



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO INGENIERÍA QUÍMICA



SÍNTESIS DE HIDROGELES A PARTIR DE ALGINATO DE SODIO REFORZADO

POR

Benjamín Esteban Montaña Malebrán

Memoria de Título presentada a la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Concepción para optar al título profesional de Ingeniero Civil Químico.

Profesor Guía
Luis Felipe Montoya

Enero 2025
Concepción (Chile)

© 2025 Benjamín Esteban Montaña Malebrán.

© 2025 Benjamín Esteban Montaña Malebrán.

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

Agradecimientos

En primer lugar, a Silvia y Luis, mis padres, por apoyarme en cada decisión que tomo y permitirme escoger con total libertad mi camino. A Sofía, mi hermana mayor, por la paciencia al enseñarme desde aprender a sumar hasta aprender a derivar.

A mis amigos, núcleo que mantengo desde el colegio por darme esos momentos de alegría. En especial a Catalina y Felipe, ellos saben el por qué.

A Catalina, Clara y Joaquín, integrantes del proyecto del cual esta memoria forma parte, por su tremenda disposición y ayuda en todo momento de este trabajo, en especial en los más difíciles. De igual forma a mis profesores por la oportunidad de trabajar en este proyecto.

A Antonia, por entender más que nadie este proceso, por ser como es y por ser un pilar fundamental.

A mis profesores Luis Felipe Montoya y Teresita Marzialetti por la confianza y la oportunidad de trabajar en este proyecto.

Finalmente, agradecimientos a la agencia nacional de investigación y desarrollo (ANID) que hizo posible financieramente este proyecto con la propuesta ID23I10101

Sumario

Los hidrogeles inteligentes son una clase de polímeros funcionales que se utilizan ampliamente en diversos ámbitos, como la agricultura, la medicina, la farmacia, el tratamiento de efluentes, la industria textil, entre otros. Para el caso del uso de hidrogeles en áreas forestales y/o agrícolas se utilizan debido a su capacidad de desorber agua y nutrientes de forma controlada durante un tiempo establecido.

Para esta memoria de título se realiza un hidrogel inteligente a base de la microalga *Scenedesmus obliquus* que es la encargada de aportar nutrientes y bioestimulantes de forma natural al hidrogel.

Se tiene como objetivo estudiar las oportunidades de reforzamiento de los biomedios microalgales para mejorar las propiedades estructurales de hidrogeles a partir de microalgas. Debido a que esta memoria forma parte de un proyecto, del cual, se quiere estudiar posibles mejoras a través de fortificadores en la estructura actual del hidrogel.

El hidrogel actual está hecho a partir de un biomedio expuesto a aguas de la piscicultura, este se encuentra formado de alginato de sodio y microalga. Sin embargo, se encuentra el problema de que este biomedio de geometría esférica tiene una duración de solo 14 días en el agua de la piscicultura, lo cual, no es eficiente. Es aquí donde se toman dos decisiones innovadoras, por un lado, probar dos fortificadores naturales como lo son el Agar-Agar y la Carragenina. Y, por otro lado, probar un cambio en la geometría tradicional y probar láminas de biomedios en vez de esferas.

Se probaron estos biomedios en un sistema de acuarios que simulan las condiciones de la piscicultura durante 35 días realizando tres ciclos en los cuales se iba fortificando el agua y se iban analizando diariamente los niveles de amonio, fosfato y nitrito. La depuración arrojó los mejores resultados para el biomedio tradicional y el realizado con Agar-Agar.

A lo largo de este informe, se pueden revisar los diferentes análisis y caracterizaciones visuales, microscópicas y mecánicas. Además de las interacciones descritas en la depuración.

Finalmente, se presenta una opción funcional de geometría diferente a la encapsulación tradicional con la misión de buscarle mejores en la degradación o reutilización de mallas y además, se presenta que el hidrogel fortificado con Agar-Agar muestra resultados interesantes que abren diversas opciones de análisis y posibles utilidades de este en el área de la depuración y del ahorro de agua en el área agrícola-forestal.

Abstract

Smart hydrogels are a class of functional polymers widely used in various fields, such as agriculture, medicine, pharmaceuticals, wastewater treatment, and the textile industry, among others. In the case of forestry and agricultural applications, hydrogels are employed due to their ability to release water and nutrients in a controlled manner over a specified period.

This thesis focuses on developing a smart hydrogel based on the microalga *Scenedesmus obliquus*, which naturally contributes nutrients and biostimulants to the hydrogel. The main objective is to explore the potential of reinforcing microalgal biomediums to enhance the structural properties of hydrogels derived from microalgae. This study is part of a larger project aimed at investigating possible improvements through structural fortifiers for the current hydrogel design.

The current hydrogel is derived from a biomedium exposed to aquaculture water, consisting of sodium alginate and microalgae. However, this spherical biomedium design has a significant limitation: it lasts only 14 days in aquaculture water, making it inefficient. To address this, two innovative approaches were implemented: first, testing two natural fortifiers, Agar-Agar and Carrageenan, and second, introducing an alternative geometry by replacing the traditional spherical design with biomedium sheets.

These biomediums were tested in an aquarium system simulating aquaculture conditions over 35 days, divided into three cycles. During this period, the water was fortified, and the levels of ammonia, phosphate, and nitrite were analyzed daily. The results showed that the traditional biomedium and the one reinforced with Agar-Agar performed best in nutrient removal.

This report includes a detailed review of various visual, microscopic, and mechanical analyses, as well as the interactions observed during the purification process.

Finally, a functional alternative to the traditional encapsulation geometry is proposed, focusing on improving the degradation or reuse of the biomedium sheets. Additionally, the fortified hydrogel with Agar-Agar demonstrated promising results, offering potential applications in nutrient removal and water conservation in the agricultural and forestry sectors.

Tabla de contenidos

1. Introducción.	8
2. Objetivos	11
2.1. Objetivo general	11
2.2. Objetivos específicos.....	11
3. Materiales y métodos	12
3.1. Montaje del sistema.....	12
3.2. Fabricación de biomedios.....	14
3.3. Seguimiento de la depuración de aguas y crecimiento de microalgas.	16
3.4. Elaboración de hidrogel	18
3.5. Caracterización de los hidrogeles.....	19
4. Resultados y discusión.	21
4.1. Progreso visual en el crecimiento de microalgas a lo largo de los tres ciclos de depuración de aguas	21
4.2. Eficiencia de depuración de los niveles de amonio, fosfato y nitrito a lo largo de los tres ciclos experimentales.....	25
4.2.1. Primer ciclo	25
4.2.2. Segundo ciclo.....	28
4.2.3. Tercer ciclo.....	31
4.3. Caracterización de la estructura de los hidrogeles y crecimiento de microalgas a través de imágenes confocales	35
4.4. Estudio de hinchamiento (swelling) de los hidrogeles elaborados	37
4.5. Propiedades reológicas de los hidrogeles elaborados	38
4.6. Análisis termogravimétrico de los hidrogeles elaborados.....	39
5. Conclusiones	41
6. Referencias	43

7. Anexos.....	46
7.1. Anexo 1. Planos del biorreactor	46
7.2. Anexo 2. Cultivo de microalgas.....	46
7.3. Anexo 3. Biomedios extraídos de la depuración de agua.	47
7.4. Anexo 4. Gráficos de turbidez.....	48
7.5. Anexo 5. Seguimiento de pH durante los ciclos de depuración.....	50
7.6. Anexo 6. Microscopia confocal.	52
7.7. Anexo 7. Hidrogel final posterior a los tres ciclos de swelling.....	54
7.8. Anexo 8. Gráficos de reología.....	57
7.9. Anexo 9. Ecuaciones de los modelos reológicos utilizados.....	59
7.10. Anexo 10. Gráficos de análisis termogravimétricos	60

1. Introducción.

En todo el mundo la escasez hídrica se ha convertido en una de las crisis más apremiantes del siglo XXI, siendo de todos los desastres natural el que posee los factores más complejos y menos comprendido por el ser humano, además de ser el más difícil de monitorear [1]. Latinoamérica no es la excepción, en Chile, la baja disponibilidad de agua para riego que enfrenta el país obliga a los productores agrícolas y forestales a la incorporación de nuevas técnicas modernas para administrar los recursos hídricos [2]. Es aquí donde aparece la tecnología de los hidrogeles o dosificadores de agua y nutrientes para su uso en cultivos forestales y agrícolas con el fin de manejar de forma eficiente el agua disponible.

Los hidrogeles inteligentes son una clase de polímeros funcionales que se utilizan ampliamente en diversos ámbitos, como la agricultura, la medicina, la farmacia, el tratamiento de efluentes, la industria textil, etc [3]. Lo que diferencia un hidrogel inteligente de un hidrogel "común", es que, un hidrogel común o ambientalmente insensible, es capaz de mantener su estructura, así como sus propiedades físicas y químicas bajo diversas condiciones ambientales [4]. Mientras que, un hidrogel inteligente es aquel que, al someterlo a estímulos ambientales como un campo magnético, estrés, luz, temperatura, cambios de pH, fuerza iónica, etc., la estructura de red tridimensional del hidrogel cambia (se hincha o deshincha). Para el caso del uso de hidrogeles en áreas forestales y/o agrícolas se prefiere el uso de hidrogeles inteligentes debido a su capacidad de desorber agua y nutrientes de forma controlada durante un tiempo establecido.

En forma paralela, la industria de microalgas ha tenido un gran crecimiento en los últimos años por sus aplicaciones en diversas industrias, tales como, farmacéutica, alimenticia animal y humana, biorrefinerías y en la industria acuícola por su actividad metabólica en el tratamiento de aguas residuales industriales [5]. Es esta última industria la que despierta el interés para esta memoria de título, ya que, esta se lleva a cabo dentro de un proyecto, el cual, desarrolla hidrogeles a base de microalgas, específicamente de la especie *Scenedesmus obliquus* que es la encargada de aportar nutrientes y bioestimulantes de forma natural al hidrogel.

Es por esto, que un hidrogel a partir de microalga presenta una oportunidad que junta dos áreas, la ayuda a la remoción de contaminantes en la industria piscícola generando biomasa y, por tanto, valor agregado. Y también, ayudando a las industrias agrícolas y/o forestales con el ahorro de agua para sus regadíos gracias a la gran capacidad de hinchamiento que tienen los hidrogeles sumados a la entrega

de nutrientes que contiene el mismo [6] Es aquí donde el proyecto del que forma parte esta memoria de título ve la oportunidad de elaborar un hidrogel a partir de microalgas que sea biodegradable y que dosifique agua y nutrientes a las especies en sus etapas de germinación y crecimiento.

La forma de realizar el hidrogel en el proyecto es primero, realizar un biomedio, el cual, consiste en esferas de alginato de sodio precipitadas en cloruro de calcio, que en su interior tienen encapsulada la microalga a una concentración específica, la cual, es cultivada en el laboratorio. Luego, este biomedio se expone durante un periodo de tiempo establecido en la industria acuícola, específicamente en agua de piscicultura. Una vez agotados estos biomedios son retirados de la industria acuícola y comienza la producción de hidrogel. El agotamiento del biomedio se puede dar de diferentes formas, tales como, cuando la microalga ya no se puede seguir desarrollando dentro de la esfera, o bien cuando la microalga ya no es capaz de seguir eliminando los contaminantes del agua. También, se puede dar el caso de un agotamiento en su estructura, perdiendo esta forma de esfera y comenzar a desintegrarse.

Esta forma de realizar los biomedios a través de una encapsulación en esferas de alginato de sodio para la remoción de diferentes contaminantes del agua es algo que lleva mucho tiempo realizándose esto debido a que estos geles sirven para que la microalga se adhiera y pueda seguir realizando su crecimiento [7]. Además, se puede obtener un mayor crecimiento celular con una eliminación satisfactoria de los contaminantes del agua dado que esta encapsulación da una estructura bien organizada y una mejor utilización de la luz [8]. En efecto, existen estudios que comprueban que la depuración de aguas tiene una mejor eficiencia en sistemas encapsulados, más que en sistemas con microalgas suspendidas [9].

El desafío de esta memoria de título se presenta en evaluar el comportamiento y la durabilidad de este biomedio en un sistema simulado a escala de laboratorio controlando diferentes variables que permitan ver cómo se va agotando el biomedio en un determinado tiempo. A esto se le suma en paralelo en sistemas anexos, el estudio de dos diferentes alternativas al biomedio tradicional, con el fin de encontrar si existe una mejor forma de exponer este biomedio en un futuro en las aguas de la industria acuícola y que termine siendo un producto útil e innovador para la industria agrícola/forestal como producto final, es decir, como hidrogel.

El porqué de buscar diferentes opciones al biomedio tradicional, viene de la inquietud que actualmente el biomedio en aguas de la piscicultura sufre un agotamiento rápido en su estructura, lo que no permite que este pueda ser expuesto por meses, optimizando las visitas a la industria para el retiro y reposición

del biomedio. Sin embargo, tampoco es solución realizar un biomedio con una estructura altamente resistente que no permita la interacción entre el agua de la piscicultura y la microalga en el interior de las esferas.

Las dos alternativas que se estudiarán son el Agar-Agar y la Carragenina. El Agar-Agar es un polisacárido sin ramificaciones obtenido de la pared celular de distintas algas rojas y que tiene la capacidad de contener entre 200 a 300 veces su peso [10]. Mientras que, la Carragenina se define como un derivado también de algas marinas rojas que es capaz de absorber humedad y producir un gel firme, se debe tener en cuenta que esta debe ser calentada para alcanzar su solubilidad [11]. Es esta capacidad de hinchamiento y a su vez poder gelificar es lo que las hace atractivas como potenciales biomedios y posteriores hidrogeles.

Sin embargo, el uso de estas dos alternativas presenta un desafío innovador para este estudio, debido a que como son dos materiales que se deben trabajar a temperatura, no fue posible generarlos como esfera para hacer el biomedio tradicional antes mencionado. Es aquí, donde nace la iniciativa de probar una nueva forma de biomedio, de la cual, no se encontró literatura actual y corresponde a biomedios en forma de láminas soportados en mallas. Si bien, las mallas presentan una posible problemática ambiental, se considera como un inicio para evaluar las capacidades de interacción de este nuevo biomedio laminar con aguas de la piscicultura y a la vez, evaluar su capacidad de crecimiento de microalgas y de depurador de aguas contaminadas.

En resumen, la propuesta para solucionar este problema es buscar un biomedio fortificado que permita la duración deseada de las esferas en el agua de la industria acuícola y que, a su vez, no limite el intercambio de iones y nutrientes entre el agua de la industria y la microalga. Además, de probar una nueva geometría para los biomedios que sale de todos los estudios realizados actualmente en la encapsulación de microalgas. Todo este procedimiento se llevará a cabo en laboratorio, ocupando una simulación de la exposición del biomedio en aguas de la piscicultura, con tres sistemas en paralelo en donde se evalúa el biomedio tradicional realizado en el proyecto además de dos biomedios diferentes controlando y midiendo antes, durante y después tanto el agua como el biomedio expuesto y finalmente, se lleva a cabo la producción de los tres hidrogeles realizando una posterior caracterización físico-química para determinar que opción es la más eficiente.

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Estudiar las oportunidades de reforzamiento de los biomedios microalgales para mejorar las propiedades estructurales de hidrogeles a partir de microalgas.

2.2. Objetivos específicos

- Estudiar las propiedades estructurales de los biomedios en un medio con contenido de especies iónicas disueltas
- Evaluar el efecto de la incorporación de reforzadores de estructura sobre la capacidad de depuración de nutrientes
- Caracterizar el efecto de la incorporación de estos reforzadores de estructura sobre la estabilidad mecánica de los hidrogeles preparados a partir de estos biomedios.

3. Materiales y métodos

3.1. Montaje del sistema

Para la realización de esta memoria de título se llevó a cabo un montaje de un sistema de biorreactor que promueva el crecimiento de las microalgas y que, a su vez, simule las condiciones a las que se tendrían en la piscicultura. El biorreactor utilizado se muestra a continuación.

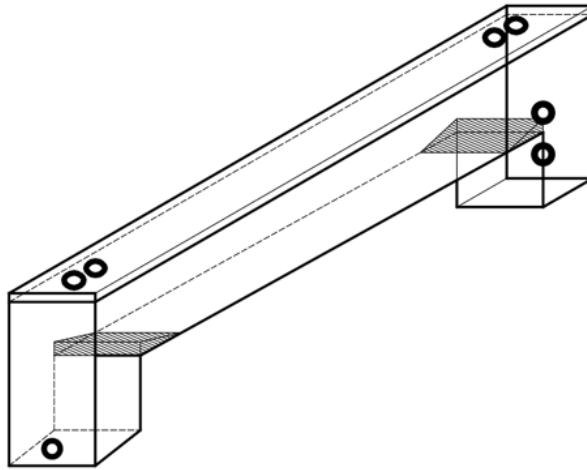


Figura 1. Esquema del biorreactor a utilizar.

Como se puede observar en la figura 1 se enviaron a diseñar tres sistemas, estos están elaborados de vidrio de un espesor de 6 milímetros. Cuentan con orificios a sus extremos, los cuales, funcionan como entrada y salida del agua, que para este caso en particular se ocuparon como recirculación del sistema impulsados por una bomba incorporada a un filtro externo. En la zona media del sistema se instala el biomedio, el porqué de la forma del sistema se debe a que así, se asegura el mayor contacto posible de toda el agua con el biomedio. Los planos con las medidas de la estructura de vidrio se adjuntan en anexo 1.

Como el objetivo es lograr condiciones similares a las que se tienen en la piscicultura, es fundamental lograr una temperatura entre 10-12 °C. Esto se comprobó en una visita a la piscicultura salmones Pangué. Para lograr enfriar el agua se utilizó un sistema Chiller, pero como solo se tenía uno de estos se diseñó un serpentín de acero inoxidable, el cual, era capaz de bajar la temperatura de los tres acuarios a través del fenómeno de conducción y convección sin mezclar las aguas de cada uno de los acuarios, con el fin de mantener la independencia de cada uno de los sistemas.

Otro punto importante en el crecimiento de las microalgas es la oxigenación y la iluminación de estas. Para poder cumplir con estos requerimientos se utilizaron aireadores con difusores en sus puntas los cuales estaban repartidos uno en cada acuario. Mientras que, para la iluminación se utilizaron luces de acuario que iluminaban por el lateral de cada acuario con el fin de que la mayor cantidad de biomedio posible fuera afectado por la luz.

La selección de este biorreactor se basó en un estudio, el cual, luego de analizar el estado del arte en cuanto a biorreactores utilizados a nivel de laboratorio se llevó a cabo una simulación en AquaSim 2.0. Este programa está diseñado para la identificación y simulación de sistemas acuáticos en laboratorios, plantas técnicas y naturaleza. Las aplicaciones de este programa van desde la simulación de sistemas de biofilm, sistemas de reactor CSTR, reactor de tipo Batch, sistemas de reactor advectivo-difusivo, sistemas de ríos y lagos, entre otros. Además, este programa realiza las tareas de simulación, análisis de sensibilidad y estimación de parámetros [11].

En el estudio encontrado se llegó a la conclusión de que el modelo que mejor cumple las características para la simulación de un entorno acuático controlado que se asemeje a las aguas de la piscicultura es el modelo Flat Plate Bioreactor de forma horizontal (h-FPBR). El flujo horizontal a lo largo del reactor tiene un efecto directo sobre la biomasa y el consumo de nutrientes a lo largo del reactor [12].

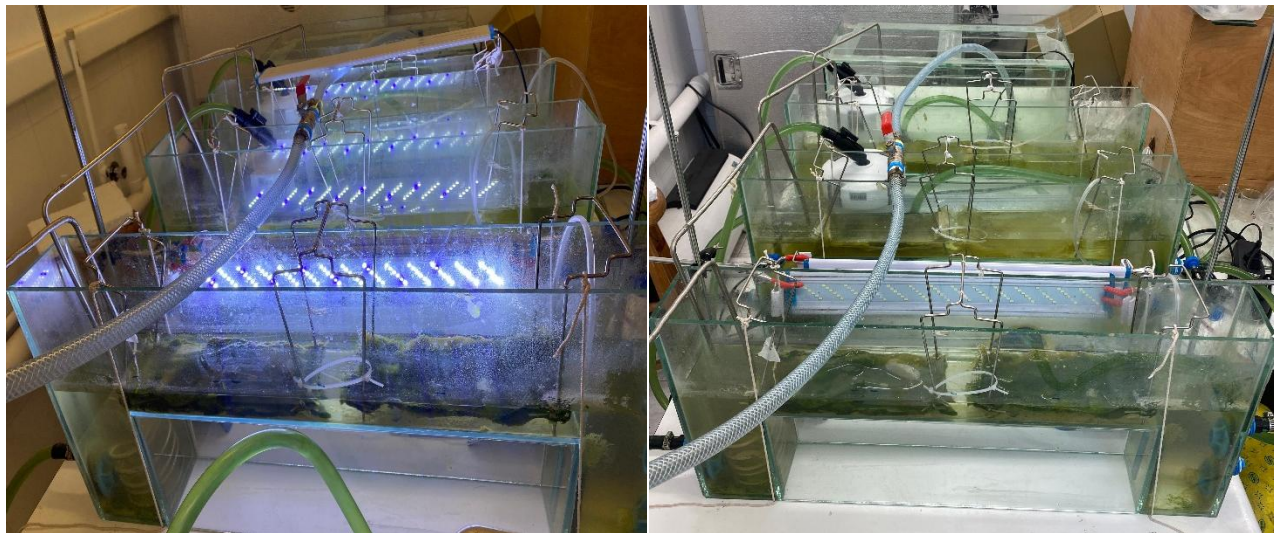


Figura 2. Sistemas ya montados con todos sus accesorios y en funcionamiento con el experimento. Se pueden ver filtros, biomedios, acuarios, serpentín y mangueras que se conectan al chiller.

3.2.Fabricación de biomedios

Como ya se mencionó en la introducción se tomó la decisión de no realizar la geometría típica de biomedio para llevar a cabo la depuración, la cual, corresponde a esferas de alginato. Esto debido al comportamiento térmico de la Carragenina y el Agar-Agar que no hacían posible la realización de esferas a temperatura ambiente como si lo permite el Alginato de sodio.

Es por esto por lo que se estudiaron de forma teórica diferentes geometrías hasta que se llegó a la decisión de una geometría laminar soportada en mallas, las consideraciones de esta elección van desde el punto de vista práctico, ya que, permite una manipulación más sencilla de los biomedios y permite una recuperación más eficiente una vez finalizados los experimentos.

Se realizaron tres tipos de biomedio, uno para cada acuario, el acuario 1 contuvo los biomedios de alginato de sodio, el acuario 2 los biomedios de alginato y Agar-Agar y el acuario 3 los biomedios con alginato y Carragenina. Y dentro de cada acuario se utilizaron dos tipos de mallas con diferente tamaño de poro, una con un tamaño de 60 micras (de ahora en adelante, llamada malla fina) y una malla con un poro de 3.500 micras (de ahora en adelante llamada malla ancha) para soportar el biomedio.

En un principio, el procedimiento para cada biomedio es igual. Lo primero, era extraer un litro del cultivo de microalga, esta extracción debe ser obligatoriamente directa del cultivo, ya que es fundamental que la microalga se encuentre viva, no así para la realización del hidrogel en donde no era perjudicial que la microalga esté muerta.

Luego, se realiza la medición de la concentración en ppm (partes por millón) que se encuentra la extracción del cultivo, esto se llevó a cabo con el espectrofotómetro de microplatos EPOCH 2 de Biotek. Equipo que ofrece un excelente rendimiento para mediciones de absorbancia UV, la amplia gama de longitudes de onda permite aplicaciones que van desde la cuantificación de ácidos nucleicos y proteínas en el UV bajo hasta ensayos de crecimiento microbiano en longitudes de onda más altas, todas estas especificaciones están disponibles en el sitio web de Biotek. Una vez medida la concentración de la microalga se realiza el cálculo del factor de dilución con el fin de que la concentración de cada biomedio quedara al 0,1%, el porqué de esta concentración se debe a que se quería evaluar la capacidad de crecimiento de la microalga desde una concentración muy baja con el fin de evaluar cuanto podía crecer la microalga, ya que, eso sería una generación de biomasa la cual

da valor agregado al producto, lo que es de gran interés para el proyecto. Ya con esto se puede realizar cada biomedio según su procedimiento respectivo.

Para el primer biomedio este estaba compuesto de microalga y alginato de sodio. Se puso la solución de 500 ml de microalga al 0,1% en un agitador mecánico al mínimo de las revoluciones por minuto (rpm) que permitiera el equipo. Luego, se agrega el alginato de sodio en una proporción para que esta quede al 2% p/p en la solución, se debe ir incrementando los rpm debido a que el alginato aumenta la resistencia de la solución. Se deja la mezcla en el agitador mecánico un tiempo mínimo de una hora. La elección de esta concentración de alginato de sodio se tomó debido a que es de esta forma como se realiza en el proyecto actual del cual, esta memoria forma parte y como ya se mencionó en secciones anteriores la idea es poder encontrar alternativas o mejoras a los métodos actuales del proyecto.

El segundo biomedio se realizó con microalga al 0,1%, alginato de sodio al 2% y Agar-Agar al 1%. A diferencia del biomedio número uno acá es necesario en un principio colocar solamente el agua que realizará la dilución de la microalga a una concentración del 0,1% sobre una placa calefactora y con el agitador mecánico, esperando que se llegue a una temperatura entre 60-70 °C. Esto debido a que para lograr una correcta homogenización del Agar-Agar se deben llevar a estas temperaturas, pero no se puede exponer a la microalga a temperaturas tan altas, es por esto por lo que en un principio se realiza solo con agua y en caso de complicaciones con la homogenización se debe agregar la menor cantidad posible de microalga. Una vez ya disuelto el Agar-Agar y el alginato de sodio, se baja la temperatura a 50 °C y se adiciona la totalidad de la microalga.

El tercer biomedio se realiza de forma análoga al segundo biomedio considerando las mismas concentraciones, el único cambio es que en vez de utilizar Agar-Agar, se utiliza la Carragenina.

Las imágenes de los biomedios resultantes se adjuntan en la sección de resultados.

La elección de las concentraciones de Agar-Agar y Carragenina del biomedio dos y tres se deben a que dentro del proyecto se encuentra otra memoria de título estudiando hidrogeles con estos dos compuestos, pero sin ser expuestos a una simulación de agua de piscicultura, como se trata de una propuesta innovadora se tomó el punto central del diseño experimental de dicha memoria de título, con el fin de que, dependiendo de los resultados se pudiese en un futuro aumentar o disminuir las concentraciones para nuevas pruebas.

Una vez listas las soluciones de cada biomedio estas se debían fijar en las mallas descritas anteriormente, para esto el procedimiento constaba de lo siguiente: primero, se coloca la malla dentro

de un recipiente antiadherente en el cual, la malla estuviera completamente estirada. Luego, se vierte la mezcla del biomedio y finalmente, para lograr la suportación se depositaba sobre la malla y el biomedio, cloruro de calcio al 2% para el caso del biomedio uno, cloruro de calcio al 1,75% en caso del Agar-Agar y una mezcla de cloruro de calcio y cloruro de potasio ambos al 1,75% para el caso del tercer biomedio con Carragenina. Estos compuestos son los responsables de formar el entrecruzamiento iónico que permiten la fijación del biomedio en los dos tipos de mallas.

Una vez más, la justificación de estas concentraciones en el caso del biomedio solo con alginato de sodio es debido a que se quiere replicar el procedimiento que se ha seguido dentro del proyecto. Mientras que, la elección de las concentraciones de los otros biomedios, vuelven a corresponder al punto central del diseño experimental de la otra memoria de título abarcada dentro del proyecto.

Es importante que una vez hechas las mallas estas queden reposando al menos cuatro horas en cloruro de calcio y/o cloruro de potasio según el biomedio correspondiente.

Finalmente, las mallas ya están listas para ser colocadas en el sistema, se colocaron dos mallas de cada tipo en cada estanque, la forma de colocarlas fue apilarlas de forma horizontal una sobre otra dejando una separación suficiente para permitir el paso del agua por cada malla con el fin de que la superficie de contacto fuera la máxima posible entre cada biomedio y el agua del sistema. A continuación, se aprecia como fue montado el sistema para el inicio del experimento.

3.3. Seguimiento de la depuración de aguas y crecimiento de microalgas.

Como ya se repasó en el estado del arte de la introducción, el proceso de depuración de aguas es un término empleado para referirse al proceso de eliminar contaminantes, impurezas y nutrientes que se encuentran en exceso en el agua, con el fin de mejorar su calidad. Para evaluar la capacidad de depuración de aguas de los biomedios se realizaron 3 ciclos de fortificación de agua. Esto consiste en que se añadieron diferentes sales para aumentar los niveles de nitrito, amonio y fosfato para así ver cuanto porcentaje de la concentración inicial de cada ion eran capaces de depurar los biomedios en los acuarios en un cierto tiempo específico. Las sales utilizadas fueron nitrito de sodio, fosfato de potasio y nitrito de amonio.

La medición de los niveles de estos iones se realizó de forma diaria, para ello se extraían 2 ml de muestra directa de cada extremo de cada estanque para la medición de nitrito y amonio. Mientras que, para fosfato se extraía 1 ml de cada extremo de cada uno de los estanques, pero esta muestra si debía

ser filtrada. Además de cada estanque, se tenía un control, el cual, consistía en un recipiente con esta agua fortificada, pero sin biomedio en su interior. Las mediciones del control fueron exactamente igual a los otros estanques, por lo cual, puede ser tratado como un cuarto estanque o recipiente.

Estas mediciones se llevaron a cabo en el equipo descrito anteriormente, el espectrofotómetro de microplacas EPOCH 2 de Biotek. En donde cada ion posee su respectiva curva de medición y su reactivo para llevar a cabo la reacción y posteriormente la medición.



Figura 3. Espectrofotómetro de microplacas EPOCH 2 de Biotek.

Otra variable de medición fue la turbidez del agua con el fin de evaluar posibles desprendimientos del biomedio de su malla de contención hacia el agua del estanque. Esta medición de turbidez se realizó de forma diaria en dos partes de cada acuario, en el centro donde se encontraba todo el biomedio y también en uno de los extremos de cada estanque. Para esto se utilizó el turbidímetro Orion AQ4500 de Thermo Scientific.



Figura 4. Turbidímetro Orion AQ4500 de Thermo Scientific.

Por un lado, el control de temperatura y pH también son variables fundamentales que se siguieron de forma diaria, para la temperatura se usaron termómetros de alcohol y también termómetros digitales para asegurarse de que la temperatura se mantuviera en valores de 10-13 °C que es la temperatura que suele tener el agua de la piscicultura. Por otro lado, el control del pH se llevó a cabo con el pH metro Oakton WD-35614-30 impermeable pH 150.



Figura 5. pH metro Oakton WD-35614-30 impermeable pH 150.

Esto con el fin de cerciorarse que estuviera en los rangos adecuados o bien, fuera capaz de llevarlos a rangos adecuados al final de cada ciclo.

3.4.Elaboración de hidrogel

Una vez terminado los tres ciclos y todo el tiempo de exposición el cual fue de 35 días, se deben retirar los biomedios de los acuarios y comenzar su evaluación como hidrogel. Aquí es importante hacer la distinción de que los biomedios dos y tres, ya son hidrogeles y no se les debe hacer ningún cambio posterior, esto debido a que ya presentan en su composición Agar-Agar y Carragenina respectivamente, los cuales, entregan rigidez y estabilidad al hidrogel. Sin embargo, para el caso del primer acuario, que solo posee el alginato de sodio. Si es necesario adicionar otro compuesto que permita que este biomedio pase a ser un hidrogel, para esto una vez sacado del sistema, se le adiciona ácido cítrico en una cantidad del 15% de la cantidad de alginato de sodio que tenía el biomedio. Este procedimiento para convertirlo en hidrogel sigue los pasos de lo que se ha hecho hasta ahora en el proyecto del cual esta memoria de título forma parte.

3.5. Caracterización de los hidrogeles

3.5.1. Swelling

El swelling o hinchamiento es la capacidad de un material, en este caso del hidrogel de absorber y desorber agua, esto lo que provoca es un aumento en su volumen y masa, pero sin que el material se disuelva, esto se ve influenciado por factores como pH, temperatura, fuerza iónica, entre otras [13].

Para calcular el porcentaje de swelling de cada hidrogel se utiliza la formula:

$$\%S = \frac{W_s - W_d}{W_d} * 100$$

En donde:

- W_s : Masa del hidrogel hinchado o húmedo (post absorción de agua)
- W_d : Masa del hidrogel seco

Para obtener la masa de hidrogel húmedo o hinchado, lo que se hace es dejarlo en un exceso de agua por un periodo de 24 horas, luego este se filtra con una bomba de vacío conectada a un matraz Kitosato hasta que este no filtre más agua, luego se pesa en una balanza analítica y eso corresponde a su peso en húmedo.

Por otro lado, para la obtención del peso seco, este se realiza masando también en una balanza analítica, el hidrogel luego de haber estado por lo menos 12 horas en una estufa de laboratorio a 60 °C para evitar quemar la microalga.

A cada hidrogel se le realizan tres ciclos de swelling.

3.5.2. Reología

El conocimiento de la reología de los hidrogeles ayuda a comprender la relación entre su estructura química y su comportamiento macroscópico. Además, esta comprensión es crucial para desarrollar hidrogeles con un rango específico de propiedades para cualquier aplicación específica [14].

La reología de los hidrogeles se lleva a cabo en el equipo LAMY RHEOLOGY INSTRUMENTS modelo CP-400 PLUS. Se realizan barridos con una rampa de velocidad de 2 seg^{-1} hasta 1000 seg^{-1} , tanto en sentido ascendente como descendente a una temperatura de 25 °C. Una vez obtenida la curva de datos se ajusta a alguno de los modelos disponibles y se hacen los cálculos para obtener la viscosidad y el comportamiento del hidrogel.



Figura 6. LAMY RHEOLOGY INSTRUMENTS modelo CP-400 PLUS.

3.5.3. Microscopía Confocal

Con el fin de comprobar si existe un crecimiento microalgas en los biomedios desde que fueron elaborados y colocados en los acuarios hasta que fueron retirados de estos y ya son convertidos en hidrogel, se les realiza microscopia confocal.

Se utiliza un microscopio confocal espectral de marca Zeiss modelo LSM780 a aumentos de 40x, se realiza un análisis tridimensional para evaluar la distribución y la viabilidad de las microalgas dentro del hidrogel. Las imágenes se capturan en múltiples planos z para obtener una reconstrucción completa de la muestra.

3.5.4. Análisis TGA

El TGA se realizó en el equipo NETZSCH STA 409 PC/PG. Las variaciones de masa se registran constantemente durante el calentamiento para determinar la pérdida de masa (%) en función de la temperatura permitiendo identificar las zonas de descomposición térmica y estableciendo la estabilidad del material.

4. Resultados y discusión.

4.1. Progreso visual en el crecimiento de microalgas a lo largo de los tres ciclos de depuración de aguas

La exposición de los biomedios (y posteriormente hidrogeles) se llevó a cabo por un periodo de 34 días. A lo largo de estos 34 días, los biomedios fueron capaces de soportar tres ciclos, en los cuales, la solución que los contenía eran fortificadas añadiendo sales con la intención de subir los niveles de amonio, fosfato y nitrito.

La microalga *Scenedesmus obliquus* demostró crecimiento en los tres acuarios, es decir, en los tres tipos de encapsulamiento a los que se sometió y en cada acuario también demostró crecimiento en los dos tipos de mallas en lo que se soportó este biomedio, con algunas diferencias que se explican a continuación para cada acuario y su biomedio correspondiente.

En la figura 7 se observa el crecimiento de la microalga de forma visual ilustrando 4 tiempos del experimento. Estas mallas corresponden al acuario 1, que como se detalló en la metodología corresponde a un biomedio elaborado con alginato de sodio 2% y microalga al 0,1%. Este biomedio partió con una tonalidad mucho más verde en comparación a los otros dos acuarios. Aun así, en el segundo par de imágenes correspondientes al día 13 deja ver a simple vista un verde más intenso en especial para el soporte en malla fina (60 micras).

El biomedio presentó una buena estabilidad y poco desprendimiento hasta el día 26 aproximadamente. Luego de esto, si se apreciaron desprendimientos, pero con la observación de que estos eran trozos enteros de biomedio y no era la microalga disuelta debido a un deterioro del soporte, en este caso, alginato de sodio.

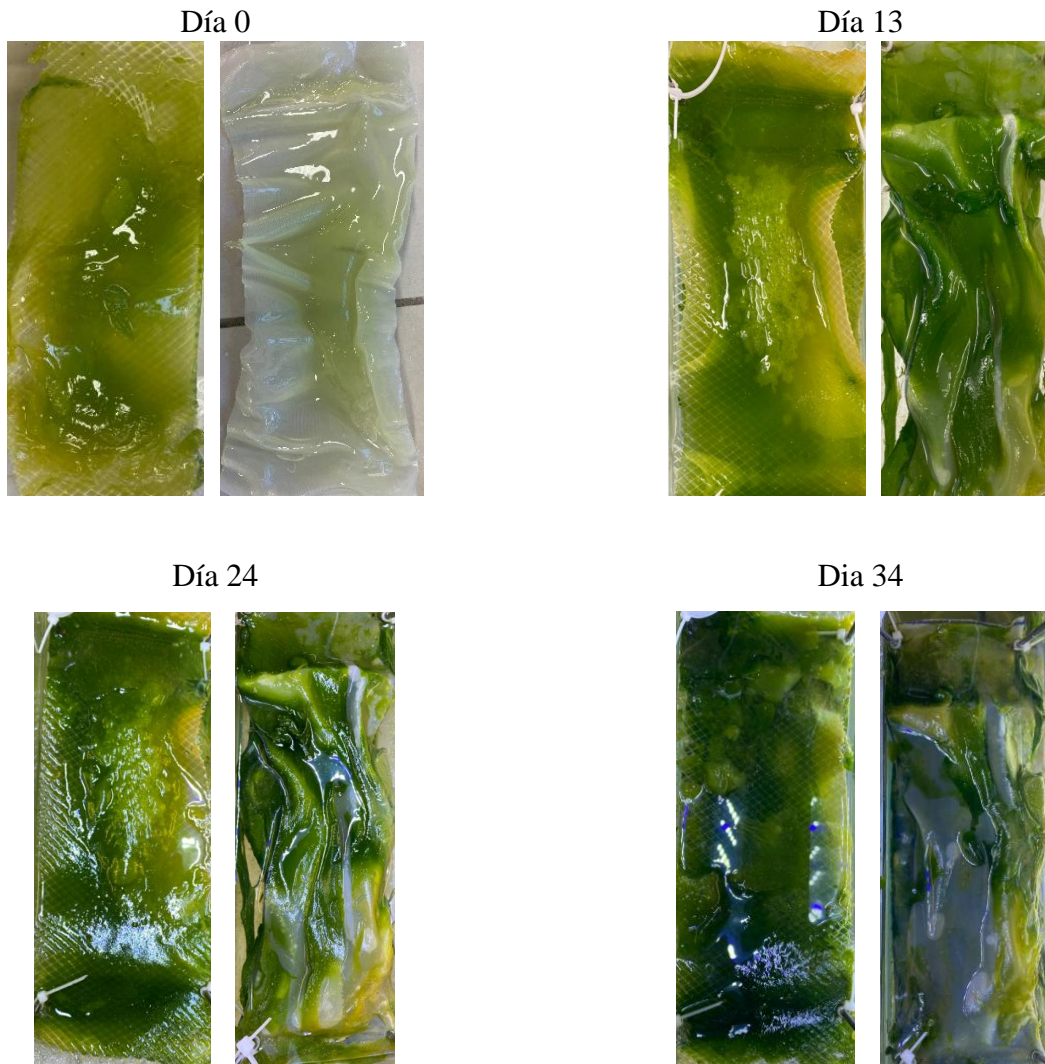


Figura 7. Biomedios de alginato de sodio soportados en malla ancha a la izquierda y en malla fina a la derecha a lo largo de diferentes días del experimento.

Para el caso de la figura 8 debajo, se tiene la progresión a lo largo de los días para el acuario 2, que poseía a la microalga encapsulada con alginato de sodio y Agar-Agar. La presencia del Agar-Agar, al ser de un color café claro, ocasionó que en el día 0 del experimento este se vea a simple vista sin la presencia de microalgas debido a falta de coloración verde. No obstante, al día 13 ya es posible apreciar que existió un leve crecimiento en todas las mallas sumergidas en el sistema. Y ya para el día 24 estas se encontraban totalmente verdes.

Los biomedios presentaron un mayor desprendimiento, esto se evidenciará más adelante cuando se detalle la cantidad final que hubo tanto de biomedio extraído como de hidrogel final ya terminado sus tres ciclos de swelling. Además, presentó un desprendimiento mixto, entre trozos de biomedio y también microalga directa en el agua debido al desgaste del encapsulado o bien,

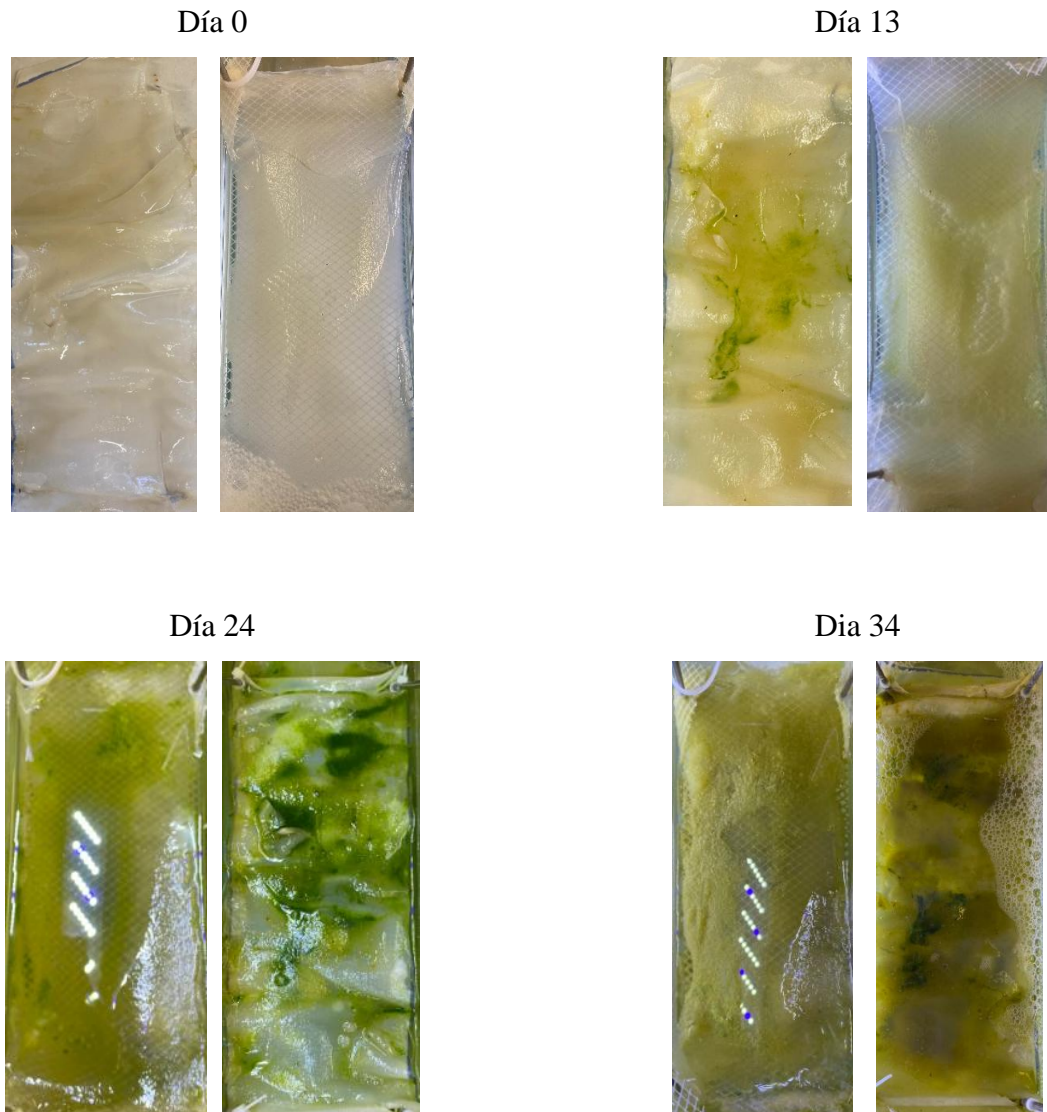


Figura 8. *Biomedios de alginato de sodio y Agar-Agar soportados en malla ancha a la izquierda y en malla fina a la derecha a lo largo de diferentes días del experimento.*

En tercer lugar, en la figura 9 se tiene el biomedio correspondiente al acuario 3, compuesto de alginato de sodio, Carragenina y microalga. Al igual que para el acuario número 2, la Carragenina presenta un color café que provocó que las mallas al día cero quedaran de un color pálido que no permite ver a simple vista la presencia de microalgas. Sin embargo, la microalga demostró el poder crecer pese a la encapsulación, lo que confirma que hubo intercambio iónico entre el biomedio y el agua del acuario.

El acuario número 3 fue el primero en presentar desprendimientos, estos fueron alrededor del día 15, es decir, antes de la mitad del experimento. Además, en comparación a los otros dos acuarios, acá se

debió a un desgaste del encapsulado, por lo que, lo desprendido era directamente microalga lo que fue turbando el acuario, es más, la malla de poro más ancho no fue capaz de soportar todo el experimento y no se pudo extraer una cantidad de muestra que permitiera evaluar posteriormente el hidrogel soportado en esta malla.

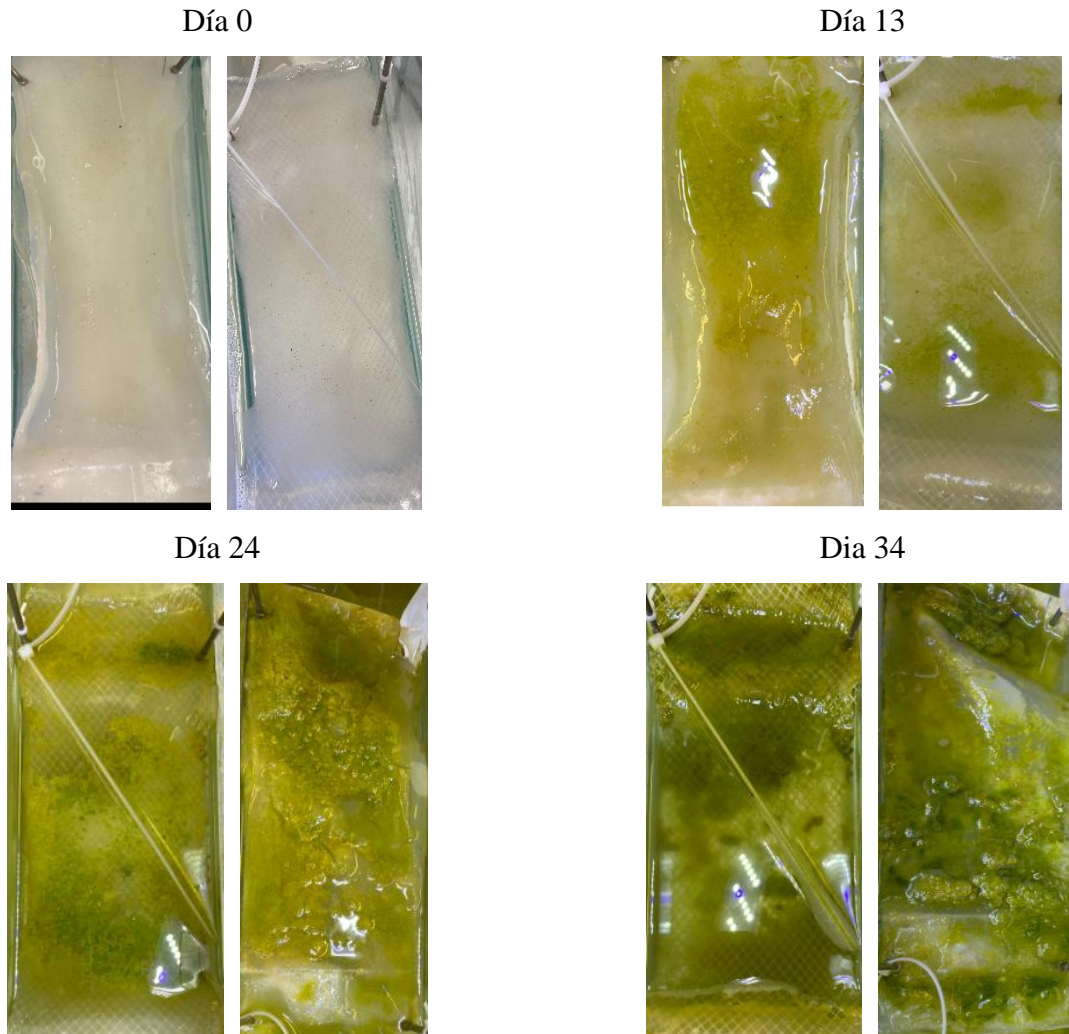


Figura 9. Biomedios de alginato de sodio y Carragenina soportados en malla ancha a la izquierda y en malla fina a la derecha a lo largo de diferentes días del experimento.

Finalmente, de forma visual haciendo un seguimiento diario y fotografiando progresos en los acuarios, se pudo comprobar que la microalga es capaz de crecer en el encapsulado de los tres acuarios puestos a prueba y también, fue capaz de crecer en ambos tipos de mallas.

De las mallas con una porosidad mayor, se extrajo menos material en comparación a la malla de poro más fino, por lo que, resultó ser mejor soporte.

Esto abre paso para que en futuras investigaciones se pueda aumentar la cantidad de entrecruzantes como Carragenina y Agar-Agar con el fin de aumentar la durabilidad del medio en el agua según lo que quiera el proyecto, teniendo como limitante siempre el punto en el que se permita el intercambio de iones y nutrientes entre la microalga y el medio que fomente su crecimiento, agregando una propuesta de valor al estar creando biomasa a partir de desechos de piscicultura.

Para darle un sentido más cuantitativo al crecimiento, pero especialmente a este desprendimiento de la microalga, se realizaron medidas de turbidez en un principio en los extremos del acuario, pero desde el ciclo 2 también se comenzó a realizar en la zona media donde se encontraba el biomedio. La importancia de esto recae en que si la turbidez aumenta es por desprendimiento del biomedio a la malla que lo soporta, pero también está el factor que el biomedio pueda deshacerse y perder sus propiedades en el medio. La diferencia entre la turbidez en un extremo o en la zona media diferencia que, si es desprendimiento, la mayoría de este quedara en esta zona alojado. Mientras que, si es porque el biomedio no esta manteniendo su estructura, la microalga quedará suspendida por todo el acuario.

Esto confirmó que el acuario uno fue el que sufrió menos desprendimiento en comparación a los demás y su biomedio casi no sufrió desgaste en comparación a los demás. El Agar-Agar sufrió una mixtura entre desprendimiento de biomedio de la malla y un desgaste permitiendo que la microalga quedara suspendida. Y, por último, la carragenina que sufrió en su mayoría un desgaste total del biomedio, quedando todo el acuario con una tonalidad verde. Los gráficos se encuentran en el anexo 4.

4.2. Eficiencia de depuración de los niveles de amonio, fosfato y nitrito a lo largo de los tres ciclos experimentales

4.2.1. Primer ciclo

El primer ciclo tuvo una duración de seis días, en los cuales, se llevaron a cabo mediciones en los días cero, uno, dos, tres y seis.

Para el caso del amonio como, se observa en la figura 10, se realizó una fortificación del agua de piscicultura añadiendo nitrato de amonio (NH_4NO_3) logrando una concentración de $6,83 \text{ mg/L} \pm 0,43$.

Al final del ciclo, tomando un promedio entre el remanente de la entrada y salida de cada acuario para llevarlo a un porcentaje de depuración, se pudo observar que el acuario 1 presentó una depuración del 79% de los niveles iniciales de amonio, el acuario 2 un 81%, el acuario 3 un 73% y el control solo

depuró un 47%, el cual, en su mayoría se debe a la actividad de bacterias nitrificantes presentes en las aguas de la piscicultura.

La disminución en los niveles de concentración en todos los acuarios no presentó grandes diferencias entre la entrada (aguas arriba de los biomedios expuestos) y la salida (aguas abajo posteriores a los biomedios expuesto).

Otra apreciación en la imagen es que, todos los biomedios presentaron descensos en sus niveles de forma escalonada, es decir, fueron bajando a lo largo de los días. Sin embargo, el acuario 3 que poseía biomedios con Carragenina logró un estancamiento al día 2, esto explica por qué tuvo un peor porcentaje de depuración ante sus pares. Revisando la teoría una posible explicación a este suceso puede ser a que como se encuentra en un inicio del experimento aún se tiene poca cantidad de microalgas y esto genera que su capacidad de depuración sea muy baja y este siendo dificultada por el encapsulante, en este caso la Carragenina [15]. Esto explicaría que el descenso que hubo fue ocasionado en su mayoría por bacterias nitrificantes que a su vez pudieron haber llegado a un estancamiento debido a un desbalance entre nitrificación y desnitrificación [16].

Por otro lado, el acuario 1 que contenía biomedios solo con alginato de sodio tuvo un aumento al día 2 y un posterior descenso, algunas razones que explican este comportamiento podría ser al igual que en el caso de la Carragenina una competencia entre absorción y regeneración de amonio. Las microalgas y bacterias actúan en simultaneo, haciendo que no siempre el descenso sea lineal. Un descenso al inicio podría deberse a una absorción rápida, mientras que una subida podría estar ocasionada por bacterias o materia orgánica degradada [17].

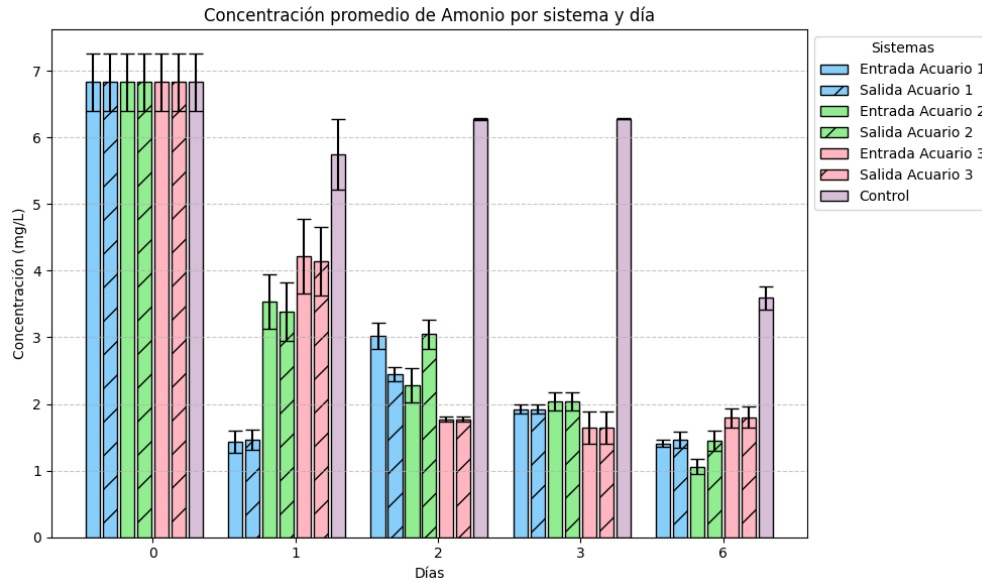


Figura 10. Variación de concentración en el tiempo de amonio para el ciclo 1.

Para el caso del fosfato se tuvo un descenso a lo largo de los días y en los tres acuarios el descenso en los niveles iniciales de fosfato que correspondían a 8 mg/L fueron casi totales. Sin embargo, existió una diferencia en la rapidez en la que sucedió esta depuración. Para el primer día, el acuario 1 ya había depurado un 92% de los niveles iniciales, mientras que, el acuario 2 un 43% y el acuario 3 solo un 32%. Para este caso tampoco hubo distinción notoria entre las entradas y salidas de cada acuario. La discusión sobre los porcentajes de depuración se lleva a cabo al final de la sección comparando los tres ciclos.

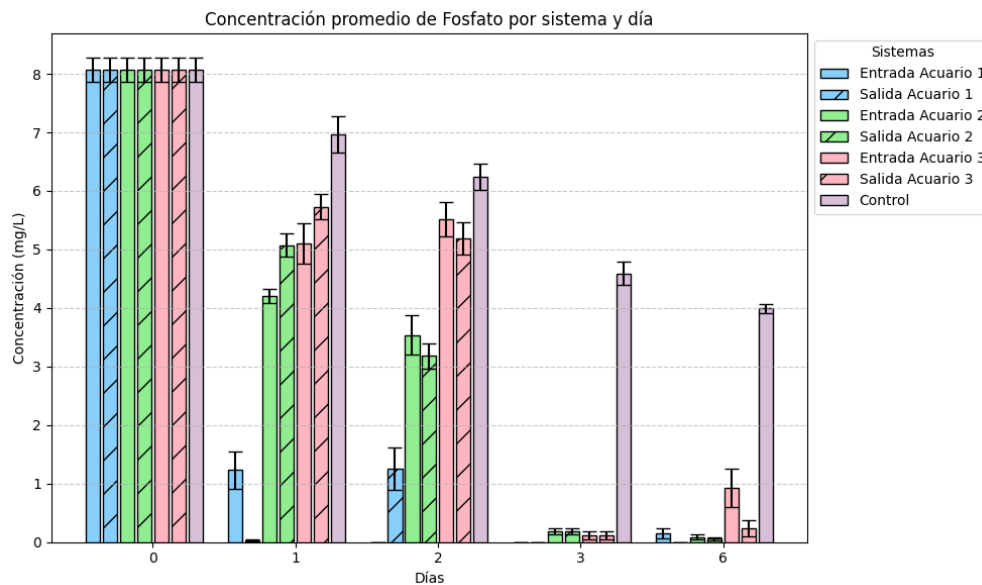


Figura 11. Variación de concentración en el tiempo de fosfato para el ciclo 1.

Finalmente, para el ciclo 1 se tiene el reporte del nitrito, se hizo una fortificación de 2 ppm para cada sistema. A diferencia de los casos de amonio y fosfato acá el control también fue capaz de reducir a concentraciones bajo los 0,25 ppm los niveles de nitrito, eso debido a las bacterias nitrificantes que posee el agua de la piscicultura. La gran diferencia se haya en que mientras al control esto le tomó 6 días, a los sistemas con biomedios microalgales les tomó solamente tres.

Es importante hacer la observación de que para el acuario 3 entre el día tres y el día 6 existió un aumento en los niveles de nitrito que, aunque mantuvo bajo los niveles de nitrito fue un aumento de más del 50% comparando con el nivel logrado en el día 3. Este suceso podría deberse a una falta de oxígeno disuelto en ese periodo que afecta notoriamente la actividad nitrificante [18].

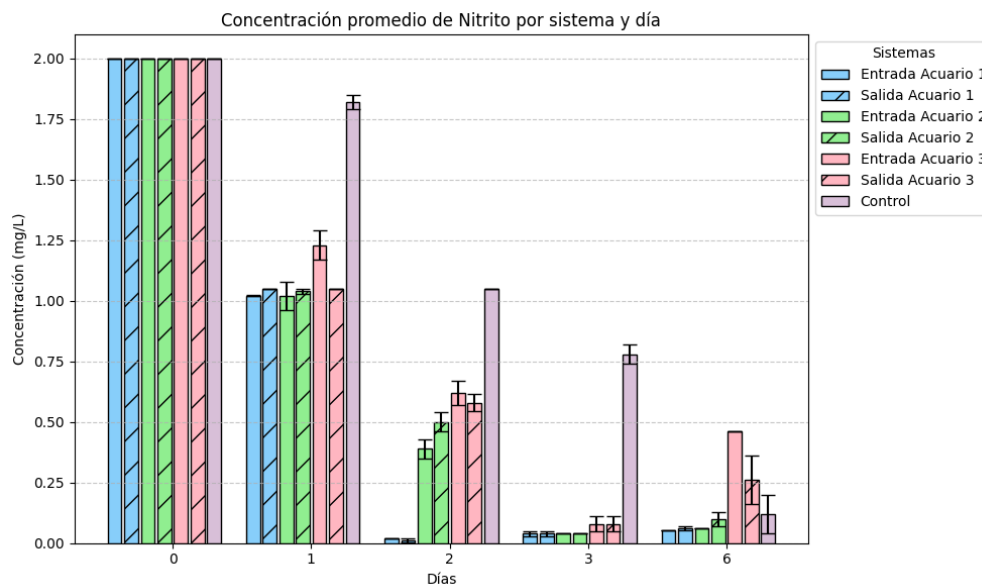


Figura 12. Variación de concentración en el tiempo de nitrito para el ciclo 1.

4.2.2. Segundo ciclo.

Para el segundo ciclo se consideró una duración de 5 días realizando mediciones en el día 0, 1, 2, y 5. Iniciado con una concentración de $7 \text{ mg/L} \pm 0,32$.

A diferencia del ciclo uno, a simple viste en la figura 12 se pude notar que existió una gran diferencia entre la entrada y la salida de cada acuario en los días 1 y 2. Esto se puede justificar debido a que, si observamos las imágenes de la sección anterior, se pude notar que estos días corresponden a cuando las microalgas se encontraban en un *peak* de crecimiento y sin desprendimientos, lo que sucedió días

posteriores. Por lo que, los iones al pasar por la zona de los biomedios lograban disminuir los niveles de la concentración en el agua, demostrando su capacidad de depuración.

Los porcentajes de depuración promedio para cada acuario fueron de del 89% para el acuario 1, del 79% para el acuario 2, del 90% para el acuario 3 y del 79% para el control. Acá de nuevo, vemos un aumento en los niveles de amonio y luego un descenso, estos hechos se justifican con los mismos argumentos que para el ciclo 1 [14][15].

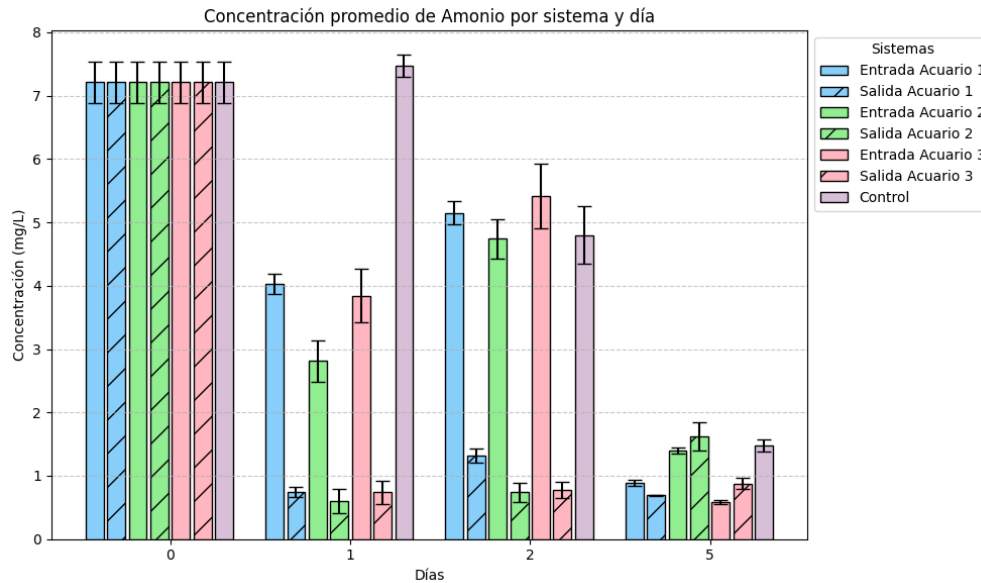


Figura 13. Variación de concentración en el tiempo de amonio para el ciclo 2.

Para el caso del fosfato se realizó un aumento considerable de la concentración de este en los acuarios, llegando a niveles de $17,70 \text{ mg/L} \pm 0,09$. Los datos presentaron un descenso constante en el tiempo, llegando a estar casi completamente depurados. Se observó una anomalía en el acuario 1 en el día 1 entre su entrada y su salida en donde vemos una diferencial muy grande. Esto puede estar explicado a que como se mencionó anteriormente los biomedios estaban en su rango de máximo crecimiento sin estar desprendidos en el acuario, por lo que, al pasar las aguas de piscicultura por el biomedio, haya existido una alta interacción entre el biomedio y la solución causando una alta depuración de estas.

Los porcentajes de depuración para este caso correspondieron a un 99% para el acuario 1, 88% para el acuario 2, 98% para el tercer acuario y un 40% para el control. Con esto se sigue evidenciando la capacidad de depuración de los biomedios microalgales y también, se muestra que el agua de la piscicultura por sí sola no es capaz de eliminar ni la mitad de la concentración inicial de fosfato.

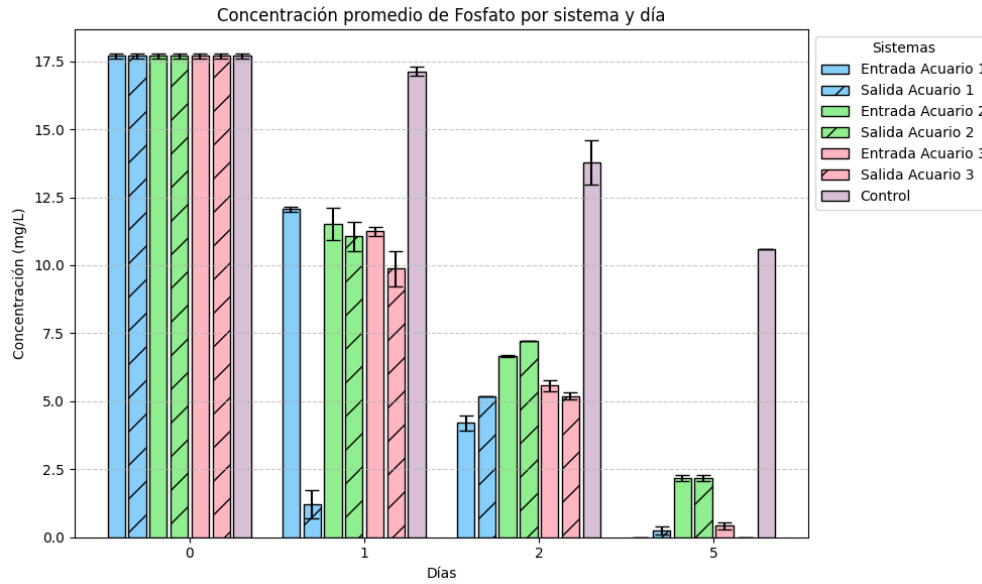


Figura 14. Variación de concentración en el tiempo de fosfato para el ciclo 2.

Para el caso del nitrito, al día 2 la depuración ya era casi total y para el día 5 ya fue del 100% para todos los sistemas incluyendo el control. De este gráfico se pueden contrastar dos ideas importantes con los gráficos ya vistos hasta ahora.

Por un lado, se puede evidenciar la presencia y actividad de bacterias nitrificantes, ya que, el control por sí solo no es capaz de reducir ni la mitad de la concentración de fosfato. Sin embargo, si fue capaz de reducir en un 79% los niveles de amonio y en un 100% los niveles de nitrito, resaltando el ciclo que suelen tener estas bacterias.

Por otro lado, como ya se mencionó en todo este ciclo dos, se evidencia sumando las imágenes de la sección anterior que para estas alturas del experimento ya existía un crecimiento de microalgas en los biomedios, esto se puede notar de partida en que el proceso duró un día menos en comparación al ciclo 1. Además, las reducciones se produjeron mucho más rápido, en especial para el nitrito.

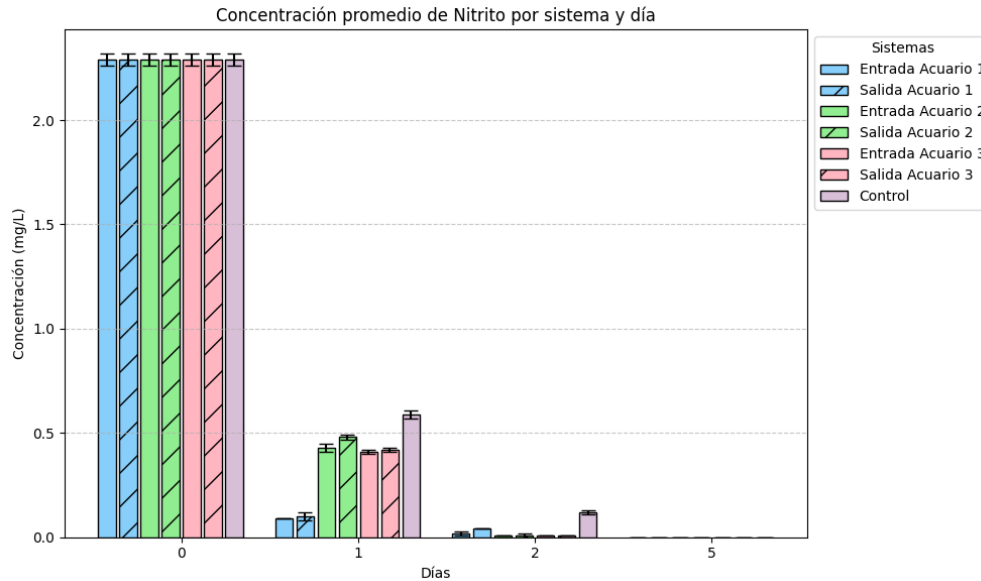


Figura 15. Variación de concentración en el tiempo de nitrito para el ciclo 2.

4.2.3. Tercer ciclo

Para el tercer ciclo no fue posible que las concentraciones se equiparan de igual forma como si fue posible para el ciclo 1 y 2. Es por esto, que toma más relevancia aun el porcentaje de depuración de cada acuario. Este ciclo también duró cinco días y se pudieron realizar mediciones en el día 0, 1, 2, 4 y 5.

Para el amonio se sigue la tendencia de una reducción cada vez más rápida, esto sigue confirmando que a medida que pasaban los días cada vez existía una mayor concentración de microalga, también ya en este ciclo es posible observar desprendimientos que calzan con las imágenes de la sección anterior y con los gráficos de turbidez.

Al día 2 los niveles de concentración ya estaban cerca de la 1 ppm en todos los acuarios y existió un leve aumento en los días 4 y 5. Esto podría ser explicado según la literatura por que los biomedios, específicamente las microalgas, llegaron a su límite en la capacidad de desnitrificación [19]. Al llevar durante tres ciclos los niveles de amonio a niveles considerablemente altos, las microalgas llegan a un nivel en su capacidad de asimilar el amonio lo que las satura y no pueden realizar el proceso igual de rápido que en ciclos anteriores [20].

El porcentaje de depuración al último día de cada acuario fue de 84% para el acuario 1, 82% para el acuario 2, 69% para el acuario 3 y para el control se terminó con una concentración mayor a la inicial, por lo que, en este último ciclo el control por sí solo no fue capaz de depurar las aguas.

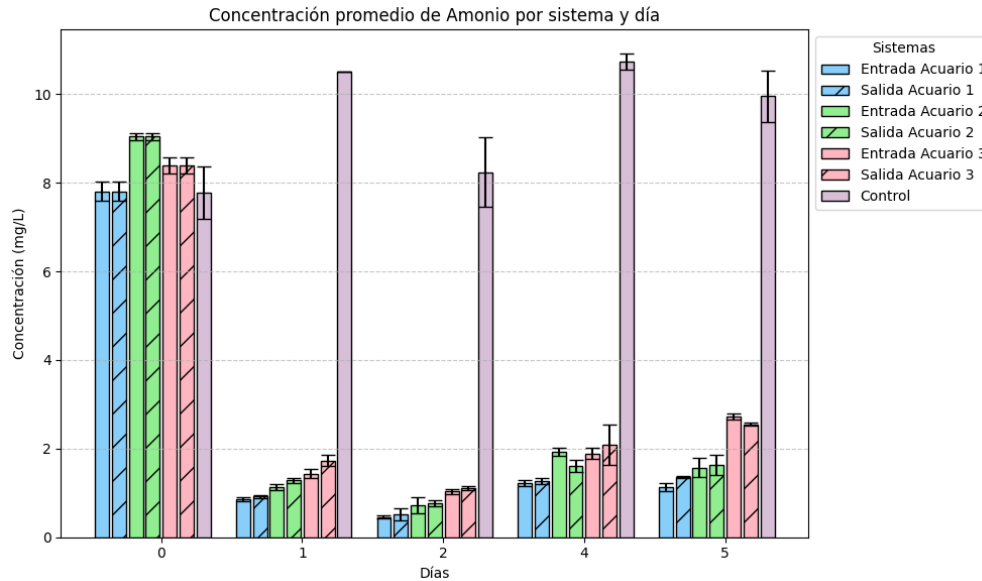


Figura 16. Variación de concentración en el tiempo de amonio para el ciclo 3.

Para el caso del fosfato se obtuvo un descenso muy abrupto para el acuario 1 (100% de depuración en un solo día) mientras que, para el acuario 2 y 3 para el día 4 del experimento ya se encontraba la totalidad de la concentración depurada. Esta velocidad de depuración no es del todo favorable, ya que, al no tener una distinción entre entradas y salidas de cada acuario y como en este punto del experimento ya había demasiados desprendimientos y desgastes del biomedio permitiendo que la microalga estuviera “libre” en el agua, tuvieron como consecuencia que estas se alimentaron directamente del fosfato del agua y no solo por la transferencia de masa entre la microalga encapsulada en el biomedio y el agua del experimento. Esto se prueba que fue así, ya que, al no reducir nada la depuración de fosfato en el control se puede asegurar que toda esta disminución se debe a las microalgas.

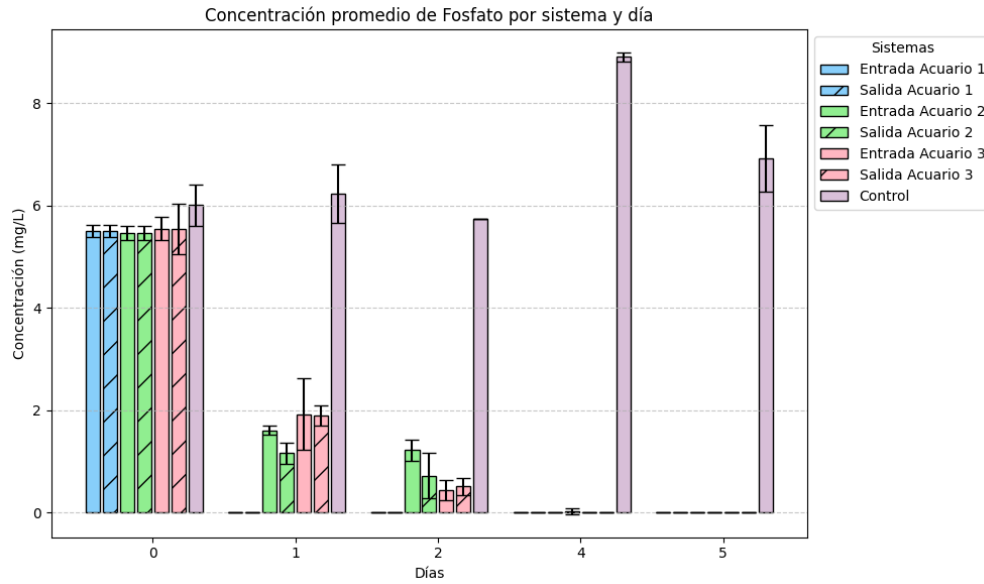


Figura 17. Variación de concentración en el tiempo de fosfato para el ciclo 3.

Finalmente, para el caso del nitrito se tiene un escenario atípico para lo que se venía observando en los otros ciclos, en donde hasta ahora habíamos tenido descensos muy rápidos y a niveles cercanos a cero. Como la relación amonio-nitrito siempre está presente, acá también se aplica el argumento de que las microalgas ya se encuentran saturadas y también es importante observar que, en el control, donde solo hay bacterias nitrificantes, ya no están bajando los niveles ni de amonio ni de nitrito, lo que puede representar que estas llegaron a un estado de inactividad [21].

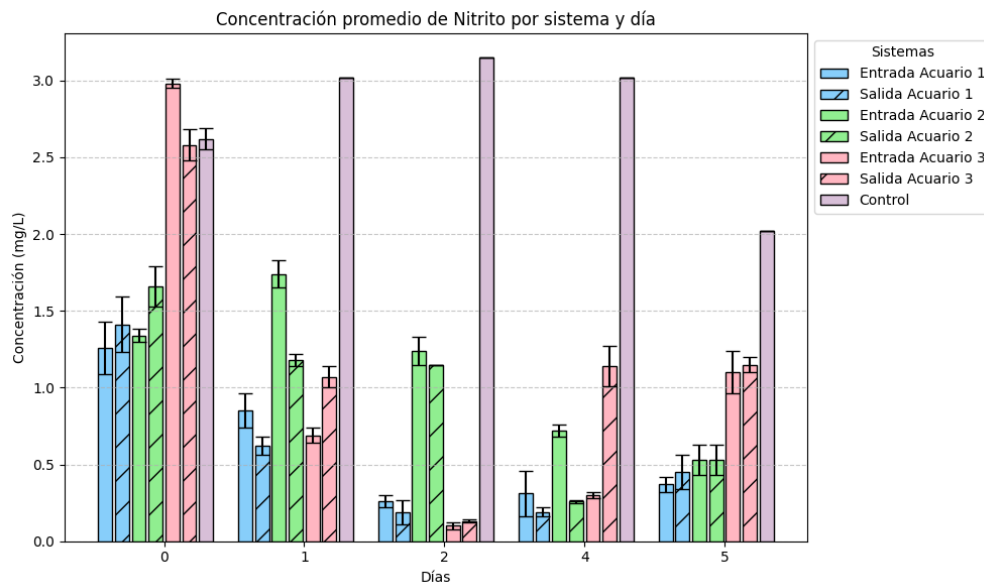


Figura 18. Variación de concentración en el tiempo de nitrito para el ciclo 3.

Se ingresan las tablas resúmenes del porcentaje de depuración de cada acuario en cada ciclo establecido

Tabla 1. Depuración del amonio a lo largo del experimento en los tres ciclos.

Amonio	Ciclo 1 [%]	Ciclo 2 [%]	Ciclo 3 [%]
Acuario 1	79	89	84
Acuario 2	82	79	82
Acuario 3	74	90	69
Acuario 4	47	79	0

Tabla 2. Depuración de fosfato a lo largo del experimento en los tres ciclos.

Fosfato	Ciclo 1 [%]	Ciclo 2 [%]	Ciclo 3 [%]
Acuario 1	98	99	100
Acuario 2	99	88	100
Acuario 3	88	88	100
Acuario 4	51	40	0

Tabla 3. Depuración de nitrito a lo largo del experimento en los tres ciclos.

Nitrito	Ciclo 1 [%]	Ciclo 2 [%]	Ciclo 3 [%]
Acuario 1	97	100	69
Acuario 2	96	100	64
Acuario 3	82	100	59
Acuario 4	94	100	23

Con esta tabla es más sencillo observar la variación de la depuración a lo largo de los ciclos, se tiene que para el ciclo 3 las depuraciones fueron mucho más bajas en amonio y nitrito, esto debido a como ya se mencionó un posible agotamiento en las bacterias nitrificante. Sin embargo, el fosfato logró ser depurado en un 100% en este último ciclo, esto debido a que como la microalga ya se encontraba dispersa en el medio y este sirvió como alimento para las microalgas.

Los resultados en comparación a la literatura son muy prometedores, en especial los del biomedio tradicional, pero también los biomedios fortificados con Agar-agar. Los biomedios con microalgas encapsuladas permitieron mejores resultados que cultivos de microalga en MPBR (fotobiorreactor de membrana) en amonio y fósforo (86 y 83%) [22]. También mejores resultados que métodos de tratamiento como un reactor biológico de membrana (90% y 65%) [23]. Y se logra poner en las mismas condiciones que tratamientos batch de microalgas como los que reúne en un análisis Gao et al. [24].

Además, la microalga, logra mejores resultados que la *Chlorella vulgaris* y otros tipos de esta microalga, que por ejemplo en un ensayo depurando aguas urbanas solo llegó a un 70% en depuración de fosfato y un 65% en nitrito [25].

En el anexo 5 se encuentran los gráficos del seguimiento del pH durante los tres ciclos, se mantuvo dentro de los rangos encontrados en literatura que recomiendan estar en los rangos de 7 a 8,5 [26]. A excepción del ciclo 3 que se elevaron estos niveles. Sin embargo, hay que recordar que se realizaron fortificaciones, por lo que, estos niveles partieron altos en dicho ciclo. Se destaca la capacidad de los acuarios 1 y 2 de poder reducir estos altos niveles y llevarlos a índices correspondientes. Se ingresan los gráficos en el anexo 5.

4.3. Caracterización de la estructura de los hidrogeles y crecimiento de microalgas a través de imágenes confocales

En el anexo 6 están adjuntadas las imágenes de la microscopia confocal que permiten contrastar el crecimiento de la microalga comparando el momento inicial y final. Además, se ingresa una imagen confocal que solo muestra a la microalga extraída directamente desde el cultivo, esto para comprobar que todos los organismos que vemos corresponden a la microalga *Scenedesmus obliquus*.

En la primera sección de resultados se analizó el crecimiento de las microalgas de una forma visual, que constó de tomar fotografías. Sin embargo, se encontró necesario buscar una forma que evidenciara el crecimiento a nivel microscópico, para esto se realizó una microscopia confocal como se explicó en la metodología.

La microscopia confocal es una técnica avanzada de imágenes de alta resolución y contraste en muestras biológicas y de materiales [27]. Para el caso de los hidrogeles, este tipo de microscopía

permite observar la distribución tridimensional de las microalgas encapsuladas, ofreciendo la posibilidad de ver la cercanía y profundidad de estas [28].

En la figura 5 en donde la columna izquierda de arriba abajo muestra los hidrogeles de alginato en malla fina, alginato en malla ancha, Agar-Agar en malla fina, Agar-Agar en malla ancha y Carragenina en malla fina. Todo esto en el día 0 del experimento. Mientras que, en la columna derecha se muestra los hidrogeles ya elaborados y después de todo el experimento.

Cabe destacar que del acuario 3, el biomedio realizado con microalga y carragenina que se encontraba soportado en la malla ancha se disolvió en su totalidad y no se pudo extraer muestras ni para hacer hidrogel ni para analizar en ninguna de las pruebas de caracterización.

La microscopia confocal entregó resultados positivos que confirman lo que se había visto en fotografías, se comprobó el crecimiento microalgal entre el inicio y el final del experimento. Notorios son los casos con Agar-Agar y Carragenina en donde en un día 0 solo se lograron ver unas pocas microalgas y para los días finales ya se lograron ver varias unidades en los distintos planos de profundidad.

Para el caso del alginato se puede ver en el anexo 6 que en los días 0 si existía una cantidad considerable de microalgas, pero en el caso del primer hidrogel vemos que al final de todo el experimento estas microalgas tienden a juntarse y aglomerarse, formando un cumulo de microalgas, que es lo que sucede en dicho hidrogel.

A continuación, se deja una de las imágenes confocal comparando el día inicial y final, como ya se mencionó el resto se encuentra como ya se mencionó, en el anexo 6.

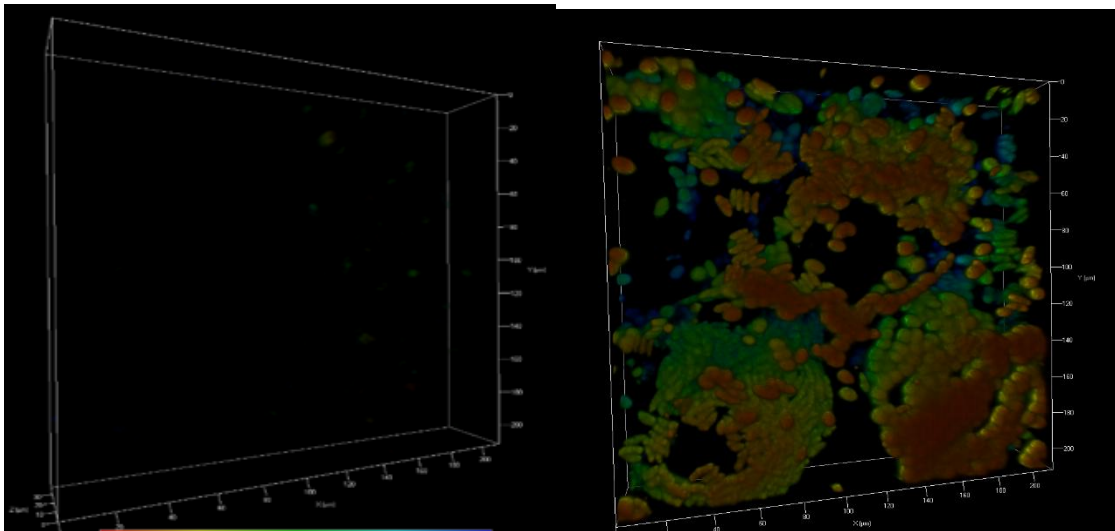


Figura 19. Crecimiento de la microalgas en biomedio (hidrogel) de Agar-Agar con alginato de sodio día 0 y día 35 respectivamente.

4.4. Estudio de hinchamiento (swelling) de los hidrogeles elaborados

Los resultados de swelling según lo explicado en metodología se reportan en la tabla 1.

Tabla 4. Muestra de los cinco hidrogeles y sus resultados a las pruebas de swelling entregadas en porcentaje de swelling.

Hidrogel	% Sw ciclo 1	% Sw ciclo 2	% Sw ciclo 3
(1) Alginato – Malla fina	227	128	124
(2) Alginato – Malla ancha	118	120	152
(3) Agar-agar – Malla fina	600	761	441
(3) Agar-agar – Malla ancha	744	367	504
(5) Carragenina – Malla fina	912	375	347

Realizando una comparación entre los hidrogeles elaborados, vemos una diferencia muy considerable (entre 3-5 veces) entre los hidrogeles realizados con Agar-Agar y Carragenina frente a los hidrogeles solo realizados con alginato. Esta explicación se debe al factor mencionado en la metodología que estos biomedios de solo alginato al ser extraídos de los acuarios tuvieron que pasar por un proceso más con ácido cítrico para convertirse en hidrogel, al contrario de las demás muestras que desde su primera elaboración fueron hidrogeles.

Fue en este paso extra en donde se tuvo que agregar el doble de la cantidad establecida en el proyecto de ácido cítrico debido a que no se estaba logrando el entrecruzamiento esperado para la conversión en hidrogel. Esto ocasionó que la estructura fuera más rígida limitando la capacidad de absorción de agua para estos dos hidrogeles.

Vemos que los resultados de Agar-Agar destacan dentro de las pruebas, en especial el desarrollado en malla fina, este resultado es prometedor, ya que, comparado con otro hidrogel que posee un swelling de 493% hecho de agar-agar que ni si quiera posee microalga [29]. También, tanto para Agar-Agar y Carragenina se encontraron resultados levemente mejores que los obtenidos por hidrogeles a partir de quitosano y almidón encapsulados con urea para uso en agricultura en donde se obtuvieron swelling entre 180 y 600% según las combinaciones que trataban en los experimentos de la investigación [6].

Si bien estos porcentajes están muy lejos de los logrados por los hidrogeles comerciales, conocidos como hidrogeles super absorbentes, que tienen la desventaja de contar con baja o nula degradabilidad [30]. Sus compuestos como el poliacrilato suelen provenir de fuentes fósiles que posee baja

bioactividad, biocompatibilidad y por ende baja sustentabilidad [4]. Esto es totalmente opuesto a lo que pretenden los hidrogeles biodegradables a partir de fuentes sustentables y con la misión de crear biomasa trabajados en la memoria de título.

Es necesario recalcar que otro factor que puede influir en el swelling de todos los hidrogeles es que como se apreció con diferentes imágenes, la concentración de microalga aumentó, si bien no fue posible determinar la concentración final de esta. Si es sabido que a mayor concentración de microalgas en un hidrogel este disminuye su capacidad de swelling [31]. Por lo que, puede ser que la concentración haya subido demasiado al punto que no fue posible subir los niveles de swelling que otros polímeros tienen o que se logran dentro del proyecto, queda como recomendación poder medir esta concentración y en caso de ser muy alta, lograr la dilución y ahí poder estudiar su capacidad de swelling. En el anexo 7 se encuentran imágenes de los swelling y del hidrogel final luego de sus tres ciclos de swelling.

4.5. Propiedades reológicas de los hidrogeles elaborados

Como se indicó en la metodología, se utilizó un reómetro para caracterizar los hidrogeles, en el anexo 8 se ingresan los gráficos entregados por el equipo.

El reómetro tiene la ventaja de que permite ver a que modelo se ajustan los datos obtenidos, con el fin de poder obtener la viscosidad de fluencia y el límite de fluencia según el modelo al que se adapten de mejor forma, es decir, que posean el mejor R^2 . Los modelos a los que se adaptó cada modelo se dejan a continuación en la tabla 5.

Tabla 5. Modelos mejor ajustados para la obtención de límite de fluencia y viscosidad.

Hidrogel	Modelo elegido	R^2
(1) Alginato – Malla fina	Bingham	0,87
(2) Alginato – Malla ancha	Casson	0,95
(3) Agar-agar – Malla fina	Casson	0,80
(3) Agar-agar – Malla ancha	Casson	0,75
(5) Carragenina – Malla fina	Polinomial	0,94

El reómetro utilizado nos entrega un resultado de reología ascendente (de ida) y uno descendente (vuelta). Para este caso, se puede ver que solo existe un modelo, esto es porque los hidrogeles solo respondieron y se ajustaron a un modelo en el análisis ascendente o “de ida”. Para la vuelta o no se lograron ajustar o se ajustaban en R^2 demasiado bajos que no hacían viables los ajustes.

Ya con los modelos de cada muestra y su ecuación respectiva, desarrollada en anexos, es posible calcular el límite de fluencia y la viscosidad de fluencia de cada hidrogel, se ingresa en la tabla a continuación:

Tabla 6. límites y viscosidades de fluencia de los hidrogeles

Hidrogel	Límite de fluencia (Pa)	Viscosidad de fluencia (cP)
(1) Alginato – Malla fina	103,13	-77,17
(2) Alginato – Malla ancha	10,93	12,18
(3) Agar-agar – Malla fina	101,68	64,66
(4) Agar-agar – Malla ancha	1328,54	868,44
(5) Carragenina – Malla fina	35,9	0,2

Lamentablemente, los resultados de la reología para la muestra número uno queda descartado. Esto debido a que con el mejor modelo se obtuvo una viscosidad negativa, lo cual, carece de sentido físico. La razón de esto puede ser a que ninguno de los modelos propuestos por el programa del reómetro se adapta de forma correcta, es decir, no entregan un R2 razonable. Otra razón puede ser que, se le realizó reología al hidrogel recién extraído del acuario, se tuvo que haber hecho además a la muestra luego de un ciclo de swelling para contrastar y ver si arrojaba los mismos resultados o bien, valores más ajustados.

De igual forma para la muestra cinco, se tiene una viscosidad de fluencia demasiado baja (0,2 cP) la cual, es extremadamente baja y estaría diciendo que este hidrogel fluye sin ninguna resistencia interna al movimiento. Aunque en la sección de recomendaciones se ahondará más en el tema, se recomienda repetir estas pruebas y buscar más modelos que permitan llegar a otras conclusiones con estas muestras.

Según los intereses del proyecto se propuso que el hidrogel tuviera una viscosidad entre 100 y 16000 cP. Bajo este parámetro vemos que la muestra 4, sumado a sus resultados en pruebas anteriores se presenta como una gran alternativa y opción a seguir estudiándose en un futuro y con sus posibles aplicaciones en el ámbito agrícola-forestal

4.6. Análisis termogravimétrico de los hidrogeles elaborados

Se recalca que todos los gráficos a comentar en esta sección se encuentran en el anexo 10. Los cinco gráficos corresponden a cada hidrogel al que se le realizó en análisis termogravimétrico.

Lo primero a apreciar en cada gráfico, y que suele suceder en muchas muestras sometidas a TGA, es que se presenta una pérdida de masa inicial, esta principalmente está asociada a la evaporación de agua. En el caso de los hidrogeles totalmente normal ya que pueden poseer restos del agua absorbida. Esta zona corresponde al tramo entre 0 °C y 200 °C en el cual, todos presentan un comportamiento similar.

Dicho esto, no se apreciaron diferencias entre los hidrogeles elaborados de la misma forma, pero soportados en mallas distintas, es decir, la figura 43 y la figura 44 del anexo 10 presentan un comportamiento muy similar al estar elaboradas con alginato de sodio, microalga y ácido cítrico. De esta misma forma, la figura 45 y figura 46 elaborados con Agar-Agar tampoco presentan diferencias considerables entre ellas.

Las grandes diferencias son en la zona entre 200 y 400 °C en donde se descomponen la mayoría de los compuestos orgánicos de las 5 muestras. En promedio los hidrogeles con alginato de sodio y ácido cítrico presentaron una descomposición del 32% de su masa en este rango. Para los hidrogeles con agar-agar se obtuvo un promedio del 49% y finalmente para el de carragenina un 40%.

La presencia de entrecruzantes y microalgas que para este caso se desconocía su concentración final pueden llevar a interacciones complejas donde algunos componentes pueden estabilizar la matriz polimérica mientras que otros pueden promover la descomposición bajo calor. Estas interacciones pueden afectar tanto la estabilidad térmica como la cinética de descomposición de los hidrogeles.

Para obtener una interpretación más concluyente y detallada se recomienda realizar análisis dando variaciones a la concentración tanto de microalga como de los entrecruzantes (alginato, agar-agar y carragenina) debido a que la información sobre el comportamiento de estos últimos dos es escasa.

5. Conclusiones

Para el primer objetivo específico los resultados fueron positivos, se logró una mayor duración de los biomedios que la que se tenía hasta ahora en el proyecto, la cual, era solo de 14 días. Aquí se logró que los biomedios superaran el mes de exposición en el agua. Aunque el biomedio con carragenina si demostró mayores desprendimientos y terminó la microalga “libre” en el agua.

Esto hace que la opción de innovar con la geometría de los biomedios y pasar de las esferas a laminas soportadas sea un punto de inicio a estudiar. El desafío se encuentra en que estas mallas podrían ser potenciales contaminantes, por lo que, se recomienda indagar en opciones como mallas reutilizables, mallas biodegradables, moldes especiales o bien, impresiones 3D que logren un soporte estable.

El crecimiento de las microalgas fue comprobado a través de imágenes de microscopia confocal e imágenes periódicas. Es fundamental en un futuro realizar un conteo celular que permita estimar de manera cuantitativa este aumento para poder realizar cálculos más exactos sobre la concentración de las microalgas.

Para el segundo objetivo, se obtuvieron los mejores resultados en comparación con la teoría en relación con las demás pruebas de esta tesis. Los tres biomedios pueden utilizarse en la depuración de aguas de piscicultura, y se propone evaluar su capacidad de depuración en otros tipos de aguas contaminadas. En este sentido, la opción con Agar-Agar sigue siendo una alternativa viable. Por otro lado, aunque la carragenina mostró resultados positivos, presenta una desventaja considerable en comparación con los otros dos biomedios, por lo que podría descartarse, ya que su desempeño es inferior al de la opción tradicional elaborada solo con alginato de sodio.

Se concluye que la caracterización de los hidrogeles reforzados con Agar-Agar y carragenina evidenció diferencias significativas en sus propiedades. El swelling de los hidrogeles con Agar-Agar alcanzó hasta un 760%, superando valores reportados en la literatura, mientras que los de carragenina mostraron un alto hinchamiento inicial (960%) pero una caída en ciclos posteriores. Por otro lado, los hidrogeles de alginato presentaron dificultades en el entrecruzamiento y obtuvieron el peor desempeño.

La reología confirmó un comportamiento pseudoplástico en todos los hidrogeles, con algunos valores cercanos a los reportados para hidrogeles comerciales. Se recomienda repetir estos ensayos para

ajustar modelos más específicos y mejorar la determinación de parámetros como viscosidad y límite de fluencia.

Finalmente, los resultados sugieren que los hidrogeles reforzados con Agar-Agar tienen potencial para mejorar el desempeño del hidrogel actual del proyecto. Además, podrían ser explorados en aplicaciones acuícolas por su capacidad de depuración, así como en el ámbito agrícola y forestal como hidrogeles inteligentes biodegradables.

6. Referencias

1. Cao, S., et al., *Effects and contributions of meteorological drought on agricultural drought under different climatic zones and vegetation types in Northwest China*. Science of The Total Environment, 2022. **821**: p. 153270.
2. Aguilera, L.E., et al., *Efecto de polímeros algales sobre la productividad de uva de mesa bajo condiciones de riego deficitario*. Información tecnológica, 2021. **32**: p. 29-36.
3. Ahmed, E.M., *Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review*. Journal of Advanced Research, 2015. **6**(2): p. 105-121.
4. Oladosu, Y., et al. *Superabsorbent Polymer Hydrogels for Sustainable Agriculture: A Review*. Horticulturae, 2022. **8**, DOI: 10.3390/horticulturae8070605.
5. Mutanda, T., et al., *Biotechnological Applications of Microalgal Oleaginous Compounds: Current Trends on Microalgal Bioprocessing of Products*. Frontiers in Energy Research, 2020. **8**.
6. Sarhan, N., et al., *Urea intercalated encapsulated microalgae composite hydrogels for slow-release fertilizers*. Scientific Reports, 2024. **14**(1): p. 15032.
7. Meril, D., et al., *Efficacy of alginate immobilized microalgae in the bioremediation of shrimp aquaculture wastewater*. Process Biochemistry, 2022. **122**: p. 196-202.
8. Soo, C.L., et al., *Feasibility of Marine Microalgae Immobilization in Alginate Bead for Marine Water Treatment: Bead Stability, Cell Growth, and Ammonia Removal*. International Journal of Polymer Science, 2017. **2017**: p. 1-7.
9. Aguilar-May, B. and M. del Pilar Sánchez-Saavedra, *Growth and removal of nitrogen and phosphorus by free-living and chitosan-immobilized cells of the marine cyanobacterium *Synechococcus elongatus**. Journal of Applied Phycology, 2009. **21**(3): p. 353-360.
10. Armisen, R., *World-wide use and importance of *Gracilaria**. Journal of Applied Phycology, 1995. **7**: p. 231-243.
11. Sepulveda, A., *DISEÑO DE UN BIORREACTOR QUE PROMUEVA EL CRECIMIENTO DE LA FLORA Y FAUNA PREDOMINANTE EN LOS OCÉANOS DE LA ZONA SUR DE CHILE PARA EVALUACIÓN DE SISTEMAS ANTIFOULING*. 2023.
12. Lewandowski, Z. and H. Beyenal, *Fundamentals of Biofilm Research*. 2007. 1-455.
13. Ganji, F., S. Vasheghani Farahani, and E. Vasheghani-Farahani, *Theoretical Description of Hydrogel Swelling: A Review*. Iranian Polymer Journal, 2010. **19**: p. 375-398.

14. Stojkov, G., et al. *Relationship between Structure and Rheology of Hydrogels for Various Applications*. Gels, 2021. **7**, DOI: 10.3390/gels7040255.
15. Wang, C., et al., *The intrinsic characteristics of microalgae biofilm and their potential applications in pollutants removal—A review*. Algal Research, 2022. **68**: p. 102849.
16. Zhang, B., et al., *Microalgal-bacterial consortia: From interspecies interactions to biotechnological applications*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2020. **118**: p. 109563.
17. Vo, T.-D.-H., et al., *Influence of nitrogen species and biomass retention time on nutrient removal and biomass productivity in a microalgae-based bioreactor*. Environmental Technology & Innovation, 2022. **28**: p. 102880.
18. Padeniya, U., et al. *Microbial Interactions, Growth, and Health of Aquatic Species in Biofloc Systems*. Water, 2022. **14**, DOI: 10.3390/w14244019.
19. Piña-Ochoa, E. and M. Álvarez-Cobelas, *Denitrification in Aquatic Environments: A Cross-System Analysis*. Biogeochemistry, 2006. **81**: p. 111-130.
20. Siddiki, S.Y., et al., *Microalgae biomass as a sustainable source for biofuel, biochemical and biobased value-added products: An integrated biorefinery concept*. Fuel, 2022. **307**: p. 121782.
21. Jiang, L., Y. Li, and H. Pei, *Algal–bacterial consortia for bioproduct generation and wastewater treatment*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2021. **149**: p. 111395.
22. Guo, Z., et al., *Microalgae cultivation using an aquaculture wastewater as growth medium for biomass and biofuel production*. Journal of Environmental Sciences, 2013. **25**: p. S85-S88.
23. Sharrer, M.J., et al., *Membrane biological reactor treatment of a saline backwash flow from a recirculating aquaculture system*. Aquacultural Engineering, 2007. **36**(2): p. 159-176.
24. Gao, F., et al., *Continuous microalgae cultivation in aquaculture wastewater by a membrane photobioreactor for biomass production and nutrients removal*. Ecological Engineering, 2016. **92**: p. 55-61.
25. Yu, D., et al., *Phosphorus Removal and Recovery During Microalgae-Based Wastewater Treatment: A Mini-review*. International Journal of Environmental Research, 2024. **18**: p. 1-21.
26. Timmons, M., *Recirculating aquaculture* 2010.

27. Rovensky, Y. and G. Saporin, *Handbook of biological confocal microscopy, revised edition Edited by James B. Pawley Plenum Press, New York and London (1990, 1989) 232 pages, illustrations ISBN 0-306-43538-1. Scanning, 1992. 14.*
28. Zhong, J., T. Zhao, and M. Liu, *Fluorescence microscopic visualization of functionalized hydrogels. NPG Asia Materials, 2022. 14: p. 38.*
29. Cisneros, X., <*Diseño de un experimento para la obtención de un hidrogel con agar extraído de algas rojas de deriva de la playa Penacho del Indio, Veracruz_articulo_final.pdf*>. 2022.
30. Song, B., et al., *Hydrogel synthesis based on lignin/sodium alginate and application in agriculture. International Journal of Biological Macromolecules, 2020. 144: p. 219-230.*
31. Aydınoğlu, D., *Investigation of pH-dependent swelling behavior and kinetic parameters of novel poly(acrylamide-co-acrylic acid) hydrogels with spirulina. 2015. 15(2): p. 81-93.*

7. Anexos

7.1. Anexo 1. Planos del biorreactor

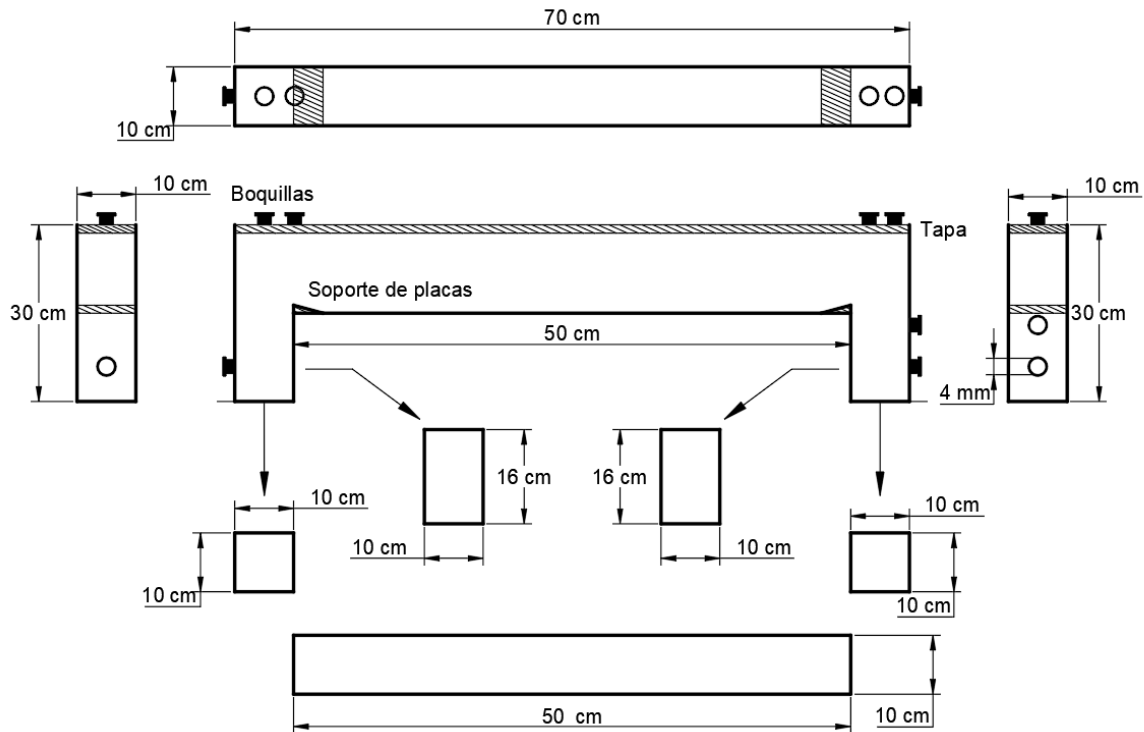


Figura 19. Planos de las medidas del biorreactor, se enviaron a diseñar tres de estos.

7.2. Anexo 2. Cultivo de microalgas.



Figura 20. Cultivo de microalgas.

7.3. Anexo 3. Biomedios extraídos de la depuración de agua.

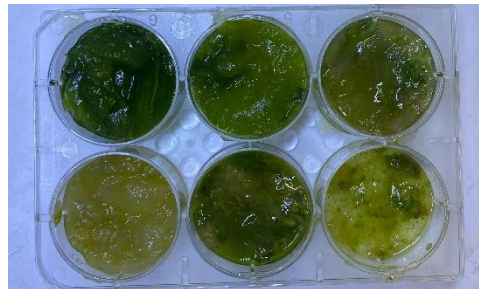


Figura 21. Muestras extraídas después del experimento de depuración. Desde la esquina superior izquierda hacia la derecha: Alginato malla fina, Alginato malla ancha, Agar-Agar malla fina, Agar-Agar malla ancha, Carragenina malla fina y Carragenina malla ancha.



Figura 22. Mallas finas de alginato recién extraídas al finalizar el experimento.

7.4. Anexo 4. Gráficos de turbidez.

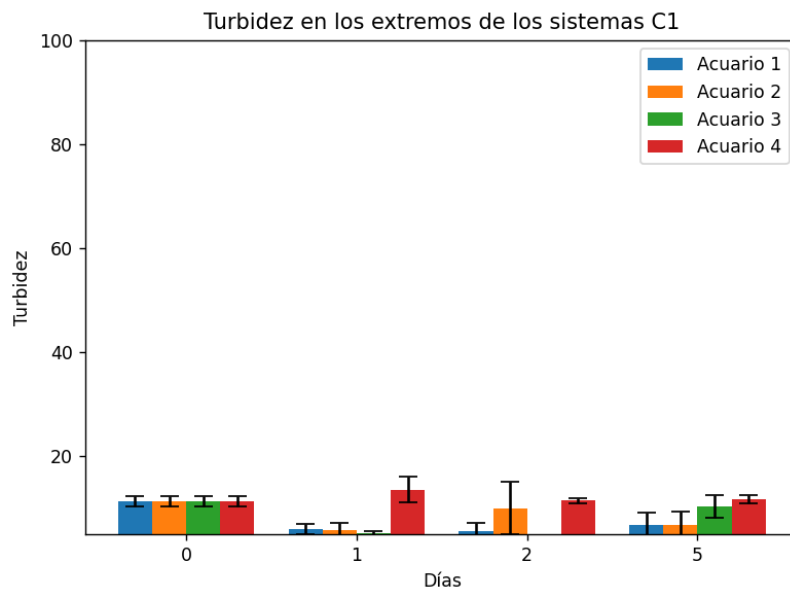


Figura 23. Turbidez (NTU) en los extremos de los acuarios durante el ciclo 1.

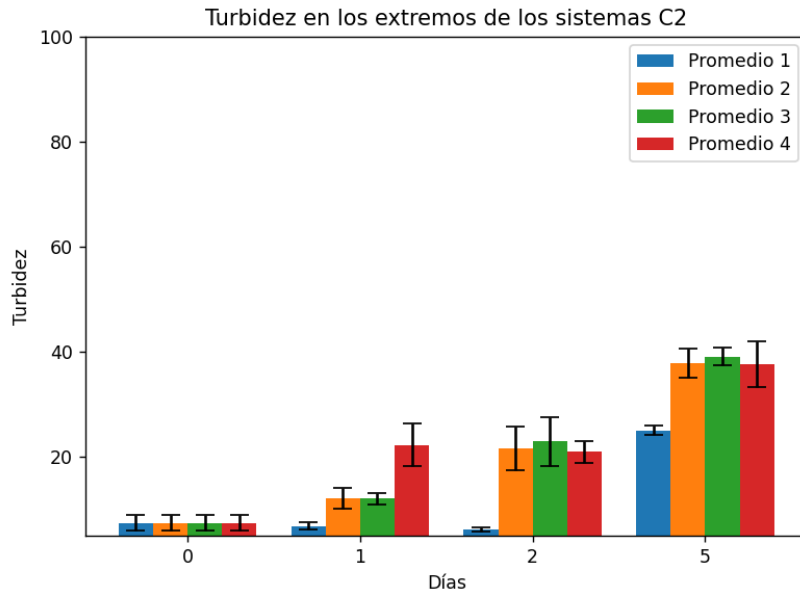


Figura 24. *Turbidez (NTU) en los extremos de los acuarios durante el ciclo 2.*

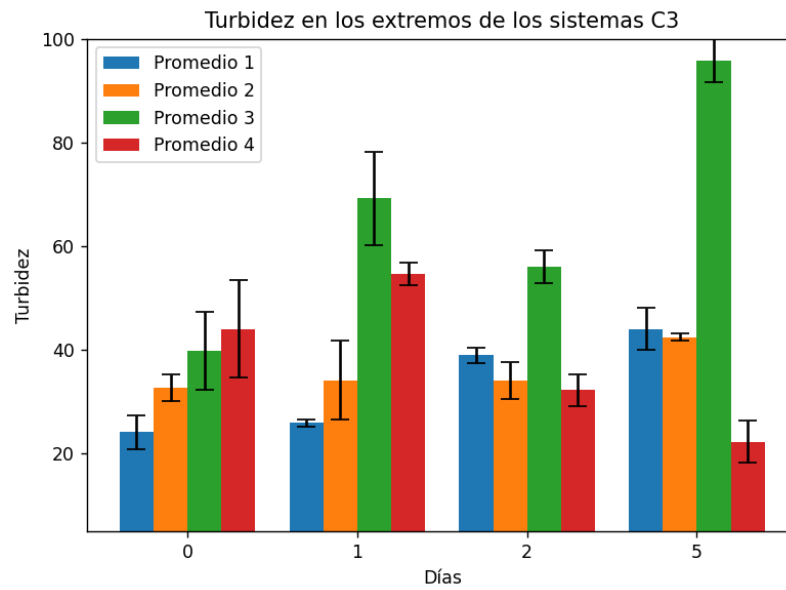


Figura 25. *Turbidez (NTU) en los extremos de los acuarios durante el ciclo 3.*

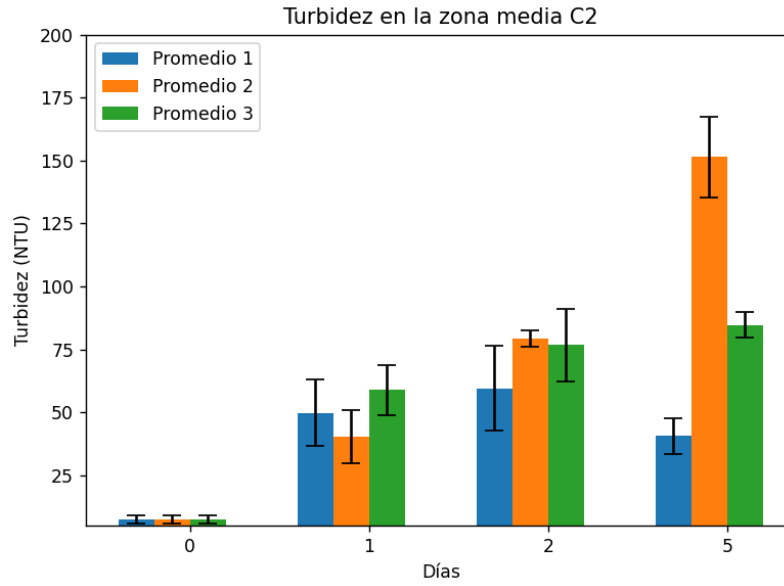


Figura 26. *Turbidez (NTU) en la zona media de los acuarios durante el ciclo 2.*

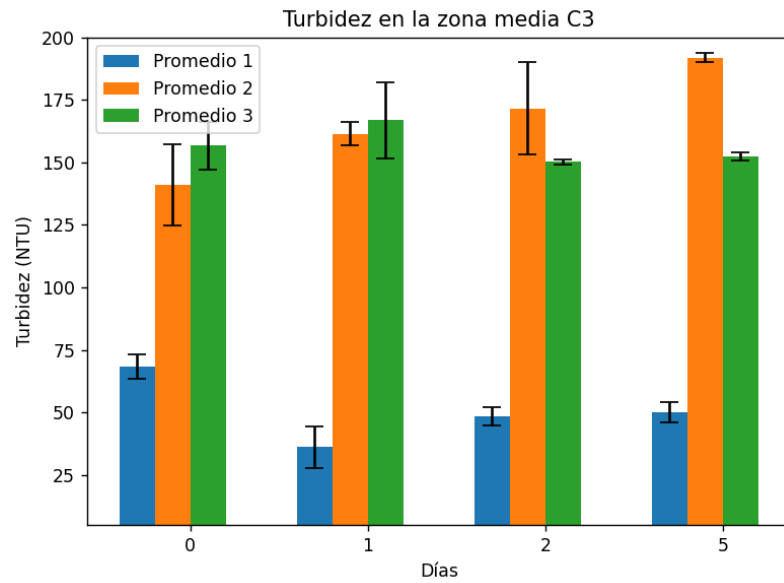


Figura 27. *Turbidez (NTU) en la zona media de los acuarios durante el ciclo 3.*

7.5. Anexo 5. Seguimiento de pH durante los ciclos de depuración

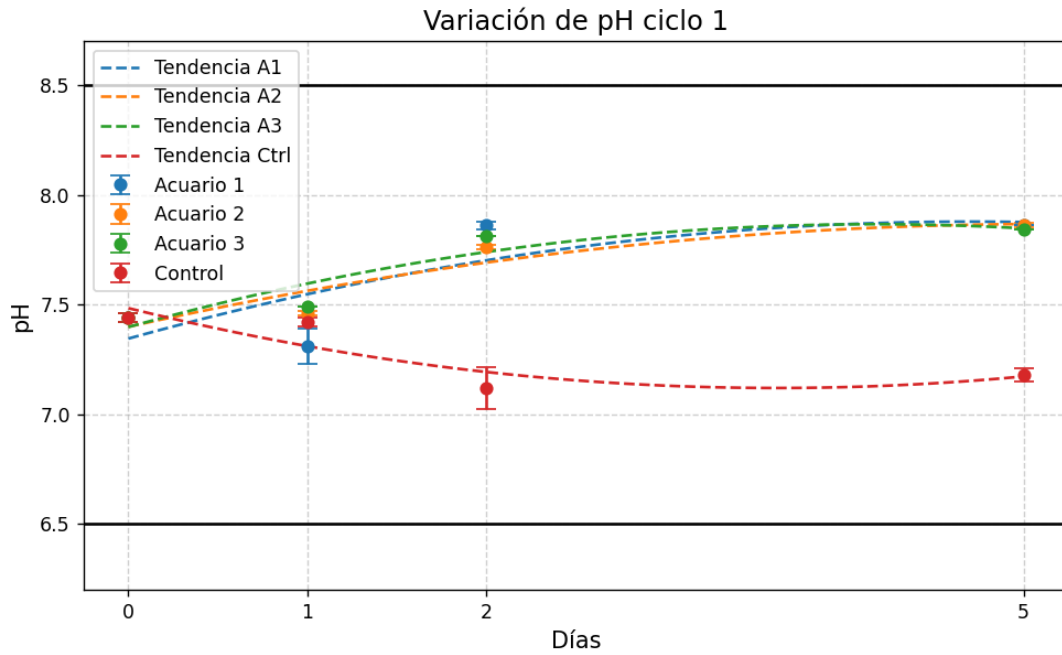


Figura 28. Variación de pH ciclo 1.

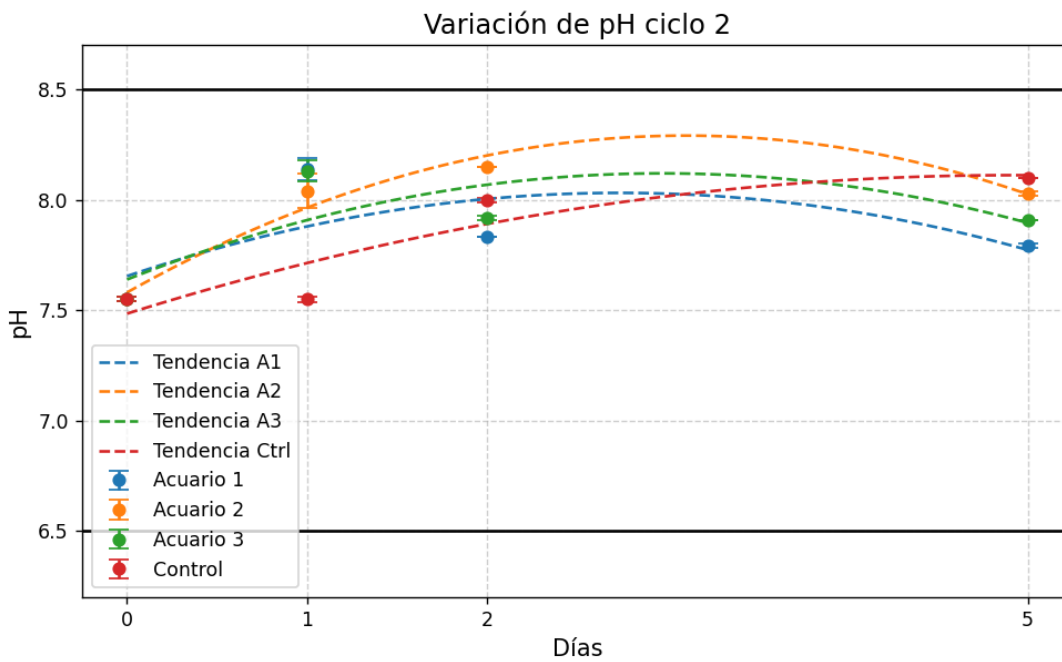


Figura 29. Variación de pH ciclo 2.

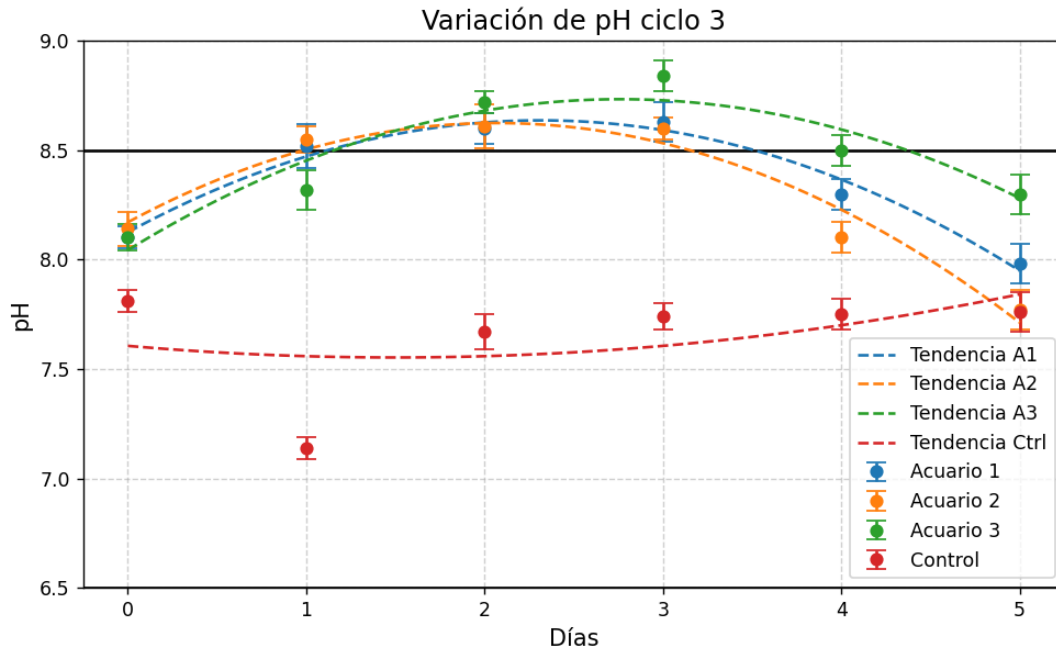
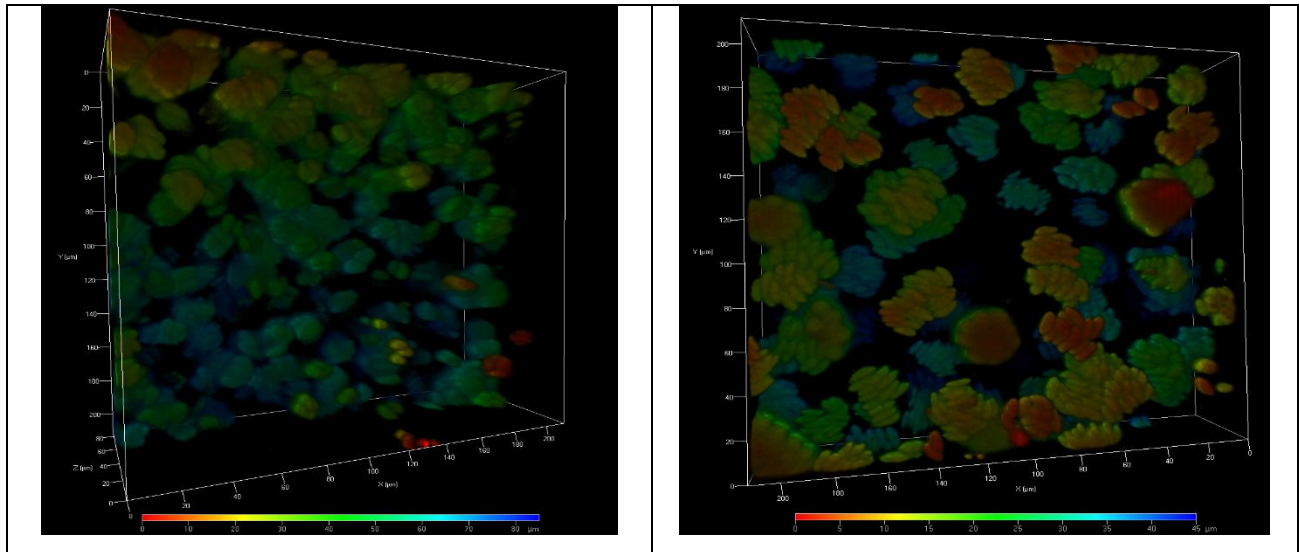
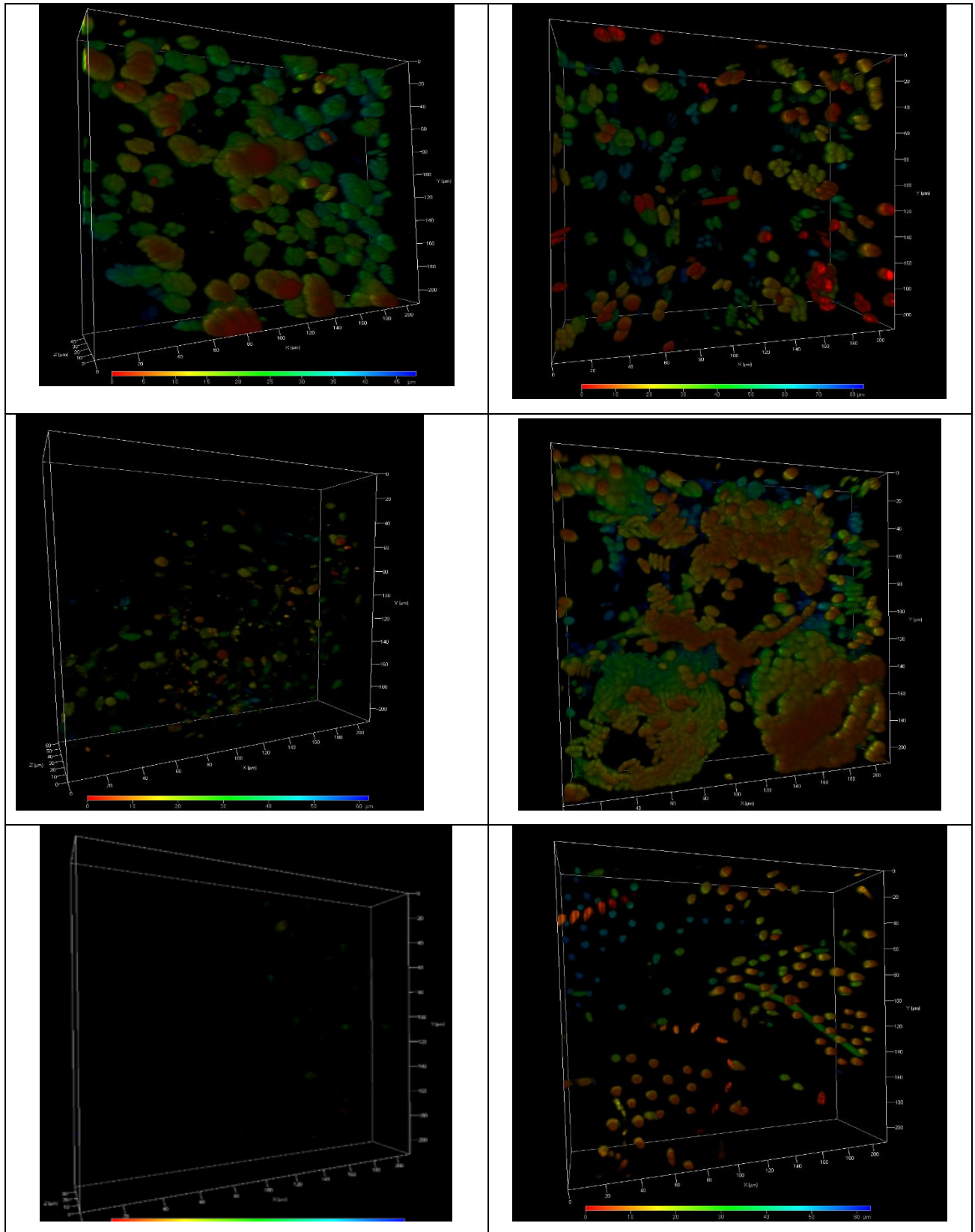


Figura 30. Variación de pH ciclo 3.

7.6. Anexo 6. Microscopia confocal.





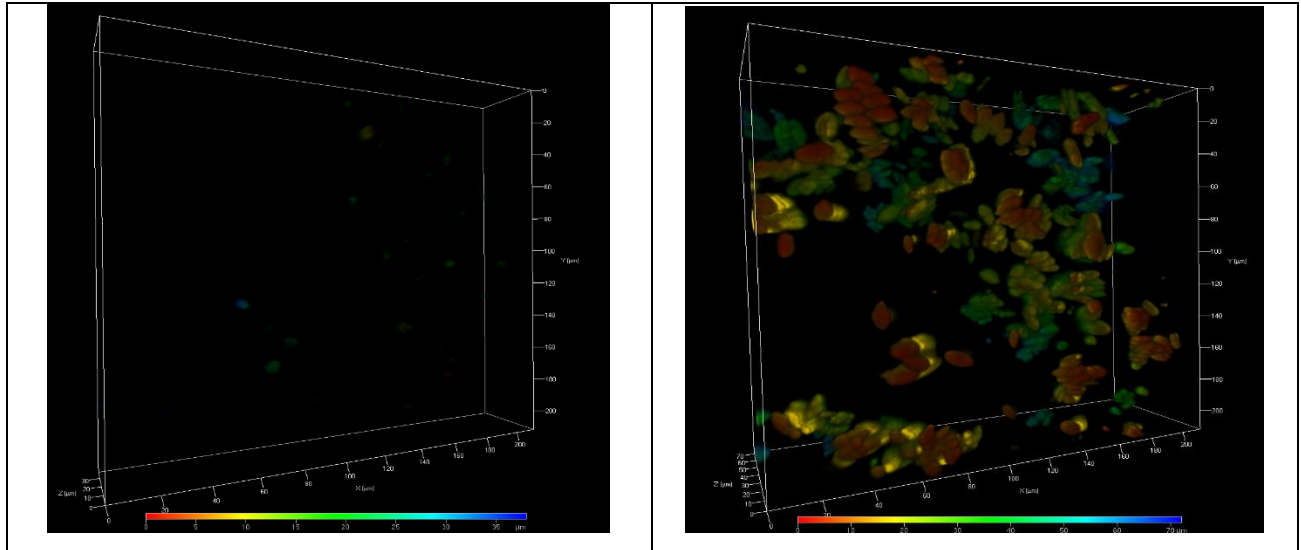


Figura 31. Imágenes confocal en donde en la columna izquierda de arriba a abajo muestra los hidrogeles de; alginato en malla fina, alginato en malla ancha, Agar-Agar en malla fina, Agar-Agar en malla ancha y Carragenina en malla fina. Todo esto en el día 0 del experimento, mientras que, en la columna derecha se muestra los hidrogeles ya elaborados y después de todo el experimento.

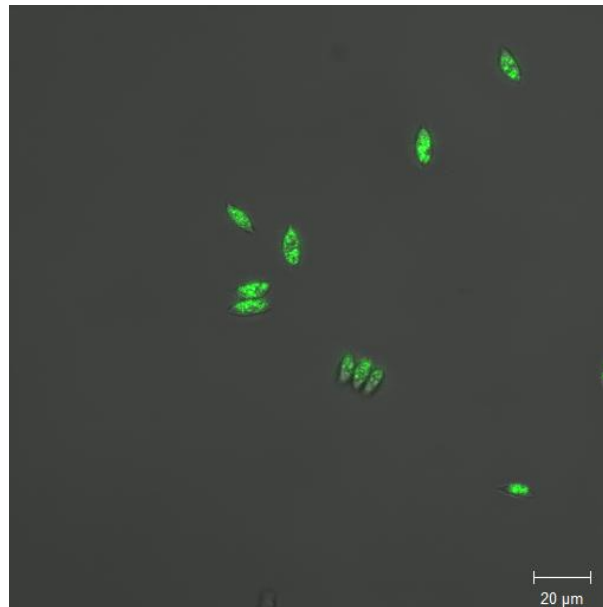


Figura 32. Microalga *Scenedesmus obliquus* en microscopia confocal.

7.7. Anexo 7. Hidrogel final posterior a los tres ciclos de swelling.

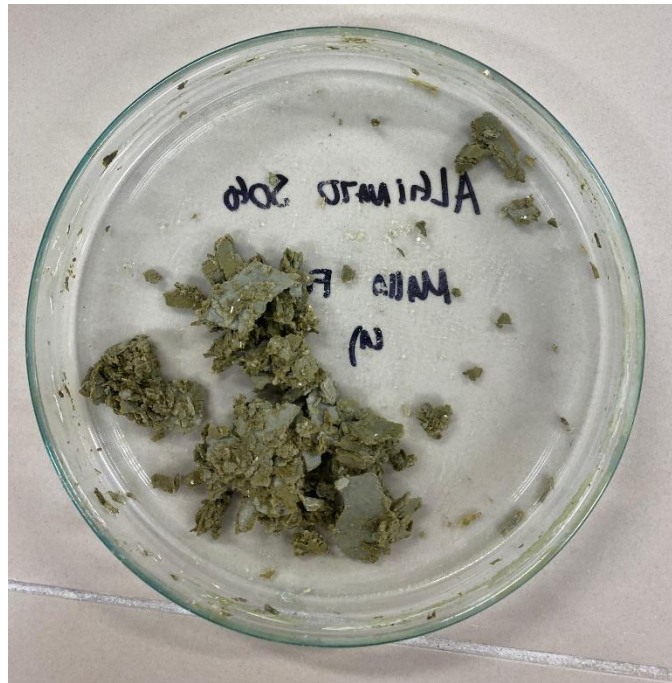


Figura 33. Hidrogel de alginato de sodio malla fina.

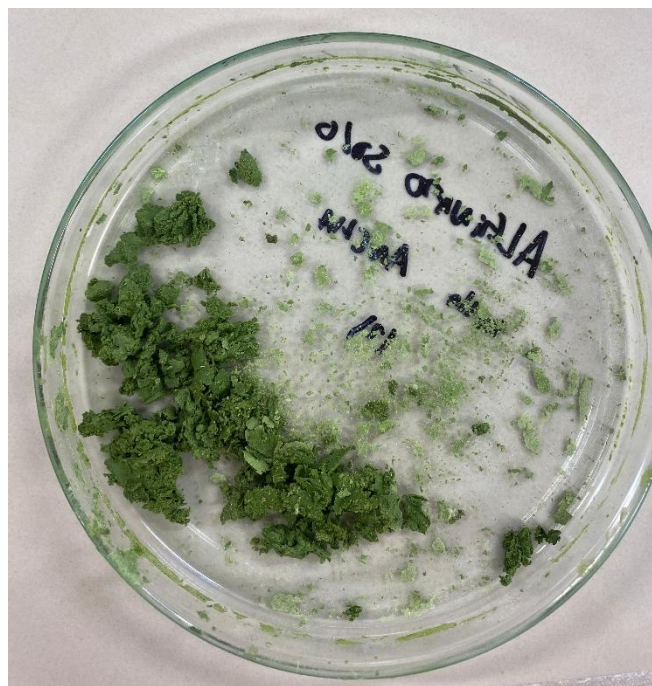


Figura 34. Hidrogel de alginato de sodio malla ancha.

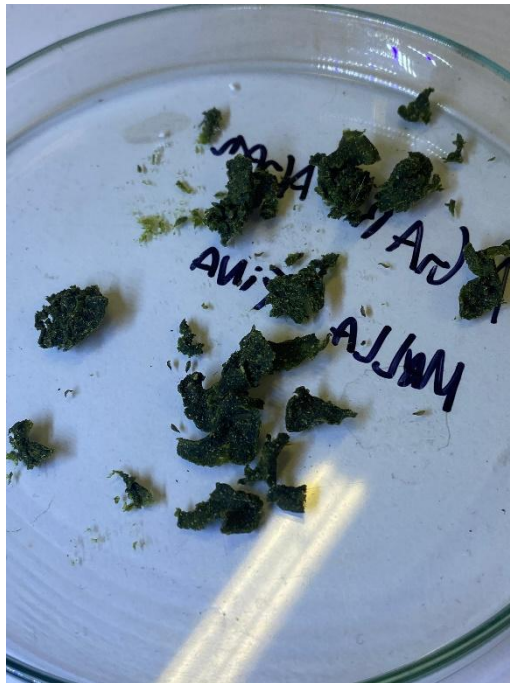


Figura 35. Hidrogel de alginato de sodio y Agar-Agar malla fina.



Figura 36. Hidrogel de alginato de sodio y Agar-Agar malla ancha.

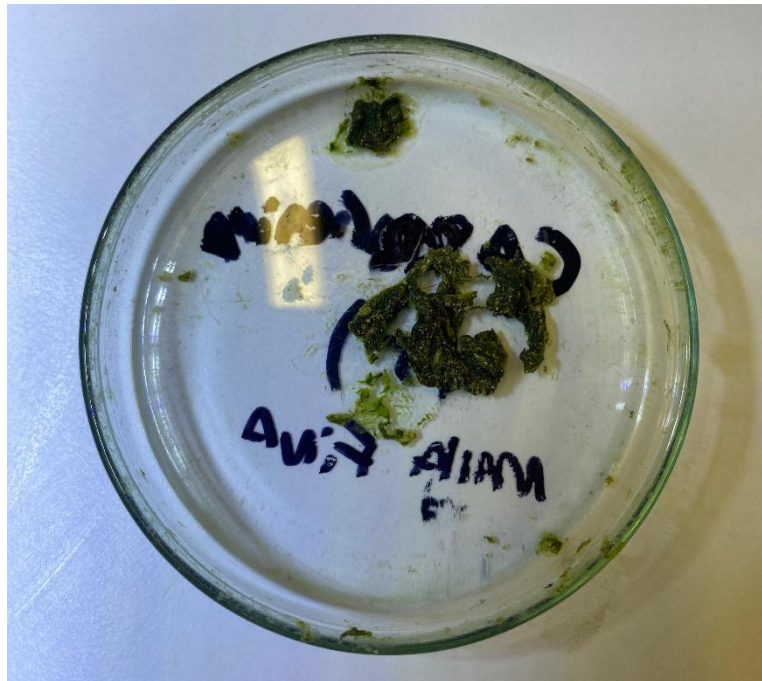


Figura 37. Hidrogel de alginato de sodio y Carragenina malla fina.

7.8. Anexo 8. Gráficos de reología.

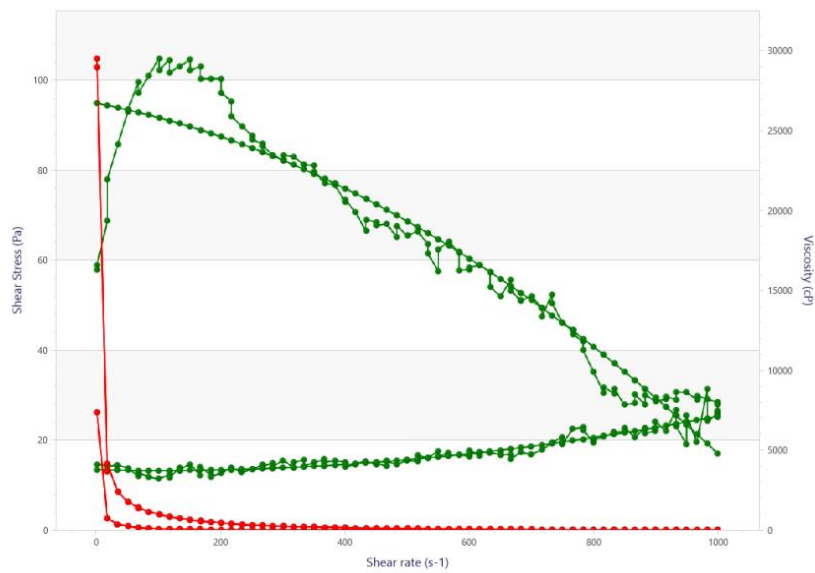


Figura 38. Gráfico reología muestra 1.

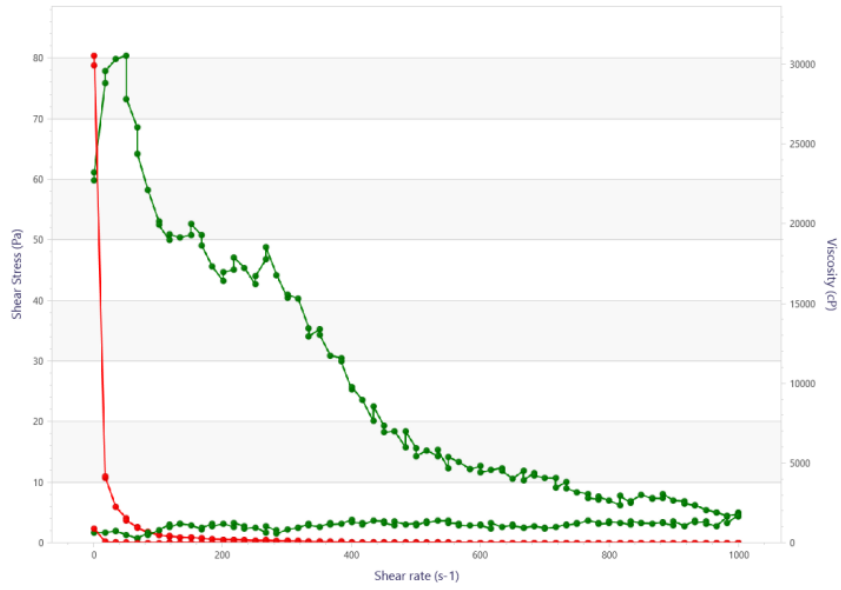


Figura 39. Gráfico reología muestra 2.

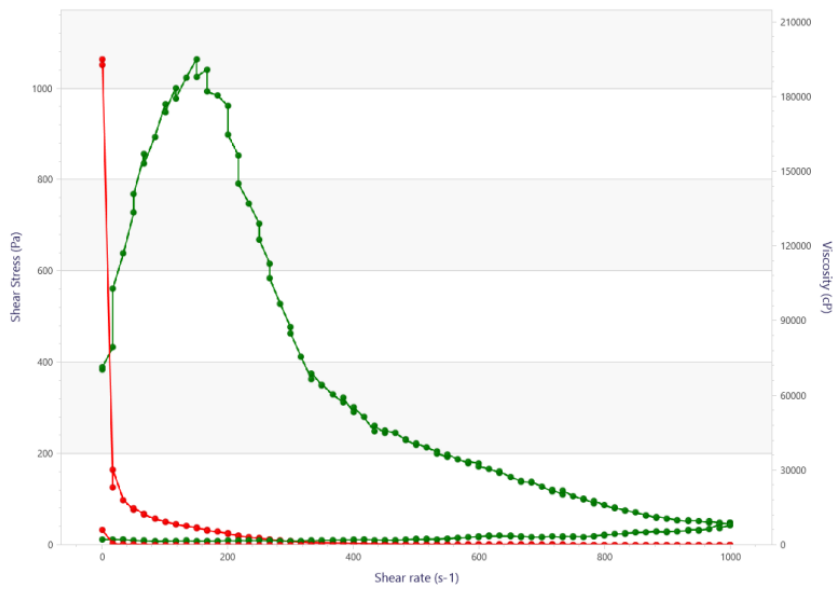


Figura 40. Gráfico reología muestra 3.

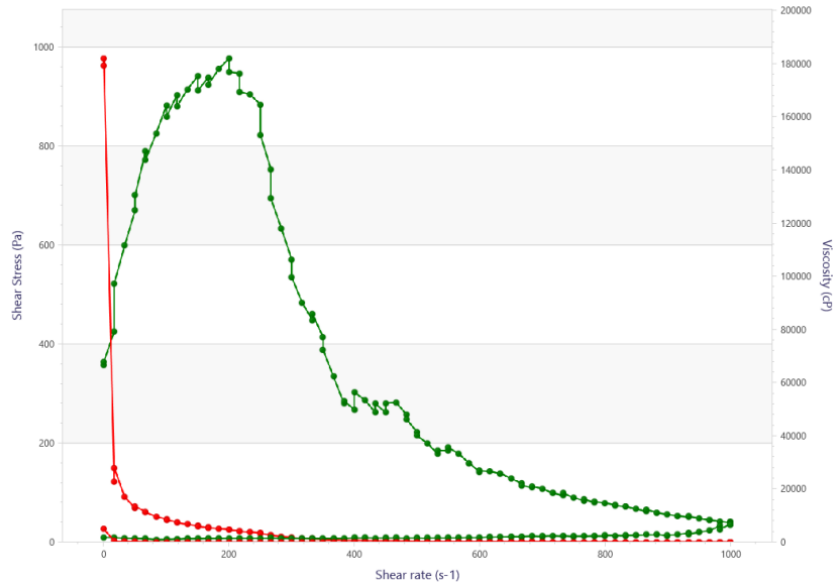


Figura 41. Gráfico reología muestra 4.

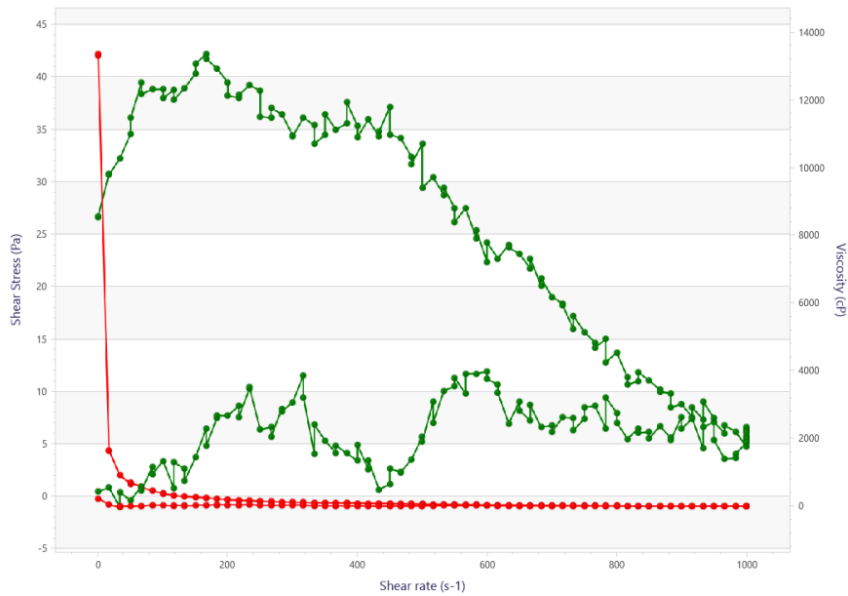


Figura 42. Gráfico reología muestra 5.

7.9. Anexo 9. Ecuaciones de los modelos reológicos utilizados.

Ecuación de Casson:

$$\sqrt{\tau} = \sqrt{T_c} + \sqrt{E_c} * \sqrt{\delta}$$

Ecuación de Bingham:

$$\tau = Tb + Eb * \delta$$

Ecuación polinomial:

$$\tau = a * \delta^2 + b * \delta + c$$

7.10. Anexo 10. Gráficos de análisis termogravimétricos

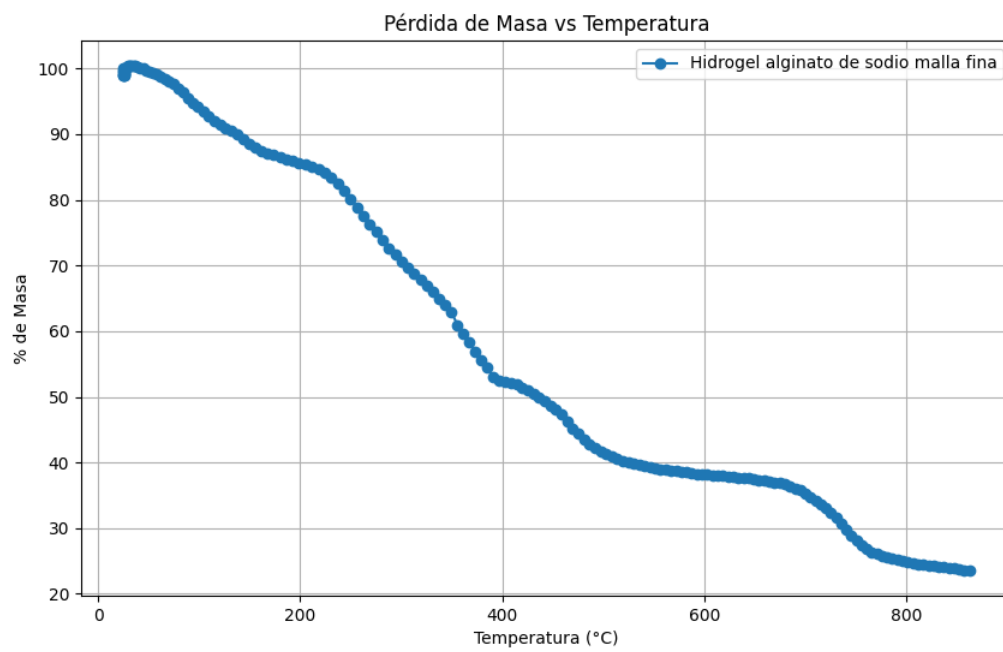


Figura 43. Gráfico TGA muestra 1.

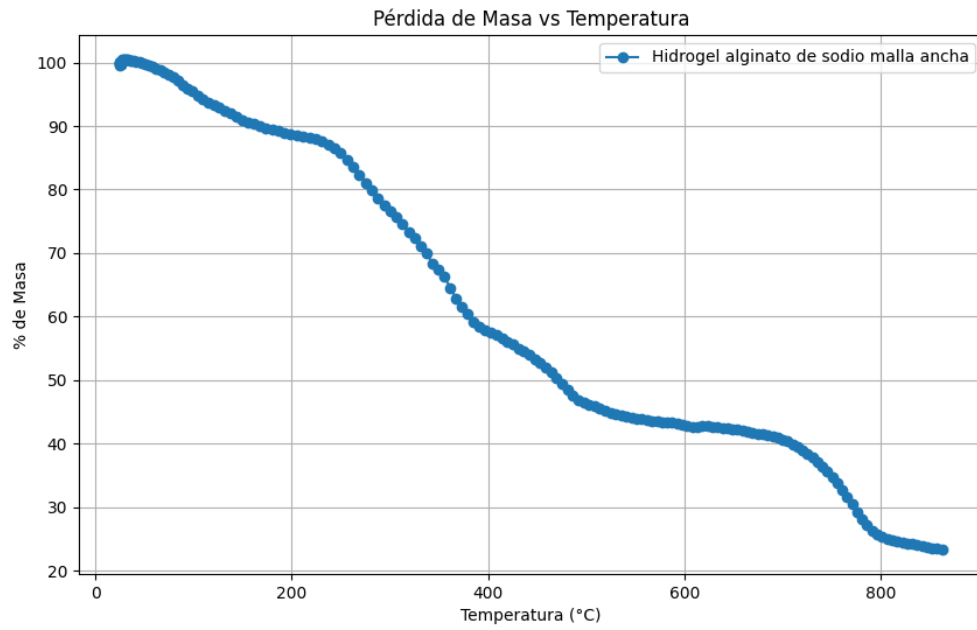


Figura 44. Gráfico TGA muestra 2.

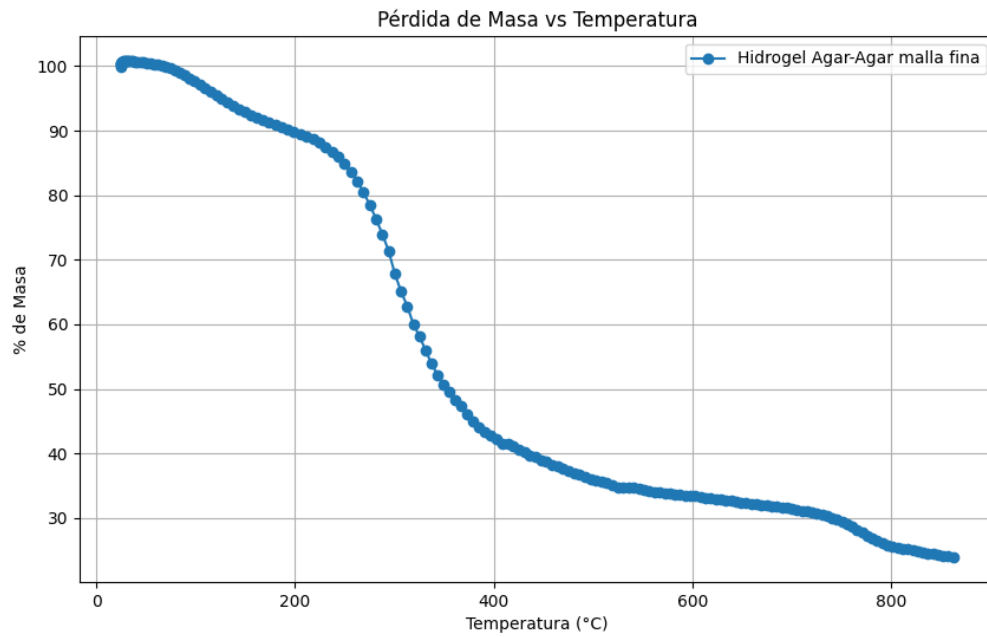


Figura 45. Gráfico TGA muestra 3.

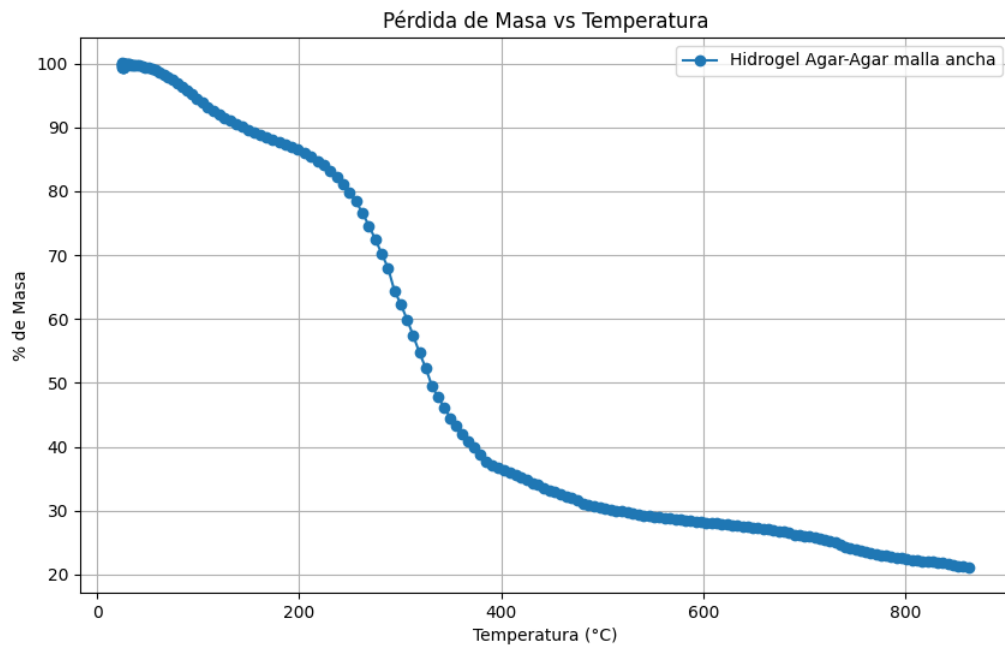


Figura 46. Gráfico TGA muestra 4.

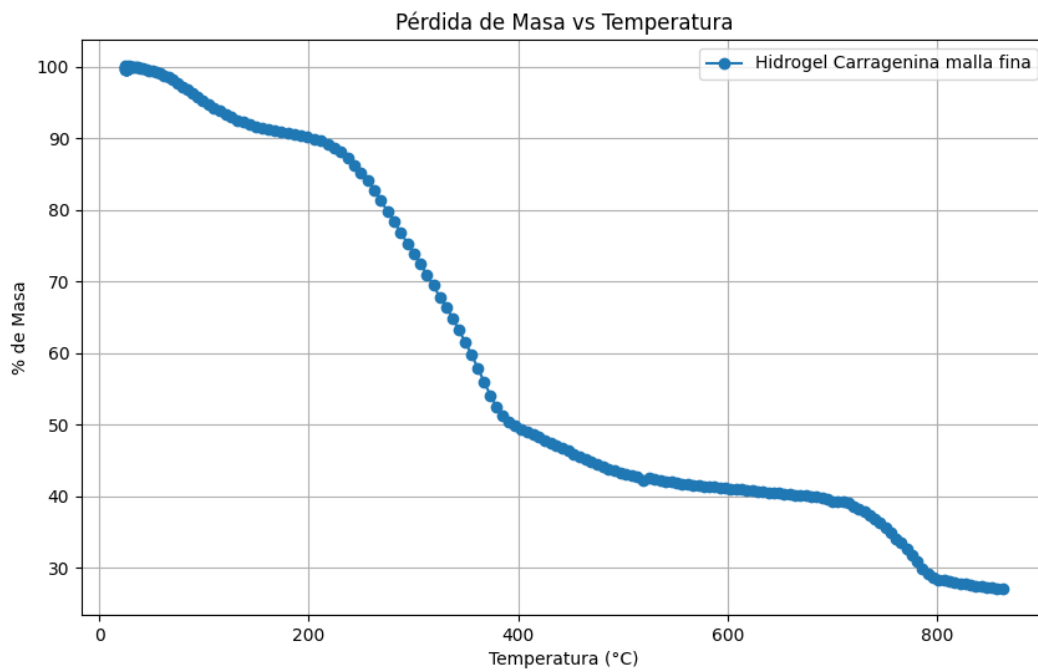


Figura 47. Gráfico TGA muestra 5.