



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE
ESCUELA DE INGENIERIA

**MODELACIÓN FENOMENOLÓGICA DE
FOTOBIORREACTORES
CONCÉNTRICOS CON ILUMINACIÓN
INTERNA PARA EL CULTIVO DE
MICROORGANISMOS
FOTOSINTETIZADORES**

JOSÉ TOMÁS REBOLLEDO OYARCE

Tesis para optar al grado de
Magister en Ciencias de la Ingeniería

Profesor Supervisor:
CÉSAR ANTONIO SÁEZ NAVARRETE

Santiago de Chile, Abril, 2019

© 2019, José Tomás Rebolledo Oyarce



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE
ESCUELA DE INGENIERIA

MODELACIÓN FENOMENOLÓGICA DE FOTOBIORREACTORES CONCÉNTRICOS CON ILUMINACIÓN INTERNA PARA EL CULTIVO DE MICROORGANISMOS FOTOSINTETIZADORES

JOSÉ TOMÁS REBOLLEDO OYARCE

Tesis presentada a la Comisión integrada por los profesores:

CÉSAR SÁEZ NAVARRETE

HÉCTOR JORQUERA GONZÁLEZ

ANDREA CARVAJAL GUEVARA

ENZO SAUMA SANTIS

Para completar las exigencias del grado de
Magister en Ciencias de la Ingeniería

Santiago de Chile, Abril, 2019

A mis padres, Ángel y Rosa, que con su apoyo me impulsaron a seguir adelante en esta travesía. Y a mi hermano Javier que es un ejemplo de esfuerzo y dedicación

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a mi familia. Ángel, Rosa y Javier, cuyo apoyo incondicional me inspira y da más fuerza para seguir adelante enfrentando los desafíos de la vida siendo cada día mejor.

Agradezco también a César, mi supervisor, que me enseñó a mirar la Ingeniería desde punto de vista aplicado. Gracias por ser un “Maestro de la vida” como supervisor. Además, le agradezco lo que aprendí y aprenderé, tanto en el ámbito del conocimiento como en los desafíos de la vida. Aprendiendo que todo el conocimiento generado siempre tiene que ir en pro de la sociedad. Al mismo tiempo agradezco a Laurent Pilon, profesor de la Universidad de California en Los Ángeles, quien siempre me brindó de su tiempo cuando lo necesité y me enseñó la importancia de la colaboración.

Agradezco a mi grupo de trabajo. Germán, quien siempre me dio una mano en el laboratorio. Felipe y Leonardo, quienes me dieron su apoyo siempre.

Agradezco a Rosa, Jackeline, Irma y Mane, quienes me ayudaron muchas veces en mi trabajo de magister. Ellos piensan que no hicieron nada, pero la verdad es que hicieron todo.

Por último, agradezco a mis amigos Liyuan, Josefina, Constanza, Loreto y Emilio quienes no solo me apoyaron en este desafío, sino que me levantaron las veces que deseaba rendirme. Ellos por todo lo que hicieron siempre tendrán un lugar en mi corazón.

INDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	ii
INDICE DE TABLAS	v
INDICE DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
1. Marco de estudio.....	1
1.1. De combustible fósiles a los biocombustibles	1
1.2. Del microorganismo a una planta industrial	6
1.2.1. Fotobiorreactores abiertos	7
1.2.2. Fotobiorreactores cerrados.....	10
1.3. Factores que influyen en la producción de la biomasa	12
1.3.1. Temperatura	13
1.3.2. Efecto del pH	14
1.3.3. Nutrientes disponibles	16
1.3.4. Intensidad de la luz	17
1.4. Fenómeno de transferencia de luz en fotobiorreactores.....	18
1.4.1. Ley de Beer-Lambert.....	19
1.4.2. Aproximación de dos flux	20
1.4.3. Ecuación de transferencia radiativa (RTE).....	20
1.5. Hipótesis y objetivos del estudio.....	20
1.6. REFERENCIAS.....	22
2. Cultivo de microalgas en fotobiorreactores de tubos concéntricos	33
2.1. Introducción	33
2.2. Características de microalgas verdes	34
2.2.1. <i>Chlorella vulgaris</i> , la primera microalga estudiada.....	35
2.2.2. <i>Nannochloropsis sp.</i> , la productora de lípidos.....	37
2.2.3. <i>Dunaliella tertiolecta</i> , una microalga simple pero resistente	39

2.3.	Descripción experimental.....	42
2.3.1.	Diseño experimental	43
2.3.2.	Protocolo de muestreo de la biomasa y la irradiancia	49
2.4.	Resultados y discusión	52
2.4.1.	Crecimiento de las microalgas ante diferentes colores.....	52
2.4.2.	Crecimiento de <i>D. tertiolecta</i> en fotobiorreactores cerrados.....	58
2.5.	Conclusiones	65
2.6.	REFERENCIAS.....	68
3.	Modelación del crecimiento de la biomasa y la variación de irradiancia.....	81
3.1.	Introducción	81
3.2.	Modelación de la irradiancia en fotobiorreactores.....	83
3.2.1.	Ley de Beer-Lambert (BL)	84
3.2.2.	Aproximación de dos flux (TFA)	86
3.2.3.	Ecuación de Transferencia Radiativa (RTE)	90
3.3.	Modelos de crecimiento de microalgas.....	97
3.3.1.	Modelo de Aiba	99
3.3.2.	Modelo de Steele	100
3.4.	Método de resolución aplicado	101
3.4.1.	Método de resolución de la RTE	101
3.4.2.	Algoritmos de búsqueda global	103
3.5.	Resultados y discusión	112
3.5.1.	Fotobiorreactor azul con <i>D. tertiolecta</i>	112
3.5.2.	Fotobiorreactor rojo con <i>D. tertiolecta</i>	128
3.6.	Conclusiones	143
3.7.	Nomenclatura	146
3.8.	REFERENCIAS.....	147
4.	Conclusiones del trabajo de magister	162
4.1.	Conclusiones basadas en los objetivos.....	162
4.2.	Discusión y conclusiones Capítulo 2	163
4.3.	Discusión y conclusiones Capítulo 3	164
A N E X O S		166
Anexo A: Solución analítica de la aproximación de dos flux.....		167

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1-1. Clasificación de los biocombustibles	3
Tabla 1-2. Tasa de producción de aceite para producir biocombustible a partir de diversas fuentes	5
Tabla 1-3. Comparación entre fotobiorreactores abiertos y cerrados	12
Tabla 1-4. Rangos testeados y óptimos de temperatura y pH de diversas cepas de microalgas	15
Tabla 2-1. Irradiancia medida para cada una de las fuentes de luz.....	47
Tabla 2-2. Medición de nitritos y nitratos y de fosfatos de los dos fotobiorreactores estudiados.....	64
Tabla 3-1. Parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y ley de Beer Lambert en el fotobiorreactor de iluminación azul	113
Tabla 3-2. Parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor de iluminación azul.....	114
Tabla 3-3. Parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y RTE en el fotobiorreactor de iluminación azul	114
Tabla 3-4. Parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor de iluminación azul	115
Tabla 3-5. Parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor de iluminación azul.....	115
Tabla 3-6. Parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y RTE en el fotobiorreactor de iluminación azul	116

Tabla 3-7. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor de iluminación azul	124
Tabla 3-8. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor de iluminación azul.....	125
Tabla 3-9. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y RTE flux en el fotobiorreactor de iluminación azul.....	125
Tabla 3-10. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor de iluminación azul.....	126
Tabla 3-11. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor de iluminación azul	126
Tabla 3-12. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y RTE flux en el fotobiorreactor de iluminación azul.....	127
Tabla 3-13. Parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor de iluminación rojo	129
Tabla 3-14. Parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor de iluminación rojo.....	130
Tabla 3-15. Parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y RTE en el fotobiorreactor de iluminación rojo	130
Tabla 3-16. Parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor de iluminación rojo.....	131
Tabla 3-17. Parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor de iluminación rojo	131

Tabla 3-18. Parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y RTE en el fotobiorreactor de iluminación rojo	132
Tabla 3-19. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor de iluminación rojo	140
Tabla 3-20. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor de iluminación rojo	140
Tabla 3-21. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y RTE flux en el fotobiorreactor de iluminación rojo	141
Tabla 3-22. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor de iluminación rojo	141
Tabla 3-23. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor de iluminación rojo	142
Tabla 3-24. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y RTE flux en el fotobiorreactor de iluminación rojo	142

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1-1. Publicaciones sobre biocombustibles desde los años 1990 a 2017	2
Figura 1-2. Tipos de fotobiorreactores abiertos	9
Figura 1-3. Los tres tipos de reactores utilizados típicamente para cultivar microalgas	11
Figura 1-4. Factores que afectan el crecimiento y la composición de las microalgas.	13
Figura 1-5. Representación esquemática de la variación de la tasa específica de crecimiento con respecto a la intensidad de la luz	18
Figura 2-1. Espectro de absorción de los tres pigmentos más importantes presentes en microalgas: clorofila <i>a</i> , clorofila <i>b</i> y β -caroteno.....	43
Figura 2-2. Esquema del experimento en escala laboratorio sobre el impacto en el crecimiento de diversos colores en el crecimiento de las microalgas	45
Figura 2-3. Espectro de las distintas fuentes de luz utilizadas en las microalgas	46
Figura 2-4. Modelo 3D de los reactores tubulares de iluminación interna utilizado	48
Figura 2-5. Efecto de diversos colores en el crecimiento de <i>D. tertiolecta</i>	53
Figura 2-6. Efecto de diversos colores en el crecimiento de <i>C. vulgaris</i>	54
Figura 2-7. Efecto de diversos colores en el crecimiento de <i>Nannochloropsis sp.</i>	55
Figura 2-8. Variación temporal del crecimiento de <i>D. tertiolecta</i> debido a los efectos de diferentes colores.	56
Figura 2-9. Variación temporal del crecimiento de <i>C. vulgaris</i> debido a los efectos de diferentes colores.	56
Figura 2-10: Variación temporal del crecimiento de <i>Nannochloropsis sp.</i> debido a los efectos de diferentes colores.	57

Figura 2-11. Fotobiorreactores de tubos concéntricos de iluminación interna utilizados para evaluar la evolución del crecimiento de <i>D. tertiolecta</i>	60
Figura 2-12. Mediciones realizadas en fotobiorreactor con iluminación de color azul.....	62
Figura 2-13. Mediciones realizadas en fotobiorreactor con iluminación de color rojo	63
Figura 3-1. Fenómenos asociados a la luz	83
Figura 3-2. Formas de emisión de la luz desde una lámpara	83
Figura 3-3. Balance global de radiación realizado por la aproximación de dos flux.....	87
Figura 3-4. Sistema de coordenadas utilizado en un recinto rectangular.....	92
Figura 3-5. Esquema tridimensional del fotobiorreactor utilizado en el estudio	92
Figura 3-6. Sistemas de coordenadas cilíndricas	93
Figura 3-7. Volumen de control del ángulo sólido	94
Figura 3-8. Diagrama esquemático de la discretización del espacio realizada en el volumen de control trabajado.....	102
Figura 3-9. Diagrama de flujo del algoritmo de optimización global <i>Scatter Search</i>	105
Figura 3-10. Esquema del funcionamiento básico del algoritmo VNS.....	107
Figura 3-11. Diagrama de flujo del algoritmo de luciérnaga (FA)	109
Figura 3-12. Imágenes del ave cuco.....	110
Figura 3-13. Diagrama de flujo del algoritmo de búsqueda de cuco	111
Figura 3-14. Comparación de la variación temporal del parámetro medido con el modelo realizado en el fotobiorreactor de color azul utilizando el modelo de Aiba	117
Figura 3-15. Comparación de la variación temporal del parámetro medido con el modelo realizado en el fotobiorreactor de color azul utilizando el modelo de Steele	118

Figura 3-16. Variación temporal en el fotobiorreactor azul donde se presentan las 6 combinaciones de modelos posibles	119
Figura 3-17. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Aiba y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor azul.....	121
Figura 3-18. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Aiba y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor azul	121
Figura 3-19. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Aiba y RTE en el fotobiorreactor azul	122
Figura 3-20. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Steele y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor azul.....	122
Figura 3-21. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Steele y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor azul	123
Figura 3-22. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Steele y RTE en el fotobiorreactor azul	123
Figura 3-23. Análisis de sensibilidad de los parámetros optimizados con respecto a la biomasa en el fotobiorreactor azul	127
Figura 3-24. Comparación de la variación temporal del parámetro medido con el modelo realizado en el fotobiorreactor de color rojo utilizando el modelo de Aiba.....	133
Figura 3-25. Comparación de la variación temporal del parámetro medido con el modelo realizado en el fotobiorreactor de color rojo utilizando el modelo de Steele.....	134
Figura 3-26. Variación temporal en el fotobiorreactor rojo donde se presentan las 6 combinaciones de modelos posibles	135

Figura 3-27. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Aiba y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor rojo	136
Figura 3-28. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Aiba y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor rojo	137
Figura 3-29. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Aiba y RTE en el fotobiorreactor rojo.....	137
Figura 3-30. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Steele y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor rojo	138
Figura 3-31. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Steele y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor rojo	138
Figura 3-32. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Steele y RTE en el fotobiorreactor rojo.....	139
Figura 3-33. Análisis de sensibilidad de los parámetros optimizados con respecto a la biomasa en el fotobiorreactor rojo	143

RESUMEN

En los últimos 20 años, las microalgas han sido el centro de atención de la comunidad científica por su capacidad para producir tanto biocombustibles como compuestos de alto valor. La producción de estos compuestos a escala industrial no ha ocurrido debido al escaso entendimiento del proceso de crecimiento de las microalgas, sobre todo, el efecto que tiene la luz sobre el crecimiento de estos organismos. Esto ha provocado que no se ha logrado optimizar el proceso de producción y cosecha de las microalgas y, por consiguiente, la producción de estos biocompuestos no es tan rentable.

En este trabajo de tesis de magister se realizó un estudio del efecto de diferentes colores en el crecimiento de las microalgas y un análisis comparativo de diferentes modelos de irradiancia y crecimiento para microalgas. Para ello, se realizaron mediciones de biomasa microalgal y la irradiancia al interior de fotobiorreactores de tubos concéntricos con iluminación interna durante un periodo de 31 días.

Los resultados mostraron que existen longitudes de onda que favorecen el crecimiento de las microalgas, destacándose la longitud que corresponde al color azul, por lo que al desarrollar un sistema de iluminación de este color se lograr un mejor aprovechamiento de parte de las microalgas, y, por lo tanto, existe un menor desperdicio energético. En conjunto con lo anterior, los colores que son menos favorables para el crecimiento, los modelos mostraron que este fenómeno se debe a que existe una mayor dispersión de la luz por parte de la microalga reduciendo la absorción de la energía. Además, se observó que el modelo de Beer-Lambert es muy adecuado para obtener la variación de la biomasa en el tiempo con pocos parámetros, sin embargo, el modelo de transferencia radiativa permite apreciar el efecto de los diferentes colores en la variación de la irradiancia en el tiempo.

Palabras Claves: *D. tertiolecta*, *C. vulgaris*, *Nannochloropsis sp.*, colores de luz, composición espectral de la luz, fotobiorreactores, ley de Beer-Lambert, aproximación de dos flux, ecuación de transferencia radiativa, optimización global

ABSTRACT

In the last 20 years, microalgae have been the focus of attention of the scientific community for its ability to produce both biofuels and high value compounds. The production of these compounds on an industrial scale has not occurred due to the poor understanding of the growth process of microalgae, especially the effect that light has on the growth of these organisms. For this production and harvesting process has not been optimized and, therefore, the production of these biocomposites is not so profitable.

In this work of magister thesis, a study of the effect of different colours on the growth of microalgae was carried out and a comparative analysis of different models of irradiance and growth for microalgae. To this end, microalgal biomass measurements and irradiance were performed inside concentric tube photobioreactors with internal illumination for a period of 31 days.

The results showed that there are wavelengths that favour the growth of microalgae, standing out the length that corresponds to the blue colour, so when developing a lighting system of this colour, a better use of part of the microalgae is achieved, and, therefore, there is less waste of energy. In coincidence with the above, the models showed that this phenomenon is because there is a greater scattering of light by the microalga reducing the absorption of energy. In addition, it was observed that the Beer-Lambert law is very suitable to obtain the variation of the biomass in time with few parameters, however, the radiative transfer model allows to appreciate the effect of the different colours in the variation of the irradiance in the time.

Keywords: *D. tertiolecta*, *C. vulgaris*, *Nannochloropsis sp.*, colours of light, spectral composition of light, photobioreactor, Beer-Lambert law, two-flux approximation, radiative transfer equation, global optimization

1. MARCO DE ESTUDIO

1.1. De combustible fósiles a los biocombustibles

En el mundo, en los últimos 20 años ha ocurrido un aumento de la población de casi 22% y se proyecta que en el año 2030 la población mundial alcanzaría un total de 8.500 millones de personas impulsado por el crecimiento del continente africano (Naciones Unidas, 2017).

En consecuencia, con este aumento poblacional, el consumo de energía del mundo ha crecido a niveles insostenibles para las fuentes de combustibles convencionales, que corresponden al petróleo, carbón y gas natural (Hassan & Kalam, 2013; Meher, Vidya Sagar, & Naik, 2006). Es por lo que, desde el año 2000 en adelante, ha recobrado fuerza la idea original del ingeniero Rudolf Diesel, creador del motor a diésel, que en la Exposición de Paris en el año 1900 presentó un motor que utilizaba aceite de maní como combustible y donde mencionó lo siguiente: *“El uso de aceites vegetales para combustibles de motores puede parecer insignificante hoy en día, pero tales aceites pueden convertirse, con el tiempo, tan importantes como los productos de petróleo y carbón de la actualidad”* (Hassan & Kalam, 2013; Shay, 1993; Singh & Singh, 2010).

En el año 2000 se iniciaron fuertemente las investigaciones sobre combustibles de origen de aceites vegetales, a los que se les llamó biocombustibles, llegando en el año 2017 a más de 6.000 publicaciones (Figura 1-1) (Leong, Lim, Lam, Uemura, & Ho, 2018; Scopus, 2018), centrándose en los últimos años en el mejoramiento de las tasas

de producción y el entendimiento de los fenómenos fisicoquímicos que ocurren en el interior de estos.

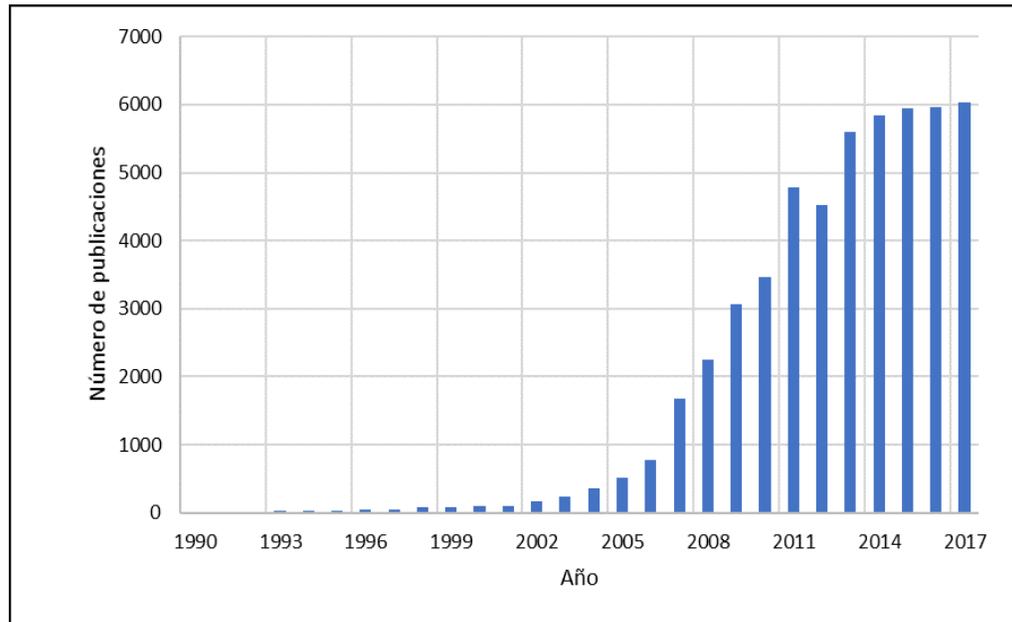


Figura 1-1. Publicaciones sobre biocombustibles desde los años 1990 a 2017. Datos extraídos de Scopus (2018).

Estos biocombustibles se han presentado como la única alternativa viable para sustituir a los combustibles fósiles, porque además de ser un recurso renovable, también presentan menores emisiones de CO_2 , CO , SO_2 , material particulado e hidrocarburos en comparación a los combustibles convencionales (Hassan & Kalam, 2013; Rodionova et al., 2017). Estos biocombustibles, sin embargo, no han estado libres de problemas en su proceso de incorporación al mercado de los combustibles, presentando dificultades desde el punto de vista económico. Las plantas de biocombustibles no pueden competir en costos con las plantas de extracción y refinamiento de petróleo (Bitog et al., 2011; Hassan & Kalam, 2013), especialmente, en el proceso de mantención de las plantas de biocombustibles.

Adicional al problema de la competitividad en costos, los biocombustibles originales no han estado exentos de controversia sobre su efectividad y de disponibilidad (Rodionova et al., 2017). Es por eso mismo que desde hace unos 10 años que los biocombustibles se divide en categoría, biocombustibles primarios y secundarios (Leong et al., 2018; Rodionova et al., 2017). Los biocombustibles primarios son aquellos elementos naturales que se pueden utilizar como combustible como, por ejemplo, leña, plantas, desechos animales, residuos de cultivos, entre otros elementos. En contraposición, los biocombustibles secundarios son aquellos que son generados directamente por las plantas y microorganismos, estos a su vez se subdividen en: biocombustibles de primera, segunda y tercera generación (Tabla 1-1).

Tabla 1-1. Clasificación de los biocombustibles (Leong et al., 2018; Rodionova et al., 2017)

Primarios	Leña, trozos de madera, desechos animales y desechos de cosecha	
Secundarios	Primera generación	Bioetanol o butanol por fermentación del almidón (de trigo, cebada, maíz, patata) o azúcares (de la succión y la remolacha azucarera). Biodiesel por transesterificación de cultivos oleaginosos (colza, soja, girasol, palma, coco, aceite de cocina usado y grasas animales).
	Segunda generación	Bioetanol y biodiesel producidos a partir de tecnologías convencionales pero basados en nuevos cultivos de almidón, aceite y azúcar como yuca Bioetanol y biobutanol producido a partir de materiales lignocelulósicos (por ejemplo, paja, madera y pasto)

Tabla 1 1. Continuación

	Tercera generación	Biodiesel de microalgas Bioetanol de microalgas y algas Hidrógeno de microalgas y microbios verdes
--	--------------------	--

Los biocombustibles de primera generación son los primeros biocombustibles secundarios que se investigaron, debido a su rápida disponibilidad. Sin embargo, estos se han enfrentado al conflicto constante de utilizar estos elementos como combustible o como alimento. Esto junto a otras situaciones, han provocado que la comunidad científica se desplazara a investigar los combustibles de segunda generación.

Los biocombustibles de segunda generación son aquellos combustibles derivados de residuos orgánicos, estos pueden o no tener un alto poder calorífico, pero presenta la ventaja de no competir con la industria alimenticia. Aun así, la disponibilidad de las materias primas de estos combustibles ha sido altamente cuestionada debido al creciente aumento en el consumo de combustibles, lo cual genera que esta alternativa se vuelva insostenible en el tiempo. Es por ello, que en los últimos 10 años se ha abierto una nueva rama en el área de los biocombustibles, los combustibles de tercera generación, los cuales presentan las ventajas de sus anteriores predecesores, pero superan las principales desventajas de estos, sobre todo de la biodisponibilidad (Tabla 1-2) (Bharathiraja et al., 2015; Bitog et al., 2011; Brennan & Owende, 2010; Chisti, 2007; Leong et al., 2018; Suganya, Varman, Masjuki, & Renganathan, 2016).

Tabla 1-2. Tasa de producción de aceite para producir biocombustible a partir de diversas fuentes (Bitog et al., 2011; Chisti, 2007)

Fuente de combustible	Tasa de producción de aceite (L/10.000 m ²)
Maíz	172
Soya	446
Canola	1.190
Jatropha	1.892
Coco	2.689
Aceite de palma	5950
Microalga (70% de aceite en base seca de biomasa)	136.900
Microalga (30% de aceite en base seca de biomasa)	58.700

Estos nuevos combustibles de tercera generación se derivan de organismos vivos como las microalgas o de bacterias verde (Leong et al., 2018; Rodionova et al., 2017). Estos organismos en su proceso fotosintético generan como producto etanol o aceites que, después de un proceso de transesterificación, se pueden convertir en biodiésel. Adicional al proceso de producción de biocombustibles, estos organismos fotosintéticos también se pueden utilizar para producir compuestos como carbohidratos, pigmentos, proteínas y biomateriales (Concas et al., 2016; Trivedi, Aila, Bangwal, Kaul, & Garg, 2015). Finalmente, estos organismos también se pueden utilizar en procesos medioambientales, como lo es la reducción de CO₂ en las emisiones gaseosas de procesos industriales (Wang, Liu, Zheng, & Yao, 2015) y la biorremediación de aguas residuales y suelos contaminados utilizando microalgas (Golueke, Oswald, & Gotaas, 1957; Ruiz-Martinez, Martin Garcia, Romero, Seco, & Ferrer, 2012).

Estos organismos, sin bien no presentan el problema de la disponibilidad y poseen una gran versatilidad en un proceso productivo, han enfrentado problemas en el proceso de escalamiento e industrialización, principalmente desde el punto de vista operativo y desde el punto de vista económico. De todas maneras, independiente del proceso realizado posterior al cultivo de estos organismos, el proceso anterior para obtener la materia prima es siempre el mismo, un reactor que permita el crecimiento del microorganismo fotosintético, a estos reactores se les denomina fotobiorreactores.

1.2. Del microorganismo a una planta industrial

Entre los productores de biocombustibles de tercera generación se encuentran las microalgas fotosintéticas, las cuales se han estudiado para determinar qué factores determinan su productividad, procesos de valorización de la biomasa y formas de cultivo (Hassan & Kalam, 2013; John, Anisha, Nampoothiri, & Pandey, 2011; Trivedi et al., 2015; Zhou & Thomson, 2009).

De estos factores, las formas de cultivo siguen siendo uno de los mayores desafíos de estos organismos, es decir, el problema se encuentra en el diseño y optimización de los reactores (fotobiorreactor), en especial, en el consumo energético, afirmándose que el éxito comercial de los fotobiorreactores se alcanzará cuando se logre entender el consumo energético de ellos (Xu, Lv, Huo, & Li, 2018). A continuación, se presentan los dos tipos de fotobiorreactores: abiertos y cerrados.

1.2.1. Fotobiorreactores abiertos

Los fotobiorreactores abiertos son los primeros reactores biológicos que se utilizaron para producir biomasa de microalgas a gran escala, desde que se presentó el primer cultivo de microalgas (*Chlorella vulgaris*) que fue logrado por Beyerinck (1890).

El desarrollo de estos reactores se inició en el año 1948 en Estados Unidos (Stanford), Alemania (Essen) y Japón (Tokio) (Borowitzka, 1999; Burlew, 1953). Pero no fue hasta los años 1960, que la empresa Nihon Chlorella, en Japón, logró desarrollar el primer reactor abierto a gran escala (Borowitzka, 1999; Mata, Martins, & Caetano, 2010; Spolaore, Joannis-Cassan, Duran, & Isambert, 2006) dando origen a toda una nueva rama de estudio sobre las microalgas que implica su proceso de crecimiento y cosecha y procesamiento de la biomasa.

Posterior a los impulsos de esta empresa japonesa, un gran número de empresas iniciaron un proceso de investigación e implementación de esos sistemas de cultivos alcanzando, en el año 1980, un total de 46 empresas en toda Asia que podían producir más de 1.000 kg de microalgas al año. Para el año 1996 esta producción superó las 2.000 toneladas (Borowitzka, 1999; Lee, 1997). Dentro de las empresas de esa época está Sosa Texcoco S.A. que se encontraba emplazada en el Lago Texcoco en México y que en el año 2009 cesó sus operaciones debido a problemas económicos y la empresa Dainippon Ink and Chemicals Corporation (DIC Corporation) que, desde 1977, produce *Spirulina* para la manufacturación de alimentos y que hasta el día de hoy (año 2019) todavía sigue en operación.

En estos más de 60 años de desarrollo de estos reactores, se han implementado, principalmente, en tres tipos: (1) estanques abiertos, (2) estanques circulares poco

profundos con un brazo giratorio para mezclar el cultivo y (3) estanques inclinados poco profundos (Borowitzka, 1999; Doucha & Lívanský, 2009; Mata et al., 2010).

Los estanques abiertos consisten principalmente en grandes piscinas con profundidades que van desde los 15 cm a los 40 cm, las cuales al inicio eran rectangulares sin agitación, pero con el tiempo se modificaron a sistemas con bucles infinitos, en los cuales el cultivo se va desplazando a través del estanque mediante paletas de agitación que, además ayudan a homogeneizar el sistema (a estos sistemas reciben el nombre en inglés de *raceway pond*) (Figura 1-2 a).

Los estanques circulares también son recipientes poco profundos y que, al igual que los *raceway ponds*, el cultivo se mantiene homogéneo mediante un brazo rotatorio (Figura 1-2 b).

Los estanques inclinados poco profundos corresponden a un sistema desarrollado en República Checa, donde se aprovecha de la fuerza de gravedad para mantener agitado el sistema. Además, estos últimos estanques tienen una menor profundidad que los otros dos, con un rango de profundidad que van desde los 6 a 8 mm (Doucha & Lívanský, 2006, 2009) (Figura 1-2 c).

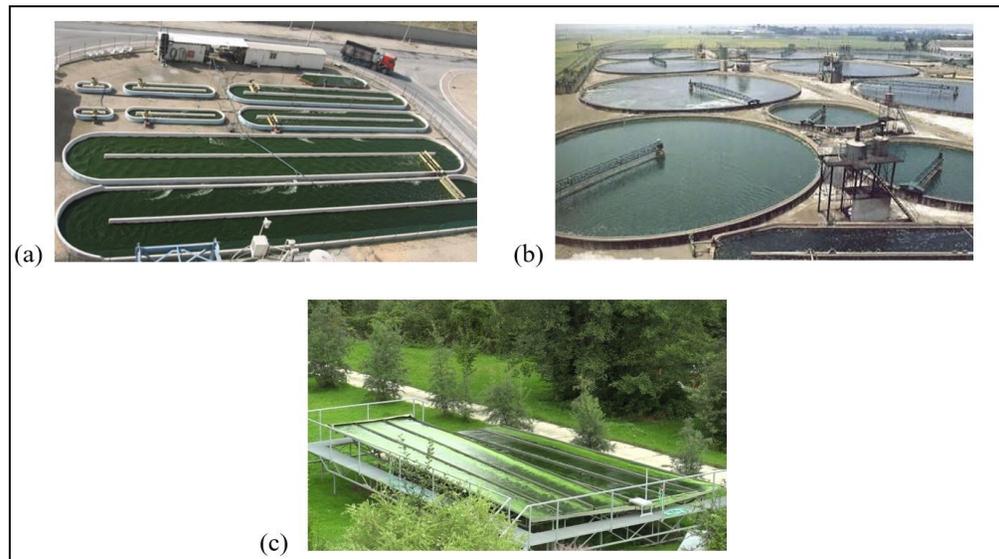


Figura 1-2. Tipos de fotobiorreactores abiertos: (a) estanques abiertos, (b) estanques circulares poco profundos con un brazo giratorio para mezclar el cultivo, (c) estanques inclinados poco profundos (Adeniyi et al., 2018; Doucha & Lívanský, 2006; Mata et al., 2010)

Dentro de los tres tipos de reactores antes mencionados, las más utilizados por la industria son los estanques abiertos de bucle infinito (Figura 1-2 a) y los estanques inclinados pocos profundos (Figura 1-2 c), debido a su fácil y económica construcción y su bajo costo de operación (Christenson & Sims, 2011; Doucha & Lívanský, 2009). Estos sistemas al estar abiertos al ambiente no presentan un control de temperatura, por lo tanto, al momento de seleccionar la microalga utilizada se debe tener en cuenta la capacidad del microorganismo de crecer en el clima de la zona. Sin embargo, estos sistemas presentan la ventaja de no someter a las microalgas a un gran estrés hidrodinámico, por lo que se evita la caída en el crecimiento debido a este factor. Asimismo, estos sistemas abiertos, se han expandido debido a su fácil escalabilidad (Christenson & Sims, 2011).

1.2.2. Fotobiorreactores cerrados

Estos sistemas a diferencia de los anteriores, no están abiertos al ambiente, por lo tanto, se obtiene un gran control del cultivo permitiendo el crecimiento de cualquier microalga, independiente del clima de la zona (Borowitzka, 1999). Esta ventaja les otorga un interés comercial por la capacidad de producir tanto, compuestos de bajo valor (combustibles y alimentos) como compuestos de alto valor (por ejemplo: β -caroteno y polisacáridos), independiente de las condiciones climáticas.

Al igual que los sistemas abiertos, se han explorado diversos diseños de estos reactores pudiéndose dividir en dos grandes grupos: (1) reactores de placas planas y (2) reactores tubulares. (Dasgupta et al., 2010).

Los reactores de placas planas se caracterizan por ser sistemas con forma de ortoedro de poco espesor, en los cuales la iluminación de estos sistemas se realiza por una de las caras anchas consiguiendo la máxima utilización de área versus volumen permitido por esta configuración (Figura 1-3 a).

En cuanto a los reactores tubulares, estos se pueden dividir en: cilíndricos y helicoidales (Figura 1-3 b y Figura 1-3 c). Estos reactores se caracterizan por presentar una mayor eficiencia en la utilización de la luz y ser los que mejores resultados han presentado en el proceso de producción de biomasa (Adeniyi et al., 2018).

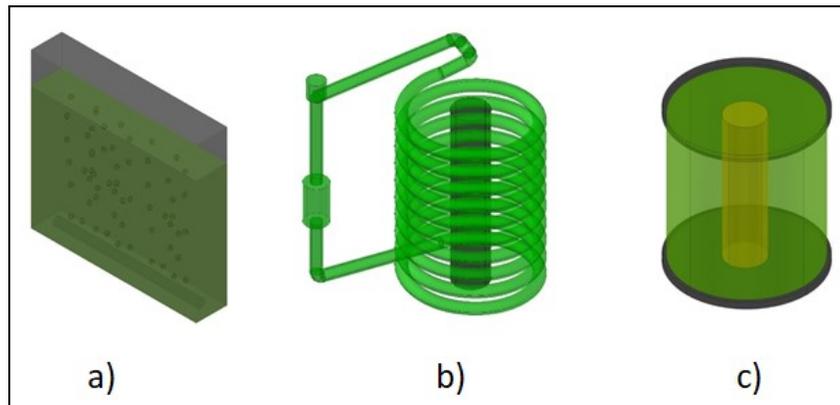


Figura 1-3. Los tres tipos de reactores utilizados típicamente para cultivar microalgas:
 a) reactor de placa plana, b) reactor helicoidal, c) reactor de tubos concéntricos.

Elaboración Propia

Esta mejora en el rendimiento se debe a que existe una mejor distribución de la luz en el sistema, acompañado por una adecuada homogeneización, permitiendo que las microalgas reciban de manera adecuada la luz y los recursos necesarios para crecer como lo es el dióxido de carbono (CO_2).

En resumen, los fotobiorreactores abiertos presentan ventajas al momento de escalar los procesos, pero presentan graves problemas de aprovechamiento de la luz, generado que los sistemas sean limitados por la luz y la cantidad de CO_2 disponible (Christenson & Sims, 2011). En contraposición, los fotobiorreactores cerrados solucionan estos problemas de disponibilidad de luz y de CO_2 , pero presentan problemas al momento de realizar el escalamiento, provocando que los costos de operaciones sean aproximadamente dos veces más altos que en los sistemas abiertos (Davis, Aden, & Pienkos, 2011). En la Tabla 1-3 se presenta una comparación entre los dos tipos de fotobiorreactores.

Tabla 1-3. Comparación entre fotobiorreactores abiertos y cerrados (Borowitzka, 1999; Mata et al., 2010).

Característica	Fotobiorreactores cerrados	Fotobiorreactores abiertos
Control de contaminación del cultivo	Fácil de controlar	Difícil de controlar
Riesgo de contaminación	Reducido o bajo	Alto
Mezclado del sistema	Uniforme	Bajo o nulo mezclado del sistema
Eficiencia en la utilización de la luz	Alto	Bajo
Estrés hidrodinámico	Bajo a alto estrés dependiendo del diseño	Bajo
Tasa promedio de evaporación del sistema	Baja	Alta
Escalamiento	Difícil de escalar	Fáciles de escalar
Densidad poblacional (células de microalgas)	Alta	Baja
Inversión	Alta	Baja
Costos de operación	Altos	Bajos
Transferencia de gases	Alta	Baja
Control de temperatura	Alto	Bajo/Nulo

1.3. Factores que influyen en la producción de la biomasa

Entre los aspectos a optimizar en los reactores cerrados se encuentran tanto parámetros de construcción como factores externos controlables (Figura 1-4) que impactan directamente en la tasa de crecimiento de la biomasa de microalgas y en la composición de esta misma biomasa. Por lo tanto, encontrar un equilibrio o una zona

óptima de estos factores para cada microalga es fundamental para lograr disminuir los costos de operación de los sistemas de cultivo cerrados.

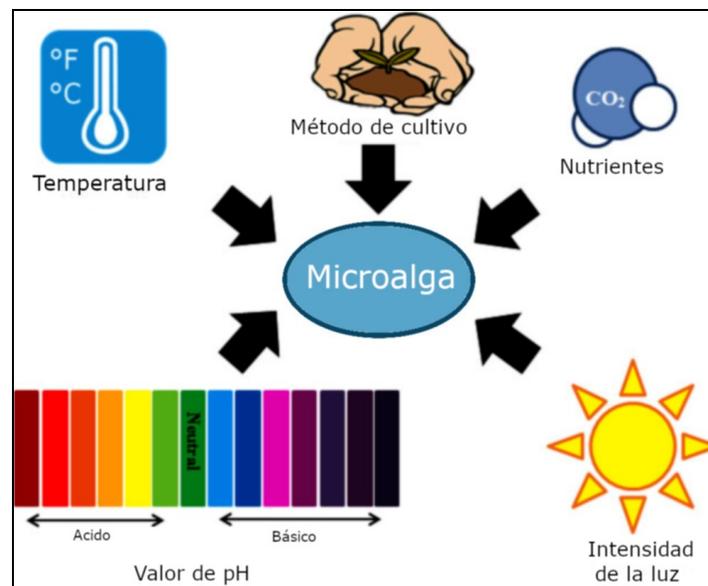


Figura 1-4. Factores que afectan el crecimiento y la composición de las microalgas (Chia et al., 2018).

1.3.1. Temperatura

La temperatura es uno de los factores que afecta tanto la tasa de crecimiento de las microalgas como la composición bioquímica de esta, siempre y cuando no exista una limitación por CO_2 ni limitación por disponibilidad de la luz (Pulz, 2001), teniendo una influencia en estos factores de un 7 a 9% (Converti, Casazza, Ortiz, Perego, & Del Borghi, 2009).

De este factor se ha determinado que un gran número de microalgas tiene su rango óptimo de operación entre los 20 a los 25°C (Chia et al., 2018). Mas, existen microalgas que pueden sobrevivir en condiciones ambientales de bajas temperaturas,

como es el caso de *Chlorella vulgaris* que puede crecer a una temperatura de 4°C (Bartosh & Banks, 2007), característica importante si lo que estamos buscando es la reducción de costos de operación.

1.3.2. Efecto del pH

El pH del medio de cultivo no tiene un impacto en la composición de la biomasa de las microalgas significativo, pero si tiene un efecto en la supervivencia de las microalgas (Chia et al., 2018).

El efecto del pH ocurre en los procesos biológicos que realiza la microalga, como lo son la absorción de CO₂, iones y nutrientes, funciones intracelulares y de la pared celular asociados a enzimas fotosintéticas (Juneja, Ceballos, & Murthy, 2013). Por ejemplo, el pH ácido altera la capacidad de absorción de nutrientes, mientras que pH altamente alcalinos reduce la afinidad por el CO₂ retrasando el ciclo celular (Juneja et al., 2013).

Debido a estos efectos es importante mantener a las microalgas en los rangos óptimos de pH y temperatura (en la Tabla 1-4 se presentan rangos óptimos de las microalgas más estudiadas).

Tabla 1-4. Rangos testeados y óptimos de temperatura y pH de diversas cepas de microalgas

Cepa	Temperatura estudiada (°C)	Temperatura óptima (°C)	pH estudiado	pH óptimo	Referencia
<i>Dunaliella salina</i>	15 – 30	20 – 25	6 – 9	7 – 7,5	Çelekli & Dönmez, 2006; Wu, Duangmanee, Zhao, & Ma, 2016; Ying, Gilmour, & Zimmerman, 2014
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	12 – 28	20 – 25	7,3 – 9,3	7,4 – 7,8	Goldman, Riley, & Dennett, 1982; Rukminasari, 2013; Sosik & Mitchell, 1994
<i>Chlorella vulgaris</i>	20 – 30	25 – 30	3 – 10	7,5 – 8	Gong, Feng, Kang, Luo, & Yang, 2014; Kessler, 1985; Rachlin & Grosso, 1991; Serra-Maia, Bernard, Gonçalves, Bensalem, & Lopes, 2016; Sharma, Singh, & Sharma, 2012
<i>Isochrysis galbana</i>	10 – 25	18 – 22	6 – 9	7,5 – 8	Molina Grima, Sánchez Pérez, García Sánchez, García Camacho, & López Alonso, 1992

Tabla 1 4. Continuación

Cepa	Temperatura estudiada (°C)	Temperatura óptima (°C)	pH estudiado	pH óptimo	Referencia
<i>Nannochloropsis salina</i>	10 – 35	25 – 30	5 – 10	7,5 – 8	Bartley, Boeing, Dungan, Holguin, & Schaub, 2014; Van Wagenen et al., 2012
<i>Spirulina platensis</i>	16 – 50	35 – 40	7 – 11	9 – 9,5	Belkin & Boussiba, 1991; Göksan, Zekeriyaoğlu, & Ak, 2007; Ismaiel, El-Ayouty, & Piercey-Normore, 2016

1.3.3. Nutrientes disponibles

La disponibilidad de nutrientes en el medio de cultivo es fundamental para que las microalgas puedan realizar los ciclos biológicos, ya que ellas utilizan estos nutrientes como materia prima para convertirlos en carbohidratos y lípidos, estos últimos son los que se desean producir para obtener combustibles.

En el caso de las microalgas mencionadas en la Tabla 1-4, el compuesto que utilizan como fuente de carbono es el dióxido de carbono (CO₂). Este compuesto es agregado al medio de cultivo ya sea de la atmosfera o bien a través de un sistema de inyección de flujo controlado, esta segunda alternativa generalmente es implementada debido a

que el aire atmosférico no cuenta con la cantidad suficiente de CO₂ para mantener el medio del cultivo estable (Christenson & Sims, 2011).

Adicionalmente, con el sistema de inyección de CO₂ es posible realizar la remoción de oxígeno gaseoso (O₂), compuesto que es producto de la fotosíntesis y que puede promover fotooxidación cuando existe la presencia de luz (Carvalho & Meireles, 2006).

En conjunto con estos gases, existen micronutrientes que se deben adicionar al medio de cultivo con el fin de mantener y/o potenciar el crecimiento de las microalgas, como lo son el hierro (Fe), magnesio (Mg), calcio (Ca), sodio (Na), potasio (K), cobre (Cu), manganeso (Mn), entre otros nutrientes (Chia et al., 2018; Özgür et al., 2010; Uyar, Schumacher, Gebicki, & Modigell, 2009).

1.3.4. Intensidad de la luz

Finalmente, la intensidad de luz es uno de los factores que más se estudia debido al impacto directo que tiene este factor en la fotosíntesis (Chia et al., 2018). De hecho, la intensidad de luz y el uso eficiente de la luz son parámetros fundamentales al momento de diseñar el reactor en el cual se va a cultivar las microalgas ya que determinan tanto el parámetro económico como el de producción.

Esta iluminación en los fotobiorreactores cerrados puede ser entregada tanto por el sol como por un sistema de iluminación artificial. Estos últimos sistemas han adquirido popularidad debido a la posibilidad de suministrar colores específicos de luz (Pulz, 2001).

Esta iluminación, independiente del tipo seleccionado, debe mantener un equilibrio entre la condición de saturación y de inhibición por luz por de la microalga, ya que, estos factores impactan directamente en la tasa de crecimiento específico de la biomasa (ver Figura 1-5)

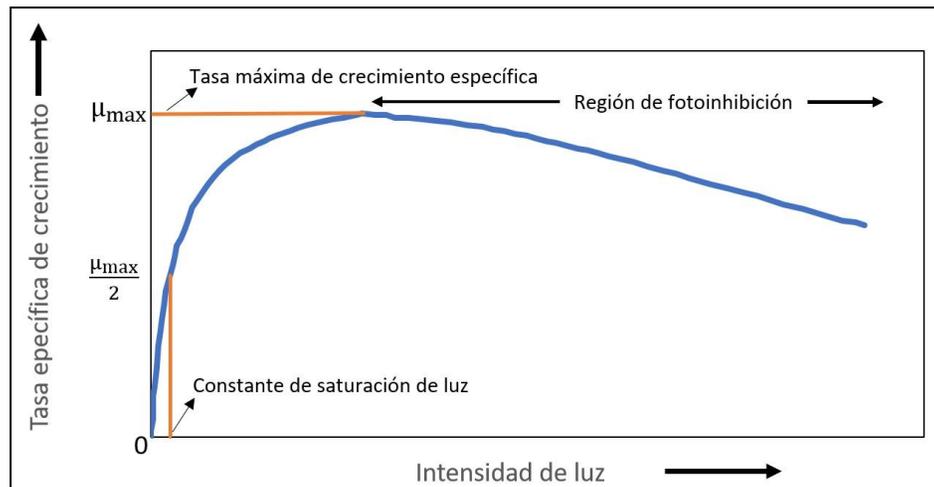


Figura 1-5. Representación esquemática de la variación de la tasa específica de crecimiento con respecto a la intensidad de la luz (Chisti, 2007)

A pesar de todos los estudios, todavía no existe suficiente claridad de cómo la luz interactúa de manera concreta con la geometría del reactor y el crecimiento de las microalgas (Chia et al., 2018), volviéndose uno de los desafíos más importante a resolver con el fin de optimizar los cultivos de microalgas (Adeniyi et al., 2018)

1.4. Fenómeno de transferencia de luz en fotobiorreactores

Tal como se mencionó en la sección anterior, existen muchos estudios sobre el comportamiento de la luz en fotobiorreactores y las ecuaciones matemáticas que permiten describir dicho comportamiento. Dentro de los modelos disponibles para

determinar la variación de la luz en el fotobiorreactor existen 3 modelos que son los más destacados: (1) ley de Beer-Lambert, (2) aproximación de dos flux y (3) la ecuación general de transferencia radiativa (RTE por su sigla en inglés) (Gao, Kong, & Vigil, 2018b).

1.4.1. Ley de Beer-Lambert

Es la ecuación clásica más utilizada para modelizar fotobiorreactores cerrados, debido a su fácil implementación computacional (Gao, Kong, & Vigil, 2018a; Luo & Al-Dahhan, 2012; Merchuk & Wu, 2003; Sato, Yamada, & Hirabayashi, 2010). Esta ley se puede expresar de la siguiente manera:

$$\frac{dI_\lambda}{dr} = -\mu_\lambda \cdot X \cdot I_\lambda \quad (1-1)$$

Donde, I_λ es la intensidad de luz asociado a una longitud de onda específica λ expresada en $W\ m^{-2}$, r es el camino recorrido por la luz expresado en metros (m), μ corresponde a la constante de extinción de la luz asociada a una longitud de onda específica λ ($m^2\ g^{-1}$) y X corresponde a la concentración de la microalga en el sistema ($g\ m^{-3}$).

La ecuación 1-1 se ha utilizado en un amplio rango de concentraciones de biomasa, y para ello se han realizado pequeñas modificaciones a la ecuación con el fin de poder ajustar los parámetros del modelo a los datos experimentales, por ejemplo, se realiza una función lineal o hiperbólica para la constante de extinción de la luz (Acien

Fernández, García Camacho, Sánchez Pérez, Fernández Sevilla, & Molina Grima, 1997; Akehata & Shirai, 1972; Luo & Al-Dahhan, 2004).

1.4.2. Aproximación de dos flux

Debido a que la ley de Beer-Lambert desprecia los fenómenos de transmisión, reflexión y refracción de la luz que realizan las microalgas, Cornet y sus colaboradores (1994; 1995) proponen una modificación para poder aproximar de mejor manera el comportamiento de la luz frente a las microalgas.

1.4.3. Ecuación de transferencia radiativa (RTE)

La ecuación de transferencia radiativa (RTE) incluye de manera explícita los términos de absorción, emisión y dispersión de la luz, permitiendo determinar las variaciones de la irradiancia en todas las direcciones espaciales (Gao, Kong, & Dennis Vigil, 2017a, 2017b). Sin embargo, aumenta la complejidad computacional para resolver las ecuaciones.

1.5. Hipótesis y objetivos del estudio

La hipótesis de esta tesis es que, a través de modelos computacionales es posible predecir el comportamiento de un fotobiorreactor cerrado, en específico, el crecimiento y la variación de la luz al interior de estos.

El objetivo general de esta tesis es desarrollar un modelo matemático que prediga la variación de la intensidad de luz y el crecimiento de las microalgas al interior de un fotobiorreactor de tubos concéntricos de iluminación interna.

Los objetivos específicos son:

- 1) Desarrollar las ecuaciones matemáticas que gobiernan el fenómeno de la variación de la luz en un fotobiorreactor de tubos concéntricos de iluminación interna y su impacto en el crecimiento de las microalgas.
- 2) Comparar diversos modelos matemáticos aplicados al fenómeno de la transferencia de luz y su capacidad para predecir el comportamiento real del fotobiorreactor.
- 3) Establecer un método óptimo de cultivo de los fotobiorreactores de tubos cerrados con iluminación interna que permita maximizar la biomasa.

1.6. REFERENCIAS

Acién Fernández, F. G., García Camacho, F., Sánchez Pérez, J. A., Fernández Sevilla, J. M., & Molina Grima, E. (1997). A model for light distribution and average solar irradiance inside outdoor tubular photobioreactors for the microalgal mass culture. *Biotechnology and Bioengineering*, 55(5), 701–714.

Adeniyi, O. M., Azimov, U., & Burluka, A. (2018). Algae biofuel: Current status and future applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90(August 2017), 316–335.

Akehata, T., & Shirai, T. (1972). Effect of light-source characteristics on the performance of circular annular photochemical reactor. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 5(4), 385–391.

Bartley, M. L., Boeing, W. J., Dungan, B. N., Holguin, F. O., & Schaub, T. (2014). pH effects on growth and lipid accumulation of the biofuel microalgae *Nannochloropsis salina* and invading organisms. *Journal of Applied Phycology*, 26(3), 1431–1437.

Bartosh, Y., & Banks, C. J. (2007). Algal growth response and survival in a range of light and temperature conditions: Implications for non-steady-state conditions in waste stabilisation ponds. *Water Science and Technology*, 55(11), 211–218.

Belkin, S., & Boussiba, S. (1991). Resistance of *spirulina platensis* to ammonia at high pH values. *Plant and Cell Physiology*, 32(7), 953–958.

Beyerinck, M. W. (1890). Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen Algen. *Botanische Zeitung*, 47, 725–785.

Bharathiraja, B., Chakravarthy, M., Ranjith Kumar, R., Yogendran, D., Yuvaraj, D., Jayamuthunagai, J., ... Palani, S. (2015). Aquatic biomass (algae) as a future feed stock for bio-refineries: A review on cultivation, processing and products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 47, 635–653.

Bitog, J. P., Lee, I. B., Lee, C. G., Kim, K. S., Hwang, H. S., Hong, S. W., ... Mostafa, E. (2011). Application of computational fluid dynamics for modeling and designing photobioreactors for microalgae production: A review. *Computers and Electronics in Agriculture*, 76(2), 131–147.

Borowitzka, M. A. (1999). Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology*, 70(1–3), 313–321.

Brennan, L., & Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), 557–577.

Burlew, J. S. (1953). *Algae Culture from Laboratory to Pilot Plant*. (J. S. Burlew, Ed.). Washington, D.C.: Carnegie Institution of Washington.

Carvalho, A. P., & Meireles, L. A. (2006). Microalgae reactors: A review of enclosed systems and performances. *Biotechnology Progress*, 3(1), 1490–1506.

- Çelekli, A., & Dönmez, G. (2006). Effect of pH, light intensity, salt and nitrogen concentrations on growth and β -carotene accumulation by a new isolate of *Dunaliella* sp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(2), 183–189.
- Chia, S. R., Ong, H. C., Chew, K. W., Show, P. L., Phang, S. M., Ling, T. C., ... Chang, J. S. (2018). Sustainable approaches for algae utilisation in bioenergy production. *Renewable Energy*, 129, 838–852.
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Biotechnology Advances*, 25(3), 294–306.
- Christenson, L., & Sims, R. (2011). Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. *Biotechnology Advances*, 29(6), 686–702.
- Concas, A., Malavasi, V., Costelli, C., Fadda, P., Pisu, M., & Cao, G. (2016). Autotrophic growth and lipid production of *Chlorella sorokiniana* in lab batch and BIOCOIL photobioreactors: Experiments and modeling. *Bioresource Technology*, 211, 327–338.
- Converti, A., Casazza, A. A., Ortiz, E. Y., Perego, P., & Del Borghi, M. (2009). Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 48(6), 1146–1151.

Cornet, J. F., Dussap, C. G., & Gros, J. B. (1994). Conversion of radiant light energy in photobioreactors. *AIChE Journal*, 40(6), 1055–1066.

Cornet, J. F., Dussap, C. G., Gros, J. B., Binois, C., & Lasseur, C. (1995). A simplified monodimensional approach for modeling coupling between radiant light transfer and growth kinetics in photobioreactors. *Chemical Engineering Science*, 50(9), 1489–1500.

Dasgupta, C. N., Jose Gilbert, J., Lindblad, P., Heidorn, T., Borgvang, S. A., Skjanes, K., & Das, D. (2010). Recent trends on the development of photobiological processes and photobioreactors for the improvement of hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(19), 10218–10238.

Davis, R., Aden, A., & Pienkos, P. T. (2011). Techno-economic analysis of autotrophic microalgae for fuel production. *Applied Energy*, 88(10), 3524–3531.

Doucha, J., & Lívanský, K. (2006). Productivity, CO₂/O₂ exchange and hydraulics in outdoor open high density microalgal (*Chlorella* sp.) photobioreactors operated in a Middle and Southern European climate. *Journal of Applied Phycology*, 18(6), 811–826.

Doucha, J., & Lívanský, K. (2009). Outdoor open thin-layer microalgal photobioreactor: Potential productivity. *Journal of Applied Phycology*, 21(1), 111–117.

Gao, X., Kong, B., & Dennis Vigil, R. (2017a). Comprehensive computational model for combining fluid hydrodynamics, light transport and biomass growth in a Taylor vortex algal photobioreactor: Eulerian approach. *Biotechnology Technology*, 24, 523–530.

Gao, X., Kong, B., & Dennis Vigil, R. (2017b). Comprehensive computational model for combining fluid hydrodynamics, light transport and biomass growth in a Taylor vortex algal photobioreactor: Eulerian approach. *Algal Research*, 24, 1–8.

Gao, X., Kong, B., & Vigil, R. D. (2018a). Multiphysics simulation of algal growth in an airlift photobioreactor: Effects of fluid mixing and shear stress. *Bioresource Technology*, 251, 75–83.

Gao, X., Kong, B., & Vigil, R. D. (2018b). Simulation of algal photobioreactors: recent developments and challenges. *Biotechnology Letters*.

Göksan, T., Zekeriyaoğlu, A., & Ak, I. (2007). The growth of *Spirulina platensis* in different culture systems under greenhouse condition. *Turkish Journal of Biology*, 31(1), 47–52.

Goldman, J. C., Riley, C. B., & Dennett, M. R. (1982). The effect of pH in intensive microalgal cultures.ii. Species competition. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 5(4799), 15–24.

Golueke, C. G., Oswald, W. J., & Gotaas, H. B. (1957). Anaerobic digestion of Algae. *Applied Microbiology*, 5(1), 47–55.

- Gong, Q., Feng, Y., Kang, L., Luo, M., & Yang, J. (2014). Effects of light and pH on cell density of *Chlorella vulgaris*. *Energy Procedia*, 61, 2012–2015.
- Hassan, M. H., & Kalam, M. A. (2013). An overview of biofuel as a renewable energy source: Development and challenges. *Procedia Engineering*, 56, 39–53.
- Ismail, M. M. S., El-Ayouty, Y. M., & Piercey-Normore, M. (2016). Role of pH on antioxidants production by *Spirulina (Arthrospira) platensis*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(2), 298–304.
- John, R. P., Anisha, G. S., Nampoothiri, K. M., & Pandey, A. (2011). Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol. *Bioresource Technology*, 102(1), 186–193.
- Juneja, A., Ceballos, R. M., & Murthy, G. S. (2013). Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: A review. *Energies*, 6(9), 4607–4638.
- Kessler, E. (1985). Upper limits of temperature for growth in *Chlorella* (Chlorophyceae). *Plant Systematics and Evolution*, 151(1–2), 67–71.
- Kocsis, L., Herman, P., & Eke, A. (2006). The modified Beer-Lambert law revisited. *Physics in Medicine and Biology*, 51(5).
- Lee, Y. K. (1997). Commercial production of microalgae in the Asia-Pacific rim. *Journal of Applied Phycology*, 9(5), 403–411.

- Leong, W. H., Lim, J. W., Lam, M. K., Uemura, Y., & Ho, Y. C. (2018). Third generation biofuels: A nutritional perspective in enhancing microbial lipid production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 91(July 2017), 950–961.
- Luo, H. P., & Al-Dahhan, M. H. (2004). Analyzing and Modeling of Photobioreactors by Combining First Principles of Physiology and Hydrodynamics. *Biotechnology and Bioengineering*, 85(4), 382–393.
- Luo, H. P., & Al-Dahhan, M. H. (2012). Airlift column photobioreactors for *Porphyridium* sp. culturing: Part II. verification of dynamic growth rate model for reactor performance evaluation. *Biotechnology and Bioengineering*, 109(4), 942–949.
- 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(1), 217–232.
- Meher, L. C., Vidya Sagar, D., & Naik, S. N. (2006). Technical aspects of biodiesel production by transesterification - A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 10(3), 248–268.
- Merchuk, J. C., & Wu, X. (2003). Modeling of photobioreactors: Application to bubble column simulation. *Journal of Applied Phycology*, 15, 163–169.
- Molina Grima, E., Sánchez Pérez, J. A., García Sánchez, J. L., García Camacho, F., & López Alonso, D. (1992). EPA from *Isochrysis galbana*. Growth conditions and productivity. *Process Biochemistry*, 27(5), 299–305.

Naciones Unidas. (2017). Una población en crecimiento. Revisado el 20 de julio de 2018, Disponible en: <http://www.un.org/es/sections/issues-depth/population/index.html>

Özgür, E., Mars, A. E., Peksel, B., Louwerse, A., Yücel, M., Gündüz, U., ... Eroğlu, I. (2010). Biohydrogen production from beet molasses by sequential dark and photofermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(2), 511–517.

Pulz, O. (2001). Photobioreactors: Production systems for phototrophic microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57(3), 287–293.

Rachlin, J. W., & Grosso, A. (1991). The Effects of pH on the Growth of *Chlorella vulgaris* and its Interactions with Cadmium Toxicity. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 20, 505–508.

Rodionova, M. V., Poudyal, R. S., Tiwari, I., Voloshin, R. A., Zharmukhamedov, S. K., Nam, H. G., ... Allakhverdiev, S. I. (2017). Biofuel production: Challenges and opportunities. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(12), 8450–8461.

Ruiz-Martinez, A., Martin Garcia, N., Romero, I., Seco, A., & Ferrer, J. (2012). Microalgae cultivation in wastewater: Nutrient removal from anaerobic membrane bioreactor effluent. *Bioresource Technology*, 126, 247–253.

Rukminasari, N. (2013). Effect of Temperature and Nutrient Limitation on the Growth and Lipid Content of Three Selected Microalgae (*Dunaliella tertiolecta*,

Nannochloropsis sp. and Scenedesmus sp.) for Biodiesel Production. *International Journal of Marine Science*, 3(17), 135–144.

Sato, T., Yamada, D., & Hirabayashi, S. (2010). Development of virtual photobioreactor for microalgae culture considering turbulent flow and flashing light effect. *Energy Conversion and Management*, 51(6), 1196–1201.

Scopus. (2018). Analyze search results - Biofuels. Revisado el 20 de julio de 2018, Disponible en: <https://www.scopus.com/term/analyzer.uri?sid=27b67137dd75fb4e7598c44150da49b0&origin=resultslist&src=s&s=TITLE-ABS-K EY%28biofuels%29&sort=plf-f&sdt=b&sot=b&sl=23&count=55089&analyzeResults=Analyze+results&txGid=51054e329d669d6f07a03bb248a9f43e>

Serra-Maia, R., Bernard, O., Gonçalves, A., Bensalem, S., & Lopes, F. (2016). Influence of temperature on *Chlorella vulgaris* growth and mortality rates in a photobioreactor. *Algal Research*, 18, 352–359.

Sharma, R., Singh, G. P., & Sharma, V. K. (2012). Effects of Culture Conditions on Growth and Biochemical Profile of *Chlorella Vulgaris*. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 3(5), 100131.

Shay, E. G. (1993). Diesel fuel from vegetable oils: Status and opportunities. *Biomass and Bioenergy*, 4(4), 227–242.

- Singh, S. P., & Singh, D. (2010). Biodiesel production through the use of different sources and characterization of oils and their esters as the substitute of diesel: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1), 200–216.
- Sosik, H. M., & Mitchell, B. G. (1994). Effects of Temperature on Growth, Light Absorption, and Quantum Yield in *Dunaliella Tertiolecta* (Chlorophyceae). *Journal of Phycology*.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., & Isambert, A. (2006). Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(2), 87–96.
- Suganya, T., Varman, M., Masjuki, H. H., & Renganathan, S. (2016). Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels production: A biorefinery approach. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 55, 909–941.
- Trivedi, J., Aila, M., Bangwal, D. P., Kaul, S., & Garg, M. O. (2015). Algae based biorefinery - How to make sense? *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 47, 295–307.
- Uyar, B., Schumacher, M., Gebicki, J., & Modigell, M. (2009). Photoproduction of hydrogen by *rhodobacter capsulatus* from thermophilic fermentation effluent. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 32(5), 603–606.

- Van Wagenen, J., Miller, T. W., Hobbs, S., Hook, P., Crowe, B., & Huesemann, M. (2012). Effects of light and temperature on fatty acid production in *Nannochloropsis salina*. *Energies*, 5(3), 731–740.
- Wang, X., Liu, H., Zheng, Z., & Yao, M. (2015). Development of a reduced n-butanol/biodiesel mechanism for a dual fuel engine. *Fuel*, 157, 87–96.
- Wu, Z., Duangmanee, P., Zhao, P., & Ma, C. (2016). The effects of light, temperature, and nutrition on growth and pigment accumulation of three *dunaliella salina* strains isolated from saline soil. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 9(1), 1–9.
- Xu, K., Lv, B., Huo, Y. X., & Li, C. (2018). Toward the lowest energy consumption and emission in biofuel production: combination of ideal reactors and robust hosts. *Current Opinion in Biotechnology*, 50, 19–24.
- Ying, K., Gilmour, D. J., & Zimmerman, W. (2014). Effects of CO₂ and pH on Growth of the Microalga *Dunaliella salina*. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 6(3), 167–173.
- Zhou, A., & Thomson, E. (2009). The development of biofuels in Asia. *Applied Energy*, 86(SUPPL. 1), S11–S20.

2. CULTIVO DE MICROALGAS EN FOTOBIOREACTORES DE TUBOS CONCÉNTRICOS

2.1. Introducción

El cultivo de microalgas se inicia, a escala de laboratorio, gracias al aporte de Martinus Beijerinck (1890), quien logra desarrollar el primer medio de cultivo artificial que permite el crecimiento de microalgas en un ambiente controlado, permitiendo el desarrollo de nuevos medios de cultivos y el estudio bioquímico de las microalgas.

En los 100 años de investigación sobre microalgas se ha determinado que existen más de 50.000 especies, pero sólo se han estudiado en profundidad 20.000 especies (Bharathiraja et al., 2015). Dentro de las especies estudiadas, 2.300 son las más comunes en la naturaleza y, por tanto, son las que presentan un mayor número de publicaciones (Mata, Martins, & Caetano, 2010; Adeniyi, Azimov, & Burluka, 2018). Elegir una especie para cultivar no es una tarea sencilla, ya que hay que tener en cuenta las condiciones climáticas, la disponibilidad lumínica, el producto que se quiere obtener de estas, entre otros factores (Chew et al., 2018).

Además, una vez seleccionada la mejor especie, se debe tener en cuenta los nutrientes mínimos necesarios que permita el desarrollo de la microalga, ya que se ha demostrado que existen compuestos que afectan directamente en la tasa de crecimiento, como por ejemplo el hierro y el molibdeno (Christenson & Sims, 2011; Özgür et al., 2010; Rodionova et al., 2017; Rukminasari, 2013).

Y, en conjunto con la elección del medio de cultivo, se debe tener en cuenta las condiciones de cultivo como por ejemplo si el cultivo necesita de un sistema de agitación continuo.

Debido a estos factores, primero hay que analizar las distintas especies de microalgas disponibles, luego se debe evaluar las condiciones de cultivo en escala de laboratorio y posteriormente estudiar las condiciones que se deben agregar al sistema para mantener el cultivo en fase exponencial.

2.2. Características de microalgas verdes

Como primer paso se debe hacer un análisis de las microalgas disponibles con tal de seleccionar la más adecuada. En el Laboratorio de Energías Renovables y Residuos (LEER) principalmente se disponen de 3 especies de microalgas distintas:

- *Dunaliella tertiolecta*
- *Chlorella vulgaris*
- *Nannochloropsis sp.*

Estas tres especies de microalgas originalmente provienen de Grupo de Investigación Microalgal del Departamento de Botánica de la Universidad de Concepción (FICOLAB), y en el LEER se ha cultivado y mantenido estas cepas por más de 3 años, por lo tanto, ya se ha superado la fase adaptativa de las cepas al nuevo ambiente de cultivo.

2.2.1. *Chlorella vulgaris*, la primera microalga estudiada

Tal como se mencionó anteriormente, *Chlorella vulgaris*, fue la primera especie de microalga que se logró aislar y cultivar en un laboratorio (Beyerinck, 1890).

Este microorganismo adquirió popularidad al inicio de los años 1900 debido a su alto contenido proteico (de aproximadamente un 55% de su peso seco), y, en consecuencia, la posibilidad que tiene de poder generar alimentos no convencionales y fármacos (Kitada et al., 2009; Safi et al., 2014). Además, es posible destacar la capacidad de generar lípidos que se pueden procesar para obtener biodiesel (Mathimani, Senthil Kumar, Chandrasekar, Uma, & Prabakaran, 2017; Safi et al., 2014; Xaaldi Kalhor, Mohammadi Nassab, Abedi, Bahrami, & Movafeghi, 2016).

2.2.1.1. Principales características y producción de *C. vulgaris*

C. vulgaris es una célula con un diámetro entre 2 a 10 μm (Safi et al., 2014; Vander Wiel et al., 2017).

Adicionalmente, este organismo fotosintético tiene pigmentos como clorofila *a*, clorofila *b* y carotenoides, siendo clorofila *a* el pigmento que se encuentra en mayor concentración, en condiciones normales de cultivo (Hynstova et al., 2018; Kulkarni & Nikolov, 2018).

Para cultivar este microorganismo se han probado diferentes sistemas de producción, determinando que se pueden cultivar estos en presencia de NO_x y CO_2 en el medio de cultivo y con ciclos de iluminación de luz. Aun así, se ha

demostrado que se posible cultivar estas microalgas en ausencia de luz, pero con una constante alimentación de una fuente de carbono, como por ejemplo glucosa, acetato, glicerol y glutamato (Liang, Sarkany, & Cui, 2009; Safi et al., 2014).

Sin embargo, se ha determinado que los cultivos en luz son más productivos en términos de biomasa y de compuesto de interés (contenido lipídico) (Liang et al., 2009).

2.2.1.2. Condiciones mínimas de cultivo para *C. vulgaris*

Esta microalga es posible cultivarla en medios basados en agua fresca (Griffiths, Van Hille, & Harrison, 2014; Jin Liu & Chen, 2016; Ördög et al., 2016) como en agua de mar (Luangpipat & Chisti, 2017; Matos et al., 2015). De ambos medios, el primero ha sido el más estudiado debido a que *C. vulgaris* no es una cepa resistente a altas concentraciones de salinidad. De hecho, Matos y sus colaboradores (2015) determinaron el efecto de la salinidad en la productividad de la biomasa aumentando la conductividad del medio de cultivo y observando una reducción del crecimiento en un 80%.

Sin embargo, en estudios más recientes se determina la capacidad de *C. vulgaris* de mantener un nivel de productividad de biomasa similar que cuando se utiliza medio de cultivo basado en agua fresca, incluso llegando a aumentar la productividad de lípidos, pero provoca un aumento de la demanda de nutrientes por parte de la microalga (Luangpipat & Chisti, 2017; Shen et al., 2015).

Los nutrientes mínimos necesarios son sodio, potasio, nitratos, fosfatos y elementos metálicos como el fierro, cobalto y molibdeno (Blair, Kokabian, & Gude, 2014; Luangpipat & Chisti, 2017).

Finalmente, *C. vulgaris* al ser una microalga verde fotosintética necesita de luz para obtener la energía necesaria para realizar la fotosíntesis. Así, a lo largo de los años, se ha determinado que el crecimiento estándar de esta microalga se debe hacer a un nivel de iluminación cercano a los 3000 lux ($3000 \text{ cd} \cdot \text{sr} \cdot \text{m}^{-2}$) en luz blanca (Bazdar, Roshandel, Yaghmaei, & Mardanpour, 2018) con una irradiancia promedio de $200 \pm 50 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (Singh & Singh, 2015).

2.2.2. *Nannochloropsis* sp., la productora de lípidos

Esta microalga, a diferencia de *C. vulgaris*, ha adquirido interés debido a su alto contenido lipídico, en donde, en promedio, una célula de *Nannochloropsis* contienen entre un 25-45% de lípidos (Chua & Schenk, 2017).

En específico estos lípidos corresponde a ácidos grasos poliinsaturados, que se utilizan principalmente para la producción de ácido eicosapentaenoico, compuesto utilizado como fármaco para el tratamiento de hiperlipemia (presencia de altos niveles de lípidos en la sangre), además estos ácidos grasos poliinsaturados se pueden utilizar para la producción de biodiesel (Junying Liu, Song, & Qiu, 2017).

2.2.2.1. Características generales de *Nannochloropsis* sp.

Nannochloropsis es un alga unicelular esférica o ligeramente ovoidal no flagelada, con un diámetro promedio de 2 a 5 μm , que se caracteriza por poseer en su interior únicamente clorofila *a* y violaxantina como pigmentos (Chua & Schenk, 2017; Junying Liu et al., 2017).

Adicionalmente, si bien esta microalga principalmente se encuentra en agua de mar, lugar donde presenta su mayor tasa de crecimiento y productividad, también se ha encontrado la posibilidad de cultivar este organismo en agua fresca y agua salobre (Chua & Schenk, 2017; Fawley & Fawley, 2007).

2.2.2.2. Condiciones mínimas de cultivo para *Nannochloropsis* sp.

Tal como se ha mencionado antes, esta microalga es posible cultivarla tanto en agua fresca como en agua de mar, sin embargo, como sus mayores productividades son en agua de mar (Chew et al., 2018; Singh & Singh, 2015; Bartley, Boeing, Corcoran, Holguin, & Schaub, 2013; Khatoon et al., 2014).

Con respecto a los nutrientes mínimos que deben estar presentes en el medio de cultivo estos corresponden a nitratos, fosfatos, sodio y potasio, además de algunos metales como hierro (Camacho-Rodríguez et al., 2013; Janssen et al., 2018; Pal, Khozin-Goldberg, Cohen, & Boussiba, 2011).

En complemento a los nutrientes mínimos necesarios mencionados, esta microalga necesita de un sistema de iluminación, donde de manera estándar se ha utilizado una

irradiancia igual a $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (Wahidin, Idris, & Shaleh, 2013). Sin embargo, se ha determinado que el óptimo de irradiancia es menor y aproximadamente toma un valor igual a $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (Vadiveloo, Moheimani, Cosgrove, Bahri, & Parlevliet, 2015; Wahidin et al., 2013), por ello, al momento de cultivar *Nannochloropsis sp.* se debe tener en consideración el valor de la irradiancia.

2.2.3. *Dunaliella tertiolecta*, una microalga simple pero resistente

Las microalgas del género *Dunaliella* han adquirido interés en el mundo debido a que su pared celular no es rígida como en es el caso de las microalgas anteriores y por tanto es posible utilizarla para hacer transformaciones genéticas (Norzagaray-Valenzuela et al., 2018). Adicionalmente, estos organismos son halotolerantes, es decir, que son capaces de vivir en medios con altas concentraciones de salinidad (Borowitzka, 2013).

En adición al interés que hay en este microorganismo debido a las aplicaciones genéticas, también se ha visto que *Dunaliella tertiolecta* es capaz de sintetizar compuestos bioactivos de alto como β -caroteno, compuestos fenólicos y polisacáridos. También, las proteínas de *D. tertiolecta* y sus hidrolizados se han descritos como compuestos antioxidantes (Norzagaray-Valenzuela et al., 2018, 2017).

En conjunto con lo antes mencionado, *D. tertiolecta* se ha propuesto como una buena fuente de biocombustibles debido a su elevada tasa de producción de lípidos y su elevada tasa de remoción de CO₂ (Francavilla, Kamaterou, Intini, Monteleone, & Zabaniotou, 2015).

Finalmente, se ha propuesto el uso de esta microalga como bioindicador debido a su capacidad de crecer en una gran diversidad de condiciones y la alta sensibilidad de su crecimiento debido a cambio en la composición de su medio de cultivo (Hosseini Tafreshi & Shariati, 2009).

2.2.3.1. Características generales de *D. tertiolecta*

Esta microalga verde es radicalmente simétrica de forma elipsoidal y en algunos casos ovaladas (Borowitzka & Siva, 2007) y que presenta un largo promedio entre 9.5 y 12.5 µm y un ancho entre 7 y 8 µm (Borowitzka & Siva, 2007). Y que diferencia de las microalgas anteriores, esta microalga es biflagelada, por lo tanto, al momento de realizar mediciones en microscopio es necesario fijar la muestra para evitar el movimiento de las células (Borowitzka & Siva, 2007; Hosseini Tafreshi & Shariati, 2009).

Con respecto a pigmentos, esta microalga además de poseer clorofila *a* y *b*, también tiene carotenoides como α -caroteno, β -caroteno, violaxantina, neoxantina, zeaxantina y luteína (Hosseini Tafreshi & Shariati, 2009), por lo que es posible

suponer que esta microalga puede crecer en un amplio espectro de longitudes de onda

2.2.3.2. Condiciones mínimas de cultivo para *D. tertiolecta*

D. tertiolecta al ser una microalga marina crece en agua salada y como es halotolerante resiste medios con una concentración de hasta 12% peso/volumen (p/v) de cloruro de sodio (NaCl) (Borowitzka & Siva, 2007). Sin embargo, para el caso de esta especie en particular se ha determinado que el valor óptimo de salinidad es igual a 3% p/v, que es el valor de salinidad estándar en el mar (Borowitzka & Siva, 2007).

Con respecto a los nutrientes necesarios para crecer se sabe que *D. tertiolecta* es autotrófica, por lo que un cultivo con una adecuada fuente de CO₂ debería ser capaz de operar sin mayores inconvenientes (Hosseini Tafreshi & Shariati, 2009), pero de todas maneras de forma preventiva se adiciona una fuente de carbono de carbono inorgánica en forma de bicarbonato de sodio (NaHCO₃).

Con respecto a los demás nutrientes al igual que las anteriores microalgas se debe suministrar una fuente de nitrato, fosfato, sulfuros y algunos metales como hierro y manganeso (Hosseini Tafreshi & Shariati, 2009; Kumar, Guria, Chitres, Chakraborty, & Pathak, 2016; Mathimani et al., 2017).

Finalmente, la irradiancia estándar utilizada para cultivar este microorganismo alcanza un valor igual a $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Sin embargo, también se ha encontrado que al aumentar dicho valor estándar a $500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, el crecimiento de la biomasa aumenta (Xu, Ibrahim, & Harvey, 2016), por lo tanto, la decisión de utilizar un valor u otro se transforma en tratar de equilibrar el coste económico que implica dicho aumento versus la disminución de tiempo provocado por dicho aumento.

2.3. Descripción experimental

En escala laboratorio se plantea un experimento que permite determinar el efecto de diversos colores en el crecimiento celular para así poder seleccionar dos colores significativos que puedan ser utilizados en la escala piloto.

En escala piloto se utilizaron reactores concéntricos de iluminación interna, ya que ha demostrado ser la configuración más eficiente en términos de consumo energético versus crecimiento celular (Dasgupta et al., 2010).

La idea principal de utilizar estos reactores concéntricos es obtener datos en reactores por sobre los 5 litros de volumen de operación con el fin de determinar las principales complicaciones al momento de operar un reactor en escala industrial y estudiar el efecto de dos longitudes de ondas sobre el crecimiento de las microalgas.

En el proceso de selección de las dos longitudes de ondas utilizadas en los reactores de 8 litros, se priorizó las dos longitudes monocromáticas que fueran absorbidas en mayor proporción por clorofila *a* (Figura 2-1) (Y. Li, Scales, Blankenship, Willows, & Chen, 2012; Zang, Sommerburg, & van Kuijk, 1997), debido a su gran presencia en las tres microalgas seleccionadas.

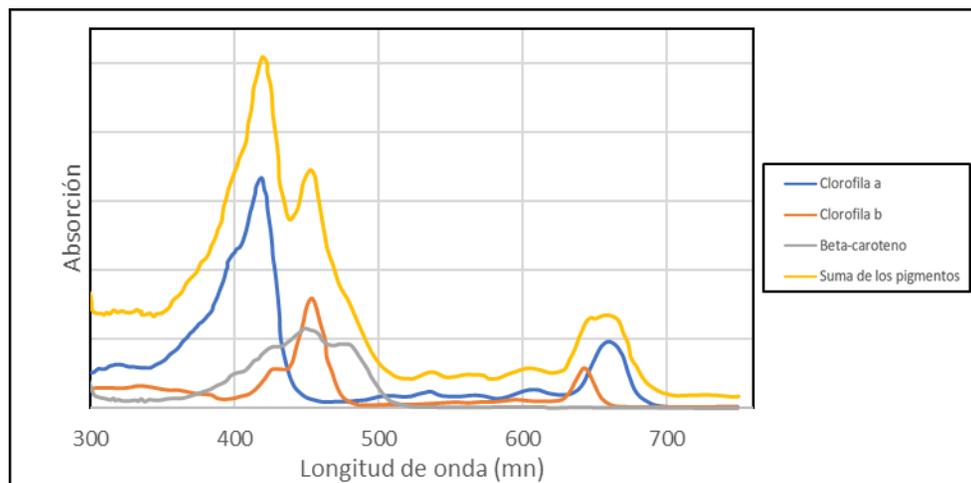


Figura 2-1. Espectro de absorción de los tres pigmentos más importantes presentes en microalgas: clorofila *a*, clorofila *b* y β -caroteno (Y. Li et al., 2012; Zang et al., 1997)

2.3.1. Diseño experimental

2.3.1.1. Medio de cultivo y condiciones ambientales de cultivo

Si bien existen medios específicos para potenciar el crecimiento de cada una de las microalgas seleccionadas, se decidió utilizar un único medio de cultivo estándar que permite el crecimiento de las tres microalgas para poder apreciar los efectos de las diversas longitudes de ondas.

El medio estándar seleccionado es una modificación del medio conocido como f/2 (Guillard & Ryther, 1962), que se compone de los siguientes componentes: NaNO_3 (8.82×10^{-4} M), $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ (3.62×10^{-5} M), $\text{FeCl}_3\text{6H}_2\text{O}$ (1.17×10^{-5} M), $\text{Na}_2\text{EDTA2H}_2\text{O}$ (1.17×10^{-5} M), $\text{CuSO}_4\text{5H}_2\text{O}$ (3.93×10^{-8} M), $\text{Na}_2\text{MoO}_4\text{2H}_2\text{O}$ (2.60×10^{-8} M), $\text{ZnSO}_4\text{7H}_2\text{O}$ (7.65×10^{-8} M), $\text{CoCl}_2\text{6H}_2\text{O}$ (4.20×10^{-8} M), $\text{MnCl}_2\text{4H}_2\text{O}$ (9.10×10^{-7} M), clorhidrato de tiamina (2.96×10^{-7} M), biotina (2.05×10^{-9} M), cianocobalamina (3.69×10^{-10} M) y NaCl (5.82×10^{-1} M). Este medio es una modificación original ya que carece de silicio.

Las condiciones ambientales de la habitación se mantuvieron haciendo uso de un sistema de aire acondicionado permitiendo que la temperatura ambiente sea igual a 21 ± 1 °C y la humedad relativa sea igual a $30 \pm 5\%$.

2.3.1.2. Experimentos en escala de laboratorio

Como se mencionó anteriormente, los experimentos en escala laboratorio se utilizó para determinar los efectos de la longitud de onda en el crecimiento de las microalgas. Para ello se sembraron las tres microalgas en matraces Erlenmeyer de 250 mL durante un periodo de 23 días, tiempo en el cual, a cada matraz se le expuso ante una única fuente de eliminación (Figura 2-2).

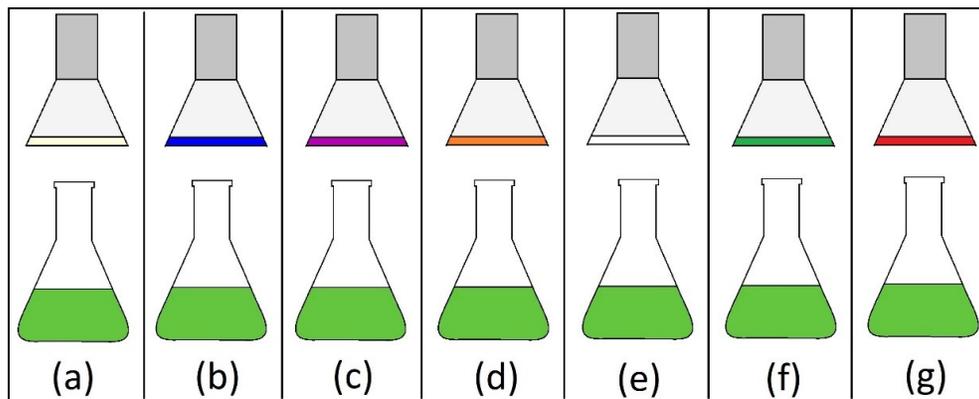


Figura 2-2. Esquema del experimento en escala laboratorio sobre el impacto en el crecimiento de diversos colores en el crecimiento de las microalgas: (a) Sepa control iluminada con luz blanca fluorescente, (b) Sepa iluminada con led SMD 5050 de color azul, (c) Sepa iluminada con led SMD 5050 de color morado, (d) Sepa iluminada con led SMD 5050 de color naranja, (e) Sepa iluminada con led SMD 5050 de color blanca, (f) Sepa iluminada con led SMD 5050 de color verde, (g) Sepa iluminada con led SMD 5050 de color rojo (Elaboración propia).

Para la iluminación de los sistemas se utilizaron luz blanca fluorescente y luces led SMD 5050, que corresponden al tipo de led más común en el mercado. Las luces led SMD 5050, presentan una dimensión estándar del diodo de $5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ y una luminosidad promedio de 20 lumen. En adición a la información ya conocida del led, es necesario caracterizar la energía emitida por cada uno de los colores, para ello se utilizó un espectrógrafo *StellarNet* modelo *Black-Comet-SR* que permite medir la luz tanto en el espectro visible como el ultravioleta (220-1100 nm).

Las mediciones de cada fuente de luz se midieron en términos de irradiancia, es decir, en energía emitida por unidad de área (W/m^2). Con el fin de poder comparar los

efectos de manera más exacta en la Figura 2-3 se presenta el espectro de las diferentes fuentes de luz y en la Tabla 2-1 se presenta la irradiancia entregada por cada fuente de luz.

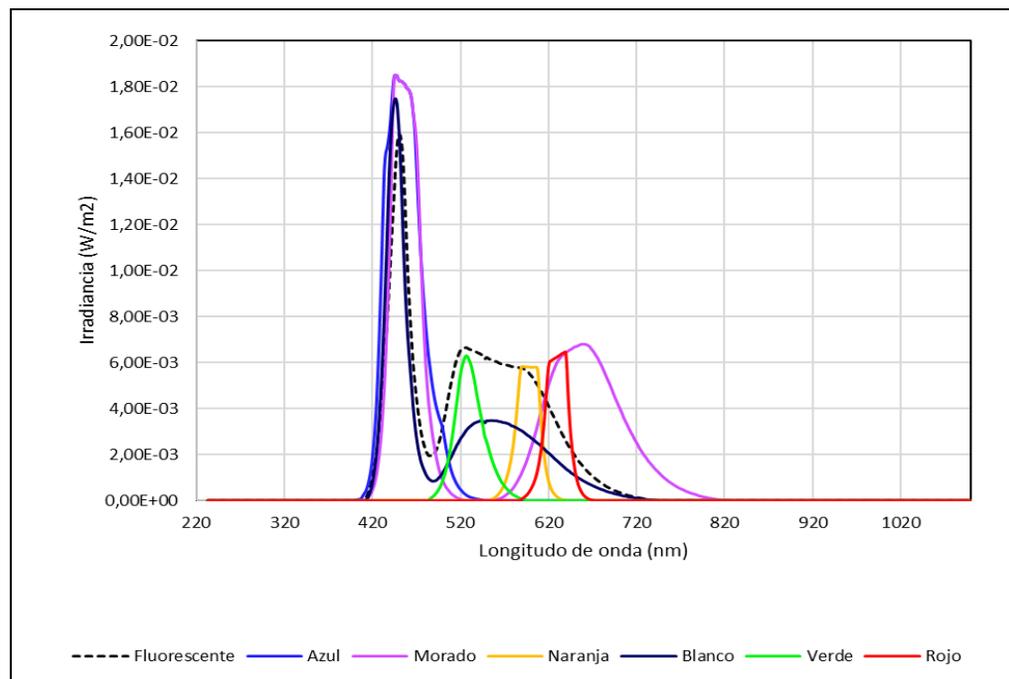


Figura 2-3. Espectro de las distintas fuentes de luz utilizadas en las microalgas
(Elaboración propia)

Tabla 2-1. Irradiancia medida para cada una de las fuentes de luz

Tipo de fuente de luz	Irradiancia (W/m^2)
Luz fluorescente blanca (Control)	1.3408 ± 0.0616
Luz led SMD 5050 azul	0.9713 ± 0.0450
Luz led SMD 5050 morado	1.3589 ± 0.0427
Luz led SMD 5050 naranja	0.1830 ± 0.0426
Luz led SMD 5050 blanca	0.9175 ± 0.2054
Luz led SMD 5050 verde	0.2438 ± 0.0167
Luz led SMD 5050 roja	0.2141 ± 0.0091

2.3.1.3. Experimentos en escala de laboratorio

En este experimento se emplearon reactores con un volumen de control de 8 L. Estos reactores son tubulares de iluminación interna con un radio interno de 3 cm y un diámetro externo de 7.8 cm (Figura 2-4). Además, a estos reactores se le añadieron deflectores con el fin de poder forzar el flujo y así conseguir un patrón de flujo similar a un reactor *airlift* de recirculación interna.

En estos reactores se sembró la microalga *D. tertiolecta* debido a su capacidad de resistir condiciones adversas permitiendo minimizar los efectos de factores ambientales externos que no sean netamente la iluminación de los reactores.

Adicionalmente, *D. tertiolecta* de las tres microalgas es la que presenta mayor diámetro promedio facilitando no solo su proceso de medición de densidad de cultivo por conteo, sino que también su medición de densidad del cultivo por biomasa seca.

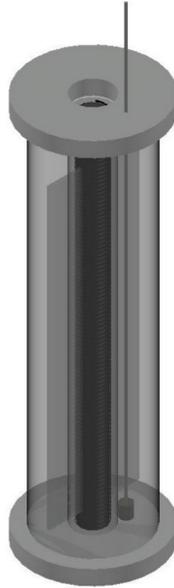


Figura 2-4. Modelo 3D de los reactores tubulares de iluminación interna utilizado
(Elaboración propia)

En cuanto a la iluminación de estos reactores se seleccionaron luces led SMD 5050 monocromáticas de color azul y rojo, que son los colores que más se absorben por la clorofila *a* (Ver Figura 2-1).

Esta fase del experimento se realizó en la misma habitación que se utilizó en las experiencias en escala de laboratorio, por lo tanto, las condiciones ambientales se mantienen. Sin embargo, a diferencia de los matraces, estos reactores tubulares se mantenían con agitación utilizando un sistema de bombeo de aire con un caudal de 12 litros por minuto.

En estos reactores se optó por un mezclado por bombeo utilizando aire ambiente debido a los daños que puede provocar en la célula de una microalga la agitación mecánica (Jin Liu & Chen, 2016; Sobczuk, Camacho, Grima, & Chisti, 2006), más

aún en una microalga como *D. tertiolecta* ya que carece de una pared celular rígida (Silva, Cortiñas, & Ertola, 1987).

2.3.2. Protocolo de muestreo de la biomasa y la irradiancia

2.3.2.1. Medición de la biomasa

La medición de la biomasa es fundamental para poder realizar las curvas de crecimiento cinético de las diversas cepas estudiadas, por lo cual, una inadecuada medición puede llevar a resultados erróneos en el crecimiento y, posteriormente, una decisión errada ya sea en el diseño del reactor o bien en la forma de operación de estos.

En los experimentos en escala laboratorio se realizaron mediciones periódicamente de biomasa en base a conteo de las microalgas bajo microscopio (Motic serie BA310) utilizando una cámara de Neubauer de doble retículo (Hirschmann®) siguiendo los protocolos estándares (Chen, Fan, Zhang, Mei, & Wang, 2018; Surkatti & Al-Zuhair, 2018) que se describen a continuación:

1. Tomar muestra de 1 mL de cada cultivo bajo cabina de flujo laminar (Shisaeng modelo SCBN-1030(1300)).
2. Añadir a cada muestra de cultivo una gota solución de Lugol al 5% v/v que permite fijar las células y teñirlas para facilitar su conteo.
3. Mezclar la solución obtenida hasta homogeneiza utilizando un agitador vórtex (Boeco modelo V1 plus).

4. De la muestra homogénea se toma 10 μL de solución y se agrega a la cámara de Neubauer de doble retículo (Hirschmann®) en el montículo central.
5. Se realiza el conteo de las células a través de uno de los retículos bajo microscopio (Motic serie BA310) con el ocular 40x.

La elección de esta forma de medición de la densidad del cultivo se basa en que se desea evitar la recarga de sustrato en los cultivos para así poder apreciar sólo el efecto de los colores en el crecimiento de las microalgas.

Con respecto a las mediciones de la biomasa en los cultivos en escala piloto es difícil realizar medidas a través de conteo debido a la falta de representatividad de una muestra de 1 mL, por lo cual, se decide cuantificar la biomasa de manera diaria mediante peso seco utilizando filtros de membrana de acetato de celulosa con un diámetro de poro de 0.2 μm y diámetro del filtro igual a 47 mm (Sartorius™) y se realiza el siguiente protocolo estándar (Alkarawi, Caldwell, & Lee, 2018; Schoepp et al., 2015; Zhu & Lee, 1997):

- a) Lavar los filtros con agua destilada y secarlos en una estufa (Sartorius™ modelo MA35) una temperatura de 85 °C por un periodo de 6 horas y pesarlos en una balanza analítico de 4 decimales hasta verificar que el peso permanece constante.
- b) Tomar una muestra de 45 mL desde los fotobiorreactores cerrados, homogenizar la muestra y filtrar en los filtros de peso conocido.
- c) Colocar las muestras filtradas en la estufa (Sartorius™ modelo MA35) a una temperatura de 85°C durante un periodo de al menos 10 horas.
- d) Pasar los filtros a un desecador por un periodo de 1.5 horas

- e) Pesar rápidamente los filtros en una balanza analítica de 4 dígitos (Yoke Instrument modelo SY304C)
- f) Por diferencia entre el peso del filtro seco que fue lavado con agua destilado (PFL) y el peso del filtro con la muestra seca (PFM) es posible obtener la cantidad de masa presente en el cultivo, para ello se sigue la siguiente fórmula:

$$Biomasa\ seca\ (g/L) = \frac{PFL\ (g) - PFM\ (g)}{0.045\ L} \quad (2-1)$$

2.3.2.2. Medición de irradiancia en los biorreactores cerrados

Además de medir el crecimiento de la biomasa en el tiempo es necesario entender como los sistemas se van oscureciendo en el tiempo, para ello se realiza una medición diaria de la irradiancia a una altura media del reactor (aproximadamente a una altura de 30 cm) haciendo uso de un espectrómetro de luz visible y ultravioleta *StellarNet* modelo *Black-Comet-SR*. Estas mediciones se realizaron por triplicado para determinar el ruido de la medición.

En esta sección es importante destacar que no se realizan mediciones en los matraces de 250 mL debido al volumen estudiado, ya que el área superficial entregada por el matraz es lo suficientemente grande para evitar el efecto del oscurecimiento presentes en los cultivos en matraces.

2.4. Resultados y discusión

2.4.1. Crecimiento de las microalgas ante diferentes colores

En el proceso de monitoreo se elaboran imágenes de la evolución de los cultivos ante los diferentes colores de luz (Figuras 2-5 – 2-7). En las Figuras 2-5 – 2-7 es posible apreciar que las microalgas estudiadas son fuertemente impactadas por los colores de iluminación a los que se enfrenta, determinado que excluyendo la luz fluorescente, que corresponde al control, la luz monocromática de color azul es la longitud de onda que maximiza la densidad óptica.

En la Figura 2-7 es posible apreciar que *Nannochloropsis sp.* en luces monocromáticas se retarda la fase marrón/amarilla característica de esta cepa (Hu et al., 2015; Pal et al., 2011). Esta situación es posible explicarla atribuyendo que durante el proceso de crecimiento de *Nannochloropsis sp.* esta desarrolla pigmentos que provocan el cambio de color externo debido a un estrés generado en la microalga por a la imposibilidad estérica de seguir creciendo dado que cuenta con todas las longitudes de ondas necesarias para crecer. Sin embargo, ante luces monocromáticas durante todo el proceso de crecimiento la microalga presenta deficiencia de ciertas longitudes de onda provocando que dicho estrés o bien se atenué o sea inexistente.

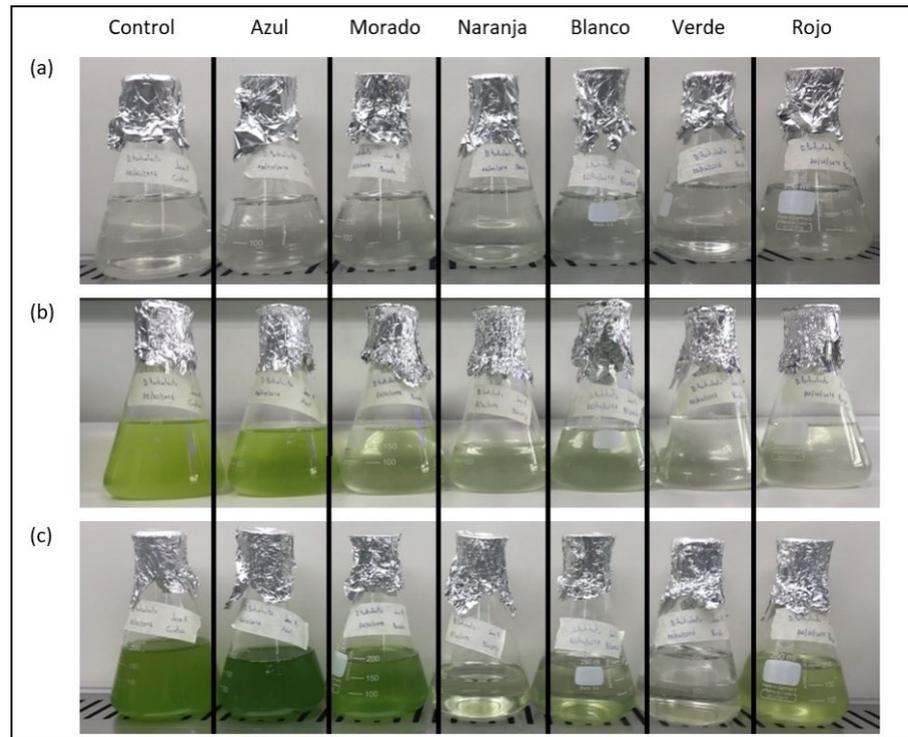


Figura 2-5. Efecto de diversos colores en el crecimiento de *D. tertiolecta*: (a) estado inicial de los cultivos en el día 1, (b) estado de los cultivos en el día 10, (c) estado final de los cultivos al día 30

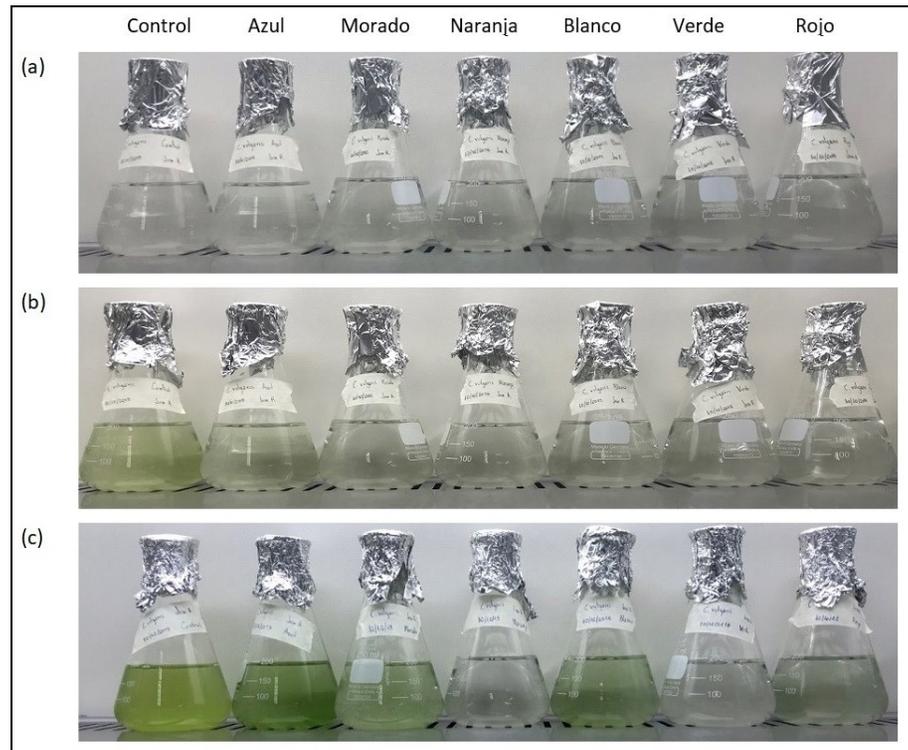


Figura 2-6. Efecto de diversos colores en el crecimiento de *C. vulgaris*: (a) estado inicial de los cultivos en el día 1, (b) estado de los cultivos en el día 13, (c) estado final de los cultivos al día 30

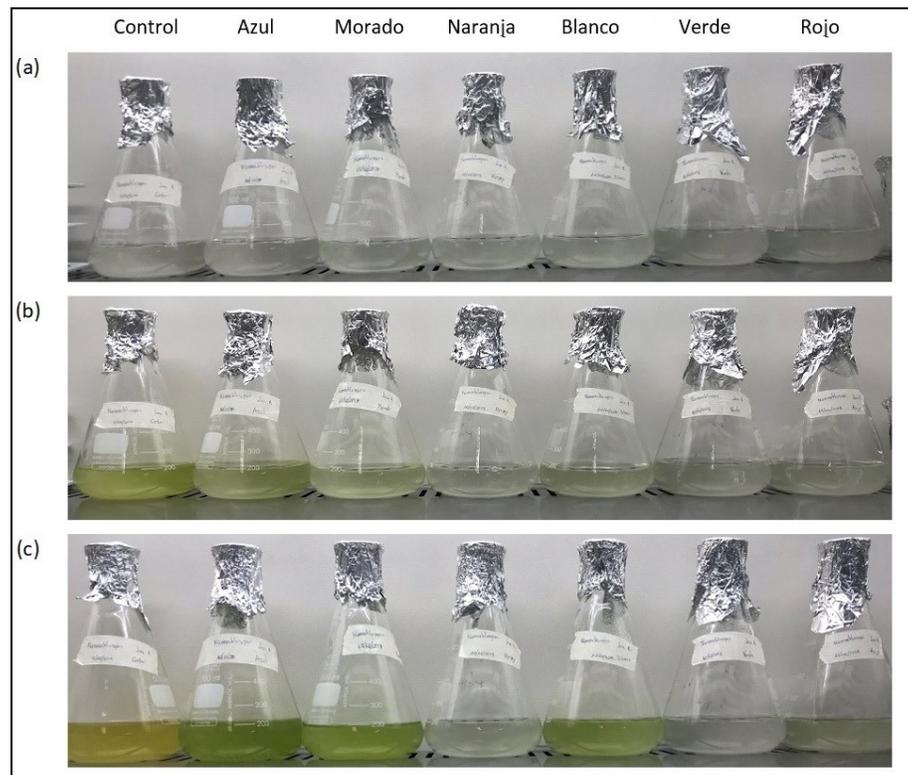


Figura 2-7. Efecto de diversos colores en el crecimiento de *Nannochloropsis sp.*: (a) estado inicial de los cultivos en el día 1, (b) estado de los cultivos en el día 13, (c) estado final de los cultivos al día 31

En adición, a la verificación de la diferenciación del crecimiento mediante inspección optima, se tomaron las muestras de los matraces para poder obtener la concentración de biomasa del cultivo haciendo uso de la metodología del conteo con cámara de Neubauer, permitiendo obtener las Figuras 2-8 – 2-10

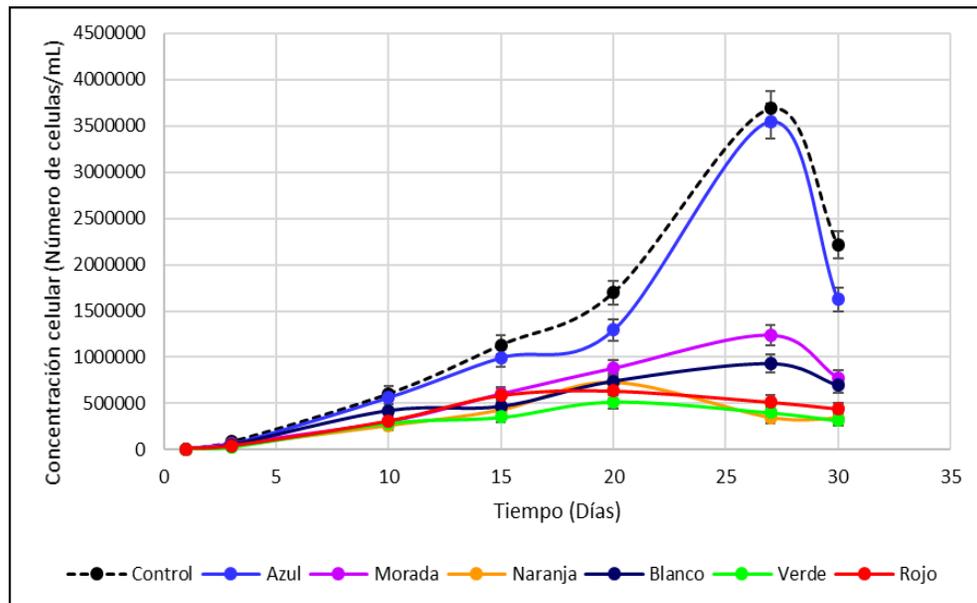


Figura 2-8. Variación temporal del crecimiento de *D. tertiolecta* debido a los efectos de diferentes colores.

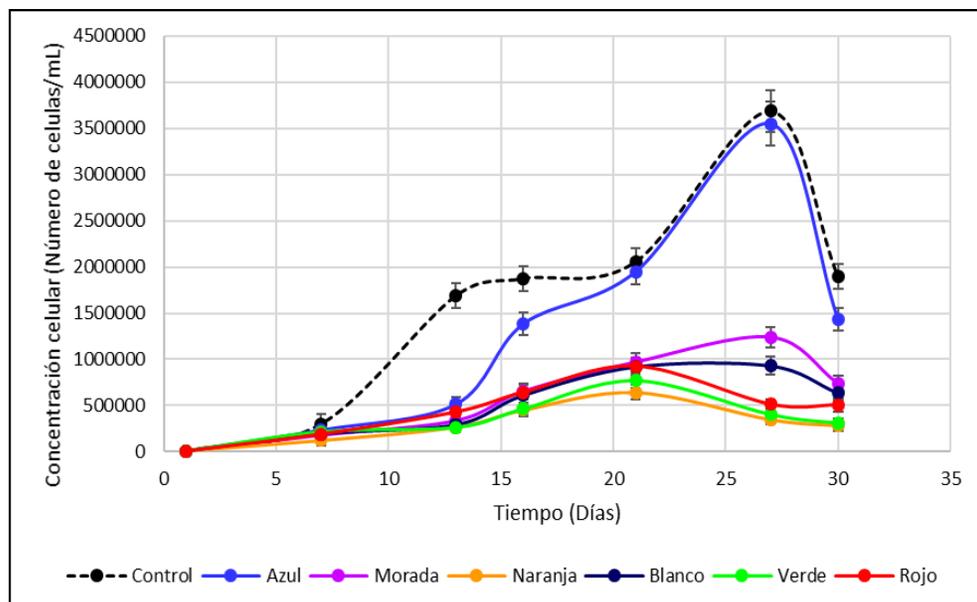


Figura 2-9. Variación temporal del crecimiento de *C. vulgaris* debido a los efectos de diferentes colores.

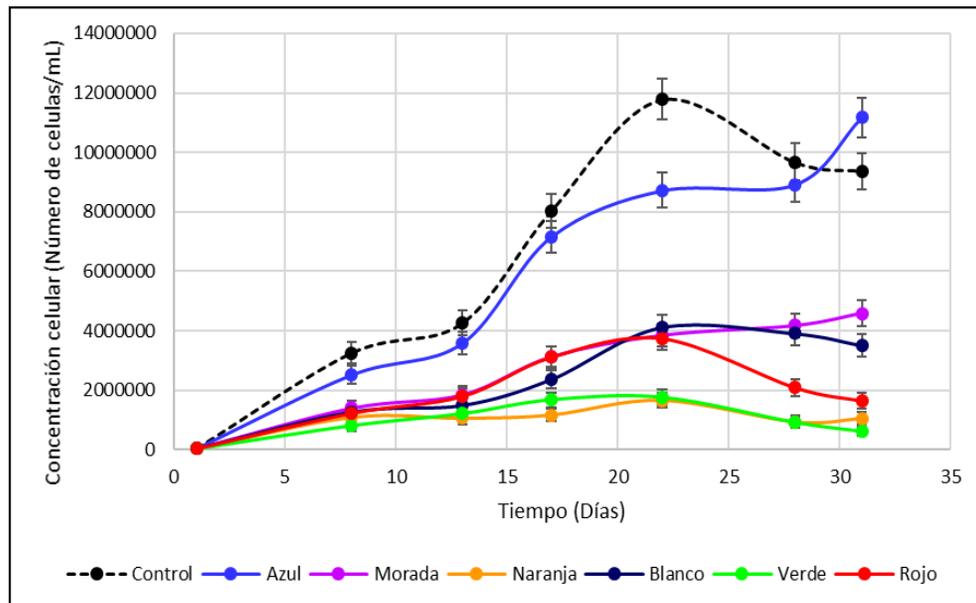


Figura 2-10: Variación temporal del crecimiento de *Nannochloropsis sp.* debido a los efectos de diferentes colores.

Con estas curvas es posible verificar que al hacer uso de luces de colores naranja y verde no es posible apreciar un crecimiento significativo de las microalgas, por lo cual es posible recomendar que en próximos sistemas de iluminación es necesario priorizar la longitud de onda que corresponde al color azul. Esta situación se condice con lo presentado por Blair et al. (2014) y Das, Lei, Aziz, & Obbard (2011) en donde es posible apreciar que al utilizar luz azul se obtienen las mayores concentraciones de biomasa. Sin embargo, lo encontrado se contradice con lo presentado por de Mooij, de Vries, Latsos, Wijffels, & Janssen (2016), en donde se presenta que el mejor color que permite maximizar la biomasa corresponde al color amarillo, pero a lo largo del estudio no muestra un adecuado estudio de las fuentes de luz utilizadas para dicho estudio, observándose por

ejemplo, que los sistemas iluminados de color amarillo se adicionó una iluminación de color azul, lo cual claramente afecta la curva de crecimiento de la microalga generando que se llegue a conclusiones erróneas.

Esta situación anterior también fue aplicable para *D. tertiolecta*, especie sobre la cual no existe estudio disponible del efecto de los colores en su crecimiento. Pero estos efectos son explicables en esta microalga debido a su alto contenido de clorofila *a* y clorofila *b* (Hosseini Tafreshi & Shariati, 2009) pigmentos que permiten absorben en específico las longitudes de onda pertenecientes a los colores azul y rojo, con una importancia significativa en el color azul (Y. Li et al., 2012; Zang et al., 1997).

Finalmente, con los resultados anteriores, se vuelve a ratificar la selección de *D. tertiolecta* como microalga ideal para realizar un estudio en escala piloto, ya que en la Figura 2-8 se puede apreciar una temprana diferenciación en las curvas de crecimientos de la microalga ante diferentes colores, por lo cual, en escala piloto será más fácil ir determinado los efectos de los colores en el crecimiento.

2.4.2. Crecimiento de *D. tertiolecta* en fotobiorreactores cerrados

Al finalizar el estudio realizado en los matraces, se determinó la microalga a estudiar y los dos colores monocromáticos a comparar. La microalga se trata de *D. tertiolecta* debido a su alta respuesta a diferentes colores de iluminación y su alta resistencia a efectos ambientales reduciendo los cuidados que hay que realizar para operar en un reactor cerrado para asegurar la inocuidad. Y con respecto a los colores, estos

corresponden a las longitudes de onda correspondientes a azul y rojo por la alta absorción que realiza clorofila *a* y *b* de estas longitudes (ver Figura 2-1).

Con estas consideraciones se realizó un monitoreo diario tanto de la variación de la biomasa y la irradiancia que existe al interior de estos fotobiorreactores (Figura 2-11).

Tal como se describió en el protocolo de muestreo, la biomasa se midió utilizando filtros de acetato de celulosa de 0.2 μm de porosidad, y la irradiancia se cuantifica utilizando un espectrómetro adaptado para sumergirse para poder realizar las mediciones al centro de los reactores, es decir, estas mediciones se realizaron a la mitad de la altura del reactor y a una distancia equidistante entre la fuente de luz y el tubo concéntrico exterior del reactor.

Adicional a las mediciones rigurosas es posible realizar un análisis cualitativo de la situación, tal como se muestra en la Figura 2-11, donde se puede ver que el inicio de la operación los reactores partieron de una concentración celular similar (Figura 2-11 a) pero con el paso del tiempo los reactores se empiezan a oscurecer debido al mismo crecimiento celular provocando al final un estancamiento del crecimiento debido a la limitación por la luz (Figura 2-11 b).

En la Figura 2-11 b se puede apreciar como el reactor iluminado con luces led de color azul admite un mayor crecimiento celular de *D. tertiolecta* coincidiendo con los datos obtenidos en los matraces, permitiendo determinar que esta microalga presenta una mayor concentración de clorofila *a*, pigmento que permite una mayor absorción de dicha longitud de onda.

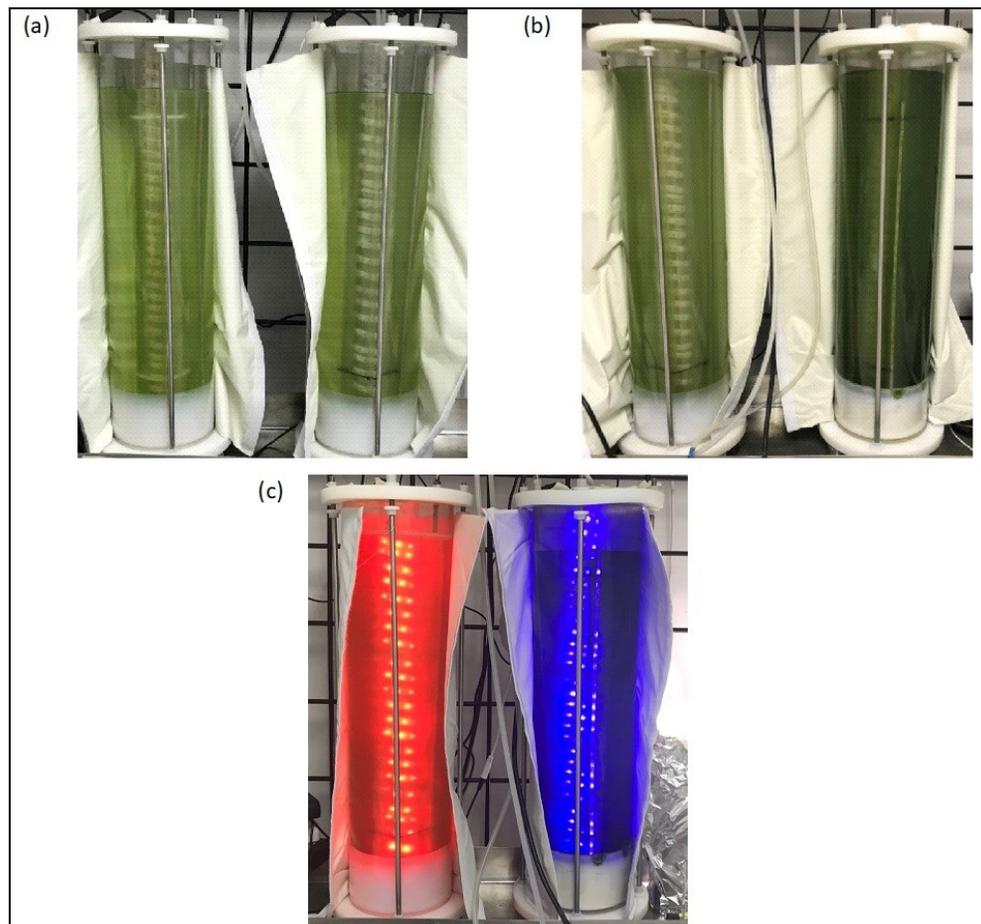


Figura 2-11. Fotobiorreactores de tubos concéntricos de iluminación interna utilizados para evaluar la evolución del crecimiento de *D. tertiolecta*: (a) estado inicial de los fotobiorreactores en el día 0, (b) estado final de los biorreactores en el día 31, (c) fotobiorreactores operando con dos longitudes de onda distintas

Con respecto a las mediciones de la biomasa y la irradiancia, es posible apreciar las grandes diferencias en el comportamiento de los reactores, al observar las Figuras 2-12 y 2-13. En la Figura 2-12a es posible apreciar como el reactor de iluminado con azul presenta un crecimiento constante de la biomasa durante el periodo de medición de 31 días, determinándose que la concentración celular aumenta 3.5 veces.

Asimismo, es posible observar que a medida que aumenta la concentración celular, la irradiancia media al interior del fotobiorreactor disminuye lo cual coincide con lo presentado por publicaciones recientes (J.-Y. Li et al., 2018; Singh Khichi, Anis, & Ghosh, 2018; Wágner, Valverde-Pérez, & Plósz, 2018), pero este comportamiento es primera vez presentado para *D. tertiolecta*.

En contraposición en la Figura 2-13 es posible apreciar que el fotobiorreactor iluminado con luces led de color rojo presenta un comportamiento oscilante tanto de crecimiento como de irradiancia en su interior. Es comportamiento puede ser explicado debido a que estos reactores se operaron para que la limitación del crecimiento fuera únicamente debido a la iluminación. Por lo tanto, en la Figura 2-13a podemos apreciar la cota máxima de crecimiento debido a este color de iluminación en el día 11, con ello debido a que esta longitud no es adecuada para el crecimiento, es decir, no le entrega la energía necesaria para crecer, esta microalga toma la decisión biológica de dejar de duplicarse provocando una disminución de su biomasa hasta un nivel similar a la inicial en el día 17. Y desde ese día en adelante se puede apreciar un nuevo ciclo de crecimiento similar al anterior debido a que el medio cuenta con todos los nutrientes necesario para su desarrollo y que la turbiedad del medio permite que la energía que se entrega por la luz sea suficiente.

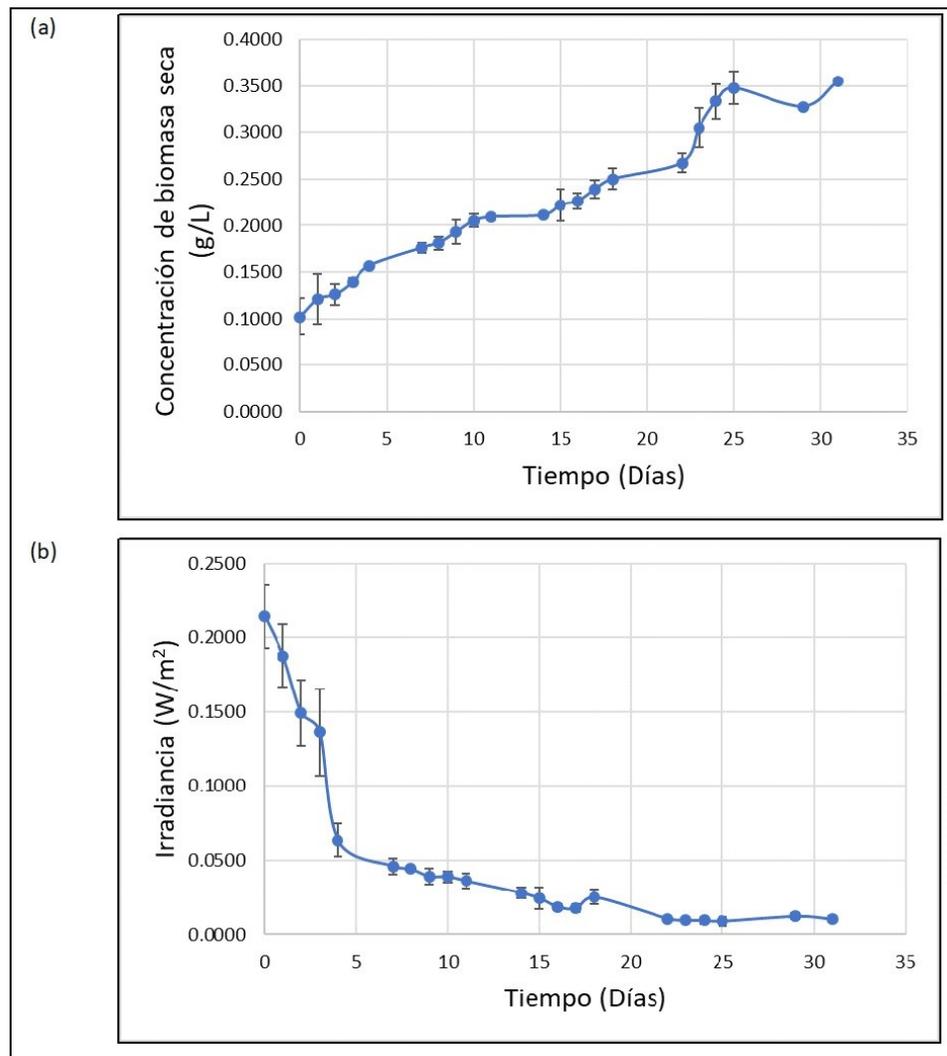


Figura 2-12. Mediciones realizadas en fotobiorreactor con iluminación de color azul: (a) concentración de biomasa (g/L), (b) irradiancia media medida (W/m²)

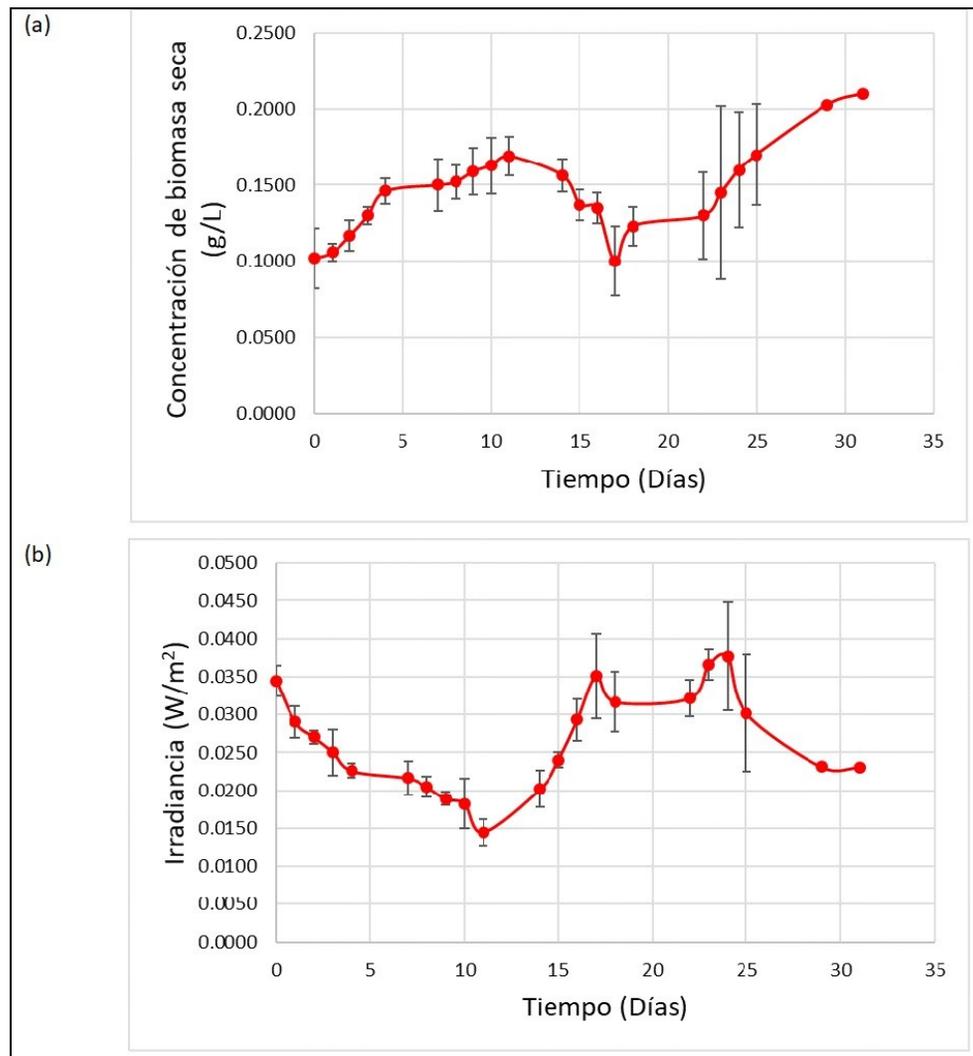


Figura 2-13. Mediciones realizadas en fotobiorreactor con iluminación de color rojo: (a) concentración de biomasa (g/L), (b) irradiancia media medida (W/m²)

Cabe mencionar que para asegurar que los nutrientes del medio no disminuyeron a un nivel crítico y que el sistema de recarga de cultivo era adecuado, en el día 25 de medición, se realizó una medición de nitritos y nitratos y de fosfatos utilizando un lector de tiras automático de estos compuestos conocido como Quantofix® Relax (Macherey-Nagel) disponible en el laboratorio de la profesora Andrea Carvajal,

académica de la Universidad Técnica Federico Santa María, campus San Joaquín, permitiendo obtener la Tabla 2-2.

Tabla 2-2. Medición de nitritos y nitratos y de fosfatos de los dos fotobiorreactores estudiados.

Fotobiorreactor	Compuesto medido	Valor del compuesto en el medio (mg/L)	Valor medido en el fotobiorreactor en el día 25 (mg/L)	Valor medido en el fotobiorreactor en el día 25 (mol/L)
Azul	Nitritos	–	$< 0.5 \pm 0.1$	1.09×10^{-5}
	Nitratos	8.82×10^{-4}	61 ± 12.2	9.84×10^{-4}
	Fosfatos	3.62×10^{-5}	$4.5 \pm 0,9$	4.74×10^{-5}
Rojo	Nitritos	–	$< 0.5 \pm 0.1$	1.09×10^{-5}
	Nitratos	8.82×10^{-4}	65 ± 13	1.05×10^{-3}
	Fosfatos	3.62×10^{-5}	4.5 ± 0.9	4.74×10^{-5}

De la Tabla 2-2 es posible inferir que el proceso de recarga de sustratos necesarios para el crecimiento de la microalga es adecuado ya que no solo se evita que exista una disminución de los compuestos más importantes para las microalgas como es nitrato y fosfato (Poddar, Sen, & Martin, 2018; Ridley et al., 2018) sino que también provoca un aumento leve de estos compuestos. Asimismo, de estas mediciones es posible intuir que el compuesto que más se ve afectado por el crecimiento de las microalgas

es el nitrato y que además se observa una correlación directa entre la cantidad de biomasa presente en el fotobiorreactor y la cantidad de nitrato consumido, permitiendo afirmar que, durante el proceso de crecimiento, *D. tertiolecta*, necesita disponer de una fuente de nitrato para evitar su inhibición por falta de sustrato.

2.5. Conclusiones

Al finalizar los experimentos tanto a escala de laboratorio como en escala piloto es posible concluir que si existe una correlación entre el tipo de iluminación y el crecimiento de las microalgas tal como se había demostrado antes más otras microalgas.

Asimismo, a lo largo del estudio se determinó que una insuficiente caracterización de la fuente de luz utilizada para analizar estos efectos puede llevar a conclusiones erróneas que ignoran la cantidad de pigmentos presentes al interior de las diversas microalgas.

Adicional a lo mencionado anteriormente, es posible concluir que el mejor sistema de iluminación led SMD 5050 que maximiza la biomasa es el que presenta la longitud de onda de color azul para las tres microalgas y esto se puede atribuir a la elevada presencia de la clorofila *a* al interior de estas. En conjunto con esto, en el caso de *Nannochloropsis sp.* se observó un efecto del color de iluminación sobre el color que va tomando el cultivo a lo largo del tiempo, es decir, es posible solo utilizando colores direccionar el porcentaje de pigmentos presentes en la microalga.

Con respecto a los cultivos en los fotobiorreactores, se observaron los diversos problemas que dificultan el escalamiento de estos sistemas, donde la complicación más importante es la adhesión de las microalgas a las paredes del reactor generando problemas de mezclado. Es por eso por lo que dentro de las consideraciones que hay que tener más presente al momento de operar estos sistemas es el mecanismo de agitación y el tipo de material utilizado para construir estos fotobiorreactores.

Asimismo, es posible determinar que llegado a una cierta cantidad de irradiancia la microalga no cuenta con la energía necesaria para poder seguir realizando sus funciones biológicas y por tanto se inicia la detención de su crecimiento. Con respecto a eso, en la Figura 2-12 y Figura 2-13 se presenta de manifiesto que este nivel mínimo de irradiancia necesario para mantener el crecimiento difiere para cada longitud de onda, observándose que la luz azul aporta de mejor manera al crecimiento de *D. tertiolecta*, permitiendo aseverar que un sistema de cultivo con iluminación roja de esta microalga que trate de llegar a las mismas concentraciones de biomasa de uno con iluminación azul requerida de una mayor gasto energético debido a la demanda de energía por parte de *D. tertiolecta*.

De la misma forma es importante poder realizar un sistema de control para la iluminación al interior de estos reactores, ya que como se observó, esta iluminación se vuelve la limitante en el crecimiento. Es por ello, se vuelve crucial poder desarrollar un entendimiento del impacto que tiene la irradiancia en la tasa de crecimiento de la biomasa, pero también entender como la luz va variando con el paso del tiempo debido al crecimiento celular, es decir, la luz no es una variable estacionaria, sino una variable transiente que es necesario entender y acoplar al crecimiento celular

También, a pesar de que existe una escasez de publicaciones sobre el comportamiento de *D. tertiolecta*, en este estudio fue posible obtener resultados comparables de biomasa con los obtenidos por Chagas et al. (2015), que analizaron la producción de compuesto de alto valor generados por esta microalga y que por consiguiente estudiaron la cantidad de biomasa final alcanzada en el sistema, llegando a concentraciones de 0.6 g/L, que corresponde a 1.7 veces la concentración obtenida por este estudio y que puede ser explicado por diferencia en la cantidad de CO₂ utilizado en la alimentación, que para el caso de este estudio fue en menor cantidad.

Finalmente, para futuros estudios se vuelve interesante analizar el efecto que tiene el agotamiento del nitrato al interior del medio de cultivo y que este estudio conduzca al desarrollo de un sistema de control que permita regular la concentración de este compuesto para así evitar el gasto innecesario de nutrientes al momento de recargar el medio de cultivo, tal como se ha realizado para el nivel de CO₂ en estos fotobiorreactores

2.6. REFERENCIAS

Adeniyi, O. M., Azimov, U., & Burluka, A. (2018). Algae biofuel: Current status and future applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90(August 2017), 316–335.

Alkarawi, M. A. S., Caldwell, G. S., & Lee, J. G. M. (2018). Continuous harvesting of microalgae biomass using foam flotation. *Algal Research*, 36(September), 125–138.

Bartley, M. L., Boeing, W. J., Corcoran, A. A., Holguin, F. O., & Schaub, T. (2013). Effects of salinity on growth and lipid accumulation of biofuel microalga *Nannochloropsis salina* and invading organisms. *Biomass and Bioenergy*, 54, 83–88.

Bazdar, E., Roshandel, R., Yaghmaei, S., & Mardanpour, M. M. (2018). The effect of different light intensities and light/dark regimes on the performance of photosynthetic microalgae microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, 261(February), 350–360.

Beyerinck, M. W. (1890). Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen Algen. *Botanische Zeitung*, 47, 725–785.

Bharathiraja, B., Chakravarthy, M., Ranjith Kumar, R., Yogendran, D., Yuvaraj, D., Jayamuthunagai, J., ... Palani, S. (2015). Aquatic biomass (algae) as a future feed stock for bio-refineries: A review on cultivation, processing and products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 47, 635–653.

Blair, M. F., Kokabian, B., & Gude, V. G. (2014). Light and growth medium effect on *Chlorella vulgaris* biomass production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(1), 665–674.

Borowitzka, M. A. (2013). High-value products from microalgae-their development and commercialisation. *Journal of Applied Phycology*, 25(3), 743–756.

Borowitzka, M. A., & Siva, C. J. (2007). The taxonomy of the genus *Dunaliella* (Chlorophyta, Dunaliellales) with emphasis on the marine and halophilic species. *Journal of Applied Phycology*, 19(5), 567–590.

Camacho-Rodríguez, J., Cerón-García, M. C., González-López, C. V., Fernández-Sevilla, J. M., Contreras-Gómez, A., & Molina-Grima, E. (2013). A low-cost culture medium for the production of *Nannochloropsis gaditana* biomass optimized for aquaculture. *Bioresource Technology*, 144, 57–66.

Chagas, A. L., Rios, A. O., Jarenkow, A., Marcílio, N. R., Ayub, M. A. Z., & Rech, R. (2015). Production of carotenoids and lipids by *Dunaliella tertiolecta* using CO₂ from beer fermentation. *Process Biochemistry*, 50(6), 981–988.

Chen, Q., Fan, Q., Zhang, Z., Mei, Y., & Wang, H. (2018). Effective in situ harvest of microalgae with bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacter xylinus*. *Algal Research*, 35(February), 349–354.

Chew, K. W., Chia, S. R., Show, P. L., Yap, Y. J., Ling, T. C., & Chang, J. S. (2018). Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: A review. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 91, 332–344.

Christenson, L., & Sims, R. (2011). Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. *Biotechnology Advances*, 29(6), 686–702.

Chua, E. T., & Schenk, P. M. (2017). A biorefinery for *Nannochloropsis*: Induction, harvesting, and extraction of EPA-rich oil and high-value protein. *Bioresource Technology*, 244, 1416–1424.

Dasgupta, C. N., Jose Gilbert, J., Lindblad, P., Heidorn, T., Borgvang, S. A., Skjanes, K., & Das, D. (2010). Recent trends on the development of photobiological processes and photobioreactors for the improvement of hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(19), 10218–10238.

de Mooij, T., de Vries, G., Latsos, C., Wijffels, R. H., & Janssen, M. (2016). Impact of light color on photobioreactor productivity. *Algal Research*, 15, 32–42.

Fawley, K. P., & Fawley, M. W. (2007). Observations on the Diversity and Ecology of Freshwater Nannochloropsis (Eustigmatophyceae), with Descriptions of New Taxa. *Protist*, 158(3), 325–336.

Francavilla, M., Kamaterou, P., Intini, S., Monteleone, M., & Zabaniotou, A. (2015). Cascading microalgae biorefinery: Fast pyrolysis of *Dunaliella tertiolecta* lipid extracted-residue. *Algal Research*, 11, 184–193.

Griffiths, M. J., Van Hille, R. P., & Harrison, S. T. L. (2014). The effect of degree and timing of nitrogen limitation on lipid productivity in *Chlorella vulgaris*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(13), 6147–6159.

Guillard, R. R. L., & Ryther, J. H. (1962). Studies of Marine Planktonic Diatoms: I. *Cyclotella* Nanna Hustedt, and *Detonula Confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology*, 8(2), 229–239.

Hosseini Tafreshi, A., & Shariati, M. (2009). *Dunaliella* biotechnology: Methods and applications. *Journal of Applied Microbiology*, 107(1), 14–35.

Hu, Q., Xiang, W., Dai, S., Li, T., Yang, F., Jia, Q., ... Wu, H. (2015). The influence of cultivation period on growth and biodiesel properties of microalga *Nannochloropsis gaditana* 1049. *Bioresource Technology*, 192, 157–164.

Hynstova, V., Sterbova, D., Klejdus, B., Hedbavny, J., Huska, D., & Adam, V. (2018). Separation, identification and quantification of carotenoids and chlorophylls in dietary supplements containing *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* using High Performance Thin Layer Chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 148, 108–118.

Janssen, J. H., Kastenhofer, J., de Hoop, J. A., Lamers, P. P., Wijffels, R. H., & Barbosa, M. J. (2018). Effect of nitrogen addition on lipid productivity of nitrogen starved *Nannochloropsis gaditana*. *Algal Research*, 33(November 2017), 125–132.

Khatoon, H., Abdu Rahman, N., Banerjee, S., Harun, N., Suleiman, S. S., Zakaria, N. H., ... Endut, A. (2014). Effects of different salinities and pH on the growth and proximate composition of *Nannochloropsis* sp. and *Tetraselmis* sp. isolated from South China Sea cultured under control and natural condition. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 95(2), 11–18.

Kitada, K., Machmudah, S., Sasaki, M., Goto, M., Nakashima, Y., Kumamoto, S., & Hasegawa, T. (2009). Supercritical CO₂ extraction of pigment components with pharmaceutical importance from *Chlorella vulgaris*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84(5), 657–661.

Kulkarni, S., & Nikolov, Z. (2018). Process for selective extraction of pigments and functional proteins from *Chlorella vulgaris*. *Algal Research*, 35(August), 185–193.

Kumar, A., Guria, C., Chitres, G., Chakraborty, A., & Pathak, A. K. (2016). Modelling of microalgal growth and lipid production in *Dunaliella tertiolecta* using nitrogen-phosphorus-potassium fertilizer medium in sintered disk chromatographic glass bubble column. *Bioresource Technology*, 218, 1021–1036.

Li, J.-Y., Wang, S.-Y., Ni, Z.-Y., Xu, X.-H., Cheng, L.-H., & Yue, A. (2018). Improving microalgal growth in column photobioreactor with internal light column. *Bioresource Technology Reports*, 4(October), 181–185.

Li, Y., Scales, N., Blankenship, R. E., Willows, R. D., & Chen, M. (2012). Extinction coefficient for red-shifted chlorophylls: Chlorophyll d and chlorophyll f. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1817(8), 1292–1298.

Liang, Y., Sarkany, N., & Cui, Y. (2009). Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions. *Biotechnology Letters*, 31(7), 1043–1049.

Liu, J., & Chen, F. (2016). Biology and Industrial Applications of *Chlorella*: Advances and Prospects. In C. Posten & S. Feng Chen (Eds.), *Microalgae Biotechnology* (pp. 1–35). Cham: Springer International Publishing.

Liu, J., Song, Y., & Qiu, W. (2017). Oleaginous microalgae *Nannochloropsis* as a new model for biofuel production: Review & analysis. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 72(March 2015), 154–162.

Luangpipat, T., & Chisti, Y. (2017). Biomass and oil production by *Chlorella vulgaris* and four other microalgae — Effects of salinity and other factors. *Journal of Biotechnology*, 257, 47–57.

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(1), 217–232.

Mathimani, T., Senthil Kumar, T., Chandrasekar, M., Uma, L., & Prabakaran, D. (2017). Assessment of fuel properties, engine performance and emission characteristics of outdoor grown marine *Chlorella vulgaris* BDUG 91771 biodiesel. *Renewable Energy*, 105, 637–646.

Matos, Â. P., Ferreira, W. B., de Oliveira Torres, R. C., Morioka, L. R. I., Canella, M. H. M., Rotta, J., ... Sant'Anna, E. S. (2015). Optimization of biomass production of *Chlorella vulgaris* grown in desalination concentrate. *Journal of Applied Phycology*, 27(4), 1473–1483.

Norzagaray-Valenzuela, C. D., Germán-Báez, L. J., Valdez-Flores, M. A., Hernández-Verdugo, S., Shelton, L. M., & Valdez-Ortiz, A. (2018). Establishment of an efficient genetic transformation method in *Dunaliella tertiolecta* mediated by

Agrobacterium tumefaciens. *Journal of Microbiological Methods*, 150(March), 9–17.

Norzagaray-Valenzuela, C. D., Valdez-Ortiz, A., Shelton, L. M., Jiménez-Edeza, M., Rivera-López, J., Valdez-Flores, M. A., & Germán-Báez, L. J. (2017). Residual biomasses and protein hydrolysates of three green microalgae species exhibit antioxidant and anti-aging activity. *Journal of Applied Phycology*, 29(1), 189–198.

Ördög, V., Stirk, W. A., Bálint, P., Aremu, A. O., Okem, A., Lovász, C., ... van Staden, J. (2016). Effect of temperature and nitrogen concentration on lipid productivity and fatty acid composition in three *Chlorella* strains. *Algal Research*, 16, 141–149.

Özgür, E., Mars, A. E., Peksel, B., Louwerse, A., Yücel, M., Gündüz, U., ... Eroğlu, I. (2010). Biohydrogen production from beet molasses by sequential dark and photofermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(2), 511–517.

Pal, D., Khozin-Goldberg, I., Cohen, Z., & Boussiba, S. (2011). The effect of light, salinity, and nitrogen availability on lipid production by *Nannochloropsis* sp. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(4), 1429–1441.

Poddar, N., Sen, R., & Martin, G. J. O. (2018). Glycerol and nitrate utilisation by marine microalgae *Nannochloropsis salina* and *Chlorella* sp. and associated bacteria during mixotrophic and heterotrophic growth. *Algal Research*, 33(May), 298–309.

Ridley, C. J. A., Parker, B. M., Norman, L., Schlarb-Ridley, B., Dennis, R., Jamieson, A. E., ... Davey, M. P. (2018). Growth of microalgae using nitrate-rich brine wash from the water industry. *Algal Research*, 33(April), 91–98.

Rodionova, M. V., Poudyal, R. S., Tiwari, I., Voloshin, R. A., Zharmukhamedov, S. K., Nam, H. G., ... Allakhverdiev, S. I. (2017). Biofuel production: Challenges and opportunities. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(12), 8450–8461.

Rukminasari, N. (2013). Effect of Temperature and Nutrient Limitation on the Growth and Lipid Content of Three Selected Microalgae (*Dunaliella tertiolecta*, *Nannochloropsis* sp. and *Scenedesmus* sp.) for Biodiesel Production. *International Journal of Marine Science*, 3(17), 135–144.

Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.-Y., & Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265–278.

Schoepp, N. G., Ansari, W. S., Dallwig, J. A., Gale, D., Burkart, M. D., & Mayfield, S. P. (2015). Rapid estimation of protein, lipid, and dry weight in microalgae using a portable LED fluorometer. *Algal Research*, 11, 108–112.

Shen, Q. H., Gong, Y. P., Fang, W. Z., Bi, Z. C., Cheng, L. H., Xu, X. H., & Chen, H. L. (2015). Saline wastewater treatment by *Chlorella vulgaris* with simultaneous algal lipid accumulation triggered by nitrate deficiency. *Bioresource Technology*, 193, 68–75.

Silva, H. J., Cortiñas, T., & Ertola, R. J. (1987). Effect of hydrodynamic stress on dunalieella growth. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 40(1), 41–49.

Singh Khichi, S., Anis, A., & Ghosh, S. (2018). Mathematical modeling of light energy flux balance in flat panel photobioreactor for *Botryococcus braunii* growth, CO₂ biofixation and lipid production under varying light regimes. *Biochemical Engineering Journal*, 134, 44–56.

Singh, S. P., & Singh, P. (2015). Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 50, 431–444.

Sobczuk, T. M., Camacho, F. G., Grima, E. M., & Chisti, Y. (2006). Effects of agitation on the microalgae *Phaeodactylum tricornutum* and *Porphyridium cruentum*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 28(4), 243–250.

Surkatti, R., & Al-Zuhair, S. (2018). Effect of cresols treatment by microalgae on the cells' composition. *Journal of Water Process Engineering*, 26(July), 250–256.

Vadiveloo, A., Moheimani, N. R., Cosgrove, J. J., Bahri, P. A., & Parlevliet, D. (2015). Effect of different light spectra on the growth and productivity of acclimated *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae). *Algal Research*, 8, 121–127.

Vander Wiel, J. B., Mikulicz, J. D., Boysen, M. R., Hashemi, N., Kalgren, P., Nauman, L. M., ... Hashemi, N. N. (2017). Characterization of *Chlorella vulgaris* and *Chlorella protothecoides* using multi-pixel photon counters in a 3D focusing optofluidic system. *RSC Advances*, 7(8), 4402–4408.

Wagner, D. S., Valverde-Pérez, B., & Plósz, B. G. (2018). Light attenuation in photobioreactors and algal pigmentation under different growth conditions – Model identification and complexity assessment. *Algal Research*, 35(July), 488–499.

Wahidin, S., Idris, A., & Shaleh, S. R. M. (2013). The influence of light intensity and photoperiod on the growth and lipid content of microalgae *Nannochloropsis* sp. *Bioresource Technology*, 129, 7–11.

Xaaldi Kalhor, A., Mohammadi Nassab, A. D., Abedi, E., Bahrami, A., & Movafeghi, A. (2016). Biodiesel production in crude oil contaminated environment using *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 222, 190–194.

Xu, Y., Ibrahim, I. M., & Harvey, P. J. (2016). The influence of photoperiod and light intensity on the growth and photosynthesis of *Dunaliella salina* (chlorophyta) CCAP 19/30. *Plant Physiology and Biochemistry*, 106, 305–315.

Zang, L.-Y., Sommerburg, O., & van Kuijk, F. J. G. M. (1997). Absorbance Changes of Carotenoids in Different Solvents. *Free Radical Biology and Medicine*, 23(7), 1086–1089.

Zhu, C. J., & Lee, Y. K. (1997). Determination of biomass dry weight of marine microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 9(2), 189–194.

3. MODELACIÓN DEL CRECIMIENTO DE LA BIOMASA Y LA VARIACIÓN DE IRRADIANCIA

3.1. Introducción

En la década de 1950, la industria que se dedicaba a la producción de microalgas a gran escala en grandes piscinas de cultivo se empezó a enfrentar grandes problemas al momento de intentar optimizar sus procesos de cultivo, con ello se desarrollaron los primeros fotobiorreactores cerrados que fueron utilizados en la industria de alimentos (Vo et al., 2019). Estos sistemas brindaban un mayor control de los factores ambientales como la temperatura, la cantidad de gases intercambiados, el área superficial irradiada con luz entre otros factores.

Con el paso del tiempo, cuando se necesitó entender el comportamiento de estos reactores para poder optimizar estos procesos se empezaron a aplicar teorías de intercambio de materia y de energía (Darvehei, Bahri, & Moheimani, 2018; Vo et al., 2019; Wang, Lan, & Horsman, 2012).

Estas teorías, en un inicio, fueron muy vagas aproximaciones de la realidad, pero que con el paso del tiempo fueron evolucionando a modelos altamente complejos y precisos que involucran hasta la dinámica del fluido aplicando métodos numéricos (Bitog et al., 2011) y toda esta evolución se puede explicar debido al aumento de la capacidad de los computadores y a un mejor entendimiento de los procesos fisicoquímicos presentes en estos sistemas.

De estas teorías desarrolladas la que siempre ha tenido un alto interés, es la ley que gobierna la distribución de la luz al interior de los fotobiorreactores (Molina Grima et al., 1994), debido al impacto que tiene la luz en el crecimiento de las microalgas y en consecuencia en la producción de compuestos de alto valor comercial (Naderi, Znad, & Tade, 2017).

Asimismo, se ha determinado que el factor más limitante al momento de realizar cultivos tanto cerrados como abiertos es la cantidad de energía entregada por el sistema de iluminación (Brindley, Jiménez-Ruíz, Ación, & Fernández-Sevilla, 2016; Naderi et al., 2017; Wágner, Valverde-Pérez, & Plósz, 2018), por lo tanto, desarrollar un adecuado entendimiento de este fenómeno permite elaborar mejores sistemas de mezclado y sistemas de alimentación de sustratos.

Debido a lo antes mencionado es que, en esta sección se analizará como los diversos modelos de irradiancia utilizados para entender el comportamiento de la luz (Li et al., 2010; Naderi, Tade, & Znad, 2015; Perner-Nochta & Posten, 2007; Pilon, Berberoğlu, & Kandilian, 2011; Rosello Sastre, Csögör, Perner-Nochta, Fleck-Schneider, & Posten, 2007; Dongda Zhang et al., 2016) explican los datos experimentales tomados en un fotobiorreactor de tubos concéntricos de iluminación interna. Sin embargo, estos modelos se estudiarán en conjunto con el crecimiento de la microalga, para así entender de manera más completa el proceso de oscurecimiento de los fotobiorreactores.

3.2. Modelación de la irradiancia en fotobiorreactores

En los fotobiorreactores la modelación de la luz en su interior ha sido toda una temática de investigación que ha llevado al desarrollo de muchas teorías y la aplicación de múltiples métodos numéricos para intentar resolver los fenómenos que ocurren con la luz (Figuras 3-1 – 3-2).

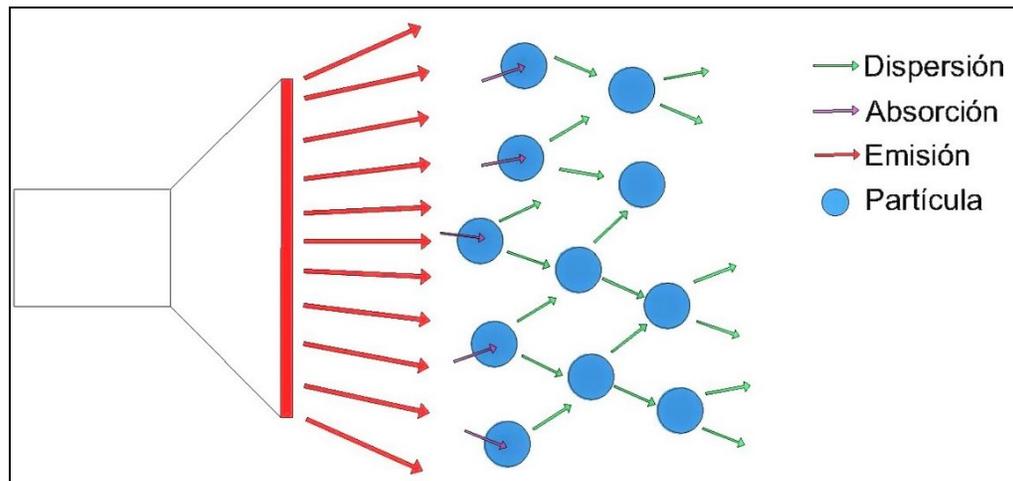


Figura 3-1. Fenómenos asociados a la luz (Elaboración propia)

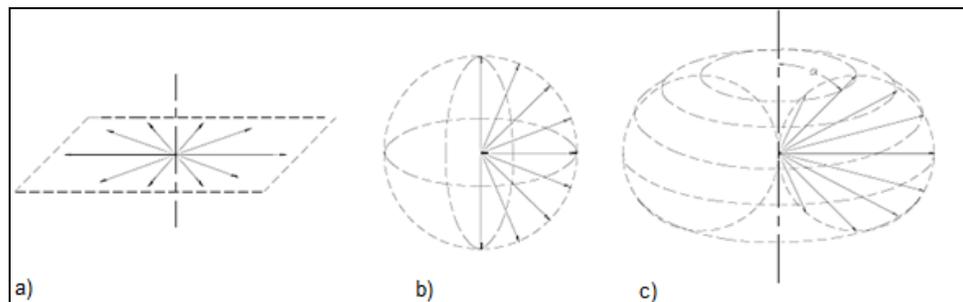


Figura 3-2. Formas de emisión de la luz desde una lámpara: (a) emisión radial; (b) emisión esférica; (c) emisión difusa (Fullana-i-Palmer, Puig-Vidal, Celma, &

Vilaseca, 2009)

Sin embargo, con los años los modelos que han prevalecido en el tiempo son los siguiente:

- Ley de Beer-Lambert
- Aproximación de dos flux
- Ecuación de transferencia radiativa (RTE)

Estas tres metodologías están mencionadas desde el nivel más bajo de complejidad hasta el más alto. Este aumento en la complejidad viene dado por los supuestos y fenómenos considerados.

3.2.1. Ley de Beer-Lambert (BL)

Si nos referimos a la modelación de la irradiancia al interior de un fotobiorreactor la ley de Beer-Lambert ha sido la preferida por muchos investigadores para explicar cómo interactúa la luz con su entorno debido a su fácil resolución y a su alto nivel de concordancia con datos experimentales (E. Lee, Jalalizadeh, & Zhang, 2015; Naderi et al., 2017; Dongda Zhang et al., 2016).

Esta ley considera que una fuente de luz monocromática se transfiere en una sola dirección transversal a dicho foco (emisión radial, ver Figura 3-2a). Y esta energía transferida sólo se ve afectada por el fenómeno de absorción del microorganismo, es decir, se desprecian los fenómenos de dispersión de la luz (Cornet, Dussap, &

Dubertret, 1992; Mosorov, 2017; Wágner et al., 2018; D. Zhang et al., 2015), tal como se muestra en la ecuación (3-1)

$$\frac{dI_{\lambda}}{dr} = -\kappa_{\lambda} \cdot X \cdot I_{\lambda} \quad (3-1a)$$

$$I_{\lambda}(r) = I_0 \cdot \exp(-\kappa_{\lambda} \cdot X \cdot r) \quad (3-1b)$$

Donde I_{λ} corresponde a la irradiancia de una longitud de onda λ medida en términos de W/m^2 . r corresponde al camino recorrido por la luz de manera lineal (m). κ_{λ} representa la absorción realizada por un microorganismo en específico de una cierta longitud de onda λ , ya que se asume que la intensidad se convertirá en energía interna de la materia a lo largo de la línea de visión del rayo sin ser redirigida a otras direcciones debido a la dispersión, es decir, no hay dispersión (Howell, Siegel, & Mengüç, 2010); y este parámetro tiene unidades de $m^2 \cdot g^{-1}$. Y el término X corresponde a la concentración del microorganismo utilizado en el cultivo ($g \cdot m^{-3}$). Sin embargo, a pesar de su simplicidad, ha permitido entender el fenómeno de radiación en un rango bastante amplio de concentraciones de biomasa con un máximo de densidad celular igual 2 g/L (Molina Grima, Acién Fernández, García Camacho, & Chisti, 1999; Pruvost, Legrand, Legentilhomme, & Muller-Feuga, 2002).

Es importante notar que el supuesto de que la luz se desplaza en forma lineal es posible cumplirlo en la realidad haciendo uso ya sea de fotobiorreactores abiertos como en fotobiorreactores cerrados de placas planas, en ambos casos existe una cara plana perpendicular a la fuente de luz forzando que la luz de transfiera

mayoritariamente de manera lineal. Pero, esta ecuación no es muy aplicable en fotobiorreactores cerrados tubulares en donde la superficie que se enfrenta al cultivo no es una superficie plana.

Además de lo antes mencionado, la ecuación (3-1) asume que el término de radiación no varía con respecto al tiempo, es decir que existe un estado estacionario. Sin embargo, como la biomasa crece en el tiempo, la irradiancia también varía en el tiempo, por lo tanto, la ecuación (3-1) depende del tiempo de manera implícita.

3.2.2. Aproximación de dos flux (TFA)

Subiendo en nivel de complejidad se presenta el modelo de aproximación de dos flux; fue propuesto por Schuster en el año 1905 y aplicado por primera vez a un fotobiorreactor por Cornet, Dussap y Dubertret (1992). En este modelo, al igual que la ley de Beer-Lambert, se asume una fuente de luz monocromática que emite de manera radial (ver Figura 3-2a), pero además dicha luz presenta las siguientes características: (1) el campo de luz que se desarrolla al interior del reactor es isotrópico y (2) los fenómenos de absorción y dispersión están presentes, donde este último es realizado por la partícula en suspensión (microalga) (Cornet et al., 1992; Cornet, Dussap, & Gros, 1994).

Tal como se puede suponer la dispersión puede ser en todas las direcciones, es por ello que se realiza una aproximación de la cantidad de flujos que se dispersan por la partícula que van desde dos hasta ocho flujos, lográndose obtener una solución numérica para cada una de ellas (Cornet et al., 1994). Sin embargo, tras análisis

comparativos se logró determinar que la aproximación de dos flujos es suficientemente precisa para obtener el perfil de radiación (Cornet et al., 1994).

Esta aproximación de dos flujos considera que la dispersión ocurre en dos direcciones opuestas entre sí y paralela a la dirección de emisión (ver Figura 3-3).

En la Figura 3-3. se puede apreciar que en la dirección de emisión z se realiza un pequeño volumen de control sobre el cual se realiza un balance diferencial en las dos direcciones, obteniéndose las ecuaciones (3-2) y (3-3).

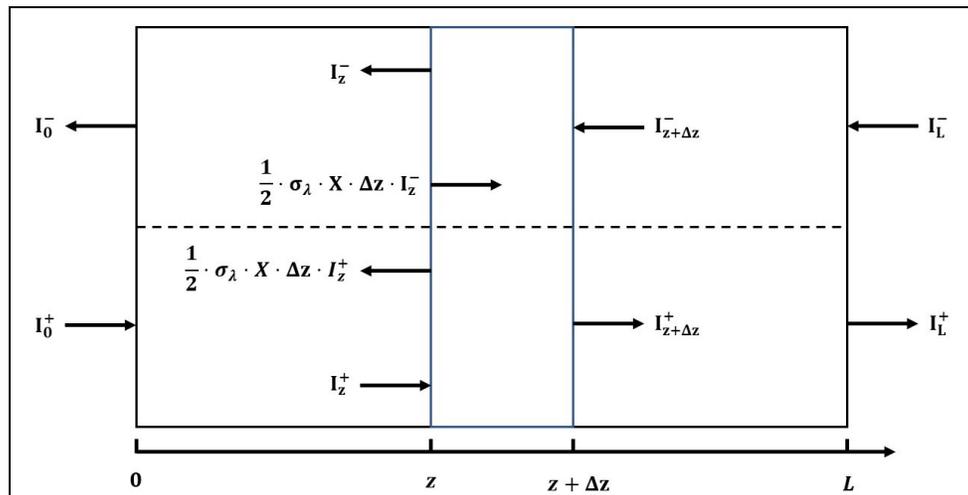


Figura 3-3. Balance global de radiación realizado por la aproximación de dos flux
(Cornet et al., 1992).

$$I^+|_{z,\lambda} - I^+|_{z+\Delta z,\lambda} + \frac{1}{2} \cdot \sigma_\lambda \cdot X \cdot \Delta z \cdot I^-|_{z,\lambda} = \kappa_\lambda \cdot X \cdot \Delta z \cdot I^+|_{z,\lambda} + \frac{1}{2} \cdot \sigma_\lambda \cdot X \cdot \Delta z \cdot I^+|_{z,\lambda} \quad (3-2)$$

$$I^-|_{z+\Delta z, \lambda} - I^-|_{z, \lambda} + \frac{1}{2} \cdot \sigma_\lambda \cdot X \cdot \Delta z \cdot I^+|_{z, \lambda} = \kappa_\lambda \cdot X \cdot \Delta z \cdot I^-|_{z, \lambda} + \frac{1}{2} \cdot \sigma_\lambda \cdot X \cdot \Delta z \cdot I^-|_{z, \lambda} \quad (3-3)$$

Donde los términos $I_{z, \lambda}^+$ y $I_{z, \lambda}^-$ corresponden a la irradiancia de la longitud de onda λ en la dirección positiva y negativa al eje z , respectivamente (W/m^2). El término σ_λ corresponde al término de dispersión generada por la partícula en suspensión con respecto a la longitud de onda λ (m^2/g). Con respecto a la dispersión es posible determinar que el coeficiente $\frac{1}{2}$ responde a la consideración de que la dispersión ocurre de manera equitativa tanto hacia delante como hacia atrás.

De las ecuaciones (3-2) y (3-3) dividiendo por Δz y tendiendo dicho término a cero, es posible obtener las siguientes ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dI_z^+}{dz} = -\kappa_\lambda \cdot X \cdot I_z^+ + \frac{1}{2} \cdot \sigma_\lambda \cdot X \cdot (I_z^- - I_z^+) \quad (3-4)$$

$$\frac{dI_z^-}{dz} = \kappa_\lambda \cdot X \cdot I_z^- + \frac{1}{2} \cdot \sigma_\lambda \cdot X \cdot (I_z^- - I_z^+) \quad (3-5)$$

El sistema de ecuaciones diferenciales presentado en las ecuaciones (3-4) y (3-5) es posible resolverlas entregando adecuadas condiciones de borde. Por ejemplo, si el reactor se encuentra iluminado por uno solo lado ($z = 0$) y en el otro lado ($z = L$) esta oscurecido con un material que absorbe la luz es posible decir que las condiciones de borde son:

$$z = 0 \quad I_z^+ = I_0 \quad (3-6)$$

$$z = L \quad I_z^- = 0 \quad (3-7)$$

Con las ecuaciones (3-4) - (3-7) es posible obtener el flux de radiación total (I_λ) realizando la suma vectorial de la irradiancia positiva y negativa:

$$I_\lambda = I_\lambda^+ - I_\lambda^- \quad (3-8)$$

Al igual que en con la ley de Beer-Lambert esta ecuación también varía en el tiempo debido a que la biomasa cambia en el tiempo.

Finalmente, es importante destacar que de las ecuaciones (3-4) - (3-8) es posible recuperar la ley de Beer-Lambert haciendo que el término de dispersión sea igual a cero, y que, al igual que la ley de Beer-Lambert posee la limitación de que es difícil incluir la geometría del reactor en las ecuaciones y por tanto, son válidas para recipientes, en general, planos (Cornet et al., 1994; Cornet, Dussap, Gros, Binois, & Lasseur, 1995). Sin embargo, existen algunas adaptaciones para aplicarlas en otras geometrías, por ejemplo, un toroide (Pottier et al., 2005).

3.2.3. Ecuación de Transferencia Radiativa (RTE)

En el nivel más alto de dificultad se encuentra la Ecuación de Transferencia Radiativa (RTE, por su sigla en inglés) que corresponde a la ecuación generalizada de transferencia de calor por radiación, que cuenta con la capacidad de considerar la geometría del problema e incorporar de manera adecuada los fenómenos de dispersión, es especial la dispersión que ingresa al sistema.

La RTE ha sido muy útil tanto en el mundo de la física, química e ingeniería, pero fue tan solo hace algunos años cuando se empezó a implementar en los fotobiorreactores debido a su alto costos computacionales (Pareek, Chong, Tadó, & Adesina, 2008).

Si bien esta ecuación en muy pocos textos esta explicada de manera detallada se sabe que es una simplificación de la ecuación de transferencia de Boltzmann (desarrollada por Ludwig Boltzmann en 1872) y se hace posible debido a que los fotones no interactúan entre sí, pero si interactúan de manera lineal con el medio por el cual se propaga (Dauchet, Cornet, Gros, Roudet, & Dussap, 2016).

La RTE corresponde a una ecuación integro-diferencial, donde la parte diferencial presenta la distribución espacial y temporal de la radiación y la parte integral representa la irradiancia que se recibe en un solo punto en particular debido a la dispersión ocurrida alrededor de ella. Dicha ecuación es la presentada en la ecuación (3-9) (Menguc & Viskanta, 1985; Pareek et al., 2008; Selçuk & Ayrancı, 2003)

$$\frac{1}{c} \cdot \frac{\partial I_\lambda}{\partial t} + \mu \cdot \frac{\partial I_\lambda}{\partial x} + \eta \cdot \frac{\partial I_\lambda}{\partial y} + \xi \cdot \frac{\partial I_\lambda}{\partial z} = -\kappa_\lambda \cdot X \cdot I_\lambda - \sigma_\lambda \cdot X \cdot I_\lambda + \frac{\sigma_\lambda \cdot X}{4\pi} \int_{4\pi} \Phi(\Omega', \Omega) \cdot I_\lambda(s, \Omega') d\Omega' \quad (3-9)$$

Donde el término $\Phi(\Omega', \Omega)$ corresponde a una función de fase que determina como la radiación es dispersada por la partícula en suspensión y/o medio. El término c corresponde a la constante de la velocidad de la luz en el vacío (m/s). Y los términos μ , η y ξ son las direcciones coseno del ángulo sólido para las coordenadas x, y, z respectivamente, donde:

$$\mu = \cos \theta \quad \eta = \sin \theta \cdot \sin \phi \quad \xi = \sin \theta \cdot \cos \phi \quad (3-10)$$

Recordando que los ángulos θ y ϕ son el ángulo polar y azimutal del ángulo sólido, respectivamente, tal como se ve en la Figura 3-4

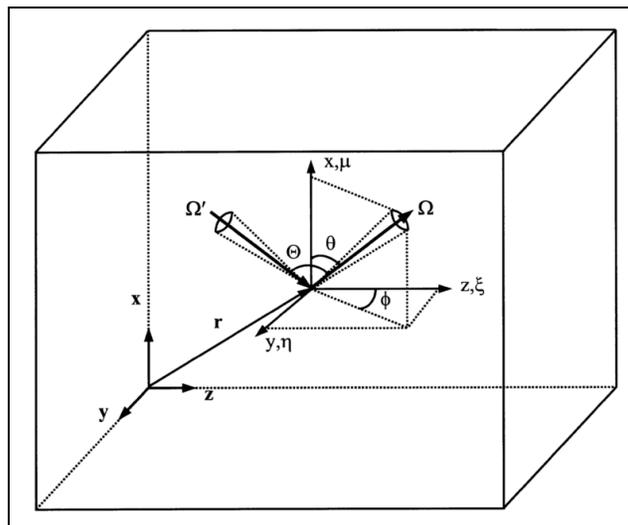


Figura 3-4. Sistema de coordenadas utilizado en un recinto rectangular (Selçuk & Ayrancı, 2003)

De la ecuación (3-9) tenemos que los términos del lado izquierdo representan la distribución temporal y espacial, respectivamente. Y en el lado derecho están, en orden, los términos de absorción, dispersión hacia fuera de la partícula y hacia adentro de la partícula de la longitud de onda λ realizado por la microalga.

Dentro de las ventajas más importantes de la RTE es que es posible incorporar la geometría del problema. Como en este caso se va a modelar la irradiancia al interior de un fotobiorreactor de radiación interna (Figura 3-5), es importante adaptar la ecuación (3-9) a coordenadas cilíndricas

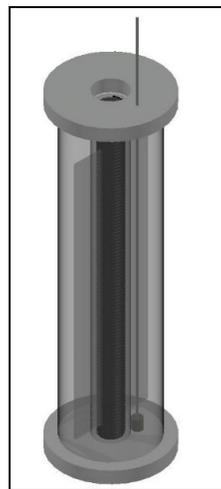


Figura 3-5. Esquema tridimensional del fotobiorreactor utilizado en el estudio
(Elaboración propia)

En los recintos cilíndricos se tiene que distinguir dos sistemas de coordenadas, en primer lugar, se tiene el sistema de coordenadas cilíndricas que rige de manera general el sistema (Figura 3-6) (Ben Salah, Askri, Slimi, & Ben Nasrallah, 2004; Menguc & Viskanta, 1986) y el sistema de coordenadas que gobierna el ángulo sólido (Figura 3-7)

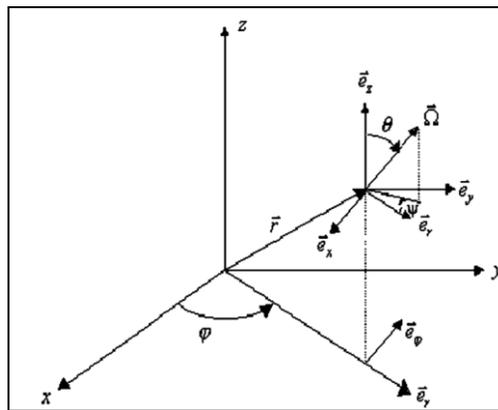


Figura 3-6. Sistemas de coordenadas cilíndricas (Ben Salah et al., 2004)

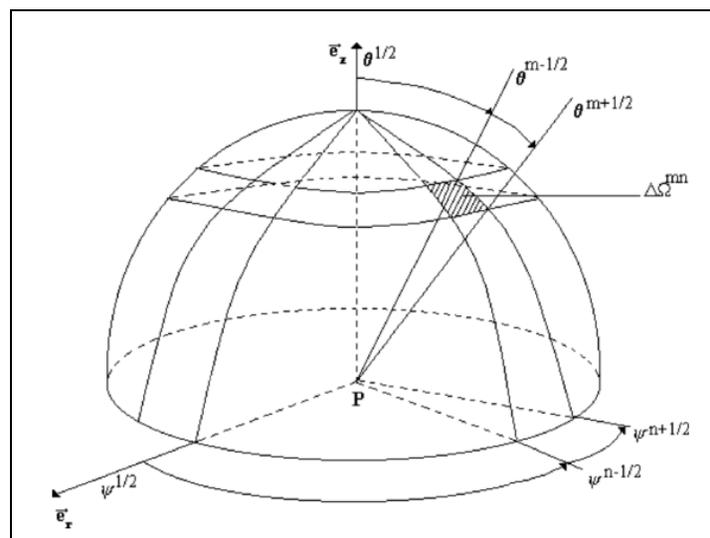


Figura 3-7. Volumen de control del ángulo sólido (Ben Salah et al., 2004)

Con dicha configuración la RTE se expresa de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} \frac{1}{c} \cdot \frac{\partial I_\lambda}{\partial t} + \frac{1}{r} \cdot \frac{\partial}{\partial r} (r \cdot \mu \cdot I_\lambda)|_{(\phi, z, \theta, \psi)} - \frac{1}{r} \cdot \frac{\partial}{\partial \psi} (\eta \cdot I_\lambda)|_{(r, \phi, z, \theta)} + \frac{\partial}{\partial z} (\xi \cdot I_\lambda)|_{(r, \phi, \theta, \psi)} \\ = -\kappa_\lambda \cdot X \cdot I_\lambda - \sigma_\lambda \cdot X \cdot I_\lambda + \frac{\sigma_\lambda \cdot X}{4\pi} \int_{4\pi} \Phi(\Omega', \Omega) \cdot I_\lambda(s, \Omega') d\Omega' \end{aligned} \quad (3-11)$$

Al igual que en el caso de la configuración en recinto rectangular, los términos μ , η y ξ son las direcciones coseno del ángulo sólido:

$$\mu = \sin \theta \cdot \cos \psi \quad \eta = \sin \theta \cdot \sin \psi \quad \xi = \cos \theta \quad (3-12)$$

Si bien de la ecuación (3-11) es posible obtener una solución exacta del comportamiento del reactor presentado en la Figura 1.5, en este caso en particular se asumirá que el transporte radiativo es simétrico en la dirección ψ , por lo tanto, el término de variación en esa dirección es despreciable. Adicionalmente, como la velocidad de la luz es un parámetro mucho más grande que el resto de los términos de la ecuación (aproximadamente siete ordenes de magnitud mayor), comúnmente se asume que la variación temporal es despreciable (Cornet et al., 1994, 1995), obteniendo la ecuación (3-13)

$$\begin{aligned} \frac{1}{r} \cdot \frac{\partial}{\partial r} (r \cdot \mu \cdot I_\lambda)|_{(\phi, z, \theta, \psi)} + \frac{\partial}{\partial z} (\xi \cdot I_\lambda)|_{(r, \phi, \theta, \psi)} \\ = -\kappa_\lambda \cdot X \cdot I_\lambda - \sigma_\lambda \cdot X \cdot I_\lambda + \frac{\sigma_\lambda \cdot X}{4\pi} \int_{4\pi} \Phi(\Omega', \Omega) \cdot I_\lambda(s, \Omega') d\Omega' \end{aligned} \quad (3-13)$$

Es importante destacar que de la ecuación (3-13) es posible recuperar las ecuaciones de Beer-Lambert y la aproximación de dos flux.

En el caso de la ley de Beer-Lambert es posible obtenerla asumiendo que la dispersión realizada por el cultivo es despreciable en comparación con el término de absorción y que el foco de luz es uniforme e infinito en la dirección z , por lo tanto, no existe variación en dicha dirección.

Y para el caso de la aproximación de dos flux se puede derivar de la ecuación (3-13) considerando que la dispersión ocurre en un medio isotrópico, es decir, $\Phi(\Omega', \Omega) = 1$ y que esa ocurre en solo dos direcciones opuestas entre sí y paralelas al eje r .

3.2.3.1. Función de fase: Significado y aproximación numérica

Ahondando más en la RTE, es posible visualizar el término de función de fase, $\Phi(\Omega', \Omega)$, que es una función que expresa como ocurre el término de dispersión hacia adentro del sistema.

Este término es posible determinarlo de manera empírica tal como se muestra en la publicación de Kandilian y colaboradores (2017). Pero de manera alternativa se han desarrollado de diferentes maneras con tal de poder resolver de manera numérica la ecuación de radiación.

La primera aproximación es presentada por Fiveland (1984), que propone que la función de fase se puede descomponer en un término constante y un término variable a que depende exclusivamente del tipo de dispersión que presenta el medio, distinguiéndose los casos donde existe 100% dispersión *forward* ($a = 1$), 100% dispersión *backward* ($a = -1$) y el caso base de dispersión isotrópica ($a = 0$). Esta aproximación es la siguiente:

$$\Phi(\Omega', \Omega) = 1 + a \cdot \cos \Theta \quad (3-14a)$$

$$-1 \leq a \leq 1 \quad (3-14b)$$

La segunda aproximación propone que la función de fase se puede representar como unas series de polinomios de Legendre (P_n) (Fiveland, 1988), que se expresa como sigue:

$$\Phi(\Omega', \Omega) = \sum_{n=0}^N (2n + 1) a_n P_n(\cos \Theta) \quad (3-15)$$

Donde a_n es el coeficiente de una serie de Legendre. Y en ambas ecuaciones tenemos que el término Θ representa el ángulo entre la intensidad entrante y la saliente del sistema.

La tercera expresión corresponde a la realizada por Henyey y Greenstein (1941) de manera empírica que tiene la siguiente forma:

$$\int_{4\pi} \Phi(\Omega', \Omega) d\Omega' = 2\pi \int_{-1}^1 \Phi(t) dt = 1 \quad (3-16a)$$

$$\Phi(\Omega', \Omega) = \Phi_{Hg}(t) = \frac{1 - g^2}{4\pi \cdot (1 + g^2 - 2 \cdot g \cdot t)^{3/2}} \quad t := \hat{\omega} \cdot \omega \in [-1, 1] \quad (3-16b)$$

$$-1 < g < 1 \quad (3-16c)$$

Donde el término g al igual que en la ecuación (3-14) determina el tipo de dispersión realizada por el sistema, siendo dispersión isotrópica cuando el término g es igual a cero, dispersión *forward* con $g > 0$ y dispersión *backward* con $g < 0$ (Han, Long, Cong, Intes, & Wang, 2017; Henyey & Greenstein, 1941).

Estas tres aproximaciones, en el caso de tejidos biológicos y organismos fotosintetizadores (microalgas) se deben aplicar considerando una dispersión fuertemente hacia delante (*forward scattering*) debido al tamaño de las células comparadas con la longitud de onda (Han et al., 2017; Kandilian, Lee, & Pilon, 2013; Pilon & Kandilian, 2016), resultado siempre una dispersión de Mie (Lock & Gouesbet, 2009; Mishchenko, 2009).

En el caso particular de este estudio se utilizó la función de Henyey-Greenstein con un valor elevado de g , es decir, por sobre 0.8 (Han et al., 2017; Kandilian et al., 2013; Pilon & Kandilian, 2016).

3.3. Modelos de crecimiento de microalgas

En conjunto con el modelo de distribución de la intensidad de luz es necesario disponer de un modelo que permita relacionar como la irradiancia afecta en el

crecimiento de las microalgas e incorporarlo en la ecuación (3-17) (Dongda Zhang, Dechatiwongse, del Rio-Chanona, et al., 2015).

$$\frac{dX}{dt} = \mu \cdot X - \mu_d \cdot X^2 \quad (3-17)$$

Donde X es la concentración de la biomasa de la microalga (g/m^3). μ es la tasa específica de crecimiento de la microalga en cuestión ($día^{-1}$). μ_d corresponde a la tasa específica de muerte a las condiciones ambientales presentes ($m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}$)

Para ello, es necesario saber que para microalgas existen tres categorías de modelos que permiten estimar la tasa específica de crecimiento de la microalga (μ) (Darvehei et al., 2018; E. Lee et al., 2015). Estas categorías son las siguientes:

- Modelos de crecimiento en función a un único sustrato
- Modelos de crecimiento en función de la irradiancia
- Modelos de crecimiento de múltiples factores

En el caso particular de este trabajo se tratarán dos modelos de crecimiento en función de la irradiancia debido a que se simula el fotobiorreactor con exceso de sustratos, es decir, su único factor limitante es la iluminación.

De los modelos en esta categoría se analizarán los modelos clásicos de crecimiento de microalga de Aiba y de Steele (Darvehei et al., 2018; E. Lee et al., 2015; Steele, 1962) ya que muchos modelos modernos propuestos por García-Malea et al. (2006), Camacho Rubio et al. (2003), Fouchard et al. (2009), García-Camacho et al. (2012), entre otros, corresponde a modificaciones de estos dos modelos. Además, los modelos

de Aiba y Steele presentan la ventaja de poseer una menor cantidad de parámetros a estimar.

3.3.1. Modelo de Aiba

Este modelo es propuesto por Aiba en 1982 como una modificación de la primera ecuación que relacionaba el crecimiento de una microalga con la irradiancia, la ecuación de Tamiya et al. (Darvehei et al., 2018; E. Lee et al., 2015). La ecuación de Tamiya et al. corresponde a un símil de la ecuación de Monod clásica de crecimiento celular dependiente de un sustrato, pero aplicado a irradiancia y que se enuncia de la siguiente manera:

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I}{K_I + I} \quad (3-18)$$

Donde μ y μ_{max} corresponden a la tasa específica de crecimiento ($día^{-1}$) y la tasa máxima de crecimiento específico ($día^{-1}$), respectivamente. El término I corresponde a la irradiancia media al interior de biorreactor ($W \cdot m^{-2}$). Por último, el término K_I corresponde a un parámetro de ajuste de fotosaturación ($W \cdot m^{-2}$).

A partir de la ecuación (3-18) y la modificación a la ecuación de Monod propuesta por Andrews (1968), Aiba propone la ecuación (3-19).

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I}{K_I + I + \frac{I^2}{K_{i,L}}} \quad (3-19)$$

En esta ecuación, aparece un término de ajuste adicional que considera la fotoinhibición de las microalgas, $K_{i,L}$ ($W \cdot m^{-2}$), factor importante ya que, cuando se ilumina las microalgas con una tasa de irradiancia por sobre la necesaria se genera un daño en las células provocando una disminución en su tasa de crecimiento.

Este modelo ha sido útil a lo largo de los años para explicar el comportamiento de microalgas de agua dulce y salada como son *Isochrysis galbana* (Molina Grima, Fernández Sevilla, Sánchez Pérez, & García Camacho, 1996), *Spirulina platensis* (H. Y. Lee, Erickson, & Yang, 1987), *Cyanothece sp.* (D. Zhang et al., 2015; Dongda Zhang, Dechatiwongse, & Hellgardt, 2015), entre otras (Dongda Zhang et al., 2016), pero no ha sido tan utilizada para explicar el crecimiento de *D. tertiolecta* (Dongda Zhang, Dechatiwongse, del Rio-Chanona, et al., 2015)

3.3.2. Modelo de Steele

Por otro lado, el modelo de Steele, propuesto en el año 1962, fue el primer modelo en incorporar la fotoinhibición de los microorganismos fotosintéticos. Este efecto se presenta en la ecuación (3-20).

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I}{I_{opt}} e^{\left(1 - \frac{I}{I_{opt}}\right)} \quad (3-20)$$

Donde el término I_{opt} representa la irradiancia óptima de crecimiento que permite que μ sea igual a μ_{max} y se mide en $W \cdot m^{-2}$.

La ecuación (3-20) al igual que la ecuación (3-19) ha sido usada para explicar el comportamiento de diferentes microalgas, con mucho éxito en explicar el efecto de la fotoinhibición (Bello, Ranganathan, & Brennan, 2017; Ranganathan, Amal, Savithri, & Haridas, 2017; Wágner et al., 2018). Sin embargo, el mismo autor (Steele) reporta altas desviación de modelo en cultivos poco profundos, por lo tanto, no se recomienda su utilización en este tipo de cultivos (Steele, 1962).

3.4. Método de resolución aplicado

Con los modelos planteados en las secciones anteriores se hace necesario discutir el método matemático de resolución de las ecuaciones diferenciales presentadas y su forma de implementación en el *software* MATLAB® R2018b instalando en una *laptop* de la marca ASUS modelo Swift 3 con procesador Intel Core i7 de 7^{ma} generación y 8 GB de memoria RAM.

3.4.1. Método de resolución de la RTE

Para el caso de las EDP se utilizará un método de diferencias finitas (FDM, por su sigla en inglés) que consiste en discretizar el espacio utilizando series de Taylor (Schiesser & Griffiths, 2009). Sin embargo, como la iluminación es desde el interior del reactor, la discretización espacial en el eje r y z resulta en lo presentado en la Figura 3-8 y ecuaciones (3-23) y (3.24)

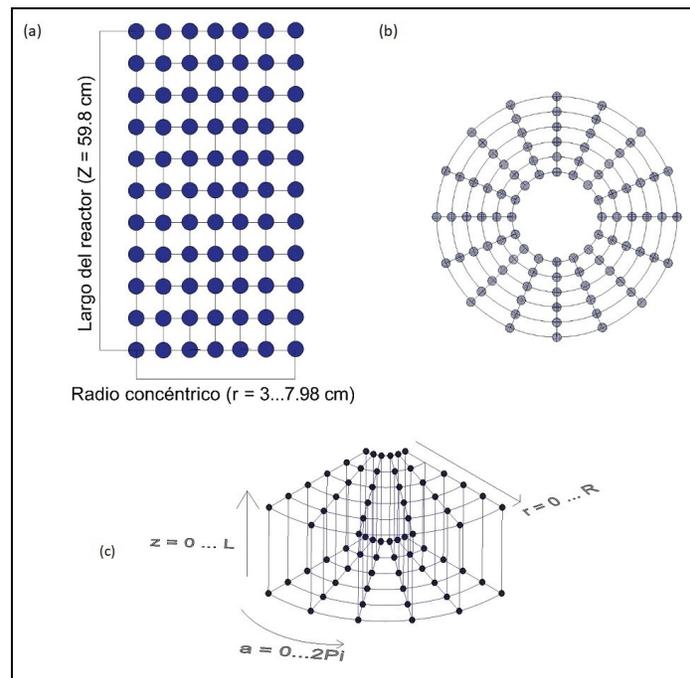


Figura 3-8. Diagrama esquemático de la discretización del espacio realizada en el volumen de control trabajado: (a) discretización en el eje r y eje z , (b) discretización en el eje r y eje θ , (c) discretización en una pequeña “rebanada” del reactor en 3D

(Elaboración propia)

$$\Delta r = \frac{R_{ext} - R_{int}}{n} \quad (3-23)$$

$$\Delta z = \frac{L}{m} \quad (3-24)$$

Donde Δr y Δz corresponde a discretización de la dimensión r y z (m), respectivamente. Los términos L , R_{ext} y R_{int} corresponden a los parámetros del fotobiorreactor simulado de altura (m), radio del tubo concéntrico mayor (m) y radio de tubo concéntrico menor (m), respectivamente. El parámetro n representa la cantidad de elemento diferenciales en el cual se divide el eje r (*dimensional*).

Finalmente, y de manera similar al parámetro anterior, m es la cantidad de elementos que se utilizó para discretizar el eje z (*adimensional*). De esta manera se obtiene la ecuación (3-25).

$$\begin{aligned} \frac{\mu}{r(i)} \cdot \frac{\partial}{\partial r} (r(i) \cdot I_\lambda) + \xi \frac{\partial}{\partial z} (I_\lambda) \\ = -\kappa_\lambda \cdot X \cdot I_\lambda - \sigma_\lambda \cdot X \cdot I_\lambda + \frac{\sigma_\lambda \cdot X}{4\pi} \sum_{m=1}^M \Phi_m(\Omega'_m, \Omega_m) \cdot I_{\lambda_m} d\Omega'_m \end{aligned} \quad (3-25)$$

3.4.2. Algoritmos de búsqueda global

Todas las soluciones de los métodos planteados se utilizan con el objetivo final de ajustar, de manera global, los modelos teóricos con datos experimentales obtenidos en un fotobiorreactor tubular de iluminación interna (ver Figura 3-5) que operó durante un periodo de 31 días, cultivando la microalga *D. tertiolecta*.

Como se desear encontrar el vector de soluciones global del problema propuesto se utilizarán algoritmos de búsqueda global metaheurísticos, en concreto cuatro algoritmos, con el fin de asegurar la robustez del vector de solución global.

Para todos los algoritmos se utilizará como solución objetivo la siguiente función de costo:

$$\begin{aligned} \min(F_{obj}) = \min \left(\sum_{k=1}^{31} \left(\frac{I_{teorico,k} - I_{experimental,k}}{I_{experimental,k}} \right)^2 \right. \\ \left. + \sum_{p=1}^{31} \left(\frac{X_{teorico,k} - X_{experimental,k}}{X_{experimental,k}} \right)^2 \right) \end{aligned} \quad (3-27)$$

Donde $I_{teorico,k}$ y $I_{experimental,k}$ corresponden al valor de irradiancia en el día k tanto en el modelo teórico como el modelo experimental. De manera similar, $X_{teorico,k}$ y $X_{experimental,k}$ son los valores de biomasa en el día k de los datos teóricos y datos experimentales. Esta función objetivo tiene como máximo 6 parámetros a estimar ($\kappa_\lambda, \sigma_\lambda, \mu_{max}, K_I, K_{i,L}, \mu_d$)

3.4.2.1. Búsqueda dispersa (*Scatter Search*)

Dentro de los algoritmos clásicos de optimización se encuentra el método de búsqueda dispersa o *Scatter Search* (SS), que fue propuesto por Glover en el año 1977 como una heurística para la programación entera. En la propuesta original, las soluciones se generan a propósito (es decir, de forma no aleatoria) para tener en cuenta las características en varias partes del espacio de la solución (Laguna & Martí, 2006; Martí, Laguna, & Glover, 2006; Resende, Ribeiro, Glover, & Martí, 2010).

Este método de búsqueda es evolutivo debido a que, a partir de un conjunto de soluciones, llamado conjunto de referencia, se generan las nuevas soluciones hasta llegar a una solución óptima. Este algoritmo de búsqueda consta de 5 procesos (Laguna & Martí, 2006):

- Generación/diversificación: genera un conjunto de soluciones de prueba.
- Mejora: utiliza las soluciones de prueba para generar mejores soluciones usando algoritmos de optimización local.

- Actualización: construye y mantiene un pequeño conjunto de referencia (*RefSet*) con las mejores y más diversas soluciones.
- Generación de subconjuntos: a partir del conjunto de referencia genera varios subconjuntos de soluciones.
- Combinación de soluciones: utiliza los subconjuntos de soluciones para crear soluciones combinadas.

De manera recursiva ocurren estos procesos obteniéndose un diagrama de flujos como se muestra en la Figura 3-9.

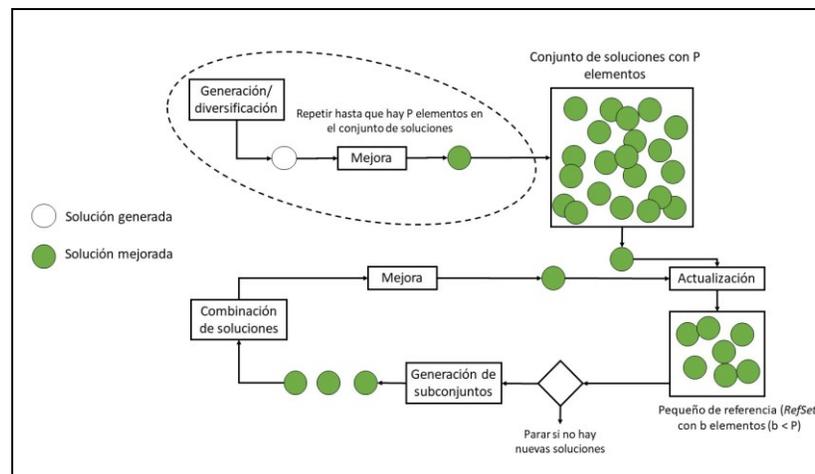


Figura 3-9. Diagrama de flujo del algoritmo de optimización global *Scatter Search*

(Resende et al., 2010)

3.4.2.2. *Variable Neighborhood Search (VNS)*

El algoritmo de Búsqueda de Entorno Variable o *Variable Neighborhood Search* (VNS, por su sigla en inglés) es una metaheurística para resolver problemas de

optimización global y de combinatoria (Hansen & Mladenović, 2001; Hansen, Mladenović, & Moreno Pérez, 2010).

La idea básica es ir cambiando en forma sistemática la vecindad al momento de realizar la búsqueda local (Hansen et al., 2010), basándose en los siguientes principios:

- Un mínimo local con respecto a una vecindad no es necesariamente para otra vecindad.
- Un mínimo global es un mínimo local con respecto a todas las vecindades posibles.
- En muchos problemas el mínimo local con respecto a una o varias vecindades están relativamente cerca.

La última observación es empírica e implica que un mínimo local muchas veces da información acerca del óptimo global. En base a estos tres principios se desarrollan tres estrategias para recorrer todas las vecindades (Hansen et al., 2010; Qiu, Wang, Xu, Fang, & Pardalos, 2018):

- *Variable Neighborhood Descent* (VND): consiste en un método determinístico donde la idea es buscar sistemáticamente en todas las vecindades hasta llegar a un mínimo local para cada una de ellas.
- *Reduced Variable Neighborhood Search* (RVNS): es un método estocástico que se basa en buscar el mínimo realizando saltos aleatorios dentro de cada una de las vecindades. Este algoritmo detiene su búsqueda en cada vecindad cuando se cumple en número máximo de repeticiones.

- *Variable Neighborhood Search* básico (VNS): el método básico de VNS consiste en combinar las dos estrategias anteriores, es decir, la idea es seleccionar un punto aleatorio en cierta vecindad y luego aplicarle a ese punto búsqueda local. Como en los casos anteriores, si se encuentra una mejor solución, se reemplaza la solución actual. Este tipo de búsqueda se esquematiza en la Figura 3-10.

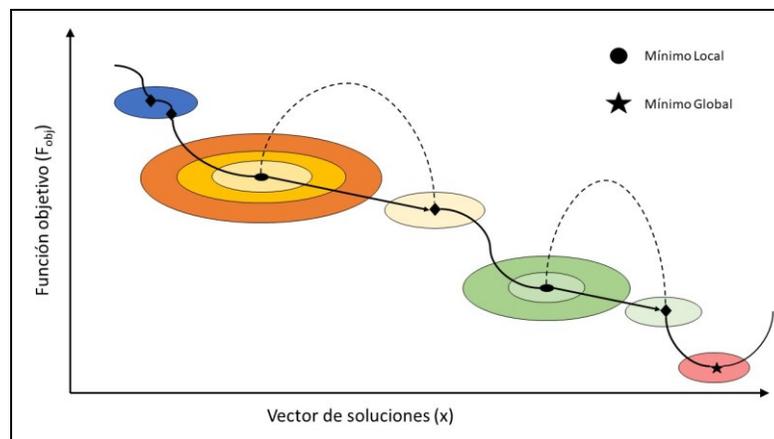


Figura 3-10. Esquema del funcionamiento básico del algoritmo VNS (Hansen et al., 2010)

3.4.2.3. Algoritmo de luciérnaga (FA)

El algoritmo de Luciérnaga (FA, por su sigla en inglés) es un método de optimización global metaheurístico inspirado en la naturaleza que fue desarrollado por Yang en 2007 (Fister, Yang, & Brest, 2013; X. Yang, 2010). Este algoritmo se basa en el comportamiento que tienen las luciérnagas ante los destellos que ellas

mismas emiten, para ello, este algoritmo tiene las siguientes reglas (Ellis & Petridis, 2010):

- Todas las luciérnagas modeladas son *unisex*, por lo que una luciérnaga se sentirá atraída por otras luciérnagas sin importar su sexo.
- El atractivo es proporcional a su brillo, por lo tanto, para cualquiera de las dos luciérnagas destellantes, la menos brillante se moverá hacia la más brillante.
- El atractivo es proporcional al brillo y ambos disminuyen a medida que aumenta su distancia. Si no hay una más brillante que una luciérnaga en particular, se moverá aleatoriamente.
- El brillo de una luciérnaga se ve afectado o determinado por la función objetivo.

Siguiendo dichas reglas es posible obtener el diagrama de flujo de FA (Figura 3-11)

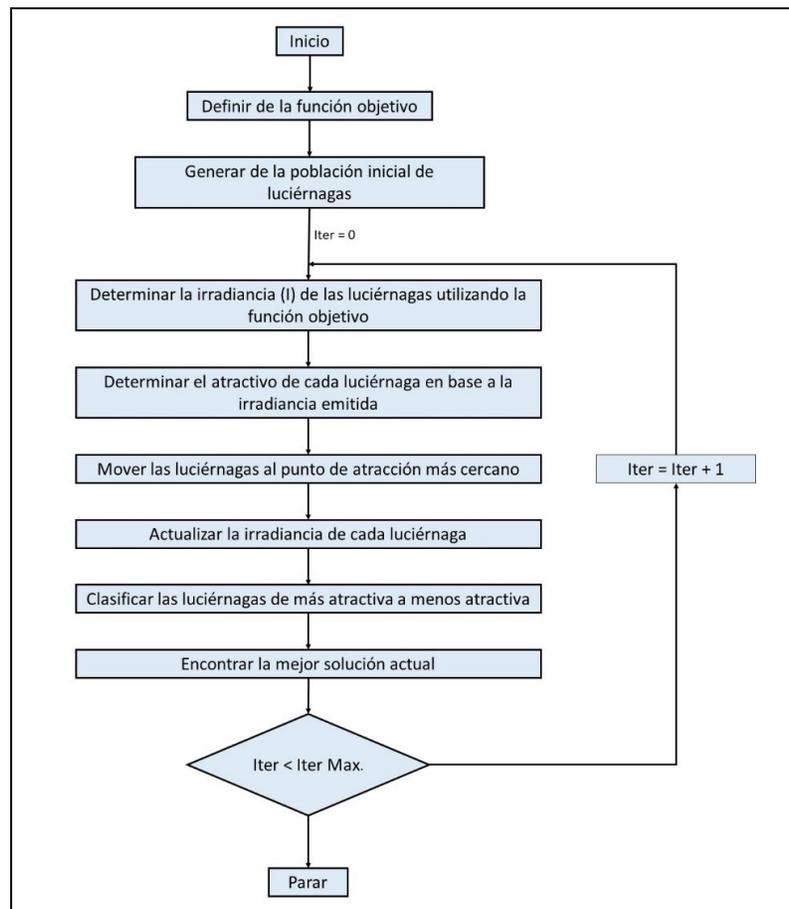


Figura 3-11. Diagrama de flujo del algoritmo de luciérnaga (FA) (Koyee, Schmauder, Heisel, & Eisseler, 2015)

Es importante destacar que se ha demostrado que el algoritmo de luciérnaga converge de mejor manera y más rápido que la optimización por enjambre de partículas (PSO, por su sigla en inglés), (optimizador clásico basado en la naturaleza), sobre todo en problemas de optimización difíciles (*hardest optimization problems*) (Fister et al., 2013; X. Yang, 2010).

3.4.2.4. Búsqueda de cuco (CS)

La búsqueda de cuco (CS, por su sigla en inglés), al igual que FA, es un método metaheurístico inspirado en la naturaleza (Joshi, Kulkarni, Kakandikar, & Nandedkar, 2017). Este algoritmo, se basa en la estrategia reproductiva de los cucos (Figura 3-12) que consiste en el parasitismo que hacen estas aves, que obligan a otras aves a empollar sus huevos.

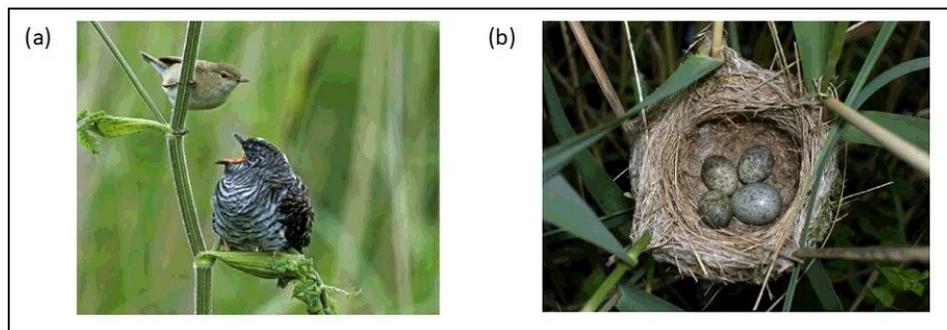


Figura 3-12. Imágenes del ave cuco: (a) Un carnicero común (ave pequeña) cuidando a una cría de cuco (ave grande), (b) Huevo de cuco mimetizado en un nido de carnicero común (Sampath Aruna Pradeep, Ma, & Jiang, 2016)

Utilizando esta lógica parasitaria, CS consiste en encontrar el nido que permite la mayor sobrevivencia de los huevos de cucos, para ello, se considera que la hembra de cuco que coloca el huevo se desplaza considerando el vuelo de Lévy (Joshi et al., 2017; Mareli & Twala, 2018). Con ello, el algoritmo se basa en tres reglas:

- Cada cuco pone un huevo a la vez y lo descarga en un nido elegido al azar.

- Los mejores nidos (soluciones) se trasladarán a las próximas generaciones.
- El número de nidos disponibles es fijo, y el *host* puede descubrir un huevo extraño con probabilidad $P_a \in [0,1]$. En el caso de descubrir el huevo parásito, el ave huésped puede tirar el huevo o abandonar el nido para construir un nido completamente nuevo en una nueva ubicación.

Con ello, el algoritmo se puede diagrama de la siguiente manera:

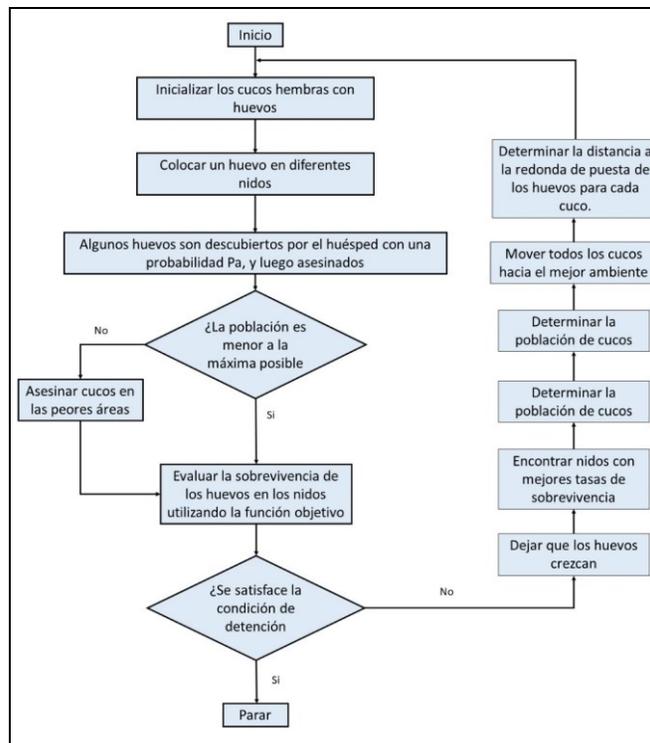


Figura 3-13. Diagrama de flujo del algoritmo de búsqueda de cuco (Shehab, Khader, & Al-Betar, 2017)

Los cuatro algoritmos de optimización presentan la ventaja de estar completamente implementado en el mismo *software* que se utiliza para resolver las ecuaciones de

irradiancia y de biomasa, donde los dos primeros se encuentran disponibles en el código abierto conocido como MEIGO (Egea et al., 2014), el algoritmo de luciérnaga se encuentra implementado por su creador (X. Yang, 2010) y la búsqueda de cuco también es implementado por su creador (X.-S. Yang, 2010).

3.5. Resultados y discusión

3.5.1. Fotobiorreactor azul con *D. tertiolecta*

Para *D. tertiolecta* utilizando los diferentes modelos de crecimiento de biomasa y de irradiancia se obtienen las Tablas 31 – 3-6, donde se muestra que los modelos de Beer-Lambert y RTE propuestos son bastantes precisos para obtener los parámetros de absorción (κ_λ), crecimiento específico máximo de la biomasa (μ_{max}), fotosaturación (K_I) e irradiancia óptima de crecimiento (I_{opt}).

Sin embargo, el modelo de aproximación de dos flux, estima de manera incorrecta el coeficiente de absorción (κ_λ) y de dispersión (σ_λ) observándose que σ_λ estimado podría ser la suma de estos dos coeficientes. Esta situación tiene sentido ya que en el caso de las microalgas la dispersión ocurre fuertemente hacia delante, por lo que el supuesto más fuerte del modelo de aproximación de dos flux no se cumple (dispersión isotrópica) (Lock & Gouesbet, 2009; Mishchenko, 2009).

Con los parámetros obtenidos se construyen las Figuras 3-14 – 3-16. Observándose que tanto el modelo de Aiba como el de Steele es capaz de seguir la tendencia de la biomasa tal como se presenta en la Figura 3-16. En particular en la Figura 3-14 y 3-15 es posible apreciar que siempre la aproximación de dos flux estima que el crecimiento

de la biomasa es menor al observado, este factor se debe que al estimar que la dispersión es isotrópica se obtiene que la irradiancia es mejor a la real y por tanto la biomasa limita su crecimiento.

De la Figura 3-16 se obtiene que es indiferente utilizar ya sea la ley de Beer-Lambert o bien RTE, sin embargo, al utilizar Beer-Lambert se pierde el efecto de la dispersión que para el caso de intensidad del color azul es bastante bajo este coeficiente y, por tanto, es posible despreciarlo. Es decir, al obtener un valor pequeño de dispersión (σ_λ) es posible asumir que *D. tertiolecta* aprovecha de buena manera la luz de color azul, dispersando una cantidad pequeña de energía.

Tabla 3-1. Parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y ley de Beer Lambert en el fotobiorreactor de iluminación azul

Parámetro calculado	SS	VNS	FA	CS
F_{obj}	0.912	0.909	0.973	0.910
Tiempo de calculo	19.18 s	1 min 27.16 s	39.36 s	2 min 29.49 s
$\kappa_\lambda(m^2 \cdot g^{-1})$	0.345	0.345	0.339	0.345
$\sigma_\lambda(m^2 \cdot g^{-1})$	–	–	–	–
$K_I(W \cdot m^{-2})$	0.179	0.152	0.357	0.157
$K_{i,L}(W \cdot m^{-2})$	1.000	5.999	5.920	5.000
$\mu_{max}(día^{-1})$	0.245	0.212	0.424	0.219
$\mu_d(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	–	–	–	–

Tabla 3-2. Parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor de iluminación azul

Parámetro calculado	SS	VNS	FA	CS
F_{obj}	0.902	0.885	0.903	0.886
Tiempo de calculo	57.78 s	8 min 45.18 s	3 min 2.31 s	16 min 53.85 s
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.132	$1.982 \cdot 10^{-6}$	0.000	0.000
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.380	0.548	0.541	0.548
$K_I(W \cdot m^{-2})$	0.446	0.202	0.742	0.205
$K_{i,L}(W \cdot m^{-2})$	0.150	49.936	0.078	10.000
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0.530	0.251	0.843	0.255
$\mu_d(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	–	–	–	–

Tabla 3-3. Parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y RTE en el fotobiorreactor de iluminación azul

Parámetro calculado	SS	VNS	FA	CS
F_{obj}	0.910	0.909	0.942	0.909
Tiempo de calculo	32.05 s	2 min 17.31 s	1 min 11.95 s	4 min 8.17 s
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.345	0.345	0.343	0.345
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.123	0.099	0.449	$3.668 \cdot 10^{-7}$
$K_I(W \cdot m^{-2})$	0.158	0.153	3.746	0.155
$K_{i,L}(W \cdot m^{-2})$	4.205	46.043	0.009	10.000
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0.219	0.213	4.393	0.215
$\mu_d(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	–	–	–	–

Tabla 3-4. Parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor de iluminación azul

Parámetro calculado	SS	VNS	FA	CS
F_{obj}	0.917	0.916	0.917	0.917
Tiempo de calculo	23.45 s	54.33 s	37.08 s	2 min 30.92 s
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.345	0.345	0.345	0.345
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	–	–	–	–
$I_{opt}(W \cdot m^{-2})$	0.229	0.229	0.229	0.229
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0.112	0.112	0.112	0.112
$\mu_d(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	–	–	–	–

Tabla 3-5. Parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor de iluminación azul

Parámetro calculado	SS	VNS	FA	CS
F_{obj}	0.892	0.892	0.989	0.892
Tiempo de calculo	51.08 s	10 min 44.36 s	3 min 43.99 s	16 min 0.74 s
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.039	$3.671 \cdot 10^{-6}$	0.164	0.000
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.501	0.548	0.322	0.548
$I_{opt}(W \cdot m^{-2})$	0.284	0.289	0.696	0.1289
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0.126	0.127	0.275	0.127
$\mu_d(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	–	–	–	–

Tabla 3-6. Parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y RTE en el fotobiorreactor de iluminación azul

Parámetro calculado	SS	VNS	FA	CS
F_{obj}	0.917	0.916	1.029	0.917
Tiempo de calculo	23.57 s	1 min 43.28 s	58.30 s	4 min 17.27 s
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.344	0.345	0.337	0.345
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	3.349	0.007	0.517	$1.504 \cdot 10^{-7}$
$I_{opt}(W \cdot m^{-2})$	0.229	0.229	0.634	0.229
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0.112	0.112	0.261	0.112
$\mu_d(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	–	–	–	–

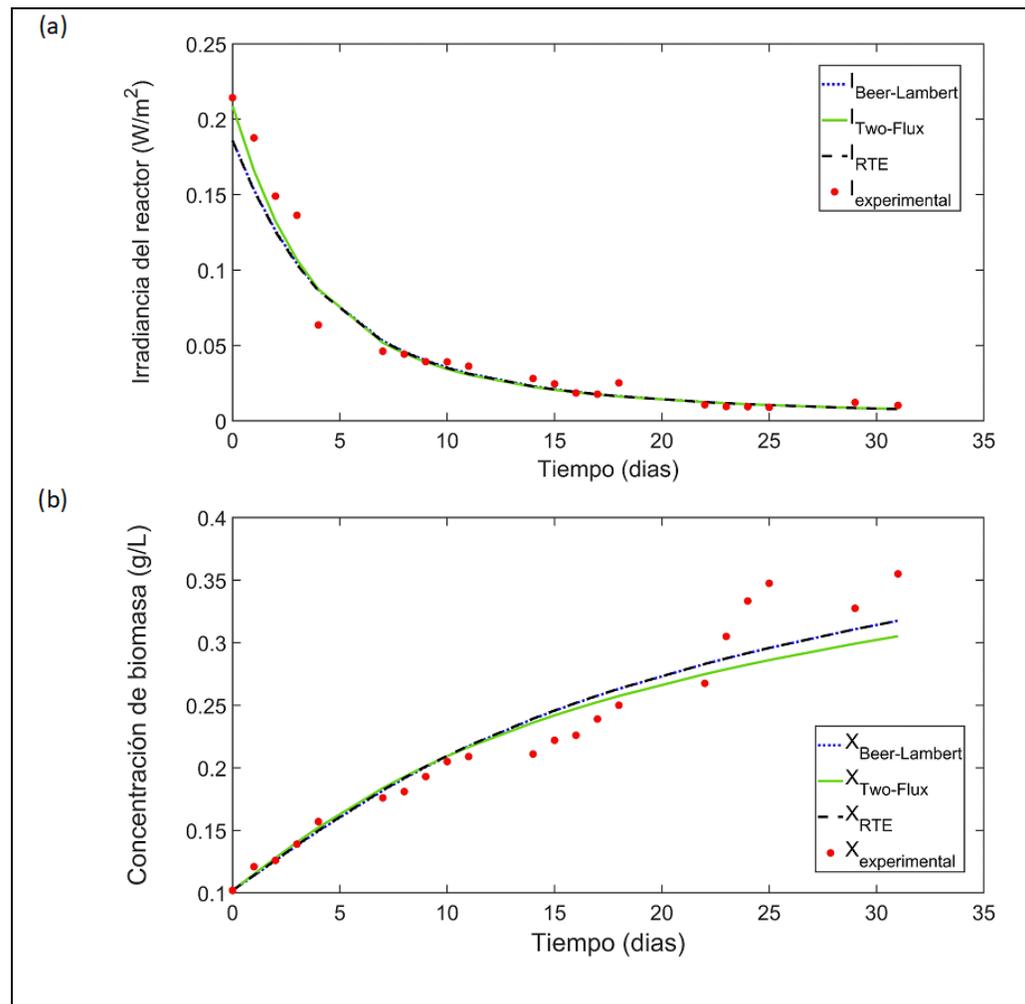


Figura 3-14. Comparación de la variación temporal del parámetro medido con el modelo realizado en el fotobiorreactor de color azul utilizando el modelo de Aiba: (a) variación temporal de la irradiancia, (b) variación temporal de la biomasa

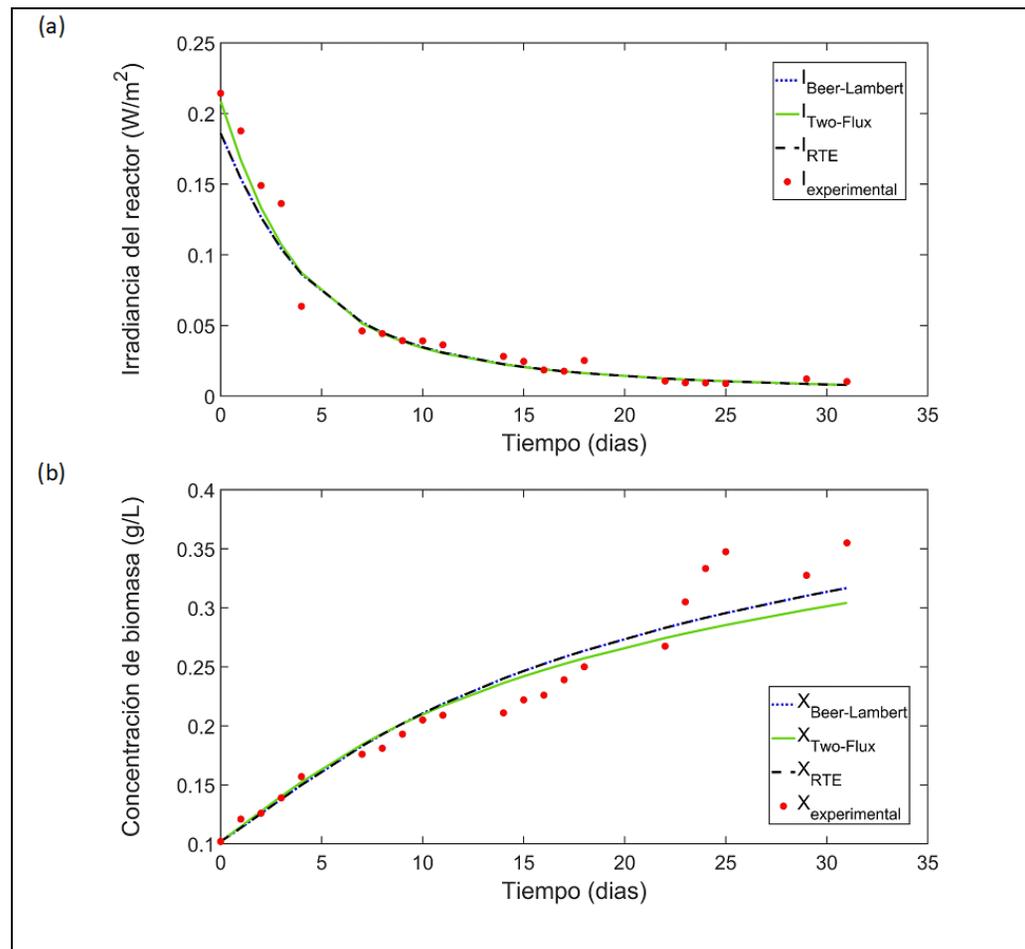


Figura 3-15. Comparación de la variación temporal del parámetro medido con el modelo realizado en el fotobiorreactor de color azul utilizando el modelo de Steele:
 (a) variación temporal de la irradiancia, (b) variación temporal de la biomasa

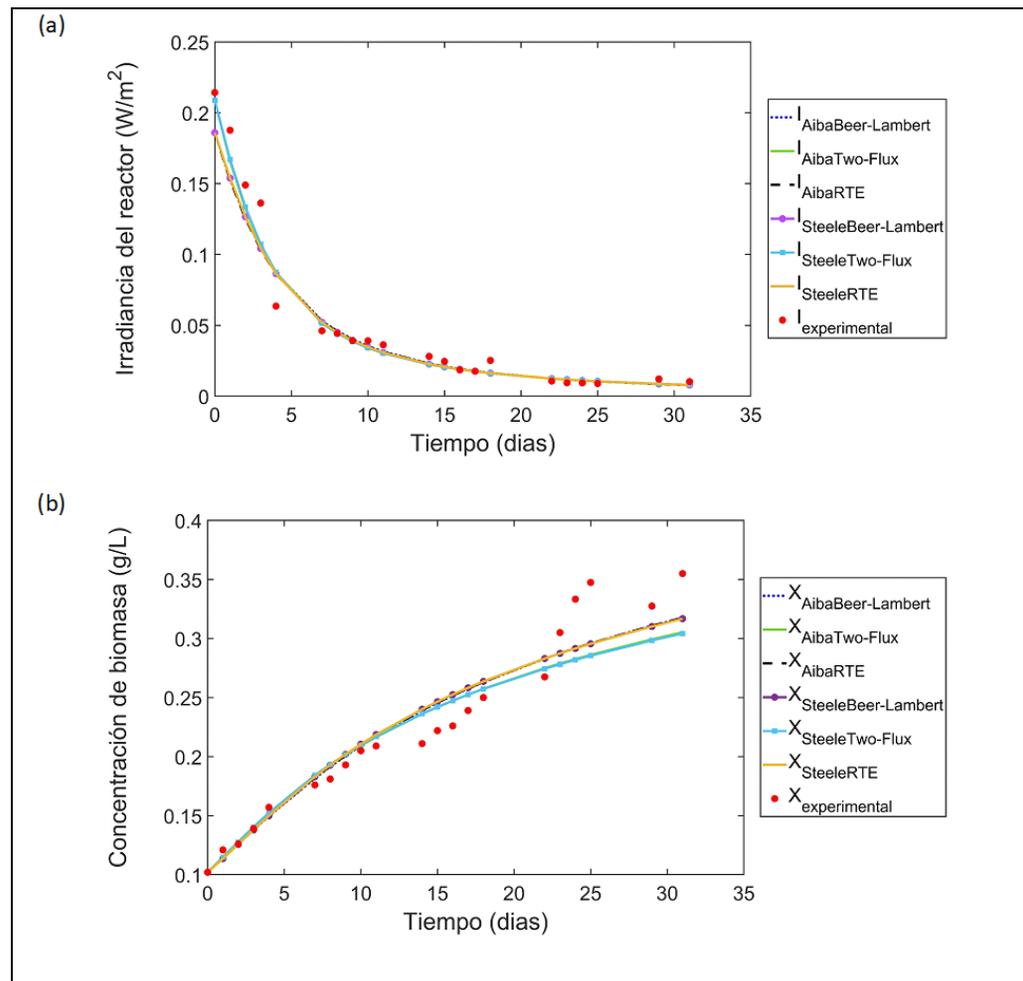


Figura 3-16. Variación temporal en el fotobiorreactor azul donde se presentan las 6 combinaciones de modelos posibles: (a) variación temporal de la irradiancia, (b) variación temporal de la biomasa

En adición a lo presentado en las Figuras 3-14 – 3-16, en las Figuras 3-17 – 3-22 se muestra la variación de la irradiancia espacial de los diferentes modelos con respecto a la biomasa presente en ese instante del tiempo. De las figuras se puede observar que a medida que aumenta la biomasa del reactor este se va oscureciendo tal como ocurre en la realidad. En adición se observa que en promedio se utiliza

ineficientemente un 37.5% del reactor ya que existe una zona del reactor (desde los 6.5 cm de radio en adelante) que, al final de crecimiento de la microalga, no se encuentra irradiado.

Además, cuando se comparan los tres modelos de irradiancia en las figuras se ve que siempre el modelo de aproximación de dos flux estima que la penetración de la irradiancia es mucho mejor que las estimadas por los modelos de Beer-Lambert y RTE. Y si se compara los modelos de Beer-Lambert y RTE, se aprecia que el segundo predice que la luz penetra un poco más en el medio de cultivo aumentando la cantidad de microalga sometida a la luz en un pequeño porcentaje. Debido a lo anterior se genera que la biomasa estimada utilizando el modelo de RTE es mayor que la estimada realizando el modelo de Beer-Lambert.

También fue posible apreciar que la irradiancia espacial estimada tanto por el modelo de Aiba como por el modelo de Steele es similar en ordenes de magnitud, por lo cual se puede mencionar que en la estimación de la irradiancia y la biomasa en las fases de crecimiento y estacionaria de la biomasa es prácticamente indiferente utilizar un modelo u el otro.

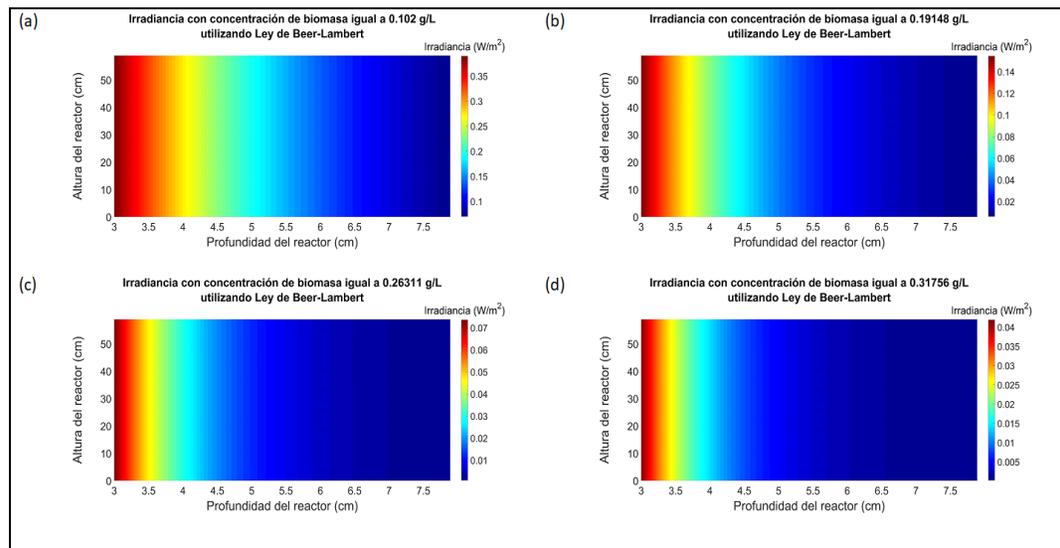


Figura 3-17. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Aiba y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor azul: (a) biomasa igual a 0.102 g/L, (b) biomasa igual a 0.19148 g/L, (c) biomasa igual a 0.26311 g/L, (d) biomasa igual a 0.31756 g/L

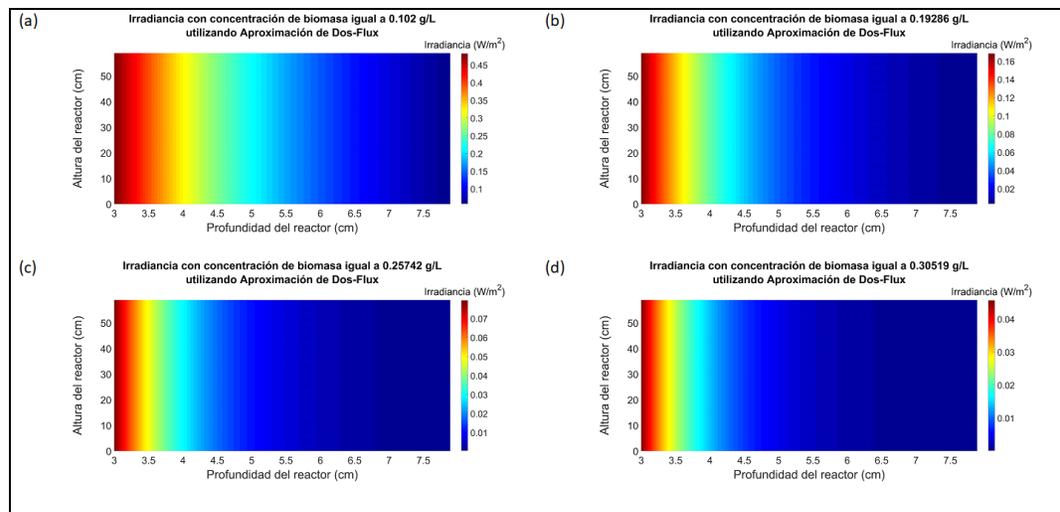


Figura 3-18. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Aiba y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor azul: (a) biomasa igual a 0.102 g/L, (b) biomasa igual a 0.19286 g/L, (c) biomasa igual a 0.25742 g/L, (d) biomasa igual a 0.30519 g/L

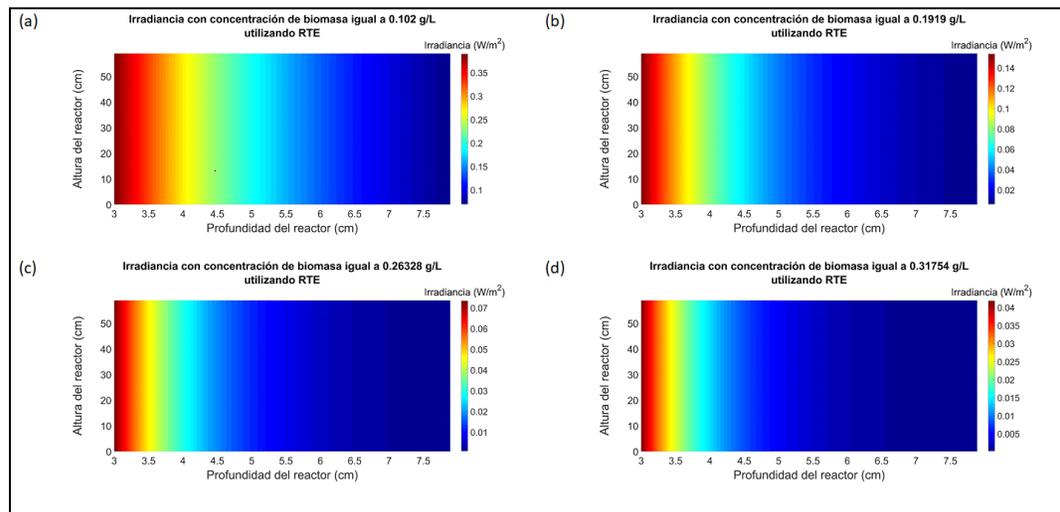


Figura 3-19. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Aiba y RTE en el fotobiorreactor azul: (a) biomasa igual a 0.102 g/L, (b) biomasa igual a 0.1919 g/L, (c) biomasa igual a 0.26328 g/L, (d) biomasa igual a 0.31754 g/L

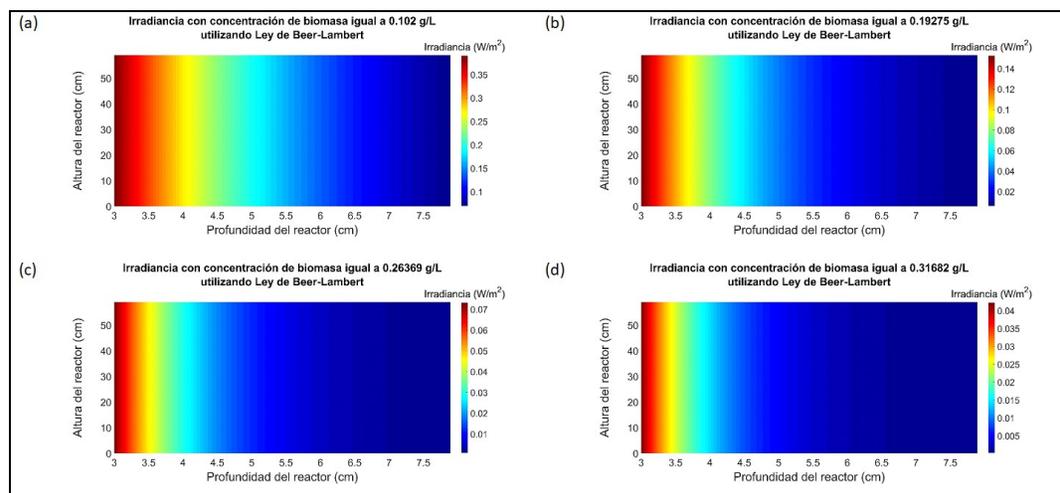


Figura 3-20. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Steele y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor azul: (a) biomasa igual a 0.102 g/L, (b) biomasa igual a 0.19275 g/L, (c) biomasa igual a 0.26369 g/L, (d) biomasa igual a 0.31682 g/L

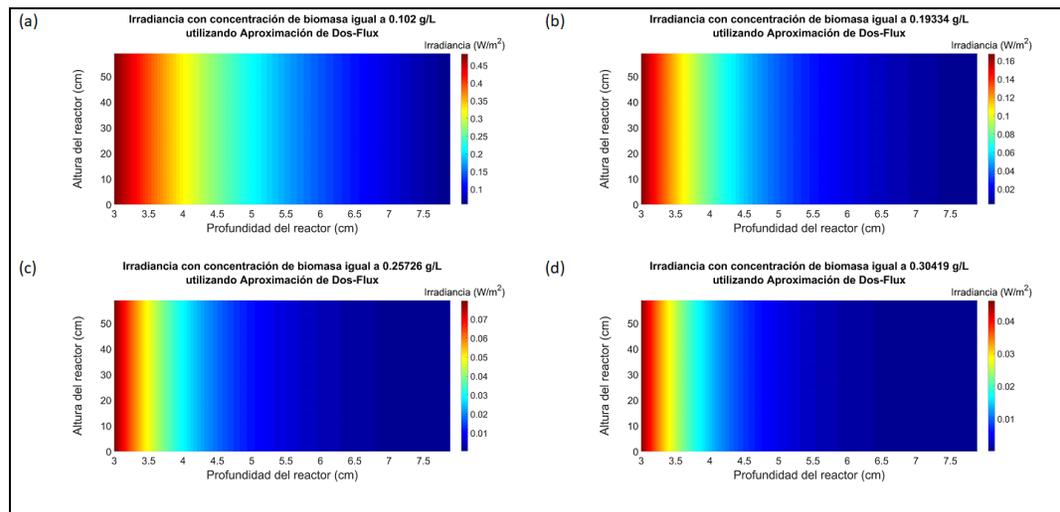


Figura 3-21. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Steele y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor azul: (a) biomasa igual a 0.102 g/L, (b) biomasa igual a 0.19334 g/L, (c) biomasa igual a 0.25726 g/L, (d) biomasa igual a 0.30419 g/L

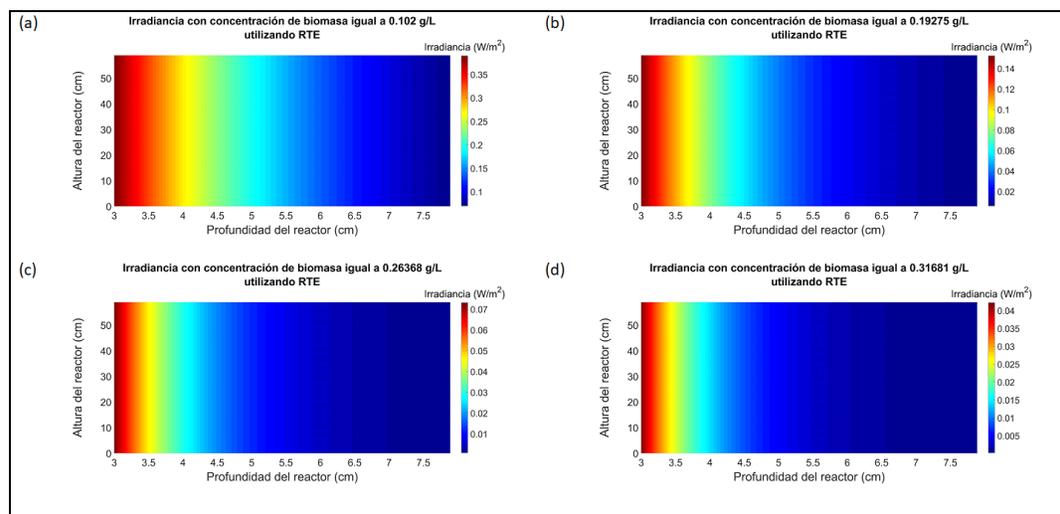


Figura 3-22. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Steele y RTE en el fotobiorreactor azul: (a) biomasa igual a 0.102 g/L, (b) biomasa igual a 0.19275 g/L, (c) biomasa igual a 0.26368 g/L, (d) biomasa igual a 0.31681 g/L

Adicionalmente, con los parámetros estimados se realizaron los cálculos de los intervalos de confianza de estos (Tablas 3-7 – 3-12) (Nadarajah, Bitjukov, & Krasnikov, 2015) y la sensibilidad de los parámetros con respecto a la variación temporal de la biomasa (Figura 3-24). En los intervalos de confianza se muestra que el parámetro de fotoinhibición no fue posible estimarlo utilizando los datos experimentales debido al amplio rango del intervalo de confianza calculado para dicho parámetro. Por lo tanto, al utilizar luces led SMD 5050 de color azul no fue posible alcanzar la fotoinhibición de *D. tertiolecta*.

De la Figura 3-23 se aprecia la razón por la cual las modelaciones de crecimiento de la biomasa de microalgas solo utilizan la ley de Beer-Lambert (Bello et al., 2017; Gao, Kong, & Dennis Vigil, 2017; García-Mañas, Guzmán, Berenguel, & Ación, 2019; Dongda Zhang et al., 2016), ya que tal como se muestra en la Figura 1.24.c y Figura 1.24.f al utilizar solo los datos de la variación de la biomasa es posible estimar solo el coeficiente de absorción (κ_λ), el parámetro de fotosaturación (K_I) y la tasa específica máxima de crecimiento (μ_{max}), pero los otros parámetros es imposible estimarlo solo utilizando los datos experimentales de la biomasa.

Tabla 3-7. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizando el modelo de Aiba y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor de iluminación azul

Parámetro	Valor inferior	Valor estimado	Valor superior
$\kappa_\lambda(m^2 \cdot g^{-1})$	0.319	0.345	0.371
$\sigma_\lambda(m^2 \cdot g^{-1})$	–	–	–
$K_I(W \cdot m^{-2})$	0*	0.152	0.398
$K_{i,L}(W \cdot m^{-2})$	0*	5.999	95.823
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0*	0.212	0.450
$\mu_d(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	–	–	–

* Dicho valor fue igualado a cero debido a la imposibilidad que tomar valores negativos

Tabla 3-8. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor de iluminación azul

Parámetro	Valor inferior	Valor estimado	Valor superior
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0*	$1.982 \cdot 10^{-6}$	0.647
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0*	0.548	1.320
$K_I(W \cdot m^{-2})$	0*	0.202	0.669
$K_{i,L}(W \cdot m^{-2})$	0*	49.936	356.691
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0*	0.251	0.654
$\mu_d(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	—	—	—

* Dicho valor fue igualado a cero debido a la imposibilidad que tomar valores negativos

Tabla 3-9. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y RTE flux en el fotobiorreactor de iluminación azul

Parámetro	Valor inferior	Valor estimado	Valor superior
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.318	0.345	0.372
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0*	0.099	2.111
$K_I(W \cdot m^{-2})$	0*	0.153	0.409
$K_{i,L}(W \cdot m^{-2})$	0*	46.043	622.196
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0*	0.213	0.459
$\mu_d(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	—	—	—

* Dicho valor fue igualado a cero debido a la imposibilidad que tomar valores negativos

Tabla 3-10. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor de iluminación azul

Parámetro	Valor inferior	Valor estimado	Valor superior
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.319	0.345	0.371
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	–	–	–
$I_{opt}(W \cdot m^{-2})$	0*	0.229	0.488
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0.033	0.112	0.1913
$\mu_a(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	–	–	–

* Dicho valor fue igualado a cero debido a la imposibilidad que tomar valores negativos

Tabla 3-11. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor de iluminación azul

Parámetro	Valor inferior	Valor estimado	Valor superior
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0	$3.671 \cdot 10^{-6}$	0.418
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.047	0.548	1.049
$I_{opt}(W \cdot m^{-2})$	0*	0.289	0.713
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0.003	0.127	0.251
$\mu_a(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	–	–	–

* Dicho valor fue igualado a cero debido a la imposibilidad que tomar valores negativos

Tabla 3-12. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y RTE flux en el fotobiorreactor de iluminación azul

Parámetro	Valor inferior	Valor estimado	Valor superior
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.319	0.345	0.371
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	—	0.007	0.848
$I_{opt}(W \cdot m^{-2})$	0*	0.229	0.494
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0.031	0.112	0.193
$\mu_d(m^3 \cdot g^{-1} \cdot dia^{-1}) \cdot 10^3$	—	—	—

* Dicho valor fue igualado a cero debido a la imposibilidad que tomar valores negativos

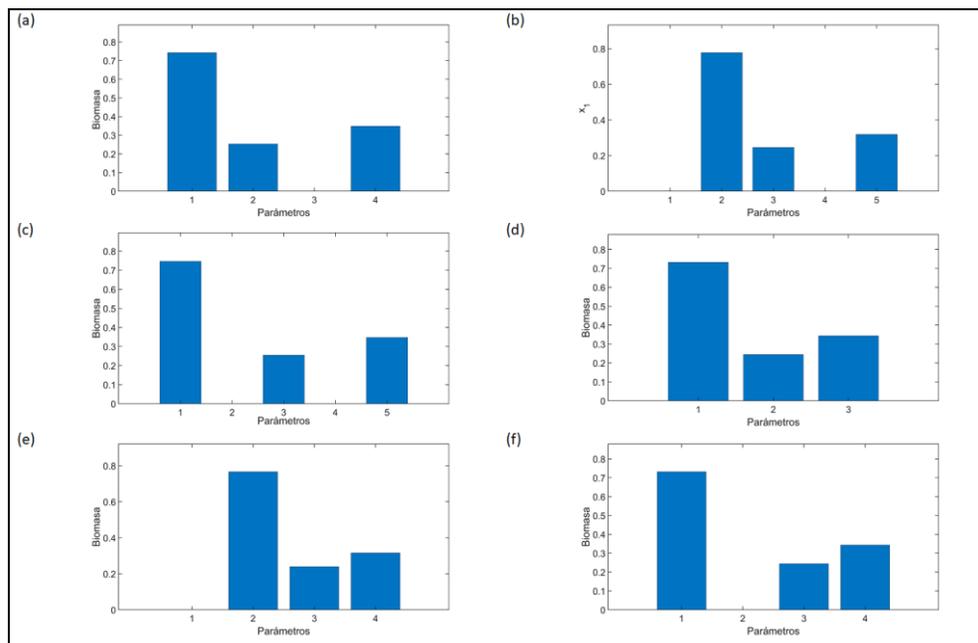


Figura 3-23. Análisis de sensibilidad de los parámetros optimizados con respecto a la biomasa en el fotobiorreactor azul: (a) sensibilidad utilizando modelo de Aiba y ley de Beer-Lambert, (b) sensibilidad utilizando modelo de Aiba y aproximación de dos flux, (c) sensibilidad utilizando modelo de Aiba y RTE, (d) sensibilidad utilizando modelo de Steele y ley de Beer-Lambert, (e) sensibilidad utilizando modelo de Steele y aproximación de dos flux, (f) sensibilidad utilizando modelo de Steele y RTE

3.5.2. Fotobiorreactor rojo con *D. tertiolecta*

Para *D. tertiolecta* iluminada con luces led SMD 5050 de color rojo se estimaron los parámetros del modelo utilizando datos experimentales de 15 días, debido a que durante ese periodo fue posible apreciar un ciclo de crecimiento de la microalga. Estos parámetros estimados para cada uno de los modelos son mostrados en las Tablas 3-13-3-18. De los parámetros estimados, a diferencia de la estimación anterior, si fue posible estimar un valor preciso del coeficiente de dispersión (σ_λ) permitiendo determinar que en el caso de que *D. tertiolecta* se enfrenta a colores que no son favorables en su crecimiento se aprecia que el parámetro de dispersión adquiere un gran peso en la simulación, tal como se aprecia en los resultados utilizando RTE.

Con respecto al coeficiente de dispersión, en las Tablas 3-15 y 3-18 es posible apreciar que su valor es mayor que el coeficiente de absorción (κ_λ) al igual que lo encontrado en otros estudios de la medición de la dispersión en medios biológicos acuosos (Fukutomi, Ishii, & Awazu, 2016; Vadakke-Chanat & Shanmugam, 2017). Dicha diferencia entre ambos parámetros tiene sentido debido a que, en el color rojo, *D. tertiolecta* presenta un valor de crecimiento mucho menor en comparación a la luz azul, por lo cual, se puede concluir que este crecimiento desfavorable se debe que *D. tertiolecta* tiene una facilidad para dispersar dicho color.

También en esta experiencia fue posible estimar el valor de la tasa específica de muerte de la microalga debido a que en los datos experimentales se aprecia una caída de la biomasa en al final de la medición.

Con lo anterior mencionado, al igual que en la sección anterior, con los parámetros estimados se construyeron las Figuras 3-24-3-26 de la variación de la biomasa y la irradiancia al interior del fotobiorreactor tubular. De la Figura 3-26 se muestra que tanto el modelo de Aiba como el de Steele predicen de manera correcta el comportamiento de la biomasa. Sin embargo, al momento de comparar ambos modelos, que utiliza el modelo de Aiba y RTE es más semejante el comportamiento que tuvo el reactor al momento de realizar el experimento.

Tabla 3-13. Parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor de iluminación rojo

Parámetro estimado	SS	VNS	FA	CS
F_{obj}	0.219	0.218	0.221	0.219
Tiempo de calculo	26.91 s	4 min 26.14 s	39.65 s	2 min 5.50s
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.308	0.308	0.308	0.308
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	—	—	—	—
$K_I(W \cdot m^{-2})$	0.065	0.005	0.127	0.049
$K_{i,L}(W \cdot m^{-2})$	0.053	24.757	0.451	0.098
$\mu_{max}(día^{-1})$	0.752	0.333	0.901	0.588
$\mu_d(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	0.999	1.727	0.724	1

Tabla 3-14. Parámetros estimados utilizando el modelo de Aiba y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor de iluminación rojo

Parámetro estimado	SS	VNS	FA	CS
F_{obj}	0.219	0.218	0.224	0.221
Tiempo de calculo	55.83 s	10 min 27.25 s	2 min 56.39 s	14 min 21.43 s
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.308	0.309	0.269	0.307
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.000	$1.446 \cdot 10^{-5}$	0.092	$3.861 \cdot 10^{-4}$
$K_i(W \cdot m^{-2})$	0.062	0.003	0.129	0.319
$K_{i,L}(W \cdot m^{-2})$	0.060	0.083	0.659	0.272
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0.714	0.669	0.872	1.942
$\mu_{\hat{a}}(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	0.997	3.259	0.692	0.672

Tabla 3-15. Parámetros estimados utilizando el modelo de Aiba y RTE en el fotobiorreactor de iluminación rojo

Parámetro estimado	SS	VNS	FA	CS
F_{obj}	0.219	0.218	0.221	0.219
Tiempo de calculo	25.79 s	4 min 8.96 s	1 min 17.60 s	4 min 36.14 s
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.308	0.307	0.307	0.308
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.519	0.779	0.326	0.826
$K_i(W \cdot m^{-2})$	0.161	0.060	0.581	0.000
$K_{i,L}(W \cdot m^{-2})$	0.007	2.203	1.879	10.000
$\mu_{max}(dia^{-1})$	2.569	0.561	3.348	0.361.
$\mu_{\hat{a}}(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	1.374	0.845	0.657	2.377

Tabla 3-16. Parámetros estimados utilizando el modelo de Steele y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor de iluminación rojo

Parámetro estimado	SS	VNS	FA	CS
F_{obj}	0.220	0.218	0.222	0.221
Tiempo de calculo	44.37 s	1 min 20.21 s	1 min 2.60 s	5 min 25.99 s
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.309	0.309	0.308	0.308
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	–	–	–	–
$I_{opt}(W \cdot m^{-2})$	0.072	0.034	1.624	0.379
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0.246	0.249	3.294	0.827
$\mu_d(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	0.857	1.409	0.640	0.662

Tabla 3-17. Parámetros estimados utilizando el modelo de Steele y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor de iluminación rojo

Parámetro estimado	SS	VNS	FA	CS
F_{obj}	0.219	0.218	0.225	0.221
Tiempo de calculo	1 min 28.74 s	12 min 7.68 min	5 min 9.45 s	27 min 48.19 s
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.310	0.308	0.255	0.307
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	$5.004 \cdot 10^{-4}$	$1.360 \cdot 10^{-3}$	0.120	$1.244 \cdot 10^{-3}$
$I_{opt}(W \cdot m^{-2})$	0.037	0.029	0.692	0.346
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0.234	0.277	1.457	0.758
$\mu_d(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	1.263	1.667	0.659	0.662

Tabla 3-18. Parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y RTE en el fotobiorreactor de iluminación rojo

Parámetro estimado	SS	VNS	FA	CS
F_{obj}	0.219	0.218	0.366	0.2211
Tiempo de calculo	48.47 s	3 min 11.29 s	59.28 s	4 min 7.33 s
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.308	0.308	0.332	0.308
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	3.544	4.586	0.581	4.587
$I_{opt}(W \cdot m^{-2})$	0.034	0.035	2.090	0.299
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0.251	0.246	2.394	0.668
$\mu_d(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	1.419	1.369	0.3712	0.670

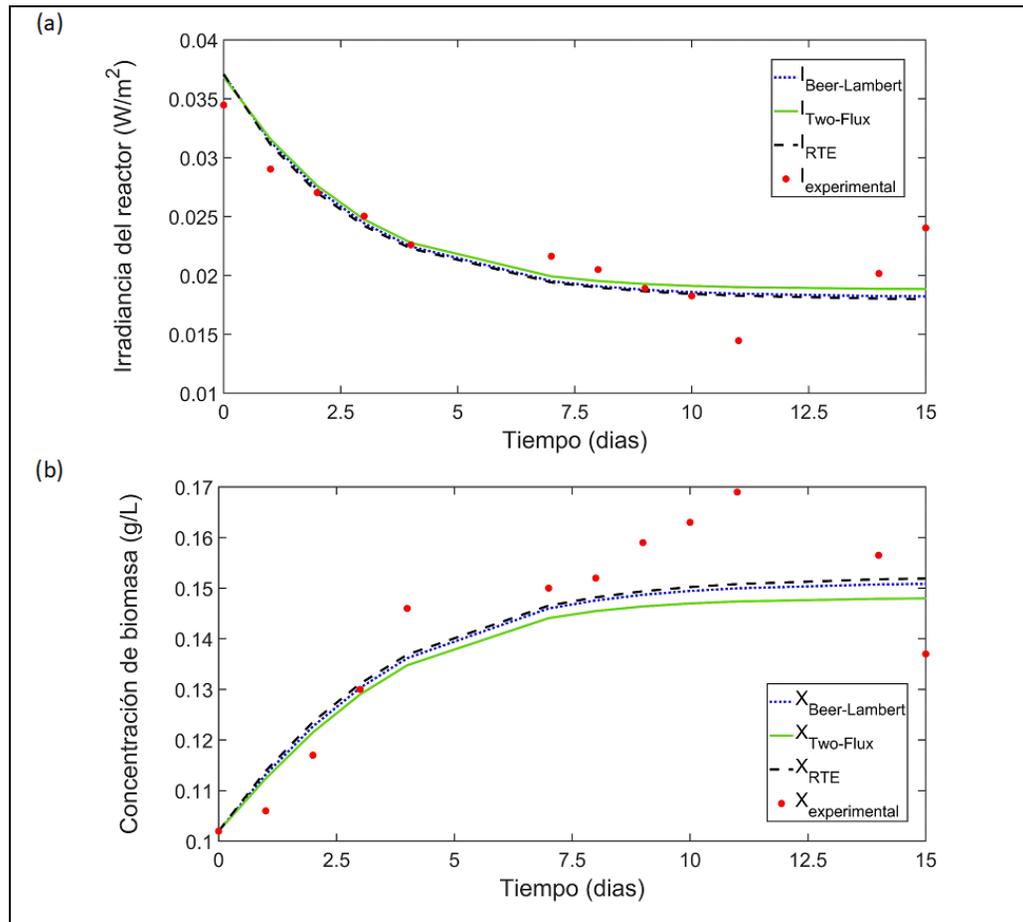


Figura 3-24. Comparación de la variación temporal del parámetro medido con el modelo realizado en el fotobiorreactor de color rojo utilizando el modelo de Aiba: (a) variación temporal de la irradiancia, (b) variación temporal de la biomasa

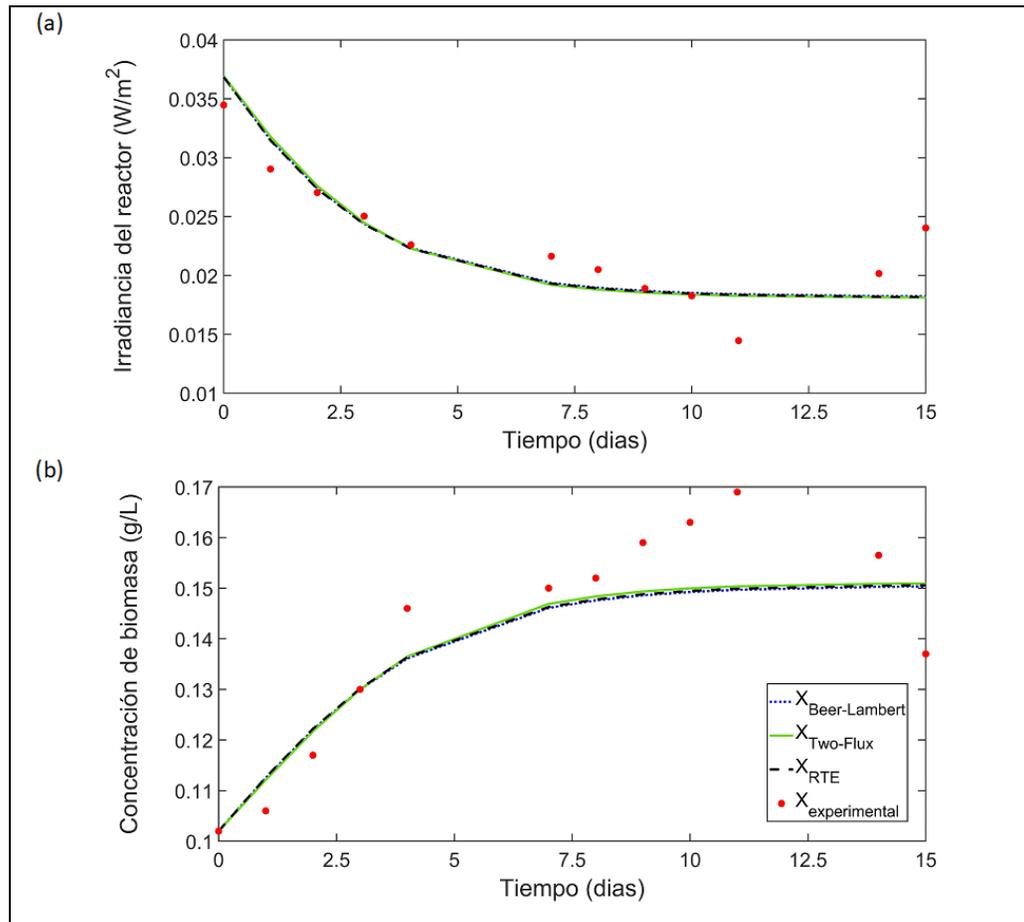


Figura 3-25. Comparación de la variación temporal del parámetro medido con el modelo realizado en el fotobiorreactor de color rojo utilizando el modelo de Steele:

(a) variación temporal de la irradiancia, (b) variación temporal de la biomasa

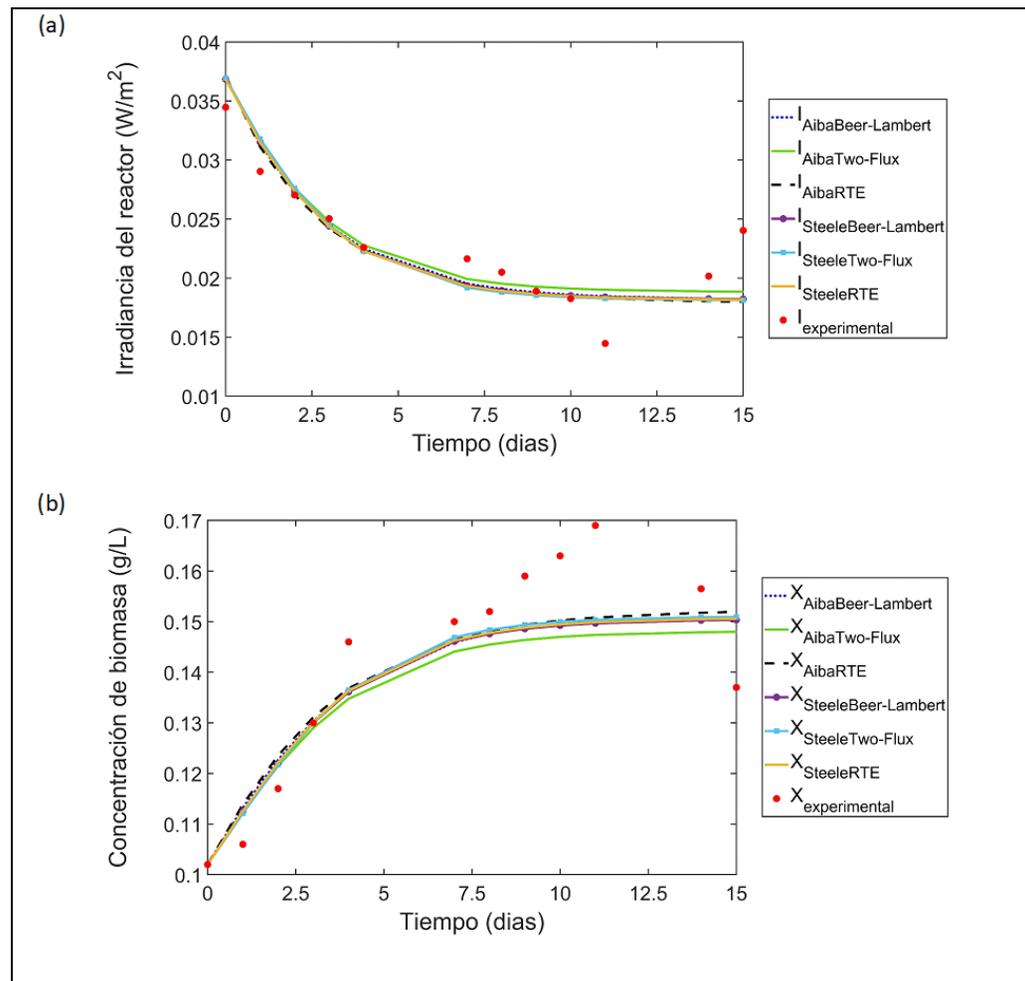


Figura 3-26. Variación temporal en el fotobiorreactor rojo donde se presentan las 6 combinaciones de modelos posibles: (a) variación temporal de la irradiancia, (b) variación temporal de la biomasa

Al igual que en la sección anterior, se utilizan los parámetros estimados para construir la variación de la irradiancia de manera espacial con respecto a la biomasa presente en el reactor (Figuras 3-27 – 3-32). En las imágenes se muestra que la irradiancia no varía mucho en el tiempo debido a que la variación de biomasa es muy pequeña (aproximadamente de un 1.5 veces más del inóculo

inicial) en comparación a la biomasa obtenida en el fotobiorreactor con iluminación azul.

Adicionalmente, en este caso en particular no fue posible encontrar una gran diferencia entre los tres modelos en lo que se refiere a la variación espacial de la irradiancia, pero al igual que antes es posible apreciar que existe una mejor penetración de la irradiancia utilizando el modelo RTE.

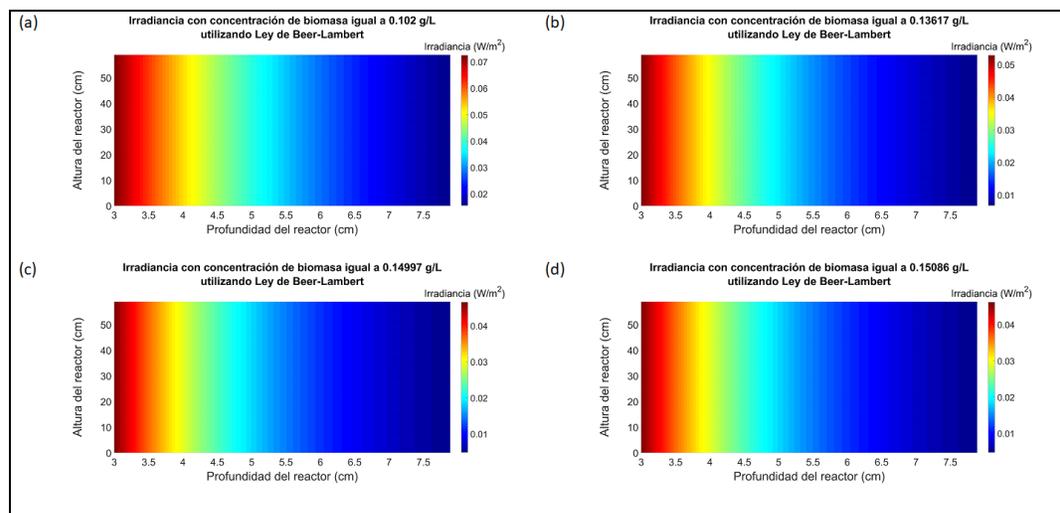


Figura 3-27. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Aiba y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor rojo: (a) biomasa igual a 0.102 g/L, (b) biomasa igual a 0.13617 g/L, (c) biomasa igual a 0.14997 g/L, (d) biomasa igual a 0.15086 g/L

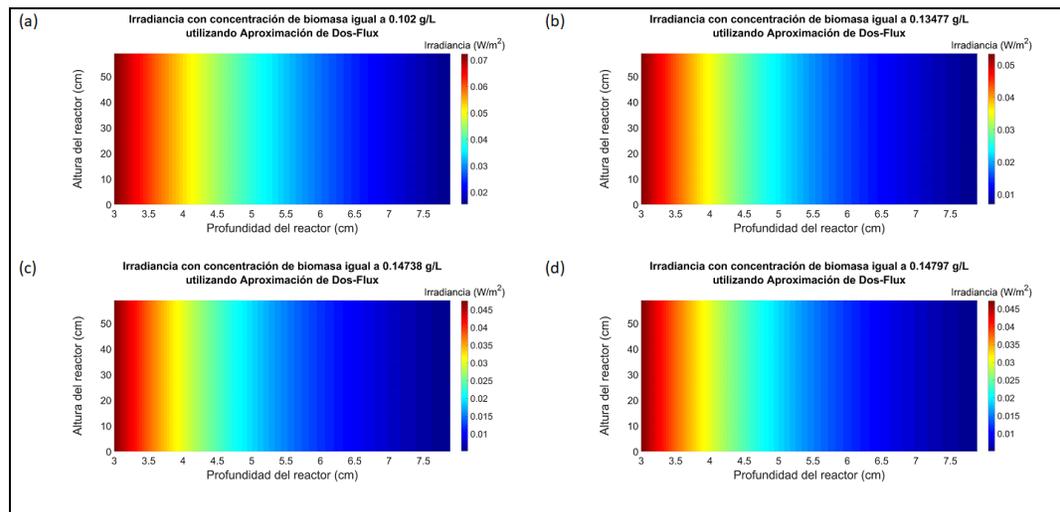


Figura 3-28. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Aiba y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor rojo: (a) biomasa igual a 0.102 g/L, (b) biomasa igual a 0.13477 g/L, (c) biomasa igual a 0.14738 g/L, (d) biomasa igual a 0.14797 g/L

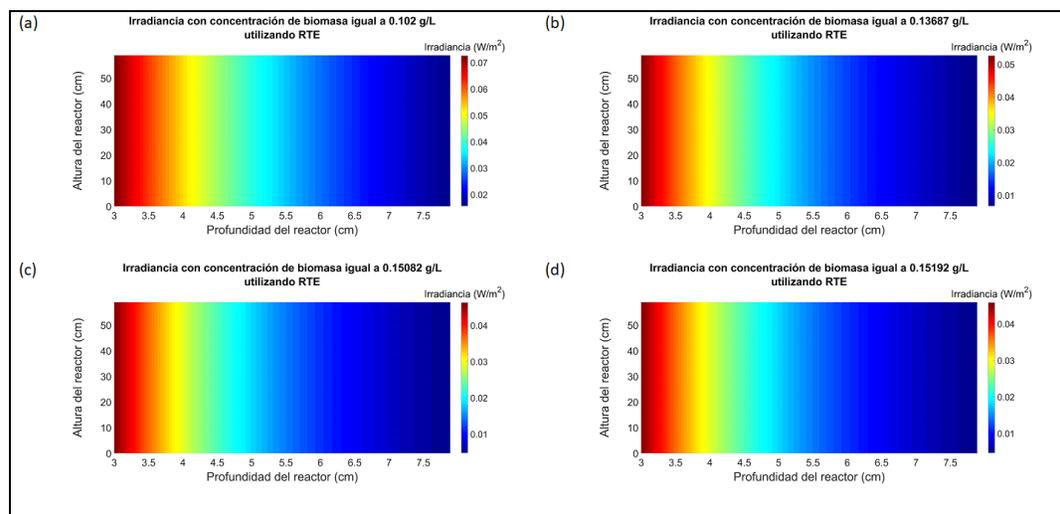


Figura 3-29. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Aiba y RTE en el fotobiorreactor rojo: (a) biomasa igual a 0.102 g/L, (b) biomasa igual a 0.13687 g/L, (c) biomasa igual a 0.15082 g/L, (d) biomasa igual a 0.15192 g/L

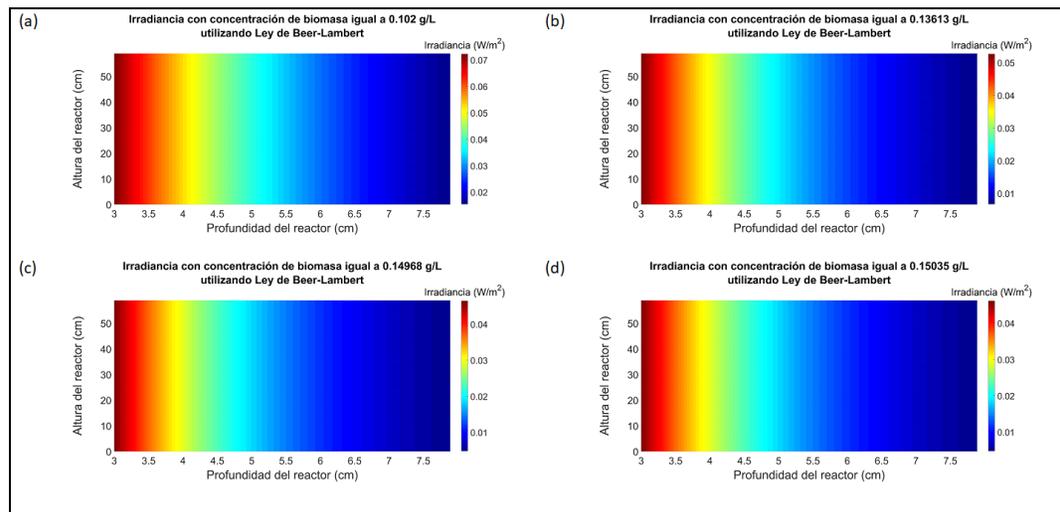


Figura 3-30. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Steele y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor rojo: (a) biomasa igual a 0.102 g/L, (b) biomasa igual a 0.13613 g/L, (c) biomasa igual a 0.14968 g/L, (d) biomasa igual a 0.15035 g/L

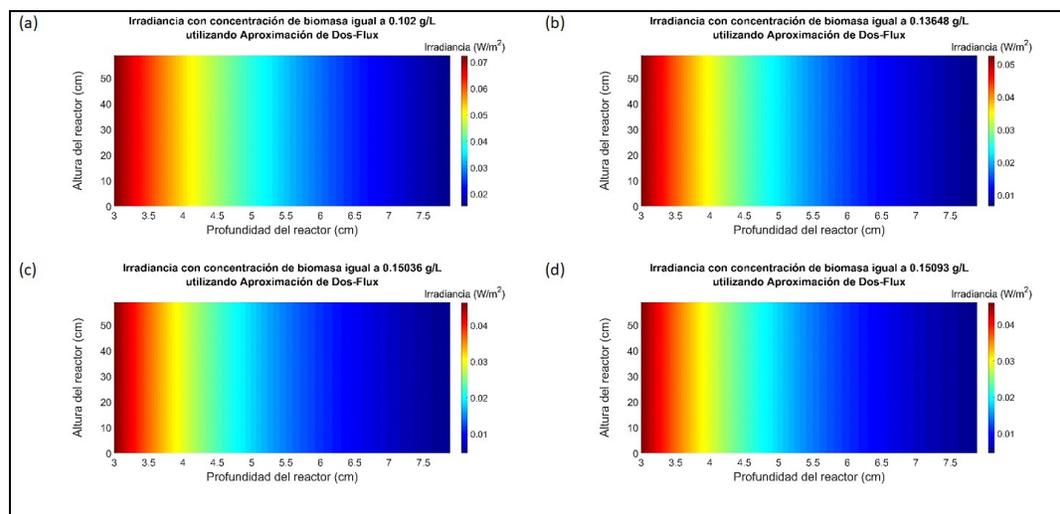


Figura 3-31. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Steele y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor rojo: (a) biomasa igual a 0.102 g/L, (b) biomasa igual a 0.13648 g/L, (c) biomasa igual a 0.15036 g/L, (d) biomasa igual a 0.15093 g/L

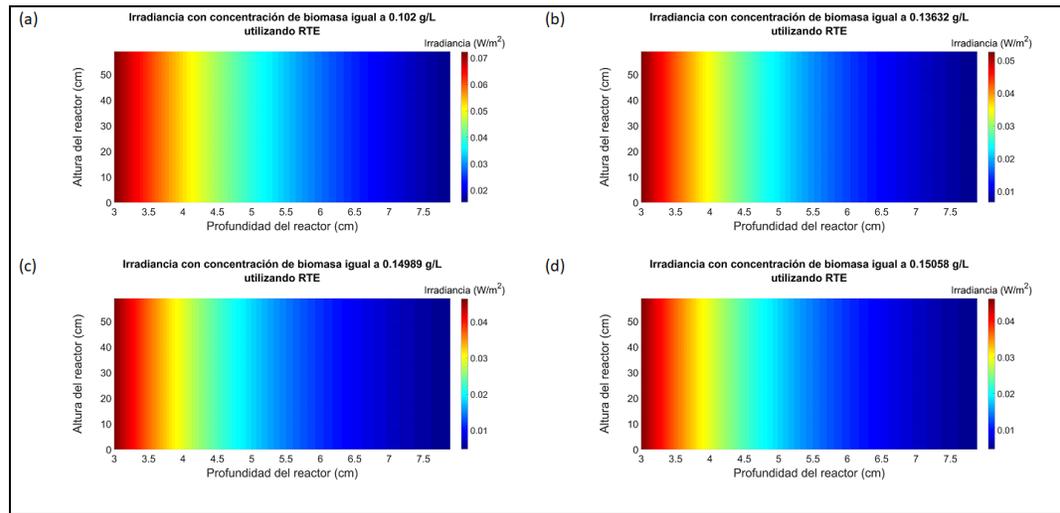


Figura 3-32. Variación espacial de la irradiancia según la biomasa presente utilizando el modelo de Steele y RTE en el fotobiorreactor rojo: (a) biomasa igual a 0.102 g/L, (b) biomasa igual a 0.13632 g/L, (c) biomasa igual a 0.14989 g/L, (d) biomasa igual a 0.15058 g/L

Al igual que antes se calcula los intervalos de confianza de los parámetros para conocer la robustez de los parámetros encontrados utilizando la metodología utilizada por Nadarajah, Bityukov y Krasnikov (2015) (Tablas 3-19 – 3-24). De las tablas es posible apreciar que el parámetro de fotoinhibición ($K_{i,L}$) no es posible estimarlo utilizando los datos obtenidos en la experiencia de laboratorio, esto se puede deber a que las luces led SMD 5050 de color rojo no alcanzan la fotoinhibición de *D. tertiolecta*, permitiendo asegurar que al utilizar luces led SMD 5050 no es posible fotoinhibir a *D. tertiolecta*.

En conjunto con el cálculo del intervalo de confianza, se estima la sensibilidad de los parámetros estimados con respecto a la variación de la biomasa (Figura 3-33). En la

Figura 3-33 se aprecia que solo utilizando los datos experimentales de la variación de la biomasa no es posible estimar el coeficiente de dispersión (σ_λ), es por ello por lo que al momento de calcularlo es necesario utilizar mediciones de la variación de la irradiancia ya sea de manera temporal o espacial.

Tabla 3-19. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizando el modelo de Aiba y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor de iluminación rojo

Parámetro	Valor inferior	Valor estimado	Valor superior
$\kappa_\lambda(m^2 \cdot g^{-1})$	0.196	0.308	0.419
$\sigma_\lambda(m^2 \cdot g^{-1})$	—	—	—
$K_I(W \cdot m^{-2})$	0*	0.005	3.329
$K_{i,L}(W \cdot m^{-2})$	0*	24.757	1740.894
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0*	0.333	6.984
$\mu_d(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	0*	1.727	282.265

* Dicho valor fue igualado a cero debido a la imposibilidad que tomar valores negativos

Tabla 3-20. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizando el modelo de Aiba y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor de iluminación rojo

Parámetro	Valor inferior	Valor estimado	Valor superior
$\kappa_\lambda(m^2 \cdot g^{-1})$	0*	0.309	2.851
$\sigma_\lambda(m^2 \cdot g^{-1})$	0*	$1.446 \cdot 10^{-5}$	5.277
$K_I(W \cdot m^{-2})$	0*	0.003	0.870
$K_{i,L}(W \cdot m^{-2})$	0*	0.083	56.194
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0*	0.669	0.783
$\mu_d(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	0*	3.259	95.631

* Dicho valor fue igualado a cero debido a la imposibilidad que tomar valores negativos

Tabla 3-21. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Aiba y RTE flux en el fotobiorreactor de iluminación rojo

Parámetro	Valor inferior	Valor estimado	Valor superior
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.186	0.307	0.428
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0*	0.779	126.598
$K_I(W \cdot m^{-2})$	0*	0.060	9.726
$K_{i,L}(W \cdot m^{-2})$	0*	2.203	417.710
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0*	0.561	49.688
$\mu_{\bar{a}}(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	0*	0.307	32.576

* Dicho valor fue igualado a cero debido a la imposibilidad que tomar valores negativos

Tabla 3-22. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y ley de Beer-Lambert en el fotobiorreactor de iluminación rojo

Parámetro	Valor inferior	Valor estimado	Valor superior
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.198	0.309	0.419
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	–	–	–
$I_{opt}(W \cdot m^{-2})$	0*	0.034	0.888
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0*	0.249	4.055
$\mu_{\bar{a}}(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	0*	1.409	40.097

* Dicho valor fue igualado a cero debido a la imposibilidad que tomar valores negativos

Tabla 3-23. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y aproximación de dos flux en el fotobiorreactor de iluminación rojo

Parámetro	Valor inferior	Valor estimado	Valor superior
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0*	0.308	4.281
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0*	$1.360 \cdot 10^{-3}$	10.348
$I_{opt}(W \cdot m^{-2})$	0*	0.029	0.597
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0*	0.277	6.027
$\mu_{\bar{a}}(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	0*	1.667	49.208

* Dicho valor fue igualado a cero debido a la imposibilidad que tomar valores negativos

Tabla 3-24. Intervalos de confianza de los parámetros estimados utilizado el modelo de Steele y RTE flux en el fotobiorreactor de iluminación rojo

Parámetro	Valor inferior	Valor estimado	Valor superior
$\kappa_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0.195	0.308	0.421
$\sigma_{\lambda}(m^2 \cdot g^{-1})$	0*	4.586	201.269
$I_{opt}(W \cdot m^{-2})$	0*	0.035	0.821
$\mu_{max}(dia^{-1})$	0*	0.246	3.193
$\mu_{\bar{a}}(m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}) \cdot 10^3$	0*	1.369	33.023

* Dicho valor fue igualado a cero debido a la imposibilidad que tomar valores negativos

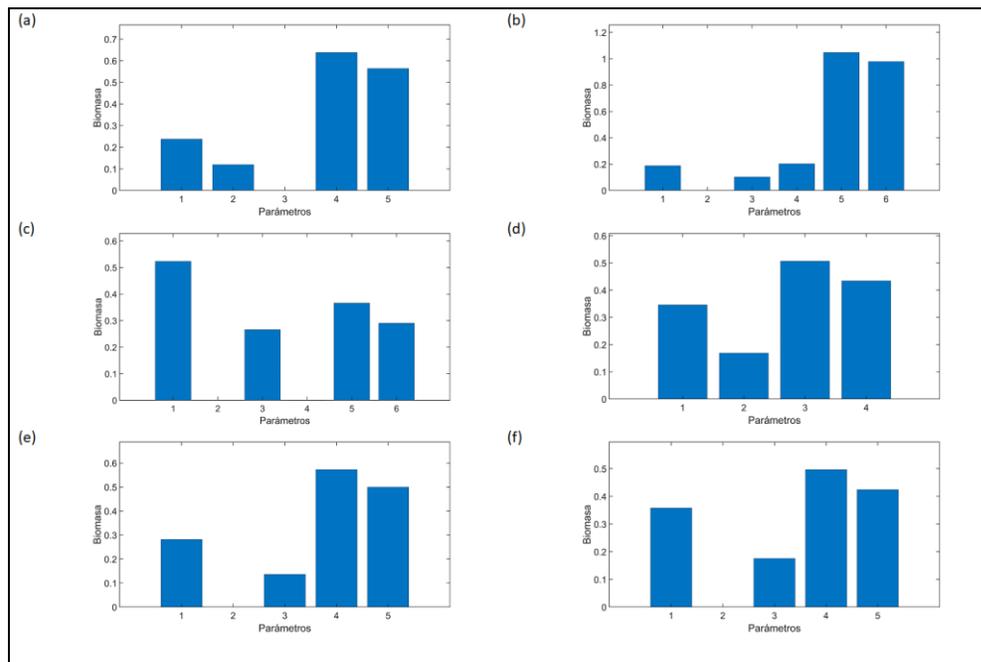


Figura 3-33. Análisis de sensibilidad de los parámetros optimizados con respecto a la biomasa en el fotobiorreactor rojo: (a) sensibilidad utilizando modelo de Aiba y ley de Beer-Lambert, (b) sensibilidad utilizando modelo de Aiba y aproximación de dos flux, (c) sensibilidad utilizando modelo de Aiba y RTE, (d) sensibilidad utilizando modelo de Steele y ley de Beer-Lambert, (e) sensibilidad utilizando modelo de Steele y aproximación de dos flux, (f) sensibilidad utilizando modelo de Steele y RTE

3.6. Conclusiones

En esta sección fue posible probar la capacidad que tienen los modelos matemáticos de poder estimar la variación de la biomasa e irradiancia determinado que, en general, el modelo de Beer-Lambert siempre es una buena opción para estimar el crecimiento de las microalgas.

Sin embargo, es importante destacar que, al usar modelos más sofisticados como RTE, es posible apreciar los efectos que tienen ciertos colores en el crecimiento de las microalgas. En específico, fue posible apreciar que *D. tertiolecta* presenta un mayor

crecimiento ante una iluminación de color azul, no solo porque presente casi una nula tasa de muerte (μ_d) sino que también porque el coeficiente de dispersión (σ_λ) es mucho menor en luces favorables en su crecimiento, por lo que se puede concluir que las microalgas crecen menos ante ciertas longitudes de onda debido a que presentan un alto coeficiente de dispersión, es decir, no aprovechan de manera correcta dicho energía.

Adicionalmente, es posible concluir que entre los cuatro algoritmos de optimización utilizados es mejor fue VNS seguido por SS luego CS y el peor fue FA, esto es debido al valor de función objetivo encontrada al momento de optimizar. Pero, también fue posible apreciar que el tiempo de cómputo al hacer uso de VNS aumenta mucho en comparación al SS, por lo que se puede concluir que si se desea un modelo robusto de optimización de parámetros es necesario utilizar VNS, sin embargo, si se cuenta con una capacidad de cómputo y tiempo limitado el algoritmo SS es una buena opción.

También, a lo largo del proceso de optimización se observó la incapacidad del FA de encontrar óptimos globales cuando el rango de búsqueda de los parámetros es amplio, por lo que se sugiere utilizar este algoritmo cuando se tienen rangos acotados para los parámetros.

Conjuntamente, se concluye que al momento de construir modelos matemáticos para fotobiorreactores productores de microalgas es necesario tener en cuenta qué mediciones son posibles de realizar al interior del reactor, ya que si solo se dispone de mediciones de la biomasa en el tiempo, no es necesario utilizar ecuaciones

sofisticadas para la estimación de la irradiancia al interior del reactor ya que el modelo de crecimiento es insensible al coeficiente de dispersión.

Igualmente, es posible decir que al momento de diseñar el fotobiorreactor, es necesario utilizar modelos matemáticos para evitar el uso ineficiente del volumen de control debido a la falta de iluminación. Asimismo, es necesario determinar el color utilizado en el crecimiento de *D. tertiolecta*, ya que un color inadecuado genera gastos innecesarios de energía que pueden ser evitables.

Finalmente, en futuras experiencias de estimación de la variación de la irradiancia y la biomasa se sugiere realizar no solo mediciones de la biomasa y la irradiancia con respecto al tiempo, sino que también realizar mediciones espaciales de la irradiancia para poder obtener una estimación más precisa de los coeficientes de absorción y dispersión.

3.7. Nomenclatura

I_λ	Intensidad radiativa respecto a la longitud de onda λ , $W \cdot m^{-2}$
κ_λ	Coefficiente de absorción con respecto a la longitud de onda λ , m^{-1}
σ_λ	Coefficiente de dispersión con respecto a la longitud de onda λ , m^{-1}
r, z	Camino recorrido por la luz de manera lineal m^{-1}
$\vec{\Omega}, \vec{\Omega}'$	Direcciones de radiación hacia afuera y hacia adentro (-)
Φ	Función de fase de dispersión (-)
μ, η, ξ	Direcciones coseno (-)
X	Corresponde a la concentración del microorganismo en el cultivo, $g \cdot m^{-3}$
g	Parámetro de anisotropía del medio acuoso por el cual se transporta la irradiancia utilizando en la función de fase (-)
μ	Tasa específica de crecimiento de la microalga en cuestión (dia^{-1})
μ_d	Tasa específica de muerte a las condiciones ambientales presentes ($m^3 \cdot g^{-1} \cdot día^{-1}$)
μ_{max}	tasa máxima de crecimiento específico ($día^{-1}$)
I	Irradiancia media al interior de biorreactor ($W \cdot m^{-2}$).
K_I	parámetro de ajuste de fotosaturación ($W \cdot m^{-2}$).
$K_{i,L}$	Parámetro de ajuste de fotoinhibición de la microalga ($W \cdot m^{-2}$)
I_{opt}	Irradiancia óptima de crecimiento de la microalga ($W \cdot m^{-2}$)

3.8. REFERENCIAS

Bello, M., Ranganathan, P., & Brennan, F. (2017). Dynamic modelling of microalgae cultivation process in high rate algal wastewater pond. *Algal Research*, 24, 457–466.

Ben Salah, M., Askri, F., Slimi, K., & Ben Nasrallah, S. (2004). Numerical resolution of the radiative transfer equation in a cylindrical enclosure with the finite-volume method. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 47(10–11), 2501–2509.

Bitog, J. P., Lee, I. B., Lee, C. G., Kim, K. S., Hwang, H. S., Hong, S. W., ... Mostafa, E. (2011). Application of computational fluid dynamics for modeling and designing photobioreactors for microalgae production: A review. *Computers and Electronics in Agriculture*, 76(2), 131–147.

Brindley, C., Jiménez-Ruíz, N., Ación, F. G., & Fernández-Sevilla, J. M. (2016). Light regime optimization in photobioreactors using a dynamic photosynthesis model. *Algal Research*, 16, 399–408.

Cornet, J. F., Dussap, C. G., & Dubertret, G. (1992). A structured model for simulation of cultures of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in

photobioreactors: I. Coupling between light transfer and growth kinetics. *Biotechnology and Bioengineering*, 40(7), 817–825.

Cornet, J. F., Dussap, C. G., & Gros, J. B. (1994). Conversion of radiant light energy in photobioreactors. *AIChE Journal*, 40(6), 1055–1066.

Cornet, J. F., Dussap, C. G., Gros, J. B., Binois, C., & Lasseur, C. (1995). A simplified monodimensional approach for modeling coupling between radiant light transfer and growth kinetics in photobioreactors. *Chemical Engineering Science*, 50(9), 1489–1500.

Darvehei, P., Bahri, P. A., & Moheimani, N. R. (2018). Model development for the growth of microalgae: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 97(September), 233–258.

Dauchet, J., Cornet, J.-F., Gros, F., Roudet, M., & Dussap, C.-G. (2016). Chapter One - Photobioreactor Modeling and Radiative Transfer Analysis for Engineering Purposes. In J. B. T.-A. in C. E. Legrand (Ed.), *Photobioreaction Engineering* (Vol. 48, pp. 1–106). Academic Press.

Egea, J. A., Henriques, D., Cokelaer, T., Villaverde, A. F., MacNamara, A., Danciu, D.-P., ... Saez-Rodriguez, J. (2014). MEIGO: an open-source software suite based on metaheuristics for global optimization in systems biology and bioinformatics. *BMC Bioinformatics*, 15(1), 136.

Ellis, R., & Petridis, M. (Eds.). (2010). *Research and Development in Intelligent Systems XXVI. Journal of Experimental Psychology: General* (Vol. 136). Springer-Verlag London.

Fister, I., Yang, X. S., & Brest, J. (2013). A comprehensive review of firefly algorithms. *Swarm and Evolutionary Computation*, 13, 34–46.

Fiveland, W. A. (1984). Discrete-Ordinates Solutions of the Radiative Transport Equation for Rectangular Enclosures. *ASME Journal of Heat Transfer*, 106(4), 699–706.

Fiveland, W. A. (1988). Three-dimensional radiative heat-transfer solutions by the discrete-ordinates method. *Journal of Thermophysics and Heat Transfer*, 2(4), 309–316.

Fouchard, S., Pruvost, J., Degrenne, B., Titica, M., & Legrand, J. (2009). Kinetic Modeling of Light Limitation and Sulfur Deprivation Effects in the Induction of Hydrogen Production With *Chlamydomonas reinhardtii*: Part I. Model Development and Parameter Identification. *Biotechnology and Bioengineering*, 102(1), 232–245.

Fukutomi, D., Ishii, K., & Awazu, K. (2016). Determination of the scattering coefficient of biological tissue considering the wavelength and absorption dependence of the anisotropy factor. *Optical Review*, 23(2), 291–298.

Fullana-i-Palmer, P., Puig-Vidal, R., Celma, P. J., & Vilaseca, J. (2009). Photochemical reactors design: Light emission models description for annular reactors. Part 1, classic models. *Afinidad*, 66(541), 206–213.

Gao, X., Kong, B., & Dennis Vigil, R. (2017). Comprehensive computational model for combining fluid hydrodynamics, light transport and biomass growth in a Taylor vortex algal photobioreactor: Eulerian approach. *Bioresource Technology*, 224, 523–530.

García-Camacho, F., Sánchez-Mirón, A., Molina-Grima, E., Camacho-Rubio, F., & Merchuck, J. C. (2012). A mechanistic model of photosynthesis in microalgae including photoacclimation dynamics. *Journal of Theoretical Biology*, 304, 1–15.

García-Malea, M. C., Acién, F. G., Fernández, J. M., Cerón, M. C., & Molina, E. (2006). Continuous production of green cells of *Haematococcus pluvialis*: Modeling of the irradiance effect. *Enzyme and Microbial Technology*, 38(7), 981–989.

García-Mañas, F., Guzmán, J. L., Berenguel, M., & Acién, F. G. (2019). Biomass estimation of an industrial raceway photobioreactor using an extended Kalman filter and a dynamic model for microalgae production. *Algal Research*, 37(June 2018), 103–114.

Han, W., Long, F., Cong, W., Intes, X., & Wang, G. (2017). Radiative transfer with delta-Eddington-type phase functions. *Applied Mathematics and Computation*, 300, 70–78.

Hansen, P., & Mladenović, N. (2001). Variable neighborhood search: Principles and applications. *European Journal of Operational Research*, 130(3), 449–467.

Hansen, P., Mladenović, N., & Moreno Pérez, J. A. (2010). Variable neighbourhood search: Methods and applications. *Annals of Operations Research*, 175(1), 367–407.

Heney, L. G., & Greenstein, J. L. (1941). Diffuse radiation in the galaxy. *The Astrophysical Journal*, 93, 70–83.

Howell, J. R., Siegel, R., & Mengüç, M. P. (2010). Radiative Energy Loss and Gain along a Line-of-Sight. In *Thermal radiation heat transfer* (pp. 31–36). CRC Press.

Joshi, A. S., Kulkarni, O., Kakandikar, G. M., & Nandedkar, V. M. (2017). Cuckoo Search Optimization- A Review. *Materials Today: Proceedings*, 4(8), 7262–7269.

Kandilian, R., Jesus, B., Legrand, J., Pilon, L., & Pruvost, J. (2017). Light transfer in agar immobilized microalgae cell cultures. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 198, 81–92.

Kandilian, R., Lee, E., & Pilon, L. (2013). Radiation and optical properties of *Nannochloropsis oculata* grown under different irradiances and spectra. *Bioresource Technology*, 137, 63–73.

Koyee, R. D., Schmauder, S., Heisel, U., & Eisseler, R. (2015). Numerical modeling and optimization of machining duplex stainless steels. *Production and Manufacturing Research*, 3(1), 36–83.

Laguna, M., & Martí, R. (2006). Scatter Search. In E. Alba & R. Martí (Eds.), *Metaheuristic Procedures for Training Neural Networks* (pp. 139–152). Boston, MA: Springer US.

Lee, E., Jalalizadeh, M., & Zhang, Q. (2015). Growth kinetic models for microalgae cultivation: A review. *Algal Research*, 12, 497–512.

Lee, H. Y., Erickson, L. E., & Yang, S. S. (1987). Kinetics and bioenergetics of light-limited photoautotrophic growth of *Spirulina platensis*. *Biotechnology and Bioengineering*, 29(7), 832–843.

Li, D., Xiong, K., Li, W., Yang, Z., Liu, C., Feng, X., & Lu, X. (2010). Comparative study in liquid-phase heterogeneous photocatalysis: Model for photoreactor scale-up. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 49(18), 8397–8405.

Lock, J. A., & Gouesbet, G. (2009). Generalized Lorenz-Mie theory and applications. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 110(11), 800–807.

Mareli, M., & Twala, B. (2018). An adaptive Cuckoo search algorithm for optimisation. *Applied Computing and Informatics*, 14(2), 107–115.

Martí, R., Laguna, M., & Glover, F. (2006). Principles of scatter search. *European Journal of Operational Research*, 169(2), 359–372.

Menguc, M. P., & Viskanta, R. (1985). Radiative Transfer in Three-Dimensional Rectangular Enclosures Containing Inhomogeneous, Anisotropically Scattering Media. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 33(6), 533–549.

Menguc, M. P., & Viskanta, R. (1986). Radiative transfer in axisymmetric, finite cylindrical enclosures. *ASME Journal of Heat Transfer*, 108(May 1986), 271–277.

Mishchenko, M. I. (2009). Gustav Mie and the fundamental concept of electromagnetic scattering by particles: A perspective. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 110(14–16), 1210–1222.

Molina Grima, E., Acien Fernández, F. G., García Camacho, F., & Chisti, Y. (1999). Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. *Journal of Biotechnology*, 70(1–3), 231–247.

Molina Grima, E., Fernández Sevilla, J. M., Sánchez Pérez, J. A., & García Camacho, F. (1996). A study on simultaneous photolimitation and photoinhibition in dense microalgal cultures taking into account incident and averaged irradiances. *Journal of Biotechnology*, 45(1), 59–69.

Molina Grima, E., Garcia Carnacho, F., Sanchez Perez, J. A., Fernandez Sevilla, J. M., Acien Fernandez, F. G., & Contreras Gomez, A. (1994). A Mathematical Model of Microalgal Growth in Light-Limited Chemostat Culture. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 61, 167–173.

Mosorov, V. (2017). The Lambert-Beer law in time domain form and its application. *Applied Radiation and Isotopes*, 128, 1–5.

Nadarajah, S., Bityukov, S., & Krasnikov, N. (2015). Confidence distributions: A review. *Statistical Methodology*, 22, 23–46.

Naderi, G., Tade, M. O., & Znad, H. (2015). Modified Photobioreactor for Biofixation of Carbon Dioxide by *Chlorella vulgaris* at Different Light Intensities. *Chemical Engineering and Technology*, 38(8), 1371–1379.

Naderi, G., Znad, H., & Tade, M. O. (2017). Investigating and modelling of light intensity distribution inside algal photobioreactor. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 122(December 2016), 530–537.

Pareek, V., Chong, S., Tade, M., & Adesina, A. A. (2008). Light intensity distribution in heterogenous photocatalytic reactors. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering*, 3, 171–201.

Perner-Nochta, I., & Posten, C. (2007). Simulations of light intensity variation in photobioreactors. *Journal of Biotechnology*, 131(3), 276–285.

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.

Pilon, L., & Kandilian, R. (2016). Chapter Two - Interaction Between Light and Photosynthetic Microorganisms. In J. B. T.-A. in C. E. Legrand (Ed.), *Photobioreaction Engineering* (Vol. 48, pp. 107–149). Academic Press.

Pottier, L., Pruvost, J., Deremetz, J., Cornet, J. F., Legrand, J., & Dussap, C. G. (2005). A fully predictive model for one-dimensional light attenuation by *Chlamydomonas reinhardtii* in a torus photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 91(5), 569–582.

Pruvost, J., Legrand, J., Legentilhomme, P., & Muller-Feuga, A. (2002). Simulation of microalgae growth in limiting light conditions: Flow effect. *AIChE Journal*, 48(5), 1109–1120.

Qiu, Y., Wang, L., Xu, X., Fang, X., & Pardalos, P. M. (2018). A variable neighborhood search heuristic algorithm for production routing problems. *Applied Soft Computing Journal*, 66, 311–318.

Ranganathan, P., Amal, J. C., Savithri, S., & Haridas, A. (2017). Experimental and modelling of *Arthrospira platensis* cultivation in open raceway ponds. *Bioresource Technology*, 242, 197–205.

Resende, M. G. C., Ribeiro, C. C., Glover, F., & Martí, R. (2010). Scatter Search and Path-Relinking: Fundamentals, Advances, and Applications. In M. Gendreau & J.-Y. Potvin (Eds.), *Handbook of Metaheuristics* (pp. 87–107). Boston, MA: Springer US.

Rosello Sastre, R., Csögör, Z., Perner-Nochta, I., Fleck-Schneider, P., & Posten, C. (2007). Scale-down of microalgae cultivations in tubular photo-bioreactors-A conceptual approach. *Journal of Biotechnology*, 132(2), 127–133.

Rubio Camacho, F., García Camacho, F., Fernández Sevilla, J. M., Chisti, Y., & Molina Grima, E. (2003). A mechanistic model of photosynthesis in microalgae. *Biotechnology and Bioengineering*, 81(4), 459–473.

Sampath Aruna Pradeep, B. G., Ma, W., & Jiang, Z. (2016). Mathematical analysis of the effect of cuckoo bird's incubation period in population dynamics. *Applied Mathematical Modelling*, 40(23–24), 10167–10180.

Schiesser, W. E., & Griffiths, G. W. (2009). *A Compendium of Partial Differential Equation Models : Method of Lines Analysis with Matlab*. Cambridge University Press.

Selçuk, N., & Ayrancı, I. (2003). The Method Of Lines Solution Of The Discrete Ordinates Method For Radiative Heat Transfer In Enclosures Containing Scattering Media. *Numerical Heat Transfer, Part B: Fundamentals*, 43(2), 179–201.

Shehab, M., Khader, A. T., & Al-Betar, M. A. (2017). A survey on applications and variants of the cuckoo search algorithm. *Applied Soft Computing Journal*, 61, 1041–1059.

Steele, J. H. (1962). Environmental Control of Photosynthesis in the Sea. *Limnology and Oceanography*, 7(2), 137–150. <https://doi.org/10.1016/B978-075064637-6/50022-8>

Vadakke-Chanat, S., & Shanmugam, P. (2017). Modeling the contributions of phytoplankton and non-algal particles to spectral scattering properties in near-shore and lagoon waters. *Continental Shelf Research*, 135(January), 35–46.

Vo, H. N. P., Ngo, H. H., Guo, W., Nguyen, T. M. H., Liu, Y., Liu, Y., ... Chang, S. W. (2019). A critical review on designs and applications of microalgae-based photobioreactors for pollutants treatment. *Science of the Total Environment*, 651, 1549–1568.

Wágner, D. S., Valverde-Pérez, B., & Plósz, B. G. (2018). Light attenuation in photobioreactors and algal pigmentation under different growth conditions – Model identification and complexity assessment. *Algal Research*, 35(July), 488–499.

Wang, B., Lan, C. Q., & Horsman, M. (2012). Closed photobioreactors for production of microalgal biomasses. *Biotechnology Advances*, 30(4), 904–912.

Yang, X.-S. (2010). Cuckoo Search. In *Nature-Inspired Optimization Algorithms* (Second, pp. 129–139). Luniver Press.

Yang, X. (2010). Firefly Algorithm. In *Nature-Inspired Metaheuristic Algorithms* (Second, pp. 81–104). Luniver Press.

Zhang, D., Dechatiwongse, P., del Rio-Chanona, E. A., Maitland, G. C., Hellgardt, K., & Vassiliadis, V. S. (2015). Dynamic modelling of high biomass density cultivation and biohydrogen production in different scales of flat plate photobioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 112(12), 2429–2438.

Zhang, D., Dechatiwongse, P., del Rio-Chanona, E. A., Maitland, G. C., Hellgardt, K., & Vassiliadis, V. S. (2015). Modelling of light and temperature influences on cyanobacterial growth and biohydrogen production. *Algal Research*, 9, 263–274.

Zhang, D., Dechatiwongse, P., & Hellgardt, K. (2015). Modelling light transmission, cyanobacterial growth kinetics and fluid dynamics in a laboratory scale multiphase photo-bioreactor for biological hydrogen production. *Algal Research*, 8, 99–107.

Zhang, D., Wan, M., del Rio-Chanona, E. A., Huang, J., Wang, W., Li, Y., & Vassiliadis, V. S. (2016). Dynamic modelling of *Haematococcus pluvialis* photoinduction for astaxanthin production in both attached and suspended photobioreactors. *Algal Research*, 13, 69–78.

4. CONCLUSIONES DEL TRABAJO DE MAGISTER

4.1. Conclusiones basadas en los objetivos

Las principales conclusiones asociadas al trabajo presentado son:

- 1) El crecimiento celular de las microalgas es posible modelizarlo de manera tal que exista una relación con la irradiancia promedio recibida en el medio en un momento específico del tiempo. Y a su vez esta irradiancia es posible describirla utilizando distintos niveles de complejidad que permiten describir el comportamiento de la irradiancia espacialmente. Permitiendo no solo tomar decisiones de cómo operar estos fotobiorreactores, sino que también decisiones de diseño y de escalamiento de los procesos de cultivo.
- 2) La ley de Beer-Lambert y RTE combinadas con un modelo de crecimiento de Aiba permitieron estimar de mejor manera el comportamiento de los fotobiorreactores, determinando que RTE aporta información sobre el color a utilizar al momento de realizar el cultivo ya que permite determinar qué color es dispersado en mayor medida por parte de las microalgas. Sin embargo, el modelo clásico de Beer-Lambert tiene la ventaja de ser fácil de implementar y entender y que permite llegar a resultados muy similares a la realidad.
- 3) Los fotobiorreactores cerrados con iluminación a través de led presentan la ventaja de evitar la fotoinhibición de *D. tertiolecta* evitan la muerte temprana de estos organismos. Asimismo, el realizar cultivos con iluminación azul mejora la producción de biomasa en comparación a otros colores del espectro visible y

también es mucho más eficiente que estar iluminando con luz blanca (espectro completo) si lo consideramos desde el punto de vista energético. Finalmente, un sistema de producción de biomasa que evita concentraciones altas de la misma evita la muerte celular debido a los efectos de oscurecimiento del sistema.

4.2. Discusión y conclusiones Capítulo 2

El uso de diferentes colores en el proceso de cultivo de microalgas contribuyó a determinar la existencia de colores que mejoran o empeoran el crecimiento de *D. tertiolecta* como es el caso del color azul y naranja, respectivamente. Pero por sobre todo se determinó que frente a condiciones de cultivos desfavorables *D. tertiolecta* tiene desarrollado toda una maquinaria de “hibernación” para esperar hasta que las condiciones ambientales mejoren, por ello se menciona que es una microalga resistente.

Con respecto a los colores es importante apreciar que mientras que en color naranja *D. tertiolecta* tenía un total de 347 mil células por mL, en color azul se obtuvieron 3.55 millones de células por mL, observándose una diferencia de 10 veces más la población total y esta situación fue similar en las otras dos cepas estudiadas.

Es mismo comportamiento fue posible apreciarlo en los fotobiorreactores tubulares de iluminación interna determinar que al utilizar iluminación de color azul la biomasa alcanzada es igual a 0.355 g/L lo cual es 1.7 veces más de lo alcanzado en el fotobiorreactor iluminado con color rojo. Asimismo, fue posible apreciar que al utilizar el color azul se entrega a las microalgas una mayor cantidad de energía,

permitiendo no solo alcanzar mayores concentraciones de biomasa, sino que también un mayor grado de penetración de la irradiancia evitando la generación de zonas oscuras que son desfavorables para la producción de *D. tertiolecta*.

4.3. Discusión y conclusiones Capítulo 3

Al explorar distintos modelos matemáticos que describen el comportamiento de microalgas con respecto a la irradiancia recibida, se mostró que el modelo clásico de Beer-Lambert es bastante bueno para predecir el comportamiento de *D. tertiolecta* sin perder efectos importantes en su comportamiento. Obteniéndose no solo la solución analítica de la ley de Beer-Lambert, sino que también se calculó la solución analítica del modelo de aproximación de dos flux y RTE simplificado.

Sin embargo, modelos más sofisticados como RTE permiten justificar la existencia de colores que favorecen el crecimiento de *D. tertiolecta*, lo cual se debe al gran índice de dispersión que tiene frente al color rojo, lo cual se puede extrapolar al espectro de colores que no son absorbidos de manera correcta por estos organismos fotosintetizadores

En cuanto al uso de diversos algoritmos de optimización, permitió no solo determinar que los parámetros obtenidos corresponden a un óptimo global en la función objetivo sino que también fue posible apreciar las bondades de modelos de optimización más novedosos como son FA y CS, mostrándose que FA tiene problemas para encontrar óptimos globales en un rango amplio de búsqueda debido a que el algoritmo no tiene un mecanismo de salida concreto de un mínimo local, por lo cual, es necesario proveerle un rango acotado de búsqueda. En cambio, CS mostró ser bueno en

encontrar el mínimo global, pero presentado la desventaja que su tiempo de cómputo aumento mucho en comparación a algoritmos clásicos como SS.

Con esto se concluye que, si se pueden utilizar modelos matemáticos para describir el comportamiento de fotobiorreactores, pero que el nivel de sofisticación de los modelos depende mucho del tipo de información disponible para estimar los parámetros cinéticos. Ya que, si sólo se disponen de datos de crecimiento de la biomasa y sus productos, es mejor utilizar un modelo simple en lo que refiere a la irradiancia para evitar tener parámetros insensibles a los datos experimentales. Pero siempre teniendo presente que la capacidad de penetración de la luz es mucho mayor a la prevista por el modelo clásico debido a los cultivos de microalgas poseen una dispersión de la luz fuertemente hacia delante.

ANEXOS

**ANEXO A: SOLUCIÓN ANALÍTICA DE LA APROXIMACIÓN DE DOS
FLUX**

A continuación, se presenta la solución analítica del sistema de ecuaciones formado por la aproximación de dos flux:

$$I(r) = \frac{\sqrt{2}I_0C_5(C_3 + C_4) + 2I_0X\sigma_\lambda(C_4 - C_3) + 2I_0X\kappa_\lambda(C_4 - C_3)}{\sqrt{2}C_5(C_1 + C_2) + 2X\kappa_\lambda(C_1 - C_2) + X\sigma_\lambda(C_1 - C_2)}$$

Donde:

$$C_1 = e^{\frac{\sqrt{2}(2R+r)C_5}{2}}$$

$$C_2 = e^{\frac{\sqrt{2}rC_5}{2}}$$

$$C_3 = e^{\sqrt{2}rC_5}$$

$$C_4 = e^{\sqrt{2}RC_5}$$

$$C_5 = \sqrt{X^2(2\kappa_\lambda^2 + 2\kappa_\lambda\sigma_\lambda + \sigma_\lambda^2)}$$