

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas



Tesis para la obtención del Grado Académico de Doctor en Ciencias Biológicas

“Diseño, modelado y optimización de foto-bio-reactores destinados al cultivo de microalgas para diferentes aplicaciones tecnológicas.”

Niizawa, Ignacio

Director de Tesis: Irazoqui, Horacio A.

Grupo de Innovación en Ingeniería de Bioprocesos, GiiB.^{1,2}

¹ Cátedra de Operaciones y Procesos Biotecnológicos. FBCB - UNL.

² Grupo de Operaciones y Procesos Biotecnológicos. INTEC - CONICET y UNL.

-2014-

Agradecimientos

En primera instancia quisiera expresar mi agradecimiento a Horacio (Japo) por brindarme la posibilidad de realizar mi tesis en el Laboratorio de Operaciones y Procesos Biotecnológicos y por guiarme a lo largo de estos años de trabajo. También agradecer a mis compañeros de laboratorio Miguel, Fausto, Rodrigo, Emerson y Matías por su ayuda durante la realización de este trabajo y por brindarme su compañerismo. No puedo dejar de mencionar los miembros de la cátedra de Operaciones y Procesos Biotecnológicos: Guillermo, Milagros, Alejandro y Juan Manuel; y a los miembros del INTEC Ramón Saavedra, Antonio Negro y Gerardo Rintoul, a todos ellos muchas gracias por su ayuda.

Quiero agradecer a la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral (FBCB- UNL), al Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por brindarme la posibilidad de realizar mi formación de doctorado.

Finalmente a mis seres más queridos, mis amigos, mi novia y mi familia, a todos ellos muchas gracias por toda la ayuda y el apoyo incondicional recibido durante tantos años.

Índice

Resumen	vii
Abstract	ix
Símbolos y Abreviaturas	1
Introducción	13
1. Definición y Clasificación de Microalgas	14
2. Requerimientos Nutricionales y Fotosíntesis en las Microalgas	17
3. Usos y Aplicaciones de las Microalgas	24
4. Cultivo extensivo de Microalgas	27
5. Bibliografía	34
Objetivos.	37
Objetivo General	38
Objetivos Específicos	39
CAPÍTULO 1:	
Microorganismo seleccionado y descripción de los Foto-bio-reactores utilizados	40
1. Selección del microorganismo utilizado	41
2. Medio de cultivo	43
3. Mantenimiento de la Cepa	44
4. Descripción de los Foto-bio-reactores utilizados	45
5. Bibliografía	48
CAPÍTULO 2	
Caracterización de las fuentes de radiación	49
1. Introducción	50
2. Determinación de la densidad de flujo de fotones emitidos por los LEDs	52
3. Distribución angular de los fotones emitidos por los LEDs	61
4. Distribución espectral de los fotones emitidos por los LEDs	64
5. Conclusiones	68
6. Bibliografía	69
CAPÍTULO 3	
Régimen de mezclado en el interior de los Foto-bio-reactores utilizados para el cultivo de <i>Scenedesmus quadricauda</i>	70
1. Introducción	71
2. Materiales y Métodos	72

3. Resultados y Discusión	81
4. Conclusiones	83
5. Bibliografía	84
CAPÍTULO 4	
Fenómenos de Transferencia Líquido - Gas	85
1. Introducción	86
2. Materiales y Métodos	88
3. Resultados y Discusión	96
4. Conclusiones	103
5. Bibliografía	105
CAPÍTULO 5	
Propiedades ópticas y modelado del campo radiante en el interior de un cultivo de microalgas aplicando el método de Monte Carlo	108
1. Introducción	109
2. Propiedades ópticas de las suspensiones de microalgas	111
3. Modelo físico-matemático del campo de energía radiante en el interior de un cultivo de microalgas a través del Método de Monte Carlo	114
4. Conclusiones	126
5. Bibliografía	127
CAPÍTULO 6	
Estudio del efecto de Diferentes perfiles de Radiación sobre el crecimiento de <i>Scenedesmus quadricauda</i>	130
1. Introducción	131
2. Materiales y Métodos	132
3. Resultados y Discusión	138
4. Conclusiones	152
5. Bibliografía	155
CAPÍTULO 7	
Cinética de propagación celular de <i>Scenedesmus quadricauda</i> considerando diferentes perfiles de radiación	158
1. Introducción	161
2. Materiales y Métodos	168
3. Resultados y Discusión	165
4. Conclusiones	176
5. Bibliografía	178

CAPÍTULO 8

Simulación de la producción de biomasa de *Scenedesmus quadricauda* en un reactor tipo Raceway situado en la Ciudad de Santa Fe

180

1. Introducción

181

2. Materiales y Métodos

183

3. Resultados y Discusión

198

4. Conclusiones

205

5. Bibliografía

207

Anexo I

209

Conclusiones y Perspectivas a Futuro

214

Resumen

La biotecnología aplicada al cultivo de algas representa un importante campo de estudio en la actualidad. Los productos y aplicaciones que pueden desarrollarse a partir de ellas son muy diversos: producción de biodiesel a partir de sus aceites; bio-remediación de efluentes líquidos y gaseosos; la utilización de la propia biomasa para consumo humano o animal; obtención de productos bio-activos para la industria farmacéutica; obtención de aceites omega 3; etc. Las microalgas unicelulares se encuentran entre los organismos autotróficos más productivos de la naturaleza debido a su elevada eficiencia fotosintética. Sin embargo, actualmente las eficiencias y productividades alcanzadas en grandes reactores son dos o tres órdenes de magnitud menores que el valor teórico esperado. Debido a esto, es importante lograr la optimización tanto de la intensidad de energía que reciben los cultivos de microalgas, como del perfil de longitudes de onda de dicha radiación. Es por ello que se propone en la presente tesis llevar adelante un estudio integral acerca de la influencia del perfil de radiación recibido por un cultivo sobre el crecimiento de las microalgas a través del modelado del campo de energía radiante en los foto-bio-reactores a fin generar modelos intrínsecos que permitan proponer y verificar herramientas aptas para el diseño, optimización y cambio de escala de foto-bio-reactores, destinados a la propagación de microalgas y producción de metabolitos derivados de ellas con diferentes aplicaciones de interés tecnológico

Abstract

Microalgal Biotechnology represents an important field of study in the present. The products and applications that can be developed from them are very diverse: biodiesel production from their oils; bioremediation of liquid and gaseous effluents; the use of biomass for human or animal nutrition; bioactive products for the pharmaceutical industry; omega 3 fatty acids; etc. Unicellular microalgae are among the most productive autotrophic organisms in nature due to their high photosynthetic efficiency. However, currently efficiencies and productivities achieved in large reactors are two to three orders of magnitude smaller than the theoretical value expected. Because of this, it is important to achieve the optimization of radiation conditions (both the intensity of the energy and the wavelengths profile) received by microalgae cultures. It is therefore proposed in this thesis to develop a comprehensive study on the influence of radiation profile received by the photo-bio-reactor on microalgal growth through the radiant energy field modeling in order to generate intrinsic models to propose and verify appropriate tools for the design, optimization and scaling of photo-bio-reactors, for microalgal culture and the production of metabolites with different applications of technological interest.

Abreviaturas y Símbolos

Introducción

Chl-a	clorofila a
Chl-b	clorofila b
Chl-c1	clorofila c1
Chl-c2	clorofila c2
Chl-c3	clorofila c3
CCAP	<i>Culture Collection of Algae and Protozoa</i>
UTEX	Universidad de Texas
CO ₂	dióxido de carbono
UV	espectro de radiación ultravioleta
VIS	espectro de radiación visible
IR	espectro de radiación infra-rojo
PAR	radiación fotosintéticamente activa
PSI y PSII	fotosistema I y fotosistema II
LHC	Complejo captador de luz
RuBP	Ribulosa 1,5 bifosfato
RuBisCO	Ribulosa 1,5 bifosfato Carboxilasa-Oxigenasa
3-PG	3-fosfoglicerato
1,3-BPG	1,3-bi-fosfoglicerato

G3P	glicerato-3-fosfato
DQO	demanda química de oxígeno
FBR	foto-bio-reactor

Capítulo 1

CCAP	Colección de Cultivos de Algas y Protozoarios del Reino Unido
CO ₂	Dióxido de carbono
FBR	Foto-bio-reactor
BBM	Bold's Basal Medium

Capítulo 2

PAR	radiación fotosintéticamente activa
FBR	foto-bio-reactor
LED	diodo emisor de luz
A ₁	área 1
t	tiempo
λ	longitud de onda
\hat{n}_1	vector normal unitario a la superficie 1
E _{λ} ^(1,2)	diferencial de energía intercambiada entre dos superficies 1 y 2, para una dada longitud de onda

$L_{\lambda}^{(1,2)}$	densidad de flujo de radiación monocromática procedente de una superficie 1, recibida por una superficie 2
$\hat{Q}_{1,2}$	vector dirección unitarios según la dirección que une los centros de las superficie 1 y 2, con dirección de 1 a 2
$r_{1,2}$	distancia entre los centros de las superficies 1 y 2
$Q_{\lambda}^{(1,2)}$	flujo de fotones monocromáticos intercambiados entre las superficies 1 y 2
$q_{\lambda}^{(1,2)}$	densidad de flujo de fotones monocromáticos intercambiados entre las superficies 1 y 2
n_a	número de Avogadro
h	constante de Planck
ν	número de onda
\mathbf{r}_{D_n}	coordenadas de las posiciones de los LEDs

Capítulo 3

FBR	foto-bio-reactor
t	tiempo
$E(t), F(t), J(t), G(t), I(t)$	funciones de distribución de tiempos de residencia
t_R	tiempo de residencia hidráulico medio
V	volumen de reactor
F	caudal de alimentación del reactor
C^*	concentración inicial del trazador en el reactor
$C_e(t)$	concentración de trazador en la corriente de entrada del reactor

$C_s(t)$	concentración de trazador en la corriente de salida del reactor
$C_r(t)$	concentración de trazador en el interior del reactor
H	función de Heaviside
W(t)	función de lavado
DO ₅₄₀	densidad óptica a 540nm

Capítulo 4

CO ₂	dióxido de carbono
O ₂	oxígeno
N ₂	nitrógeno
FBR	foto-bio-reactor
PS II	fotosistema II
RuBisCO	Ribulosa 1,5 bifosfato Carboxilasa-Oxigenasa
k _{La}	coeficiente de transferencia de materia volumétrico gas-líquido
p _A	presión parcial del componente A en la burbuja de gas
p _{A,i}	presión parcial del componente A en la interface gas/líquido
c _{A,i}	concentración del componente A en la interface gas/líquido
c _A	concentración del componente A en el medio líquido
H _A	constante de Henry para el componente A
J _A	flujo del componente A a través de una película
c _A [*]	concentración de saturación del componente A en el seno del líquido para una fase gaseosa en equilibrio
k _l	coeficiente de transferencia de materia en la película líquida

k_g	coeficiente de transferencia de materia en la película gaseosa
K_l	coeficiente de transferencia de materia global
a	área interfásica específica
q_A	velocidad de transferencia de materia por unidad de volumen del reactor para el componente A
v_{vm}	volúmenes de gas por volumen de medio líquido por minuto
τ	tiempo de respuesta del oxímetro
D	coeficiente de difusión de un gas en un líquido
μ	viscosidad del medio líquido
T	temperatura
AG	algoritmo genético

Capítulo 5

FBR	foto-bio-reactor
PAR	radiación fotosintéticamente activa
α_λ	coeficientes de absorción
ξ_λ	coeficiente de dispersión
$B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}})$	función de fase
T-NN	transmitancia Normal-Normal
L_0	cantidad de energía emitida por la fuente de radiación
L_{NN}	cantidad de energía registrada por el detector
Δd	espesor de la suspensión
ΔS	distancia recorrida por un fotón dentro del medio sin que sufra ningún evento

β_λ	coeficiente de extinción lineal
T-SE	transmitancia Semiesférica
L_{SE}	cantidad de energía registrada por el detector utilizando una esfera integradora
$\hat{\underline{\Omega}}$	dirección de un fotón
c_n	coeficientes del polinomio de Legendre
Cbiom	concentración de biomasa
Cclorof	concentración de clorofilas
MC	Monte Carlo
LED	diodo emisor de luz
\underline{r}	posición en el interior del reactor
$n_\lambda(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t)$	distribución espectral de fotones
$L_\lambda(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t)$	densidad de flujo de energía radiante
c	velocidad de la luz
θ	ángulo polar
φ	ángulo azimutal
$r_\lambda^{abs}(\underline{r}, t)$	velocidad local de absorción de fotones
$\hat{\underline{e}}_1, \hat{\underline{e}}_2, \hat{\underline{e}}_3$	vector unitarios direccionales
δ	número aleatorio
$\rho_{1,2}$	reflectividad en la interfase entre los medios 1 y 2
$\hat{\underline{\Omega}}$	vector unitario direccional de un fotón
$\hat{\underline{n}}$	vector normal unitario a una superficie considerada
η_1	índices de refracción de la fase 1
P	probabilidad de un determinado evento

\bar{r}_b	radio medio de las burbujas
V_G	fracción de volumen de gas residente en el reactor
V_L	volumen del líquido en el reactor
θ_G	fracción de volumen de gas en la zona donde se encuentran las burbujas
$r_{vis}^{abs}(\underline{r}, t)$	velocidad local de absorción de fotones del espectro visible

Capítulo 6

MC	Monte Carlo
FBC	foto-bio-reactot
LED	diodo emisor de luz
BBM	Bold's basal medium
DO	densidad óptica
a	paso óptico
D	factor de dilución
$r_{vis}^{Abs}(\underline{r}, t)$	velocidad volumétrica local de absorción de fotones
$n_{vis}(\underline{r}, t)$	distribución espectral de fotones
C	velocidad de la luz
α_λ	coeficiente de absorción espectral de fotones
CO ₂	dióxido de carbono

O_2	oxígeno
r_{CO_2}	velocidad de consumo de dióxido de carbono
r_x	velocidad de producción de biomasa
$Y_{CO_2/X}$	consumo de dióxido de carbono por unidad de biomasa formada
r_{O_2}	velocidad de producción de oxígeno
Y_{O_2/CO_2}	producción de oxígeno por unidad de dióxido de carbono consumido
$k_L a$	coeficiente volumétrico de transferencia de materia gas-líquido
$C_{CO_2}^*$	concentración de saturación de dióxido de carbono en el medio líquido en equilibrio con la fase gaseosa
$C_{O_2}^*$	concentración de saturación del oxígeno en el medio líquido en equilibrio con la fase gaseosa
$C_{CO_2}^*$	concentración de dióxido de carbono en el medio líquido
$C_{O_2}^*$	concentración de oxígeno en el medio líquido

Capítulo 7

FBR	foto-bio-reactor
BBM	Bold's basal medium

CO ₂	dióxido de carbono
O ₂	oxígeno
LED	diodo emisor de luz
X	concentración de biomasa
ch	concentración de clorofilas
$r_x(\underline{r}, t)$	velocidad local de producción de biomasa
$r_\lambda^{abs}(\underline{r}, t)$	velocidad volumétrica local de absorción de fotones
$\mu_\lambda^x, K_m^x, K_{2,\lambda}^x, K_{3,\lambda}^x$	constantes cinéticas del modelo de propagación de biomasa
$\mu_\lambda^{ch}, K_m^{ch}, K_{2,\lambda}^{ch}, K_3^{ch}$	constantes cinéticas del modelo de producción de clorofilas
$k_L a$	coeficiente global de transferencia de materia gas-líquido
r_{O_2}	velocidad de producción de oxígeno
r_{CO_2}	velocidad de consumo de dióxido de carbono
AG	algoritmo genético
MC	Monte Carlo
f_{Error}	función error propuesta para ser utilizada en el algoritmo genético

Capítulo 8

FBR	foto-bio-reactor
$q_{vis}^G(\underline{r}, t)$	radiación solar visible incidente sobre un punto sobre la superficie de la tierra
$q_{Tot}^D(\underline{r}, t)$	radiación solar visible directa incidente sobre un punto sobre la superficie de la tierra

$q_{\text{Tot}}^d(\underline{r}, t)$	radiación solar visible difusa incidente sobre un punto sobre la superficie de la tierra
CIM	Centro de Informaciones Meteorológicas "Lic. Enrique Rodríguez" de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas de la Universidad Nacional del Litoral
d	número del día del año
h	hora del día del año
I_{λ}^D	intensidades espectrales de radiación directa
I_{λ}^d	intensidades espectrales de radiación difusa
$\hat{\underline{Q}}$	dirección del haz de radiación incidente
$\hat{\underline{n}}$	dirección normal a la superficie donde incide la radiación.
\underline{r}	posición sobre un plano
\mathcal{E}	coeficiente de correlación entre la radiación directa y difusa incidente en un punto sobre la superficie terrestre
h	constante de Planck
$r_{\lambda}^{\text{abs}}(\underline{r}, t)$	velocidad volumétrica local de absorción de fotones
PAR	radiación fotosintéticamente activa
$n_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, t)$	distribución espectral de fotones
c	velocidad de la luz
δ	ángulo de declinación solar
φ	ángulo azimut del sol
$\hat{\underline{S}}$	vector unitario que une el centro de la tierra con la posición del sol
ω	ángulo horario
TLA	tiempo local aparente
TLM	tiempo local medio

E_t	ecuación del tiempo
L_s	coordenada de longitud estándar correspondiente al uso local
L_{local}	coordenada de longitud local.
λ	coordenada de latitud local
Γ	ángulo diario
α	ángulo de elevación del sol
MC	Monte Carlo
Prod	productividad de un FBR
V_R	volumen de un FBR
A_R	área iluminada del FBR

Introducción

1. Definición y Clasificación de Microalgas

La ficología es una rama de la botánica dedicada al estudio de las algas. Las microalgas pueden ser definidas como microorganismos pertenecientes al reino vegetal que tienen a la clorofila-a (chl-a) como principal pigmento fotosintético y que no presentan un talo diferenciado. Los sistemas de clasificación de las algas no son sencillos de definir, ya que la taxonomía está en constante revisión de acuerdo a los avances obtenidos a partir de nueva evidencia genética y ultra-estructural. Las microalgas pueden clasificarse de acuerdo a diversos criterios como el contenido de pigmentos, naturaleza química de los productos de almacenamiento fotosintéticos, membranas celulares (tilacoidales), estructura de las paredes celulares, ciclos sexuales, etc. Sin embargo, es posible dividir las algas en dos tipos básicos de organización celular, las procariotas y eucariotas. La diferencia más notoria entre ambos tipos celulares es que las primeras carecen de organelas limitadas por membranas como plástidos, mitocondrias, núcleo y aparato de Golgi. Excepto las cianobacterias, el resto de las microalgas son eucariotas. A su vez, se las puede clasificar en 11 divisiones (2 procariotas y 9 eucariotas) (Barsanti y Gualtieri, 2006):

- I. **Cyanophyta y Prochlorophyta**: todas las algas verdeazuladas son eubacterias Gram negativas sin movilidad. Los pigmentos presentes en las mismas incluyen chl-a, ficobilinas (azul y roja) y carotenoides. Sus tilacoides se encuentran libres en el citoplasma. Poseen como polisacárido de reserva al almidón de cionofitas (α -1,4-glucano). Pueden ser clasificados como organismos fotoautotróficos obligados y poseen una división estrictamente asexual.
- II. **Glaucophyta**: normalmente se los encuentra en aguas dulces. Son organismos unicelulares flagelados. Poseen solo chl-a y carotenoides como β -caroteno y xantófilas como zeaxantina. Sus tilacoides no se encuentran

apilados. Sintetizan almidón como polisacárido de reserva. Hasta el momento no se ha reportado que posean reproducción sexual solo asexual.

- III. **Rhodophyta**: la mayoría de las algas rojas son macroalgas pero pueden incluir algunos géneros de microalgas unicelulares. Normalmente se las encuentra en ecosistemas marinos pero pueden habitar aguas dulces y ambientes terrestres. Tienen solo chl-a y ficobiliproteínas accesorias organizadas en ficobilisomas. Sus tilacoides no se apilan. Sintetizan el almidón de florídeas como polisacárido de reserva. La mayoría son fotoautotrófos obligados.
- IV. **Heterokontophyta**: son organismos flagelados. En su mayoría son de ambientes marinos pero pueden habitar aguas dulces y ambientes terrestres. Poseen una preponderancia de carotenoides sobre clorofilas, lo que les brinda un color dorado a diferencia del tradicional color verde de las microalgas. Pueden producir chl-a, chl-c1, chl-c2 y chl-c3. Los principales pigmentos accesorios son β -caroteno y fucoxantina. Los tilacoides se encuentran agrupados en pilas de tres, denominados lamela. El principal polisacárido de reserva es la crisolaminarina. Los miembros de esta división pueden crecer en forma fotoautotrófica pudiendo también presentar un crecimiento de tipo heterotrófico..
- V. **Haptophyta**: en su mayoría son unicelulares pero algunas pueden formar colonias o filamentos. En general, son de ambientes marinos pero pueden habitar aguas dulces y ambientes terrestres. Cuentan con flagelos que les otorgan movilidad, y chl-a, chl-c1 y chl-c2, como principales pigmentos. Sin embargo, poseen un color marrón/dorado gracias a la presencia de pigmentos accesorios como β -caroteno y fucoxantina. El principal polisacárido de reserva es la crisolaminarina. Los miembros de esta división pueden crecer en forma fotoautotrófica pero pueden crecer también en forma heterotrófica.

- VI. **Cryptophyta**: son organismos unicelulares flagelados. Se encuentran en aguas dulces o marinas. Poseen chl-a y chl-c2. El polisacárido de reserva es el almidón acumulado en gránulos en el espacio periplastídico. Los miembros de esta división pueden crecer en forma fotoautotrófica como heterotrófica.
- VII. **Dinophyta**: los miembros de esta división son típicamente unicelulares flagelados. Pueden encontrarse en ambientes marinos y de agua dulce. Poseen chl-a, chl-b, chl-c1, y chl-c2. También presentan fucoxantina y otros carotenoides. Los miembros de esta división, pueden crecer en forma fotoautotrófica pero existen especies que no poseen plástidos por lo que son heterotróficos obligados.
- VIII. **Euglenophyta**: la mayoría son unicelulares flagelados pero las especies que forman colonias son comunes. Están muy distribuidas en ambientes acuáticos (agua dulce o salada) y terrestres. Poseen chl-a y chl-b, γ -carotenos y xantinas. Sintetizan paramilo como polisacárido de reserva. A pesar de poseer chl-a y chl-b, son mixotrofos obligados, ya que requieren una o más vitaminas del grupo B. Solo la reproducción asexual es conocida en este grupo.
- IX. **Chlorarachniophyta**: Son algas unicelulares fototróficas y se encuentran en aguas marinas. Poseen chl-a y chl-b. Sus tilacoides se encuentran apilados de uno a tres. Tienen tanto reproducción sexual como asexual.
- X. **Chlorophyta**: poseen chl-a, chl-b y γ -caroteno. También sintetizan diversas xantofilas como pigmentos accesorios. Se encuentran en agua marina, agua dulce y en ambientes terrestres. Dentro de los cloroplastos, los tilacoides se encuentran apilados para formar la grana. El principal polisacárido de reserva es el almidón. Son fotoautotróficos pero existen heterotróficos.

Existen más de 70.000 especies de algas alrededor de todo el mundo (Guiry, 2012) y pueden encontrarse en prácticamente cualquier ambiente del planeta, desde montañas nevadas hasta en la superficie de rocas en desiertos. Se registra una gran cantidad de ceparios, siendo dos de los más importantes el *Culture Collection of Algae and Protozoa* (CCAP) en el Reino Unido y *Culture Collection of Algae* (UTEX) en la Universidad de Texas en Estados Unidos. Éstos presentan miles de especies diferentes conservadas en diversas condiciones.

2. Requerimientos Nutricionales y Fotosíntesis en las Microalgas

Las microalgas requieren nutrientes simples para su desarrollo (algunas sales, agua, CO₂ y luz). Sin embargo, cambios en las condiciones de cultivo llevan a modificaciones importantes en las velocidades de crecimiento y en la composición celular. Por ejemplo, el uso de medios de cultivo con diferentes fuentes de nitrógeno llevan a cambios tanto en la concentración como en la composición de lípidos (Yongmanitchai y Ward, 1991); alteraciones en la temperatura pueden afectar la velocidad de crecimiento y el contenido de proteínas y de otros metabolitos (Renaud y col., 2002); cambios en la intensidad de luz y en la relación de horas de luz/oscuridad tienen una gran influencia sobre el crecimiento de los cultivos (Jacob-Lopes y col., 2009); diferentes perfiles de radiación favorecen la producción de ciertos pigmentos de microalgas (Mishra y col., 2012); etc.

La fotosíntesis es el proceso clave a través del cual la energía solar es convertida en formas utilizables para toda la vida orgánica en nuestro entorno. Los organismos fotosintéticos utilizan la energía del sol para combinar el agua con CO₂ y así, producir biomasa. Las cianobacterias fueron evolutivamente los primeros organismos con capacidad de realizar la fotosíntesis y uno de los principales agentes en la creación de las condiciones de la actual atmósfera terrestre (Masojídek y Torzillo, 2008). A través de la fotosíntesis, el fitoplancton produce aproximadamente la mitad

del oxígeno atmosférico de la tierra, fijando más de 100 millones de toneladas de CO_2 por día (Falkowski y Raven, 1997).

El espectro electromagnético de la radiación emitida por el sol abarca longitudes de onda entre 300 a 4.000 nm y la intensidad promedio que llega a la atmósfera superior de la tierra es de 1.4 kWm^{-2} (8% UV, 41% VIS y 51% IR). Sin embargo, la fracción de esta energía que llega a un determinado punto de la superficie terrestre depende de las condiciones atmosféricas; de la latitud, longitud y altura del lugar; y de las características del lugar, que puedan llegar a bloquear la luz solar en las diferentes horas del día. A nivel del mar, el promedio de intensidad de radiación solar es menos de 1.0 kWm^{-2} (3%UV, 42% VIS y 55% IR). En la fotosíntesis, solo los fotones comprendidos en el rango de los 400-700 nm (radiación fotosintéticamente activa o PAR por sus iniciales en inglés) pueden producir la excitación de una molécula de cromóforo.

La fotosíntesis comprende dos etapas principales: las denominadas “reacciones dependientes de luz”, que comprenden la captación de la energía lumínica y su conversión en energía química y potencial reductor en forma de ATP y NADPH_2 ; y las denominadas “reacciones independientes de luz”, que comprenden la utilización de los productos obtenidos durante la primera etapa para fijar y reducir carbono inorgánico en hidratos de carbono a través del ciclo de Calvin Benson (Fig. 1).

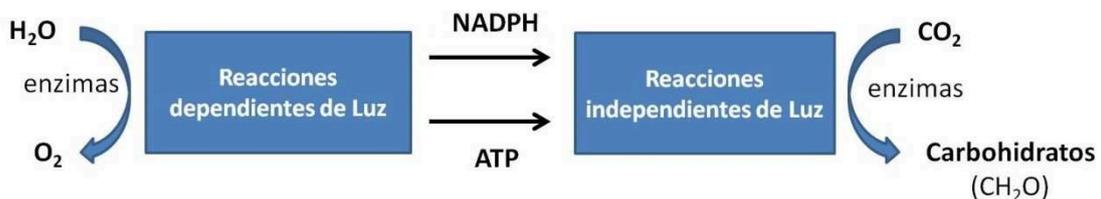


Figura 2.1. División en etapas de la fotosíntesis oxigénica en las dos etapas principales y los principales productos de cada una de ellas. Las reacciones dependientes de luz ocurren en las membranas tilacoidales e incluyen la absorción de luz, la transferencia de excitones y traslocación de electrones y protones para la producción de NADPH , ATP y O_2 . Las reacciones independientes de luz, ocurren en el estroma e incluyen la reducción del CO_2 y la síntesis de carbohidratos utilizando el NADPH y el ATP producidos en las reacciones dependientes de luz.

Reacciones dependientes de la luz: estas reacciones tienen lugar en las membranas tilacoidales. Las unidades transformadoras de energía son dos grandes complejos proteicos llamados fotosistemas I y II (PSI y PSII) rodeados por antenas externas captadoras de luz llamadas complejos captadores de luz (LHC, *light harvesting complex*) (Fig. 2).

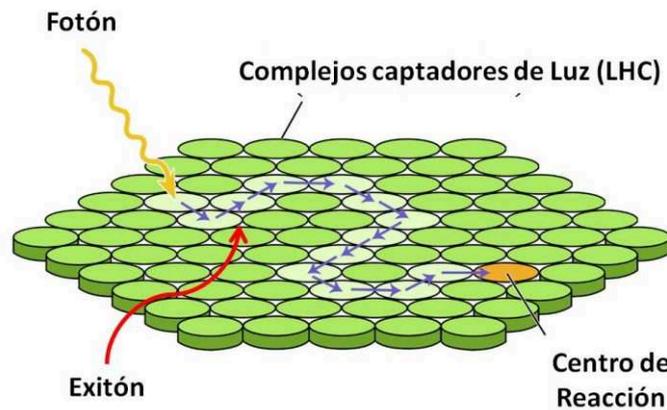


Figura 2.2. Diagrama de reacción de captación y transferencia de fotones en los PS I y PS II (adaptado de <http://oregonstate.edu/instruct/bb350/ahermmaterials/a22/22p08.jpg>)

Los complejos PSI y PSII contienen un dominio antena central con clorofilas y carotenoides y un núcleo central donde ocurren las reacciones bioquímicas (centro de reacción). Dentro de la antena central, las clorofilas se encargan principalmente de la captación de luz, mientras que los carotenoides y xantofilas protegen principalmente frente al exceso de luz. Los LHC están compuestos por clorofilas y otros pigmentos accesorios como carotenoides y ficobilinas. La principal función del LHC es la absorción de la radiación solar y la transferencia de la energía de excitación hacia las clorofilas del centro de reacción. Dentro de las antenas las clorofilas se ubican de manera tal que aquellas que absorben fotones (o exitones) de mayor energía (menor longitud de onda) se ubican en la zona más periférica del complejo (Heldt, 2005). Esta disposición de los pigmentos asegura que la transferencia de energía se produzca en una sola dirección: hacia el centro de reacción. Así, las antenas actúan como un

embudo, permitiendo una gran superficie de captación de fotones al servicio del centro de reacción.

La extensión de la antena periférica puede variar de acuerdo a la disponibilidad de luz, cuando la luz es muy tenue las células aumentan la superficie de las antenas asegurando la captación de la luz necesaria. Por otro lado, cuando la intensidad de luz es muy elevada las células desensamblan la antena periférica de manera tal que absorban energía radiante pero en forma desacoplada a las reacciones fotosintéticas. Esta estrategia es un mecanismo de protección frente a posibles daños por exposición a elevadas intensidades de luz.

La estructura básica de las clorofilas consiste en un anillo tetrapirrólico llamado porfirina (Fig.2.3). El Mg^{+2} está presente en el centro del anillo como átomo central unido covalentemente a dos átomos de nitrógeno y coordinado a los otros dos átomos del anillo. Una ciclo-pentanona está unida al anillo c, mientras que en el d un grupo propiónico ácido forma un enlace éster con el alcohol fitol. Este último es una larga cola hidrocarbonada hidrofóbica que le brinda a las clorofilas una alta solubilidad en lípidos. La clorofila-b posee en el anillo b, un residuo formilo en vez de un residuo metilo en la clorofila-a. Esta pequeña diferencia produce una gran influencia sobre la absorción de la luz, ya que la clorofila-b posee su primer máximo de absorción a una mayor longitud de onda que la clorofila-a y su segundo máximo a una menor, produciendo de esta manera un aumento en la eficiencia de captación de luz, reduciendo el ancho de la “ventana verde”.

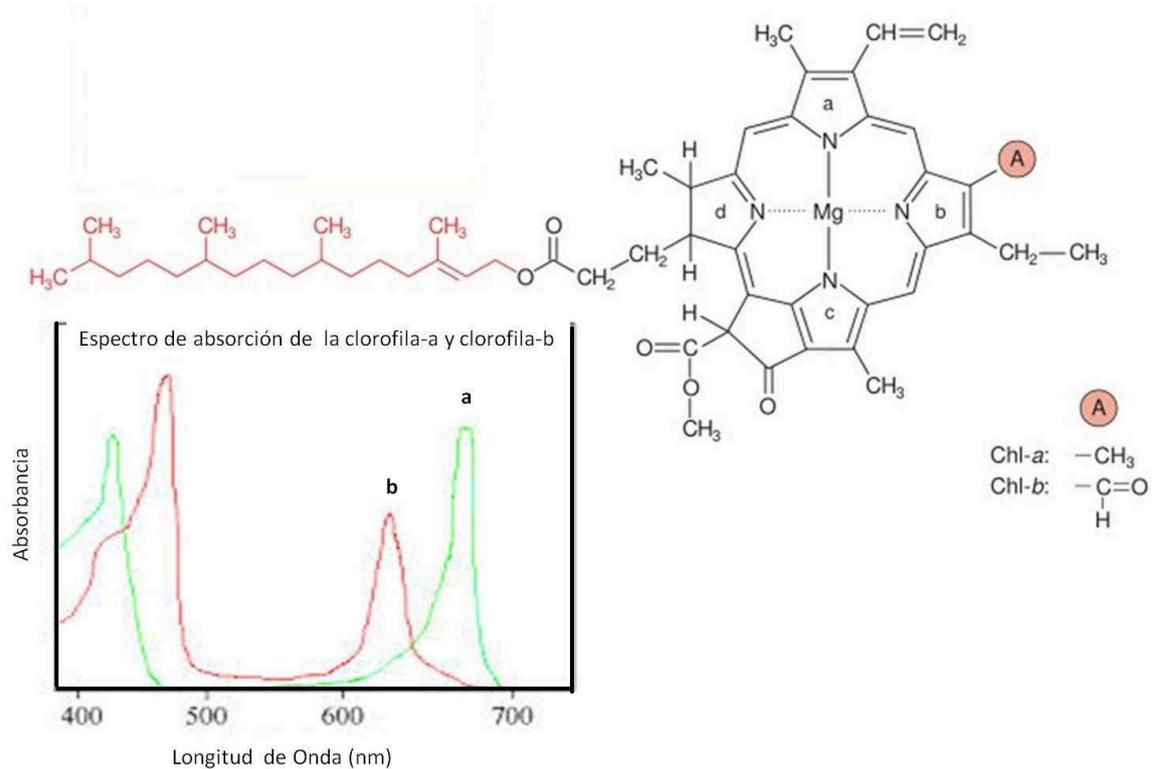


Figura 2.3: Estructura de la chl-a y chl-b y sus espectros de absorción (adaptado de Heldt, 2005).

Los fotones absorbidos por los PSI y PSII inducen la excitación de un par de clorofilas especiales, P_{700} y P_{680} , iniciando la traslocación de un electrón a través de la membrana tilacoidal a lo largo de la cadena transportadora de electrones en el siguiente orden: plastoquinona, complejo citocromo b6f, plastocianina y ferredoxina. Cada uno de estos componentes es sometido a sucesivos ciclos de oxidación y reducción, recibiendo un electrón del PSII y donándolo al PSI para ser utilizados en la reducción del $NADP^+$ a $NADPH$ a través de la ferredoxina- $NADP^+$ oxido-reductasa (Fig.4). En este proceso, el agua actúa como dador de electrones para oxidar al P_{680} en el PSII, dando O_2 como producto secundario. Este proceso de traslocación produce una diferencia de potencial electrónico transmembrana y una concentración de H^+ que impulsan la síntesis de ATP a través de la ATP-sintetasa (Nelson y Yocum, 2006).

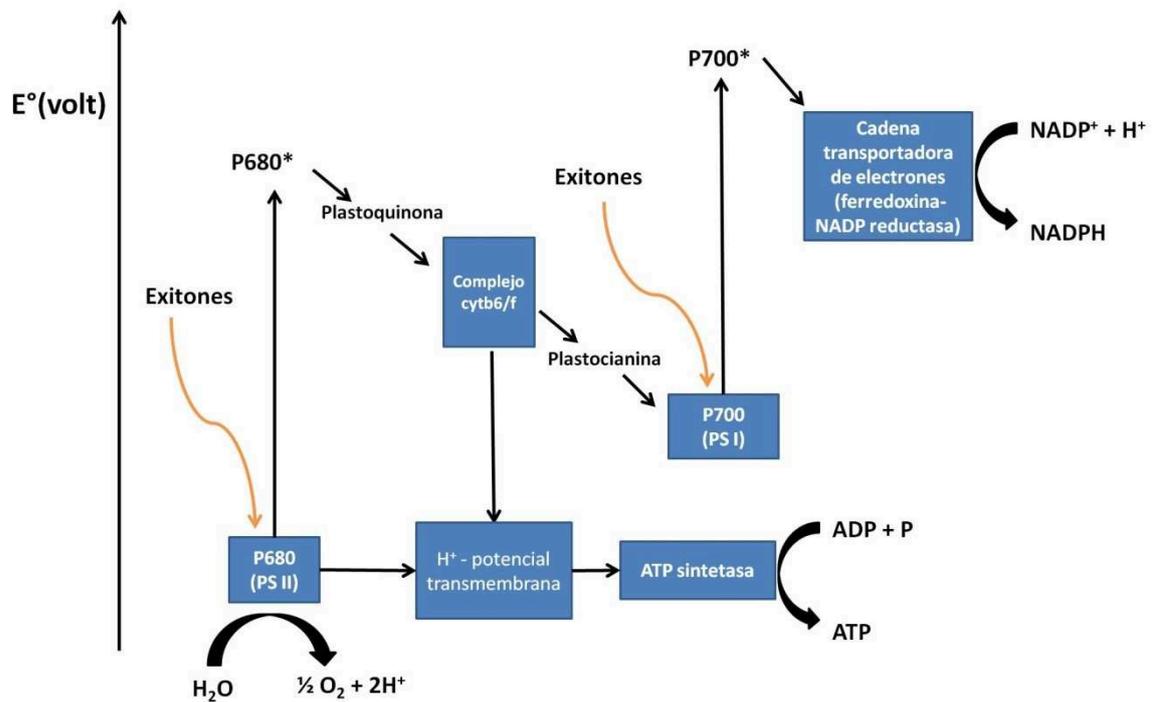


Figura 2.4: Diagrama de funcionamiento del sistema fotosintético de las microalgas.

Reacciones independientes de la luz: la fijación del CO_2 se lleva a cabo utilizando el NADPH y el ATP generados en el estroma cloroplastídico en la etapa dependiente de luz en el ciclo de Calvin Benson (Fig. 5). Este ciclo ocurre en tres etapas (Masojídek y col., 2004)

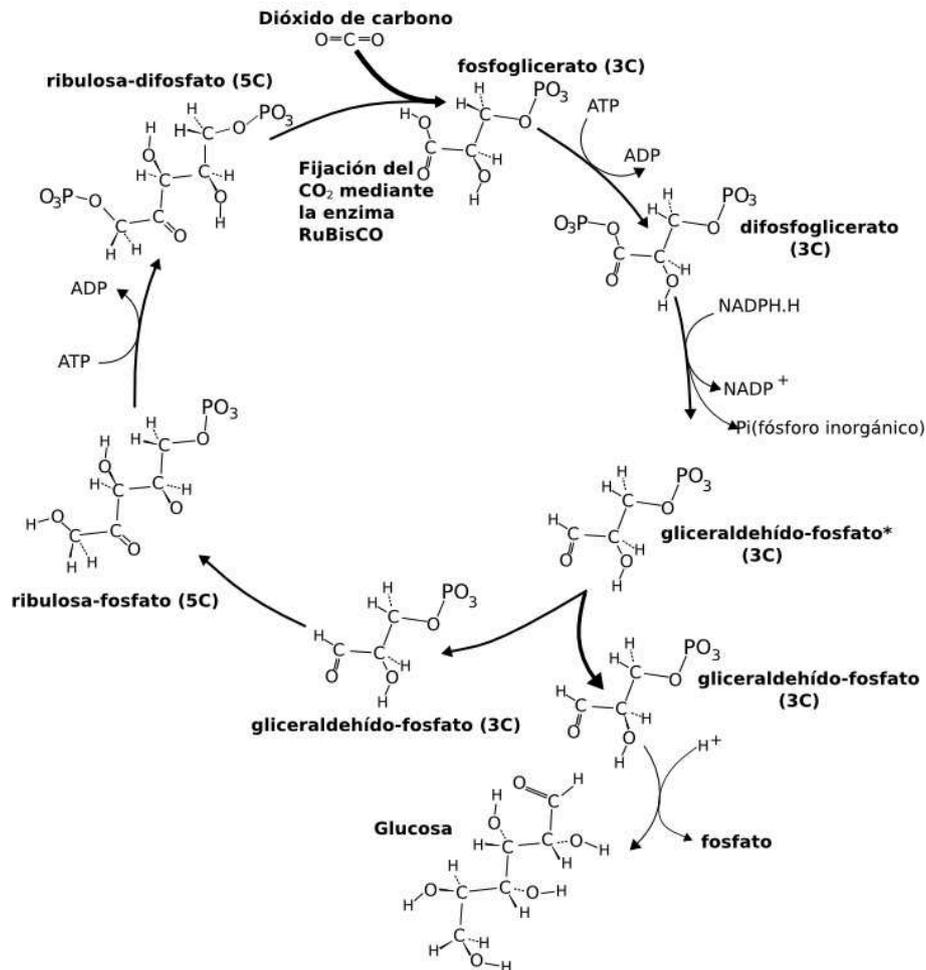


Figura 2.5: Diagrama del ciclo de Calvin Benson para la fijación de CO_2 (adaptado de Heldt, 2005).

1. **Carboxilación:** se adiciona una molécula de CO_2 a una molécula aceptora de 5-carbonos (ribulosa bi-fosfato o RuBP). Esta reacción es catalizada por la enzima RuBisCo. El resultado es una molécula de 6 C que luego se escinde en dos moléculas idénticas de 3 C (3-fosfoglicerato o 3-PG). En este punto se dice que el CO_2 ha sido fijado en productos orgánicos estables.
2. **Reducción:** primero se fosforila el 3-PG para obtener 1,3-bi-fosfoglicerato (1,3-BPG) consumiendo una molécula de ATP y luego se reduce el 1,3-BPG con NADPH para formar gliceraldehído-3-fosfato (G3P).
3. **Regeneración:** se regenera el aceptor de CO_2 en una serie de reacciones que convierten las moléculas de 3C en RuBP requiriendo del consumo de ATP.

Como balance global de seis rondas del ciclo de Calvin Benson para producir una molécula de 6C podemos escribir:



La fotosíntesis llevada a cabo por las algas representa más del 50% de la fotosíntesis global, haciendo posible que la energía solar esté disponible en forma de energía “biológicamente” utilizable.

3. Usos y Aplicaciones de las Microalgas

La biotecnología aplicada al cultivo de algas representa un importante campo de estudio en la actualidad, ya que cada vez son más las propiedades, productos y aplicaciones que se les encuentran. Entre los metabolitos de interés y los diferentes usos de las microalgas, podemos mencionar:

- **Producción de lípidos como materia prima para la producción de bio-combustibles de tercera generación (biodiesel)** (la idea de producir biodiesel a partir de aceites de microalgas no es nueva, pero, los costos de producción asociados a este proceso son elevados. Sin embargo, en las últimas décadas ha cobrado impulso debido a las estimaciones del agotamiento de los combustibles fósiles y a los efectos del calentamiento global asociado a este último sistema.
- Las microalgas poseen un gran potencial para la producción de biodiesel, ya que a diferencia de los cultivos tradicionales no precisan de suelos fértiles para cultivarlas, su velocidad de crecimiento es mayor a la de plantas complejas y acumulan un porcentaje de lípidos en su estructura mucho mayor pudiendo alcanzar más del 50% de su peso total (Chisti, 2007).

- **Extracción de carotenos y otros pigmentos para ser utilizados en la industria nutracéutica:** el β -caroteno y la astaxantina son los carotenoides más importantes aislados de microalgas. Pueden ser utilizados como pigmentos naturales o como suplementos para consumo humano o animal. Peces como el salmón y la trucha arcoíris deben su color característico a la ingesta de la astaxantina.

Estos metabolitos protegen a las células frente al estrés oxidativo causado por un amplio espectro de enfermedades y por el propio envejecimiento. Estudios pre-clínicos sugieren que el consumo de astaxantina, producida por especies como por ejemplo *Haematococcus pluvialis*, podría modular funciones anti-cancerígenas, y anti-inflamatorias, dar protección contra los rayos UV y mejorar la salud cardiovascular, entre otras (Fábregas y col., 2000; Cordero y col., 2011).

- **Biomasa de microalgas como alimento tanto para seres humanos como para animales:** distintos análisis acerca de la composición de aminoácidos de diversas especies de microalgas demostraron que la calidad de sus proteínas es elevada, por lo que pueden ser consideradas como una fuente nutricional importante. *Spirulina (Arthrospira)* es utilizada en la nutrición humana debido a su alto contenido de proteínas y excelente valor nutritivo. También es una fuente importante de ácidos grasos esenciales.

Las microalgas son la fuente primaria de alimento para los bivalvos larvales y juveniles, y para las larvas de algunas especies de peces y crustáceos en la maricultura. También son la dieta principal de zooplancton criados como alimento para ciertas especies de crustáceos y peces (Brown y col., 1997; Spolaore y col., 2006).

- **Bio-remediación de efluentes gaseosos y líquidos:** las plantas de producción de energía a partir de combustibles fósiles representan aproximadamente un tercio de las emisiones totales de CO₂ de origen humano.

Para estabilizar y reducir las concentraciones de este gas, es necesario el desarrollo y empleo de tecnologías para la captura, separación y almacenamiento o reutilización del carbono. Las microalgas poseen una gran efectividad a la hora de retener el CO₂, incluso mayor a la de plantas superiores. Son capaces de crecer eficientemente a través de la utilización, como fuente de alimentación, de gases que contengan altos niveles de CO₂, sulfuros y óxidos de nitrógeno, produciendo buenos rendimientos de biomasa.

Las aguas residuales urbanas e industriales deben ser tratadas antes de ser vertidas al medio ambiente con el fin de prevenir los efectos indeseables, como la contaminación y la eutrofización de los cursos naturales de agua. En comparación con el proceso de tratamiento convencional de aguas residuales en el cual se produce un barro activado para degradar materia orgánica a CO₂, las algas pueden asimilar los contaminantes orgánicos en constituyentes celulares, tales como lípidos y carbohidratos, logrando así la reducción de contaminantes de una manera más favorable al medio ambiente.

Diversas especies de *Chlorella* fueron utilizadas para el tratamiento de aguas residuales demostrando una gran capacidad para la remoción de nitrógeno, fósforo y una disminución en la demanda química de oxígeno (DQO) (Demirbas, 2011; Wang y col., 2009).

- **Producción de bio-hidrógeno:** el uso del hidrógeno como combustible produce un impacto ambiental mucho menor que el uso de los fósiles, por lo que se han llevado a cabo muchos estudios en el área. Cuando se quema como un combustible convencional, ya sea en motores estacionarios, turbinas de gas, vehículos de automoción, en calderas y calentadores, conduce a la emisión de sólo un tipo de contaminante, el NOx.
- Las microalgas poseen características genéticas, metabólicas y enzimáticas aptas para foto-producción de hidrógeno. Su capacidad de síntesis está

vinculada a la exposición del cultivo de microalgas a ciertas condiciones (Vieira Costa y Greque de Morais, 2011).

- **Compuestos bio-activos** (Guedes y col.; 2011): estos microorganismos tienen como ventaja presentar una gran plasticidad metabólica, la cual les permite, en función de su estado fisiológico, la producción de diversos compuestos bio-activos. Como ejemplos reportados se puede mencionar que compuestos antioxidantes obtenidos a partir de microalgas como la astaxantina y luteína han demostrado ser aptos para el tratamiento de la arteriosclerosis inhibiendo la acumulación de especies reactivas del oxígeno. Por otro lado, extractos de microalgas como *P. tricornutum* han demostrado tener propiedades anti-bacterianas gracias a su contenido de ácidos grasos de cadena larga (ácido eicosapentanoico por ejemplo). Extractos de *Dunaliella sp.* con contenidos de feoforbidos-a y -b han demostrado actividad antiviral frente al virus del herpes. También se ha reportado que diversos carotenoides acetilénicos aislados de especies como *Peridinium bipes* demostraron tener efectos antitumorales.

4. Cultivo Extensivo de Microalgas

La relación entre el costo de producción de la biomasa de algas y el precio de mercado de los subproductos obtenidos a partir de ella es crucial para el desarrollo de cualquiera de estas aplicaciones. Las microalgas son costosas de producir a gran escala y en la actualidad gran cantidad de grupos están llevando a cabo diversos estudios a fin de lograr diseñar y construir sistemas de cultivos que sean más eficientes y rentables.

En la actualidad, la producción comercial de microalgas es llevada a cabo principalmente utilizando sistemas abiertos de cultivo (*open ponds*). Estos sistemas de cultivo poseen una baja profundidad (entre 10-30cm) a fin de favorecer la penetración

de la luz solar a través de todo el cultivo. Los mismos deber ser agitados de forma continua para evitar la sedimentación de las algas. Cada una de estos sistemas pueden cubrir un área de unos pocos metros cuadrados hasta varios cientos de metros cuadrados. El costo de construcción es relativamente bajo y son sencillos de operar, pero presentan como principal desventaja la dificultad de control de las variables del cultivo (temperatura, pH, concentración de CO₂, etc). A su vez, los *open pond* están muy expuestos a contaminaciones por otras especies indeseables de microalgas e incluso otros tipos de microorganismos, debido a que estas “piletas” se encuentran a cielo abierto. Debido a esto, su aplicación se encuentra normalmente limitada a especies que, por su capacidad para soportar condiciones adversas de crecimiento (como *Spirulina* y *Dunaliella* por ejemplo) puedan competir frente a otros microorganismos. De lo contrario, los sistemas abiertos terminan colapsando bajo la presión de otros organismos contaminantes (Olaizola, 2000). Estos sistemas de cultivo permiten trabajar con concentraciones de biomasa de alrededor de 1 g/L y productividades de 60–100 mg/L día, lo que resultaría en un rendimiento de alrededor de 10–25 g/m²día (Pulz, 2001). Se puede citar como ejemplo de reactores abiertos a la empresa Cyanotech radicada en Hawaii que cultivan *Spirulina* y *Haematococcus pluvialis*. En la Fig.4.1 se muestran las instalaciones de la empresa donde se observan los reactores tipo *raceway*.



Figura 4.1: Instalaciones de la empresa Cyanotech en Hawii (www.cyanotech.com).

Un sistema de producción más desarrollado y complejo que los *open pond*, son los reactores cerrados llamados comúnmente foto-bio-reactores (FBR). Éstos permiten una mayor regulación y control de las principales variables de cultivo. A su vez, reducen en gran medida los riesgos de contaminación permitiendo el cultivo de un número mucho mayor de especies de microalgas. Existen de formas tubulares, planas, pudiendo adoptar una gran variedad de diseños y modos de operación. En general, logran un mayor aprovechamiento de la luz recibida y permiten obtener una biomasa o producto de mayor calidad. Sin embargo, los costos de construcción y operación de estos reactores hacen que el proceso resulte más costoso que el empleo de reactores abiertos. Debido a esto, la utilización de FBR para cultivos a gran escala, se realiza casi exclusivamente para la producción de metabolitos de alto valor agregado que justifiquen la mayor inversión (Milledge, 2011). Como ejemplo se puede mencionar a la empresa Alga Technologies situada en Israel que cultiva *Haematococcus pluvialis*. En la Fig.4.2 se muestran los FBR tubulares de más de 300 km de largo construidos por la empresa.



Figura 4.2: Instalaciones de la empresa Alga Technologies en Israel (www.algatech.com).

Como organismos fotosintéticos, las microalgas dependen de la luz como sustrato limitante para su crecimiento (Jeon y col., 2005). En la naturaleza, estos organismos se encuentran expuestos a diferentes condiciones de luz y radiación. Dependiendo de la región geográfica en que se encuentren y de la época del año, existirán diferentes fotoperiodos (duración de las horas de luz y oscuridad cada 24 horas) e intensidades de luz. El perfil de radiación solar sobre la superficie de la tierra muestra una amplia distribución de la misma sobre la región visible del espectro de radiación (Fig.4.3). Una vez que la radiación alcanza la superficie de los cultivos, la densidad del flujo de fotones decae exponencialmente a medida que nos movemos hacia el interior mismo, debido al fenómeno de *scattering* producido por las algas en suspensión y la absorción selectiva de ciertas longitudes de onda (correspondientes a los picos de absorción de las clorofilas), los cuales pueden generar distorsiones en el campo radiante dentro del reactor, más aún cuando se trabaja con altas concentraciones celulares.

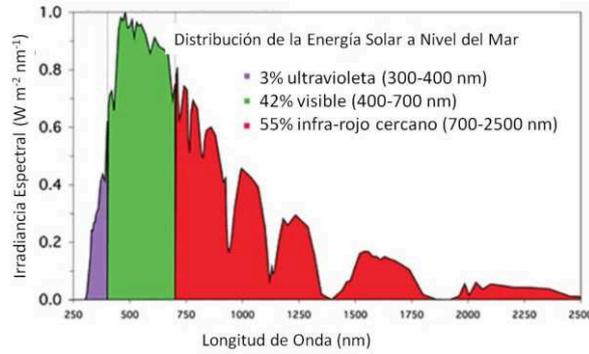


Figura 4.3: Irradiancia espectral de la radiación solar a nivel del mar (adaptado de Gueymard y col., 2002)

De esta manera, las células situadas en regiones más cercanas a la fuente de radiación están expuestas a densidades de flujo muy superiores a aquellas que se encuentran cerca del centro del reactor, donde la densidad local es mucho menor. Sin embargo, una mayor densidad de flujo de fotones no lleva necesariamente a una mayor velocidad de crecimiento de los microorganismos, ya que puede ocurrir el proceso denominado como foto-inhibición (Masojídek y col, 2003) como se observa en la Fig.4.4.

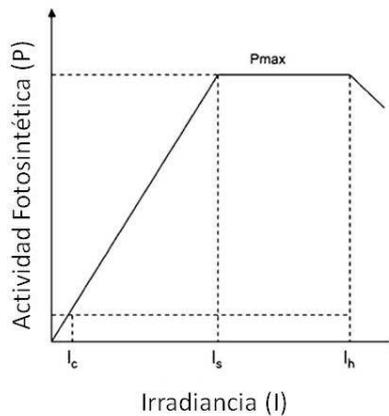


Figura 4.4: Diagrama esquemático de la actividad fotosintética de los cultivos vs. irradiancia.

En la figura se pueden distinguir claramente tres regiones:

1) región de limitación por luz (entre I_c y I_s): el flujo de fotones recibido es tal que la totalidad de los mismos es aplicada para la fotosíntesis.

2) región de saturación (entre I_s y I_h): un aumento en la intensidad de luz recibida por las células no conduce a un aumento en el crecimiento, por lo que la capacidad de procesamiento fotosintético de los cultivos ha alcanzado su máximo valor, y el exceso de fotones recibidos es disipado como calor o fluorescencia.

3) región de la foto-inhibición (por encima de I_h): el aumento de la intensidad de luz provoca un daño celular disminuyendo la velocidad de crecimiento de los cultivos.

Lograr una distribución óptima de la radiación en el interior de un FBR para obtener la máxima productividad de biomasa o de algún producto de interés es un aspecto clave para que el cultivo de microalgas en reactores de gran escala sea exitoso.

Otro aspecto muy importante sobre el crecimiento de las microalgas es la provisión de CO_2 en los cultivos (Valiorgue y col., 2014) ya que la es la única fuente de carbono durante el crecimiento fotosintético. Las microalgas poseen una velocidad de fijación de CO_2 entre 10-50 veces superior a la de las plantas terrestres y son capaces de tolerar altas concentraciones de CO_2 (Ho y col., 2012) por lo que han sido propuestas para ser utilizadas en el tratamiento de efluentes gaseosos industriales. Normalmente, el CO_2 es provisto a los cultivos inyectando una corriente de aire, que puede estar, o no, enriquecida en CO_2 . Cabe recordar que la concentración de CO_2 en el aire es de apenas el 0.034%. Una vez inyectado en el medio líquido, el CO_2 debe atravesar una serie de "barreras" antes de llegar al sitio de fijación del mismo donde se encuentra la enzima RuBisCo. De esta manera, es importante considerar los efectos de la temperatura, agitación, tamaño de burbujas, composición del medio de cultivo, etc., sobre el transporte del CO_2 al sitio de fijación en la célula.

Si se consideran los resultados reportados en el cultivo de microalgas en estudios en escala laboratorio, se podría decir que hasta el momento los ejemplos exitosos de producción de microalgas a gran escala son escasos considerando la

potencialidad de los mismos. Esto podría deberse principalmente a los costos de producción asociados al cultivo a gran escala de microalgas (Carvalho y col., 2011).

El estudio de la influencia de las principales variables de cultivo como la luz, el CO₂, la temperatura, el pH y otros nutrientes (nitrógeno, fósforo) sobre el crecimiento de los microorganismos es importante para la obtención de información necesaria para el desarrollo de modelos predictivos. Los mismos permitirían conocer *a priori* las condiciones óptimas de trabajo en el reactor, contribuyendo así al mejoramiento del diseño, construcción y operación de un sistema de producción de escala industrial. La obtención de modelos de crecimientos precisos es clave en el éxito o fracaso del cultivo de microalgas (o alguno de sus productos) en escala productiva. Es por ello que se propone en la presente tesis llevar adelante un estudio integral acerca de las principales variables de cultivo que afectan el crecimiento de las microalgas, a fin generar conocimientos científicos que permitan proponer y verificar herramientas aptas para el diseño, modelado, optimización y cambio de escala de foto-bio-reactores, destinados a la propagación de microalgas y producción de metabolitos derivados de ellas con diferentes aplicaciones de interés tecnológico.

5. Bibliografía

- Barsanti L., Gualtieri P. (2006) *Algae Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*. Taylor & Francis Group Capítulo 1, 1-33.
- Brown M. R., Jeffrey S. W., Volkman J. K., Dunstan G. A. (1997) Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151: 315–331.
- Carvalho A. P., Silva S. O., Baptista J. M., Malcata F. X. (2011) Light requirements in microalgal photobioreactors: an overview of biophotonic aspects. *Applied Microbiology and Biotechnology* 89: 1275–1288.
- Chisti Y. (2007) Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances* 25: 294–306.
- Cordero B. F., Obraztsova I., Couso I., León R., Vargas M. A., Rodríguez H. (2011) Enhancement of Lutein Production in *Chlorella sorokiniana* (Chlorophyta) by Improvement of Culture Conditions and Random Mutagenesis, *Marine Drugs* 9: 1607-1624.
- Demirbas A. (2011) Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: A solution to pollution problems. *Applied Energy* 88: 3541–3547.
- Fábregas J., Domínguez A., Regueiro M., Maseda A., Otero A. (2000) Optimization of culture medium for the continuous cultivation of the microalga *Haematococcus pluvialis*, *Applied Microbiology Biotechnology* 53: 530-535.
- Falkowski, P.G., Raven, J.A. (1997) *Aquatic Photosynthesis*. Blackwell Science.
- Guedes A. C., Amaro H. M., Malcata F. J. (2011) Microalgae As Sources of High Added-Value Compounds - A Brief Review of Recent Work. *American Institute of Chemical Engineers* 27(3): 597-613.
- Gueymard C., Myers D., Emery K. (2002). Proposed reference irradiance spectra for solar energy systems testing. *Solar Energy*. 73(6): 443-467.
- Guiry M. D. (2012) How many species of algae are there? *Journal of Phycology* 48: 1057–1063.

- Heldt H.W. (2005) The use of energy from sunlight by photosynthesis is the basis of life on earth. En: Plant Biochemistry. (Eds.: Hans-Walter Heldt in cooperation with Fiona Heldt) Elsevier. San Diego, USA. p: 45-66.
- Ho S. H., Lu W. B., Chang J. S. (2012) Photobioreactor strategies for improving the CO₂ fixation efficiency of indigenous *Scenedesmus obliquus* CNW-N: Statistical optimization of CO₂ feeding, illumination, and operation mode. *Bioresource Technology* 105: 106–111.
- Jacob-Lopes E., Gimenes Scoparo C. H., Ferreira Lacerda L. M. C., Teixeira Franco T. (2009) Effect of light cycles (night/day) on CO₂ fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors, *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 48: 306–310.
- Jeon Y. C., Cho C. W., Yun Y. S. (2005) Measurement of microalgal photosynthetic activity depending on light intensity and quality. *Biochemical Engineering Journal* 27: 127–131.
- Masojídek J., Koblížek M., Torzillo G. (2004) Photosynthesis in Microalgae. En: *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology* (Editado por Amos Richmond) Blackwell Science. UK. p: 20-40.
- Masojídek J., Papáček Š., Sergejevová M., Jirka V., Červený J., Kunc J., Korečko O., Verbovikova O., Kopecký J., Štys D. y Torzillo G. (2003) A closed solar photobioreactor for cultivation of microalgae under supra-high irradiance: basic design and performance. *Journal of Applied Phycology* 15: 239–248.
- Masojídek J., Torzillo G. (2008) Mass Cultivation of Freshwater Microalgae. *Encyclopedia of Ecology* 2226-2235.
- Milledge J. J. (2011) Commercial application of microalgae other than as biofuels: a brief review. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 10: 31–41.
- Mishra S. K., Shrivastava A., Maurya R. R., Patidar S. K., Haldar S., Mishra S. (2012) Effect of light quality on the C-phycoerythrin production in marine cyanobacteria

- Pseudanabaena* sp. isolated from Gujarat coast, India. *Protein Expression and Purification* 81: 5–10.
- Nelson N., Yocum C. F. (2006) Structure and Function of Photosystems I and II. *Annual Review of Plant Biology*. 57:521–65.
 - Olaizola M. (2000) Commercial production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using 25,000-liter outdoor photobioreactors. *Journal of Applied Phycology* 12: 499–506.
 - Pulz O. (2001) Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 57: 287–293.
 - Renaud S. M., Van Thinh L., Lambrinidis G., Parry D. L. (2002) Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. *Aquaculture* 211: 195-214.
 - Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert A. (2006) Commercial Applications of Microalgae, *Journal of Bioscience and Bioengineering* 101: 87–96.
 - Valiorgue P., Ben Hadid H. , El Hajem M., Rimbaud L., Muller-Feuga A., Champagne J.Y. (2014) CO₂ mass transfer and conversion to biomass in a horizontal gas–liquid photobioreactor. *Chemical Engineering Research and Design*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cherd.2014.02.021>.
 - Vieira Costa J. A., Greque de Moraes M. (2011) The role of biochemical engineering in the production of biofuels from microalgae. *Bioresource Technology* 102: 2–9.
 - Von Wettstein D., Gough S., Kannangara C. G. (1995) Chlorophyll Biosynthesis. *Plant Cell*. 7: 1039-1057.
 - Wang L., Min M., Li Y., Chen P., Chen Y., Liu Y., Wang Y., Ruan R. (2009) Cultivation of Green Algae *Chlorella* sp. in Different Wastewaters from Municipal Wastewater Treatment Plant. *Applied Biochemical Biotechnology* 162(4):1174-1186.
 - Yongmanitchai W., Ward O. P. (1991) Growth of and Omega-3 Fatty Acid Production by *Phaeodactylum tricornutum* under Different Culture Conditions, *Applied and environmental Microbiology* 57: 419-425.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL.

Desarrollar conocimientos científicos y tecnológicos que permitan proponer y verificar herramientas aptas para el diseño, modelado, optimización y cambio de escala de foto-bio-reactores, destinados a la propagación de microalgas y producción de metabolitos derivados de ellas con diferentes aplicaciones de interés tecnológico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Identificar cepas de microalgas que presenten las velocidades de propagación y producción de metabolitos más favorables para la finalidad buscada.
2. Formular y optimizar medios de cultivo para el crecimiento de algas unicelulares sumergidas.
3. Diseño y construcción del dispositivo experimental (foto-bio-reactor) escala laboratorio dotado de fuente de radiación artificial y de los dispositivos de suministro de dióxido de carbono, control de temperatura, sistema de agitación.
4. Determinar los parámetros que afectan la transferencia de materia gas-líquido (disolución de CO_2 y de O_2)
5. Verificar el régimen de mezclado del reactor operado en forma semi-continua mediante técnicas de determinación de tiempos de residencia con trazadores inertes.
6. Determinar experimentalmente la productividad de biomasa del reactor (velocidad de producción de algas) y su dependencia con las variables operativas relevantes (disponibilidad de luz y dióxido de carbono).
7. Desarrollar modelos matemáticos para la cinética de propagación celular (velocidad de producción de biomasa. Regresión de parámetros a partir de datos experimentales.
8. Validar las cinéticas de producción de biomasa, mediante comparación de las predicciones efectuadas con los modelos de simulación y los datos experimentales obtenidos bajo diferentes condiciones de irradiación.
9. Proponer y evaluar el escalado de un foto-bio-reactor a cielo abierto a través de la aplicación de los modelos desarrollados.

CAPÍTULO 1

Microorganismo seleccionado y descripción de los Foto-bio-reactores utilizados

1. Selección del microorganismo utilizado

La selección del microorganismo utilizado fue realizada en base a los objetivos y alcances de la realización del presente estudio. De esta manera, la especie de microalga seleccionada debía cumplir con una serie de características para su utilización, como ser: lograr alcanzar adecuadas productividades tanto de biomasa como de productos de interés; poseer una estructura lo suficientemente robusta como para soportar el estrés producido durante la agitación de los cultivos en los FBR; buena adaptación a cambios en las condiciones de crecimiento (intensidades y perfiles de luz, temperaturas, pH, concentraciones de nutrientes, etc.) y que sea factible de ser cultivada en las condiciones climáticas que presenta la región.

Luego de una extensa búsqueda bibliográfica se procedió a la selección de la especie de agua dulce *Scenedesmus quadricauda* 276/21, la cual fue adquirida en la Colección de Cultivos de Algas y Protozoarios del Reino Unido (CCAP por su sigla en inglés).

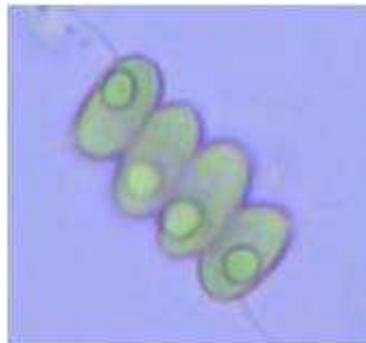


Figura 1.1: Fotografía de un cultivo de *Scenedesmus quadricauda*.

Esta microalga mostrada en la Figura 1.1, perteneciente al orden de las clorococales, es utilizada como organismo modelo debido a su ubiquidad en diferentes ambientes acuáticos, su robustez frente a diferentes condiciones ambientales, su velocidad de crecimiento y a que normalmente es utilizada para el tratamiento de aguas residuales

(pensando en cultivos a gran escala) y para la producción de aceites para combustibles (Zhang y col, 2010).

Este género de microalgas posee una estructura trilaminar que conforma la pared celular externa. Esta estructura está conformada por diferentes componentes como glicoproteínas y bio-polímeros denominados *algaenan* que le otorgan una gran resistencia (Burczyk y col., 1999). Esta característica puede llegar a ser deseable en sistemas de cultivo que utilicen medios de agitación o recirculación mecánicos, ya que existen especies de microalgas cuyas paredes celulares son muy lábiles precisando del diseño de sistemas de agitación y recirculación menos severos (Scarsella y col., 2012; Jaouen y col., 1999).

Para evaluar la potencialidad de una microalga para la producción de aceites para biocombustibles, es importante considerar que las especies que acumulan el mayor contenido de lípidos, no suelen ser las que logran las mayores productividades de biomasa. Esto lleva a una productividad de lípidos menor de la esperada, debido en parte, a que una mayor producción de lípidos es una compensación de la baja productividad de biomasa frente a la escasez de nutrientes (en especial de nitrógeno). En el caso de *Scenedesmus quadricauda*, están reportadas productividades de biomasa de 190 mg/L.día con un contenido de lípidos de más del 18%, dando una productividad del orden de 35 mg/L.día (Rodolfi y col., 2009).

Es importante evaluar la composición de ácidos grasos de los aceites de la especie, ya que no todos los aceites son aptos para la producción de biodiesel (deben cumplir con las reglamentaciones vigentes que consideran el número de carbonos y de insaturaciones que poseen los mismos) (Rodolfi y col., 2009).

Por otro lado, trabajos recientes han demostrado que además del crecimiento fotoautotrófico, esta especie tiene la capacidad de poder crecer tanto heterotrófica como mixotróficamente (no todas las especies de microalgas poseen esta capacidad) (Zhao y col., 2012). En el primero de ellos se utilizan fuentes de carbono orgánicas como azúcares y ácidos orgánicos en ausencia de luz. Este tipo de cultivos presenta la ventaja de poder llevarse a cabo en los bio-reactores tradicionales (fermentadores) cuya tecnología y diseño

se encuentran mucho más desarrollados que los de los FBR. En el segundo caso, los cultivos utilizan fuentes de carbono tanto orgánicas como inorgánicas (CO₂), operando en forma conjunta tanto el metabolismo fotosintético como el respiratorio.

Se han reportado diversos estudios que señalan que el crecimiento mixotrófico en microalgas permite alcanzar velocidades de crecimiento y productividades de lípidos superiores a las logradas tanto durante el crecimiento foto-autotrófico como el heterotrófico (Cheirsilp y Torpee, 2012). Este tipo de trofismo sería una alternativa interesante de estudiar en el futuro, ya que podría contribuir a solucionar problemas relacionados a la falta de rentabilidad del cultivo de microalgas a gran escala. Sin embargo, en el presente trabajo se centrará solamente en el estudio y análisis del crecimiento foto-autotrófico.

2. Medio de cultivo

Los medios de cultivo para el crecimiento de microorganismos buscan reproducir las condiciones de su habitat natural, conteniendo en su formulación las sustancias necesarias para la manutención del crecimiento de los mismos. Dada la diversidad de los microorganismos y sus vías metabólicas, existen numerosos medios, incluso pequeñas diferencias en las composiciones de los mismos pueden llevar a grandes cambios en las características del crecimiento.

En el caso de las microalgas, debido a que son organismos fotosintéticos, no precisan de una fuente orgánica de carbono, por lo que la formulación de los medios artificiales básicamente consiste en una serie de sales inorgánicas.

Se procedió a la búsqueda y selección de un medio de cultivo ampliamente utilizado para el cultivo de cepas de agua dulce. Se eligió el medio BBM (Bold's Basal Medium), cuya utilización es muy común en cultivos de microalgas de agua dulce. La composición final del medio se detalla a continuación en la Tabla 2.1.

Componente	Concentración en el Medio Final (Molar)	Componente	Concentración en el Medio Final (Molar)
Macronutrientes		Soluciones Traza	
NaNO ₃	2.94 x 10 ⁻³	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	3.07 x 10 ⁻⁵
CaCl ₂ · 2H ₂ O	1.70 x 10 ⁻⁴	MnCl ₂ · 4H ₂ O	7.28 x 10 ⁻⁶
MgSO ₄ · 7H ₂ O	3.04 x 10 ⁻⁴	MoO ₃	4.93 x 10 ⁻⁶
K ₂ HPO ₄	4.31 x 10 ⁻⁴	CuSO ₄ · 5H ₂ O	6.29 x 10 ⁻⁶
KH ₂ PO ₄	1.29 x 10 ⁻³	Co(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	1.68 x 10 ⁻⁶
NaCl	4.28 x 10 ⁻⁴		
EDTA · Na ₂	1.71 x 10 ⁻⁴		
KOH	5.53 x 10 ⁻⁴		
FeSO ₄ · 7H ₂ O	1.79 x 10 ⁻⁵		
H ₃ BO ₃	1.85 x 10 ⁻⁴		

Tabla 2.1.: Composición Final del Medio BBM (Andersen, 2005).

3. Mantenimiento de la Cepa

El mantenimiento de una cepa es necesario para disponer siempre de un cultivo de células en un estado fisiológicamente activo, para poder realizar cualquier propagación o determinación.

Para el mantenimiento de la cepa se realizaron repiques periódicos cada un lapso de 4 a 6 meses, en tubos de ensayo con 10 ml del medio de cultivo BBM. Los repiques fueron mantenidos en condiciones de temperatura ambiente, sin agitación ni suministro de CO₂ y con luz ambiente. Estas condiciones son sub-óptimas para su crecimiento, a fin de poder prolongar los períodos entre cada repique, logrando así reducir la probabilidad de mutaciones que impliquen modificaciones en las propiedades biológicas debido a los sucesivos repiques.

4. Descripción de los Foto-bio-reactores utilizados

Un foto-bio-reactor (FBR) puede ser definido como un sistema cerrado donde se lleva a cabo un cultivo fototrófico, en el cual la energía es provista a través de fuentes de radiación artificial o naturales (sol). Existe gran cantidad y diversidad de diseños reportados (tubulares, planos, inclinados, tipo bolsas, etc.) dependiendo del objetivo final deseado (Tredici, 2004).

Cuando el cultivo posee un interés de producción comercial, es fundamental que el proceso sea rentable, que la biomasa (o el producto de interés) posea una calidad determinada y que su producción sea reproducible y sostenible en el tiempo. Si el objetivo buscado es el estudio de los fenómenos que influyen sobre el crecimiento de las microalgas, como la intensidad y la distribución espectral de la luz recibida, la concentración de CO₂ suministrada al medio de cultivo, la temperatura, el pH, etc.; la productividad del FBR pasa a un segundo plano y el diseño del mismo debe permitir la separación y el control de las variables de cultivo a fin de estudiar su comportamiento y la forma en que interactúan entre sí.

El objetivo en el análisis de reactores es brindar modelos matemáticos para obtener métodos de diseño razonables, incluyendo en el modelo todos los elementos esenciales que determinan el funcionamiento del reactor, con suficiente detalle, pero no hasta el punto en que sea imposible su aplicación, buscando obtener un modelo preciso, robusto, flexible y, a la vez, lo más sencillo posible.

La realización de los cultivos de microalgas llevados a cabo durante el presente trabajo fueron realizados en dos tipos de FBRs diferentes.

FBR Schott de Vidrio Borosilicato: fue construido a partir de un frasco cilíndrico de vidrio borosilicato Schott de dos litros de volumen útil (Fig.4.1.a). Este reactor autoclavable posee cinco puertos de entrada: uno para la entrada de aire a través de un difusor de vidrio sinterizado, uno para la toma de muestra, uno para la salida del aire, uno para la reposición

de medio de cultivo y uno para un sensor de temperatura. El aire es suministrado a través de un compresor de aire y es esterilizado con un filtro de nylon de 0.4 micras antes de ingresar al reactor a través del difusor.

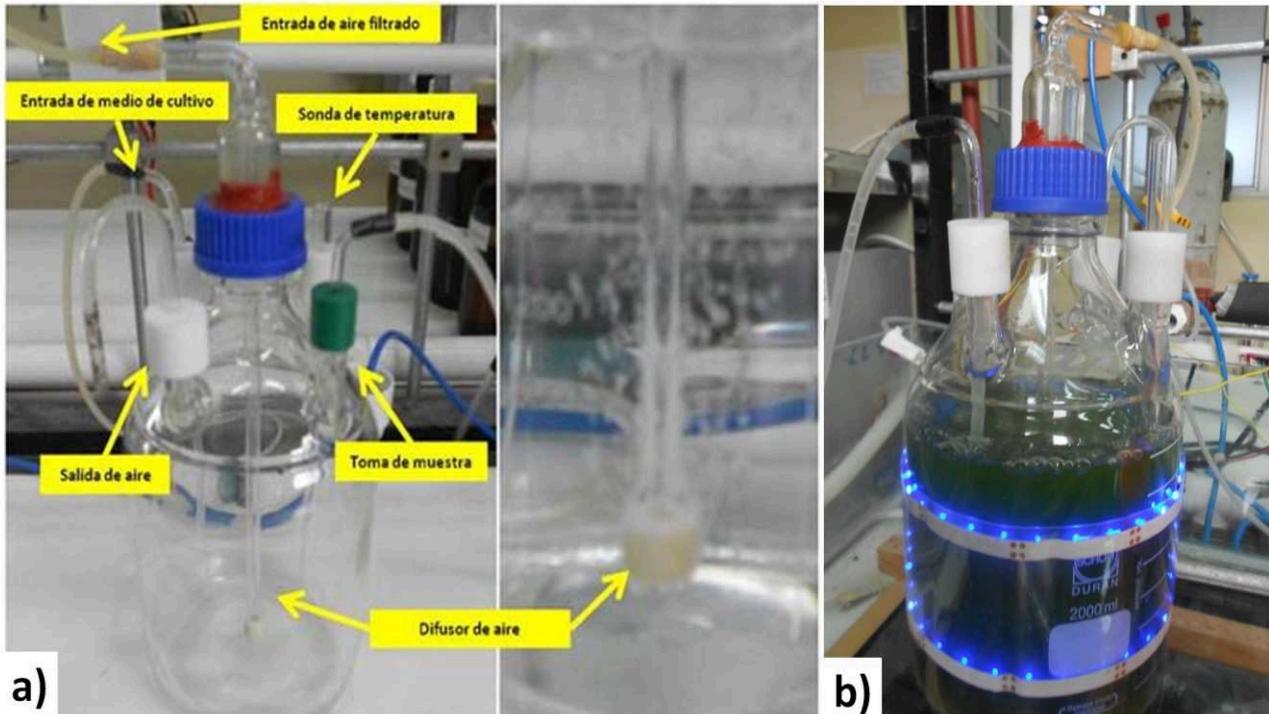


Figura 4.1: FBR construido a partir de un frasco cilíndrico de vidrio borosilicato de dos litros de volumen. En a) se muestran los diferentes puertos de entrada y salida del reactor y el difusor de aire; en b) se muestra el reactor irradiado con una placa de LEDs azules durante uno de los cultivos realizados.

Bio-reactor Labfors3 de Infors-HT: es un bio-reactor comercial automatizado (Fig.4.2). Este reactor posee un vaso de vidrio autoclavable de 3 litros de volumen útil y un centro de control y registro automatizado de temperatura, pH, presión de O₂, nivel de líquido, alimentación de soluciones y toma de muestra, inyección de aire filtrado y agitación. Como en el caso anterior, el aire es suministrado a través de un compresor de aire y es esterilizado con un filtro de nylon de 0.4 micras antes de ingresar al reactor a través del difusor.

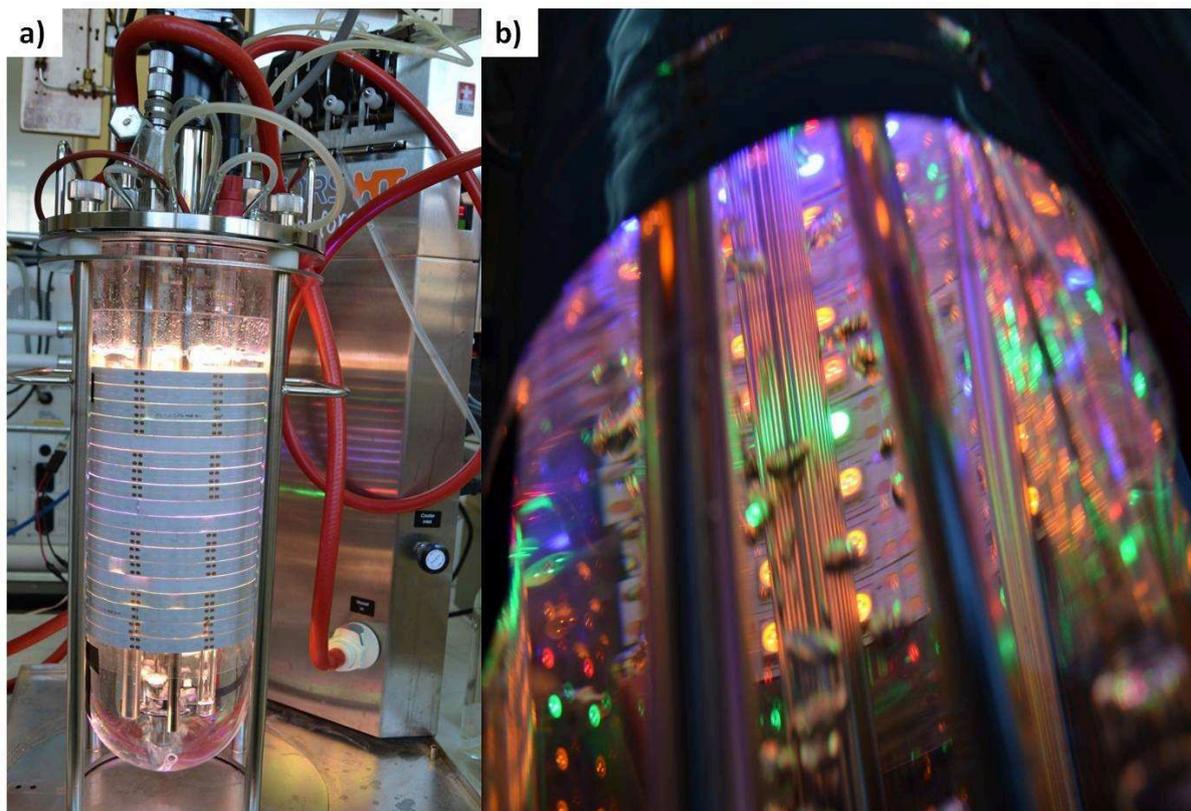


Figura 4.2: Bio-reactor Labfors3 de Infors-HT de 3 litros de volumen. a) se muestra el reactor montado conectado a la base de control durante un cultivo; b) se observa desde la base del reactor el interior del vaso iluminado por un arreglo de LEDs combinando diferentes perfiles de longitudes de onda.

En ambos casos, durante los cultivos los reactores fueron irradiados con arreglos de LEDs. Estos arreglos consisten en tiras de LEDs comerciales (descriptas en detalle en el capítulo 2) adheridas a la superficie externa de los reactores, que en función del estudio realizado estarán compuestas por diferentes tipos y números de LEDs detallados en cada sección correspondiente. En las Figuras 4.1.b y 4.2.b se muestran fotografías del reactor Schott y del reactor Infors-HT respectivamente, irradiados con diferentes arreglos de LEDs durante los cultivos realizados.

5. Bibliografía

- Andersen R. A. (2005). *Algal Culturing Techniques*. (Ed.: Andersen R. A). Elsevier Academic Press. San Diego, USA. Página 437 en Apendice A.
- Burczyk J., Smietana B., Terminska-Pabis K., Zych M., Kowalowski P. (1999). Comparison of nitrogen content amino acid composition and glucosamine content of cell walls of various chlorococcalean algae. *Phytochemistry*. 51: 491-497.
- Cheirsilp B., Torpee S. (2012). Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation. *Bioresource Technology*. 110: 510–516.
- Jaouen P., Vandanjon L., Quéméneur F. (1999). The shear stress of microalgal cell suspensions (*Tetraselmis suecica*) in tangential flow filtration systems: the role of pumps. *Bioresource Technology*. 68(2): 149–154.
- Rodolfi L., Zittelli C., Bassi N., Padovani J., Biondi N., Bonini G., Tredici M.R. (2009). Microalgae for Oil: Strain Selection, Induction of Lipid Synthesis and Outdoor Mass Cultivation in a Low-Cost Photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*. 102(1): 100-112.
- Scarsella M., Torzillo G., Cicci A., Belotti G., De Filippis P., Bravi M. (2012). Mechanical stress tolerance of two microalgae. *Process Biochemistry*. 47: 1603–1611.
- Tredici M.R., (2004) Mass Production of Microalgae: Photobioreactors. En: *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. (Ed.: Richmond, A.) Blackwell Publishing company. Oxfors, UK. p: 178-215.
- Zhang X., Hu Q., Sommerfeld M., Puruhito E., Chen Y. (2010). Harvesting algal biomass for biofuels using ultrafiltration membranes. *Bioresource Technology* 101: 5297–5304.
- Zhao G., Yu J., Jiang F., Zhang X., Tan T. (2012). The effect of different trophic modes on lipid accumulation of *Scenedesmus quadricauda*. *Bioresource Technology* 114: 466–471.

CAPÍTULO 2

Caracterización de las fuentes de radiación

1. Introducción

El sol es la primera fuente de radiación utilizada por las microalgas y todos los organismos fotosintéticos. En un día soleado, la energía promedio que llega a la superficie de la tierra es de más de 1 kWm^{-2} . De toda esta energía, solo una parte es utilizable por los organismos fotosintéticos. Esta radiación fotosintéticamente activa (PAR), comprendida entre los 400-700 nm, representa cerca del 40% del total, lo que daría como resultado 400 Wm^{-2} equivalentes a $1800 \mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ aproximadamente (Pilon y col., 2011). Sin embargo, estos valores dependen de la región geográfica en la cual nos encontremos, la época del año, la hora del día que consideremos, las condiciones climáticas y la hasta presencia de construcciones que puedan llegar a interferir con la llegada de la radiación solar al lugar que consideremos.

Debido a la dificultad de poder lograr condiciones de radiación reproducibles para la realización de estudios acerca del cultivo de microalgas, normalmente se utilizan fuentes de radiación artificial, a fin de poder lograr condiciones de iluminación controladas y reproducibles para el estudio de la influencia de la luz sobre el crecimiento de las microalgas.

Una fuente de radiación artificial que ha cobrado gran importancia en los últimos años y que ha ido reemplazando al uso de otras fuentes artificiales tradicionales, como las lámparas fluorescentes, son los diodos emisores de luz o LEDs (por su nombre en inglés) (Atta y col., 2013). Un LED es un tipo especial de diodo semiconductor que consiste en un chip de material semiconductor dopado con impurezas para crear una unión p-n. La corriente fluye fácilmente desde el lado p (ánodo) al lado n (cátodo), pero no en el sentido inverso. Los electrones y los huecos fluyen en la unión de los electrodos con voltajes diferentes. Cuando un electrón se encuentra con un hueco, cae en un nivel de energía más bajo, y libera energía en forma de un fotón. El color (longitud de onda) de la luz emitida depende de la energía correspondiente a la separación de las bandas de los materiales que forman la unión p-n.

Al comparar la vida útil de las lámparas incandescentes y las fluorescentes con la de los LEDs, vemos que son de 1000 horas, 8000 horas y de 100.000 horas respectivamente. Además de su larga vida útil, los LED poseen otras ventajas: su pequeño tamaño, longitud de onda específica (con un ancho de banda acotado de entre 20-40nm), baja generación de calor, la intensidad de luz ajustable, alta eficiencia de conversión fotoeléctrica, etc. Estas características los hacen muy atractivos para su uso como fuentes de radiación artificial de cultivos fototróficos (Yeh y Chung, 2009).

Debido a que las clorofilas poseen sus máximos de absorción en longitudes de onda correspondientes a las regiones azul y roja del espectro de radiación, las longitudes de onda correspondientes al amarillo y verde no son tan importantes en el proceso fotosintético. Debido a esto, cuando se plantea la realización de un gasto energético a través del uso de fuentes artificiales de luz es deseable que las mismas emitan principalmente en aquellas regiones del espectro que sean utilizables por las clorofilas, por lo que los LEDs serían ideales para ser utilizados en el crecimiento microalgas en FBR y para plantas en ambientes controlados como cámaras de cultivo (Yeh y Chung, 2009).

Durante la realización de los ensayos experimentales a lo largo de la presente tesis, se utilizaron diferentes tipos y combinaciones de LEDs a fin de poder lograr las distintas condiciones de iluminación planteadas para los cultivos (diferentes intensidades y perfiles de radiación). De esta manera se seleccionaron LEDs cuyas emisiones correspondieran a diversas regiones del espectro de radiación visible (azul, rojo, amarillo y verde) y LEDs con diferentes intensidades de emisión.

Antes de comenzar con la planificación de los cultivos de microalgas, se desarrollaron una serie de determinaciones a los diferentes LEDs a fin de conocer en forma precisa tres propiedades necesarias para el diseño y construcción de los módulos utilizados para irradiar los cultivos y para el posterior modelado del campo de energía radiante en el interior de los FBR. Las características de las fuentes de emisión a determinar son:

- I. **Flujo de fotones emitidos:** el número de fotones emitidos por unidad de tiempo por cada LED.
- II. **Distribución angular de los fotones emitidos:** distribución de las direcciones de los fotones emitidos por cada LED.
- III. **Distribución espectral de los fotones emitidos:** distribución de las longitudes de onda correspondientes a los fotones emitidos por cada LED.

2. Determinación de la densidad de flujo de fotones emitidos por los LEDs

Para el estudio de la influencia de la luz sobre el crecimiento de las microalgas es indispensable el modelado del campo de energía radiante en el interior de los mismos, considerando su distribución e influencia sobre el crecimiento de las microalgas.

La transferencia radiativa es el fenómeno físico de transferencia de energía en la forma de radiación electromagnética. La energía intercambiada entre dos superficies elementales dA_1 y dA_2 en un medio transparente (no participativo) a la radiación de longitud de onda considerada puede representarse de la siguiente manera:

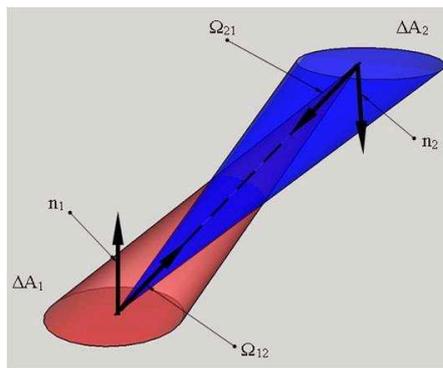


Figura 2.1: Intercambio de energía radiante entre dos superficies en un medio no participativo.

$$dE_{\lambda}^{(1,2)} [\text{joules}] = L_{\lambda}^{(1,2)} (r_{1,2}, \hat{\Omega}_{1,2}, t) \left[\frac{\text{joules}}{\text{s nm m}^2 \text{sr}} \right] dt [\text{s}] d\lambda [\text{nm}] \frac{(\hat{n}_1 \cdot \hat{\Omega}_{1,2}) dA_1 [\text{m}^2] (\hat{n}_2 \cdot \hat{\Omega}_{2,1}) dA_2 [\text{m}^2]}{r_{1,2}^2 [\text{m}]^2} \quad (2.1)$$

Donde $dE_{\lambda}^{(1,2)}$ [joule] es la energía de los fotones intercambiados entre las superficies dA_1 y dA_2 con longitudes de onda λ durante un intervalo de tiempo dt ; $L_{\lambda}^{(1,2)}(r_{1,2}, \hat{\Omega}_{1,2}, t)$ es la densidad de flujo de radiación monocromática λ procedente de la superficie emisora dA_1 en la dirección $\hat{\Omega}_{1,2}$ en el instante t ; \hat{n}_1 y \hat{n}_2 son los vectores normales y unitarios a las superficies dA_1 y dA_2 respectivamente; $\hat{\Omega}_{1,2}$ es un vector unitario según la dirección que une los “centros” de las superficies orientado desde la superficie dA_1 hacia la superficie dA_2 ; $\hat{\Omega}_{2,1}$ es un vector unidad según la dirección que une los “centros” de las superficies elementales en situación de intercambio, orientado desde la superficie dA_2 hacia la superficie dA_1 ; y $r_{1,2} = r_{2,1}$ es la distancia entre centros de las superficies dA_1 y dA_2 .

A partir de la expresión (2.1) se puede definir el flujo de fotones λ intercambiados entre las superficies dA_1 y dA_2 durante un lapso de tiempo dt como:

$$dQ_{\lambda}^{(1,2)} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg}} \right] = \frac{dE_{\lambda}^{(1,2)}}{dt} = L_{\lambda}^{(1,2)}(r_{1,2}, \hat{\Omega}_{1,2}, t) \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{s \text{ nm m}^2 \text{ sr}} \right] d\lambda [\text{nm}] \frac{(\hat{n}_1 \cdot \hat{\Omega}_{1,2}) dA_1 [\text{m}^2] (\hat{n}_2 \cdot \hat{\Omega}_{2,1}) dA_2 [\text{m}^2]}{r_{1,2}^2 [\text{m}]^2} \quad (2.2)$$

Para la determinación de la densidad de flujo de fotones emitidos por cada tipo de LED $I_{\text{vis}}^{(L,D)} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg LED}} \right]$, se montaron placas con 9 LEDs iguales para cada uno de los colores (amarillo, verde, rojo y azul) y para cada tamaño de LED (35x28 y 50x60).

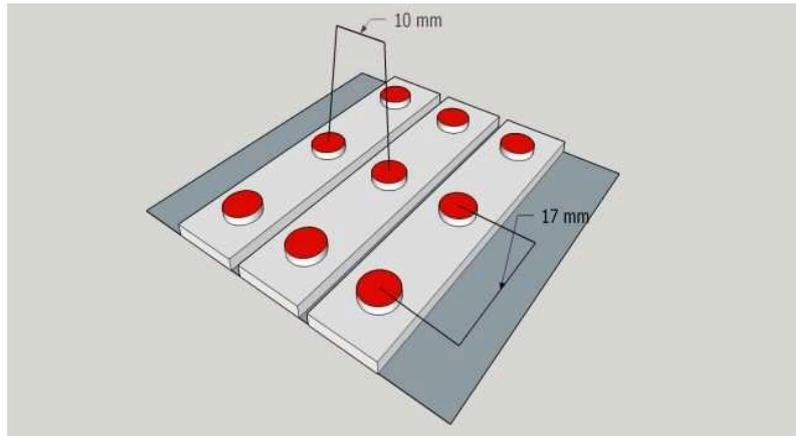


Figura 2.2: Esquema de los arreglos de LEDs contruidos para el cálculo del flujo de fotones emitidos por cada tipo.

Cada una de estas construcciones fue colocada en el centro de un dispositivo de medición que cuenta con un detector que mide la densidad de flujo de fotones de radiación fotosintéticamente activa (PAR) **SKYE Detector Par quantum sensor SKP 215** colocado en forma perpendicular al arreglo a una distancia fija de 170 mm, como se muestra en la Fig. 2.3.

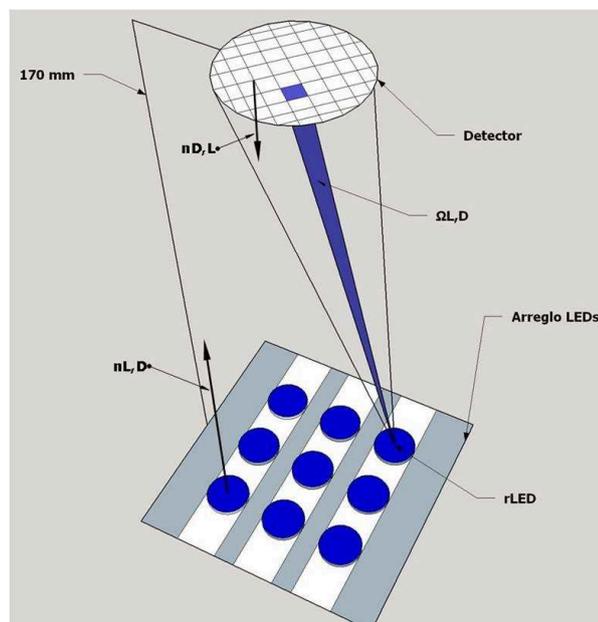


Figura 2.3: Esquema del dispositivo de medición de la densidad de flujo de fotones PAR emitida por los arreglos de LEDs contruidos.

Este detector posee un % de respuesta uniforme frente a la densidad de flujo de fotones en todo el rango PAR (Fig. 2.4), por lo que registra de igual manera fotones de diferentes longitudes de onda emitidos por los arreglos de LEDs siempre que estos se encuentren dentro del rango PAR.

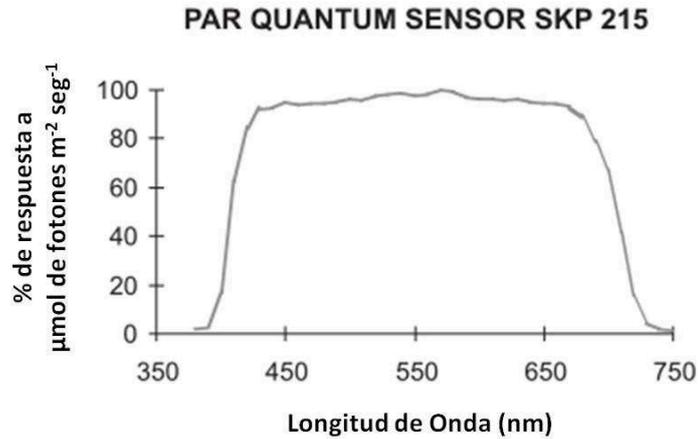


Figura 2.4: Perfil de respuesta del detector **SKYE Detector Par quantum sensor SKP 215**.

El dispositivo de medición se encuentra aislado de la luz del ambiente externo, de modo que la radiación recibida por el detector proviene exclusivamente del arreglo de LEDs colocado en su interior.

La medida obtenida a partir del sensor corresponde a la densidad de flujo de fotones que llegan a la superficie del detector desde el arreglo de LEDs. Cada uno de los LEDs intercambia fotones de diferentes λ con la superficie del detector. Este intercambio se produce en un medio no participativo, es decir que no se absorben ni dispersan fotones en el camino recorrido entre los LEDs y el detector.

A fin de poder determinar el flujo de fotones emitidos por cada LED a partir de la medición del detector debemos resolver el sistema planteado anteriormente en la ecuación (2.1):

$$dE_{\lambda}^{(1,2)}[\text{joules}] = L_{\lambda}^{(1,2)}(r_1, \hat{\Omega}_{1,2}, t) \left[\frac{\text{joules}}{s \text{ nm m}^2 \text{ sr}} \right] dt[s] d\lambda[\text{nm}] \frac{(\hat{n}_1 \cdot \hat{\Omega}_{1,2}) dA_1 [m^2] (\hat{n}_2 \cdot \hat{\Omega}_{2,1}) dA_2 [m^2]}{r_{1,2}^2 [m]^2} \quad (2.3)$$

En este caso las superficies 1 y 2 corresponden al área de emisión de los LEDs y al área del detector respectivamente. Debido a que las emisiones de los LEDs utilizados se encuentran dentro del espectro de radiación visible (400-700nm) se considerará solo la intensidad de radiación dentro de este rango, por lo que la intensidad de radiación en el espectro visible queda determinada como:

$$L_{vis}^{(L,D)} \left[\frac{joules}{s \ m^2 \ sr} \right] = \int_{400nm}^{700nm} L_{\lambda}^{(L,D)} d\lambda \quad (2.4)$$

y la fracción de energía intercambiada por un dA_L de LED y dA_D del detector en un dt puede escribirse como:

$$dE_{vis}^{(L,D)} [joules] = L_{vis}^{(L,D)} dt \frac{(\hat{n}_L \cdot \hat{\Omega}_{L,D}) dA_L (\hat{n}_D \cdot \hat{\Omega}_{D,L}) dA_D}{r_{L,D}^2} \quad (2.5)$$

Se puede expresar el $dE_{vis}^{(L,D)}$ en μmol fotones a través de la ecuación de Planck:

$$dE_{vis}^{(L,D)} [\mu\text{mol fotones}] = \frac{dE_{vis}^{(L,D)} [joule]}{h [joule \text{ seg}] \nu [seg^{-1}]} n_a [\mu\text{mol fotones}] \quad (2.6)$$

donde $n_a [\mu\text{mol fotones}] = 6.023 \times 10^{17}$; $h [joules \text{ seg}] = 6.63 \times 10^{-34}$;

$$\nu [seg^{-1}] = \frac{3 \times 10^8 [m/seg]}{\lambda [nm]} 1 \times 10^{-9} [nm/m]$$

El flujo de fotones en el espectro visible emitidos por un dA_L de LED que llega a dA_D del detector queda expresado como:

$$dQ_{vis}^{(L,D)} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{seg} \right] = \frac{dE_{vis}^{(L,D)}}{dt} = L_{vis}^{(L,D)} \frac{(\hat{n}_L \cdot \hat{\Omega}_{L,D}) dA_L (\hat{n}_D \cdot \hat{\Omega}_{D,L}) dA_D}{r_{L,D}^2} \quad (2.7)$$

A partir de la expresión (2.7) se puede plantear la densidad de flujo de fotones total que llegan al detector desde el arreglo de LEDs como:

$$q_{vis}^{(L,D)} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg } m^2} \right] = \frac{\int_{A_D} dQ_{vis}^{(L,D)}}{\int_{A_D} dA_D} = \frac{L_{vis}^{(L,D)}}{A_D} \int_{A_D} \int_{A_L} \frac{(\hat{n}_L \cdot \hat{\Omega}_{L,D})(\hat{n}_D \cdot \hat{\Omega}_{D,L})}{r_{L,D}^2} dA_L dA_D \quad (2.8)$$

De esta manera con el valor de la determinación experimental $q_{vis}^{(L,D)}$ se puede determinar la densidad de flujo de fotones emitidos por el arreglo de LEDs de acuerdo a:

$$L_{vis}^{(L,D)} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg } m^2 \text{ sr}} \right] = \frac{q_{vis}^{(L,D)} A_D}{\int_{A_D} \int_{A_L} \frac{(\hat{n}_L \cdot \hat{\Omega}_{L,D})(\hat{n}_D \cdot \hat{\Omega}_{D,L})}{r_{L,D}^2} dA_L dA_D} \quad (2.9)$$

Para la resolución de la ecuación (2.9) se desarrolló un algoritmo de cálculo en la plataforma Force 2.0 utilizando un lenguaje de programación Fortran 90. En este algoritmo se dividió la superficie total del detector en cuadrados de 0.5mm x 0.5mm y se consideró la superficie de cada LED como una unidad de emisión. De esta forma la ecuación (2.9) puede reescribirse de la siguiente manera:

$$L_{vis}^{(L,D)} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg LED sr}} \right] = \frac{q_{vis}^{(L,D)} A_D}{A_L \sum_{\Delta A_D} \frac{(\hat{n}_L \cdot \hat{\Omega}_{L,D})(\hat{n}_D \cdot \hat{\Omega}_{D,L})}{r_{L,D}^2} \Delta A_D} \quad (2.10)$$

El algoritmo consiste en una serie de pasos secuenciales que permiten considerar todos los intercambios existentes entre cada LED de la placa y cada fracción de área del detector.

Primero se procede a la determinación de las coordenadas exactas de cada uno de los LEDs (r_{Ln}) sobre la placa (Fig.2.2) considerando el sistema de coordenadas mostrado en la Tabla 2.

Coordenadas (mm)	Número de LED								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$r_{Ln}(x)$	-17	-17	-17	0	0	0	17	17	17
$r_{Ln}(y)$	-10	0	10	-10	0	10	-10	0	10
$r_{Ln}(z)$	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 2.1: Coordenadas de cada uno de los LEDs en la placa construida.

Por otro lado también se debe definir la posición del centro del detector en el sistema:

$$r_D(x) = 0; r_D(y) = 0; r_D(z) = 170 \text{ mm} \quad (2.11)$$

y cada una de las posiciones generadas en el mallado del detector. De esta manera

se definen todas las posiciones r_{D_n} :

$$r_{D_n}(x) = -17 + (n \cdot dx); r_{D_n}(y) = -10 + (n \cdot dy); r_{D_n}(z) = 170 \text{ mm} \quad (2.12)$$

Donde dx y dy son el módulo de las subdivisiones realizadas en detector (0.5mm) hasta cubrir toda la superficie del mismo y n es un número entero entre 1 y el número total de divisiones en x y en y (que es igual a 20). En este punto cabe destacar que durante la subdivisión del detector se generan posiciones que se encuentran por fuera del detector (Fig. 2.5), por lo que estas posiciones son descartadas para el cálculo de la transferencia entre los LEDs y el detector.

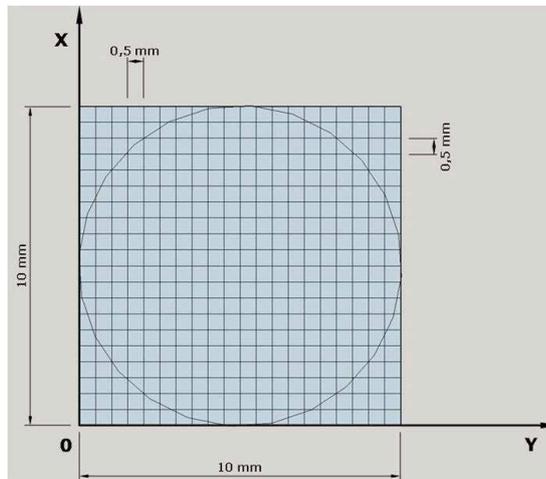


Figura 2.5: División del área del detector utilizada en el algoritmo de cálculo para la determinación del flujo de fotones emitidos por cada LED.

Luego se definen los vectores normales unitarios a los LEDs y al detector:

$$\hat{n}_L(x) = 0; \hat{n}_L(y) = 0; \hat{n}_L(z) = 1 \quad (2.13)$$

$$\hat{n}_D(x) = 0; \hat{n}_D(y) = 0; \hat{n}_D(z) = -1 \quad (2.14)$$

Todos los LEDs comparten el mismo vector normal unitario \hat{n}_L ya que los mismos se encuentran sobre la misma superficie.

La secuencia comienza con la selección del primero de los LEDs y el cálculo del vector $r_{L,D}$ que une el LED con cada una de las posiciones del mallado dentro del detector

$$r_{L,Dn}(x) = r_{Dn}(x) - r_L(x); r_{L,Dn}(y) = r_{Dn}(y) - r_L(y); r_{L,Dn}(z) = r_{Dn}(z) - r_L(z) \quad (2.15)$$

Luego se deben determinar los vectores direccionales unitarios $\hat{\Omega}_{L,D}$ y $\hat{\Omega}_{D,L}$ que unen el LED con cada una de las posiciones sobre el detector:

$$\hat{\Omega}_{L,Dn}(x) = \frac{r_{L,Dn}(x)}{|r_{L,Dn}|}; \hat{\Omega}_{L,Dn}(y) = \frac{r_{L,Dn}(y)}{|r_{L,Dn}|}; \hat{\Omega}_{L,Dn}(z) = \frac{r_{L,Dn}(z)}{|r_{L,Dn}|} \quad (2.16)$$

$$\hat{\Omega}_{Dn,L}(x) = -\hat{\Omega}_{L,Dn}(x); \hat{\Omega}_{Dn,L}(y) = -\hat{\Omega}_{L,Dn}(y); \hat{\Omega}_{Dn,L}(z) = -\hat{\Omega}_{L,Dn}(z) \quad (2.17)$$

Con todos los vectores definidos, se procede al cálculo del término $\frac{(\hat{n}_L \cdot \hat{\Omega}_{L,Dn})(\hat{n}_D \cdot \hat{\Omega}_{Dn,L})}{r_{L,Dn}^2} \Delta A_D$ de la ecuación (2.10) para cada ΔA_D . Luego se debe repetir este proceso de la misma manera para cada uno de los LEDs montados en la placa.

Una vez considerados los intercambios entre cada LED y cada fracción de la superficie del detector obtenemos $\sum_{\Delta A_D} \frac{(\hat{n}_L \cdot \hat{\Omega}_{L,Dn})(\hat{n}_{Dn} \cdot \hat{\Omega}_{Dn,L})}{r_{L,Dn}^2} \Delta A_D$ y junto con la medición experimental realizada con el detector ($q_{vis}^{(L,D)}$) el algoritmo puede calcular el flujo de fotones emitidos por cada uno de los LEDs.

Sin embargo, como se observa en la ecuación (2.10), el valor de flujo se encuentra expresado en función de la dirección de emisión $\left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg LED sr}} \right]$, por lo que para obtener la

densidad de flujo expresado en unidades de $\left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg LED}} \right]$ se debe integrar el resultado

con respecto al ángulo sólido de emisión.

$$L_{\text{vis}}^{(L,D)} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg LED sr}} \right] = \frac{q_{\text{vis}}^{(L,D)} A_D}{A_L \sum_{\Delta A_D} \frac{(\hat{n}_L \cdot \hat{\Omega}_{L,D})(\hat{n}_D \cdot \hat{\Omega}_{D,L})}{r_{L,D}^2} \Delta A_D} \quad (2.18)$$

$$L_{\text{vis}}^{(L,D)} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg LED}} \right] = \int_1^0 \int_0^{2\pi} \frac{q_{\text{vis}}^{(L,D)} A_D}{A_L \sum_{\Delta A_D} \frac{(\hat{n}_L \cdot \hat{\Omega}_{L,D})(\hat{n}_D \cdot \hat{\Omega}_{D,L})}{r_{L,D}^2} \Delta A_D} \mu d\phi d\mu \quad (2.19)$$

Donde $\mu = \cos\theta$

$$L_{\text{vis}}^{(L,D)} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg LED}} \right] = 2\pi \int_1^0 \frac{q_{\text{vis}}^{(L,D)} A_D}{A_L \sum_{\Delta A_D} \frac{(\hat{n}_L \cdot \hat{\Omega}_{L,D})(\hat{n}_D \cdot \hat{\Omega}_{D,L})}{r_{L,D}^2} \Delta A_D} \mu d\mu \quad (2.20)$$

$$L_{\text{vis}}^{(L,D)} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg LED}} \right] = 2\pi \frac{q_{\text{vis}}^{(L,D)} A_D}{A_L \sum_{\Delta A_D} \frac{(\hat{n}_L \cdot \hat{\Omega}_{L,D})(\hat{n}_D \cdot \hat{\Omega}_{D,L})}{r_{L,D}^2} \Delta A_D} \frac{\mu^2}{2} \Big|_1^0 \quad (2.21)$$

$$L_{\text{vis}}^{(L,D)} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg LED}} \right] = \pi \frac{q_{\text{vis}}^{(L,D)} A_D}{A_L \sum_{\Delta A_D} \frac{(\hat{n}_L \cdot \hat{\Omega}_{L,D})(\hat{n}_D \cdot \hat{\Omega}_{D,L})}{r_{L,D}^2} \Delta A_D} \quad (2.22)$$

Los resultados obtenidos a partir de las mediciones realizadas con el detector

$\left(q_{\text{vis}} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg m}^2} \right] \right)$ y con el algoritmo desarrollado $\left(L_{\text{vis}}^{(L,D)} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg LED}} \right] \right)$ están escritos en la

Tabla 2.2.

	Tipo de LED					
	SMD 5060				SMD 3528	
	Azul	Rojo	Verde	Amarillo	Azul	Rojo
$q_{ve} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg } m^2} \right]$	10.6	6.0	5.2	1.2	3.3	2.2
$J_{\text{Azul}}^{(L,D)} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg LED}} \right]$	10.83×10^{-2}	5.31×10^{-2}	6.13×10^{-2}	1.12×10^{-2}	3.29×10^{-2}	2.40×10^{-2}

Tabla 2.2. Medidas experimentales de la densidad de flujo de fotones medidos por el detector SKYE Detector Par quantum sensor SKP 215. Y valores de la densidad de flujo de fotones emitidos por cada tipo de LED determinados a partir del algoritmo de cálculo desarrollado.

3. Distribución angular de los fotones emitidos por los LEDs

La distribución del campo de energía radiante en el interior de un FBR con microalgas depende de las características del cultivo (concentración de biomasa, contenido de pigmentos tamaño de las células, etc.) pero también depende en gran medida de la forma en la cual la radiación alcanza la superficie del cultivo. De esta manera, es fundamental determinar la distribución angular de emisión de los LEDs para poder conocer la distribución de direcciones de los fotones emitidos por los LEDs cuando alcanzan el cultivo y poder posteriormente conocer o predecir la distribución del campo radiante en el interior de reactor.

La distribución angular de los fotones emitidos por los LEDs fue determinada en un dispositivo diseñado y construido *ad hoc*. Este módulo consiste en un soporte plano donde se colocan las mismas construcciones de LEDs realizadas para la determinación de la emisión del flujo de fotones emitidos y un cabezal con centro en el soporte de las placas capaz de rotar 360° alrededor del eje que pasa por el centro del mismo. A su vez, este cabezal posee un soporte para colocar el mismo detector utilizado anteriormente siendo capaz de colocarse en diferentes posiciones angulares respecto al centro de la placa desde una posición perpendicular a la misma a una adyacente como se encuentra esquematizado en la Fig.3.1.

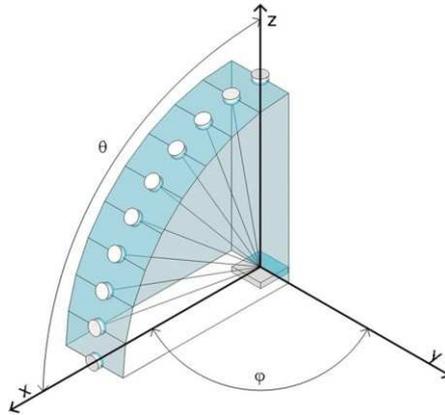


Figura 3.1: Esquema del dispositivo utilizado para la determinación de la distribución angular de los fotones emitidos por los arreglos de LEDs. En el centro del eje de coordenadas se sitúan los arreglos de LEDs y en los diferentes ángulos θ se posiciona el detector. El dispositivo puede ser rotado sobre el eje z para tomar las medidas para diferentes ángulos φ .

Como todos los LEDs utilizados se encuentran contruidos de la misma manera, se consideró que la distribución de emisión angular de fotones es la misma en todos los casos. De esta forma se realizaron las determinaciones para un solo arreglo de LEDs. En la figura 3.2 se muestra la medida de la densidad del flujo de fotones recibidos por el detector en diferentes posiciones de φ (ángulo medido en el plano xy del sistema de que se muestra en la figura 3.1) normalizadas en función del máximo valor registrado (correspondiente a la posición perpendicular del detector frente al arreglo de LEDs, $\theta=0^\circ$). Cada una de las curvas corresponde a las mediciones del detector situado en diferentes ángulos θ y variando el ángulo φ entre 0° y 360° cada 10° .

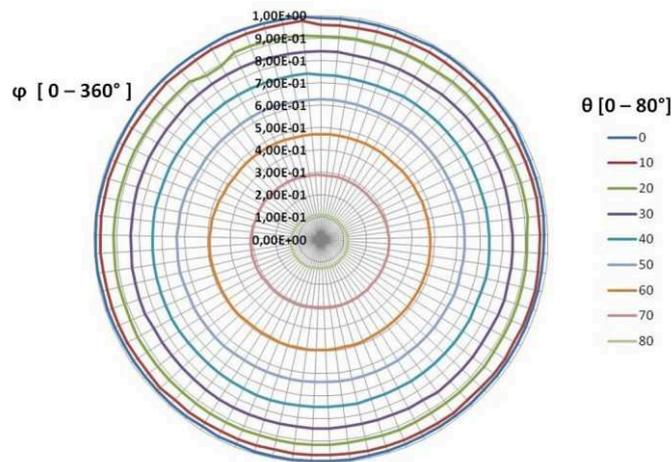


Figura 3.2: Medidas de densidad de flujo de fotones registradas con el detector *SKYE Par quantum sensor* emitidos por el arreglo de LEDs a una distancia fija de 170 mm. Cada línea corresponde a las medidas del

detector colocado en un ángulo θ y barriendo el ángulo φ entre 0° y 360° , frente al arreglo de LEDs. Las medidas se encuentran normalizadas en base al máximo valor registrado, correspondiente a la posición perpendicular del detector al arreglo de LEDs ($\theta=0^\circ$).

Como se observa en la Fig.3.2 las medidas de densidad de flujo en función del ángulo φ son constantes en cada ángulo θ , pero disminuyen a medida que aumentamos el valor de θ . La forma en la cual disminuye el valor de la densidad de flujo es proporcional al valor del coseno de θ como podemos observar en la Fig.3.3, donde se muestran las mediciones registradas en diferentes ángulos θ manteniendo fijo el valor del ángulo φ .

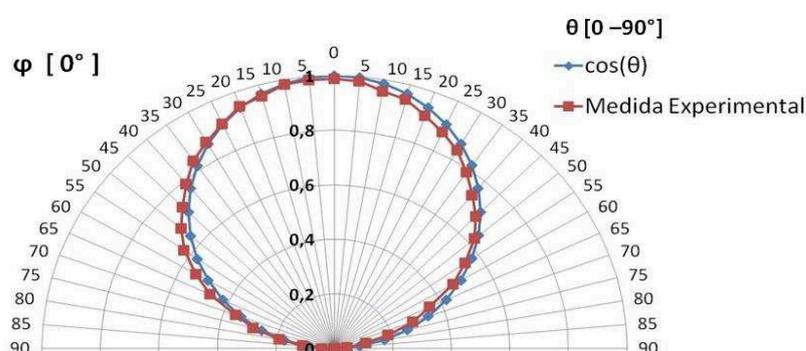


Figura 3.3. En rojo se muestran medidas de densidad de flujo de fotones registradas con el detector **SKYE Par quantum sensor** emitidos por el arreglo de LEDs a una distancia fija de 170 mm. Cada punto corresponde a la medida del detector colocado en diferentes ángulos θ para un ángulo φ constante ($\varphi=0^\circ$), frente al arreglo de LEDs. Las medidas se encuentran normalizadas en base al máximo valor registrado, correspondiente a la posición perpendicular del detector al arreglo de LEDs ($\theta=0^\circ$). En azul se muestran los valores del $\cos(\theta)$ para los mismos ángulos medidos experimentalmente.

Con la información obtenida de las medidas experimentales realizadas, se puede definir la distribución angular de los fotones emitidos por los LEDs. Por un lado, φ puede tomar valores entre $0 \leq \varphi \leq 2\pi$, siendo todos ellos igualmente probables; mientras que θ puede tomar valores entre $0 \leq \theta \leq \pi/2$ donde la distribución de emisión de los mismos está definida de acuerdo al $\cos(\theta)$. De manera que las funciones de probabilidad para cada uno de los ángulos quedan definidas de acuerdo a:

$$P(\varphi) = \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} d\varphi = 1 \quad (3.1)$$

$$P(\theta) = \int_0^{\pi/2} d \cos \theta = -\int_1^0 d\mu = 1 \quad (3.2)$$

4. Distribución espectral de los fotones emitidos por los LEDs

La información obtenida en la sección 2, permite obtener la información del número de fotones PAR emitidos por cada LED por unidad de tiempo $\left(L_{vis} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg}} \right] \right)$. Sin embargo, no confiere información acerca de la distribución espectral del flujo de fotones emitido por cada tipo de LED debido a que el perfil de respuesta del detector **SKYE Detector Par quantum sensor SKP 215** no permite discriminar entre los fotones recibidos (Fig.2.4). Conocer el número de fotones emitidos en cada longitud de onda por unidad de tiempo por cada tipo de LED es muy importante debido a que fotones con diferentes longitudes de onda tendrán diferentes probabilidades de ser absorbidos por el sistema fotosintético de las microalgas, como se muestra en la Fig.4.1.

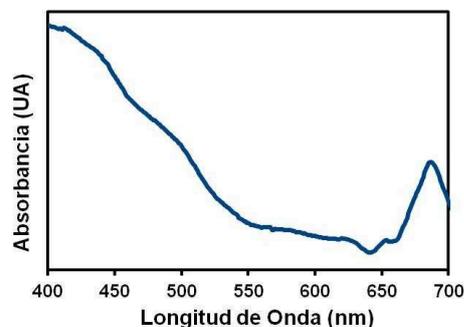


Figura 4.1. Perfil de absorción en el rango de radiación PAR de un cultivo de microalgas *Scenedesmus quadricauda* realizado con un espectrofotómetro UV-VIS CARY 100.

Debido a esto, se procedió a la determinación del perfil de distribución espectral de cada tipo de LED utilizando un espectrofotómetro de fibra óptica **Ocean Optics USB2000** (Fig.4.2). El equipo posee un juego de espejos y redes de difracción que permiten dividir el haz de fotones recibidos de acuerdo a sus longitudes de onda y ser registrados en forma

individual a través de un detector CCD. Este equipo fue colocado en el dispositivo utilizado en la sección 2 para la medición del flujo de fotones emitidos por los LEDs.

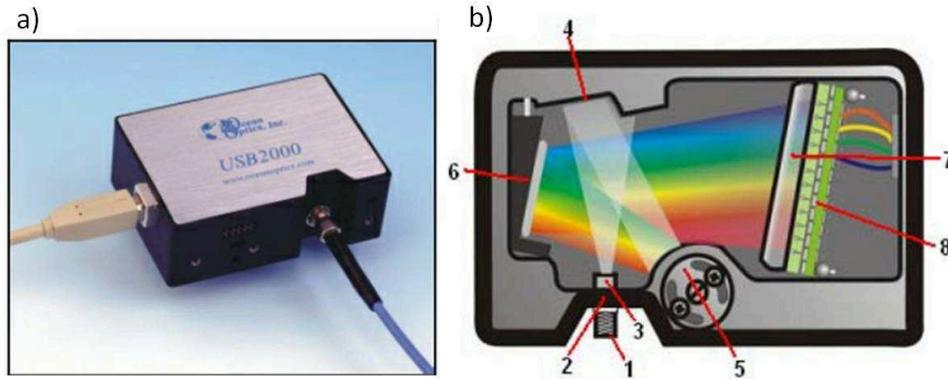


Figura 4.2: a) Espectrofotómetro de fibra óptica **Ocean Optics USB2000** (www.oceanoptics.com) utilizado para la determinación del perfil de distribución espectral de cada tipo de LED. b) esquema de funcionamiento del equipo: 1) Conector SMA: conecta la fibra óptica con el espectrómetro; 2) Slit: determina la cantidad de luz que entra al banco óptico y controla la resolución espectral; 3) Filtro: restringe el paso de la radiación en regiones de longitudes de onda pre-determinadas; 4) Espejo colimador: enfoca la luz que entra en el banco óptico hacia la red de difracción; 5) Red de difracción: difracta la luz proveniente del espejo colimador y dirige la luz difractada hacia el espejo de enfoque; 6) Espejo de enfoque: dirige la luz recibida por la red de difracción hacia detector CCD; 7) Lente colectora: una lente adherida al detector CCD que ayuda a enfocar la radiación recibida a los elementos del detector; 8) Detector CCD: colecta la luz recibida por el espejo de enfoque o por la lente colectora y la convierte en una señal digital. Cada pixel del detector responde a la longitud de onda de la luz que lo impacta creando la respuesta digital.

La respuesta medida por el equipo brinda la distribución espectral de la densidad de energía proveniente de la fuente de radiación estudiada $L_\lambda \left[\frac{\text{Joule}}{\text{m}^2 \text{ nm seg}} \right]$ recibida por el detector a través de la fibra óptica del equipo (Fig.4.3 y 4.4).

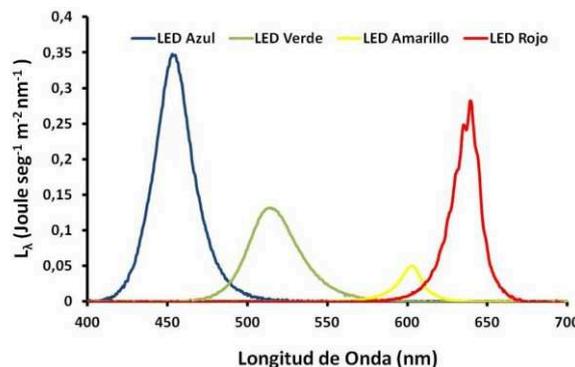


Figura 4.3: Distribución espectral de la densidad de flujo de fotones recibidos por el detector emitidos por cada tipo LED SMD 5060.

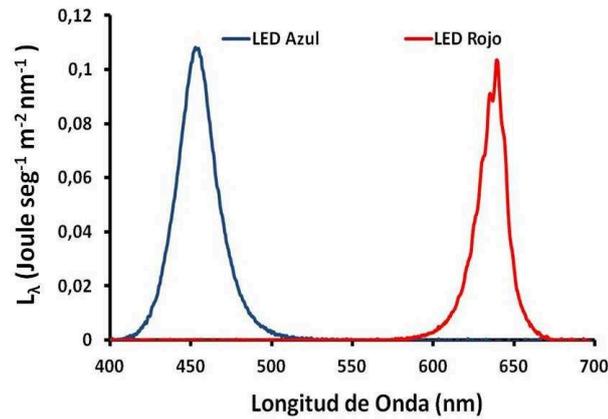


Figura 4.4: Distribución espectral de la densidad de flujo de fotones recibidos por el detector emitidos por cada tipo LED SMD 3528.

La distribución espectral de la densidad de energía registrada a través del **Ocean Optics USB2000** es directamente proporcional a distribución espectral del flujo de fotones emitidos por los LEDs.

Para obtener distribución espectral del flujo de fotones emitidos por los LEDs a partir de la respuesta del equipo, primero se debe integrar la distribución espectral la de densidad de energía medida en el rango PAR y convertir las unidades de $L_\lambda \left[\frac{\text{Joule}}{\text{m}^2 \text{ nm seg}} \right]$ a

$$L_\lambda \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{m}^2 \text{ seg}} \right]:$$

$$L_{VIS} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{m}^2 \text{ seg}} \right] = \int_{400}^{700} L_\lambda \left[\frac{\text{Joule}}{\text{m}^2 \text{ nm seg}} \right] \frac{1}{h} \left[\frac{\text{foton}}{\text{Joule seg}} \right] \frac{1}{c} \left[\frac{\text{seg}}{\text{m}} \right] \lambda [m] \frac{1}{n_a} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{foton}} \right] d\lambda \quad (4.1)$$

donde:

$$h = 6.62 \times 10^{-34} \left[\frac{\text{Joule seg}}{\text{foton}} \right]; \quad c = 3 \times 10^8 \left[\frac{\text{m}}{\text{seg}} \right]; \quad n_a = 6.023 \times 10^{17} \left[\frac{\text{foton}}{\mu\text{mol fotones}} \right];$$

$$\lambda = 1 \times 10^{-9} [m]$$

Una vez obtenido $L_{VIS} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{m}^2 \text{ seg}} \right]$, se normalizan los valores de distribución de

densidad de flujo espectral $L_\lambda \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{m}^2 \text{ nm seg}} \right]:$

$$L_{\lambda}^N \left[\frac{1}{nm} \right] = \frac{L_{\lambda} \left[\mu mol \text{ fotones} / m^2 \text{ nm seg} \right]}{L_{VIS} \left[\mu mol \text{ fotones} / m^2 \text{ seg} \right]} \quad (4.2)$$

Finalmente se correlaciona el perfil de distribución de flujo espectral normalizado con el valor de $L_{vis} \left[\frac{\mu mol \text{ fotones}}{seg \text{ LED}} \right]$ obtenido a partir de las medidas realizadas en la sección 3.1 con el **SKYE Detector Par quantum sensor SKP 215** para obtener la distribución espectral del flujo de fotones emitido por cada tipo LED:

$$L_{\lambda} \left[\frac{\mu mol \text{ fotones}}{seg \text{ LED nm}} \right] = L_{vis} \left[\frac{\mu mol \text{ fotones}}{seg \text{ LED}} \right] \cdot L_{\lambda}^N \left[\frac{1}{nm} \right] \quad (4.3)$$

En la Fig.4.5 y 4.6, se muestran los perfiles obtenidos para los LEDs SMD 5060 y SMD 3528 respectivamente

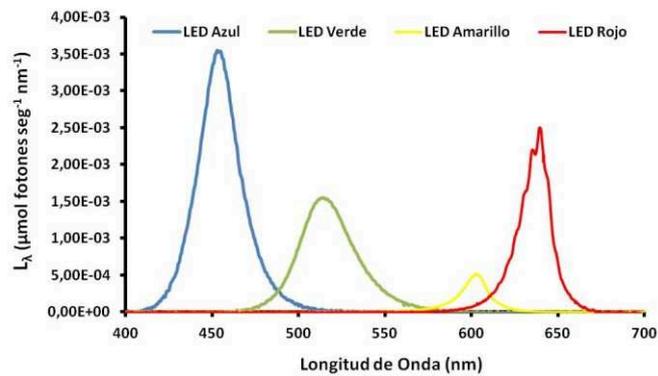


Figura 4.5: Distribución espectral del flujo de fotones emitido por cada tipo LED SMD 5060.

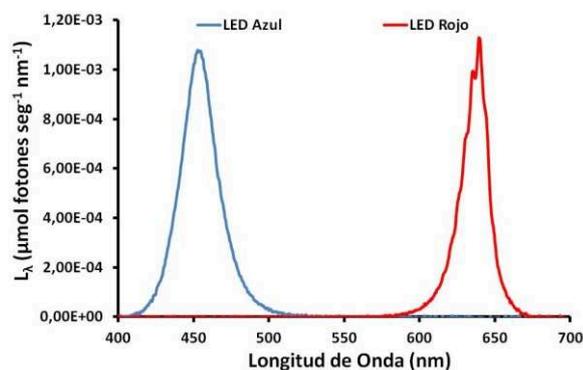


Figura 4.6: Distribución espectral del flujo de fotones emitido por cada tipo LED SMD 3528.

5. Conclusiones

En el presente capítulo, se llevó a cabo la caracterización detallada de la emisión de los LEDs que se utilizarán para irradiar los distintos cultivos de microalgas durante el presente trabajo. Los resultados obtenidos son necesarios para el modelado y predicción de la distribución del campo de energía radiante en el interior de los FBR que se llevará a cabo en los capítulos siguientes.

6. Bibliografia

- Atta M., Idris A., Bukhari A., Wahidin S. (2013). Intensity of blue LED light: a potential stimulus for biomass and lipid content in fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*. 148: 373–378.
- Pilon L.; Berberoglu H.; Kandilian R. (2011). Radiation transfer in photobiological carbon dioxide fixation and fuel production by microalgae. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*. 112(17):2639-2660.
- Yeh N., Chung J.P. (2009). High-brightness LEDs—Energy efficient lighting sources and their potential in indoor plant cultivation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 13: 2175–2180.

CAPÍTULO 3

Régimen de mezclado en el interior de los Foto-bio-reactores utilizados para el cultivo de *Scenedesmus quadricauda*

1. Introducción

El proceso de mezclado en un reactor es el resultado de la concurrencia de dos mecanismos. Uno de ellos consiste en el proceso de macro-mezclado, que involucra elementos de volumen pequeños comparados con el volumen total del medio de cultivo, pero grandes comparados con el de la celda mínima, involucrando a miles de células y al medio al que están expuestas. En el mecanismo de macro-mezclado, cada uno de estos elementos de volumen puede ser considerado como homogéneo en cuanto a la distribución de células y moléculas en su interior. Cuando estos elementos participan del flujo describiendo sus respectivas trayectorias en el espacio, retienen el material contenido sin intercambiarlo con el que portan otros elementos. El otro proceso es el de micro-mezclado, dominado por el mecanismo de intercambio de materia entre los ya caracterizados elementos de volumen adyacentes, involucrando en este intercambio a moléculas y células. El proceso está motorizado localmente por gradientes de concentración de células y de especies químicas (Levenspiel, 1999).

El mecanismo de macro-mezclado favorece al de micro-mezclado, debido a que una agitación más energética incrementa la relación entre la superficie y el volumen de los elementos que participan del flujo convectivo y turbulento, y por consiguiente, también la superficie total de contacto entre elementos de volumen vecinos.

Los cultivos de microalgas son, por lo general, sistemas que comprenden tres fases: gas (oxígeno, dióxido de carbono o aire), líquido (medio de cultivo) y sólidos suspendidos (microalgas). Por esto, una verdadera homogeneidad no puede esperarse a todos los niveles de observación. Un buen régimen de mezclado favorece a que las células permanezcan en suspensión, elimina posibles estratificaciones térmicas, permite una igual distribución de los nutrientes del medio en todo el volumen del reactor, mejora el intercambio líquido-gas favoreciendo la eliminación del O_2 y el suministro de CO_2 en los FBRs (Huang y col., 2014).

En el caso de los FBRs, la disponibilidad de luz es normalmente el factor controlante de la producción de biomasa. La intensidad de luz decae exponencialmente a medida que nos alejamos de la superficie donde incide la radiación, especialmente cuando nos encontramos en cultivos con una alta densidad celular. Las células situadas en la cercanía de la pared del reactor se encuentran expuestas a una alta densidad de flujo de fotones pudiendo quedar expuestas a una posible foto-inhibición, mientras que aquellas que se sitúen en las zonas más alejadas se hayan expuestas a muy bajas densidades de flujo (“zonas oscuras”) pudiendo sufrir una foto-limitación (Luo y col., 2002). De esta manera, un buen régimen de mezclado favorecería que las células estén expuestas a un perfil de radiación “más homogéneo” durante el cultivo entrando y saliendo de estas diferentes zonas del reactor con una mayor frecuencia.

En este capítulo se desarrollará un análisis acerca del régimen de mezclado dentro de los FBRs utilizados para la propagación de microalgas a partir de la realización de ensayos de estímulo-respuesta. El objetivo es determinar si el mezclado en el interior de los reactores puede aproximarse a un régimen de mezcla perfecta a fin de simplificar el posterior análisis de los cultivos de microalgas y la obtención de una cinética intrínseca de propagación celular.

2. Materiales y Métodos

2.1 Análisis de Distribución de Tiempos de Residencia en Reactores Reales

Si consideramos un reactor y asumimos que tenemos igual posibilidad de acceso a cualquiera de los elementos de volumen que integran el total de la corriente de salida del mismo, y seríamos capaces de tomar un elemento de volumen al azar en dicha corriente, el elemento elegido habrá permanecido en el reactor un lapso comprendido entre t y $t + dt$. La probabilidad asociada a este evento, puede escribirse de la siguiente manera:

$$dF = E(t)dt \quad (2.1)$$

donde $E(t)$ es la función de distribución de tiempos de residencia de los diferentes elementos de volumen que integran la corriente de salida.

Si repitiéramos este proceso un número suficiente de veces, considerando los intervalos de tiempo posibles ($0 < t < \infty$), obtendríamos la siguiente condición de normalización:

$$F(\infty) - F(0) = \int_0^{\infty} E(t) dt = 1 \quad (2.2)$$

que expresa el hecho que la fracción de elementos con edades en el intervalo ($0 < t < \infty$) coincide con la totalidad elementos integrantes de la corriente de salida. Además, se considera que $F(0) = 0$, ya que un elemento de volumen posee una probabilidad nula de formar parte de la corriente de salida en el instante que ingresa al reactor.

Si realizamos el mismo proceso descrito anteriormente, pero tomando elementos de volumen al azar del interior de reactor, la probabilidad correspondiente al hecho de que el elemento tomado haya permanecido un lapso comprendido entre t y $t + dt$, luego del cual puede salir del reactor o permanecer en el mismo, puede ser definida como:

$$dG(t) = I(t)dt \quad (2.3)$$

donde $I(t)$ es la función de distribución de tiempos de residencia de los elementos de volumen que se aún se encuentran dentro del reactor. Nuevamente, si repitiéramos este proceso un número suficiente de veces, considerando los intervalos de tiempo posibles ($0 < t < \infty$), obtendríamos la siguiente condición de normalización:

$$G(\infty) - G(0) = \int_0^{\infty} I(t) dt = 1 \quad (2.4)$$

que expresa el hecho que la fracción de elementos con edades en el intervalo ($0 < t < \infty$) coincide con la totalidad elementos integrantes del interior del reactor. Por otro lado, se

considera que $G(0) = 0$, ya que un elemento de volumen posee un tiempo de residencia nulo en el instante que ingresa al reactor.

Cada uno de los elementos de volumen del medio que han permanecido en el interior del reactor un lapso t , en un instante inmediatamente posterior $t + \Delta t$, puede permanecer en el medio de cultivo contenido en el bio-reactor, o formar parte de la corriente de salida del mismo, siendo estas dos posibilidades mutuamente excluyentes. Además, no existe otro destino posible para cada uno de estos elementos, aparte de los dos mencionados.

Es importante notar que, en ambos casos, por el simple paso del tiempo, cada elemento de volumen de edad t deja de formar parte de la población de elementos de volumen con dicha edad, para integrar la población de los elementos con edad $t + \Delta t$ en el caso de permanecer en el reactor, o integrar la corriente de salida con edad $t + \Delta t$.

Bajo la hipótesis de estado estacionario, el número total de elementos de volumen contenidos en el reactor no varía, por lo que podemos establecer el siguiente balance de elementos con edades entre t y $t + \Delta t$, respectivamente:

$$V I(t) = V I(t + \Delta t) + F \Delta t E(t + \Delta t) \quad (2.5)$$

donde V es el volumen del reactor y F es el caudal volumétrico de entrada y salida al mismo.

Reordenando la expresión anterior obtenemos:

$$\frac{V}{F} \left[\frac{I(t + \Delta t) - I(t)}{\Delta t} \right] + E(t + \Delta t) = 0 \quad (2.6)$$

y en el límite para $\Delta t \rightarrow 0$

$$\frac{dI(t)}{dt} + \frac{1}{t_R} E(t) = 0 \quad (2.7)$$

donde $t_R = V/F$, es el tiempo medio de residencia hidráulico del medio de cultivo en el reactor. Si integramos la ésta expresión obtenemos:

$$I(t) - I(0) + \frac{1}{t_R} \int_0^t E(t') dt' = 0 \quad (2.8)$$

Si consideramos que $I(t \rightarrow \infty) = 0$, podemos obtener $I(0)$

$$-I(0) + \frac{1}{t_R} \int_0^{\infty} E(t') dt' = 0 \quad (2.9)$$

$$I(0) = \frac{1}{t_R}$$

De modo que podemos relacionar las funciones $I(t)$, $F(t)$ y $E(t)$ de la siguiente manera:

$$I(t) = \frac{1}{t_R} \left[1 - \int_0^t E(t') dt' \right] = \frac{1}{t_R} \int_t^{\infty} E(t') dt' = \frac{1}{t_R} [1 - F(t)] \quad (2.10)$$

La función de distribución de tiempos de residencia en la corriente de salida, $E(t)$, está asociada a la probabilidad de que un elemento de volumen haya permanecido en el reactor un lapso de tiempo t (primer evento), $I(t)$, y que luego de este tiempo haya salido para formar parte de la corriente de salida en el instante inmediato (segundo evento). Por lo tanto, esta función puede ser expresada como el producto de la función de distribución del primer evento por la probabilidad condicional de que ocurra el segundo evento una vez cumplido el primero que denominaremos como $J(t)$. De esta manera

$$E(t) = I(t)J(t) \quad (2.11)$$

Y por simple deducción podemos obtener las siguientes relaciones

$$J(t) = \frac{I(t)}{E(t)} = \frac{t_R}{[1 - F(t)]} \frac{dF(t)}{dt} = -t_R \frac{d \ln [1 - F(t)]}{dt} \quad (2.12)$$

A partir de definición de $J(t)$ obtenemos:

$$\frac{dI(t)}{dt} + \frac{1}{t_R} J(t)I(t) = 0 \quad (2.13)$$

donde luego de integrar llegamos a

$$I(t) = \frac{1}{t_R} \exp \left[- \left(\frac{1}{t_R} \right) \int_0^t J(t') dt' \right] \quad (2.14)$$

2.2 Determinación de la Distribución de Tiempos de Residencia en los FBRs

En nuestro caso, los reactores utilizados presentan distintas geometrías y diferentes sistemas de mezclado. El reactor Schott es un cilindro con fondo plano, en el cual el mezclado se realiza a través del aire inyectado a través de un difusor de vidrio sinterizado y con un buzo magnético situado en la base del mismo. Por otro lado el reactor INFORS es un vaso cilíndrico con base curva, que posee un par de hélices tipo *rushton* junto con un sistema de baffles que sumado a un difusor de aire en la base del reactor llevan adelante el mezclado en el mismo.

Para determinar la calidad de la agitación en el volumen útil de los FBRs utilizados, se aproximarán ambos reactores discontinuos, a un reactor continuo tanque agitado operando en estado estacionario, pero con caudales volumétricos de alimentación y de salida tan pequeños como sea posible experimentalmente de acuerdo a las características de las bombas peristálticas disponible. Obviamente, en el límite de caudales nulos se recuperaría el reactor discontinuo. Sobre los FBRs operados bajo estas condiciones, se efectuará un experimento estímulo-respuesta aplicando un estímulo tipo escalón utilizando un cultivo concentrado de microalgas (a partir de ahora denominadas como “trazador”) y midiendo la concentración de las mismas en la corriente de salida.

En el inicio del ensayo, podemos considerar que la situación existente en el reactor discontinuo, pudo haber sido alcanzada con el reactor operado en forma continua, alimentando el reactor durante un tiempo suficientemente largo con una solución de trazador de concentración C^* , a fin de que ésta fuese la concentración inicial del trazador. A continuación, a partir de cierto instante $t = 0$ se comienza a alimentar el reactor con una corriente del mismo caudal que considerado anteriormente, pero sin trazador. De esta manera, si un elemento de volumen que participa de la corriente de salida en el instante t ,

ha permanecido en el reactor durante un lapso (tiempo de residencia) t' , ha ingresado al reactor en el instante previo $(t-t')$ portando una concentración de trazador igual a:

$$C_e(t) = C^* H(t-t) \quad (2.15)$$

donde

$$H(t) = \begin{cases} 1 & ; t > 0 \\ 0 & ; t < 0 \end{cases} \quad (2.16)$$

es la "función" escalón de Heaviside.

La ecuación (2.15) refleja el hecho de que los elementos de volumen en la corriente de salida que portan trazador, son aquéllos cuyos tiempos de residencia en el reactor, t' , son mayores que el lapso transcurrido desde el comienzo de la experiencia t , cuando se cambió la alimentación.

Por otro lado, los elementos de volumen en la corriente de salida cuyos tiempos de residencia en el reactor, t' , son mayores que el lapso transcurrido desde el comienzo de la experiencia t , ingresaron al mismo sin portar trazador. La concentración instantánea de trazador esperable a la salida del reactor será la que resulte de adjudicar una probabilidad a cada uno de las infinitas contribuciones posibles (asociadas a los infinitos valores posibles de t'); es decir:

$$C_s(t) = \int_0^{\infty} dt' E(t') C_e(t-t') = \int_0^{\infty} dt' E(t') C^* H(t'-t) = C^* \int_t^{\infty} dt' E(t') \quad (2.17)$$

Podemos definir la Función de Lavado (*Washout Function*), de la siguiente manera:

$$W(t) = \int_t^{\infty} dt' E(t') \quad (2.18)$$

la cual representa la probabilidad de que un elemento de volumen en la corriente de salida tenga un tiempo de residencia mayor a t .

Tal como mencionamos anteriormente, en nuestro caso la medida experimental es

$C_s(t)$, por lo que es conveniente reescribir la expresión anterior como

$$\frac{C_s(t)}{C^*} = \int_t^{\infty} dt' E(t') = W(t) \quad (2.19)$$

A partir de la expresión anterior, podemos obtener en el límite $t \rightarrow 0$

$$C_s(t \rightarrow 0) = C^* \int_{t \rightarrow 0}^{\infty} dt' E(t') = C^* \quad (2.20)$$

donde C^* es la concentración inicial del trazador en el tanque agitado.

Además, para cualquier tipo de estímulo se cumple lo siguiente:

$$\int_0^{\infty} dt' E(t') = \int_0^t dt' E(t') + \int_t^{\infty} dt' E(t') = \quad (2.21)$$

$$1 = F(t) + W(t)$$

Para el caso de un reactor tanque agitado continuo con mezcla perfecta, es necesario que la concentración de trazador a la salida del reactor sea la misma a del interior en cualquier instante de tiempo posterior a la inyección del trazador, por lo que:

$$C_r(t) = C_s(t) \quad (2.22)$$

donde $C_r(t)$ es la concentración de trazador en el interior del reactor en el instante t .

De esta manera, podemos seguir el mismo razonamiento realizado para obtener la expresión (2.17) y decir que la concentración instantánea de trazador esperable en el interior del reactor será la que resulte de adjudicar una probabilidad a cada uno de las infinitas contribuciones posibles (asociadas a los infinitos valores posibles de t'); es decir:

$$C_r(t) = \int_0^{\infty} dt' I(t') C_e(t-t') = \int_0^{\infty} dt' I(t') C^* H(t'-t) = C^* \int_t^{\infty} dt' I(t') \quad (2.23)$$

Ahora, a partir de las expresiones (2.17) y (2.23) podemos deducir que es necesario que $E(t) = I(t)$, lo que implica y que $J(t) = 1$. Este hecho demuestra que una perfecta

agitación se caracteriza porque cada elemento de volumen, independientemente de cuál sea su tiempo de permanencia en el reactor, tiene igual chance de acceso a cualquier lugar en el espacio ocupado por el medio, y en particular, al punto de salida de la corriente efluente.

Si reemplazamos $I(t)$ en la ecuación (2.7) llegamos a siguiente expresión válida para un reactor tanque agitado continuo con mezcla perfecta:

$$\frac{dE(t)}{dt} + \frac{1}{t_R} E(t) = 0 \quad (2.24)$$

donde luego de integrar la expresión en función de t obtenemos que:

$$E(t) = I(t) = \frac{1}{t_R} \exp^{-t/t_R} \quad (2.25)$$

Ahora, a partir de la expresión anterior podemos obtener la expresión para $W(t)$ válida para un reactor tanque agitado continuo bajo mezcla perfecta reemplazando $E(t)$ en la ecuación (2.18),:

$$W(t) = \int_t^{\infty} \frac{1}{t_R} \exp^{-t'/t_R} dt' = \quad (2.26)$$

$$W(t) = \exp^{-t/t_R}$$

En resumen, se realizaron ensayos para cada FBR donde los mismos fueron llenados con un volumen conocido de trazador (cultivo de microalgas) con una concentración C^* . A partir de un instante $t = 0$, se alimentó a los reactores con una corriente de agua destilada pura, cuyo caudal fue suficientemente pequeño comparado con el volumen de la solución de trazador contenida en los reactores, de modo de no perturbar el régimen de mezclado al que los mismos fueron sometidos. Al mismo tiempo, se recogió una corriente de salida de igual caudal, cuya concentración de trazador, $C_s(t)$, en función del tiempo t transcurrido desde el inicio de la experiencia, se determinó a través de la

absorbancia de la misma a 540nm (explicado en capítulo 6). En la figura 2.1 se muestra un esquema del ensayo.

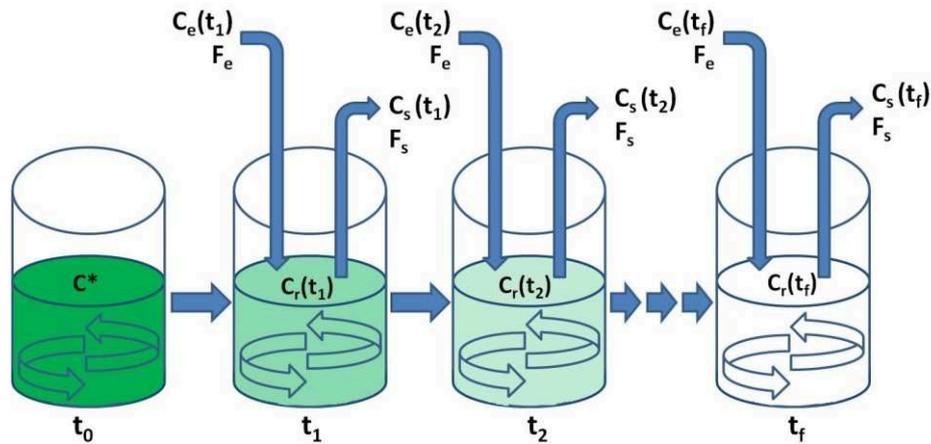


Figura 2.1: diagrama del ensayo estímulo-respuesta para la determinación de los tiempos de residencia. En t_0 la concentración dentro del reactor es igual a C^* . A partir de ese instante se comienza la alimentación de una corriente de entrada (F_e) sin trazador (C_e es siempre igual a cero) y se recoge una corriente de salida (F_s) igual a la de entrada cuya concentración (C_s) va cambiando en el tiempo hasta “lavar” completamente el reactor en t_f donde C_s es igual a cero.

Luego con de los valores de $C_s(t)$ medidos en cada experiencia de determinaron las funciones $E(t), F(t), I(t), J(t)$ y $W(t)$ para uno de los reactores bajo sus correspondientes condiciones de mezclado.

Las condiciones de trabajo para cada reactor durante los ensayos fueron las siguientes:

- **Reactor Schott**: Para el caso de este reactor, se realizó el ensayo bajo las mismas condiciones de agitación (30% de la escala de velocidad arbitraria del agitador magnético) y aireación (0.8 L/min) utilizadas posteriormente para la realización de los cultivos de microalgas. El volumen del cultivo utilizado fue de 2 litros con una concentración aproximada de 150 mg/L de biomasa (0.7 unidades de DO a 540nm). El caudal de entrada y salida fue de 45 mL/min durante todo el ensayo.
- **Reactor Labfors3 de Infors-HT**: Para el caso de este reactor, se realizó el ensayo bajo las mismas condiciones de agitación (150 rpm) y aireación (1.8 L/min) utilizadas posteriormente para la realización de los cultivos de microalgas. El volumen del

cultivo utilizado fue de 3 litros con una concentración aproximada de 150 mg/L de biomasa (0.7 unidades de DO a 540nm). El caudal de entrada y salida fue de 120 mL/min durante todo el ensayo.

3. Resultados y Discusión

En las figuras 3.1 y 3.2 se muestran las funciones $E(t)$, $F(t)$, $I(t)$, $J(t)$ y $W(t)$ obtenidas con los datos experimentales (puntos azules). En las gráficas se muestran también las funciones obtenidas para las condiciones de trabajo bajo un régimen de mezcla perfecta ideal (línea continua roja).

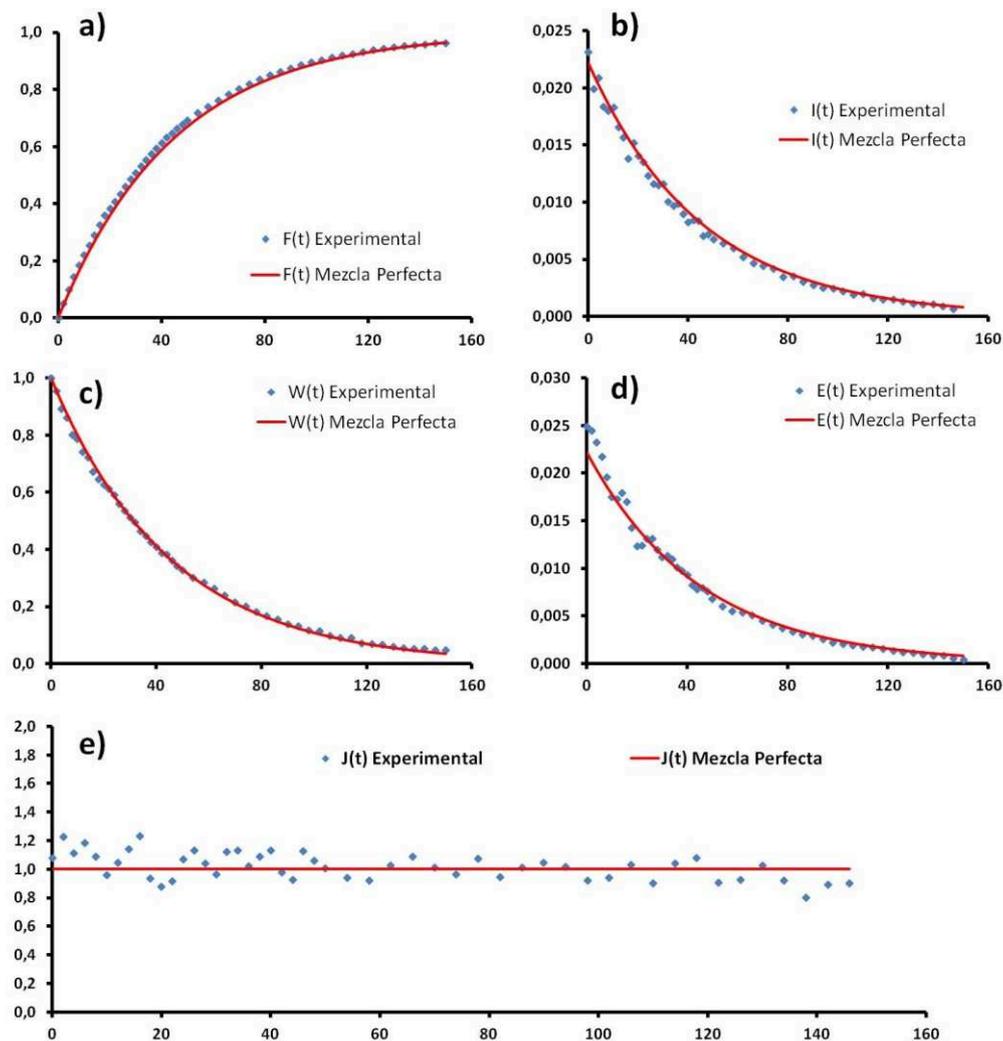


Figura 3.1: Funciones de distribución $F(t)$ (a), $I(t)$ (b), $W(t)$ (c), $E(t)$ (d) y $J(t)$ (e) obtenidas para el ensayo de estímulo-respuesta utilizando un trazador en el reactor Schott de 2 litros de volumen. La línea continua roja

indica las funciones esperadas para el sistema operando bajo una mezcla perfecta ideal y los puntos azules indican los resultados obtenidos a partir de los datos experimentales.

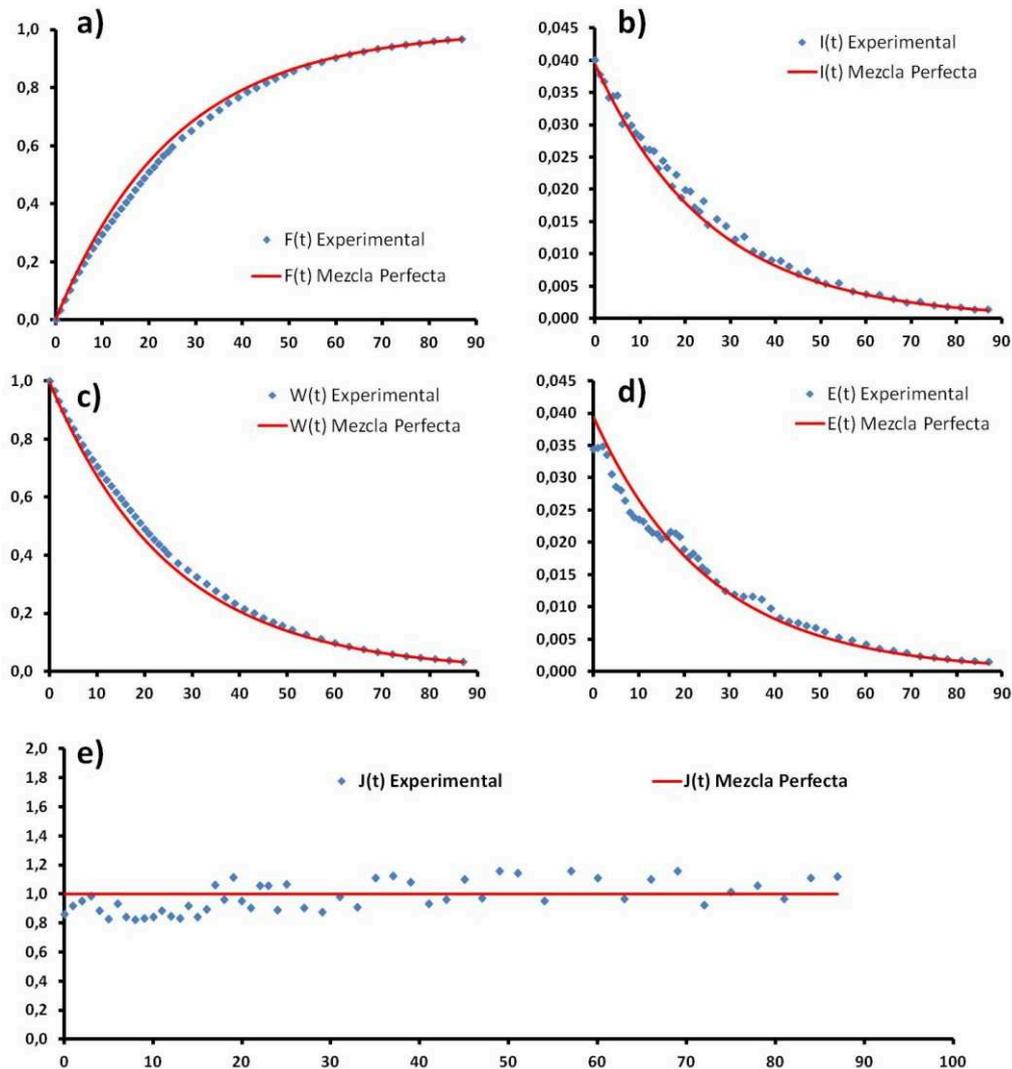


Figura 3.2: Funciones de distribución $F(t)$ (a), $I(t)$ (b), $W(t)$ (c), $E(t)$ (d) y $J(t)$ (e) obtenidas para el ensayo de estímulo-respuesta utilizando un trazador en el Bio-reactor Labfors3 de Infors-HT de 3 litros de volumen. La línea continua roja indica las funciones esperadas para el sistema operando bajo una mezcla perfecta ideal y los puntos azules indican los resultados obtenidos a partir de los datos experimentales.

En las figuras 3.1 y 3.2 se puede observar cómo, a pesar de leves desviaciones debidas posiblemente a errores en las medidas experimentales o a oscilaciones en los caudales de las bombas utilizadas, la respuesta obtenida a partir del estímulo con el trazador se aproxima a la respuesta de esperada para un mezclado perfecto ideal en ambos reactores. De esta manera, se considera que es posible aproximar el régimen de mezclado dentro de los reactores a un régimen de mezcla perfecta ideal.

4. Conclusiones

A partir del análisis de la distribución de los tiempos de residencia de un trazador (suspensión de microalgas) fue posible evaluar la eficacia del régimen de mezclado en los FBR utilizados para la realización de los cultivos de microalgas. En ambos reactores, se observó que el mezclado puede aproximarse en forma correcta a un régimen de mezcla perfecta ideal.

Este resultado obtenido en el presente capítulo es fundamental para simplificar el posterior análisis de los cultivos de microalgas, ya que a partir de un régimen de mezclado perfecto es posible considerar que no existen gradientes de temperatura, diferencias en la concentración de nutrientes (a excepción de la luz) o en la transferencia de gas-líquido en los diferentes puntos del reactor.

5. Bibliografía

- Huang J., Li Y., Wan M., Yan Y., Feng F., Qu X., Wang J., Shen G., Li W., Fan J., Wang W. (2014). Novel flat-plate photobioreactors for microalgae cultivation with special mixers to promote mixing along the light gradient. *Bioresource Technology* 159: 8–16.
- Levenspiel O. (1999). Basics of Non-Ideal Flow. En: *Chemical Reaction Engineering*. Third Edition. (Ed.: Levenspiel O.) John Wiley & Sons. New York. USA. p: 257-282.
- Luo H. P., Kemouna A., Al-Dahhana M. H., Fernández Sevilla J. M., García Sánchez J. L., García Camacho F., Molina Grima E. (2003). Analysis of photobioreactors for culturing high-value microalgae and cyanobacteria via an advanced diagnostic technique: CARPT. *Chemical Engineering Science*. 58: 2519 – 2527.

CAPÍTULO 4

Fenómenos de Transferencia Líquido - Gas

1. Introducción

Diversos estudios reportados acerca del cultivo de microalgas han demostrado la potencialidad de convertir los lípidos e hidratos de carbono producidos por la fijación del CO₂ en biodiesel y bioetanol, incrementando la atención muchos grupos de investigación alrededor del mundo sobre estos microorganismos (Lam y col., 2012).

Los microalgas crecen 100 veces más rápido que las plantas terrestres, teniendo una eficiencia de conversión de energía solar en energía química de 10 a 50 veces mayor (Lam y col., 2012). Las mismas contienen en su estructura cerca de un 50% de carbono, por lo que la producción de una tonelada de biomasa necesitaría un total de 1.83 toneladas de CO₂. La eficiencia de fijación de CO₂ por parte de las microalgas, genera que la provisión de dicho gas a gran escala sea un aspecto muy importante en el costo global del proceso. Se ha reportado que el costo de la provisión de CO₂ puede llegar a representar desde el 8% al 27% del costo de producción de las microalgas (Li y col., 2013).

Las microalgas poseen un mecanismo de concentración de CO₂ a fin de poder mejorar la asimilación del carbono debido a la capacidad del CO₂ de difundir libremente a través de las membranas celulares y a la baja afinidad de la RuBisCO por el CO₂. Este mecanismo consiste en el transporte a través de las membranas hacia el interior de las células del carbono en forma de HCO₃⁻. De esta manera, se logra una acumulación interna de HCO₃⁻ que luego a través de la anhidrasa carbónica es convertido nuevamente a CO₂ para poder ser asimilado por la RuBisCO (Moroney y Somanchi, 1999).

Cuando el CO₂ se disuelve en agua, se producen una serie de reacciones químicas que comprenden los siguientes equilibrios:





Las velocidades de las reacciones (1.2) y (1.3) son muy superiores a la velocidad de la reacción (1.1), lo cual resulta en que esta última sea el paso limitante del sistema (Hill, 2006).

Se han reportado diversos estudios en los que el incremento en la concentración de CO₂ (del 1 al 15%) en la corriente gaseosa en comparación con el aire puro (0,04% de CO₂) resultaron en una mayor productividad de microalgas en períodos más cortos de tiempo. Sin embargo, no ocurre lo mismo con todas las especies, ya que algunas se muestran más sensibles a un aumento en la concentración de CO₂ pudiendo ser inhibidas, como es el caso de *Chlorella sp.* que es inhibida con concentraciones mayores al 2% de CO₂. Este hecho puede deberse a que la disminución del pH por el aumento de la concentración de CO₂ podría inhibir la actividad de la anhidrasa carbónica de las microalgas (Lam y col., 2012).

Otro componente factor que influye sobre el crecimiento de las microalgas es el O₂. Este componente es uno de los productos generados durante la fotosíntesis, cuando una molécula de agua es oxidada en la primera etapa para obtener poder reductor (NADPH) y energía química (ATP) (Heldt, 2005). Cuando el oxígeno se acumula en el medio de cultivo, se ven favorecidos los fenómenos de foto-inhibición y foto-respiración, llevando a una disminución del rendimiento de biomasa por energía de luz.

La foto-inhibición ocurre principalmente en condiciones de intensidades de luz muy elevadas, donde se produce un exceso de electrones en el fotosistema II (PSII) los cuales reaccionan con el oxígeno producido por la fotosíntesis dando lugar a la formación de radicales oxígeno que son muy dañinos para las células. Sumado a esto, el exceso de luz estimula la formación del estado singlete del oxígeno, que también provoca daños en los fotosistemas de las algas (Sydney y col., 2014).

La foto-respiración está asociada con la actividad oxigenasa de la enzima Rubisco. La acumulación de O₂ lleva a un incremento en la relación O₂/CO₂, y en consecuencia a

una reducción de la actividad carboxilasa e incremento de la actividad oxigenasa de la RuBisCO. Durante la foto-respiración se pierden CO_2 y NH_4^+ , y su reincorporación requiere de ATP y NADPH adicionales, lo que lleva a una disminución del rendimiento de biomasa por energía de luz absorbida (Sydney y col., 2014). Estos procesos hacen que sea necesaria la remoción del O_2 producido durante la fotosíntesis a medida que el cultivo crece a fin de evitar la inhibición de su desarrollo.

A fin de poder llevar a cabo un correcto estudio acerca del crecimiento de microalgas es importante conocer los fenómenos de transferencia gas-líquido presentes en los FBRs y su dependencia con las condiciones operativas de los mismos, a fin de determinar la posible influencia del CO_2 y el O_2 sobre el crecimiento de las mismas.

En el presente capítulo, se llevarán a cabo la determinación del coeficiente de transferencia de materia gas-líquido ($k_{L,a}$) para el CO_2 y para el O_2 en los FBRs utilizados. Este parámetro es de gran importancia para el diseño y modelado de reactores.

2. Materiales y Métodos

2.1 Modelo de transferencia Gas-Líquido

La transferencia de materia gas-líquido será modelada a través de la teoría de la doble película introducida por Whitman (Nielsen y col., 2003), donde el flujo de un componente A a través de una película (del gas o del líquido) es descrita como el producto de la diferencia de concentración de dicho componente a través de la película (fuerza impulsora) por un coeficiente de transferencia de materia.

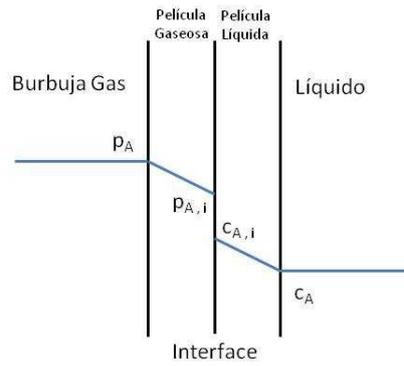


Figura 2.1: Modelo de la doble película. p_A es la presión parcial del componente A en la burbuja de gas; $p_{A,i}$ y $c_{A,i}$ son la presión parcial y la concentración del componente A en la interface respectivamente; c_A es la concentración del componente A en el medio líquido.

De esta manera, como se muestra en la figura 2.1, la concentración de un componente A a cada lado de la interface gas-líquido pueden relacionarse a través de la Ley de Henry:

$$p_{A,i} = H_A c_{A,i} \quad (2.1)$$

donde H_A es la constante de Henry para el componente A y $p_{A,i}$ y $c_{A,i}$ son la presión parcial y la concentración del componente A en la interface respectivamente

El flujo del componente A (J_A) a través de cada una de las películas se describe como el producto de una fuerza impulsora (diferencia entre las concentraciones del componente A a través de la interface) y un coeficiente de transferencia de materia. Entonces el flujo de A a través de las películas está dado 'por:

$$J_{A,g} = k_g (p_A - p_{A,i}) \quad (2.2)$$

$$J_{A,l} = k_l (c_{A,i} - c_A) \quad (2.3)$$

Debido a que las concentraciones interfaciales no son directamente medibles, normalmente se determina el flujo global del componente considerado desde la burbuja de gas a la fase líquida como un coeficiente de transferencia de materia global (K_l) por la fuerza impulsora en la fase líquida:

$$J_A = K_l (c_A^* - c_A) \quad (2.4)$$

donde c_A^* es la concentración de saturación del componente A en el seno del líquido para la fase gaseosa:

$$c_A^* = \frac{1}{H_A} p_A \quad (2.5)$$

Considerando una condición de estado estacionario, donde $J_{A,g} = J_{A,l} = J_A$, podemos escribir que:

$$k_g (p_A - p_{A,i}) = k_l (c_{A,i} - c_A) = K_l (c_A^* - c_A) \quad (2.6)$$

Utilizando las ecuaciones (2.1) y (2.5) podemos obtener la siguiente expresión:

$$\frac{1}{K_l} = \frac{1}{k_g H_A} + \frac{1}{k_l} \quad (2.7)$$

Si consideramos que $k_g \gg$ para el caso de gases como el oxígeno y el dióxido de carbono, podemos considerar que la resistencia de la fase gaseosa es despreciable, por lo que coeficiente de transferencia de materia global (K_l) es aproximadamente igual al coeficiente de transferencia de materia en la película líquida (k_l).

Luego para poder determinar la velocidad de transferencia de materia por unidad de volumen del reactor para el componente A (q_A), debemos multiplicar el flujo global J_A por el área interfásica gas-líquido por unidad de volumen (a):

$$q_A = J_A a = k_l a (c_A^* - c_A) \quad (2.8)$$

El producto entre el coeficiente de transferencia de materia líquido (k_l) y el área interfásica específica (a) es llamado coeficiente de transferencia de materia volumétrico ($k_L a$).

2.2 Determinación del coeficiente de transferencia de materia volumétrico para el oxígeno en el interior de los FBRs a través del Método Dinámico

Uno de los métodos más utilizados y aceptados para la determinación del $k_L a$ para el oxígeno es el método dinámico (Fig.2.2) (Mendoza y col., 2013).

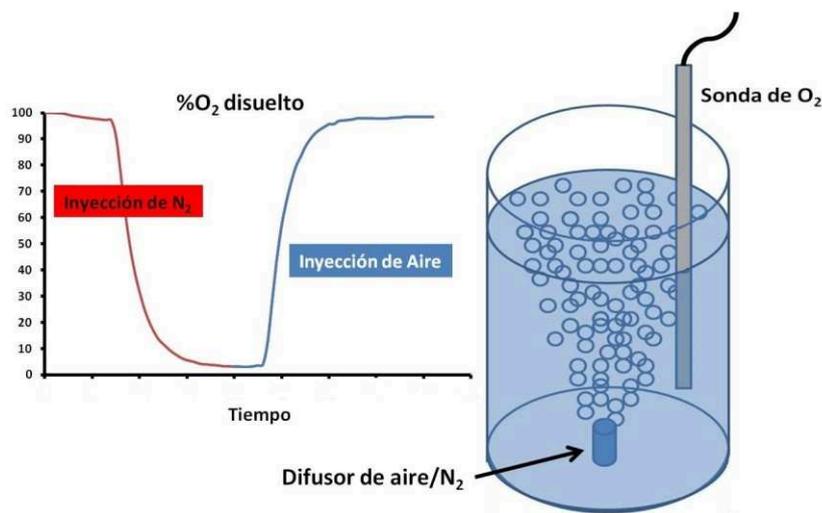


Figura 2.2: Diagrama del método dinámico para la determinación del $k_L a$ del O_2 en un reactor, en el cual se mide la evolución del O_2 disuelto en el medio, durante su remoción con una corriente de N_2 y durante su reposición con aire puro o enriquecido con O_2 .

Este método se realiza en dos etapas sucesivas. En una primera instancia, se hace burbujear una corriente de un gas inerte, como nitrógeno, hasta llevar a cero la concentración de oxígeno disuelto en el medio. En dicho momento, se detiene el burbujeo del gas inerte y se comienza a burbujear la corriente de gas con el oxígeno hasta que se alcanza el equilibrio en el medio con la corriente gaseosa. Se asume entonces que la variación del oxígeno disuelto en el medio a lo largo del tiempo, tanto en la etapa de remoción del O_2 disuelto como de en la de reposición del mismo (en nuestro caso se optó por considerar solo la etapa de restitución del O_2 disuelto), es función del $k_L a$ de acuerdo a:

$$\frac{dC_{O_2}}{dt} = k_L a (C_{O_2}^* - C_{O_2}) \quad (2.10)$$

donde $C_{O_2}^*$ es la concentración de saturación de O_2 en la fase líquida en equilibrio con la fase gaseosa (que en nuestro caso será el aire) de acuerdo a ecuación (2.5), y C_{O_2} es la concentración de O_2 disuelto en la fase líquida.

De esta manera, se planteó la realización de una serie de determinaciones de k_La para ambos FBRs bajo diferentes temperaturas y caudales de aireación, de acuerdo a los posibles rangos de valores a utilizar durante los cultivos de microalgas.

Reactor	Temperatura	Caudal de aireación		
		0.2 vvm*	0.4 vvm*	0.6 vvm*
Schott (2 litros)	25°C	0.4 L/min	0.8 L/min	1.2 L/min
	28°C	0.4 L/min	0.8 L/min	1.2 L/min
	31°C	0.4 L/min	0.8 L/min	1.2 L/min
Infors (3 litros)	25°C	0.6 L/min	1.2 L/min	1.8 L/min
	28°C	0.6 L/min	1.2 L/min	1.8 L/min
	31°C	0.6 L/min	1.2 L/min	1.8 L/min

Tabla 2.1: Condiciones de temperatura y aireación utilizadas para la determinación del valor del k_La en los FBRs utilizados para el cultivo de microalgas (*vvm significa volúmenes de gas inyectado por volumen de medio por minuto)

Es bien conocido que la adición de sales, como el NaCl, reducen la velocidad de coalescencia de las burbujas en los medios, que a su vez, resulta en la reducción de tamaño de las burbujas y en un incremento en los valores de k_La en comparación con los medidos en agua pura. Sin embargo, estudios previos (Kordac y Linek, 2008) han mostrado que los valores de k_La , en los rangos de trabajo planteados de temperatura y aireación, prácticamente no varían en medios de salinidades de hasta el 2.85% de NaCl, en comparación de los resultados obtenidos utilizando agua destilada.

Debido a que la composición del medio BBM posee una salinidad mucho menor a este porcentaje (Tabla 2.1 del capítulo 1), los ensayos para la determinación de k_La en los FBR se realizarán utilizando agua destilada, ya que las constantes de difusión, viscosidad y de solubilidad de los gases en el medio BBM deberían ser determinadas para cada temperatura ensayada, mientras que para el agua pura las mismas se encuentran tabuladas en la bibliografía.

De esta manera, se procedió al llenado de los reactores con los volúmenes indicados de agua destilada y a estabilizar la temperatura indicada en cada caso. Luego se procedió al “barrido” del O₂ disuelto con una corriente de N₂ hasta alcanzar una concentración cercana al 0%. A partir de allí se restituyó la corriente de aire de acuerdo al caudal indicado en cada caso, registrando el aumento del porcentaje de O₂ disuelto en el tiempo hasta que el mismo alcanzara una concentración estable.

A partir de la ecuación (2.10), luego de un pequeño reordenamiento e integrar en el intervalo de trabajo, recordando que $C_{O_2} = 0$ al comienzo del ensayo, obtenemos que:

$$\ln\left(1 - \frac{C_{O_2}}{C_{O_2}^*}\right) = -k_L a t \quad (2.11)$$

De esta manera, graficando $\ln\left(1 - \frac{C_{O_2}}{C_{O_2}^*}\right)$ en función del tiempo, podemos obtener el valor de $k_L a$ a partir de la inversa de la pendiente de la gráfica.

Sin embargo, antes del procesamiento evaluar la evolución del O₂ disuelto en el medio, es necesario considerar previamente el desempeño del sensor que utilizemos para la realización del ensayo.

El tiempo de respuesta (τ) de un sensor de O₂ puede ser definido como el tiempo necesario para alcanzar el 63% del valor de la señal final esperada cuando el sensor es sometido a un cambio brusco de concentración de O₂ (Van't Riet, 1979). De esta manera, si τ se encuentra en el mismo orden que el valor de $1/k_L a$ de nuestro sistema, la desviación introducida por el tiempo de respuesta del sensor debe ser considerada.

Con este fin, se procederá a la determinar previamente el τ del sensor utilizado (InPro® 6800 de METTLER TOLEDO) en base a la metodología descrita por García-Ochoa y Gomez, 2009. Así, en primera instancia se colocó el sensor de O₂ en un medio saturado de O₂ (100% de acuerdo a la medida del sensor) dejando estabilizar su lectura durante unos minutos, y se la transfirió rápidamente a una solución de sulfito de sodio 2

molar (concentración de O₂ disuelto igual a 0%) midiendo el tiempo necesario hasta que la concentración de O₂ disuelto medida alcanzara el 63% de la respuesta final esperada (37% de O₂ disuelto), tomando este valor de tiempo como el τ del sensor utilizado.

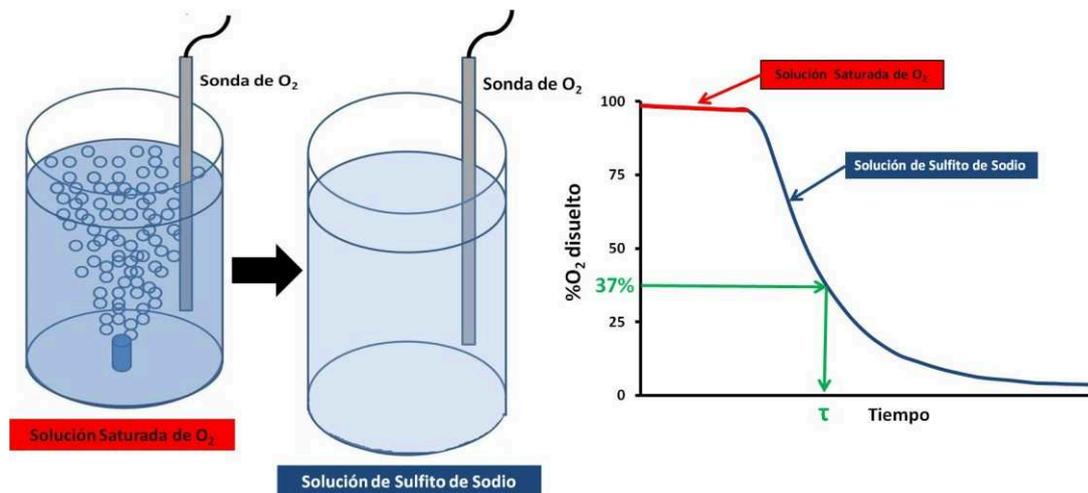


Figura 2.3: esquema del método utilizado para la determinación del tiempo de respuesta (τ) del sensor de O₂ InPro® 6800 de METTLER TOLEDO.

Una vez determinado el coeficiente, se lo relacionará con un valor de $k_L a$ obtenido a partir de la expresión (2.11) para alguna de las experiencias realizadas (se estima que los valores de $k_L a$ serán todos del mismo orden). Si ocurre que $10 \tau < 1/k_L a$, el error introducido por el tiempo de respuesta del sensor será despreciado y se procederá al cálculo de todos los $k_L a$ de acuerdo a la expresión (2.11). En el caso contrario, esta desviación deberá ser considerada. Para este caso, se ha propuesto que la respuesta del sensor en función del tiempo puede corregirse a través de (Godbole y col., 1984):

$$\frac{dC_{O_2 \text{ sensor}}}{dt} = \frac{(C_{O_2 \text{ medio}} - C_{O_2 \text{ sensor}})}{\tau} \quad (2.12)$$

De esta manera, se combinan las ecuaciones (2.11) y (2.12) a fin de obtener una expresión de $k_L a$ que contemple la desviación introducida por el τ del sensor.

Reordenando la ecuación (2.12) y multiplicando ambos miembros por $\exp^{t/\tau}$, podemos obtener que:

$$\exp^{t/\tau} \left(\frac{dC_{O_2\,sensor}}{dt} + \frac{C_{O_2\,sensor}}{\tau} \right) = \exp^{t/\tau} \frac{C_{O_2\,medio}}{\tau} \quad (2.13)$$

La ecuación anterior, ahora podría reescribirse como:

$$\frac{dC_{O_2\,sensor} \exp^{t/\tau}}{dt} = \exp^{t/\tau} \frac{C_{O_2\,medio}}{\tau} \quad (2.14)$$

donde luego de integrar obtenemos:

$$C_{O_2\,sensor}(t) \exp^{t/\tau} - C_{O_2\,sensor}(t \rightarrow 0) = \int_0^t \exp^{t'/\tau} \frac{C_{O_2\,medio}}{\tau} dt' \quad (2.15)$$

Despejado C_{O_2} (a partir de ahora $C_{O_2\,medio}$) de la ecuación (2.11) y se reemplaza en (2.15) se obtiene:

$$C_{O_2\,sensor}(t) \exp^{t/\tau} = \int_0^t \exp^{t'/\tau} \frac{C_{O_2}^* (1 - \exp^{-k_L a t'})}{\tau} dt' \quad (2.16)$$

donde luego de integrar y realizar una serie de pasos algebraicos se obtiene la siguiente expresión:

$$C_{O_2\,sensor}(t) = C_{O_2}^* \left[1 - \exp^{-t/\tau} - \frac{\exp^{-k_L a t} - \exp^{-t/\tau}}{(1 - \tau k_L a)} \right] \quad (2.17)$$

que es la expresión que relaciona la medida experimental del de O_2 disuelto con el $k_L a$ considerando el tiempo de respuesta del sensor de O_2 . Es fácil observar en la expresión (2.17) que en el límite en que $\tau \rightarrow 0$ (donde la respuesta del sensor no tendría retardo), se vuelve a recuperar la expresión (2.11).

2.3 Determinación del coeficiente de transferencia de materia volumétrico para el dióxido de carbono en el interior de los FBRs

Diversos estudios (Langley y col., 2012; Doucha y col., 2005; Talbot y col., 1991) han mostrado que el valor de $k_L a(CO_2)$ puede ser determinado en forma correcta a partir del $k_L a(O_2)$ a través una relación entre las constantes de difusión de los mismos en el medio de acuerdo a:

$$k_L a(CO_2) = k_L a(O_2) \left(\frac{D_{CO_2}}{D_{O_2}} \right)^{0.5} \quad (2.18)$$

Esta relación se basa en la asunción que el coeficiente de transferencia de materia para un componente es proporcional a su coeficiente de difusión (D), lo cual es razonable si se considera que la teoría de la doble capa puede ser aplicada al sistema. De esta manera, a partir de los valores de $k_L a(O_2)$ junto con la ecuación (2.18) se determinarán los valores de $k_L a(CO_2)$ para las diferentes condiciones ensayadas en ambos FBRs.

3. Resultados y Discusión

3.1 Determinación del coeficiente de transferencia de materia volumétrico para el oxígeno en el interior de los FBRs a través del Método Dinámico

En primera instancia, se procedió a la comparación del valor de $k_L a$ para una de las condiciones ensayadas a fin de verificar la posible influencia del tiempo de respuesta del sensor sobre las determinaciones experimentales. De esta manera, se determinó el $k_L a$ en el reactor Schott para el caudal de aireación de 0.4 L/min a 25°C de acuerdo a la expresión (2.11). En la figura 3.1 se observa de la pendiente de la recta, que el valor de $k_L a$ es igual a 0.216 min⁻¹ para el reactor en esta condición.

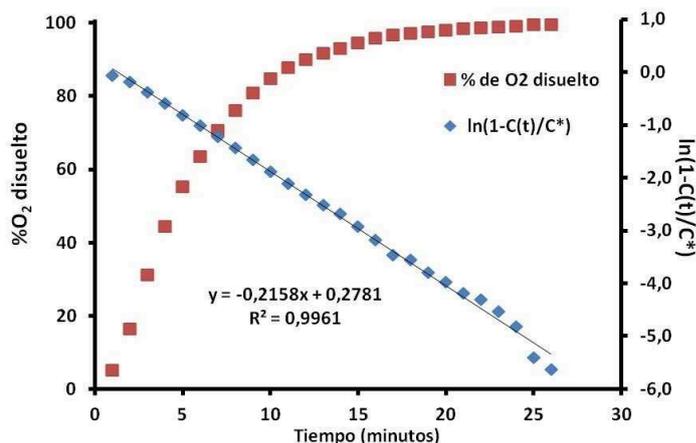


Figura 3.1: ■ evolución del O₂ disuelto en el tiempo en el reactor Schott para el caudal de aireación de 0.4 L/min a 25°C. ◆ relación $\ln(1-C(t)/C^*)$ para la determinación del $k_L a$.

Por otro lado, la determinación de τ para el sensor de O₂ tuvo como resultado un valor igual a 0.58 minutos. De esta manera, se observa que $1/k_L a = 4.6 \text{ min}$ lo implica que

$1/k_L a < 10 \tau$, por lo que se debe proceder a la determinación de los valores de $k_L a(O_2)$ a través de la expresión (2.17).

Para este fin se desarrollará un programa computacional basado en un algoritmo genético simple (AG) a fin de obtener los valores de las constantes $k_L a(O_2)$ para cada una de las condiciones de caudal de aireación y temperatura propuestas en la Tabla 2.1.

Los AG son métodos evolutivos que pueden utilizarse para la resolución de diversos problemas de búsqueda y optimización (Rezende y col., 2008). Están basados en el proceso genético de los organismos vivos, en el cual a través de sucesivas generaciones, las poblaciones van evolucionando de acuerdo a los principios de la selección natural y la supervivencia de los más individuos más fuertes y mejor adaptados. Por imitación de este proceso, los AG son capaces de lograr soluciones para problemas del mundo real.

El mecanismo de estos algoritmos actúa de acuerdo a la generación de una población de individuos, donde cada uno de ellos representa una posible solución al problema dado, asignándoles a cada uno de ellos una puntuación o grado de "adaptación" relacionado a la bondad de dicha solución. De esta manera, cuanto mejor adaptado se

encuentre un individuo más chances tendrá de ser seleccionado para reproducirse con otro individuo y originar las próximas generaciones de individuos. Estos nuevos descendientes, mantendrán ciertas características de sus padres, por lo que las características favorables se irán propagando en el tiempo a lo largo de las sucesivas generaciones. Si el AG ha sido bien codificado, la población convergerá hacia una solución óptima del problema.

La ventaja de los AG radica en su robustez, ya que son capaces de ser utilizados para la resolución de una gran variedad de problemas de diferentes áreas. Si bien no se garantiza que el AG encuentre la solución óptima del problema, logra obtener soluciones de un nivel aceptable, en un tiempo competitivo frente a otros algoritmos de optimización.

En la Fig.3.2 se muestra un esquema de un AG simple.

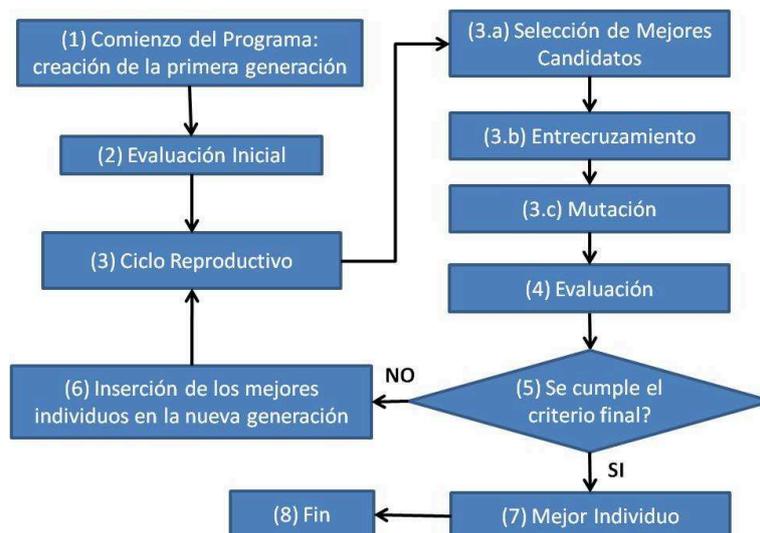


Figura 3.2: diagrama de bloque de un algoritmo genético simple.

El conjunto de parámetros a optimizar representando un cromosoma particular se denomina fenotipo y posee toda la información necesaria para construir un organismo. La función de adaptación debe ser diseñada para cada problema de manera particular, de manera de reflejar la adaptación al problema del individuo representado por el cromosoma. Durante el ciclo reproductivo se seleccionan los individuos de la población para cruzarse y producir descendientes que formarán parte de la siguiente generación. La selección de los padres se realiza al azar pero de manera de favorecer aquellos individuos mejor adaptados.

Una vez seleccionados, los cromosomas de los padres se combinan normalmente a través proceso de cruce y mutación. En el primero de los casos (Fig.3.3), se cortan los cromosomas de ambos padres en una posición al azar y se intercambian las fracciones obtenidas entre ambos produciéndose dos nuevos cromosomas.

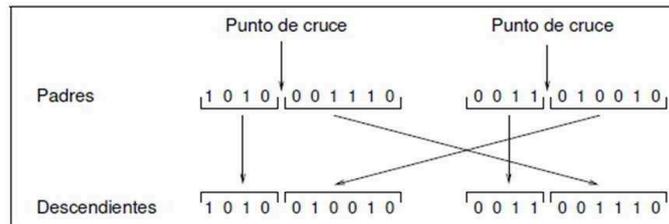


Figura 3.3: Diagrama del entrecruzamiento de dos individuos para dar origen a dos nuevos descendientes que portan características de ambos predecesores durante el ciclo reproductivo.

El otro proceso denominado mutación (Fig.3.4), se aplica a cada descendiente en forma individual, y consiste en la alteración aleatoria de cada gen componente de un cromosoma, donde la probabilidad de alteración normalmente es baja.

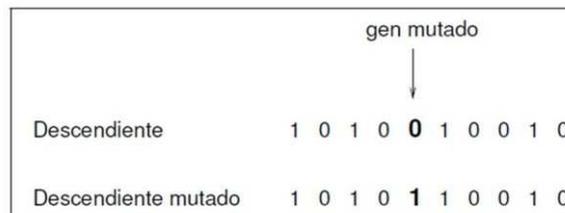


Figura 3.4: Diagrama de la mutación de un gen dentro del cromosoma de un individuo de una población durante el ciclo reproductivo.

A través de este proceso, la población evolucionará a lo largo de las generaciones sucesivas de tal manera que la adaptación del mejor individuo se irá incrementando hacia el óptimo global. En general, se dice que un gen ha convergido cuando al menos el 95% de los individuos de la población comparten el mismo valor para dicho gen.

En el presente caso el método de evaluación para la selección de los mejores individuos de las diferentes poblaciones (constantes $k_L a(O_2)$ para cada una de las condiciones) aplicado en el AG será llevado a cabo de la siguiente manera:

- Las poblaciones estarán compuestas por individuos que representarán los potenciales valores de $k_L a$.
- Los potenciales valores de $k_L a$ son introducidos en la ec.(2.17) para reproducir los valores de $C_{O_2}(t)_{ajuste}$ que conforman la curva de restitución del oxígeno disuelto en la fase líquida bajo cada una de las condiciones estudiadas.
- A partir de los valores de $C_{O_2}(t)_{ajuste}$ se propone la siguiente función de adaptación que evaluará los diferentes individuos de las poblaciones:

$$f_{Error} = \sum_{t_i}^{t_f} |C_{O_2}(t)_{exp} - C_{O_2}(t)_{ajuste}| \quad (3.1)$$

de manera que los individuos de la población que generen la serie de valores $C_{O_2}(t)_{ajuste}$ que presenten las menores desviaciones frente a los valores de $C_{O_2}(t)_{exp}$ para cada una de las curvas de restitución del oxígeno disuelto en las condiciones estudiadas (menor valor f_{Error}), serán favorecidos en la selección de los candidatos para ser promovidos a la próxima generación y volver a comenzar el ciclo reproductivo descrito anteriormente.

Luego de un número suficiente de generaciones (condición de salida), el programa converge (o no, dependiendo del caso) hacia una solución del sistema, seleccionando el mejor individuo (valor de $k_L a(O_2)$ para cada condición) dando por finalizado el programa.

En la Fig.3.5 se muestran (a modo de ejemplo ya que en el resto de las temperaturas y para todos los caudales los resultados fueron idénticos) la evolución en el tiempo de los valores de O_2 disuelto experimentales y los obtenidos a partir del ajuste de la ecuación (2.17), considerando el tiempo de respuesta del sensor de O_2 disuelto medido anteriormente y los valores $k_L a(O_2)$ obtenidos a partir de la aplicación del AG, para los tres caudales de aireación probados a 31°C para el reactor Schott (a) y en reactor Infors (b).

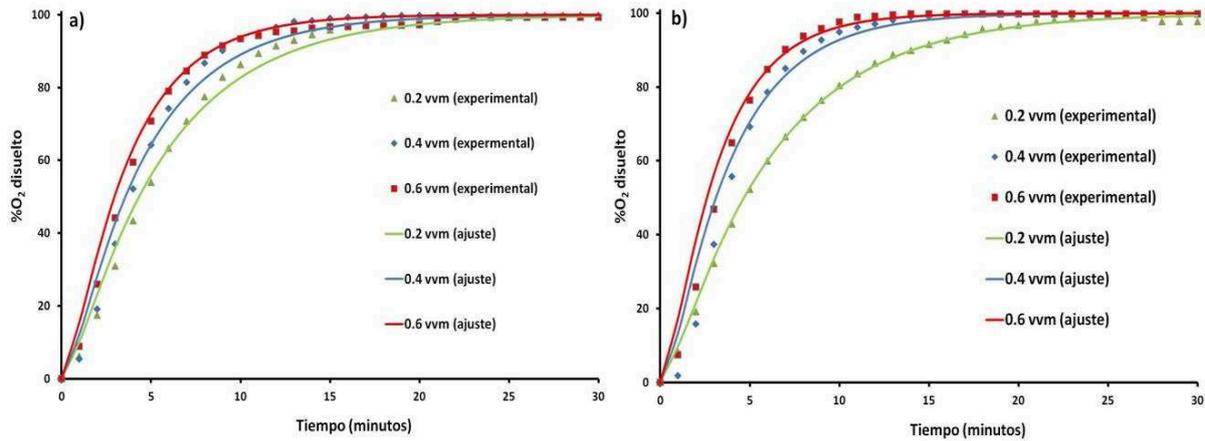


Figura 3.5: Perfiles de la evolución del O_2 disuelto en los FBRs a $31^\circ C$ bajo diferentes caudales de aireación. Los puntos representan los valores de los datos experimentales y las líneas continuas los valores los obtenidos a partir del ajuste de la ecuación (2.17), considerando el tiempo de respuesta del sensor de O_2 disuelto medido anteriormente y los valores $k_L a(O_2)$ obtenidos a partir de la aplicación del AG. a) son los perfiles obtenidos en el reactor Schott y b) son los perfiles obtenidos en el reactor Infors.

Se observa en ambos reactores como el aumento del caudal de aireación aumenta la velocidad de reposición del oxígeno en el medio. En todos los casos se evidencia la buena precisión del ajuste logrado a través del programa de optimización basado en el AG.

En la Tabla 3.1, se muestran ahora los valores de $k_L a(O_2)$ obtenidos para cada condición a través de la metodología desarrollada.

Reactor Schott			Reactor INFORS		
T($^\circ C$)	Caudal aire (vvm)	$k_L a$ (min-1)	T($^\circ C$)	Caudal aire (vvm)	$k_L a$ (min-1)
25	0.2	0.167	25	0.2	0.137
25	0.4	0.232	25	0.4	0.249
25	0.6	0.299	25	0.6	0.354
28	0.2	0.167	28	0.2	0.153
28	0.4	0.232	28	0.4	0.281
28	0.6	0.299	28	0.6	0.354
31	0.2	0.187	31	0.2	0.172
31	0.4	0.237	31	0.4	0.281
31	0.6	0.299	31	0.6	0.354

Tabla 3.1: Valores de $k_L a(O_2)$ para las diferentes condiciones de temperatura y caudal de aire indicadas para los reactores Schott e Infors.

Se puede observar como los valores de $k_L a(O_2)$ aumentan linealmente al hacerlo el caudal de aireación utilizado, mientras que los cambios observados para un mismo

caudal y diferentes temperaturas son prácticamente iguales, lo cual es esperable debido a que el rango de temperatura evaluado es bastante acotado.

Si se comparan los resultados obtenidos entre ambos reactores, se observa que la respuesta frente a los cambios en el caudal de aireación y temperatura muestran la misma tendencia en ambos casos. Pero, a excepción del caudal más bajo donde los valores son prácticamente iguales, los valores de $k_L a(O_2)$ son un poco superiores en el reactor Infors.

3.2 Determinación del coeficiente de transferencia de materia volumétrico para el dióxido de carbono en el interior de los FBRs

A partir de los datos de la Tabla 3.1, se procedió al cálculo de los valores de $k_L a(CO_2)$ para cada una de las condiciones estudiadas en los FBRs a través de la expresión (2.18). Los coeficientes de difusión para el O_2 y CO_2 en agua fueron determinados a partir de la siguiente expresión (Perry y col., 1999):

$$\frac{D \mu}{T} = k \quad (3.2)$$

donde D es el coeficiente de difusión del gas; μ es la viscosidad del medio (agua en este caso); T es la temperatura y k es un valor constante. Los valores de k y D a 25°C para el O_2 y CO_2 fueron tomados de Perry y col., 1999; mientras que la viscosidad del agua para las diferentes temperaturas ensayadas fueron tomadas de Korson y col., 1969. Los valores obtenidos de los coeficientes fueron los siguientes:

T (°C)	Coeficiente Difusión O_2 ($m^2 s^{-1}$)	Coeficiente Difusión CO_2 ($m^2 s^{-1}$)
25	2,52E-09	1,98E-09
28	2,73E-09	2,14E-09
31	2,95E-09	2,31E-09

Tabla 3.2: Valores de los D_{CO_2} y D_{O_2} para las diferentes temperaturas de trabajo obtenidos a partir de la ecuación (3.2) y de las constantes tomadas de Perry y col., 1999 y Korson y col., 1969.

Una vez determinados los D_{CO_2} y D_{O_2} para las diferentes temperaturas de trabajo, a partir de la ecuación (2.18) y la Tabla 3.1 se determinaron los $k_L a(CO_2)$ para las diferentes condiciones de temperatura y caudal de aire indicadas para los reactores Schott e Infors en la Tabla 3.3.

Reactor Schott			Reactor INFORS		
T(°C)	Caudal aire (vvm)	$k_L a$ (min-1)	T(°C)	Caudal aire (vvm)	$k_L a$ (min-1)
25	0.2	0,147	25	0.2	0,122
25	0.4	0,202	25	0.4	0,220
25	0.6	0,265	25	0.6	0,313
28	0.2	0,147	28	0.2	0,136
28	0.4	0,202	28	0.4	0,241
28	0.6	0,265	28	0.6	0,313
31	0.2	0,166	31	0.2	0,153
31	0.4	0,210	31	0.4	0,241
31	0.6	0,265	31	0.6	0,313

Tabla 3.3: Valores de $k_L a(CO_2)$ para las diferentes condiciones de temperatura y caudal de aire indicadas para los reactores Schott e Infors.

Se puede observar cómo, lógicamente, los valores de $k_L a(CO_2)$ muestran la misma respuesta frente a los cambios en el caudal de aireación y temperatura del sistema, que la mostrada por los coeficientes del O_2 . Sin embargo, debido a la menor difusividad del CO_2 (Tabla 3.2), los valores son menores que los correspondientes para O_2 .

4. Conclusiones

En el presente capítulo se adoptó el modelo de la doble capa para modelar el intercambio de O_2 y CO_2 entre las fases líquida y gaseosa en los FBRs utilizados para el cultivo de microalgas. Se lograron determinar los coeficientes de transferencia de materia volumétrico para ambos gases, bajo diferentes condiciones de aireación y temperatura. Se pudo observar que aumento del caudal de aireación produjo un aumento lineal de los valores de $k_L a$ para ambos gases en ambos reactores, pero que los cambios de

temperatura (en los rangos estudiados) no mostraron una influencia considerable sobre los mismos.

Los resultados obtenidos servirán para evaluar posteriormente, la influencia sobre el crecimiento de las microalgas del intercambio de CO₂ y O₂ durante los cultivos realizados en los capítulos posteriores.

5. Bibliografia

- Doucha J., Straka F., Lívanský K. (2005). Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella* sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor. *Journal of Applied Phycology*. 17: 403–412
- Garcia-Ochoa F., Gomez E. (2009). Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: An overview. *Biotechnology Advances* 27: 153–176
- Godbole S.P., Shumpe A, Shah Y.T., Carr N.L. (1984) Hydrodynamics and mass transfer in non-Newtonian solutions in a bubble column. *AIChE J* 30: 213–20.
- Heldt H. W., Heldt F. (2005). Capítulo 3:” Photosynthesis is an electron transport process”. En: *Plant Biochemistry*, Elsevier Academic Press, London. Pag: 67-115.
- Hill G.A. (2006). Measurement of Overall Volumetric Mass Transfer Coefficients for Carbon Dioxide in a Well-Mixed Reactor Using a pH Probe. *Ind. Eng. Chem. Res.* 45: 5796-5800.
- Kordac M., Linek V. (2008). Dynamic Measurement of Carbon Dioxide Volumetric Mass Transfer Coefficient in a Well-Mixed Reactor Using a pH Probe: Analysis of the Salt and Supersaturation Effects. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 47: 1310-1317
- Korson L., Drost-Hansen W., Miller F.J. (1969). Viscosity of Water at Various Temperatures. *The Journal of Physical Chemistry*. 73 (1): 34-39.
- Lam M. K., Lee K. T., Mohamed A. R. (2012). Current status and challenges on microalgae-based carbon capture. *International Journal of Greenhouse Gas Control*. 10: 456–469.
- Langley N.M., Harrison S.T.L., van Hille R.P. (2012). A critical evaluation of CO₂ supplementation to algal systems by direct injection. *Biochemical Engineering Journal*. 68: 70– 75

- Li S., Luo S., Guo R. (2013). Efficiency of CO₂ fixation by microalgae in a closed raceway pond. *Bioresource Technology* 136: 267–272.
- Mendoza J. L., Granados M.R., de Godos I., Fernández A.G., Molina E., Heaven S., Banks C.J. (2013). Oxygen transfer and evolution in microalgal culture in open raceways. *Bioresource Technology* 137: 188–195.
- Moroney J.V, Somanchi A. (1999) How Do Algae Concentrate CO₂ to Increase the Efficiency of Photosynthetic Carbon Fixation?. *Plant Physiology*.119: 9–16
- Nielsen J., Villadsen J., Lidén G. (2003). Capítulo 7: “Mass Transfer”. En: *Bioreaction Engineering Principles*. Second Edition. (Eds.: Nielsen J., Villadsen J. and Lidén G.) Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York, USA. p: 423-476.
- Perry, R.H., Green, D.W., Maloney, J.O. 2-330 Physical and chemical data. En: “Perry’s Chemical Engineering Handbook”, seventh ed (1999). McGraw-Hill, New York, USA.
- Rezende M. C. A. F., Costa C. B. B., Costa A. C.; Wolf Maciel M. R., Maciel Filho, R. (2008) Optimization of a large scale industrial reactor by genetic algorithms. *Chem. Eng. Sci.* 63:330–341.
- Sousa C., de Winter L., Janssen M., Vermuë M. H., Wijffels R. H. (2012). Growth of the microalgae *Neochloris oleoabundans* at high partial oxygen pressures and sub-saturating light intensity. *Bioresource Technology* 104: 565–570.
- Sydney E. B., Novak A. C., de Carvalho J. C., Soccol C. R. (2014). *Biofuels from Algae*. Elsevier. Capítulo 4: Respirometric Balance and Carbon Fixation of Industrially Important Algae.
- Talbot P., Gortares M. P., Lencki R. W. (1991). Absorption of CO₂ in algal mass culture systems: A different characterization approach. *Biotechnology and Bioengineering*. 37(9): 834–842

- Van't Riet K. (1979) Review of measuring methods and nonviscous gas–liquid mass transfer in stirred vessels. *Industrial & Engineering Chemistry Process Design and Devevelopment*. 18: 357–64.

CAPÍTULO 5

**Propiedades ópticas y modelado del
campo radiante en el interior de un cultivo
de microalgas aplicando el método de
Monte Carlo**

1. Introducción

Los problemas asociados al modelado del crecimiento de las microalgas, radican en la complejidad de la interacción de la radiación sobre el metabolismo de las mismas y en la transferencia física de la energía radiante en el interior del medio. Resulta necesaria la simplificación de estos dos aspectos a fin de obtener modelos matemáticos que describan en forma correcta la transferencia de la energía radiante a través del interior de las suspensiones de microalgas para permitir el estudio de su crecimiento y el desarrollo de modelos para el análisis, modelado y diseño de FBRs (Jeon y col., 2005).

Los procesos de absorción y dispersión (*scattering*) provocados por las células en suspensión producen un perfil heterogéneo del campo de energía radiante en diferentes puntos del interior de un FBR. Esto afecta la disponibilidad de luz en las diferentes zonas del reactor, lo cual plantea la necesidad de la determinación de la velocidad de crecimiento de las microalgas en cada punto del mismo o la obtención de una velocidad promedio en todo el volumen del cultivo.

La teoría general de transferencia de energía radiante desarrollada por Chandrasekhar (Chandrasekhar, 1960), ha permitido el modelado de la distribución del campo de energía radiante en el interior de FBRs, considerando tanto el fenómeno de absorción como el de *scattering* presentes en estos sistemas, teniendo en cuenta los aspectos relacionados a la geometría de los reactores y a las condiciones de iluminación de los mismos (Pilon y col., 2011; Heinrich y col., 2012a; Heinrich y col., 2012b). La ecuación de transferencia radiativa plantea un balance energético de un haz de fotones a medida que avanza a través de un medio en una dirección determinada. Esta ecuación presenta una serie de coeficientes que describen la probabilidad de absorción y *scattering* de los fotones en el medio y una función de fase que representa la probabilidad que un fotón que se mueve inicialmente con una dirección $\hat{\Omega}$ sea dispersado hacia una nueva dirección $\hat{\Omega}'$. Estos parámetros deben ser determinados previamente a fin de poder resolver la ecuación

de transferencia radiativa y poder predecir la distribución del campo de energía radiante en cada punto del interior de un FBR. Sin embargo, debido a la complejidad de la ecuación de transferencia radiativa, la resolución analítica de la misma es posible solamente en sistemas muy sencillos. De esta manera, para la mayoría de los FBRs utilizados para el cultivo de microalgas es necesaria la aplicación de diversos métodos que implican simplificaciones al sistema, a fin de poder resolver la ecuación. En la literatura, se encuentran descriptos diferentes métodos de resolución para la ecuación de transferencia radiativa: la aplicación de Ley de Lambert-Beer (Pruvost y col., 2002), la aproximación de dos flujos (Cornet y col., 1995) y el método de la ordenada discreta (Berberoglu y Pilon, 2009). Los diversos métodos mencionados implican diferentes grados de simplificación del sistema, que repercuten en gran medida en el grado de aceptabilidad de los resultados obtenidos.

Una alternativa a la resolución de la ecuación de transferencia radiativa y sus inherentes complicaciones, es la simulación física de la distribución del campo de energía radiante. En este sentido, un método normalmente utilizado para la simulación del campo de energía radiante en FBRs es el de Monte Carlo (MC) (Dauchet y col., 2013; Heinrich y col., 2013). Este método emula el sistema mediante el seguimiento de los fotones a través de su trayectoria dentro de una suspensión de microalgas, hasta que es absorbido o hasta que sale del reactor. La ventaja de MC se basa en el hecho de que permite estudiar los fenómenos ópticos que ocurren dentro de los cultivos, considerando las características de la luz emitida por fuentes de radiación utilizadas y de la suspensión de microalgas sin la necesidad de introducir simplificaciones al sistema con el objetivo de poder resolverlos matemáticamente.

El objetivo del presente capítulo es el desarrollo de un modelo físico y un algoritmo de simulación computacional basado en el método de Monte Carlo capaz de predecir en forma precisa la velocidad de absorción local de fotones en cada punto del interior de un FBR irradiado con fuentes artificiales de luz (LEDs), a fin de poder ser utilizado posteriormente para el estudio de la influencia de la radiación sobre el crecimiento de las microalgas.

2. Propiedades ópticas de las suspensiones de microalgas

A diferencia de otros nutrientes tradicionales, la luz no puede ser distribuida homogéneamente dentro de todo el volumen del reactor. Esto es debido principalmente a que las microalgas absorben y dispersan la luz incidente, llevando a una disminución exponencial en la intensidad de radiación a medida que el haz de luz penetra dentro del cultivo (Csögör y col., 1999). La fracción de la radiación incidente, que es absorbida o dispersada dentro de los cultivos, depende tanto de la longitud de onda de la radiación como de la composición del medio y están representadas a través de los coeficientes de absorción y dispersión (α_λ y ξ_λ) de los cultivos.

Un método frecuentemente empleado para la determinación de los coeficientes α_λ y ξ_λ en suspensiones de micro-partículas es la medición de la Transmitancia Normal-Normal (T-NN) (Berberoglu y Pilon, 2007). La T-NN (Fig.2.1 (a)) permite calcular el coeficiente de extinción lineal β_λ , el cual representa la pérdida de energía de un haz de luz al atravesar una suspensión. Si se toman las precauciones de elegir un paso óptico lo suficientemente delgado, que el detector tenga un ángulo de aceptación lo suficientemente estrecho y se asegura que en las condiciones de medición la dispersión múltiple sea despreciable, luego el coeficiente de extinción lineal β_λ puede obtenerse a partir de:

$$\frac{L_{NN}}{L_0} = e^{-\beta_\lambda \Delta d} \quad (2.1)$$

donde L_0 es la cantidad de energía emitida por la fuente de radiación, L_{NN} es la cantidad de energía registrada por el detector, Δd es el espesor de la suspensión y β_λ representa el coeficiente de extinción lineal, el cual puede relacionarse con los coeficientes α_λ y ξ_λ a través de la Ecuación 2.2:

$$\beta_\lambda = \alpha_\lambda + \xi_\lambda \quad (2.2)$$

Por otro lado, el coeficiente α_λ puede obtenerse directamente mediante la medición de la Transmitancia Semiesférica (T-SE) (Berberoglu y Pilon, 2007). La T-SE (Fig.2.1(b)), se mide empleando una esfera integradora colocada en la cara posterior de la cubeta. Esta esfera colecta toda la energía que es transmitida a través de la suspensión, sin importar su dirección, y la redirige al detector. Debido a que las suspensiones de algas dispersan la luz principalmente hacia adelante (Heinrich y col., 2012a), la atenuación de la cantidad de energía incidente registrada mediante este procedimiento es exclusivamente producto de la absorción, por lo cual:

$$\frac{L_{SE}}{L_0} = e^{-\alpha_\lambda \Delta d} \quad (2.3)$$

En este caso, L_{SE} es proporcional a la cantidad de energía registrada por el detector, correspondiente a toda la energía radiante transmitida a través de la cubeta. Finalmente, el coeficiente ξ_λ puede obtenerse a partir de la ecuación (2.2) como:

$$\xi_\lambda = \beta_\lambda - \alpha_\lambda \quad (2.4)$$

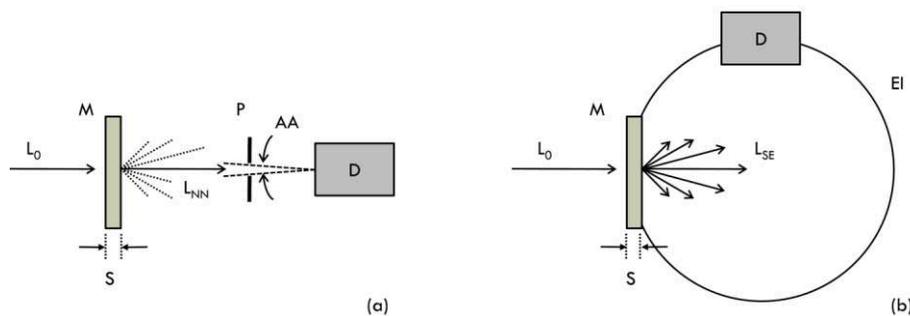


Figura 2.1: Esquema del dispositivo experimental utilizado en la determinación directa de (a) el coeficiente de extinción β_λ mediante T-NN y (b) el coeficiente absorción α_λ a partir de la T-SE. D: detector; S: espesor del paso a través de la suspensión diluida de microalgas; M: muestra; L_0 : haz de luz incidente; EI: esfera integradora; AA: ángulo de aceptación del detector; P: mirilla.

Por otro lado, la función de fase $B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}})$, caracteriza la forma en que la radiación dispersada es redistribuida entre en las direcciones $\hat{\underline{\Omega}}'$ alrededor de la dirección original $\hat{\underline{\Omega}}$

(Özsisik, 1973). Chu y Churchill (Chu y col., 1955) propusieron expresar la función de fase

$B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}})$ como una expansión en serie de Polinomios de Legendre:

$$B_{\lambda}(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}) = \sum_{n=0}^{\infty} c_n P_n(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}) = \sum_{n=0}^{\infty} c_n P_n(\mu) \quad (2.5)$$

donde $-1 < \mu < 1$. En la ecuación 2.5, c_n corresponde al enésimo coeficiente que multiplica al enésimo polinomio $P_n(\mu_0)$ de la serie, el cual está definido de acuerdo a:

$$P_n(\mu) = \frac{1}{2^n n!} \frac{d^n}{d\mu^n} (\mu^2 - 1)^n \quad (2.6)$$

donde $n = 0, 1, 2, \dots$. La expansión de $B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}})$ en esta series implica un número infinito de polinomios y coeficientes, por lo cual la misma deberá ser truncada cuando se alcance la precisión deseada.

Las propiedades ópticas de los cultivos de microalgas (α_{λ} , ξ_{λ} y $B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}})$) deben ser determinadas previamente para poder llevar a cabo el modelado del campo de energía radiante en el interior de los FBR. En condiciones distantes de aquéllas consideradas ideales (en suspensiones muy diluidas y pasos ópticos muy pequeños), ningún experimento permite determinar directamente los parámetros α_{λ} , ξ_{λ} o $B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}})$, sino que el resultado de la medición es producto de la contribución de todos los efectos. La determinación de las propiedades ópticas de los cultivos de microalgas fueron determinadas en trabajos previos (Heinrich y col., 2012a; Heinrich y col., 2012b), en los cuales se diseñaron una serie de experimentos que en conjunto permiten determinar la forma en la cual la energía radiante de un haz de luz se redistribuye en diferentes direcciones durante su paso a través de una suspensión de microalgas de concentraciones de biomasa y clorofila, a fin de obtener los parámetros ópticos de los cultivos.

En el presente trabajo se utilizarán los resultados obtenidos en dichos trabajos, los cuales son mostrados en las Tablas 2.1 y 2.2.

λ (nm)	α_λ (mm ⁻¹)	ξ_λ (mm ⁻¹)	λ (nm)	α_λ (mm ⁻¹)	ξ_λ (mm ⁻¹)
400	$3.22 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.56 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$	560	$6.39 \cdot 10^{-5} \times \text{Cclorof}$	$4.00 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$
410	$3.55 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.52 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$	570	$2.04 \cdot 10^{-4} \times \text{Cclorof}$	$3.91 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$
420	$3.73 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.33 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$	580	$3.07 \cdot 10^{-4} \times \text{Cclorof}$	$3.76 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$
430	$3.99 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.27 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$	590	$4.22 \cdot 10^{-4} \times \text{Cclorof}$	$3.81 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$
440	$4.01 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.27 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$	600	$5.24 \cdot 10^{-4} \times \text{Cclorof}$	$3.82 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$
450	$3.53 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.35 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$	610	$7.66 \cdot 10^{-4} \times \text{Cclorof}$	$3.70 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$
460	$3.15 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.36 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$	620	$7.28 \cdot 10^{-4} \times \text{Cclorof}$	$3.78 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$
470	$3.07 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.39 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$	630	$7.92 \cdot 10^{-4} \times \text{Cclorof}$	$3.70 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$
480	$3.03 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.51 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$	640	$1.23 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.52 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$
490	$2.66 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.67 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$	650	$1.55 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.55 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$
500	$2.15 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.81 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$	660	$1.74 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.52 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$
510	$1.11 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.91 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$	670	$2.61 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.42 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$
520	$3.96 \cdot 10^{-4} \times \text{Cclorof}$	$4.00 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$	680	$2.57 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.56 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$
530	$2.94 \cdot 10^{-4} \times \text{Cclorof}$	$4.12 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$	690	$1.42 \cdot 10^{-3} \times \text{Cclorof}$	$3.82 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$
540	$2.30 \cdot 10^{-4} \times \text{Cclorof}$	$4.06 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$	700	$3.07 \cdot 10^{-4} \times \text{Cclorof}$	$3.98 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$
550	$1.02 \cdot 10^{-4} \times \text{Cclorof}$	$4.01 \cdot 10^{-4} \times \text{Cbiom}$			

Tabla 2.1: Parámetros ópticos α_λ , ξ_λ para suspensiones de microalgas, donde Cbiom y Cclorof son las concentraciones de biomasa y clorofilas de los cultivos expresadas en mg/L obtenidos en Heinrich y col., 2012a.

Parámetro	C_1	C_2	C_3	C_4	C_5
Valor	2,496	2,852	2,173	1,107	0,302

Tabla 2.2: Coeficientes de la expansión en serie del Polinomios de Legendre (Ec.(2.5)) obtenidos en Heinrich y col., 2012a.

3. Modelo físico-matemático del campo de energía radiante en el interior de un cultivo de microalgas a través del Método de Monte Carlo

Monte Carlo (MC) es un método de cálculo basado en técnicas estocásticas (utilización de números al azar para determinar probabilidades) para resolver problemas de naturaleza muy diversa. Permite la resolución de problemas para los cuales una resolución analítica implicaría la resolución de sistemas de ecuaciones muy complejos. En este caso, se aplicará dicho método para simular y predecir la distribución de energía radiante dentro

de un reactor iluminado con diferentes arreglos de LEDs y su interacción con la suspensión de celular.

Existen diversos trabajos que utilizan MC para determinar la distribución de energía radiante dentro de foto-reactores (Imoberdorf y col., 2008). El sistema en estudio presenta una gran complejidad para su modelado, ya que es un medio multifásico, en el cual interactúan la luz incidente con las microalgas (absorbiendo y dispersando luz), con las paredes del reactor, con el propio medio de cultivo y con las burbujas de la corriente gaseosa inyectada.

En este modelo, la suspensión de microalgas es modelada como un continuo, donde las partículas (células) han perdido su identidad y han sido reemplazadas por centros de absorción o dispersión (*scattering*) distribuidos al azar dentro del volumen de cultivo.

La densidad espectral de fotones que se mueven en una dirección $\hat{\underline{\Omega}}$ a través de cualquier posición \underline{r} en el interior del FBR $\left(n_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{m}^3 \text{ nm sr}} \right] \right)$, será la propiedad básica utilizada para la simulación por MC del campo radiante en el reactor. Esta propiedad es equivalente a la densidad de flujo de energía de acuerdo a:

$$L_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg m}^2 \text{ nm sr}} \right] = c \left[\frac{\text{m}}{\text{seg}} \right] n_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{m}^3 \text{ nm sr}} \right] \quad (3.1)$$

Podemos definir el vector dirección unitario $\hat{\underline{\Omega}}(\theta, \varphi)$ en el cual se mueve un fotón de acuerdo al ángulo polar θ y al ángulo azimutal φ .

La densidad espectral de fotones que se mueven a través de cada posición \underline{r} sin importar su dirección de movimiento $\hat{\underline{\Omega}}$, puede ser definida como:

$$n_{\lambda}(\underline{r}, t) \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{m}^3 \text{ nm}} \right] = \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d\hat{\underline{\Omega}} n_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) = \int_0^{2\pi} d\varphi \int_{-1}^1 d\mu n_{\lambda}(\underline{r}, \mu, \varphi, t) \quad (3.2)$$

donde $\mu = \cos \theta$

Si $n_{\lambda}(\underline{r}, t) \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{m^3 \text{ nm}} \right]$ es conocida, podemos determinar la velocidad local de

absorción de fotones como:

$$r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t) \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{m^3 \text{ nm seg}} \right] = c \alpha_{\lambda}(t) n_{\lambda}(\underline{r}, t) \quad (3.3)$$

donde c es la velocidad de la luz y α_{λ} es el coeficiente de absorción espectral mostrado en la Tabla 2.1.

A fin de poder predecir $r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t)$ utilizamos MC para la programación de un algoritmo de cálculo en la plataforma Force 2.0 utilizando un lenguaje de programación Fortran 90.

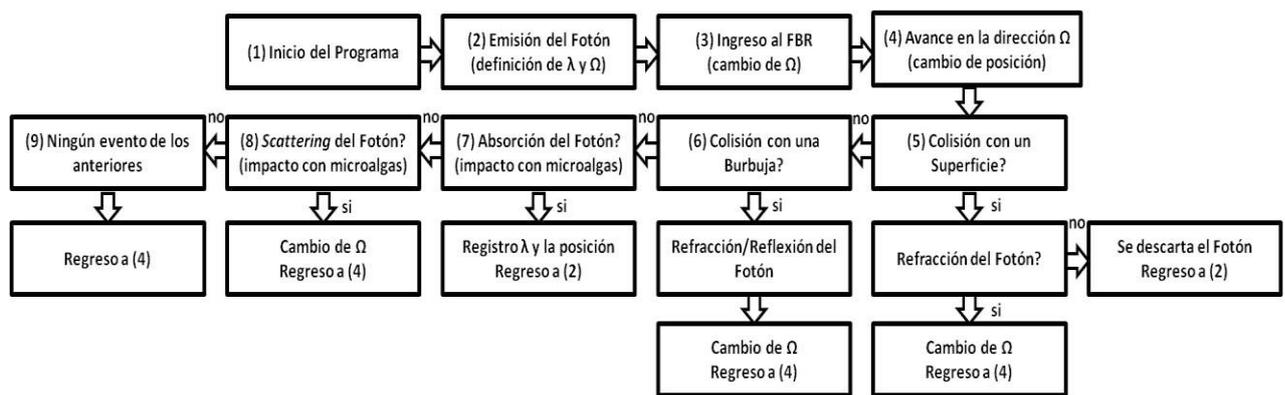


Figura 3.1: Diagrama de flujo incluyendo los nodos de decisión en el algoritmo estocástico desarrollado para la simulación de Monte Carlo del campo de energía radiante dentro del FBR.

El algoritmo comienza con la emisión de un fotón desde la fuente de radiación (LED), siguiendo la trayectoria del mismo a través del medio y registrando los diversos eventos que puede sufrir hasta que es absorbido por el cultivo o hasta que sale del reactor y es eliminado. Es importante aclarar que los efectos de los puertos de toma de muestra, el sensor de temperatura y el difusor de aire sobre el campo radiante no fueron considerados en el modelado a fin de simplificar la simulación del sistema. En la figura 3.1 se muestra un diagrama de bloque del algoritmo desarrollado. A continuación se realiza una descripción más detallada de cada uno de los eventos.

(1) **Comienzo del programa:** el programa desarrollado para la simulación del campo de energía radiante basado en MC, plantea la simulación de un número suficiente de fotones para obtener una imagen representativa de la distribución de fotones presente en el reactor

(2) **Emisión de los fotones:** se realiza la selección de la posición de partida del fotón (posición del LED). De esta manera, dependiendo del arreglo de LEDs utilizado, se asignará una probabilidad de emisión a cada uno de los LEDs del arreglo, de acuerdo a los resultados obtenidos en el capítulo 2. Como ejemplo, en la Fig.3.2a, se muestra un cultivo iluminado con 48 LEDs SMD 3528 azules. De modo que en este caso generamos un número aleatorio entero $1 \leq \delta_{LED} \leq 48$ para la selección del punto de partida, ya que aquí todos los LEDs poseen la probabilidad de ser elegidos.

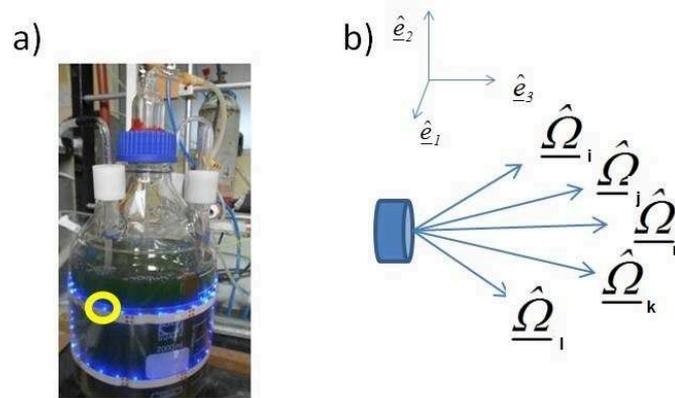


Figura 3.2: a) Selección del punto de emisión del fotón;b) selección de la dirección de salida del fotón sobre la superficie del LED seleccionado.

Luego se debe determinar la dirección de salida del fotón emitido ($\hat{\underline{\Omega}}(\theta, \varphi)$) considerando la distribución angular de emisión de los LEDs definidas anteriormente. Para esto, definimos dos números aleatorios $0 \leq \delta_\varphi \leq 1$ y $0 \leq \delta_\theta \leq 1$ para definir φ y θ respectivamente:

$$\varphi = \delta_\varphi \cdot 2\pi \quad (3.4)$$

$$\cos(\theta) = \delta_\theta \quad (3.5)$$

De manera que la dirección de salida queda definida como:

$$\underline{\hat{\Omega}}(\theta, \varphi) = (1 - \cos^2 \theta)^{1/2} (\sin \varphi \hat{e}_1 + \cos \varphi \hat{e}_2) + \cos \theta \hat{e}_3 \quad (3.6)$$

donde \hat{e}_3 es el vector unitario normal a la superficie de emisión del LED; \hat{e}_1 and \hat{e}_2 son vectores unitarios situados sobre dicha superficie y siendo perpendiculares entre sí; $0 \leq \varphi \leq 2\pi$ y $0 \leq \theta \leq \pi/2$. Vale recordar que la distribución angular de emisión es común para todos los LEDs.

A continuación, se lleva a cabo la determinación de la energía (longitud de onda) del fotón emitido, la cual es una función característica de cada tipo de LED. La distribución de la densidad de flujo de fotones emitidos con una longitud de onda entre λ y $\lambda + d\lambda$ por unidad de tiempo por cada tipo de LED $\left(L_\lambda \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg LED nm}} \right] \right)$ se encuentra representado en las Fig.4.5 y 4.6 del capítulo 2. De manera que a partir de estos perfiles obtenidos se puede determinar la probabilidad acumulada de que un fotón emitido por un LED tenga una longitud de onda entre 0 y λ es igual a:

$$P(\lambda) = \frac{\int_0^\lambda L_{\lambda'} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg LED nm}} \right] d\lambda'}{L_{\text{VIS}} \left[\frac{\mu\text{mol fotones}}{\text{seg LED}} \right]} \quad (3.7)$$

Esta función es propia de cada tipo de LED y las diferentes distribuciones se encuentran representadas en la figura 3.3.

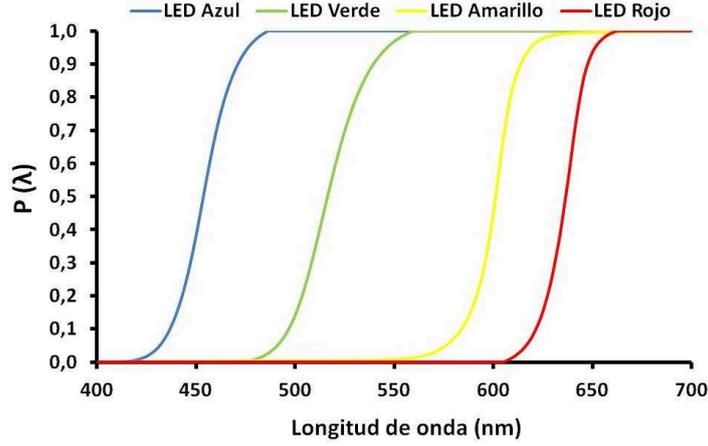


Figura 3.3: Función de probabilidad acumulada $P(\lambda)$ de que un fotón emitido por un LED tenga una longitud de onda entre 0 y λ .

En el algoritmo de MC, se genera un número aleatorio $0 \leq \delta_{P(\lambda)} \leq 1$ para obtener una $P(\lambda)$ que determinará (dependiendo del tipo de LED que se trate) la longitud de onda del fotón emitido.

(3) **Ingreso del fotón al FBR:** una vez caracterizado el fotón emitido (lugar, dirección y energía), se debe evaluar su impacto frente a la pared externa del reactor, donde puede ser reflejado fuera del mismo (vuelta al punto 2) o transmitido a través de la pared hacia dentro del medio de cultivo.

El sistema de tres fases aire/vidrio/agua se modeló como una doble superficie que separa los medios aire/agua considerando el espesor del vidrio como despreciable.

La reflectividad en la interfase entre dos medios se determina de acuerdo a la Ley de Fresnel:

$$\rho_{1,2}(\hat{\underline{\Omega}}, \hat{\underline{\Omega}}^{(R)}, \hat{\underline{n}}) = \frac{1}{2} \left[\frac{\eta_1(\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{\Omega}}) - \eta_2(\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{\Omega}}^{(R)})}{\eta_1(\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{\Omega}}) + \eta_2(\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{\Omega}}^{(R)})} \right]^2 + \frac{1}{2} \left[\frac{\eta_1(\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{\Omega}}^{(R)}) - \eta_2(\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{\Omega}})}{\eta_1(\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{\Omega}}^{(R)}) + \eta_2(\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{\Omega}})} \right]^2 \quad (3.8)$$

donde $\rho_{1,2}$ es la reflectividad en la interfase entre los medios 1 y 2; $\underline{\hat{Q}}$ y $\underline{\hat{Q}}^{(R)}$ son los vectores unitarios direccionales en la dirección de incidencia y de reflexión sobre la interfase respectivamente; $\underline{\hat{n}}$ es el vector normal unitario a la interface apuntando a cualquiera de las dos fases; η_1 y η_2 son los índices de refracción de las fases 1 y 2 respectivamente.

De esta manera se plantea la reflexión total de acuerdo a la posibilidad de múltiples reflexiones internas (figura 3.4) de acuerdo a:

$$\rho_{total} = \rho_{1,v} + (1 - \rho_{v,1})\rho_{v,3} + \rho_{1,3}\rho_{v,1}\rho_{v,3} + (1 - \rho_{1,v}) \quad (3.9)$$

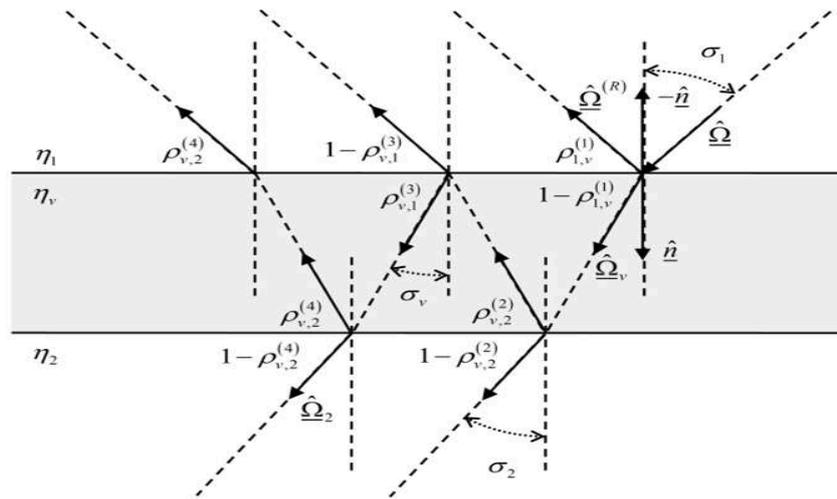


Figura 3.4: Sistema de reflexiones internas múltiples planteado para modelar la entrada de un fotón al interior del FBR.

Para determinar si el fotón es reflejado o transmitido, se genera un número aleatorio $0 < \delta_{ref} < 1$ y es comparado frente a ρ_{total} . Si $0 < \delta_{ref} < \rho_{total}$, se asume que el fotón se refleja hacia fuera del reactor y se pierde, comenzando la rutina nuevamente desde la emisión del fotón. Si $\delta_{ref} > \rho_{total}$, se asume que el fotón es refractado a través de la interfase, con una nueva dirección $\underline{\hat{Q}}_2$ determinada a través de la Ley de Snell.

$$\eta_1 \text{ sen}\theta_1 = \eta_2 \text{ sen}\theta_2 \quad (3.10)$$

donde θ_1 es el ángulo formado por $\underline{\hat{Q}}_1$ y $\underline{\hat{n}}$; θ_2 es el ángulo formado por $\underline{\hat{Q}}_2$ y $\underline{\hat{n}}$.

(4) **Avance del fotón dentro del reactor en su dirección de movimiento:** se plantea en avance del fotón en la dirección de movimiento $\hat{\underline{Q}}$ a través del interior del FBR una distancia ΔS sin sufrir ningún otro evento (en nuestro caso 1mm) y manteniendo su dirección de movimiento $\hat{\underline{Q}}$ al finalizar el recorrido.

(5) **Impacto sobre una superficie interna o sobre la superficie del medio de cultivo:** se evalúa la posición r del fotón en el FBR. En el caso que haya alcanzado alguna de las paredes laterales o la base del reactor (figura 3.5) se procede de la misma manera que en el punto (3), solo que invirtiendo el orden de las fases 1 (ahora es el medio de cultivo) y 2 (ahora es el aire). Si el fotón alcanza la superficie del medio de cultivo, el análisis es más simple, ya que solamente se produce la reflexión sobre la interfase agua/aire sin la capa de vidrio.

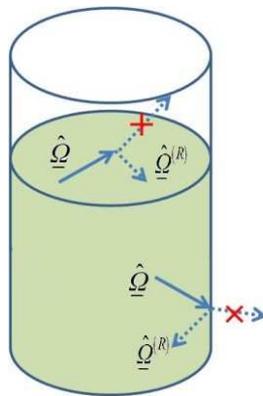


Figura 3.4: Se ilustra la llegada de un fotón a una pared interna del reactor o la superficie del medio de cultivo. En ambos casos se evalúa su posibles reflexión hacia el interior del cultivo o su refracción hacia fuera del reactor y la consecuente eliminación del fotón.

En el caso de que ocurra la reflexión del fotón, el mismo permanece dentro del medio con una nueva dirección $\hat{\underline{Q}}^{(R)}$, volviendo al punto (4); caso contrario se refracta hacia afuera del mismo y es eliminado, volviendo al punto (2).

(6) **Colisión de un fotón con una burbuja**: El difusor de aire en ambos FBRs se encuentra en el centro del reactor situado a unos pocos centímetros sobre la base del mismo. De los difusores se desprende nube de burbujas que asciende a través de la suspensión de microalgas, promoviendo la agitación del medio, brindando el CO₂ necesario para el cultivo y removiendo el O₂ producido por la fotosíntesis.

A fin de poder modelar y simular la interacción entre las burbujas y el campo de energía radiante se partió del supuesto que las burbujas se encuentran contenidas en una región delimitada por un cono invertido con su vértice en el centro del difusor y que todas las burbujas poseen forma esférica con una distribución homogénea de radios alrededor de un valor medio observado a partir de una serie de fotografías tomadas a los reactores.

De esta manera, cuando un fotón simulado a través de MC ingresa durante su trayectoria en esta región no-homogénea, existe la posibilidad de que colisiones con una burbuja. La probabilidad de colisión entre un fotón y una burbuja cuando el fotón se mueve una distancia ΔS en cualquier dirección dentro del medio no-homogéneo es determinada de acuerdo a lo propuesto por Heinrich y col., 2013:

$$P(B) = \left\{ 1 - \exp \left[- \left(\frac{3}{4} \right) \theta_G \frac{\Delta S}{\bar{r}_b} \right] \right\} \quad (3.11)$$

Donde \bar{r}_b es el radio medio de las burbujas; V_G es la fracción de volumen de gas residente en el reactor; V_L es el volumen del líquido en el reactor; $\theta_G = (2V_G / (V_L + V_G))$ es la fracción de volumen de gas en la zona donde se encuentran las burbujas.

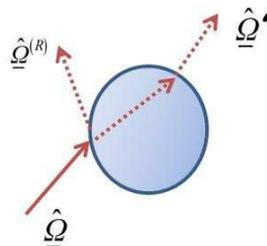


Figura 3.6: Colisión de un fotón con una burbuja, donde luego del impacto puede reflejarse y volver al medio con una nueva dirección $\hat{Q}^{(R)}$ o ingresar dentro de la burbuja y salir luego con una dirección \hat{Q}' .

De esta manera, se genera un número aleatorio $0 < \delta_B < 1$ y si $\delta_B < P(B)$, se considera que el fotón impacta una burbuja, en cuyo caso puede ser reflejada de acuerdo a la Ley de Fresnel (ec. 3.8) nuevamente hacia la suspensión o puede ingresar dentro de la fase gaseosa, cambiando su dirección de acuerdo a la Ley de Snell (ec.3.9) (Fig.3.6). En este último caso, el fotón avanzará con esta trayectoria dentro de la burbuja hasta alcanzar nuevamente la superficie de la misma (esta vez desde la cara interior) en donde nuevamente puede ser reflejada (Ley de Fresnel) hacia dentro de la burbuja o transmitida a la suspensión con una nueva dirección (Ley de Snell).

(7); (8) y (9) **Colisión de un fotón con una microalga:** una vez dentro del medio homogéneo, la atenuación de la energía de un haz de fotones es causada por la absorción de luz por parte de los pigmentos de las microalgas y por la dispersión del haz en nuevas direcciones cuando impacta con las células (se considera que no existen otro tipo de moléculas suspendidas en el medio de cultivo que puedan provocar la dispersión de la luz).

Para la construcción del modelo estocástico del campo de energía radiante en una suspensión homogénea de microalgas, es necesario asignar probabilidades a las ocurrencias de los fenómenos de absorción ($P(A)$), dispersión ($P(D)$) y a la no ocurrencia de estos eventos ($P(NA,ND)$). La probabilidad de ocurrencia de cada uno de estos eventos (que son mutuamente excluyentes) se encuentran relacionada con los coeficientes α_λ y ξ_λ y pueden ser definidas de acuerdo a Heinrich y col., 2012a como:

$$P(A) = \frac{\alpha_\lambda}{(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)} \left[1 - e^{-(\alpha_\lambda + \xi_\lambda) \Delta S} \right] \quad (3.12)$$

$$P(D) = \frac{\xi_\lambda}{(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)} \left[1 - e^{-(\alpha_\lambda + \xi_\lambda) \Delta S} \right] \quad (3.13)$$

$$P(NA,ND) = e^{-(\alpha_\lambda + \xi_\lambda) \Delta S} \quad (3.14)$$

donde ΔS es la distancia recorrida por un fotón dentro del medio sin que sufra ningún evento que en nuestro caso es de 1 mm.

Para determinar si un fotón es absorbido, dispersado o si continua moviéndose en forma libre por una distancia ΔS con la misma dirección a través de la suspensión homogénea, generamos un número aleatorio $0 < \delta_{mov} < 1$, para ser comparado frente a $P(A)$ y $P(D)$. De este modo se determinan tres eventos posibles mutuamente excluyentes (figura 3.7):

- $0 < \delta_{mov} < P(A)$: se asume que el fotón es absorbido y se registra la posición del evento para la construcción de la distribución del campo de energía radiante. Luego se comienza la rutina nuevamente desde el punto (2).
- $P(A) < \delta_{mov} < P(A) + P(D)$, se considera que el fotón es dispersado y que cambia su dirección previa $\hat{\underline{Q}}$ a una nueva $\hat{\underline{Q}}'$. La nueva dirección estará definida por la función de fase $B(\hat{\underline{Q}} \cdot \hat{\underline{Q}}')$. Esta función es axialmente simétrica respecto de la dirección original $\hat{\underline{Q}}$ por lo cual todos los ángulos $0 \leq \varphi' \leq 2\pi$ son igualmente probables, dependiendo solo del producto punto $\mu = \cos\theta = \hat{\underline{Q}} \cdot \hat{\underline{Q}}'$ donde θ es el ángulo entre $\hat{\underline{Q}}$ y $\hat{\underline{Q}}'$. Debe cumplir con la condición de normalización:

$$\frac{1}{4\pi} \int_{\hat{\underline{Q}}'} d\hat{\underline{Q}}' B(\hat{\underline{Q}} \cdot \hat{\underline{Q}}') = \left[\frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} d\varphi \right] \left[\frac{1}{2} \int_{-1}^1 d\mu B(\mu) \right] = 1 \quad (3.15)$$

donde $B(\hat{\underline{Q}} \cdot \hat{\underline{Q}}')$ es modelada de acuerdo a la ecuación (2.5). La probabilidad condicional acumulada de que luego de sufrir un evento de dispersión, el fotón tenga una nueva dirección $\hat{\underline{Q}}'(\varphi', \mu')$, con $0 < \varphi' < \varphi$ y $-1 < \mu' < \mu$ es igual a:

$$P(\varphi, \mu) = P(\varphi)P(\mu) = \left[\frac{\varphi}{2\pi} \right] \left[\frac{1}{2} \int_{-1}^{\mu} d\mu' B(\mu') \right] \quad (3.16)$$

En el algoritmo de MC, $P(\varphi)$ and $P(\mu)$ son reemplazados con números aleatorios $0 < \delta_\varphi < 1$ y $0 < \delta_\mu < 1$ respectivamente. Luego de obtener la nueva dirección, se vuelve al punto (4).

- Si $P(A) + P(D) < \delta_{movimiento}$, se considera que el fotón no sufre ningún cambio de dirección y continua con su misma trayectoria, volviendo al punto (4).

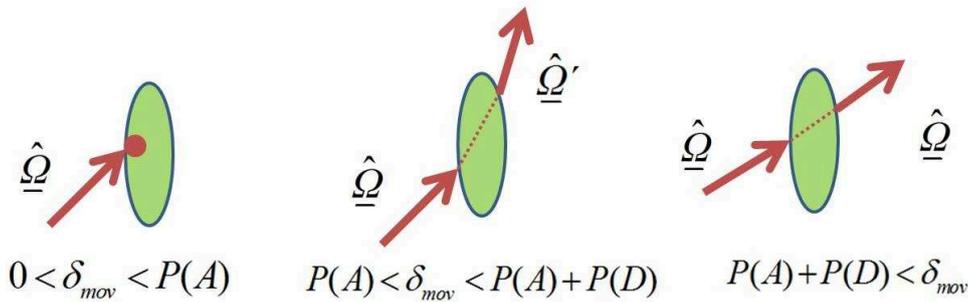


Figura 3.7: Definición de los posibles eventos mutuamente excluyentes que puede sufrir un fotón luego de impactar con una microalga a partir de la definición de $P(A), P(D), P(NA, ND)$ y δ_{mov} .

De esta manera y en forma sucesiva se simulan la trayectoria de un número suficientemente grande de fotones a través de su recorrido por los diferentes sectores dentro del reactor hasta que salen del mismo o hasta que son absorbidos por las microalgas, obteniendo de esta manera una imagen representativa de la distribución del campo de energía radiante en el interior del reactor.

Al finalizar la simulación, se obtienen los valores de $n_\lambda(r, t) \left[\frac{\mu mol \text{ fotones}}{L \text{ nm}} \right]$ en cada posición del reactor para cada instante del cultivo. Debido a que solo son útiles los fotones del rango de radiación PAR, se expresarán los resultados del programa de acuerdo a:

$$n_{vis}(r, t) \left[\frac{\mu mol \text{ fotones}}{L} \right] = \int_{400}^{700} n_\lambda(r, t) \left[\frac{\mu mol \text{ fotones}}{L \text{ nm}} \right] d\lambda \quad (3.17)$$

Más allá de que durante la ejecución del algoritmo computacional, los fotones son emitidos individualmente en forma sucesiva, todos ellos en conjunto simulan las propiedades del campo radiante en el interior del reactor en a cada instante del cultivo. Las

propiedades del campo radiante se ajustan en forma instantánea de acuerdo a la evolución en el tiempo del cultivo de microalgas a través de una continua sucesión de estados estacionarios.

4. Conclusiones

Durante el presente capítulo, se encuentran descritas las propiedades ópticas de los cultivos de microalgas utilizadas para el desarrollo de un algoritmo computacional basado en el método de Monte Carlo para la simulación y predicción del campo de energía radiante en el interior de un FBR irradiado con fuentes de radiación LED. La aplicación del programa desarrollado permitirá llevar a cabo el estudio de la influencia de diferentes condiciones de radiación sobre el crecimiento de las microalgas en los capítulos posteriores.

5. Bibliografía

- Berberoglu, H., Pilon, L. (2007) Experimental measurement of the radiation characteristics of *Anabaena variabilis* ATCC 29413 and *Rhodobacter sphaeroides* ATCC 49419. *International Journal of Hydrogen Energy* 32 (18): 4772–85.
- Berberoglu H., Pilon L. (2009) Radiation characteristics of *Botryococcus braunii*, *Chlorococcum littorale*, and *Chlorella* sp. used for CO₂ fixation and biofuel production. *J. Quant. Spectrosc. Ra.* 110, 1879–1893.
- Chandrasekhar S. (1960) *Radiative transfer*. Dover publications Inc.
- Chu, C. M. and S. W. Churchill (1955) Representation of the angular distribution of radiation scattered by a spherical particle. *J. Opt. Soc. Am.* 45: 958–962.
- Cornet J. F., C. G. Dussap, J. B. Gross, C. Binois and C. Lasseur (1995) A simplified monodimensional approach for modeling coupling between radiant light transfer and growth kinetics in photobioreactors. *Chem. Eng. Sci.* 50(9), 1489–1500.
- Csögör Z., Herrenbauer M., Perner I., Schmidt K., Posten C. (1999) Design of a photobioreactor for modelling purposes. *Chemical Engineering and Processing* 38: 517–523.
- Dauchet J., Blanco S., Cornet J., Hafi M.E., Eymet V., Fournier R. (2013). The practice of recent radiative transfer Monte Carlo advances and its contribution to the field of microorganisms cultivation in photobioreactors. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer.* 128: 52–59
- Heinrich J.M., Niizawa, I., Botta F.A., Trombert A.R., Irazoqui H.A. (2012a). Analysis and design of photobioreactors for microalgae production I: Method and parameters for radiation field simulation. *Photochemistry and Photobiology* 88: 938-9510.
- Heinrich J.M., Niizawa I, Botta F.A., Trombert A.R., Irazoqui H.A. (2012b) Analysis and design of photobioreactors for microalgae production II: Experimental Validation of a radiation field simulator based on a Monte Carlo algorithm. *Photochemistry and Photobiology* 88: 952-960.

- Heinrich J.M., Niizawa I, Botta F.A., Trombert A.R., Irazoqui H.A. (2013) Stratification of the Radiation Field inside a Photobioreactor during Microalgae Growth, *Photochemistry and Photobiology* 89: 1127-1134.
- Imoberdorf G. E., Taghipour F., Mohseni M. (2008) Radiation field modeling of multi-lamp, homogeneous photoreactors. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 198: 169–178.
- Jacob-Lopes E., Gimenes Scoparo C. H., Ferreira Lacerda L. M. C., Teixeira Franco T. (2009) Effect of light cycles (night/day) on CO₂ fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors, *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 48: 306–310.
- Jeon Y. C., Cho C. W., Yun Y. S. (2005) Measurement of microalgal photosynthetic activity depending on light intensity and quality. *Biochemical Engineering Journal* 27: 127–131.
- Mata T. M., Martins A. A., Caetano N. S. (2010) Microalgae for biodiesel production and other applications: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14: 217–232.
- Molina Grima E., Acien Fernández F.G., García Camacho F., Chisti Y. (1999). Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. *Journal of Biotechnology*. 70: 231–247.
- Özisik, M. N. (1973) Basics Relations. In *Radiative Transfer and Interactions with Conduction and Convection* (Edited by M. N. Özisik). John Wiley & Sons. New York, USA. p: 1–54.
- Pilon L., Berberoğlu H., Kandilian R. (2011) Radiation transfer in photobiological carbon dioxide fixation and fuel production by microalgae. *Journal of quantitative spectroscopy and radiative transfer*. 112(17):2639–2660.
- Pruvost J., Legrand J., Legentilhomme P., Muller-Feuga A. (2002). Simulation of microalgae growth in limiting light conditions: flow effect. *AIChE J.* 48(5): 1109–1120.
- Renaud S. M., Van Thinh L., Lambrinidis G., Parry D. L. (2002) Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. *Aquaculture* 211: 195-214.

- Yongmanitchai W., Ward O. P. (1991) Growth of and Omega-3 Fatty Acid Production by *Phaeodactylum tricornutum* under Different Culture Conditions, *Applied and environmental Microbiology* 57: 419-425.

CAPÍTULO 6

Estudio del efecto de Diferentes perfiles de Radiación sobre el crecimiento de *Scenedesmus quadricauda*

1. Introducción

El espectro de radiación visible capaz de inducir la fotosíntesis es llamado normalmente radiación fotosintéticamente activa (PAR por su sigla en inglés), y comprende el rango de los 400 a los 700nm (espectro visible). Los principales pigmentos fotosintéticos hallados en las plantas terrestres y microalgas son las clorofilas a y b. Los máximos de absorción de estos pigmentos se encuentran en la región azul (400-450nm) y roja (630-680nm) del espectro visible. Sin embargo, también poseen una gran cantidad de pigmentos accesorios cuyos máximos de absorción difieren del de las clorofilas, permitiéndoles a estos organismos aumentar la eficiencia de la utilización de la radiación solar recibida. (Heldt, 2005).

Las microalgas poseen un gran potencial para la producción de diversos metabolitos de interés comercial (Cordero y col., 2011) y la biorremediación de efluentes líquidos y gaseosos (Demirbas, 2011). Durante el crecimiento foto-autotrófico de las mismas, la luz es la principal fuente de energía para el crecimiento celular, por lo que las condiciones iluminación, tanto la intensidad como el perfil de radiación, producen diversos efectos sobre el crecimiento celular, afectando principalmente la producción de biomasa (Wang y col., 2007) y la síntesis de diversos pigmentos de microalgas (Mishra y col., 2012).

La capacidad de los LEDs de emitir radiación en longitudes de ondas muy acotadas y otra serie de ventajas como una larga vida útil, pequeño tamaño, baja generación de calor, intensidad de luz ajustable, alta eficiencia de conversión foto-eléctrica, etc. (Yeh y Chung, 2009); los hacen muy atractivos para el estudio de la influencia de diferentes condiciones de radiación sobre el crecimiento de las microalgas.

En la bibliografía se encuentran reportados diversos estudios (Zhao y col., 2013; Kim y col., 2009; Das y col., 2011; Jeong y col., 2013) que evalúan la eficiencia de diferentes intensidades y regiones del espectro de radiación visible (azul y roja principalmente) sobre el desarrollo de cultivos de microalgas. Los resultados obtenidos muestran discrepancias en cuanto a qué perfil de iluminación es más eficiente para la síntesis de biomasa de acuerdo a

las especies de microalgas y a las condiciones de radiación utilizadas en cada caso. En dichos estudios es posible observar que, en general, durante el análisis de los resultados la relación entre la distribución del campo de energía radiante en el interior de los reactores y los cultivos de microalgas es evaluada en forma muy simplificada, lo cual dificulta la comparación entre los resultados obtenidos respecto al efecto de las diferentes condiciones de iluminación sobre el crecimiento celular en los diferentes estudios. El modelado riguroso del campo de energía radiante en el interior de los FBRs durante el cultivo de microalgas bajo diferentes condiciones de iluminación, permitiría lograr un análisis sistemático acerca del efecto de la luz sobre el desarrollo celular, sin importar las características de la fuente de radiación, la especie o el tipo de FBR utilizado.

El objetivo del presente capítulo, radica aplicación de un modelo físico y un algoritmo computacional basado en el método de Monte Carlo (MC) para describir en forma precisa la velocidad de absorción local de fotones en cada punto de un foto-bio-reactor (FBR) irradiado con distintos arreglos de LEDs y poder evaluar la influencia de diferentes perfiles de radiación sobre la producción de biomasa y la síntesis de clorofilas de la especie de microalga estudiada.

2. Materiales y Métodos

2.1 Microorganismo utilizado y preparación de inóculos

La cepa *Scenedesmus quadricauda* 276/21 y el medio de cultivo BBM descritos en el capítulo 1 serán utilizados para llevar adelante los distintos cultivos propuestos en el presente capítulo.

La realización de los inóculos para los cultivos realizados fueron llevados a cabo en erlenmeyers de 500 ml con un volumen de 300 ml del medio de cultivo BBM esterilizados previamente en autoclave durante 15 minutos a 121°C y 1 atm de presión. Cada uno de estos erlenmeyers fue inoculado con uno de los repiques realizados en tubos de ensayos

mencionados anteriormente en el capítulo 1. Los cultivos en los erlenmeyers fueron crecidos entre 10 y 14 días previos a los ensayos en los FBR utilizando una lámpara fluorescente Phillips Day Light de 16W como fuente de radiación siendo agitados en un shaker orbital a 100 rpm. Para inoculación de los reactores, se utiliza un volumen de estos cultivos equivalente al 10% del volumen del FBR.

2.2 Determinación de la Concentración de Biomasa de los Cultivos

El contenido de biomasa en los cultivos de microalgas fue determinado a través de la medición de la absorbancia y del peso seco de las muestras extraídas.

Para la determinación de la absorbancia se mide densidad óptica a 540nm (DO_{540}) (Rocha y col. 2003) de las muestras de los cultivos en un espectrofotómetro BOECO S-20 utilizando 3 ml de volumen. Se mide la densidad óptica a esta longitud de onda para evitar las regiones del espectro de máxima absorción de las microalgas en las cuales se encuentran los máximos de absorción de las clorofilas (cerca de 450 y 660nm), obteniendo de esta manera una medida más robusta frente a posibles variaciones en la composición de pigmentos de los cultivos.

Para la determinación del peso seco se centrifugan 30 ml de muestra a 5000 rpm durante 10 minutos, lavando luego el pellet con agua destilada para eliminar restos de sales y se centrifuga nuevamente. Luego de eliminar el sobrenadante se lleva el tubo a estufa *overnight* a 80°C (Kaçka y Dönmez, 2008). Finalmente se pesan los tubos con la muestra seca y por diferencia con el peso del tubo limpio se determina el peso seco de los cultivos.

A fin de ahorrar tiempo de trabajo y volumen de muestra, la medición de DO_{540} es correlacionada con la biomasa seca determinada gravimétricamente para obtener una curva de calibrado que correlacione ambas mediciones. Luego durante los cultivos en los FBR se mide diariamente la DO_{540} , aplicando el factor de conversión obtenido en la curva de calibrado para obtener la biomasa de microalgas en todos los días del cultivo.

2.3 Determinación del Contenido de Clorofilas de los Cultivos

El contenido de clorofilas de las microalgas se encuentra muy influenciado por las características de la radiación recibida (perfil de longitudes de onda e intensidad de la misma) (Lan y col. 2013) por lo que es muy importante determinar su concentración en cultivos iluminados bajo diferentes condiciones de iluminación.

Debido a que el género de microalga utilizado en nuestro caso posee una pared celular externa con una estructura trilaminar conformada por diferentes componentes como glicoproteínas y bio-polímeros, denominados *algaenan*, que le otorgan una gran resistencia (Burczyk y col., 1999) la extracción de las clorofilas es dificultosa.

A fin de facilitar el proceso de extracción se procede a realizar un proceso de disrupción celular previo y luego determinar el contenido de clorofilas a través de un método espectrofotométrico basado en el método propuesto por Ritchie (Ritchie, 2006).

Primero se centrifugan 5 ml de muestra del cultivo a 5000 rpm durante 10 minutos, se resuspende el pellet en 1 ml de alcohol etílico 100% y se lo transfiere a un tubo eppendorf de 1.5 ml envuelto en papel aluminio para evitar la exposición a la luz del ambiente y una posible degradación de las clorofilas. En este tubo se agregan esferas de vidrio de 0.1 mm de diámetro hasta completar el volumen del tubo. Después se coloca el tubo con las esferas y la fase alcohólica con las células en un vortex durante 15 minutos a la máxima potencia para lograr la disrupción de las paredes celulares de las microalgas y facilitar la extracción de las clorofilas. Luego de esto, se lleva el tubo a un shaker orbital a 100 rpm durante 24 horas a temperatura ambiente para permitir la extracción de las clorofilas. Finalizado el tiempo de extracción, se centrifuga el tubo a 10000 rpm durante 10 minutos y se toman 0.5 ml del sobrenadante y se llevan a 1.5 ml con alcohol etílico 100% en otro tubo eppendorf. Se determina la absorbancia del extracto a dos longitudes de onda, 649 nm y 665 nm, en un espectrofotómetro BOECO S-20 utilizando micro-cubetas de 1.5 ml. Finalmente el contenido de clorofilas de la muestra se calcula de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\text{Clorofila } a \text{ (mg/L)} = D^{-1} \left(-5.2007 \left[\frac{\text{cm mg}}{\text{L}} \right] DO_{649\text{nm}} + 13.5275 \left[\frac{\text{cm mg}}{\text{L}} \right] DO_{665\text{nm}} \right) / a [\text{cm}] \quad (2.1)$$

$$\text{Clorofila } b \text{ (mg/L)} = D^{-1} \left(22.4327 \left[\frac{\text{cm mg}}{\text{L}} \right] DO_{649\text{nm}} - 7.0741 \left[\frac{\text{cm mg}}{\text{L}} \right] DO_{665\text{nm}} \right) / a [\text{cm}] \quad (2.2)$$

donde “D” es el factor de dilución $D = \left(\frac{5}{3} \right)$ y “a” es el paso óptico $a = 1 \text{ cm}$

2.4 Determinación de la Concentración de Nitrato de Sodio en el Medio de Cultivo

Luego del carbono, el hidrógeno y el oxígeno, el nitrógeno es cuantitativamente el elemento más importante que contribuye a la biomasa seca de las microalgas, pudiendo representar entre el 1 y el 10% del peso seco. Forma parte de proteínas, pigmentos, ácidos nucleicos y otras biomoléculas. Generalmente el nitrógeno posee un efecto positivo sobre el crecimiento y negativo sobre la acumulación de lípidos (Perez-Garcia y col., 2011).

Las microalgas son capaces de asimilar diferentes fuentes de nitrógeno, principalmente amonio, nitrato y urea; aunque también peptonas, extracto de levadura, aminoácidos y purinas. En el presente trabajo se utilizó como fuente de nitrógeno al nitrato de sodio debido a que es una de las fuentes más utilizadas para el cultivo de microalgas.

La determinación del contenido de nitrato de sodio en el medio de cultivo fue realizada a través de un método espectrofotométrico (Collos y col., 1999). El nitrato posee un pico de absorción a 220 nm, en el cual las interferencias de otros posibles componentes del medio de cultivo en su determinación se reducen significativamente.

En una primera instancia se construye una curva de calibrado para relacionar los valores de absorbancia de las muestras con la concentración de nitrato de las mismas. De esta manera, se preparan soluciones patrones del medio BBM con diferentes concentraciones de NaNO_3 en su formulación: 100, 80, 60, 40, 20 y 0% de la concentración inicial de 2.94 mM de NaNO_3 . Luego se toman 300 μl de las soluciones patrón preparadas y se agregan 3 ml de agua destilada y se miden las absorbancias en cubetas de cuarzo en un

espectrofotómetro **Cary UV-Vis 100**, construyendo luego la curva de calibrado con los valores medidos de absorbancia vs. concentración de patrón de nitrato de sodio.

Para el procesamiento de los cultivos, se centrifugan 1.5 ml de la muestra a 5000 rpm durante 10 minutos y se toman 300 µl del sobrenadante al que se agregan 3 ml de agua destilada. Luego se mide la absorbancia de esta solución a 220 nm en un espectrofotómetro Cary UV-Vis 100 utilizando cubetas de cuarzo.

La absorbancia de las soluciones es relacionada con el contenido de nitrato de sodio en el medio de cultivo a través de curva de calibrado realizada previamente con una solución de medio de cultivo con una concentración conocida de nitrato de sodio.

2.5 Foto-bio-reactor utilizado

Para la realización de los cultivos se utilizaron los FBR de vidrio borosilicato Schott de dos litros de volumen contruidos *ad hoc* descritos en el capítulo 1. En todas las experiencias se colocaron dos litros de medio de cultivo BBM esterilizando en autoclave el reactor completo a 121°C y 1 atm de presión durante 15 minutos, y se inyectó un caudal de aire filtrado constante de 0.4 VVM a través de un compresor de aire.

2.6 Condiciones de Iluminación de los Cultivos

Se llevaron a cabo cultivos iluminados bajo diferentes perfiles de radiación. Cada condición fue lograda utilizando diferentes arreglos de LEDs. Estos ensayos fueron realizados en dos etapas. En una primera instancia se realizaron cultivos utilizando 4 condiciones de iluminación correspondientes a las cuatro regiones de emisión de los LEDs: azul, verde, amarillo y rojo. Luego en una segunda etapa, se realizaron cultivos utilizando una combinación de las dos regiones del espectro de radiación visible más influyentes: la azul y la roja.

Los arreglos de LEDs consisten en la combinación de diferentes tiras de LEDs SMD 3528 (azules y rojos) o 5060 (verdes y amarillos) montadas sobre láminas de acetato de celulosa flexibles que luego son adheridas a la pared externa de los reactores.

Los arreglos fueron montados de manera que cada cultivo recibiera una densidad de flujo de fotones similar (aproximadamente $2.7 \mu\text{mol fotones seg}^{-1}$). En la Fig.2.1 se muestra un diagrama de los 7 arreglos de LEDs montados para irradiar los diferentes cultivos y la composición de cada uno de ellos. Los reactores fueron envueltos en bolsas negras para aislarlos de la radiación externa. La temperatura del reactor fue controlada entre 25-28°C con un baño termostatzado.

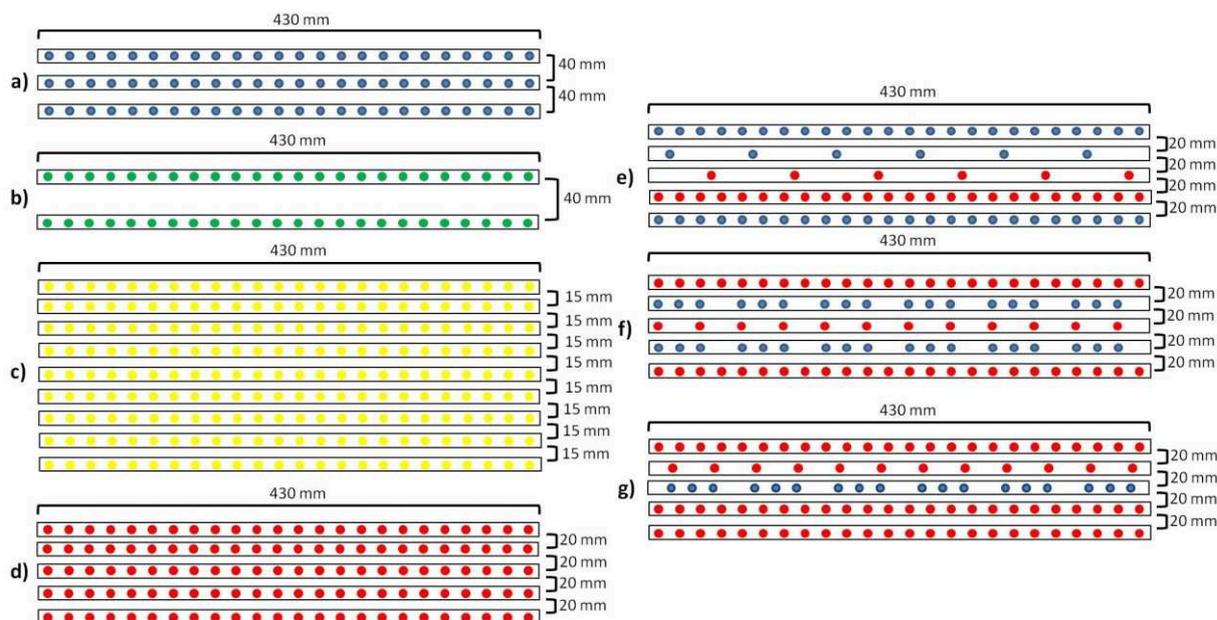


Figura 2.1: Arreglos de LEDs utilizados para el desarrollo de los cultivos de microalgas. a) 100% azul (48 LEDs SMD 3528); b) 100% verde (48 LEDs SMD 5060); c) 100% amarillo (90 LEDs SMD 5060); d) 100% rojo (120 LEDs SMD 3528); e) 25% rojo/ 75% azul (30/54 LEDs SMD 3528); f) 50% rojo/ 50% azul (60/36 LEDs SMD 3528); g) 75% rojo/ 25% azul (90/18 LEDs SMD 3528).

La duración de los cultivos fue de dos semanas, durante las cuales se tomaron muestras de 50 ml diariamente, reponiendo el mismo volumen de medio de cultivo fresco. En el caso que la concentración del nitrato de sodio en el medio de cultivo descendiera por debajo del 40% del valor inicial los cultivos se dieron por finalizados, a fin de que el

crecimiento de las microalgas no se viera influenciado por la disponibilidad de la fuente de nitrógeno.

2.8 Modelado del Campo de Energía Radiante en el Interior de los Reactores Irradiados bajo Distintos Perfiles de Iluminación

El modelado del campo de energía radiante en el interior de los FBRs, será llevado a cabo en base al modelo físico-matemático y al algoritmo computacional descrito en el capítulo 5. En la presente sección, se adoptará la velocidad volumétrica local de absorción de fotones, $r_{vis}^{Abs}(\underline{r}, t)$, como propiedad del campo de energía radiante para el estudio de la influencia del perfil de luz sobre el crecimiento de las microalgas. Esta propiedad, puede obtenerse a partir de la distribución espectral de fotones $n_{vis}(\underline{r}, t)$ de acuerdo a:

$$r_{vis}^{abs}(\underline{r}, t) \left[\frac{\mu mol \text{ fotones}}{m^3 \text{ seg}} \right] = c \alpha_{\lambda}(t) n_{vis}(\underline{r}, t) \quad (2.3)$$

donde c es la velocidad de la luz y α_{λ} es el coeficiente de absorción espectral de fotones.

3. Resultados y Discusión

3.1 Crecimiento de los cultivos de microalgas bajo diferentes perfiles de radiación

En la Fig.3.1 se muestra la evolución de la concentración de biomasa a lo largo del tiempo en los cultivos realizados utilizando los cuatro tipos de LEDs disponibles.

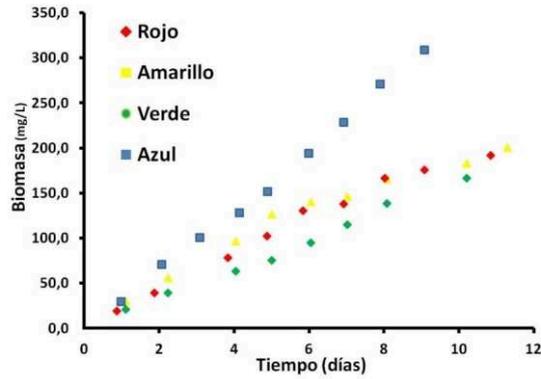


Figura 3.1: Evolución en el tiempo de la concentración de biomasa de los cultivos iluminados con los diferentes arreglos de LEDs construidos.

Se puede observar, que la biomasa producida en el cultivo irradiado con LEDs azules es superior a la alcanzada en los otros tres cultivos, y que los cultivos amarillo y rojo demuestran perfiles de crecimiento similares entre sí. El cultivo irradiado con LEDs verdes es que alcanza la menor producción de biomasa.

En la Fig.3.2, se observa que la producción de clorofilas en el cultivo irradiado con LEDs azules es muy superior a la del resto de los cultivos, siendo las mismas muy similares entre sí. La concentración de NaNO_3 en el medio de cultivo a lo largo del tiempo sigue un patrón similar al de las clorofilas, donde se observa un consumo superior en el cultivo iluminado con LEDs azules; mientras que en el resto de los cultivos el consumo de la fuente de nitrógeno parece ser similar en los tres casos.

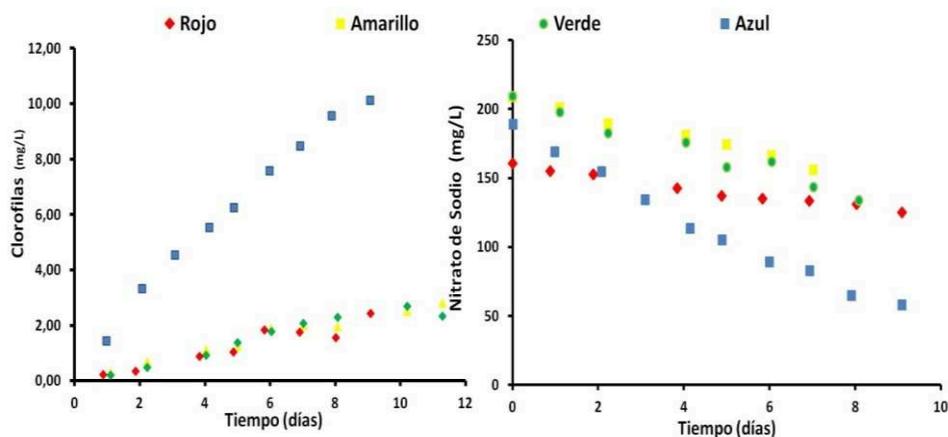


Figura 3.2: Evolución en el tiempo de la concentración de clorofilas totales y del NaNO_3 en los cultivos iluminados con los diferentes arreglos de LEDs rojos, amarillos, verdes y azules.

A fin evaluar el efecto de la combinación de diferentes perfiles de radiación sobre el desarrollo de los cultivos, se llevaron a cabo otra serie de ensayos utilizando tres arreglos de LEDs que combinaran diferentes proporciones de radiación azul y roja (25/75, 50/50 y 75/25).

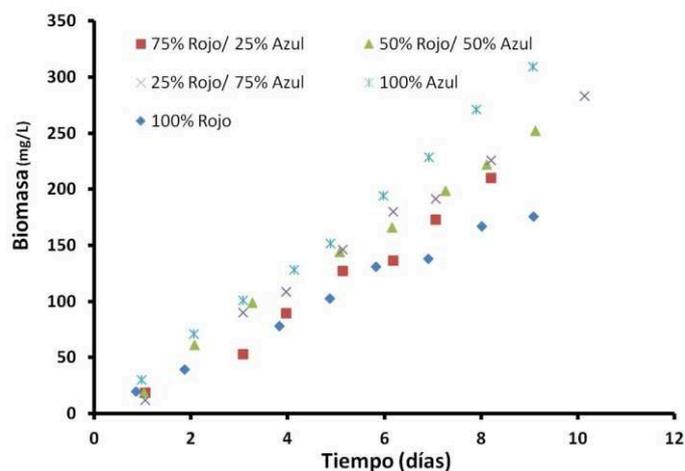


Figura 3.3: Evolución en el tiempo de la concentración de biomasa de los cultivos iluminados con arreglos de LEDs utilizando diferentes proporciones de radiación azul y roja.

En la Fig.3.3 se observa que la producción de biomasa alcanzada en los cultivos aumentaría linealmente a medida que los cultivos son iluminados con mayores proporciones de radiación correspondiente a la región azul del espectro.

Por otro lado, en la Fig.3.4 se muestran los cambios en la concentración de clorofilas en el cultivo y de la concentración de NaNO_3 en el medio a lo largo del tiempo en los diferentes cultivos iluminados con arreglos de LEDs utilizando diferentes proporciones de radiación azul y roja.

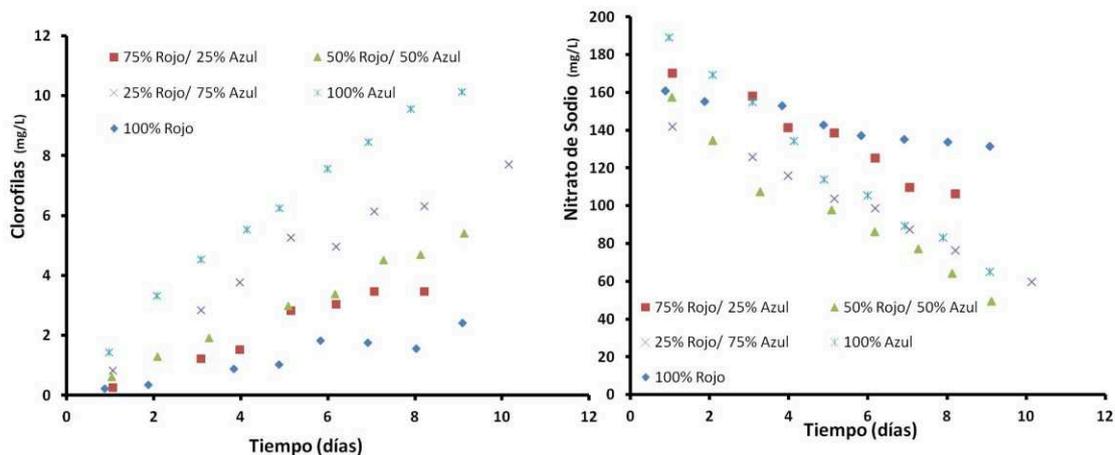


Figura 3.4: Evolución en el tiempo de la concentración de clorofilas totales y del nitrato de sodio en los cultivos iluminados con arreglos de LEDs utilizando diferentes proporciones de radiación azul y roja.

Al igual que con la biomasa, se puede observar que la concentración de clorofilas en los cultivos aumenta en relación al incremento de la proporción de radiación azul recibida por los cultivos. Considerando la concentración de NaNO_3 en el medio de cultivo a lo largo del tiempo, se observa que el consumo de la fuente de nitrógeno es similar en los cultivos que combinan ambos tipos de LEDs, dando un consumo intermedio entre el alcanzado en los cultivos iluminados con radiación azul o roja solamente.

Los resultados mostrados en las Fig.3.1 y 3.4, reflejan la influencia del perfil de radiación recibido por los cultivos sobre la síntesis de clorofilas y la producción de biomasa, donde se evidencia la importancia de la radiación azul sobre el crecimiento celular.

En la tabla 3.1, se muestran las pendientes de las curvas correspondientes a un ajuste lineal del cambio de biomasa, clorofilas y nitrato de sodio en el tiempo, y de la síntesis clorofilas por unidad de biomasa producida en los diferentes cultivos estudiados.

Cultivo	$\Delta x/\Delta t$ (mg biom* $\text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$)	$\Delta \text{clorof}/\Delta t$ (mg clorof* $\text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$)	$\Delta \text{NO}_3/\Delta t$ (mg NO_3^* $\text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$)	$\Delta \text{clorof}/\Delta x$ (mg clorof *mg biom $^{-1}$)
100% Rojo	21,51	0,23	-3,09	1,07E-02
75% Rojo / 25% Azul	23,88	0,41	-9,45	1,72E-02
50% Rojo / 50% Azul	27,08	0,60	-10,41	2,26E-02
25% Rojo / 75% Azul	30,89	0,78	-9,16	2,51E-02
100% Azul	32,62	1,29	-15,80	3,95E-02
100% Amarillo	25,70	0,27	-7,13	1,04E-02
100% Verde	16,00	0,29	-7,09	1,83E-02

Tabla 3.1: pendientes de las gráficas provenientes de un ajuste lineal de las relaciones de biomasa, clorofilas y nitrato en función del tiempo de cultivo y de la síntesis clorofilas por unidad de biomasa producida en los diferentes cultivos estudiados

Los resultados de los cultivos mostraron que la radiación azul posee un claro efecto positivo sobre la producción de biomasa y acumulación de clorofilas. Por otro lado, los perfiles de radiación rojo y amarillo mostraron resultados muy similares entre sí, tanto en la producción de biomasa como en la síntesis de clorofilas, debido posiblemente a la cercanía de ambos perfiles de radiación (Fig.3.5). Se observa que la producción de biomasa en los cultivos irradiados con LEDs verdes es la menor de todos ellos, debido posiblemente a la menor capacidad de absorción de fotones de esta región del espectro visible por parte de las microalgas. Sin embargo, la síntesis de clorofilas es superior a la obtenida bajo los perfiles rojo y amarillo, pero menor al azul. Esto podría deberse a que una pequeña región del espectro de emisión de los LEDs verdes coincide con parte de la región de emisión de los LEDs azules, lo cual podría favorecer en cierta medida la síntesis de clorofilas en el cultivo.

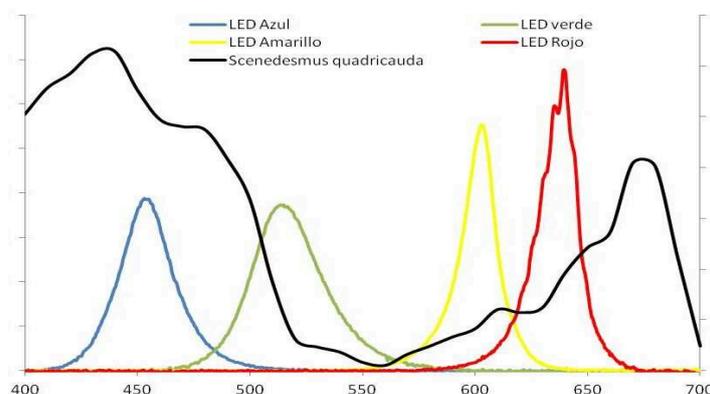


Figura 3.5: perfiles de emisión de los cuatro tipos de LEDs utilizados. En la figura también se muestra el perfil de absorción de un cultivo *Scenedesmus quadricauda*. Las gráficas se muestran en unidades arbitrarias de DO (perfil de absorción) y de intensidad de emisión (perfiles de emisión de los LEDs)

De acuerdo a los resultados obtenidos en los cultivos que combinan diferentes perfiles de radiación se observa que, tanto la producción de biomasa como la de clorofilas, responden en forma directa a las proporciones de radiación (en este caso azul/roja)

recibidas por los FBRs, por lo que en principio podrían llegar a estimarse las producciones de clorofilas y biomasa en cultivos realizados bajo diferentes de perfiles de radiación a partir de los valores de producción obtenidos para cada una de regiones del espectro en forma individual.

3.2 Análisis de la transferencia de dióxido de carbono y oxígeno en los cultivos de microalgas

Debido a que el CO_2 es la única fuente de carbono en los cultivos fotoautotróficos, es importante determinar si el crecimiento celular se encuentra influenciado por la disponibilidad del mismo en el medio de cultivo. Por otro lado, la acumulación de oxígeno en el interior del reactor favorece los fenómenos de foto-inhibición y foto-respiración, llevando a una disminución del rendimiento de producción de biomasa por la energía de radiante absorbida (Nelson y Yocum, 2006).

De acuerdo a lo reportado en la bibliografía (Chisti, 2007), podemos considerar que la composición de las microalgas es aproximadamente igual a $CO_{0.48}H_{1.83}N_{0.11}P_{0.01}$. Se puede estimar entonces que la producción diaria de 1 gr de biomasa, requiere la fijación de 1.88 gr de CO_2 (0.51 gr de carbono). Por otro lado, durante la fijación de una molécula de CO_2 , se produce la liberación de una de O_2 al medio, de esta manera, el consumo de CO_2 y la producción de O_2 en los cultivos puede ser planteada de acuerdo a:

$$r_{CO_2} = -r_x Y_{CO_2/X} \quad (3.1)$$

$$r_{O_2} = r_x Y_{O_2/CO_2} \quad (3.2)$$

A partir de los valores de $k_L a(CO_2)$ y $k_L a(O_2)$ determinados en el capítulo 4, podemos plantear el porcentaje de saturación del CO_2 y O_2 disueltos en el medio de cultivo bajo estas condiciones de aireación y temperatura, y evaluar si las mismas podrían llegar a limitar o inhibir el crecimiento celular.

$$r_{CO_2} = k_L a_{CO_2} C_{CO_2}^* \left(1 - \frac{C_{CO_2}}{C_{CO_2}^*} \right) \quad (3.3)$$

$$r_{O_2} = -k_L a_{O_2} C_{O_2}^* \left(1 - \frac{C_{O_2}}{C_{O_2}^*} \right) \quad (3.4)$$

donde $\frac{C_{CO_2}}{C_{CO_2}^*}$ y $\frac{C_{O_2}}{C_{O_2}^*}$ son los porcentajes de saturación de CO_2 y O_2 , respectivamente,

presentes en el sistema. En la ec. 3.4 el signo negativo indica que el sistema se encuentra sobresaturado, y que el flujo de O_2 irá de desde el líquido hacia la corriente gaseosa. De esta manera, podemos determinar los porcentajes de saturación presentes en nuestro sistema de acuerdo a:

$$\frac{C_{CO_2}}{C_{CO_2}^*} = 1 - \left(r_{CO_2} \frac{1}{k_L a_{CO_2} C_{CO_2}^*} \right) \quad (3.5)$$

$$\frac{C_{O_2}}{C_{O_2}^*} = 1 + \left(r_{O_2} \frac{1}{k_L a_{O_2} C_{O_2}^*} \right) \quad (3.6)$$

En la tabla 3.2 se muestran los valores de $\frac{C_{CO_2}}{C_{CO_2}^*}$ y $\frac{C_{O_2}}{C_{O_2}^*}$ obtenidos para las

condiciones de aireación y rangos de temperatura utilizadas durante los cultivos.

Cultivo	r_x (gr biom L ⁻¹ min ⁻¹)	r_{O_2} (mg O ₂ L ⁻¹ min ⁻¹)	% de saturación de O ₂	r_{CO_2} (mg CO ₂ L ⁻¹ min ⁻¹)	% de saturación de CO ₂
100% rojo (28°C-0.8L/min)	1,49E-05	2,03E-05	101,08%	2,81E-05	70,55%
75% rojo/ 25% azul (28°C-0.8L/min)	1,66E-05	2,26E-05	101,20%	3,12E-05	67,31%
50% rojo/ 50% azul (28°C-0.8L/min)	1,88E-05	2,56E-05	101,36%	3,54E-05	62,93%
25% rojo/ 75% azul (28°C-0.8L/min)	2,14E-05	2,92E-05	101,55%	4,03E-05	57,72%
100% azul (28°C-0.8L/min)	2,27E-05	3,08E-05	101,64%	4,26E-05	55,35%
100% amarillo (28°C-0.8L/min)	1,78E-05	2,43E-05	101,29%	3,35E-05	64,83%
100% verde (28°C-0.8L/min)	1,11E-05	1,51E-05	100,80%	2,09E-05	78,09%
100% rojo (25°C-0.8L/min)	1,49E-05	2,03E-05	101,02%	2,81E-05	72,15%
75% rojo/ 25% azul (25°C-0.8L/min)	1,66E-05	2,26E-05	101,14%	3,12E-05	69,09%
50% rojo/ 50% azul (25°C-0.8L/min)	1,88E-05	2,56E-05	101,29%	3,54E-05	64,95%
25% rojo/ 75% azul (25°C-0.8L/min)	2,14E-05	2,92E-05	101,47%	4,03E-05	60,02%
100% azul (25°C-0.8L/min)	2,27E-05	3,08E-05	101,55%	4,26E-05	57,78%
100% amarillo (25°C-0.8L/min)	1,78E-05	2,43E-05	101,22%	3,35E-05	66,74%
100% verde (25°C-0.8L/min)	1,11E-05	1,51E-05	100,76%	2,09E-05	79,29%

Tabla 3.2: valores de velocidades de crecimiento de biomasa, consumo de CO_2 y producción de O_2 en los cultivos realizados. Se expresan los porcentajes de saturación del CO_2 y O_2 en el sistema de acuerdo a los valores de $k_L a(CO_2)$ y $k_L a(O_2)$ determinados en el capítulo 4

Se observa que el porcentaje de saturación del CO₂ se encuentra siempre por debajo del 80%, por lo que la transferencia del CO₂ en el medio de cultivo sería suficiente para cubrir la demanda de carbono de las microalgas. Por otro lado, la producción de O₂ liberado al medio produce un leve aumento por sobre la saturación de O₂ en el sistema (apenas entre un 1-2%), el cual no sería suficientemente alto como para producir la inhibición del crecimiento celular.

De esta manera, podemos considerar que el crecimiento celular no se vio afectado por la transferencia del CO₂ y O₂ en los cultivos durante los diferentes ensayos.

3.2 Análisis de la distribución del campo de energía radiante en el interior de los cultivos de microalgas

En la presente sección, adoptamos la $r_{VIS}^{Abs}(r,t)$ $\left[\frac{\mu mol \text{ fotones}}{litro \text{ dia}} \right]$ como propiedad del campo de energía radiante para el estudio de la influencia del perfil de luz sobre el crecimiento de las microalgas.

En la Fig.3.6 se muestran los perfiles de distribución de $r_{VIS}^{Abs}(r,t)$ en el interior de los cultivos realizados bajo una misma (o similar) concentración de biomasa.

En los cultivos iluminados con mayor proporción de fotones azules, se observa que los valores de $r_{VIS}^{Abs}(r,t)$ son más de un orden de magnitud mayor en las regiones adyacentes a las posiciones de los LEDs que en las regiones más distantes a las fuentes de radiación. Por otro lado, a pesar a que los distintos perfiles mostrados en la Fig.3.6 están generados a partir de cultivos con densidades celulares similares, los perfiles de distribución del campo de energía radiante en los reactores iluminados con LEDs rojos, verdes o amarillos, son mucho más homogéneos en todo el volumen del FBR aunque los valores máximos alcanzados son mucho menores.

Es importante notar que en el caso de los LEDs amarillos y rojos, el número de fotones emitidos por unidad de tiempo es mucho menor que los emitidos por los LEDs azules (capítulo 2). Esto provoca que el número de LEDs necesario para lograr la misma densidad de emisión de fotones, sea mayor que para los LEDs amarillos y rojos (Fig.2.1). La mayor cantidad de centros de emisión y la menor densidad de fotones emitidos por esta clase de LEDs contribuye en parte a lograr una mejor distribución del campo de energía radiante en el interior de los FBR. Más allá del modo en que se encuentren distribuidas las fuentes de radiación, los valores de α_λ tienen una gran influencia sobre la estratificación de la radiación, ya que como puede observarse en la Fig.3.6.g, el nivel de estratificación en los cultivos irradiados con LEDs verdes es mucho menor que en el caso de los cultivos que utilizan radiación azul, a pesar estos últimos emiten una cantidad de fotones menor a la de los LEDs verdes.

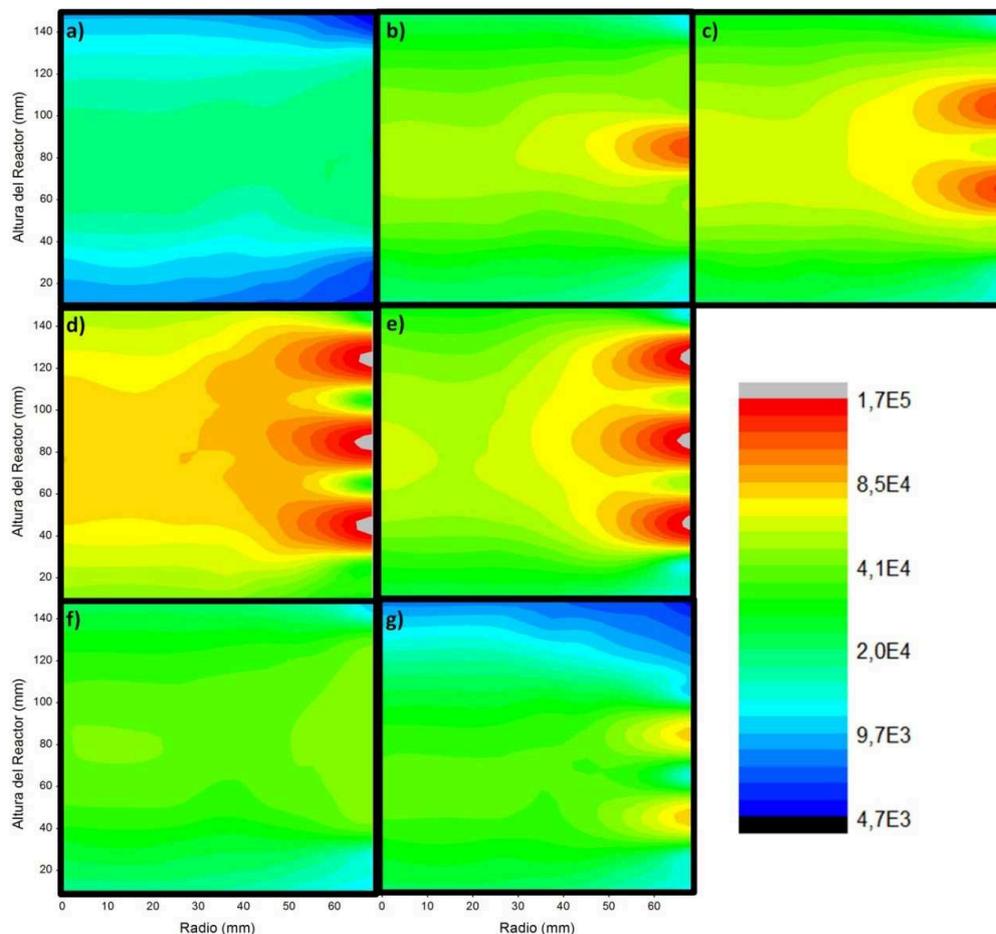


Figura 3.6: perfiles de distribución de los valores de $r_{VIS}^{Abs}(r,t)$ [$\mu\text{mol fotones litro}^{-1} \text{ dia}^{-1}$] en el interior de los cultivos realizados para bajo diferentes perfiles de radiación: a) 100% rojo (185mg/L de biomasa, 2.2mg/L

clorofilas totales); b) 75% rojo/ 25% azul (175mg/L de biomasa, 3.1mg/L clorofilas totales); c) 50% rojo/ 50% azul (175mg/L de biomasa, 3.5mg/L clorofilas totales); d) 25% rojo/ 75% azul (184mg/L de biomasa, 5.0mg/L clorofilas totales); e) 100% azul (180mg/L de biomasa, 4.0mg/L clorofilas totales); f) 100% amarillo (185mg/L de biomasa, 2.0mg/L clorofilas totales); g) 100% verde (175mg/L de biomasa, 3.5mg/L clorofilas totales).

El efecto de la estratificación cobra más importancia a medida que el cultivo aumenta su densidad celular y su contenido de clorofilas, distorsionando la distribución del campo de energía radiante en forma cada vez más marcada. En la Fig.3.7 se muestra el perfil de distribución de los valores de $r_{VIS}^{Abs}(r,t)$ en el interior de los FBR irradiados con LEDs azules en diferentes días del cultivo, donde se observa que a medida que aumenta la densidad celular del cultivo, los valores de $r_{VIS}^{Abs}(r,t)$ aumentan cada vez más en las regiones adyacentes a los LEDs, mientras que el interior los valores de $r_{VIS}^{Abs}(r,t)$ comienzan a descender.

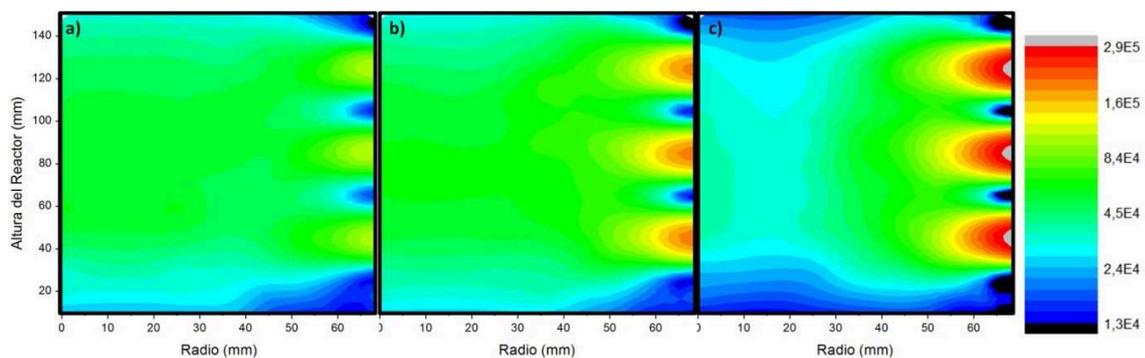


Figura 3.6: perfiles de distribución de los valores de $r_{VIS}^{Abs}(r,t)$ [$\mu\text{mol fotones litro}^{-1} \text{ dia}^{-1}$] en el interior de un cultivo irradiado con LEDs azules con diferentes concentraciones de biomasa y clorofilas: a) 98 mg/L de biomasa, 1.8mg/L clorofilas totales; b) 180 mg/L de biomasa, 4.1 mg/L clorofilas totales; c) 295 mg/L de biomasa, 8.7 mg/L clorofilas totales.

El análisis de la interacción entre el campo de energía radiante y el cultivo de microalgas, considerando las características de la suspensión celular (concentración de biomasa y contenido de clorofilas) y las características de las fuentes de radiación utilizadas fue posible gracias al algoritmo computacional basado en MC desarrollado en el capítulo 5, lo cual demostrando su utilidad para el estudio y modelado de FBRs

3.3 Análisis de la velocidad de absorción promedio de fotones en los cultivos

La densidad del flujo de fotones incidente sobre la superficie de un reactor, es un parámetro normalmente utilizado como base para el diseño experimental en estudios acerca del efecto de las propiedades del campo de energía radiante sobre el crecimiento de las microalgas. Sin embargo, esta condición de contorno por sí misma no puede determinar la distribución de la luz en el interior de un cultivo de microalgas, o la velocidad local de absorción de fotones.

Por ejemplo, una situación desfavorable podría ocurrir en un instante del cultivo en el cual la estratificación de la luz en el interior del FBR llegase al punto en el cual una gran porción del volumen total no reciba suficiente luz como para llevar a cabo el proceso fotosintético, convirtiéndose de esta manera en las denominadas “zonas oscuras”. Bajo estas condiciones el reactor operaría como si reactores de diferentes tamaños coexistieran en su interior, cada uno de ellos operando bajo un régimen diferente de radiación local.

Para la simulación del campo de energía radiante en el interior de los cultivos, el volumen total del reactor fue dividido en unidades elementales de igual tamaño, y un valor de $r_{VIS}^{Abs}(\underline{r}, t)$ fue asignado a cada uno de estos sub-volúmenes obteniendo los perfiles de distribución mostrados en las Fig.3.5 y 3.6.

En la Fig.3.7 se encuentran los diagramas de caja que muestran la dispersión de los valores de $r_{VIS}^{Abs}(\underline{r}, t)$ alrededor del valor promedio en los diferentes cultivos irradiados con los distintos arreglos de LEDs mostrados en la Fig.3.5. La dispersión de los valores es mayor en las condiciones de iluminación que favorecen el aumento del contenido de clorofilas en los cultivos, favoreciendo la estratificación de la luz en el medio y la posible aparición de “zonas oscuras”.

Se puede observar como en los cultivos con mayor proporción azul se alcanzan diferencias en los valores de $r_{VIS}^{Abs}(\underline{r}, t)$ de más del 500% entre los valores máximos y mínimos presentes en el interior del reactor. Por otro lado, aquellos cultivos donde los valores de $r_{VIS}^{Abs}(\underline{r}, t)$ fueron menores (cultivos con radiación amarilla y roja) obtienen las menores desviaciones respecto del valor promedio de $r_{VIS}^{Abs}(\underline{r}, t)$.

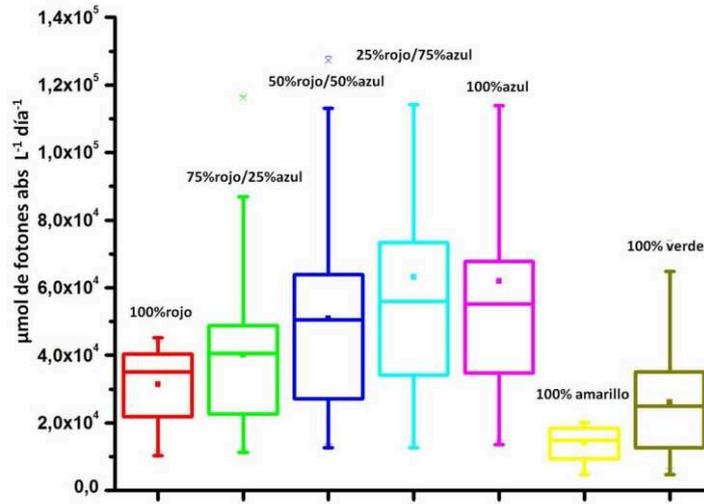


Figura 3.7: gráficos de caja mostrando la dispersión de los valores de $r_{VIS}^{Abs}(r,t)$ [$\mu\text{mol fotones litro}^{-1} \text{ día}^{-1}$] en el interior de los cultivos realizados para bajo diferentes perfiles de radiación: 100% rojo (185mg/L de biomasa, 2.2mg/L clorofilas totales); 75% rojo/ 25% azul (175mg/L de biomasa, 3.1mg/L clorofilas totales); 50% rojo/ 50% azul (175mg/L de biomasa, 3.5mg/L clorofilas totales); 25% rojo/ 75% azul (184mg/L de biomasa, 5.0mg/L clorofilas totales); 100% azul (180mg/L de biomasa, 4.0mg/L clorofilas totales); 100% amarillo (185mg/L de biomasa, 2.0mg/L clorofilas totales); 100% verde (175mg/L de biomasa, 3.5mg/L clorofilas totales).

3.4 Análisis de la eficiencia fotosintética de la radiación recibida por los cultivos para la producción de biomasa

A fin de evaluar la eficiencia fotosintética de la radiación recibida por cada uno de los cultivos a partir de los diferentes arreglos de LEDs, es importante considerar tanto el número de fotones como la energía que portan los mismos, en los procesos de emisión y absorción de la fuente de radiación y los cultivos respectivamente.

Con este fin, fue determinada la energía total emitida por cada uno de los arreglos de LEDs, $E_{luz\ emitida}$ [$\frac{joule}{día}$], utilizados en los diferentes cultivos de acuerdo a:

$$E_{luz\ emitida} \left[\frac{joule}{día} \right] = h \left[\frac{joule\ seg}{foton} \right] n_a \left[\frac{foton}{\mu mol\ fotones} \right] c \left[\frac{m}{seg} \right] \int_{\lambda} L_{\lambda} \left[\frac{\mu mol\ fotones}{día\ nm} \right] \frac{d\lambda}{\lambda [m]} \quad (3.7)$$

y la energía total absorbida, $E_{luz\ abs.}$ [$\frac{joule}{día}$], por las microalgas basados en los valores de

$r_{VIS}^{Abs}(r,t)$ de acuerdo a:

$$E_{luz\ abs.} \left[\frac{joule}{dia} \right] = h \left[\frac{joule\ seg}{foton} \right] n_a \left[\frac{foton}{\mu mol\ fotones} \right] c \left[\frac{m}{seg} \right] \iint_{r,\lambda} r_{\lambda}^{abs}(r,t) \left[\frac{\mu mol\ fotones}{dia\ litro\ nm} \right] \frac{1}{\lambda [m]} d\lambda dr \quad (3.8)$$

Luego se determinó la fracción de la energía total emitida por cada arreglo de LEDs que es absorbida por los cultivos, $\phi_{(luz\ abs./luz\ emitida)}$, de acuerdo a:

$$\phi_{(luz\ abs./luz\ emitida)} = E_{luz\ abs.} / E_{luz\ emitida} \quad (3.9)$$

Finalmente se calculó la eficiencia de la energía radiante absorbida para la producción de biomasa, $\phi_{(biomasa/luz\ abs.)}$:

$$\phi_{(biomasa/luz\ abs.)} \left[\frac{mg}{joule} \right] = \Delta M_{biomasa} \left[\frac{mg}{dia} \right] / E_{luz\ abs.} \left[\frac{joule}{dia} \right] \quad (3.10)$$

Los resultados obtenidos se muestran en las Fig.3.8 y 3.9:

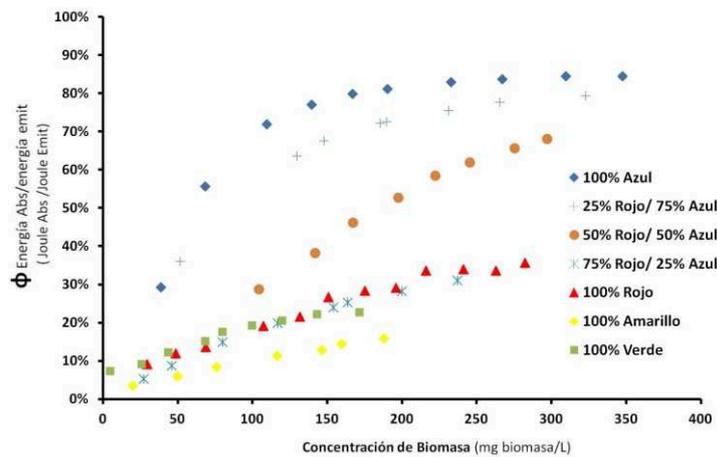


Figura 3.8: Fracción de energía absorbida a partir de la energía emitida por cada arreglo de LEDs en los diferentes cultivos realizados

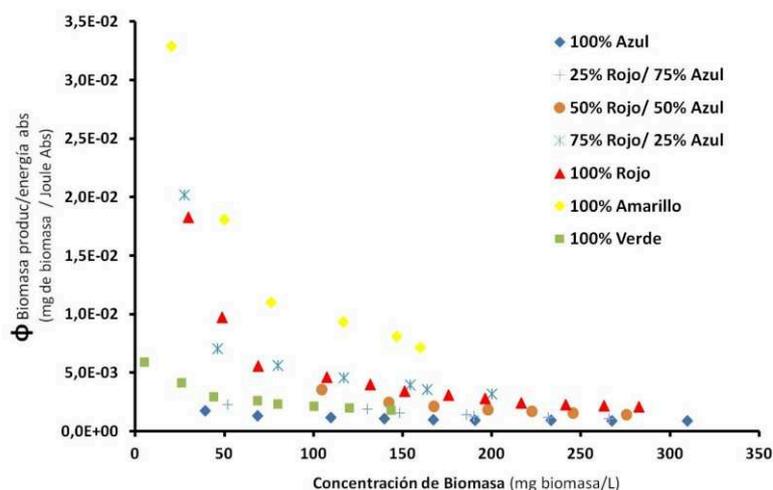


Figura 3.9: Eficiencia de producción de biomasa por unidad de energía absorbida por los cultivos de microalgas bajo diferentes perfiles de radiación.

En la Fig.3.8 se observa que la fracción de energía absorbida del total emitido por cada arreglo de LEDs es mayor en los cultivos irradiados con mayor proporción de radiación azul, y que aquellos irradiados con LEDs verdes o amarillos logran porcentajes de absorción similares a los cultivos iluminados con LEDs rojos (los amarillos son un poco menor inclusive). Sin embargo, en la Fig.3.9 se observa que la radiación absorbida de los LEDs amarillos y rojos es más eficiente para la producción de biomasa que la absorbida por los LEDs azules y verdes.

Por otro lado, los cultivos que combinan diferentes proporciones de radiación azul y roja, se observa que tanto los rendimientos de absorción de energía como de producción de biomasa a partir de la energía absorbida, alcanzan valores intermedios a los obtenidos en los cultivos iluminados con LEDs azules o rojos en forma individual, y que los mismos serían proporcionales las fracciones de luz azul y roja recibidas por los reactores.

Estos resultados muestran que la mayor producción de biomasa en los cultivos iluminados con radiación azul va en detrimento de una menor eficiencia energética en la utilización de la radiación recibida, mientras que en los cultivos irradiados con LEDs rojos o amarillos se observa el efecto inverso.

La absorción fotones de elevada energía (región azul-verde del espectro) por parte de las clorofilas puede provocar la promoción de un electrón hasta el segundo estado

singlete. Este estado es muy inestable por lo que debe desactivarse antes de poder ser utilizado para producir trabajo químico. El proceso de desactivación puede llevarse a cabo por pérdida de calor a través de procesos de vibraciones y rotaciones hasta alcanzar el primer estado singlete (los fotones de menor energía, 600-700 nm región amarilla/roja del espectro, promueven el electrón directamente hasta este estado) (Horton y col., 1995). Luego a partir de allí, se produce la transferencia del excitón hacia el centro de reacción a través del sistema de antenas, lo cual ocurre mucho más rápido que la separación de cargas en el par especial de clorofilas en el centro de reacción (P680 y P700) para la posterior transferencia a la cadena transportadora de electrones (0.1 y 3.4 picosegundos respectivamente) (Heldt, 2005). De esta manera, los fotones absorbidos son acumulados en un pool de excitones para ser luego transferidos al centro de reacción independientemente de la energía portada por el fotón al comienzo del proceso. Este mecanismo podría explicar porque los fotones correspondientes a las regiones azul-verde del espectro mostraron ser menos eficientes para la producción de biomasa que los correspondientes a las regiones amarilla-roja.

4. Conclusiones

El uso de diferentes perfiles de radiación para el cultivo de microalgas genera cambios sobre el desarrollo celular. La radiación azul favorece el aumento del número de clorofilas por unidad de biomasa, las cuales se reordenan aumentando su presencia en los complejos captadores de luz y en los centros de reacción aumentando el tamaño de los PSII (Humbeck y col, 1988). Sin embargo, la radiación correspondiente a la zona roja del espectro visible provoca que los cultivos alcancen velocidades de fotosíntesis y máximos de saturación superiores a los alcanzados por los cultivos irradiados con luz azul, lo cual justificaría la mayor eficiencia de la energía absorbida por los cultivos irradiados con mayor proporción de luz roja para la producción de biomasa (Fig.3.9). Este proceso de adaptación fotosintética, realizado por algas y también por plantas superiores, implica cambios y

regulaciones complejas en la síntesis de clorofilas, en la capacidad fotosintética y en el grado de apilamiento y compactación tilacoidal (Thielmann y col, 1991).

Las diferencias en la adaptación de las microalgas observada frente a diferentes perfiles de radiación, plantean la acción de foto-receptores que modulen estos efectos. En microalgas, se han identificado diferentes tipos de foto-receptores que actúan sobre las regiones azul (criptocromos) y roja (fitocromos) del espectro de radiación visible. Se ha reportado que el género *Scenedesmus* posee ambos tipos de foto-receptores y que los mismos actuarían estimulando la síntesis de clorofilas bajo niveles de radiación medios o altos, aunque la respuesta generada por la luz azul es mucho mayor (Hermsmeier y col, 1991). De esta manera, las similitudes en las respuestas observadas en los cultivos iluminados con radiación verde o amarilla con los cultivos azules y rojos, respectivamente, podrían deberse a la superposición de una parte del espectro de emisión de los LEDs con el perfil de respuesta de estos foto-receptores.

El análisis de la distribución del campo radiante en el interior de los FRBs (Fig.3.6), mostró que en los cultivos irradiados con radiación roja, amarilla o verde; las velocidades de absorción de fotones son menores que las alcanzadas en cultivos iluminados con LEDs azules. Este hecho provoca una estratificación de la radiación mucho mayor en estos últimos, debido principalmente a que los valores de los coeficientes de absorción α_λ para los fotones correspondientes a la región azul del espectro. Una elevada velocidad de absorción sobre las paredes de los reactores puede dar lugar a la generación de "zonas oscuras" en el centro de los mismos, donde los niveles bajos de radiación pudieran no ser suficientes para mantener el crecimiento de las algas, llevando a un menor rendimiento en el crecimiento celular.

La metodología experimental planteada y el análisis de la distribución del campo de energía radiante utilizando el modelo físico/matemático basado en MC desarrollado en el capítulo 5, permitieron llevar adelante la evaluación acerca de los efectos de diferentes condiciones de irradiación y diferentes configuraciones de un FBR sobre el crecimiento de

microalgas, demostrando la necesidad de evaluar tanto la producción de biomasa, como la eficiencia con la cual es alcanzada la misma, a fin de determinar correctamente que condición de iluminación es la óptima para un determinado sistema de cultivo de microalgas en estudio.

5. Bibliografía

- Brindley Alías C., García-Malea López M.C., Ación Fernández F.G., Fernández Sevilla J.M., García Sánchez J.L., Molina Grima E. (2004). Influence of power supply in the feasibility of *Phaeodactylum tricornutum* cultures. *Biotechnology and Bioengineering*. 87(6): 723–733.
- Burczyk J., Smietana B., Termínska-Pabis K., Zych M., Kowalowski P. (1999). Comparison of nitrogen content amino acid composition and glucosamine content of cell walls of various chlorococcalean algae. *Phytochemistry*. 51: 491-497.
- Chisti Y. (2007) Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances* 25: 294–306.
- Collos Y., Mornet F., Sciandra A., Waser N., Larson A., Harrison P.J. (1999). An optical method for the rapid measurement of micromolar concentrations of nitrate in marine phytoplankton cultures. *Journal of Applied Phycology*. 11(2): 179-184.
- Cordero B. F., Obraztsova I., Couso I., León R., Vargas M. A., Rodríguez H. (2011) Enhancement of Lutein Production in *Chlorella sorokiniana* (Chlorophyta) by Improvement of Culture Conditions and Random Mutagenesis, *Marine Drugs* 9: 1607-1624.
- Das P., Lei W., Aziz S.S., Obbard J.P.(2011). Enhanced algae growth in both phototrophic and mixotrophic culture under blue light *Bioresource Technology*. 102(4): 3883–3887.
- Demirbas A. (2011) Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: A solution to pollution problems. *Applied Energy* 88: 3541–3547.
- Heldt H.W. (2005) The use of energy from sunlight by photosynthesis is the basis of life on earth. En: *Plant Biochemistry*. (Eds.: Hans-Walter Heldt in cooperation with Fiona Heldt) Elsevier. San Diego, USA. p: 45-66.
- Hermsmeier D., Eleni Mala E., Schulz R., Thielmann J., Galland P., Senger H. (1991). Antagonistic blue and red-light regulation of cab-gene expression during photosynthetic adaptation in *Scenedesmus obliquus*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*. 11: 189-202.
- Horton P., Ruban A. V., Walters R. G. (1996). Regulation of light harvesting in green plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 47: 655–684.

- Humbeck K., Hoffmann B., Senger H. (1998). Influence of energy flux and quality of light on the molecular organization of the photosynthetic apparatus in *Scenedesmus*. *Planta*. 173: 205-212.
- Jeon Y.C., Cho C. W., Yun Y.S. (2005) Measurement of microalgal photosynthetic activity depending on light intensity and quality. *Biochemical Engineering Journal* 27: 127–131.
- Jeong H., Lee J., Cha M. (2013) Energy efficient growth control of microalgae using photobiological methods. *Renewable Energy*. 54: 161-165.
- Katsuda, T., Lababpour, A., Shimahara, K. and Katoh, S. (2004). Astaxanthin Production by *Haematococcus pluvialis* under Illumination with LEDs. *Enzyme and Microbial Technology*. 35: 81-86.
- Kaçka A., Dönmez G. (2008). Isolation of *Dunaliella* spp. from a hypersaline lake and their ability to accumulate glycerol. *Bioresource Technology*. 99: 8348–8352.
- Kim Z.H., Lee H.S., Lee C.G. (2009). Red and Blue Photons Can Enhance the Production of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Algae*. 24(2): 121-127
- Lan J.C, Raman K., Huang C.M., Chang C.M. (2013). The impact of monochromatic blue and red LED light upon performance of photo microbial fuel cells (PMFCs) using *Chlamydomonas reinhardtii* transformation F5 as biocatalyst. *Biochemical Engineering Journal*. 78: 39– 43.
- Mishra S. K., Shrivastava A., Maurya R. R., Patidar S. K., Haldar S., Mishra S. (2012) Effect of light quality on the C-phycoerythrin production in marine cyanobacteria *Pseudanabaena* sp. isolated from Gujarat coast, India. *Protein Expression and Purification* 81: 5–10.
- Nelson N., Yocum C. F. (2006) Structure and Function of Photosystems I and II. *Annual Review of Plant Biology*. 57:521–65.
- Perez-Garcia O., Escalante F.M.E., de-Bashan L.E., Bashan Y. (2011). Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. *Water Research*. 45(1): 11–36.
- Perner-Nochta I., Lucumi A., Posten C. (2007). Photoautotrophic Cell and Tissue Culture in a Tubular Photobioreactor. *Engineering in Life Sciences*. 7(2): 127–135.

- Ritchie R. J. (2006). Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research*. 89:27–41.
- Rocha J.M.S., García J.E.C., Henriques M.H.F. (2003). Growth aspects of the marine microalga *Nannochloropsis gaditana*. *Biomolecular Engineering*. 20: 237-242.
- Thielmann J., Galland P., Senger H. (1991). Action spectra for photosynthetic adaptation in *Scenedesmus obliquus* I. Chlorophyll biosynthesis under autotrophic conditions. *Planta* 183: 334-339.
- Wang C.Y., Fu C.C., Liu Y.C. (2007). Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. *Biochemical Engineering Journal*. 37: 21–25.
- Zhao Y., Wang J., Zhang H., Yan C., Zhang Y. (2013). Effects of various LED light wavelengths and intensities on microalgae-based simultaneous biogas upgrading and digestate nutrient reduction process. *Bioresource Technology* 136: 461–468.

CAPÍTULO 7

Cinética de propagación celular de *Scenedesmus quadricauda* considerando diferentes perfiles de radiación

1. Introducción

Las microalgas se encuentran entre los organismos foto-autotróficos más productivos de la naturaleza debido a su elevada eficiencia fotosintética. Sin embargo, actualmente las eficiencias y productividades alcanzadas en grandes reactores son dos o tres órdenes de magnitud menores que el valor teórico esperado. Existen grandes diferencias entre la velocidad de absorción de fotones y la capacidad de las microalgas de utilizar su energía (transporte de electrones), más del 50% de la pérdida de energía asociada a la conversión de la energía radiante en energía química durante la fotosíntesis se atribuye a este hecho (Perrine y col., 2012). Debido a esto, es importante lograr la optimización tanto de la intensidad de energía que reciben los cultivos de microalgas, como del perfil de longitudes de onda de dicha radiación.

El modelado matemático es una herramienta muy útil para el diseño y optimización de los bio-procesos. La importancia de obtener cinéticas intrínsecas de crecimiento, radica en su utilización para diseño racional de reactores y el potencial cambio de escala de los cultivos realizados, analizando distintas condiciones de crecimiento sin la necesidad de llevarlas a cabo a la práctica (Bitaubé Pérez y col., 2008).

El crecimiento celular de organismos fotosintéticos depende principalmente de la disponibilidad y utilización de la radiación recibida. El modelado del campo de energía radiante dentro de los FBRs es una tarea muy compleja debido a la naturaleza de estos sistemas, en los cuales se producen interacciones entre la luz, las paredes del reactor, el medio de cultivo, las microalgas y las burbujas de aire que proveen el CO₂ y la agitación del sistema.

En la bibliografía, se encuentran diversos ejemplos de estudios que consideran la densidad de radiación incidente sobre la superficie de los FBR como parámetro para relacionar el crecimiento de las microalgas con las condiciones de iluminación de los cultivos (Wang y col., 2007). Este modelo de distribución de radiación tan simplificado, considera que todas las células en el interior del reactor reciben la misma densidad de

radiación en cualquier instante de tiempo, por lo que los resultados obtenidos bajo este análisis pueden llegar a resultar erróneos, dependiendo de la densidad celular de los cultivos, de la geometría del reactor y de las condiciones de iluminación del cultivo.

Un modelo más apropiado, introduce el concepto de densidad de radiación promedio. Este enfoque, plantea la integración de la radiación en todo el volumen del reactor para la obtención de un valor de intensidad promedio (Ogbonna y Tanaka, 2000). La intensidad de radiación es determinada de acuerdo a un decaimiento exponencial a medida que el haz de fotones atraviesa el cultivo de acuerdo a la Ley de Lambert-Beer (He y col., 2012) considerando las suspensiones de microalgas como medios puramente absorbentes. Este análisis puede llegar a resultar inapropiado en ocasiones en que los cultivos alcanzan densidades celulares elevadas, debido a que solo considera fotones que viajan en direcciones paralelas y no considera el aporte de los fotones con otras direcciones debido al fenómeno de *scattering* o a la propia forma de emisión de la fuente de radiación utilizada (Huang y col., 2012).

Durante el desarrollo de los cultivos de microalgas, el incremento del número de células provoca el aumento de la absorción de fotones en las regiones más cercanas a la fuente de radiación. De esta manera, elevadas concentraciones de biomasa en el interior de los FBRs producen el aumento del volumen de las zonas del reactor en donde la intensidad de radiación local no es suficiente como para llevar adelante el crecimiento celular (zonas oscuras) (Huang y col., 2012). Este hecho, provoca que los valores de intensidad de radiación promedio en el interior del reactor pierdan validez para modelar los sistemas.

Los trabajos que llevan adelante un análisis riguroso de la distribución del campo de energía radiante en cada punto del interior de los cultivos de microalgas consideran tanto los fenómenos de absorción como los de *scattering* (Berberoğlu y Pilon, 2007; Heinrich y col., 2013). Estos estudios logran obtener un perfil de distribución de radiación en cada punto del interior de los FBR, a fin de relacionar en forma correcta el crecimiento de las microalgas con la radiación recibida por el sistema, sin importar las características de la fuente de radiación, la concentración celular o el tipo de FBR utilizado.

En el presente capítulo, a partir de los resultados obtenidos en los capítulos 5 y 6, se propone el ajuste de una cinética de propagación celular para *Scenedesmus quadricauda*, considerando la distribución del campo de energía radiante en cada punto del interior de un FBR, a partir del desarrollo de un algoritmo computacional basado en un algoritmo genético (AG). Finalmente se evaluará el modelo cinético propuesto llevando a cabo un cultivo de *Scenedesmus quadricauda* en un reactor diferente volumen bajo un perfil de iluminación que combine los cuatro tipos de LEDs utilizados, evaluando los resultados experimentales y los predichos por el modelo.

2. Materiales y Métodos

2.1 Modelo cinético de propagación celular propuesta para el crecimiento de *Scenedesmus quadricauda* utilizando diferentes perfiles de radiación

En la presente sección, se propone el ajuste de un modelo no estructurado simple para la propagación de biomasa y producción de clorofilas de *Scenedesmus quadricauda*. Una cinética de crecimiento utilizada normalmente para el modelado del crecimiento de microorganismos fotosintéticos (Molina Grima y col., 1999) es la propuesta por Aiba en 1982:

$$r_x = \frac{\mu S}{K_1 + K_2 S + \frac{S^2}{K_3}} x \quad (2.1)$$

donde x es la concentración de microalgas en el reactor, S es la densidad del flujo de fotones sobre la superficie de los cultivos y μ , K_1 , K_2 y K_3 son constantes del modelo. De acuerdo a la expresión anterior, puede observarse que el modelo contempla tanto la posibilidad de saturación como la de inhibición del crecimiento celular en base a las condiciones de radiación presentes en el cultivo (Masojídek y col., 2004).

Se propone el ajuste de un modelo de crecimiento basado en la ecuación (2.1), considerando r_{λ}^{abs} como propiedad del campo radiante para modelar la interacción de la luz con el crecimiento celular.

En base a los resultados obtenidos en el capítulo anterior, se dividirá el espectro de radiación visible en cuatro regiones correspondientes a los perfiles de emisión de los LEDs utilizados en el capítulo 6, considerando los fotones de cada una de las regiones como sustratos independientes. De esta manera, se propone el siguiente expresión para modelar el crecimiento de *Scenedesmus quadricauda*:

$$r_x(\underline{r}, t) \left[\frac{mg \text{ biom}}{L \text{ dia}} \right] = x \left[\frac{\left(\sum_{\lambda_1}^{\lambda_n} \mu_{\lambda}^x r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t) \right)}{K_m^x x + \left(\sum_{\lambda_1}^{\lambda_n} K_{2,\lambda}^x r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t) \right) + \left(\sum_{\lambda_1}^{\lambda_n} K_{3,\lambda}^x (r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t))^2 \right)} \right] \quad (2.2)$$

donde $\mu_{\lambda}^x [\mu mol \text{ fot}^{-1}]$, $K_{2,\lambda}^x [dia \mu mol \text{ fot}^{-1}]$ y $K_{3,\lambda}^x [dia^2 L \mu mol \text{ fot}^{-2}]$ son las constantes cinéticas relacionadas a la eficiencia de producción de biomasa de los fotones correspondientes a cada una de las diferentes regiones del espectro de emisión de los LEDs utilizados (azul, verde, amarillo y rojo); $K_m^x [mg \text{ biom}^{-1}]$ es una constante de saturación por biomasa; $r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t) [\mu mol \text{ fot } L^{-1} \text{ dia}^{-1}]$ es la velocidad local de absorción de fotones; $x [mg \text{ biom } L^{-1}]$ es la concentración de microalgas y $r_x(\underline{r}, t) [mg \text{ biom } L^{-1} \text{ dia}^{-1}]$ es la velocidad local de producción de biomasa en cada punto del reactor.

En el capítulo 6, se determinó que la producción de clorofilas aumentaba proporcionalmente con la síntesis de biomasa, y que el perfil de longitudes de onda recibido por los cultivos influye directamente sobre el nivel de acumulación de clorofilas. Se observó que los cultivos crecidos con radiación azul mostraron la mayor síntesis de clorofilas, y que la combinación de diferentes perfiles de radiación lograba producciones de clorofilas proporcionales a los valores de alcanzados con los cultivos bajo los perfiles utilizados en

forma individual. En base a esto, se propuso modelar la producción de clorofilas de acuerdo a cinética de tipo Monod:

$$r_{ch}(\underline{r}, t) \left[\frac{mg\ ch}{L\ dia} \right] = r_x(\underline{r}, t) \left[\frac{\left(\sum_{\lambda_1}^{\lambda_n} \mu_{\lambda}^{ch} r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t) \right)}{K_m^{ch} + \left(\sum_{\lambda_1}^{\lambda_n} K_{2,\lambda}^{ch} r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t) \right)} \right] + x K_3^{ch} \quad (2.3)$$

donde $\mu_{\lambda}^{ch} [mg\ ch\ mg\ biom^{-1}]$, $K_m^{ch} [\mu mol\ fot]$ y $K_{2,\lambda}^{ch} [dia\ L]$ son las constantes cinéticas relacionadas a la eficiencia de producción de clorofilas de los fotones correspondientes a cada una de las diferentes regiones del espectro de emisión de los LEDs utilizados (azul, verde, amarillo y rojo) relacionadas con la producción de biomasa; $K_3^{ch} [mg\ ch\ mg\ biom^{-1}\ dia^{-1}]$ es una constante de producción de clorofilas debido a la biomasa existente; $r_x(\underline{r}, t) [mg\ biom\ L^{-1}\ dia^{-1}]$ es la velocidad local de producción de biomasa; $x [mg\ biom\ L^{-1}]$ es la concentración de microalgas y $r_{ch}(\underline{r}, t) [mg\ ch\ L^{-1}\ dia^{-1}]$ es la velocidad local de producción de clorofilas en cada punto del reactor.

Se observa que cuando un cultivo recibe un perfil radiación que combina las diferentes regiones del espectro consideradas, a medida aumenten los valores de $r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t)$ para una determinada región del espectro, la velocidad de producción de clorofilas se asemejará cada vez más a la velocidad de producción lograda durante el crecimiento bajo ese único perfil de radiación.

De esta manera, a partir de la información experimental de los cultivos realizados en el capítulo 6, en la siguiente sección se desarrollará un programa computacional basado en un AG para la regresión de los parámetros de las expresiones cinéticas propuestas.

2.2 Regresión de los parámetros del modelo cinético propuesto a partir del desarrollo de un programa basado en un Algoritmo Genético

En la presente sección se llevará a cabo la regresión de los parámetros del modelo cinético propuesto (ec. (2.2) y (2.3)) a través del desarrollo de un programa computacional basado en un AG.

El método de evaluación para la selección de los individuos de las diferentes poblaciones (conjunto de constantes del modelo cinético propuesto) aplicado en el AG utilizado será llevado a cabo de la siguiente manera:

- Se proponen valores iniciales de $x(t)_{ajuste}$ y $ch(t)_{ajuste}$ y a partir de ellos se determina el perfil de distribución del campo de energía radiante en cada punto del reactor (valores de $r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t)$), a partir el programa de simulación basado en MC desarrollado en el capítulo 5.
- Una vez obtenidos los valores de $r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t)$ para las concentraciones de biomasa y clorofilas propuestas, se procede a calcular $r_x(\underline{r}, t)$ y $r_{ch}(\underline{r}, t)$ en cada punto del reactor a partir de las ec. (2.2) y (2.3).
- A partir de los valores de $r_x(\underline{r}, t)$ y $r_{ch}(\underline{r}, t)$, se obtendrán $x(t + \Delta t)_{ajuste}$ y $chl(t + \Delta t)_{ajuste}$ de acuerdo a:

$$x(t + \Delta t)_{ajuste} = \sum_{i=1}^{i=n} r_x(\underline{r}_i, t) \Delta t \frac{1}{n} + x(t)_{ajuste} \quad (2.4)$$

$$chl(t + \Delta t)_{ajuste} = \sum_{i=1}^{i=n} r_{ch}(\underline{r}_i, t) \Delta t \frac{1}{n} + chl(t)_{ajuste} \quad (2.5)$$

donde n es el número total de sub-volúmenes evaluados (todos ellos de igual tamaño) a partir del mallado del volumen del FBR realizado para el modelado del campo de energía radiante. Los intervalos de tiempo Δt considerados serán los correspondientes a los instantes de las determinaciones de $x(t)_{exp}$ y $chl(t)_{exp}$ durante los cultivos experimentales.

- Los valores obtenidos de $x(t + \Delta t)_{ajuste}$ y $ch(t + \Delta t)_{ajuste}$ serán utilizados para comenzar nuevamente el ciclo y generar de esta manera y en forma sucesiva, todos los valores de $x(t)_{ajuste}$ y $ch(t)_{ajuste}$ correspondientes a cada una de las medidas experimentales de los diferentes cultivos realizados en el capítulo 6.
- La de función de adaptación, de los mejores individuos cada población es la siguiente:

$$f_{Error} = \sum_{t_i}^{t_f} \left| \frac{x(t)_{exp} - x(t)_{ajuste}}{x(t)_{exp}} \right| + \left| \frac{ch(t)_{exp} - ch(t)_{ajuste}}{ch(t)_{exp}} \right| \quad (2.6)$$

de manera que los individuos de la población que generen una serie de valores de $x(t)_{ajuste}$ y $ch(t)_{ajuste}$ que presenten las menores desviaciones frente a los valores de $x(t)_{exp}$ y $ch(t)_{exp}$ para cada cultivo (menor valor de la f_{Error}), serán favorecidos en la selección de los candidatos para ser promovidos a la próxima generación y volver a comenzar el ciclo reproductivo descrito en el capítulo 4.

Luego de un número suficiente de generaciones (condición de salida), el programa converge (o no dependiendo del caso) hacia una solución del sistema, seleccionando el mejor individuo (valores del conjunto de constantes del modelo cinético) dando por finalizado el programa.

De acuerdo a las ec. (2.2) y (2.3), en el caso de los cultivos que se encuentran iluminados con un solo tipo de LED, los valores de $r_{\lambda}^{abs}(r, t)$ para el resto de regiones del espectro no utilizadas serán igual a cero, mientras que en los cultivos que combinan diferentes proporciones de LEDs azules y rojos, se considerará el aporte de ambas regiones utilizando las mismas constantes obtenidas en los cultivos que utilizan cada uno de los LEDs es forma individual.

2.3 Validación de la cinética de propagación celular propuesta para *Scenedesmus quadricauda*

A fin de realizar la validación del modelo teórico propuesto, se llevó a cabo el cultivo de *Scenedesmus quadricauda* bajo condiciones de iluminación que simulen las condiciones de iluminación de un reactor a cielo abierto durante las horas de máxima radiación solar (medio día), comparando los resultados experimentales y los resultados predichos a partir del modelo de crecimiento propuesto.

2.3.a Microorganismo utilizado y preparación de inóculos

Los cultivos se llevarán a cabo utilizando la cepa *Scenedesmus quadricauda* 276/21 y el medio de cultivo BBM descritos en el capítulo 1.

La realización de los inóculos para los cultivos fueron llevados a cabo de acuerdo a la descrito en el capítulo 6.

2.3.b Determinación de la Concentración de Biomasa de los Cultivos

La concentración de biomasa de los cultivos fue determinada diariamente de acuerdo a lo descrito en el capítulo 6.

2.3.c Determinación del Contenido de Clorofilas de los Cultivos

El contenido de clorofila-a y -b de los cultivos fue determinada diariamente de acuerdo a lo descrito en el capítulo 6.

2.3.d Determinación de la Concentración de Nitrato de Sodio en el Medio de Cultivo

La concentración de nitrato de sodio en los cultivos fue determinada diariamente de acuerdo a lo descrito en el capítulo 6.

2.3.e Foto-bio-reactor utilizado y condiciones de operación

La realización del cultivo propuesto fue llevada a cabo en el reactor Infors Labfors 3 de tres litros de volumen descrito en el capítulo 1. Se colocaron tres litros de medio de cultivo BBM esterilizando en autoclave el reactor completo a 121°C y 1 atm de presión durante 15 minutos. El caudal de aire inyectado al reactor fue de 0.6 VVM. El mismo fue provisto a través de un compresor de aire utilizando un filtro de nylon de 0.4 micrómetros de

radio poro. La temperatura del reactor fue mantenida a 28°C a través del los sistemas de enfriamiento/calefacción del reactor automatizado.

Pruebas preliminares, mostraron que la velocidad de crecimiento de un cultivo bajo el régimen de iluminación propuesto lograba el agotamiento de la fuente de nitrógeno del medio BBM al cabo de pocos días de comenzado el ensayo. De esta manera, fue necesaria la reposición diaria de 8 ml de la solución madre de NaNO_3 del medio BBM a fin evitar un estrés sobre el crecimiento del microorganismo por la falta de una fuente de nitrógeno.

La duración del cultivo fue de dos semanas, durante las cuales se tomaron muestras de 50 ml diariamente, reponiendo 42 ml de volumen de medio de cultivo fresco más los 8 ml de la solución de NaNO_3 .

2.3.f Condiciones de Iluminación de los Cultivos

Se construyó un nuevo módulo de iluminación combinando los cuatro tipos de LEDs utilizados, a fin de cubrir todo espectro de radiación visible. La densidad del flujo de fotones utilizados para irradiar el cultivo fue la calculada en base a la radiación recibida sobre la superficie terrestre durante las horas de máxima radiación solar, que según lo reportado se encuentra en el orden de los 2000-2500 $\mu\text{mol fotones m}^{-2}\text{seg}^{-1}$ (Molina Grima y col., 1999).

La superficie iluminada del FBR utilizado es de aproximadamente $5.8 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2$, por lo que el número total de fotones necesario para irradiar los cultivos es de aproximadamente $12.8 \mu\text{mol fotones seg}^{-1}$. El diseño de la placa de LEDs construida se muestra en la Fig.2.1.

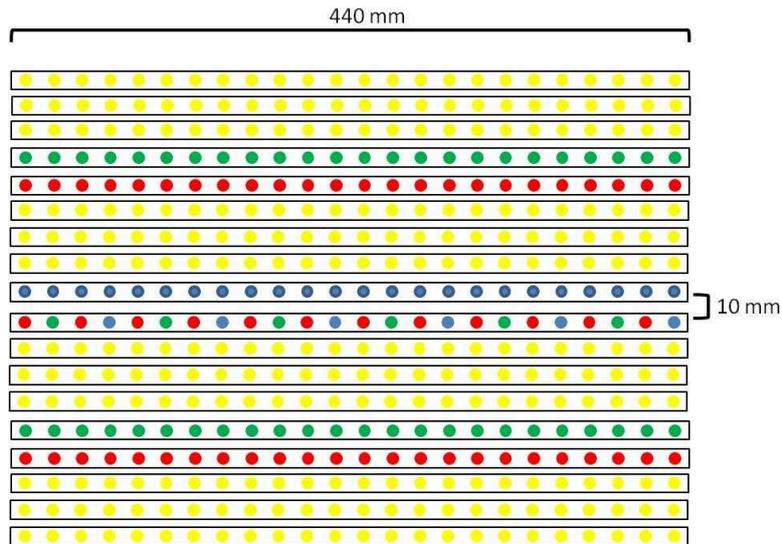


Figura 2.1: Diagrama del sistema de LEDs utilizado para iluminar el FBR Infors. Este arreglo se colocó 70mm por encima de la base del reactor. Cada tira de posee 24 LEDs SMD 5060. El flujo total de fotones emitidos por la placa es de aproximadamente $12.9 \mu\text{mol fotones seg}^{-1}$, distribuidos aproximadamente en partes iguales a través de 288 LEDs amarillos, 54 LEDs verdes, 60 LEDs rojos y 30 LEDs azules.

2.4 Modelado del Campo de Energía Radiante en el Interior del FBR y Análisis de la Producción local de Biomasa

El modelado del campo de energía radiante en el interior de los FBRs, será llevado a cabo en base al modelo físico-matemático y al algoritmo computacional descrito en el capítulo 5, a fin de analizar la evolución $r_{vis}^{Abs}(r, t)$ en los diferentes días del cultivo. Luego se evaluará $r_x(r, t)$ en las diferentes regiones del FBR en base al modelo de crecimiento propuesto en el presente capítulo, para evaluar su relación con la distribución del campo de energía radiante.

3. Resultados y Discusión

3.1 Modelo cinético de propagación celular propuesto para el crecimiento de *Scenedesmus quadricauda* utilizando diferentes perfiles de radiación

A través del desarrollo de un programa computacional basado en el AG se logró la regresión de los parámetros de las expresiones (2.2) y (2.3). A partir de los resultados obtenidos, se procedió a la simulación de los cultivos realizados en el capítulo 6 a través de la utilización del modelo cinético propuesto. Como se puede observar en las fig.3.1 y 3.2, se obtuvo un buen ajuste de los datos de los datos experimentales de biomasa y clorofilas en todos los casos.

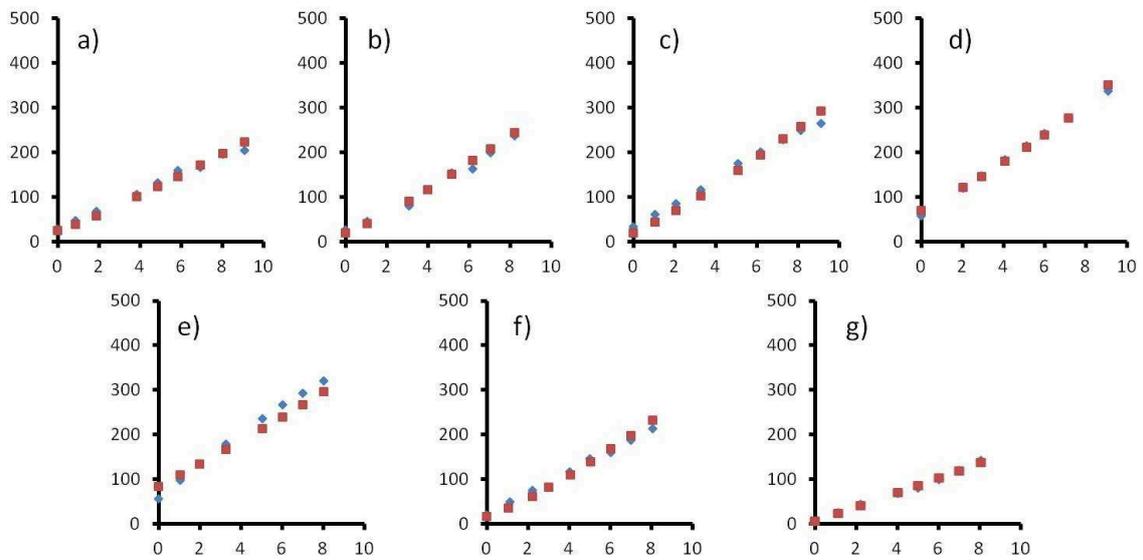


Figura 3.1: Producción de biomasa (mg/L) en el tiempo (días) de cultivos de *Scenedesmus quadricauda* bajo diferentes perfiles de radiación: a) 100% rojo; b) 75% rojo/25% azul; c) 50% rojo/50% azul; d) 25% rojo/75% azul; e) 100% azul; f) 100% amarillo; g) 100% verde. Los puntos azules son los datos experimentales y los puntos rojos son los valores del ajuste del modelo.

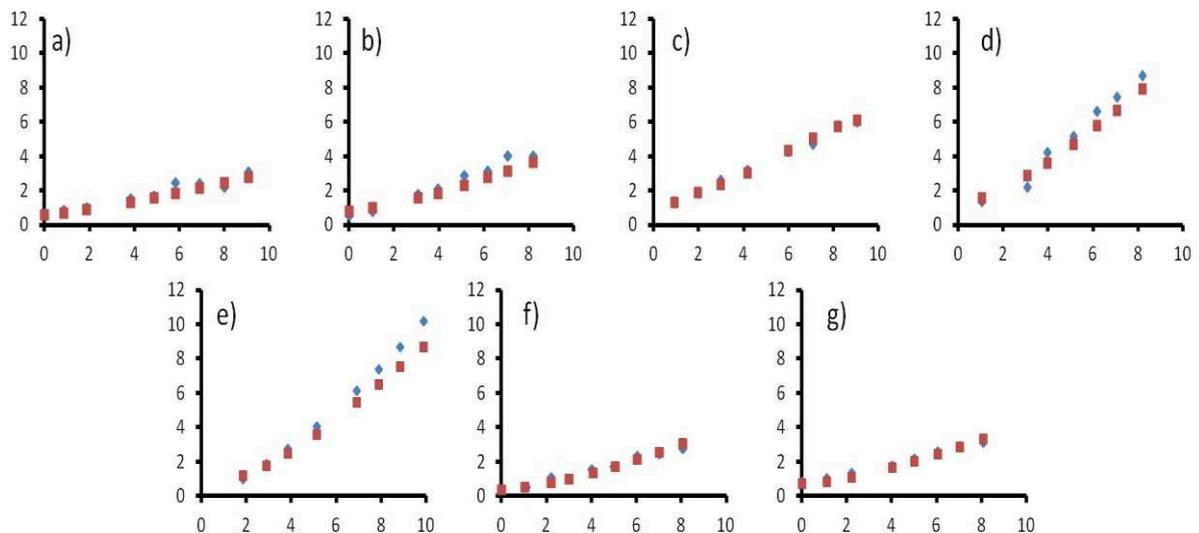


Figura 3.2: Producción de clorofilas (mg/L) en el tiempo (días) de cultivos de *Scenedesmus quadricauda* bajo diferentes perfiles de radiación: a) 100% rojo; b) 75% rojo/25% azul; c) 50% rojo/50% azul; d) 25% rojo/75% azul; e) 100% azul; f) 100% amarillo; g) 100% verde. Los puntos azules son los datos experimentales y los puntos rojos son los valores del ajuste del modelo.

En la tablas 3.1 y 3.2 se indican los valores obtenidos para cada una de las constantes del modelo cinético propuesto obtenido a partir de programa computacional basado en el AG.

Producción de Biomasa			
$\mu_{azul}^x [\mu mol fot^{-1}]$	6,44E-05	$K_{2,amarillo}^x [dia \mu mol fot^{-1}]$	5,42E-05
$\mu_{rojo}^x [\mu mol fot^{-1}]$	1,35E-04	$K_{2,verde}^x [dia \mu mol fot^{-1}]$	7,96E-08
$\mu_{amarillo}^x [\mu mol fot^{-1}]$	1,25E-04	$K_{3,azul}^x [dia^2 L \mu mol fot^{-2}]$	7,65E-09
$\mu_{verde}^x [\mu mol fot^{-1}]$	7,86E-05	$K_{3,rojo}^x [dia^2 L \mu mol fot^{-2}]$	1,60E-08
$K_m^x [mg biom^{-1}]$	4,57E-03	$K_{3,amarillo}^x [dia^2 L \mu mol fot^{-2}]$	1,38E-08
$K_{2,azul}^x [dia \mu mol fot^{-1}]$	1,20E-08	$K_{3,verde}^x [dia^2 L \mu mol fot^{-2}]$	9,91E-09
$K_{2,rojo}^x [dia \mu mol fot^{-1}]$	4,89E-05		

Tabla 3.1: Constantes del modelo cinético propuesto para la producción de biomasa de *Scenedesmus quadricauda*.

Producción de Clorofilas			
$\mu_{azul}^{ch} [mg ch mg biom^{-1}]$	3,64E-06	$K_{2,azul}^{ch} [dia L]$	1,20E-05
$\mu_{rojo}^{ch} [mg ch mg biom^{-1}]$	1,55E-07	$K_{2,rojo}^{ch} [dia L]$	1,81E-07
$\mu_{amarillo}^{ch} [mg ch mg biom^{-1}]$	3,83E-06	$K_{2,amarillo}^{ch} [dia L]$	2,51E-05
$\mu_{verde}^{ch} [mg ch mg biom^{-1}]$	6,81E-06	$K_{2,verde}^{ch} [dia L]$	1,74E-06
$K_m^{ch} [\mu mol fot^{-1}]$	4,52	$K_3^{ch} [mg ch mg biom^{-1} dia^{-1}]$	3,83E-03

Tabla 3.2: Constantes del modelo cinético propuesto para la producción de clorofilas de *Scenedesmus quadricauda*.

3.2 Validación de la cinética de propagación celular propuesta para *Scenedesmus quadricauda*

En la fig.3.3 se muestra la producción de biomasa (a) y clorofilas (b) del cultivo a lo largo del tiempo en el cultivo realizado. Los puntos azules representan los valores experimentales mientras que los puntos rojos corresponden a los valores de clorofila y biomasa obtenidos a partir de la predicción del modelo de crecimiento propuesto.

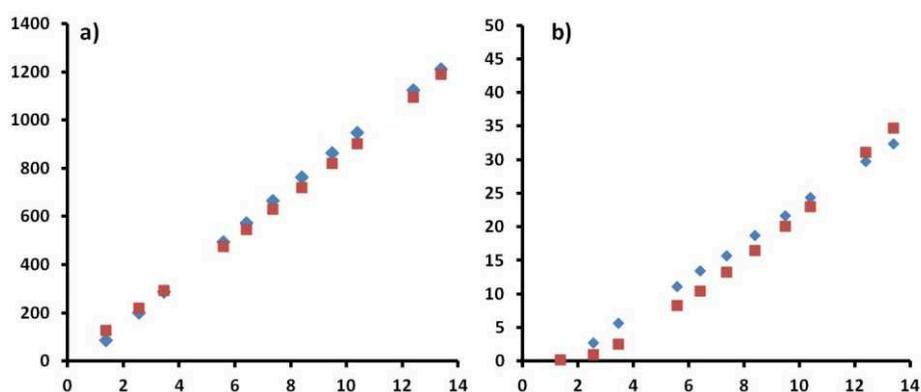


Figura 3.3: Producción de biomasa (a) y clorofilas (b) en el tiempo, del cultivo de *Scenedesmus quadricauda* llevado a cabo en el FBR Infors. Los puntos azules representan los valores experimentales mientras que los puntos rojos corresponden a los valores de clorofila y biomasa obtenidos a partir de la predicción del modelo de crecimiento propuesto.

Se observa que tanto la producción de biomasa como de clorofilas alcanzada por el cultivo es mucho mayor a las logradas en los cultivos realizados en el capítulo 6. Por otro lado, se comprueba que la predicción del modelo propuesto se ajusta correctamente con los valores experimentales del cultivo.

A fin de evaluar si durante la realización del cultivo el crecimiento celular se vio afectado por la transferencia de CO₂ o la acumulación de O₂, se realizó el mismo análisis del porcentaje de saturación de los gases realizado en la sección 3.2 del capítulo 6. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 3.3.

Condiciones del cultivo	r_x (gr biom L ⁻¹ min ⁻¹)	r_{O_2} (mg O ₂ L ⁻¹ min ⁻¹)	% de saturación de O ₂	r_{CO_2} (mg CO ₂ L ⁻¹ min ⁻¹)	% de saturación de CO ₂
28°C-1.8L/min	6,53E-05	8,88E-05	103,05%	1,23E-04	16,94%

Tabla 3.3: Valores de velocidades de crecimiento de biomasa, consumo de CO_2 y producción de O_2 en el cultivo realizado. Se expresan los porcentajes de saturación del CO_2 y O_2 en el sistema de acuerdo a los valores de $k_L a(\text{CO}_2)$ y $k_L a(\text{O}_2)$ determinados en el capítulo 4.

Se observa que el porcentaje de saturación del CO_2 se encuentra siempre por debajo del 20%, por lo que la transferencia del CO_2 en el medio de cultivo sería suficiente para cubrir la demanda de carbono de las microalgas. Por otro lado, la producción de O_2 liberado al medio produce un leve aumento por sobre la saturación de O_2 en el sistema (apenas superior al 3%), el cual no sería suficientemente alto como para producir la inhibición del crecimiento celular.

De esta manera, podríamos considerar que el crecimiento celular no se vio afectado por la transferencia del CO_2 y O_2 en los cultivos durante los diferentes ensayos.

3.3 Análisis del Campo de Energía Radiante en el Interior del FBR y de la Producción local de Biomasa

A fin de evaluar la influencia de $r_\lambda^{abs}(\underline{r}, t)$ sobre la velocidad local de producción de biomasa ($r_x(\underline{r}, t)$) en el interior del FBR, se determinaron los perfiles de $r_\lambda^{abs}(\underline{r}, t)$ para diferentes días del cultivo a través del algoritmo computacional basado en MC desarrollado en el capítulo 5. En la Fig.3.4, se muestran los perfiles de $r_\lambda^{abs}(\underline{r}, t)$ y $r_x(\underline{r}, t)$ en el interior del FBR en diferentes días del cultivo realizado.

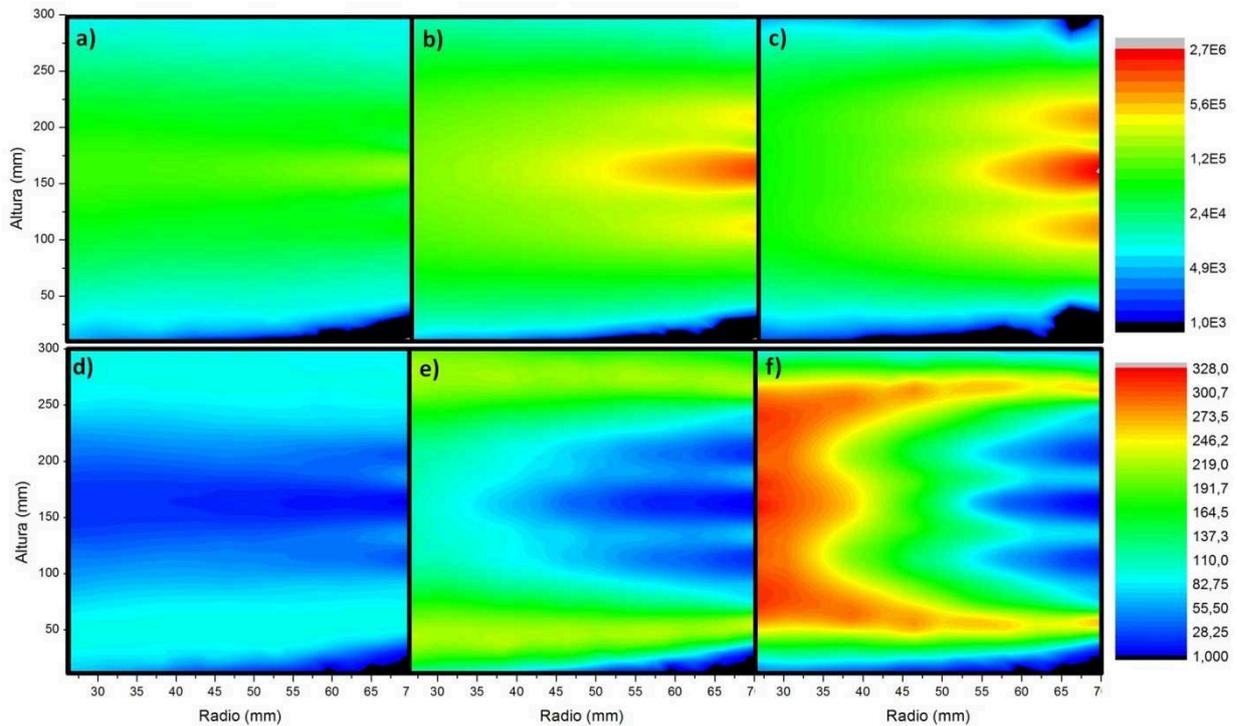


Figura 3.4: Perfiles de distribución de los valores de $r_{VIS}^{Abs}(\underline{r},t)$ [$\mu\text{mol fotones litro}^{-1} \text{ dia}^{-1}$] y $r_x(\underline{r},t)$ [$\text{mg litro}^{-1} \text{ dia}^{-1}$] en el interior del FBR en diferentes estadios del cultivo. a) $r_{VIS}^{Abs}(\underline{r},t)$ (85mg/L de biomasa y 2.7 mg/L de clorofilas); b) $r_{VIS}^{Abs}(\underline{r},t)$ (495mg/L de biomasa y 11 mg/L de clorofilas); c) $r_{VIS}^{Abs}(\underline{r},t)$ (945 mg/L de biomasa y 24 mg/L de clorofilas); d) $r_x(\underline{r},t)$ (85mg/L de biomasa y 2.7 mg/L de clorofilas); e) $r_x(\underline{r},t)$ (495mg/L de biomasa y 11 mg/L de clorofilas); f) $r_x(\underline{r},t)$ (945 mg/L de biomasa y 24 mg/L de clorofilas);

En la Fig.3.4 se observa que los perfiles de $r_x(\underline{r},t)$ en las regiones donde se producen los mayores valores de $r_{\lambda}^{abs}(\underline{r},t)$ tienden a mantenerse en niveles bajos durante el desarrollo del cultivo, mientras que en las zonas de menores valores de $r_{\lambda}^{abs}(\underline{r},t)$ los valores de $r_x(\underline{r},t)$ se incrementan en gran medida al aumentar la densidad celular. Estos efectos provocan que en las zonas donde se producen altos valores $r_{\lambda}^{abs}(\underline{r},t)$, la eficiencia en la utilización de los fotones absorbidos para la producción de biomasa disminuya a medida que el cultivo aumenta su densidad celular, mientras que en las regiones de menores valores de $r_{\lambda}^{abs}(\underline{r},t)$ se produce el efecto contrario.

Analizando las Fig.3.4 (a), (b) y (c) se observa que los perfiles de $r_{\lambda}^{abs}(\underline{r},t)$ se incrementan principalmente en la zona más cercana a las posiciones de aquellos LEDs

(Fig.2.1) cuyos perfiles de emisión coinciden con los valores de α_λ más elevados (LEDs azules y rojos). En la Fig.3.5 se encuentran los mismos perfiles de $r_\lambda^{abs}(r,t)$ mostrados en la Fig.3.4, pero analizando en forma separada las cuatro regiones del espectro visible consideradas.

Los perfiles de $r_\lambda^{abs}(r,t)$ graficados en la Fig.3.5 demuestran más claramente los efectos mencionados anteriormente. En las 3.5 (a), (b) y (c) se observa que a medida que aumenta la densidad celular del cultivo, el perfil de radiación azul se concentra cada vez más en la zona donde se sitúan los LEDs, disminuyendo de esta manera el volumen del reactor alcanzado por estos fotones. Un efecto similar se produce con los fotones emitidos por los LEDs rojos, Fig.3.5 (j), (k) y (l), aunque debido a que los valores de α_λ son un poco menores en este caso, la estratificación de la radiación no es tan marcada. De esta manera en los cultivos realizados, los incrementos en la velocidad de producción de biomasa una vez alcanzada una alta densidad celular, se estarían produciendo en base a la absorción de los fotones correspondientes a las regiones verde y amarilla del espectro visible

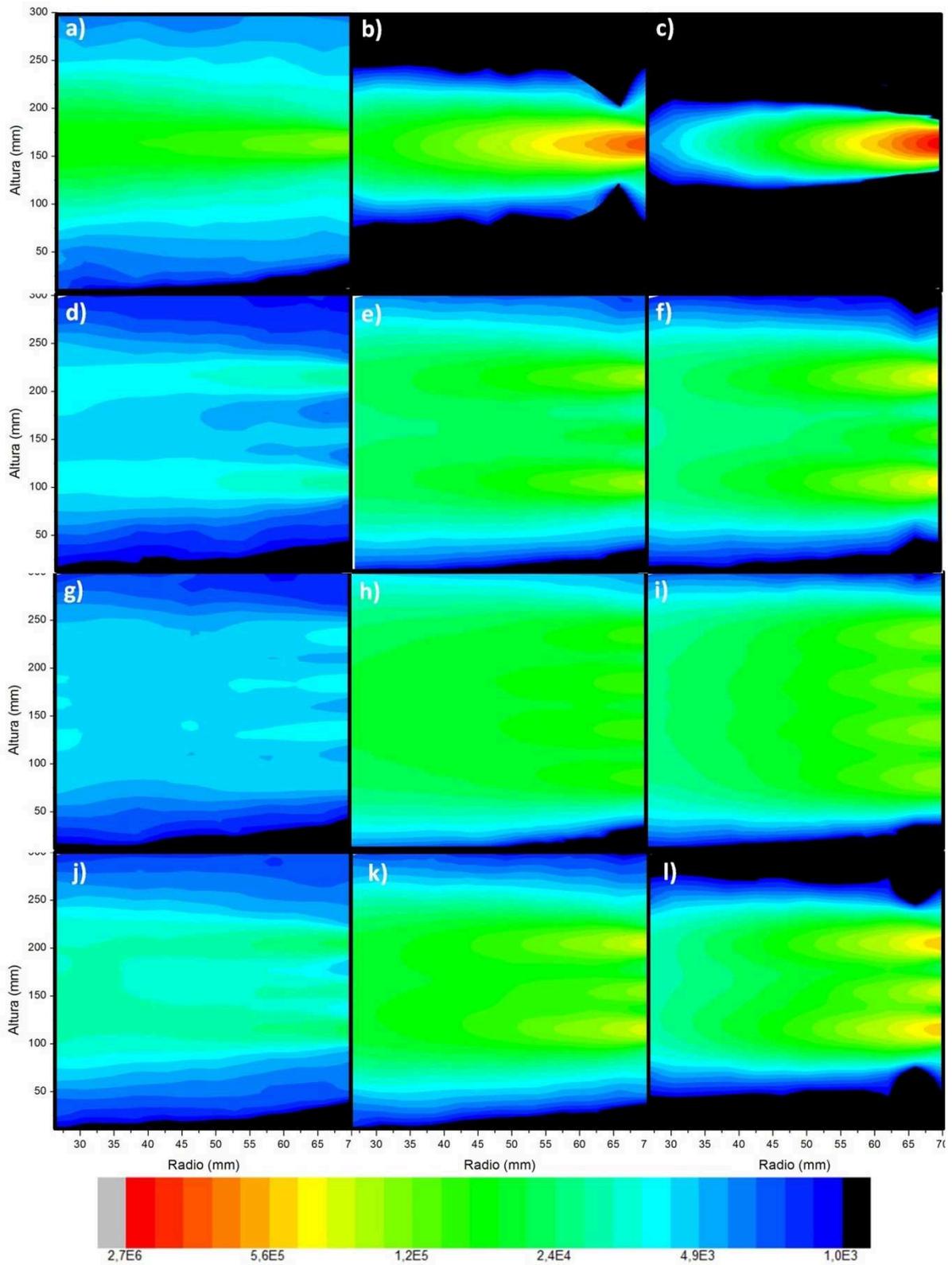


Figura 3.5: Perfiles de distribución de los valores de $r_{vis}^{Abs}(r,t) [\mu\text{mol fotones litro}^{-1} \text{ dia}^{-1}]$ para las diferentes regiones del espectro visible consideradas en el interior del FBR en diferentes estadios del cultivo. a) $r_{azul}^{Abs}(r,t)$ (85mg/L de biomasa y 2.7 mg/L de clorofilas); b) $r_{azul}^{Abs}(r,t)$ (495mg/L de biomasa y 11 mg/L de clorofilas); c)

$r_{azul}^{Abs}(\underline{r}, t)$ (945 mg/L de biomasa y 24 mg/L de clorofilas); d) $r_{verde}^{Abs}(\underline{r}, t)$ (85mg/L de biomasa y 2.7 mg/L de clorofilas); e) $r_{verde}^{Abs}(\underline{r}, t)$ (495mg/L de biomasa y 11 mg/L de clorofilas); f) $r_{verde}^{Abs}(\underline{r}, t)$ (945 mg/L de biomasa y 24 mg/L de clorofilas); g) $r_{amarillo}^{Abs}(\underline{r}, t)$ (85mg/L de biomasa y 2.7 mg/L de clorofilas); h) $r_{amarillo}^{Abs}(\underline{r}, t)$ (495mg/L de biomasa y 11 mg/L de clorofilas); i) $r_{amarillo}^{Abs}(\underline{r}, t)$ (945 mg/L de biomasa y 24 mg/L de clorofilas); j) $r_{rojo}^{Abs}(\underline{r}, t)$ (85mg/L de biomasa y 2.7 mg/L de clorofilas); k) $r_{rojo}^{Abs}(\underline{r}, t)$ (495mg/L de biomasa y 11 mg/L de clorofilas); l) $r_{rojo}^{Abs}(\underline{r}, t)$ (945 mg/L de biomasa y 24 mg/L de clorofilas).

Cuando la densidad celular en los cultivos es elevada, se produce un efecto “tamiz” (Terashima y col., 2009) que provoca que los fotones con altos valores de α_λ , se absorban completamente en las primeras capas del cultivo, mientras que aquellos fotones con una baja probabilidad de absorción (bajos α_λ) pueden penetrar los cultivos hasta las regiones más internas del reactor y llevar adelante el crecimiento celular en las zonas no alcanzadas por los fotones con mayores α_λ .

Por otro lado, los fotones con menor probabilidad de ser absorbidos, poseen mayores valores de ε_λ , por lo que al aumentar la densidad celular de los cultivos, se incrementa la probabilidad de estos fotones de impactar con una célula y ser absorbidos (efecto *detour*) por el aumento de la probabilidad de los eventos de *scattering*, (Terashima y col., 2009). Estos efectos provocan que los fotones del espectro de radiación con bajos índices de absorción, cobren importancia en los cultivos de microalgas cuando se alcanzan densidades celulares elevadas.

4. Conclusiones

Durante el presente capítulo se llevó a cabo la propuesta de un modelo cinético de propagación celular de *Scenedesmus quadricauda*, y la regresión de sus parámetros a través del desarrollo de un programa computacional basado en un AG como herramienta de optimización. El modelo propuesto considera la luz como factor limitante del crecimiento,

utilizando $r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t)$ como propiedad del campo radiante para estudiar la influencia de la luz sobre el crecimiento celular y la producción de clorofilas.

A partir del modelo cinético propuesto, fue posible lograr la simulación de un cultivo realizado en un FBR de diferente tamaño iluminado con un arreglo de LEDs construido en base a la intensidad de radiación solar recibida por un cultivo a cielo abierto en horas del medio día. Los resultados obtenidos permitieron llevar adelante el análisis del perfil de velocidades de producción de biomasa en cada punto del reactor en función de la concentración celular y el perfil de radiación local.

El modelo de propagación celular obtenido demostró ser apto para la simulación de cultivos de *Scenedesmus quadricauda* bajo diferentes condiciones de radiación. El mismo puede ser utilizado como una herramienta para el diseño y optimización de FBR destinados al cultivo de microalgas.

5. Bibliografía

- Berberoğlu H., Pilon L. (2007). Experimental measurement of the radiation characteristics of *Anabaena variabilis* ATCC 29413-U and *Rhodo-bacter sphaeroides* ATCC 49419. *International Journal of Hydrogen Energy*. 32(18): 4772–4785.
- Bitaubé Pérez E., Caro Pina I., Pérez Rodríguez L. (2008). Kinetic model for growth of *Phaeodactylum tricornutum* in intensive culture photobioreactor. *Biochemical Engineering Journal*. 40: 520–525.
- He L., Subramanian V.R., Tang Y.J. (2012). Experimental analysis and model-based optimization of microalgae growth in photo-bioreactors using flue gas. *Biomass and Bioenergy*. 41: 131-138.
- Heinrich J.M., Niizawa I, Botta F.A., Trombert A.R., Irazoqui H.A. (2013) Stratification of the Radiation Field inside a Photobioreactor during Microalgae Growth, *Photochemistry and Photobiology* 89: 1127-1134.
- Huang Q., Yao L., Liu T., Yang J. (2012). Simulation of the light evolution in an annular photobioreactor for the cultivation of *Porphyridium cruentum*. *Chemical Engineering Science*. 84: 718–726.
- Masojídek J., Koblížek M., Torzillo G. (2004) Photosynthesis in Microalgae. En: *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology* (Editado por Amos Richmond) Blackwell Science. UK. p: 20-40.
- Molina Grima E., Ación Fernández F.G., García Camacho F., Chisti F. (1999). Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. *Journal of Biotechnology*. 70: 231–247.
- Ogbonna J.C., Tanaka H. (2000) Light requirement and photosynthetic cell cultivation – Development of processes for efficient light utilization in photobioreactors. *Journal of Applied Phycology*. 12: 207–218.
- Perrine Z., Negi S., Sayre R.T. (2012). Optimization of photosynthetic light energy utilization by microalgae. *Algal Research*. 1: 134–142.

- Terashima I., Fujita T., Inoue T., Chow W.S., Oguchi R. (2009). Green Light Drives Leaf Photosynthesis More Efficiently than Red Light in Strong White Light: Revisiting the Enigmatic Question of Why Leaves are Green. *Plant Cell Physiol.* 50(4): 684–697.
- Wang C.Y., Fu C.C., Liu Y.C. (2007). Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. *Biochemical Engineering Journal.* 37:21–25.

CAPÍTULO 8

**Simulación de la producción de biomasa de
Scenedesmus quadricauda en un reactor
tipo *Raceway* situado en la
Ciudad de Santa Fe**

1. Introducción

La comercialización de cualquier producto obtenido a partir del cultivo de microalgas (aceites poli-insaturados, antioxidantes, proteínas, la propia biomasa, etc.) implica la producción masiva de biomasa algal en FBRs de mayor volumen a los utilizados en escala laboratorio. A lo largo de las últimas décadas han sido desarrollados una gran diversidad de FBRs para el cultivo de microalgas a gran escala (Richmond y col., 2004). En general los mismos pueden clasificarse en reactores cerrados y reactores abiertos.

Los FBRs cerrados, son los sistemas más complejos desde el punto de vista del diseño y operación. Fueron pensados para llevar adelante la producción de microalgas de una manera más eficiente y controlada, permitiendo el cultivo de especies de microalgas con requerimientos nutricionales complejos o que fueran muy sensibles a los cambios en las condiciones de cultivo. En general, logran un mayor aprovechamiento de la luz recibida y permiten obtener una biomasa o producto de mayor calidad. Sin embargo, este tipo de reactores poseen un costo de construcción y operación muy elevado, por lo que se encuentran en constante desarrollo y su aplicación en general se limita a la producción de metabolitos de alto valor agregado (Lam y Lee, 2014).

Los sistemas abiertos son normalmente los más utilizados para el cultivo comercial de microalgas dada su fácil construcción, operación y su bajo costo. Debido a que son sistemas abiertos, están muy expuestos a contaminaciones (tanto de otros tipo de microorganismos como de otras especies de microalgas) y a las condiciones climáticas, lo que en general limita su aplicación a especies de microalgas tolerantes a condiciones de crecimiento extremas. Por otro lado, presentan una gran dificultad para lograr una producción y calidad de biomasa masa reproducible y sostenible en el tiempo (Ugwu y col., 2008). Más allá de estos inconvenientes, este tipo de reactores siguen siendo hoy en día una opción viable para la producción a gran escala de biomasa de microalgas, siendo posiblemente el sistema de cultivo comercial más utilizado (Vieira Costa y Greque de Morais, 2014). Empresas como *Cyanotech* en Hawaii (<http://www.cyanotech.com>) y

Earthrise en California (<http://www.earthrise.com>), poseen plantas de más de 75.000 m² y 150.000 m² de superficie con este tipo de reactores, respectivamente, para el cultivo de microalgas para la producción de diferentes productos comerciales (Tredici, 2004).

Una clase particular de reactor abierto muy utilizada, son los reactores *raceway*, los cuales consisten básicamente en estanques de baja profundidad donde el medio de cultivo se encuentra agitado por un sistema de paletas mecánicas que impulsan la circulación de mismo a través de un circuito cerrado formado por una serie de tabiques internos (Fig.1.1).

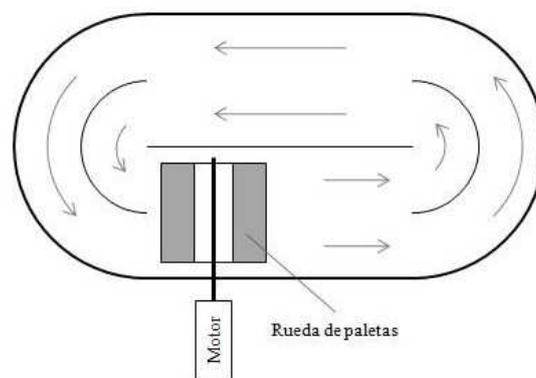


Figura 1.1: Diagrama de un reactor tipo raceway.

Pueden construirse a partir de diversos materiales, desde bloques de cemento hasta con láminas plásticas colocadas sobre canales cavados sobre la tierra. Estos sistemas son actualmente los más económicos para la producción de biomasa algal (Vieira Costa y Greque de Morais, 2014). Los reactores *raceway*, poseen una gran superficie expuesta a la radiación solar y normalmente son operados con bajas densidades celulares y alturas de medio de cultivo que no superan los 30 cm, debido a que la absorción de la radiación solar a medida que la luz atraviesa los cultivos de microalgas provoca que las zonas más profundas de los reactores no dispongan de la energía suficiente como para llevar adelante crecimiento normal de los cultivos limitando el funcionamiento de los mismos (Chisti, 2007).

Debido a que la densidad de radiación solar recibida sobre la superficie de los reactores a cielo abierto depende de la región geográfica en la que se encuentre y la misma cambia a lo largo de las horas del día y durante las diferentes estaciones del año,

determinar la distribución del campo de energía radiante y su influencia sobre el crecimiento de los cultivos resulta una tarea compleja, por lo que llevar adelante el modelado del desempeño de este tipo de sistemas es muy difícil.

En el presente capítulo se plantea el escalado teórico de un FBR abierto tipo *raceway* para el cultivo de *Scenedesmus quadricauda* situado en la ciudad de Santa Fe bajo diferentes condiciones de operación. Se determinarán en un primer momento las condiciones de radiación presentes en la región durante las diferentes horas del día y a lo largo del año. Esta información será utilizada junto con la cinética de propagación celular planteada en el capítulo 7 para estimar la producción de biomasa de un reactor tipo a cielo abierto a través del desarrollo de un algoritmo computacional basado en el método de Monte Carlo

2. Materiales y Métodos

2.1 Medición de la Radiación solar incidente

A fin de conocer la radiación que alcanza la superficie de un reactor a cielo abierto situado en la ciudad de Santa Fe se recurrió al Centro de Informaciones Meteorológicas "Lic. Enrique Rodríguez" de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas de la Universidad Nacional del Litoral (CIM-FICH-UNL). Este centro dispone de una base datos acerca de la radiación solar registrada a través de un Adquisidor de Datos Meteorológicos Pegasus EP2000 (Fig.2.1), equipado con un sensor de radiación modelo TS-301 ubicado en el predio de la facultad. La base de datos consta de mediciones de la cantidad total de energía radiante solar $q_{Tot}^G(\underline{r}, t)$ (con $300 < \lambda < 3000nm$), por unidad de tiempo y unidad de área tomadas cada 15 minutos, desde octubre de 2008 y hasta diciembre de 2013 expresadas en $[W m^{-2}]$.



Figura 2.1: Imagen de un Adquisidor de Datos Meteorológicos Pegasus EP2000, tomado de (<http://www.infopegasus.com/estacion/estacion.html>)

Debido a la gran cantidad de datos registrados por el CIM (se tienen registros de medidas realizadas cada 15 minutos a lo largo de 6 años que equivalen a más de 200.000 registros) y a la gran dispersión de los mismos (la energía recibida por el detector se ve afectada por las condiciones climáticas del lugar en el instante de las mediciones como la nubosidad), fue necesario realizar un procesamiento de los mismos a fin de poder simplificar su utilización. De esta manera se realizó el siguiente procesamiento:

- - Se compuso un año típico de 365 días incluyendo las medidas de los 6 años, considerando como $d = 1$ al primer día de enero.
- - El día fue dividido en 24 horas, desde las 00hs hasta las 23hs. A cada hora h le corresponden todas las mediciones realizadas 30 minutos antes o 30 minutos de cada hora exacta.
- - La radiación correspondiente a cada hora h de un día d , está compuesta por el promedio de las medida de dicho día más las medias realizadas a la misma hora h en los 3 días previos y los 3 días posteriores.
- - En caso de años bisiestos, el 29 de febrero es considerado como una repetición del 28 de febrero.

Por otro lado, es importante considerar que la densidad de flujo de radiación $q_{Tot}^G(\underline{r}, t)$ medida por el equipo, contempla tanto la radiación directa $q_{Tot}^D(\underline{r}, t)$ como la radiación difusa $q_{Tot}^d(\underline{r}, t)$.

$$q_{Tot}^G(\underline{r}, t) = q_{Tot}^D(\underline{r}, t) + q_{Tot}^d(\underline{r}, t) \quad (2.1)$$

donde $q_{Tot}^D(\underline{r}, t)$ es la radiación que incide directamente sobre el detector proveniente en la dirección del sol luego de haber atravesado la atmósfera, y $q_{Tot}^d(\underline{r}, t)$ es aquella que incide sobre el detector luego de haber sufrido diferentes fenómenos a medida que la radiación atraviesa la atmósfera: scattering Rayleigh, scattering aerosol y a múltiples reflexiones entre el aire y el suelo terrestre (Albizzati y col., 1997).

En la Ecuación (2.1), las densidades de flujo de radiación directa y difusa pueden relacionarse con las respectivas intensidades espectrales de radiación directa I_λ^D y difusa I_λ^d a través de:

$$q_{Tot}^G(\underline{r}, t) = \int \int_{\hat{\underline{\Omega}}_\lambda} I_\lambda^D(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) (\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{\Omega}}) d\lambda d\hat{\underline{\Omega}} + \int \int_{\hat{\underline{\Omega}}_\lambda} I_\lambda^d(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) (\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{\Omega}}) d\lambda d\hat{\underline{\Omega}} \quad (2.2)$$

donde $\hat{\underline{\Omega}}$ es la dirección del haz de radiación incidente y $\hat{\underline{n}}$ es la dirección normal a la superficie donde incide la radiación.

Si se tiene en cuenta que $I_\lambda^D(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) = 0$ cuando $\hat{\underline{\Omega}} \neq \hat{\underline{\Omega}}_{Sol}$, es posible decir que:

$$I_{Tot}^D(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) = \int_{\lambda} I_\lambda^D(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) d\lambda \quad (2.3)$$

y expresar $q_{Tot}^D(\underline{r}, t)$ de acuerdo a:

$$q_{Tot}^D(\underline{r}, t) = I_{Tot}^D(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}_{sol}, t) (\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{\Omega}}_{sol}) \quad (2.4)$$

Análogamente, la densidad de flujo de energía radiante difusa está definida según:

$$q_{Tot}^d(\underline{r}, t) = \int \int_{\hat{\underline{\Omega}}_\lambda} I_\lambda^d(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) (\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{\Omega}}) d\lambda d\hat{\underline{\Omega}} \quad (2.5)$$

Si se asume que la energía radiante sobre la superficie en \underline{r} sigue una distribución isotrópica y, por lo tanto, $I_\lambda^d(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t)$ es independiente de $\hat{\underline{\Omega}}$;

$$I_{Tot}^d(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) = \int_{\lambda} I_\lambda^d(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) d\lambda \quad (2.6)$$

pudiendo expresar luego $q_{Tot}^d(\underline{r}, t)$ como:

$$q_{Tot}^d(\underline{r}, t) = I_{Tot}^d(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) \int_{\hat{\underline{\Omega}}} (\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{\Omega}}) d\hat{\underline{\Omega}} \quad (2.7)$$

Por último, integrando en $\hat{\underline{\Omega}}$ la ecuación (2.7) y reemplazando las expresiones para $q_{VIS}^D(\underline{r}, t)$ y $q_{VIS}^d(\underline{r}, t)$ en la Ecuación (2.2), se obtiene:

$$q_{VIS}^G(\underline{r}, t) = I_{VIS}^D(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) (\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{\Omega}}) + \pi I_{VIS}^d(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) \quad (2.8)$$

Como puede observarse, resulta importante diferenciar estas fracciones de radiación ya que el ángulo de incidencia de la radiación es muy importante para poder lograr una simulación precisa del campo de energía radiante en un FBR iluminado con luz solar.

La fracción de $q_{Tot}^d(\underline{r}, t)$ depende de las condiciones climáticas presentes, aumentando en gran medida con el porcentaje de nubosidad y con la ocurrencia de lluvias. Los datos provistos por el CIM no contemplan la diferenciación entre las fracciones $q_{Tot}^D(\underline{r}, t)$ y $q_{Tot}^d(\underline{r}, t)$ de los valores de $q_{Tot}^G(\underline{r}, t)$, ya que el detector integra la radiación recibida de todas las direcciones.

Albizzati y col., 1997 determinaron en su trabajo una serie de parámetros \mathcal{E} que correlacionan los valores de $q_{Tot}^G(\underline{r}, t)$ con las fracciones $q_{Tot}^D(\underline{r}, t)$ y $q_{Tot}^d(\underline{r}, t)$ para una superficie situada en la ciudad de Santa Fe considerando condiciones de cielo despejado para los diferentes meses del año. Por lo tanto, se propone considerar que los valores promedios de $q_{Tot}^G(\underline{r}, t)$ obtenidos a partir de los datos provistos por el CIM corresponden a la radiación global incidente en un día despejado, y a través de parámetros \mathcal{E} correlacionar los valores de $q_{Tot}^G(\underline{r}, t)$ con las fracciones $q_{Tot}^D(\underline{r}, t)$ y $q_{Tot}^d(\underline{r}, t)$. Por lo tanto, se plantea que:

$$\mathcal{E} = \frac{I_{VIS}^D(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t)}{I_{VIS}^d(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t)} \quad (2.9)$$

y a partir de esta ecuación es posible reescribir la expresión (2.8)

$$q_{VIS}^G(\underline{r}, t) = I_{VIS}^d(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) \left[\alpha(\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{\Omega}}) + \pi \right] \quad (2.10)$$

y calcular de esta manera las fracciones de radiación directa y difusa.

Debido a que el rango de medición del equipo Pegasus EP2000 abarca de $300 < \lambda < 3000nm$, es conveniente considerar solo la radiación fotosintéticamente activa (PAR) para el estudio del crecimiento de las microalgas, la cual comprende el rango visible $400 < \lambda_{vis} < 700nm$, y expresar la cantidad de energía radiante que alcanza al detector [$W m^{-2}$] en cantidad de fotones [μmol de fotones m^{-2}] teniendo en cuenta la distribución espectral de la energía radiante solar $I_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t)$ de la Fig.2.2

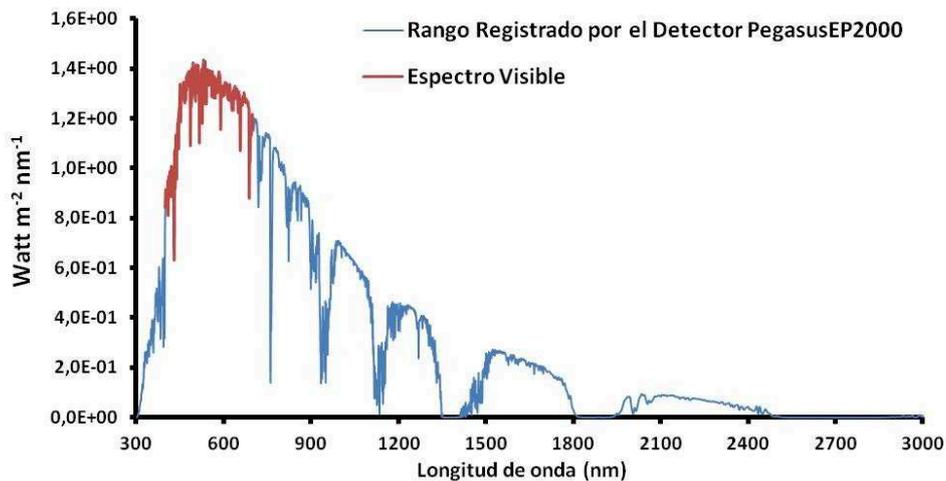


Figura 2.2: distribución espectral de intensidad de radiación solar I_{λ} sobre la superficie de la tierra. En azul se muestra el rango de detección del detector Pegasus EP2000 y en rojo el espectro de radiación visible. Los datos fueron obtenidos (Gueymard y col., 2002).

De esta manera, a partir del perfil de intensidad de radiación solar I_{λ} que llega a un punto sobre la superficie de la tierra \underline{r} proveniente de todas las direcciones $\hat{\underline{\Omega}}$ en un instante de tiempo dt , obtenido de (Gueymard y col., 2002), es posible calcular la fracción de energía radiante en la región visible del espectro contenida en las medidas brindadas por el CIM de acuerdo a:

$$q_{VIS}^G = \frac{q_{Tot}^G \int_{400}^{700} I_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, t) d\lambda}{\int_{300}^{3000} I_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, t) d\lambda} = 0.416 q_{Tot}^G \quad (2.11)$$

y luego a partir de $q_{VIS}^G [Watt m^{-2}]$, obtener $n_{VIS}^G [\mu mol \text{ fotones } m^{-2} \text{ seg}^{-1}]$ de acuerdo a:

$$I_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, t) = \frac{hc}{\lambda} n_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, t) \quad (2.12)$$

donde h es la constante de Plank, c es la velocidad de la luz y λ es la longitud de onda, se plantea que:

$$n_{VIS}^G(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, t) \left[\frac{\mu mol \text{ fotones}}{m^2 \text{ seg}} \right] = \int_{VIS} \frac{I_{\lambda}^G(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, t)}{hc} \lambda d\lambda = 4,603 \left[\frac{\mu mol \text{ fotones}}{Joule} \right] I_{VIS}^G(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, t) \left[\frac{Joule}{m^2 \text{ seg}} \right] \quad (2.13)$$

De esta manera, es posible reescribir las ecuaciones (2.4) y (2.7)

$$q_{VIS}^D(\underline{r}, t) = 4.603 I_{VIS}^D(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, t) (\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{Q}}) = hc n_{VIS}^D(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, t) (\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{Q}}) \quad (2.14)$$

$$q_{VIS}^d(\underline{r}, t) = 4.603 \pi I_{VIS}^d(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, t) = hc \pi n_{VIS}^d(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, t) \quad (2.15)$$

Finalmente, en forma análoga a la ecuación (2.10) es posible decir que:

$$q_{VIS}^G(\underline{r}, t) = hc n_{VIS}^d(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, t) \left[\alpha (\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{Q}}) + \pi \right] \quad (2.16)$$

Esta metodología permite una predicción razonable de las condiciones de iluminación a la cual estaría sometido un FBR ubicado en la ciudad de Santa Fe, permitiendo una adecuada predicción de la capacidad de producción del sistema.

2.2 Cálculo de la posición del sol respecto de la posición del FBR a cada instante de tiempo

Una vez determinada la densidad del flujo de fotones que llegan a un punto sobre la superficie de un FBR ubicado en la ciudad de Santa Fe, debemos determinar el ángulo con el cual la radiación solar incide sobre el sitio en el cual estará situado el sistema de cultivo.

En su movimiento traslacional, la tierra describe una trayectoria elíptica alrededor del sol moviéndose sobre un plano imaginario llamado eclíptico. Durante esta trayectoria, la tierra rota girando sobre el eje polar que posee una inclinación aproximada de 23.5°

respecto del plano eclíptico. Por otro lado, el ángulo que forman el plano ecuatorial de la tierra y la línea que une los centros del sol y la tierra, ángulo de declinación solar (δ), cambia a cada instante entre $+23.5^\circ$, en el solsticio de verano, y -23.5° , en el solsticio de invierno, siendo cero en los equinoccios de primavera y otoño.

De esta manera, la posición del sol respecto de un punto sobre la superficie de la tierra depende del día del año, de la hora y de la latitud geográfica de sitio considerado.

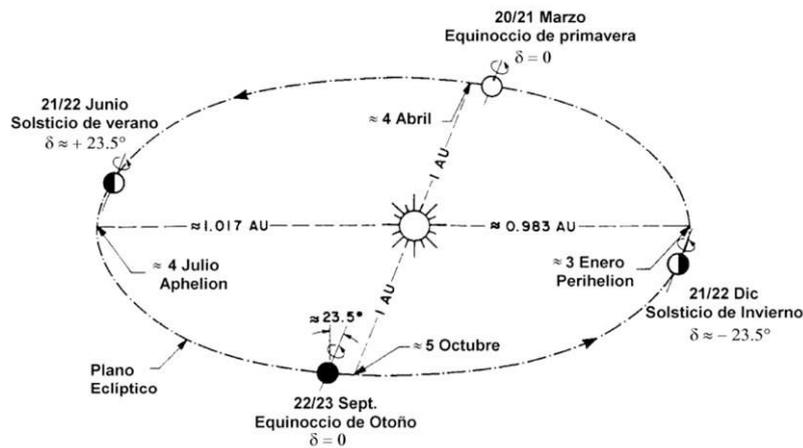


Figura 2.3: trayectoria elíptica de la tierra alrededor del sol durante la duración del año. Se observan los puntos correspondientes a los equinoccios de otoño y primavera; y los puntos correspondientes a los solsticios de invierno y verano. Tomado de <http://astronomiatualcance.blogspot.com.ar>

Una forma práctica de representar el movimiento de la tierra alrededor del sol es a través del sistema de coordenadas celestes. Este sistema imaginario, sitúa a la tierra en el centro de una esfera, por sobre la cual el sol describe su trayectoria aparente en forma concéntrica a la tierra.

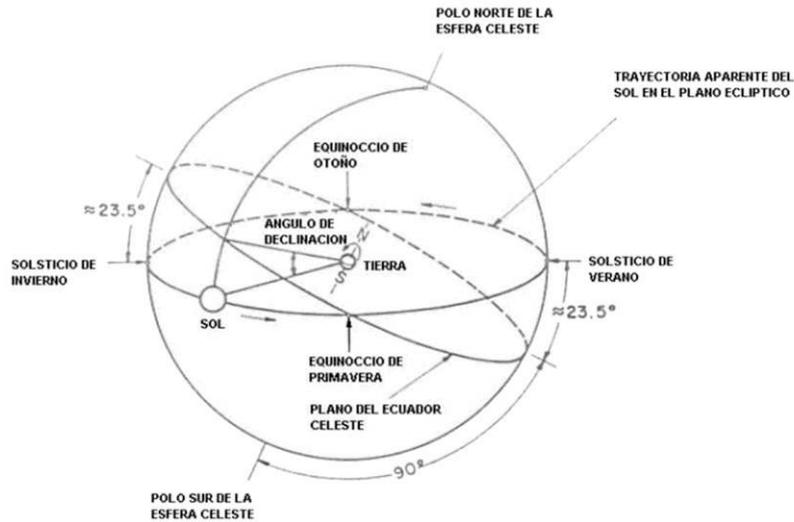


Figura 2.4: Sistema de coordenadas celestes, donde se representa el movimiento aparente del sol y el ángulo de declinación a lo largo de su trayectoria en forma concéntrica alrededor de la tierra. Tomado de <http://www.igc.up.ac.pa/labfisat/prediccionuv.htm>

A fin de poder determinar la trayectoria del sol considerando la ubicación de un observador en un punto fijo sobre la superficie de la tierra primero se deben realizar una serie de definiciones. En primera instancia se fija un sistema de coordenadas ecuatoriales $\{X;Y;Z\}$ en el centro de la tierra y se define un sistema auxiliar de coordenadas $\{X';Y';Z'\}$ en el cual se define la trayectoria aparente del sol alrededor de la tierra durante el transcurso de un año. En este sistema, el eje X' coincide con el eje X y contiene las posiciones de los equinoccios de primavera y otoño; mientras que el plano $X'Y'$ contiene la trayectoria por la cual se mueve el sol a lo largo del año y se encuentra inclinado unos 23.5° con respecto al ecuador terrestre.

La posición del sol se encuentra determinada por el ángulo φ que toma valores entre 0° (equinoccio de primavera) hasta completar los 360° . El valor del ángulo de declinación para un día cualquiera del año puede ser determinado a través de la expresión propuesta por Cooper (Cooper, 1969):

$$\delta = 23.45 \sin \left[\frac{360}{365} (d + 284) \right] \quad (2.17)$$

donde d es el día del año, considerando al primero de enero como $d=1$ y al 31 de diciembre como $d=365$.

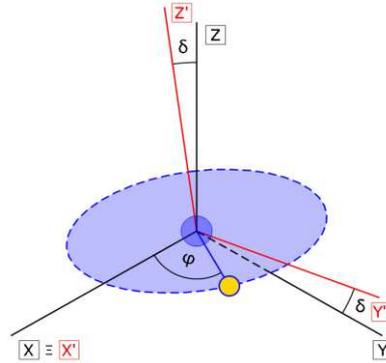


Figura 2.5: Sistemas de referencias $\{X; Y; Z\}$ y $\{X'; Y'; Z'\}$ utilizados para determinar trayectoria del sol alrededor de la tierra.

Es posible correlacionar los vectores direccionales unitarios $\hat{i}'; \hat{j}'; \hat{k}'$ del sistema $\{X'; Y'; Z'\}$ con los vectores $\hat{i}; \hat{j}; \hat{k}$ del sistema $\{X; Y; Z\}$ de acuerdo a:

$$\hat{i}' = \hat{i} \quad (2.18)$$

$$\hat{j}' = \cos(\delta) \hat{j} + \sin(\delta) \hat{k} \quad (2.19)$$

$$\hat{k}' = -\sin(\delta) \hat{j} + \cos(\delta) \hat{k} \quad (2.20)$$

De esta manera, el vector unitario que une el centro de la tierra con la posición del sol (\hat{S}) a lo largo de la eclíptica en el sistema $\{X'; Y'; Z'\}$ se define como:

$$\hat{S} = \cos(\varphi) \hat{i}' + \sin(\varphi) \hat{j}' \quad (2.21)$$

mientras que en el sistema $\{X; Y; Z\}$ queda definido como:

$$\hat{S} = \cos(\varphi) \hat{i} + \sin(\varphi) \cos(\delta) \hat{j} + \sin(\varphi) \sin(\delta) \hat{k} \quad (2.22)$$

A fin de poder determinar la posición del sol con respecto a un punto fijo sobre la superficie de la tierra es conveniente definir un sistema de referencia local $\{X''; Y''; Z''\}$ en el cual X'' e Y'' se encuentran en el plano XY y el eje Z'' coincide con Z (eje de la tierra), de

modo que \hat{S} siempre se encuentra contenido sobre el plano $X''Z''$. Si definimos los vectores direccionales unitarios \hat{E} , \hat{N} y \hat{R} orientados oeste-este (\hat{E}), sur-norte (\hat{N}) y en la dirección radial (\hat{R}) podemos expresar una posición sobre la superficie de la tierra a través de su latitud (λ) y el ángulo horario (ω) en el sistema de referencia local $\{X''; Y''; Z''\}$:

$$\hat{E} = -\sin(\omega) \hat{i}'' + \cos(\omega) \hat{j}'' \quad (2.23)$$

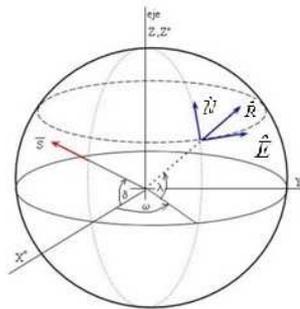


Figura 2.6: sistema de referencia local $\{X''; Y''; Z''\}$ para la determinación de la posición del sol respecto de un punto fijo sobre la superficie de la tierra.

El ángulo horario (en radianes) para una determinada hora se define de acuerdo a la posición del meridiano de Greenwich de acuerdo a:

$$\omega = 15(12 - h) \quad (2.24)$$

donde h es la hora local considerada. Debido a la forma elíptica de la trayectoria de la tierra alrededor del sol, la velocidad de rotación de la tierra sobre su propio eje cambia a lo largo del año, por lo que la duración de los días también cambia a lo largo del año. De esta manera es necesario corregir el valor de la hora local a fin de determinar en forma precisa la posición del sol respecto de un punto fijo sobre la superficie de tierra a lo largo de las diferentes horas del día y del año. Se define entonces el tiempo local aparente (TLA) como:

$$TLA = TLM + E_t \quad (2.25)$$

donde TLM es el tiempo local medio, que es equivalente a:

$$TLM = \text{hora local estandar} + 4 * (L_s - L_{local}) \quad (2.26)$$

donde L_s es la longitud estándar correspondiente al uso local, y L_{local} es la longitud local. Por otro lado, E_t es la denominada ecuación del tiempo y se define como:

$$E_t = 229.18(7.510^{-5} + 1.8710^{-3} \cos \Gamma + 3.2110^{-2} \sin \Gamma - 1.1510^{-2} \cos 2\Gamma - 4.0910^{-2} \sin 2\Gamma) \quad (2.27)$$

donde E_t está definida en radianes y Γ es el ángulo diario y se define como (Cooper, 1969):

$$\Gamma = \frac{2\pi}{365}(d - 1) \quad (2.28)$$

Por otro lado, \hat{R} que se encuentra sobre la posición radial, puede ser definido como:

$$\hat{R} = \cos(\omega) \cos(\lambda) \hat{i}'' + \sin(\omega) \cos(\lambda) \hat{j}'' + \sin(\lambda) \hat{k}'' \quad (2.29)$$

y a partir de \hat{E} y \hat{R} es posible expresar \hat{N} a través del producto cruz de ambos vectores:

$$\hat{N} = -\cos(\omega) \sin(\lambda) \hat{i}'' + \sin(\omega) \sin(\lambda) \hat{j}'' + \cos(\lambda) \hat{k}'' \quad (2.30)$$

Finalmente, para poder definir \hat{S} en el sistema de referencia local \hat{E} , \hat{N} y \hat{R} , primero es necesario definir \hat{S} en el sistema X"Y"Z":

$$\hat{S} = \cos(\delta) \hat{i}'' + \sin(\delta) \hat{k}'' \quad (2.31)$$

donde δ es el ángulo de declinación de \hat{S} con el eje X". Luego, a partir de (2.23), (2.29), (2.30) y (2.31) obtenemos que:

$$S_E = -\sin(\omega) \cos(\delta) \quad (2.32)$$

$$S_N = -\cos(\delta) \cos(\omega) \sin(\lambda) + \cos(\lambda) \sin(\delta) \quad (2.33)$$

$$S_R = \cos(\omega) \cos(\lambda) \cos(\delta) + \sin(\lambda) \sin(\delta) \quad (2.34)$$

$$\hat{S} = \begin{bmatrix} -\cos(\delta) \cos(\omega) \sin(\lambda) + \cos(\lambda) \sin(\delta) \\ -\sin(\omega) \cos(\delta) \\ \cos(\omega) \cos(\lambda) \cos(\delta) + \sin(\lambda) \sin(\delta) \end{bmatrix} \hat{E} + \begin{bmatrix} -\sin(\omega) \cos(\delta) \\ \cos(\omega) \cos(\lambda) \cos(\delta) + \sin(\lambda) \sin(\delta) \end{bmatrix} \hat{R} \quad (2.35)$$

El vector \hat{S} puede ser expresado en el sistema local a través de el ángulo de elevación del sol (α) y del ángulo azimut (φ) como se observa en la Fig.2.7:

$$\hat{S} = \sin(\varphi)\cos(\alpha)\hat{E} + \cos(\varphi)\cos(\alpha)\hat{N} + \sin(\alpha)\hat{R} \quad (2.36)$$

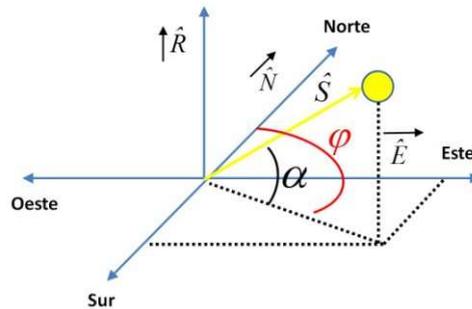


Figura 2.7: Sistema de referencia local para la determinación de la posición del sol respecto de un punto fijo sobre la superficie de la tierra a través de la definición de el ángulo de elevación del sol (α) y del ángulo azimut (φ) c

A partir de estas de las expresiones (2.35) y (2.36), es posible obtener las siguientes relaciones:

$$\sin(\alpha) = \cos(\omega)\cos(\lambda)\cos(\delta) + \sin(\lambda)\sin(\delta) \quad (2.37)$$

$$\cos(\varphi) = \frac{\cos(\lambda)\sin(\delta) - \cos(\delta)\cos(\omega)\sin(\lambda)}{\cos(\alpha)} \quad (2.38)$$

donde el sistema está definido de manera que $-90^\circ < \alpha < 90^\circ$, donde los valores negativos corresponden a las horas de oscuridad, los valores positivos a las horas de luz y en $\alpha = 0^\circ$ corresponde a la salida o a la puesta del sol.

Por otro lado, $0^\circ < \varphi < 360^\circ$, donde $\varphi = 0^\circ$ coincide con el norte en el equinoccio de primavera y crece en el sentido de las agujas del reloj. Debido a que φ está definido a través de la inversa del coseno (que define ángulos entre 0-180°C solamente), se aplica la siguiente regla:

- Para $\omega < 0^\circ$

$$\varphi = \cos^{-1} \left[\frac{\cos(\lambda) \sin(\delta) - \cos(\delta) \cos(\omega) \sin(\lambda)}{\cos(\alpha)} \right] \quad (2.39)$$

- Para $\omega > 0^\circ$

$$\varphi = 360^\circ - \cos^{-1} \left[\frac{\cos(\lambda) \sin(\delta) - \cos(\delta) \cos(\omega) \sin(\lambda)}{\cos(\alpha)} \right] \quad (2.40)$$

De esta manera, a fin de conocer el ángulo de incidencia de los rayos solares respecto de un punto fijo situado sobre la ciudad de Santa Fe, se determinaron las posiciones del sol para cada una de las horas de los 365 días del año a partir de las expresiones (2.37) y (2.38). La información obtenida de los valores de los ángulos φ y α será utilizada para el desarrollo de un algoritmo de cálculo basado en MC para la simulación del FBR propuesto.

2.3 Simulación de la producción de biomasa en un reactor abierto tipo *raceway* situado en la ciudad de Santa Fe bajo diferentes condiciones operativas

En esta sección, se llevará adelante la simulación de la producción de biomasa de *Scenedesmus quadricauda* en un reactor abierto tipo *raceway* situado en la ciudad de Santa Fe operado en forma semi-continua. Para esto se llevará a cabo el desarrollo un simulador computacional basado en el método de MC, que utilizará la cinética de crecimiento y el modelo de distribución del campo de energía radiante desarrollados en los capítulos (7) y (5), respectivamente, considerando las condiciones de radiación locales descritas en la sección anterior del presente capítulo. En la Fig.2.8 se esquematiza el funcionamiento del algoritmo desarrollado.

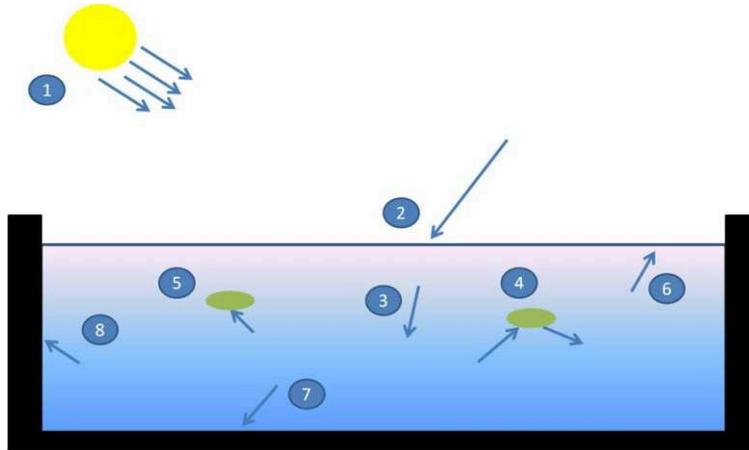


Figura 2.8: Diagrama de los eventos simulados a través del programa computacional basado en el método de Monte Carlo propuesto. 1) determinación de la posición del sol en base a la hora y día del año considerados y caracterización de los fotones emitidos (dirección y longitud de onda); 2) selección de la posición de impacto del fotón sobre la superficie del reactor y evaluación del ingreso o no del fotón al reactor calculando su nueva dirección en caso de ingresar (si no ingresa se descarta y se retorna a (1); 3) avance del fotón en la suspensión de microalgas sin sufrir ningún evento; 4) colisión del fotón con una microalga y cambio de dirección (*scattering*) y vuelta a (3); 5) colisión y absorción del fotón con una microalga y vuelta a (1); 6) fotón llega a la superficie del medio, donde puede reflejarse hacia el interior del cultivo con una nueva dirección, o puede refractarse y salir del medio, volviendo a (1); 7) fotón llega a la base del reactor y se refleja al interior del medio (se considera que las superficies internas son blancas y reflejan la luz en forma difusa), volviendo luego a (3); 8) fotón llega a una de las superficies laterales del reactor y se refleja al interior del medio (se considera que las superficies internas son blancas y reflejan la luz en forma difusa), volviendo luego a (3).

Los eventos de reflexión/refracción sufridos por los fotones al interactuar con la superficie del medio o con las paredes del reactor, y los eventos de absorción y scattering serán modelados de la misma manera que en el capítulo 5.

De acuerdo al diagrama de la Fig.2.8, el programa simula un número suficiente de fotones para cada intervalo de tiempo considerado (se tomará un intervalo de una hora) y luego determina el perfil de distribución del campo de energía radiante en cada punto del reactor ($r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t)$). A continuación a través de la cinética de propagación celular desarrollada en el capítulo 7, se obtiene la velocidad de producción de biomasa y clorofilas en cada región del reactor que determinarán las concentraciones iniciales para el próximo intervalo de tiempo considerado de acuerdo a:

$$x(t + \Delta t) \left[\frac{mg}{L} \right] = \sum_{i=1}^{i=n} r_x^i \Delta t + x(t) \quad (2.41)$$

$$ch(t + \Delta t) \left[\frac{mg}{L} \right] = \sum_{i=1}^{i=n} r_{Ch}^i \Delta t + ch(t) \quad (2.42)$$

donde r_x^i y r_{Ch}^i son las velocidades locales de producción de biomasa y clorofilas (descriptas en el capítulo 7), en la región i del reactor de acuerdo a la división utilizada para el modelado del FBR; $x(t)$ y $ch(t)$ son las concentraciones de biomasa y clorofilas, respectivamente, presentes en el reactor en el instante t ; y $x(t + \Delta t)$ y $ch(t + \Delta t)$ son las concentraciones de biomasa y clorofilas obtenidas luego del intervalo de tiempo Δt en el FBR.

A fin de poder modelar el desempeño del reactor es necesario considerar una serie de suposiciones a fin de simplificar el análisis del sistema:

- las condiciones de radiación locales son las determinantes del crecimiento de los cultivos; de modo que factores ambientales como lluvias, cambios de temperatura, nubosidad, etc. no influyen sobre la propagación celular.
- no existe pérdida por evaporación del medio de cultivo, de modo que el nivel de medio siempre se mantiene constante.
- la totalidad de los nutrientes del medio de cultivo se encuentran siempre en concentraciones suficientes para evitar la limitación del crecimiento de las microalgas.
- durante las horas de oscuridad se considera que no se producen cambios de concentración de biomasa y clorofilas en los cultivos.
- durante los instantes de mayor irradiación solar, donde se reduce o inhibe la producción de biomasa en las zonas más expuestas de los reactores, se considera que las células seguirán siendo viables luego de disminuir la densidad de radiación local recibida.
- el reactor simulado tendrá una dimensión de dos metros de largo por uno de ancho orientado en la dirección norte-sur

- las condiciones de agitación del reactor garantizan una mezcla perfecta del medio y una velocidad de transferencia gas-líquido suficiente como para no limitar el crecimiento celular.
- la biomasa producida al finalizar un día de cultivo será cosechada al finalizar el mismo a fin de obtener la misma concentración de biomasa inicial durante todos los días del año

De esta manera, se llevará adelante la simulación de la producción de biomasa en el FBR propuesto evaluando el desempeño del mismo bajo diferentes condiciones de cultivo. Se propondrán una tres posibles profundidades del medio y tres posibles concentraciones de biomasa inicial, a fin de evaluar la eficiencia del reactor operando bajo cada una de las diferentes opciones durante los diferentes meses del año.

3. Resultados y Discusión

3.1 Condiciones de Radiación solar incidentes sobre el FBR

En la Fig.3.1 se muestran los valores de $n_{Tot}^G(r, t)$ promedio para cuatro días correspondientes a cada una de las cuatro estaciones del año.

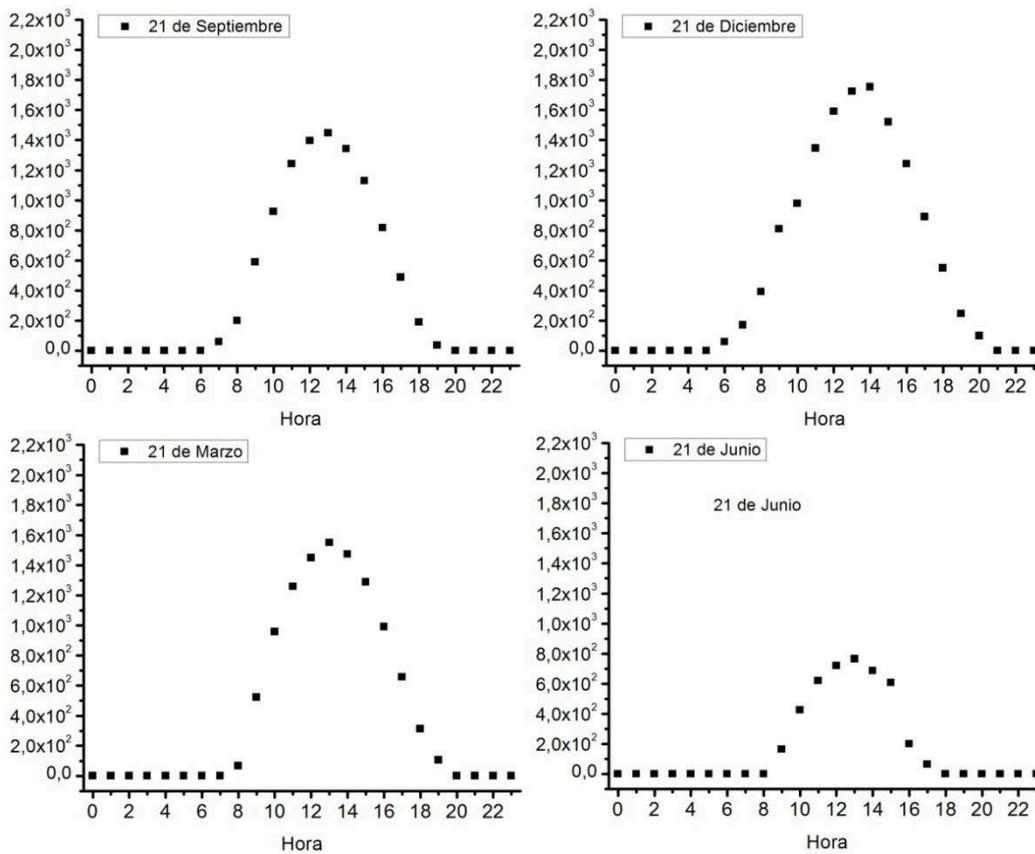


Figura 3.1: Distribución de los datos registrados por el CIM entre octubre de 2008 y diciembre de 2013, durante las 24 horas, para los días 21 marzo, 21 de junio, 21 de septiembre y 21 de diciembre. Los valores corresponden a la cantidad total de fotones por unidad de tiempo y unidad de área que incide en un instante sobre la superficie del detector y se encuentran expresados en unidades de $[\mu\text{mol fotones } m^{-2} \text{ seg}^{-1}]$

En la Fig.3.1 se observa claramente como la radiación alcanza su máximo en el horario cercano al medio día, y como los valores de $n_{Tot}^G(r, t)$ en verano llegan a ser más del doble que los alcanzados en invierno. Esta gran variación en la radiación, dificulta en gran medida mantener una producción de biomasa constante a lo largo del año en un FBR a cielo abierto. En la Fig.3.2 se muestran las posiciones del sol respecto a un punto fijo sobre la ciudad de Santa Fe para estos cuatro días del año.

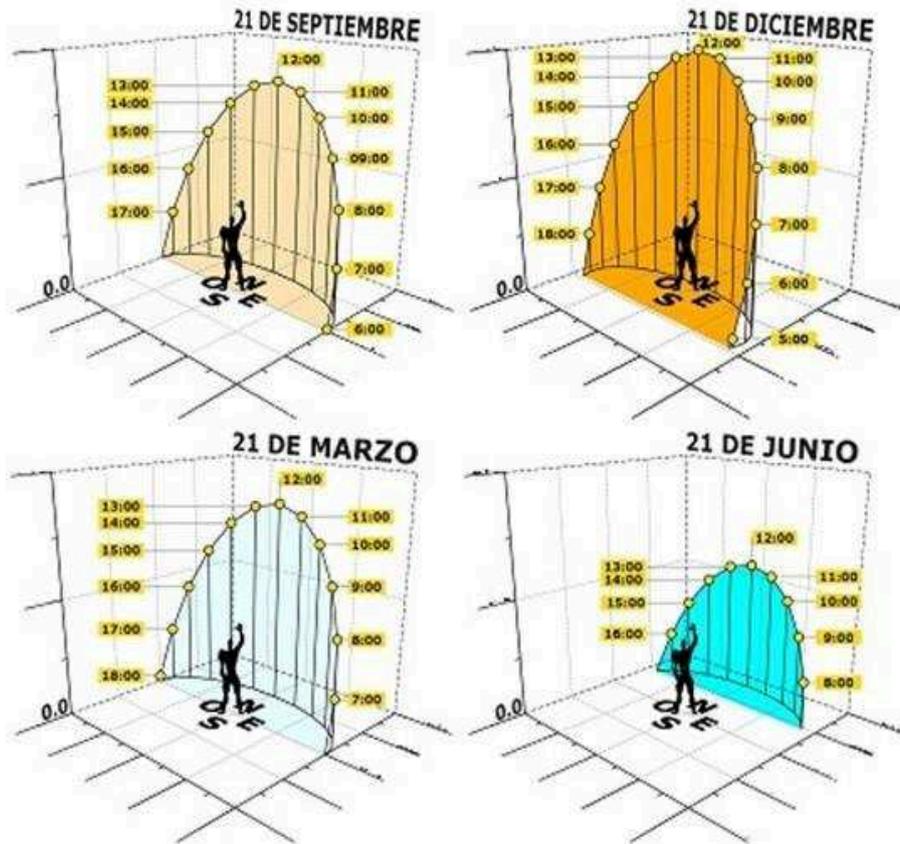


Figura 3.2: Posición del sol para diferentes horas de los días 21 de marzo, 21 de junio, 21 de septiembre y 21 de diciembre en la ciudad de Santa fe.

En la Tabla 1 del anexo I, se muestran todos los valores promedio de $n_{Tot}^G(\underline{r}, t)$ obtenidos para las 24 hs de los 365 días del año a través del procesamiento de datos propuesto, que serán utilizados para el programa de simulación de reactor.

3.2 Simulación de la producción de biomasa en un reactor abierto tipo *raceway* situado en la ciudad de Santa Fe bajo diferentes condiciones

En una primer estudio, se llevó adelante la simulación de la producción de biomasa en el FBR propuesto para un día de cada mes del año, a fin de evaluar las condiciones de operación del FBR que favorecieran la productividad de biomasa.

En la Fig.3.3, la productividad de biomasa en unidades de $\text{mg día}^{-1} \text{L}^{-1}$; en el FBR simulado para los días correspondientes a al 21 de marzo, 21 de junio, 21 de septiembre y 21 de diciembre.

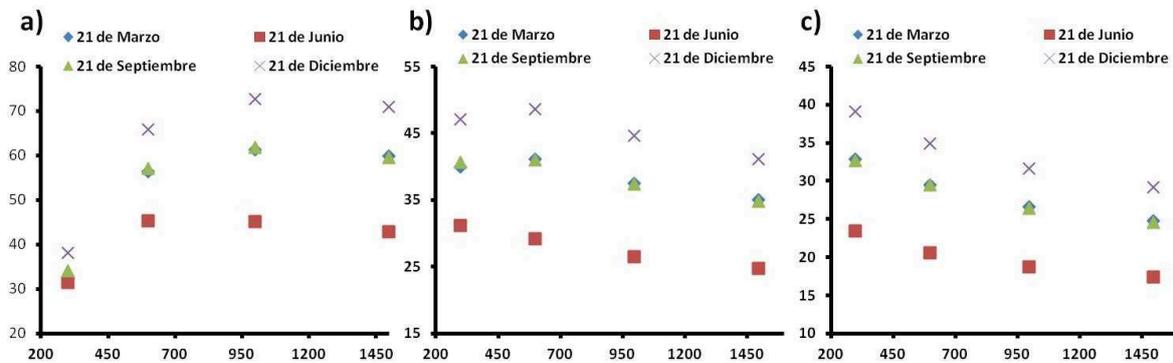


Figura 3.3: Velocidad de producción de biomasa en $\text{mg día}^{-1} \text{L}^{-1}$; en el FBR simulado. Se muestran los valores obtenidos correspondientes a los días 21 de marzo, 21 de junio, 21 de septiembre y 21 de diciembre, utilizando cuatro concentraciones iniciales de biomasa: 300 mg/L , 600 mg/L , 1000 mg/L y 1500 mg/L . Cada una de las gráficas representa los valores correspondientes al FBR simulado con una altura de medio de 20cm (a), 35cm (b) y 50 cm (c).

Como puede observarse, el FBR operado con una altura de medio de cultivo de 20cm (Fig.3.3.a) lograría las mayores productividades de biomasa para las tres alturas propuestas. Estos valores aumentarían hasta una concentración inicial de biomasa de 1000 mg/L , pero con un valor inicial mayor comenzarían a descender (a excepción del 21 de junio donde se produce la menor densidad de radiación solar incidente y la eficiencia decaería luego de los 600 mg/L).

En la Fig.3.1.b se observa que si la altura inicial del medio fuese de 35cm los valores de productividad de biomasa alcanzados serían menores que en el caso anterior, y los que los mismos comenzarían a disminuir a partir de una concentración inicial de biomasa superior a 600 mg/L , mientras que para el 21 de junio la eficiencia del sistema decaería en todo el rango de biomasa inicial analizado.

En el caso donde la altura inicial del medio fuese de 50cm (Fig.3.1.c), los valores de productividad serían los menores obtenidos en los tres casos analizados, y los mismos disminuirían al aumentar la concentración de biomasa inicial en todo el rango evaluado.

De esta manera, bajas concentraciones iniciales de biomasa en el reactor, provocarían que la radiación reciba por los células fuese muy elevada, disminuyendo la productividad de biomasa alcanzada por una inhibición del crecimiento celular por exceso de radiación. Por otro lado, una alta concentración inicial favorecería la estratificación de la radiación en el interior del cultivo, provocando zonas de altas y zonas de bajas densidades de fotones, generando regiones en las cuales el crecimiento celular se vea inhibido por exceso de luz o limitado por falta de luz respectivamente.

A modo de ejemplo, en la Fig.3.4 se analiza el perfil de distribución de la velocidad local de producción de biomasa para el cultivo de la Fig.3.3.a, con 300, 1000 y 1500mg/L de biomasa inicial en la hora 12 del día 21 de septiembre. Puede observarse que en las tres condiciones de biomasa inicial la radiación solar recibida sobre la superficie del reactor provocaría la inhibición del crecimiento celular por exceso de luz, pero que a medida que se incrementa la concentración de biomasa en el cultivo, el volumen del FBR donde la radiación es inhibitoria disminuye (aumenta la estratificación de la luz en el medio disminuyendo la radiación recibida por cada célula). Sin embargo, a medida que aumenta la concentración de biomasa también se incrementa el tamaño de las zonas oscuras (donde el crecimiento celular se ve limitado por la falta de radiación local disponible) en las regiones más profundas del reactor, lo cual provocaría eventualmente la disminución de la velocidad de producción de biomasa en el volumen total del medio.

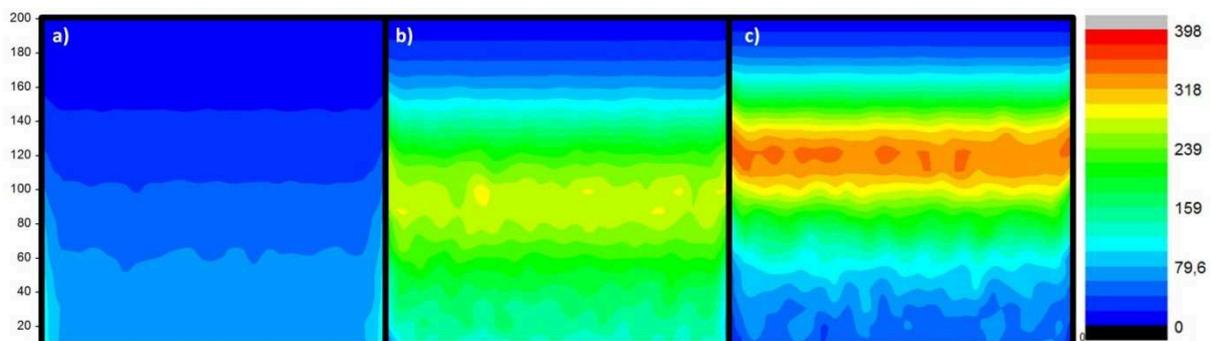


Figura 3.4: perfiles de distribución de $r_x^{local} [mg L^{-1} dia^{-1}]$ para la simulación de un FBR ubicado en la ciudad de Santa Fe durante la hora del medio día del día 21 de septiembre, con una altura de medio de 200 mm utilizando 300 (a), 1000 (b) y 1500mg/L (c) de biomasa inicial

Es posible observar a través del análisis realizado, que la distribución del campo de energía radiante y su relación con la densidad celular en FBRs iluminados con luz solar es muy compleja. De esta manera, el desarrollo de simuladores computacionales capaces de modelar estos sistemas es una tarea fundamental para el diseño y optimización de los mismos.

Los resultados correspondientes a las simulaciones del resto de los meses del año, mostraron valores de productividades de biomasa que se sitúan entre los obtenidos para el 21 de junio (valores mínimos) y el valores obtenidos para el 21 de diciembre (valores máximos), debido a la variación en la densidad de radiación recibida por los cultivos en las diferentes épocas del año consideradas. De esta manera, se decidió llevar adelante la simulación de la producción de biomasa para todos los días del año, operando el reactor con una altura de medio de 20cm y una biomasa inicial de 1000mg/L, a excepción de los meses de mayo y junio donde la biomasa inicial será de 600mg/L, cosechando al final de cada día la biomasa producida para comenzar el crecimiento del día siguiente con la misma concentración de biomasa inicial.

En la Fig.3.5 se muestra la productividad de biomasa en el reactor y los valores de $q_{Tot}^G(\underline{r}, t)$ para cada uno de los meses del año. Como puede observarse, la mayor productividad de biomasa se obtendría durante los meses de mayor radiación solar incidente sobre los cultivos (noviembre, diciembre y enero).

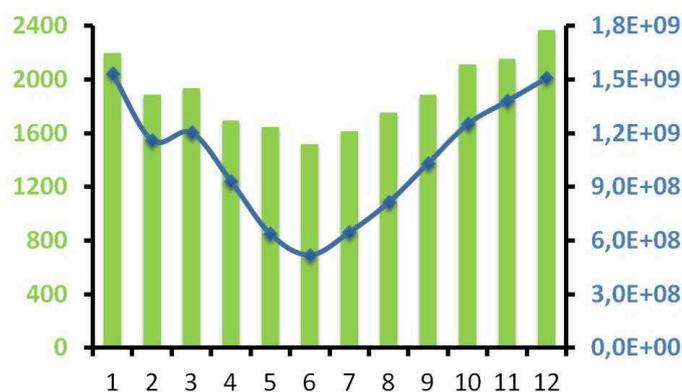


Figura 3.5: Velocidad de producción de biomasa [mg biomasa L⁻¹ mes⁻¹] (columnas verdes con la escala en el eje izquierdo) y valores de $q_{Tot}^G(\underline{r}, t)$ [$\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{mes}^{-1}$] (línea azul con la escala en el eje derecho) durante los diferentes meses del año para el FBR simulado.

Una vez obtenidos los valores de producción de biomasa para cada día del año, se procedió al cálculo de la productividad anual del FBR, considerando la biomasa producida por unidad de superficie de reactor expuesto a la radiación solar. De esta manera se obtuvo que:

$$Pr_{od}\left(\frac{\text{ton biom}}{\text{año ha}}\right) = \left[\sum_{t=1}^{t=365} r_x(t) \Delta t \right] \frac{V_R}{A_R} = 45.38 \frac{\text{ton biom}}{\text{año ha}} \quad (3.1)$$

donde $Pr_{od}\left(\frac{\text{ton biom}}{\text{año ha}}\right)$ es la productividad del reactor, $r_x(t)\left[\frac{\text{ton biom}}{\text{año L}}\right]$ es la velocidad de producción de biomasa de microalgas obtenida a partir del modelo cinético propuesto; $V_R[L]$ es el volumen del reactor y $A_R[ha]$ es la superficie del reactor expuesta a la radiación solar. De acuerdo a los resultados obtenidos de las simulaciones del reactor *raceway* propuesto, se observa que la productividad de biomasa alcanzada se encontraría en el orden de lo reportado por otros autores para este tipo de FBRs. (Jorquera y col., 2010; Norsker y col. 2011).

Históricamente Argentina ha sido uno de los principales productores de biodiesel a partir de aceite soja del mundo, ocupando actualmente la tercer posición en base a la materia prima destinada para este fin estimada en 2.05 millones de toneladas según un

informe publicado por la Bolsa de Comercio de Rosario durante el año 2014 (Calzada, 2014). De acuerdo a un informe publicado por el INTA (Cuniberti y col. 2014) el rendimiento de la superficie sembrada de soja en nuestro país (20.2 millones de hectáreas) durante la campaña 2013/2014 fue de 2.8 toneladas por hectárea, mientras que el contenido de aceite promedio de la soja cosechada en los últimos 17 años es del orden del 22.7%. Esto daría una productividad de aceite de soja del orden de 0.6 toneladas de aceite por hectárea por año.

Una de las principales aplicaciones estudiadas acerca del cultivo de microalgas en la actualidad es la extracción de sus aceites para la producción de biodiesel (Fon Sing y col., 2013). Si consideramos la productividad de biomasa estimada en el presente estudio y consideramos un contenido de lípidos de *Scenedesmus quadricauda* del 18% de acuerdo a lo reportado en la bibliografía (Rodolfi y col., 2009), podríamos estimar una productividad anual de aceite de microalgas del orden de las 8.2 toneladas de aceite por hectárea por año.

Comparando ambos resultados, es posible observar que la productividad de aceites para la producción de biodiesel alcanzada a través del cultivo de microalgas sería más de 10 veces superior a la lograda a través del cultivo de soja. Sumado a esto, también es importante considerar que los terrenos afectados para el cultivo de microalgas no deben ser necesariamente tierras fértiles a diferencia de la soja, y que el consumo para alimentación humana de microalgas es mucho más limitado que el de la soja. A través de estos resultados es posible observar la potencialidad del cultivo de microalgas en este tipo de reactores para la producción de aceites como materia prima para la producción de biodiesel o para la obtención de algún otro metabolito de interés comercial.

4. Conclusiones

Durante el presente capítulo, se llevó a cabo el desarrollo de un algoritmo computacional basado en el método de MC, para la simulación de un reactor tipo *raceway*

para el cultivo de *Scenedesmus quadricauda*. Dicho proceso fue realizado considerando las condiciones de radiación solar en la ciudad de Santa Fe a lo largo de todo el año registradas por el CIM y estimando la velocidad de crecimiento de las microalgas a través del modelo cinético de propagación celular desarrollado en el capítulo 7.

El algoritmo de simulación desarrollado permitió evaluar el desempeño del sistema de cultivo propuesto bajo diferentes condiciones operacionales (altura de medio de cultivo y concentraciones iniciales de biomasa). Es importante recordar que los resultados logrados en el presente capítulo son estimaciones obtenidas considerando una serie de simplificaciones del sistema de cultivo debido a la falta de datos experimentales obtenidos en reactores *raceway* iluminados con luz solar. Sería necesario en el mediano plazo llevar adelante la realización de cultivos experimentales bajo estas condiciones, a fin de poder corregir y ajustar los modelos desarrollados.

Los resultados obtenidos a partir de las simulaciones llevadas a cabo, permitieron llevar adelante el análisis y la selección de las condiciones que favorecieran la mayor productividad de biomasa en el reactor, demostrando la potencialidad del algoritmo de simulación desarrollado como una herramienta apta para el diseño y optimización de FBRs iluminados con radiación solar.

5. Bibliografía

- Albizzati E.D., Rossetti G.H., Alfano O.M. (1997). Measurements and predictions of solar radiation incident on horizontal surfaces at Santa Fe, Argentina (31 ° 39'S, 60 ° 43'W). *Renewable Energy*. 11(4): 469-478.
- Calzada J. (2014) Argentina pierde el primer lugar en la producción mundial de biodiesel en base a soja. Informe semanal de la Bolsa de Comercio de Rosario N°1675.
- Chisti Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*. 25: 294–306.
- Cooper P.I. (1969). The absorption of radiation in solar stills. *Solar Energy*. 12 (3): 333-346.
- Cuniberti M., Herrero R.; Mir L.; Berra O., Macagno S.(2014) Rendimiento y calidad comercial e industrial de la soja en la Región Núcleo-Sojera. Cosecha 2013-14.
- Fon Sing S., Isdepsky A., Borowitzka M.A., Moheimani N.R. (2013). Production of biofuels from microalgae. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*. 18(1): 47-72.
- Gueymard C., Myers D., Emery K. (2002). Proposed reference irradiance spectra for solar energy systems testing. *Solar Energy*. 73(6): 443-467.
- Jorquera O., Asher Kiperstok A., Sales E.A., Embiruçu M., Ghirardi M.L. (2010). Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors. *Bioresource Technology*. 101(4): 1406–1413.
- Lam M.K., Lee K.T. (2014) Scale-Up and Commercialization of Algal Cultivation and Biofuel Production. En: *Biofuels from algae* (Ed. Pandey A., D.J. Lee, Chisti Y., Soccol C.R.). Elsevier. USA.
- Norsker N.H., Barbosa M.J., Vermuë M.H., Wijffels R.H. (2011). Microalgal production - A close look at the economics. *Biotechnology Advances* 29: 24–27.
- Richmond A. (2004) Biological Principles of Mass Cultivation. En: *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. (Ed.: Richmond, A.) Blackwell Publishing company. Oxfors, UK. p: 125-177

- Rodolfi L., Zittelli C., Bassi N., Padovani J., Biondi N., Bonini G., Tredici M.R. (2009). Microalgae for Oil: Strain Selection, Induction of Lipid Synthesis and Outdoor Mass Cultivation in a Low-Cost Photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*. 102(1): 100-112.
- Tredici M.R. (2004) Mass Production of Microalgae: Photobioreactors. En: *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. (Ed.: Richmond, A.) Blackwell Publishing company. Oxford, UK. p: 178-214.
- Ugwu C.U., Aoyagi H., Uchiyama H. (2008). Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource Technology* 99: 4021–4028
- Vieira Costa J.A., Greque de Morais M.G. (2014) An Open Pond System for Microalgal Cultivation. En: *Biofuels from algae* (Ed. Pandey A., D.J. Lee, Chisti Y., Soccol C.R.). Elsevier. USA.

ANEXO I

Tabla I. Valores de la radiación promedio en función del día y la hora. El promedio fue calculado incluyendo los valores de los 6 años, considerando los registros tomados entre los 30 minutos previos y los 30 minutos posteriores a cada hora, y considerando los valores de los 3 días anteriores y 3 días posteriores de cada día. Los registros con valores inferiores a $10 \text{ [W m}^{-2}\text{]}$ fueron desestimados por ser comparables con la señal de base del instrumento.

día	hora																							
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
1	0	0	0	0	0	0	36	92	174	428	568	702	865	915	898	782	678	483	296	129	45	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	37	91	170	428	569	701	863	908	895	780	671	476	295	128	44	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	38	92	169	418	558	705	861	909	895	779	665	476	296	125	45	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	37	91	162	423	565	720	874	924	905	789	668	480	298	128	46	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	38	90	156	418	557	722	886	934	911	805	679	476	298	125	45	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	37	88	152	420	557	731	892	939	917	807	676	483	301	125	45	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	37	85	147	419	550	738	892	944	925	812	680	489	306	125	43	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	36	83	143	420	548	745	895	954	923	820	693	494	311	126	42	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	37	82	137	428	557	763	926	983	954	837	685	493	313	128	43	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	39	79	130	422	547	758	928	980	964	857	693	499	317	131	43	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	43	76	125	429	540	749	918	985	967	865	705	497	317	130	43	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	44	73	123	428	533	753	913	985	969	874	705	497	322	131	42	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	70	115	432	541	769	932	1001	980	894	713	502	326	132	42	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	70	114	437	546	769	925	998	971	888	707	504	325	132	42	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	72	107	448	559	787	950	1023	993	904	724	519	330	134	43	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	71	102	451	566	791	965	1026	989	888	726	525	336	137	43	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0	71	97	439	560	784	955	1026	992	888	729	528	334	136	43	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	67	94	439	564	775	950	1019	996	879	733	524	333	138	44	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0	64	90	428	555	761	940	1008	979	874	730	524	329	137	43	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0	63	86	425	563	760	941	1006	980	876	726	523	327	135	43	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	63	82	420	561	750	940	1002	977	869	727	517	324	134	41	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0	0	62	79	412	565	746	939	1001	973	859	723	517	324	132	43	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0	0	60	76	401	567	737	930	984	965	858	724	516	323	132	43	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	57	75	377	545	707	881	933	921	834	712	504	319	130	43	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0	56	73	369	541	701	866	911	895	809	694	490	310	126	43	0	0	0	0
26	0	0	0	0	0	0	54	69	348	527	696	844	894	886	796	678	482	305	124	42	0	0	0	0
27	0	0	0	0	0	0	52	64	346	532	686	835	895	885	798	677	481	303	123	42	0	0	0	0
28	0	0	0	0	0	0	52	64	342	533	675	823	885	875	780	666	467	295	119	41	0	0	0	0
29	0	0	0	0	0	0	49	63	333	526	664	809	867	861	771	663	465	295	118	42	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	48	64	326	522	649	792	851	844	752	648	462	290	116	43	0	0	0	0
31	0	0	0	0	0	0	45	66	316	513	644	783	843	832	749	634	454	286	112	44	0	0	0	0
32	0	0	0	0	0	0	44	70	310	505	631	771	829	807	736	625	452	284	112	45	0	0	0	0
33	0	0	0	0	0	0	43	66	309	511	635	778	838	811	748	628	458	283	110	44	0	0	0	0
34	0	0	0	0	0	0	43	68	310	510	631	772	839	805	737	611	443	283	109	44	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0	0	40	68	310	510	636	777	843	809	739	621	450	286	110	47	0	0	0	0
36	0	0	0	0	0	0	39	68	312	510	638	769	844	811	748	623	453	287	108	51	0	0	0	0
37	0	0	0	0	0	0	37	68	313	508	638	756	829	788	743	617	451	284	106	53	0	0	0	0
38	0	0	0	0	0	0	38	67	313	509	643	758	846	799	748	618	456	285	106	53	0	0	0	0
39	0	0	0	0	0	0	39	69	329	524	668	787	875	834	769	625	464	284	106	52	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	39	67	327	522	667	792	894	851	775	636	466	286	107	53	0	0	0	0
41	0	0	0	0	0	0	39	67	336	540	673	798	904	848	775	633	470	285	106	53	0	0	0	0
42	0	0	0	0	0	0	39	68	319	518	657	786	880	828	751	612	459	282	105	54	0	0	0	0
43	0	0	0	0	0	0	39	67	310	501	644	766	857	805	738	599	452	277	105	53	0	0	0	0
44	0	0	0	0	0	0	39	66	299	482	621	752	837	790	724	583	436	262	101	50	0	0	0	0
45	0	0	0	0	0	0	37	67	286	466	615	735	823	777	715	574	427	260	98	49	0	0	0	0
46	0	0	0	0	0	0	38	63	288	462	611	728	808	776	713	576	430	258	98	50	0	0	0	0
47	0	0	0	0	0	0	37	61	292	461	608	742	813	788	719	580	428	256	97	49	0	0	0	0
48	0	0	0	0	0	0	36	61	288	450	594	712	787	752	695	562	419	252	96	49	0	0	0	0
49	0	0	0	0	0	0	34	59	292	453	610	724	787	770	698	567	424	251	95	49	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	34	61	290	442	603	711	783	768	695	556	420	247	93	48	0	0	0	0
51	0	0	0	0	0	0	32	60	291	438	604	711	773	752	686	550	419	243	91	45	0	0	0	0
52	0	0	0	0	0	0	31	61	286	431	597	715	780	768	692	551	417	241	92	44	0	0	0	0
53	0	0	0	0	0	0	29	59	285	419	598	715	769	756	687	543	409	233	89	41	0	0	0	0
54	0	0	0	0	0	0	26	56	284	420	596	721	767	742	677	548	409	230	88	43	0	0	0	0
55	0	0	0	0	0	0	25	57	282	422	595	713	758	736	683	542	413	230	88	45	0	0	0	0
56	0	0	0	0	0	0	25	57	284	423	599	723	757	738	689	549	411	228	87	45	0	0	0	0
57	0	0	0	0	0	0	24	56	295	440	621	744	776	754	710	565	420	228	84	43	0	0	0	0
58	0	0	0	0	0	0	23	56	303	448	636	762	797	770	721	578	432	231	84	43	0	0	0	0
59	0	0	0	0	0	0	22	57	310	469	665	783	830	799	734	585	437	235	85	44	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	21	53	318	482	677	802	840	807	740	592	438	233	87	44	0	0	0	0
61	0	0	0	0	0	0	21	51	319	490	682	805	852	807	746	593	433	233	88	42	0	0	0	0
62	0	0	0	0	0	0	20	50	311	490	690	795	848	804	744	589	431	231	86	42	0	0	0	0
63	0	0	0	0	0	0	20	47	312	502	708	824	870	824	755	590	422	225	84	36	0	0	0	0
64	0	0	0	0	0	0	20	46	302	495	692	799	845	792	741	582	418	223	83	36	0	0	0	0
65	0	0	0	0	0	0	19	44	293	491	677	787	815	769	712	565	404	216	81	0	0	0	0	0
66	0	0	0	0	0	0	19	43	284	488	669	781	811	768	704	556	394	210	79	0	0	0	0	

160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	96	251	351	420	449	423	351	119	34	0	0	0	0	0	0	0
161	0	0	0	0	0	0	0	0	0	28	90	241	337	403	433	411	344	114	33	0	0	0	0	0	0	0
162	0	0	0	0	0	0	0	0	0	28	90	234	330	386	410	389	324	108	33	0	0	0	0	0	0	0
163	0	0	0	0	0	0	0	0	0	28	85	228	317	373	397	377	323	108	34	0	0	0	0	0	0	0
164	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	83	220	307	360	387	365	315	105	34	0	0	0	0	0	0	0
165	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	79	211	291	347	376	358	310	103	34	0	0	0	0	0	0	0
166	0	0	0	0	0	0	0	0	0	30	79	206	285	343	371	353	309	105	35	0	0	0	0	0	0	0
167	0	0	0	0	0	0	0	0	0	31	79	207	290	347	373	348	309	102	33	0	0	0	0	0	0	0
168	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	80	214	306	368	391	361	319	102	33	0	0	0	0	0	0	0
169	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	82	216	310	362	388	355	312	102	34	0	0	0	0	0	0	0
170	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	84	219	317	371	394	356	314	100	34	0	0	0	0	0	0	0
171	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	86	222	324	376	399	359	317	105	34	0	0	0	0	0	0	0
172	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	87	226	326	378	405	364	319	109	35	0	0	0	0	0	0	0
173	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	87	228	330	384	413	371	325	109	33	0	0	0	0	0	0	0
174	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	91	234	338	393	425	389	338	115	32	0	0	0	0	0	0	0
175	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	37	94	240	350	403	436	405	352	120	33	0	0	0	0	0	0
176	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	37	97	247	358	417	451	416	365	127	35	23	0	0	0	0	0
177	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33	97	258	377	448	484	443	388	135	34	23	0	0	0	0	0
178	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	34	96	254	371	437	476	440	385	136	33	23	0	0	0	0	0
179	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	37	95	251	371	438	476	442	385	137	34	23	0	0	0	0	0
180	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	37	93	248	370	435	476	439	378	135	34	23	0	0	0	0	0
181	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35	90	250	367	435	478	442	377	137	34	23	0	0	0	0	0
182	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33	92	255	374	445	488	449	384	144	35	22	0	0	0	0	0
183	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33	90	255	369	435	479	439	375	146	35	23	0	0	0	0	0
184	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33	89	256	371	440	485	445	379	151	35	23	0	0	0	0	0
185	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	28	85	248	362	431	480	441	379	158	37	22	0	0	0	0	0
186	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29	84	249	361	431	476	441	378	162	38	22	0	0	0	0	0
187	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	28	86	257	371	442	485	450	385	165	37	23	0	0	0	0	0
188	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	28	86	257	370	446	491	457	388	172	38	22	0	0	0	0	0
189	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	28	86	254	366	436	482	448	378	175	38	22	0	0	0	0	0
190	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	86	262	374	446	492	456	382	183	39	23	0	0	0	0	0
191	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	87	266	385	452	499	462	384	192	40	20	0	0	0	0	0
192	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	87	259	368	431	479	447	374	195	42	20	0	0	0	0	0
193	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	89	260	368	431	473	442	368	199	44	18	0	0	0	0	0
194	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	87	259	366	427	471	445	371	208	45	18	0	0	0	0	0
195	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	87	269	381	450	492	464	387	223	47	18	0	0	0	0	0
196	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	89	274	392	457	499	470	383	231	50	18	0	0	0	0	0
197	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	90	276	390	456	496	470	386	243	56	19	0	0	0	0	0
198	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	94	276	393	465	506	483	400	254	58	17	0	0	0	0	0
199	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	95	282	402	476	517	494	410	265	61	17	0	0	0	0	0
200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	98	296	418	495	530	506	415	271	65	17	0	0	0	0	0
201	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	23	99	304	431	507	543	519	423	282	69	17	0	0	0	0	0
202	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	99	300	430	513	552	525	428	292	76	19	0	0	0	0	0
203	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	23	100	304	438	521	557	533	438	303	83	20	0	0	0	0	0
204	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	103	304	441	534	562	539	444	309	88	21	0	0	0	0	0
205	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	23	101	297	428	516	542	524	433	304	93	21	0	0	0	0	0
206	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	23	103	288	407	495	524	515	430	305	95	21	0	0	0	0	0
207	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	23	101	286	412	509	537	530	445	315	103	22	0	0	0	0	0
208	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	23	103	298	425	525	555	549	458	322	109	24	0	0	0	0	0
209	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	106	312	441	540	567	557	466	325	116	24	0	0	0	0	0
210	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	109	311	439	536	561	553	466	328	122	24	0	0	0	0	0
211	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	23	110	311	440	542	566	558	479	334	127	25	0	0	0	0	0
212	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	106	306	438	538	567	558	478	332	131	25	0	0	0	0	0
213	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	107	306	430	530	561	547	469	326	130	26	0	0	0	0	0
214	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	106	301	422	520	551	541	468	326	135	26	0	0	0	0	0
215	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	111	302	425	522	554	550	479	336	144	26	0	0	0	0	0
216	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	111	295	414	514	545	544	472	331	145	25	0	0	0	0	0
217	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	111	290	409	508	546	548	470	331	151	25	0	0	0	0	0
218	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	114	292	406	500	545	546	471	326	155	25	0	0	0	0	0
219	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	116	303	406	490	538	537	465	319	155	25	0	0	0	0	0
220	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26	118	300	403	492	547	544	468	326	157	25	0	0	0	0	0
221	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26	116	305	416	508	567	555	473	328	161	25	0	0	0	0	0
222	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26	125	326	440	526	588	571	481	334	166	26	0	0	0	0	0
223	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	27	127	317	437	531	591	570	477	330	166	27	0	0	0	0	0
224	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26	131	311	425	523	587	563	484	330	167	28	0	0	0	0	0
225	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26	138	318	434	521	589	570	490	334	170	31	0	0	0		

252	0	0	0	0	0	0	0	0	19	62	264	443	576	666	700	664	553	398	236	86	0	0	0	0	0
253	0	0	0	0	0	0	0	0	20	63	256	430	576	666	704	668	554	400	239	88	0	0	0	0	0
254	0	0	0	0	0	0	0	0	20	65	261	440	587	681	719	680	565	414	244	89	0	0	0	0	0
255	0	0	0	0	0	0	0	0	21	68	278	458	612	705	734	690	579	427	250	92	0	0	0	0	0
256	0	0	0	0	0	0	0	0	22	73	282	467	624	716	750	702	597	435	254	93	0	0	0	0	0
257	0	0	0	0	0	0	0	0	23	77	287	474	633	726	762	709	604	437	255	93	0	0	0	0	0
258	0	0	0	0	0	0	0	0	24	81	288	466	634	734	771	715	610	436	253	93	0	0	0	0	0
259	0	0	0	0	0	0	0	0	24	84	286	463	629	727	768	713	600	427	251	93	0	0	0	0	0
260	0	0	0	0	0	0	0	0	25	89	293	469	632	729	771	707	597	429	251	93	18	0	0	0	0
261	0	0	0	0	0	0	0	0	27	95	300	479	641	737	772	704	599	433	250	95	19	0	0	0	0
262	0	0	0	0	0	0	0	0	28	99	302	483	647	743	778	709	598	434	251	97	20	0	0	0	0
263	0	0	0	0	0	0	0	0	30	102	301	480	637	719	757	699	587	423	251	96	19	0	0	0	0
264	0	0	0	0	0	0	0	0	31	105	308	483	649	729	756	701	590	427	255	99	19	0	0	0	0
265	0	0	0	0	0	0	0	0	31	107	310	483	653	729	761	709	591	428	260	100	21	0	0	0	0
266	0	0	0	0	0	0	0	0	32	111	319	494	660	728	754	699	584	424	258	101	21	0	0	0	0
267	0	0	0	0	0	0	0	0	32	112	315	492	669	739	764	710	591	429	265	103	22	0	0	0	0
268	0	0	0	0	0	0	0	0	33	115	326	515	686	762	779	728	609	438	273	105	23	0	0	0	0
269	0	0	0	0	0	0	0	0	33	120	340	531	704	773	789	740	622	450	280	109	24	0	0	0	0
270	0	0	0	0	0	0	0	0	35	121	336	521	688	757	781	728	608	442	276	108	24	0	0	0	0
271	0	0	0	0	0	0	0	0	35	124	337	524	688	759	776	725	601	443	277	111	25	0	0	0	0
272	0	0	0	0	0	0	0	0	36	125	336	518	675	748	758	716	596	438	276	112	25	0	0	0	0
273	0	0	0	0	0	0	0	0	36	127	342	534	685	759	760	719	599	452	286	117	27	0	0	0	0
274	0	0	0	0	0	0	0	0	36	130	343	535	686	758	753	715	604	458	288	120	27	0	0	0	0
275	0	0	0	0	0	0	0	0	37	127	340	529	677	748	739	714	595	449	286	121	28	0	0	0	0
276	0	0	0	0	0	0	0	0	37	124	330	508	658	733	732	707	592	446	286	120	29	0	0	0	0
277	0	0	0	0	0	0	0	0	37	125	330	508	657	727	726	703	589	443	290	123	29	0	0	0	0
278	0	0	0	0	0	0	0	0	35	125	338	516	668	746	743	715	592	448	295	127	30	0	0	0	0
279	0	0	0	0	0	0	0	0	33	125	337	515	656	742	744	717	594	451	296	125	31	0	0	0	0
280	0	0	0	0	0	0	0	0	34	127	333	514	648	736	735	707	595	452	298	127	31	0	0	0	0
281	0	0	0	0	0	0	0	0	34	127	331	509	650	742	740	724	604	456	297	128	31	0	0	0	0
282	0	0	0	0	0	0	0	0	34	130	345	524	659	743	746	735	615	466	300	128	31	0	0	0	0
283	0	0	0	0	0	0	0	0	34	132	350	531	676	755	752	743	620	473	304	130	31	0	0	0	0
284	0	0	0	0	0	0	0	0	33	132	354	534	685	768	766	749	624	475	309	130	31	0	0	0	0
285	0	0	0	0	0	0	0	0	32	136	363	545	702	781	780	766	640	484	316	135	32	0	0	0	0
286	0	0	0	0	0	0	0	0	32	136	367	545	704	765	763	752	627	478	314	133	32	0	0	0	0
287	0	0	0	0	0	0	0	0	31	137	377	554	721	786	776	759	636	483	320	139	37	0	0	0	0
288	0	0	0	0	0	0	0	0	33	135	374	550	715	783	781	771	645	484	323	141	40	0	0	0	0
289	0	0	0	0	0	0	0	0	33	134	380	559	727	796	799	769	642	485	325	142	42	0	0	0	0
290	0	0	0	0	0	0	0	0	33	134	377	552	727	797	802	769	653	496	332	144	44	0	0	0	0
291	0	0	0	0	0	0	0	0	32	137	384	562	734	798	801	765	647	496	333	145	44	0	0	0	0
292	0	0	0	0	0	0	0	0	33	135	383	560	727	797	805	769	655	500	336	148	46	0	0	0	0
293	0	0	0	0	0	0	0	0	33	135	393	569	741	816	824	781	679	514	339	149	48	0	0	0	0
294	0	0	0	0	0	0	0	0	35	137	403	584	763	825	847	799	697	525	346	155	49	0	0	0	0
295	0	0	0	0	0	0	0	0	35	133	404	569	758	825	843	791	691	525	348	158	54	0	0	0	0
296	0	0	0	0	0	0	0	0	35	134	414	577	768	838	861	800	709	541	361	165	56	0	0	0	0
297	0	0	0	0	0	0	0	0	36	131	417	585	772	851	872	802	709	544	369	170	58	0	0	0	0
298	0	0	0	0	0	0	0	0	37	127	423	587	761	843	866	794	706	541	369	170	60	0	0	0	0
299	0	0	0	0	0	0	0	0	38	123	423	588	752	839	860	795	706	542	372	173	62	0	0	0	0
300	0	0	0	0	0	0	0	0	38	121	429	593	757	848	860	798	709	545	372	176	63	0	0	0	0
301	0	0	0	0	0	0	0	0	39	122	425	584	740	852	872	804	715	546	370	176	64	0	0	0	0
302	0	0	0	0	0	0	0	15	40	121	426	588	744	858	886	816	723	554	375	177	62	0	0	0	0
303	0	0	0	0	0	0	0	16	39	124	436	596	756	872	897	818	725	560	376	179	63	0	0	0	0
304	0	0	0	0	0	0	0	16	40	125	439	599	755	879	901	831	740	567	383	183	63	0	0	0	0
305	0	0	0	0	0	0	0	19	42	128	438	597	745	868	898	815	729	565	382	184	62	0	0	0	0
306	0	0	0	0	0	0	0	18	42	128	441	597	744	874	903	822	737	566	382	187	62	0	0	0	0
307	0	0	0	0	0	0	0	19	42	127	442	591	737	870	894	811	725	557	371	184	61	0	0	0	0
308	0	0	0	0	0	0	0	19	45	129	426	580	716	841	864	791	706	553	374	186	61	0	0	0	0
309	0	0	0	0	0	0	0	19	44	132	429	589	715	860	869	801	716	557	379	189	63	0	0	0	0
310	0	0	0	0	0	0	0	18	44	139	442	617	726	878	889	827	731	568	382	190	61	0	0	0	0
311	0	0	0	0	0	0	0	18	45	143	435	615	715	871	889	833	728	564	383	192	62	26	0	0	0
312	0	0	0	0	0	0	0	19	45	148	425	617	709	875	881	835	733	567	381	193	61	0	0	0	0
313	0	0	0	0	0	0	0	20	45	155	427	628	717	889	898	853	746	577	388	198	63	31	0	0	0
314	0	0	0	0	0	0	0	20	46	162	429	635	716	887	891	839	745	574	388	200	64	34	0	0	0
315	0	0	0	0	0	0	0	21	47	167	423	637	708	879	896	832	740	576	388	200	65	37	0	0	0
316	0	0	0	0	0	0	0	22	49	169	421	642	715	884	898	837	746	584	396	205	66	38	0	0	0
317	0	0	0	0	0	0	0	22	50	171	408	634	702	868	889	832	744	589	400	209	69	39	0	0	0
318	0																								

344	0	0	0	0	0	0	33	94	237	470	583	776	913	961	928	826	656	466	282	111	54	0	0	0
345	0	0	0	0	0	0	34	94	235	463	565	765	897	948	912	815	653	460	280	112	53	0	0	0
346	0	0	0	0	0	0	34	94	237	464	551	756	876	921	887	797	631	446	274	112	56	0	0	0
347	0	0	0	0	0	0	34	93	234	450	538	750	871	920	900	811	640	453	276	113	55	0	0	0
348	0	0	0	0	0	0	34	92	230	447	536	756	875	920	907	817	645	458	282	116	51	0	0	0
349	0	0	0	0	0	0	35	92	233	456	538	757	869	919	909	809	642	454	281	115	50	0	0	0
350	0	0	0	0	0	0	35	92	229	444	520	737	849	895	897	797	635	452	279	118	51	0	0	0
351	0	0	0	0	0	0	35	90	220	433	512	726	839	899	917	797	637	449	274	118	51	0	0	0
352	0	0	0	0	0	0	34	89	216	427	506	720	844	905	925	806	650	459	281	122	52	0	0	0
353	0	0	0	0	0	0	34	89	214	429	512	726	856	919	935	814	658	465	282	123	52	0	0	0
354	0	0	0	0	0	0	32	89	212	431	516	717	852	916	930	816	663	464	284	125	52	0	0	0
355	0	0	0	0	0	0	31	89	205	423	511	703	831	900	916	794	649	465	287	129	52	0	0	0
356	0	0	0	0	0	0	31	89	198	423	514	695	829	891	911	787	645	460	286	133	52	0	0	0
357	0	0	0	0	0	0	30	87	192	424	519	698	829	883	902	787	644	459	283	135	54	0	0	0
358	0	0	0	0	0	0	30	88	186	422	519	697	846	886	904	780	631	444	271	118	44	0	0	0
359	0	0	0	0	0	0	31	88	183	417	504	671	817	868	878	768	635	440	270	119	43	0	0	0
360	0	0	0	0	0	0	29	89	182	423	521	683	828	873	876	767	637	448	272	120	43	0	0	0
361	0	0	0	0	0	0	30	91	180	425	536	695	856	897	902	777	659	473	287	125	42	0	0	0
362	0	0	0	0	0	0	29	93	183	440	557	707	873	913	897	765	660	472	285	124	43	0	0	0
363	0	0	0	0	0	0	37	95	185	438	559	690	853	897	891	758	659	477	290	126	45	0	0	0
364	0	0	0	0	0	0	36	93	177	430	557	688	856	895	894	767	666	480	292	127	46	0	0	0
365	0	0	0	0	0	0	35	90	174	425	556	690	857	904	893	772	672	481	296	129	46	0	0	0

Conclusiones y Perspectivas a Futuro

Durante el presente trabajo se llevó a cabo el estudio de la influencia de diferentes perfiles de radiación sobre el crecimiento de una cepa de microalgas, a través de la utilización de LEDs como fuente de radiación artificial para iluminar los cultivos, debido a su capacidad de emitir radiación en regiones acotadas del espectro visible.

Se realizó la selección y caracterización detallada de diferentes tipos de LEDs que comprendieran en conjunto la totalidad del espectro de radiación visible. Se determinó el flujo, la distribución angular y la distribución espectral de fotones emitidos por cada uno de ellos a través de la realización de una serie de ensayos experimentales y modelos matemáticos desarrollados para esta finalidad.

Se realizó el análisis del régimen de mezclado de los reactores utilizados para el cultivo de microalgas a través de un ensayo de estímulo–respuesta. Este estudio permitió determinar que el régimen de mezclado en los reactores puede ser aproximado a un mezclado ideal, simplificando el posterior análisis de los cultivos realizados y de los modelos de crecimiento desarrollados.

Por otro lado, se determinaron los coeficientes volumétricos de transferencia de materia gas-líquido para el O_2 y el CO_2 , en los reactores utilizados bajo diferentes condiciones de aireación y temperatura a través del método dinámico, adoptando para esto el modelo de la doble capa difusa. Los resultados obtenidos permitieron determinar que durante el desarrollo de los cultivos de microalgas llevados a cabo, las condiciones de transferencia de materia gas-líquido no afectaron en forma negativa el crecimiento de los mismos.

Se llevó a cabo el desarrollo de un modelo físico-matemático y un algoritmo computacional basado en el método de Monte Carlo, para la simulación y predicción de la distribución del campo de energía radiante en cada punto del interior de los FBRs, considerando las propiedades ópticas de las suspensiones de microalgas.

La aplicación del algoritmo computacional para la simulación del campo de energía radiante desarrollado permitió analizar la estratificación de la luz en el interior de un FBR y la influencia del perfil de longitudes de onda sobre la producción de biomasa y la síntesis de clorofilas a través de la realización una serie de cultivos de microalgas irradiados con diferentes módulos de LEDs. Se determinó que la radiación correspondiente a la región azul del espectro visible favorecía la

producción de biomasa y la síntesis de clorofilas, pero que el rendimiento obtenido durante la producción de biomasa por unidad de energía absorbida era menor que el logrado con perfiles de radiación de menor energía (regiones amarilla y roja del espectro visible).

A partir de los resultados obtenidos en los cultivos realizados bajo diferentes perfiles de radiación, se propuso un modelo cinético no estructurado para la producción de biomasa y síntesis de clorofilas. Se llevó a cabo la regresión de los parámetros cinéticos del modelo a través del desarrollo de un programa computacional basado en un algoritmo genético. El modelo cinético obtenido fue verificado mediante la simulación de un cultivo de microalgas desarrollado bajo un perfil de radiación semejante al recibido por un reactor a cielo abierto en horas cercanas al medio día. Los resultados del modelo lograron un buen ajuste de los resultados experimentales obtenidos para los cultivos realizados.

Finalmente se llevó a cabo el desarrollo de un algoritmo computacional aplicando el método de Monte Carlo para la simulación de la producción de biomasa en un reactor tipo *raceway* bajo condiciones de radiación solar. El algoritmo desarrollado contempla el ángulo de incidencia de la radiación solar y la densidad del flujo de fotones recibido a lo largo de las diferentes horas del día y durante los diferentes días del año registrados en la ciudad de Santa Fe. La simulación del FBR propuesto permitió obtener la estimación de la producción de biomasa anual por unidad de superficie del reactor propuesto, y su dependencia frente a cambios de diferentes variables operativas del proceso.

El grupo de trabajo pretende que en el mediano plazo sea posible llevar a cabo el desarrollo de un reactor escala piloto tipo *raceway* a cielo abierto, a fin de poder realizar cultivos de microalgas irradiados con luz solar para poder obtener los datos experimentales necesarios para el ajuste y la verificación de los modelos de crecimiento obtenidos en el laboratorio durante el presente estudio. Se espera que finalizada esta etapa, los simuladores computacionales desarrollados puedan ser utilizados para el diseño y optimización de estos y otros tipos de FBRs iluminados con radiación solar para la producción a gran escala de biomasa algal para la obtención de algún metabolito de interés comercial.

El presente trabajo fue llevado a cabo en el Grupo de Innovación en Ingeniería de Bioprocesos (GiiB). El grupo se compone de un plantel interdisciplinario con experiencia en docencia, investigación, desarrollo e innovación, cuya visión tiene como objetivo general materializar ideas en proyectos viables a través de la aplicación de técnicas, diseños y modelos propios de una actividad ingenieril, y sobre la base de conocimientos provenientes de Ciencias como Biología, Bioquímica, Físico-química, Termodinámica y Matemática. De esta manera, el presente trabajo se enmarca de un proyecto global del estudio del cultivo de microalgas, abordado desde diferentes aspectos claves del proceso. Actualmente, se encuentran realizando diferentes actividades al respecto, como por ejemplo el diseño de FBRs a cielo abierto para optimizar la distribución de la radiación solar incidente; el estudio de las de la cinética de sedimentación de las microalgas para favorecer el proceso de cosecha, entre otros.

Por otro lado, desde agosto del 2014 se ha comenzado un proyecto para el estudio de la producción de astaxantina a partir del cultivo de la microalga *Haematococcus pluvialis*. La astaxantina es un pigmento perteneciente al grupo de las xantófilas, y es considerado como uno de los antioxidantes más poderosos de la naturaleza. Estudios demostraron que posee una actividad antioxidante 10 veces superior a la de otros carotenoides (β -caroteno) y de hasta 500 veces superior al α -tocoferol, por lo que se la llegado a denominar como la “super-vitamina E”. Se encuentra reportado que la síntesis de este pigmento de alto valor agregado puede ser favorecida por la incidencia de diferentes perfiles de radiación durante el cultivo de esta especie de microalga. De esta manera, se espera que los modelos desarrollados en el presente trabajo puedan ser explotados en dicho proyecto. Hasta el momento, se han realizado estudios previos para la puesta a punto de técnicas para el mantenimiento celular, la preparación de inóculos para los FBRs y la determinación del perfil de pigmentos de microalgas a través de técnicas por HPLC con la colaboración del grupo de Ingeniería en Alimentos y Biotecnología (INTEC). Por otro lado, se ha obtenido una beca para la financiación de Proyectos de Innovación Tecnológica de la Fundación del Nuevo Banco de Santa Fe, para un alumno de la carrera de Lic. en Biotecnología que se encuentra realizando actividades en esta línea de investigación.

Se espera poder seguir adelante con estas u otras líneas de investigación ligadas al Giib y a través de la colaboración con diversos grupos de trabajo dedicados al estudio del cultivo de microalgas.