área cubierta con un invernadero para aumentar la conservación de la temperatura, así mismo se aísla un poco el sistema protegiéndolo de lluvias y vientos, se garantiza un ambiente más limpio y seguro evitando fuentes de contaminación externas, dicho invernadero debe ser realizado con materiales traslucidos que garanticen que la Spirulina reciba luz que es esencial para su adecuado crecimiento. Se debe tener una zona de almacenamiento de las materias primas y repuestos, un área de empacado y un laboratorio donde se puedan realizar pruebas como el pH y otras.

### 3.6.5.9 Distribución de la planta

La figura 9 muestra la distribución de las diferentes áreas requeridas dentro de la planta.

**Figura 9. Distribución de la planta**



### 3.6.6 Estimación de costos

#### 3.6.6.1 Costo de materias primas

Para llevar a cabo el crecimiento de la Spirulina en un proceso tipo Batch como se propone en este trabajo, en un biorreactor de 1000 litros de capacidad con un tiempo de residencia de 6 días, se requieren las materias primas que se muestran en las Tablas 18 y 19, según el medio de cultivo.

**Tabla 18. Costo de las materias primas por medio Zarrouk**

Materias Primas	Costo Por Unidad	Cantidad	Costo total (USD)
Cepa (para replicar)	12.5 (USD/ml) Sierra, 2008	10 ml	\$ 125
Medio Zarrouk	0.0795 (USD/L) Raouf <i>et al.</i> , 2006	1000 L	\$ 79.5
Agua de proceso	1 (USD/m <sup>3</sup> ) EPM, 2008	1 m <sup>3</sup>	\$ 1
Material Empaque	0.1 (USD/Empaque)	9 Empaques	\$ 0.90
Costo Total por Lote (USD)			\$ 206
Costo Total Mensual (4 Lotes por mes)			\$ 826

**Tabla 19. Costo de las materias primas por medio Utex**

Materias Primas	Costo Por Unidad	Cantidad	Costo total (USD)
Cepa (para replicar)	12.5 (USD/ml)	10 ml	\$ 125
Medio Utex	0.0995 (USD/L) Sigma, 2008	1000 L	\$ 99.5
Agua de proceso	1 (USD/m3) EPM, 2008	1 m3	\$ 1
Material Empaque	0.1 (USD/Empaque)	9 Empaques	\$ 0.90
Costo Total por Lote (USD)			\$ 225.9
Costo Total Mensual (4 Lotes por mes)			\$ 903.6

### 3.6.6.2 Costos de la mano de obra

La mano de obra requerida mensual, llevando a cabo 4 lotes por mes, se muestra a continuación en la tabla 20. Para realizar la determinación de los salarios se tomo como base el salario mínimo legal vigente y el factor prestacional para el 2008 en Colombia (BusineesCol, 2008).

**Tabla 20. Mano de obra requerida mensual**

Mano de Obra Directa	No. de Personas	Salario Base (\$/mes)	Factor Prestacional (2008)	Costo Total (\$)
Operador	1	\$ 461'500 BusinessCol, 2008	1.61	\$ 743'015
Ing. De Proceso (4 Asesorías)	1	\$ 600'000	1.61	\$ 966'000
Total (\$)				\$ 1'709'015
Costo Total por lote (USD)				\$ 237
Costo Total Mensual (USD)				\$ 949

### 3.6.6.3 Costo de Servicios

Los servicios requeridos en el proceso son energía eléctrica para el funcionamiento de bombas y equipos de medición y control, además, agua de proceso para el lavado de equipos y áreas de proceso. La estimación de los servicios se muestra a continuación.

**Tabla 21. Costo de los servicios**

Servicios	Consumo (Mensual)	Costo del Servicio	Costo Total (USD/mes)
Energía	57.6	0.06 (USD/kWh) EPM, 2008	\$ 3.46
Agua de proceso	0.8	1 (USD/m3) EPM, 2008	\$ 0.80
Costo Total Mensual (USD)			\$ 4.26

#### 3.6.6.4 Costos de Capital

Los costos de capital que se involucran dentro del proceso son: el terreno, el bio-reactor, bomba de aire, equipos de control como termómetros, indicadores de nivel, pHmetros, equipos para el filtrado, entre otros de menor cuantía como recipientes de almacenamiento y agitadores manuales, en la tabla que se muestra a continuación se detallan los costos de capital.

**Tabla 22. Costos de capital**

Activo	Valor (USD)
Equipos*	800
Bio-Reactor	1000
Terreno	5000
Total de Capital (USD)	6800

\* Phmetro, Indicador de nivel, termómetros, Bombas, Filtros, secador.

#### 3.6.6.5 Precios de venta de la Spirulina

El precio de venta de la Spirulina en el mercado en presentaciones en polvo por 1 kilogramo está alrededor de los 115 dólares (Espirulina Polvo, 2008). De esta forma, la utilidad generada por producción de Spirulina es de \$ 625.4 USD por lote; la inversión inicial se recupera luego de 4 meses de producción, por lo que se garantiza viabilidad en el proyecto.

## CONCLUSIONES

El crecimiento de la Spirulina se ve afectado estadísticamente por el medio de cultivo en el cual esta sea cultivada. En este trabajo se emplearon tres medios de cultivos (Utex, Zarrouk y Urea), el aumento de la biomasa de Spirulina se vio mayormente favorecido por el medio Utex, en el cual se obtuvo la concentración más alta de biomasa en el día sexto después de haber sido inoculado el medio, la concentración alcanzada fue de 11 g/l.

Entre los otros dos medios de cultivo, Zarrouk y Urea, no se presenta diferencia estadísticamente significativa, por lo que el uso de cualquiera de estos dos medios en la producción de biomasa generaría concentraciones muy similares en el cultivo de la Spirulina. Sin embargo, el uso del medio Urea no se recomienda por razones que se concluyen más adelante.

El contenido proteico más alto alcanzado entre los medios fue de 49,5% presentado en el medio Urea; contenido alcanzado debido a una hiper-nitración del cultivo, durante el crecimiento del cultivo se pudo apreciar que las condiciones en las cuales este se desarrolló no fueron las más adecuadas, resultados que se pueden apreciar en la coloración del alga (ver figura 4), además de esto, este medio de cultivo no cuenta con nutrientes que son necesarios para el correcto crecimiento del alga, a diferencia de los otros medios de cultivo que poseen una formulación rica en otros nutrientes (Raouf *et al.*, 2006), por lo que se observa la importancia de estos en el desarrollo del crecimiento de la Spirulina.

En el diseño conceptual fueron utilizados equipos de bajo costo con el fin de que puedan ser adquiridos por personas de bajos recursos, hacia las cuales está enfocado el producto de investigación de este proyecto.

En el proceso de producción, el secado representa uno de los mayores costos de capital, de mantenimiento y operación, por lo que se propone utilizar una mesa de secado que retire la humedad del producto mediante la incidencia de la luz solar, ahorrándonos así el uso de un equipo complejo para este proceso.

El análisis estadístico realizado entre los medios de cultivo y los duplicados muestran que entre cada uno de los medios y sus duplicados no presentan diferencias estadísticamente significativas por lo que se concluye que el experimento es replicable.

El tiempo óptimo para la cosecha de la Spirulina es de 6 días luego de la inoculación, tiempo bajo el cual se alcanza la mayor tasa de crecimiento de la biomasa en cualquiera de los tres tipos de abonos o medios empleados en este trabajo.

La urea en grandes proporciones puede matar la Spirulina, esto se puede observar por la baja coloración, verde pálido, del cultivo, éste en buenas condiciones presenta una fuerte coloración, verde intenso. Cuando la Spirulina está en muy malas condiciones o muerta, se puede apreciar un precipitado de color amarillo ocre o café claro, por lo que se debe separar la parte superior del medio que aun tenga alga viva y mejorar las condiciones del medio para que esta se empiece a reproducir nuevamente.

El análisis de costos permite concluir que este proyecto de producción de Spirulina es financieramente viable, debido a la rápida recuperación del capital y a la moderada inversión de capital.

## **RECOMENDACIONES**

Reutilizar el medio remanente del cultivo para realizar una integración de cultivos, aprovechando este subproducto como abono para otras plantas.

Emplear otros tipos de usos para la Spirulina; como purificación aguas negras, remoción de materiales suspendidos, etc.

Realizar estudios para cuantificar y extraer los componentes con mayor valor de la Spirulina que generen beneficios económicos.

## BIBLIOGRAFÍA

- BusineesCol (2008). Aspectos laborales en Colombia, Salario Mínimo. Disponible en: [www.businesscol.com/empresarial/tributarios/salario\\_minimo.htm](http://www.businesscol.com/empresarial/tributarios/salario_minimo.htm). Fecha de consulta: 6 de febrero de 2008.
- Colla L.M., Reinehr C.O., Reichert C., Costa J.A.V., 2007. Production of biomasa and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. EN: *Bioresource Technology*. Vol 98; p. 1489-1493.
- Danesi E.D.G., Rangel-Yagui C. de O., Carvalho J.C.M., Sato S., 2002. An investigation of effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. EN: *Biomass and Bioenergy*. Vol. 23; 261-269.
- DESAI Krutika, SIVAKAMI Subramanian. (2006). *Spirulina, the wonder food of the 21st Century*. EN: *Asia Pacific Biotech News*. Vol. 8, No. 23 (15, Dec. 2004); p. 1298-1302.
- Desmorieux H., Decaen N., 2005. Convective drying of *Spirulina* in thin layer. EN: *Journal of Food Engineering*. Vol. 66; p. 497-503.
- EPM (2008). EPM Energía, Gas y Agua. Disponible en: [www.epm.com.co/epm/institucional/index.htm](http://www.epm.com.co/epm/institucional/index.htm). Fecha de consulta: 5 de febrero de 2008.
- Escobar J., 2005. *El Diseño Conceptual. Curso Diseño de Procesos*, Universidad EAFIT. Medellín, Colombia.
- *Espirulina Polvo* (2008). *Espirulina polvo precio mayorista*. Disponible en: [www.infocomercial.com/](http://www.infocomercial.com/). Fecha de consulta: 17 de enero de 2008.

- García, J.A, Castillo, A., Ramírez, M.E., Rendón, G. y Larqué M.U. 2001. Comparación de los procedimientos de Tukey, Duncan, Dunnett, Hsu y Beachhofer para la selección de medias. *Agrociencia* 35: 79-86.
- Ideam, (2006). Programa de metereología. Disponible en: [www.ideam.gov.co/](http://www.ideam.gov.co/). Fecha de consulta: 19 de Febrero de 2008.
- Jiménez C., Cossío B.R., Labella D., Niell F.X., 2003. The feasibility of industrial production of Spirulina (Anthrospira) in Southern Spain. EN: *Aquaculture*. Vol. 217; p. 179-190.
- Jourdan, Jean-Paul, 1999. *Cultivez Votre Spiruline*. First Edition, Antenna Technologie.
- NTC 4657 (1999). Alimento para animales, determinación del contenido de nitrógeno y cálculo del contenido de proteína cruda. Método Kjeldahl. Disponible en: [www.icontec.org](http://www.icontec.org). Fecha de consulta: 31 de Enero de 2008.
- Pelizer L.H., Danesi E.D.G., Rangel C. de O., Sassano C.E.N., Carvalho J.C.M., Sato S., Moraes I.O., 2003. Influence of inoculum age and concentration in Spirulina platensis cultivation. EN: *Journal of Food Engineering*. Vol. 56; p. 371-375.
- Radmann E.M., Reinehr C.O., Costa J.A.V., 2007. Optimization of the repeated batch cultivation of microalga Spirulina platensis in open raceway ponds. EN: *Aquaculture*. Vol 265; p. 118-126.
- Raoof B., Kaushik B.D., Prasanna R., 2006. Formulation of a low cost medium for mass production of Spirulina. EN: *Biomass and Bioenergy*. Vol. 30; p. 537-542.
- Sierra, Liliana, 2008. Contacto personal. Profesora: SENA sede en Manizales.

- Sigma, 2008. Materials Science. [artículo de Internet]. [http://www.sigmaaldrich.com/Area\\_of\\_Interest/Chemistry/Materials\\_Science.html](http://www.sigmaaldrich.com/Area_of_Interest/Chemistry/Materials_Science.html). [Consulta: 3 abril de 2007].
- Textos científicos, (2007). Urea. [artículo de Internet]. <http://www.textoscientificos.com/quimica/urea> > [Consulta: 5 abril de 2007].
- Turton, R. and Bailie, R. C, 2003. "Analysis, Synthesis and Design of Chemical Processes". Second Edition. Prentice Hall.
- Utex (2006). Spirulina Medium. Disponible en: [www.utex.org](http://www.utex.org). Fecha de consulta: 10 de Octubre de 2007.
- Zarrouk C, 1966. Contribution a l'étude d'une cyanobactérie: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Setchell et Gardner) Geitler. Ph.D. thesis, University of Paris, France.

# ANEXO 1

FAR-002

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA SEDE MEDELLÍN  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL  
LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO Y BROMATOLÓGICO  
E-mail: bromatol@unalmed.edu.co  
Autopista Norte Carrera 64\* Calle 65 Bloque 11 Oficina 116 (Medellín)  
Tel/Fax: 430 90 34



## RESULTADOS DE ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS

Fecha aviso: 2008/03/25 Fecha impresión: 2008/03/28

Nombre del interesado: DANIEL CORREA TRUJILLO  
Dirección: Calle 27 Sur 28-121 Tel 3061291

Código	Muestra	PROTEINAS % KJELDAHL (NTC 4657)
38039	Espirulina, Zarrouk 2	37.23
38040	Espirulina, Utex 1	46.84
38041	Espirulina, CEPA 3	63.00
38042	Espirulina, La nuestra 4	49.50

### OBSERVACIONES

Factor de conversión para la proteína: 6.25  
Resultados expresados en base seca.

Incertidumbre  $\pm 0.7\%$

\*Este informe no se puede reproducir en forma parcial ni total.

\*En caso de requerir una copia del informe de resultados solicítelo al Coordinador del Laboratorio.

\*Los resultados son aplicables sólo a la muestra de ensayo.

Universidad Nacional de Colombia  
ANDRÉS CUELLAR GARCÉS  
Coordinador de Análisis Químico y Bromatológico