

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA



Casa abierta al tiempo

Estudio de la actividad de fotosíntesis en respuesta a variables exógenas durante el crecimiento de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* en fotobiorreactores.

Tesis que para obtener el grado de Doctor en Biotecnología

presenta

M. en C. Juan José Cabello Robles

Director:

Dr. Sergio Revah Moiseev

Asesores:

Dra. Marcia Guadalupe Morales Ibarría

Dr. Alfredo Jiménez Martínez

México D.F., 22 de Octubre de 2015

**“El Doctorado en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana
está incluido en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del
CONACYT, con la referencia 001466”**



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No. 00160

Matrícula: 210180244

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD DE FOTOSÍNTESIS EN RESPUESTA A VARIABLES EXÓGENAS DURANTE EL CRECIMIENTO DE LA MICROALGA *Scenedesmus obtusiusculus* EN FOTOBIOREACTORES.

En México, D.F., se presentaron a las 11:00 horas del día 22 del mes de octubre del año 2015 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

- DR. JESUS GERARDO SAUCEDO CASTAÑEDA
- DR. LUIS CARLOS FERNANDEZ LINARES
- DR. CARLOS OMAR CASTILLO ARAIZA
- DRA. MARCIA GUADALUPE MORALES IBARRIA

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretaria la última, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

DOCTOR EN BIOTECNOLOGIA

DE: JUAN JOSE CABELLO ROBLES

y de acuerdo con el artículo 78 fracción IV del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



Juan Jose Cabello Robles
JUAN JOSE CABELLO ROBLES
ALUMNO

REVISÓ

LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS

DRA. EDITH PONCE ALQUICIRA

PRESIDENTE

DR. JESUS GERARDO SAUCEDO
CASTAÑEDA

VOCAL

DR. LUIS CARLOS FERNANDEZ LINARES

VOCAL

DR. CARLOS OMAR CASTILLO ARAIZA

SECRETARÍA

DRA. MARCIA GUADALUPE MORALES
IBARRIA

México D.F. a_22_de Octubre _del 2015

El jurado designado por la
División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis

Estudio de la actividad de fotosíntesis en respuesta a variables exógenas durante el
crecimiento de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* en fotobiorreactores.

que presentó

Juan José Cabello Robles

Comité de Tutores:

Director: Dr. Sergio Revah Moiseev

Asesor: Dra. Marcia Guadalupe Morales Ibarría

Asesor: Dr. Alfredo Jiménez Martínez

Jurado:

Presidente: Dr. Jesús Gerardo Saucedo Castañeda

Secretario: Dra. Marcia Guadalupe Morales Ibarría

Vocal: Dr. Carlos Omar Castillo Araiza

Vocal: Dr. Luis Carlos Fernández Linares

Agradecimientos

Deseo expresar mi más profundo agradecimiento al Dr. Sergio Revah Moiseev y a la Dra. Marcia Guadalupe Morales Ibarría, quienes me brindaron un gran apoyo profesional y fungieron como asesores de la investigación que se reporta en esta tesis. Por su paciencia y orientación, muchas gracias.

Alma Toledo, Sergio Hernandez, Luis Arellano, Cristal Zuñiga, León Sanchez y Colegas de Ingeniería Química gracias por su amistad, la convivencia cotidiana y las discusiones académicas a lo largo de estos años.

Al Taller Mecánico de la Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa y en especial al Sr. David Campos por su apoyo técnico en la construcción de los sistemas que se utilizarón en el presente proyecto.

Quiero agradecer el apoyo y la comprensión que recibí de mi madre María C. Robles Granados, de mi padre Juan Cabello Origel y de mis hermanos Mauricio Cabello Robles y Fernando Cabello Robles durante todo este tiempo, ya que sin ellos, el haber cumplido con esta meta no hubiera sido posible.

Resumen

Se presenta el efecto de cambios escalón en la intensidad de luz, concentración de dióxido de carbono en fase gas, velocidad superficial de fase gas y frecuencia de exposición a ciclos de luz-oscuridad sobre la actividad fotosintética de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* en fotobiorreactores. Se demuestra que el análisis de respuestas dinámicas permite obtener datos de la tasa de producción de O₂ y de la tasa de consumo de CO₂ durante el crecimiento de la microalga. El efecto de cambios escalón en la intensidad de luz indica una aclimatación fotosintética a corto plazo determinando las tasas máximas de producción de O₂ de 103 y 207 mg O₂ g_b⁻¹h⁻¹ para irradiaciones de 141 y 505 μmol m⁻²s⁻¹, para una concentración de biomasa de 0.13 g_bL⁻¹. Se valida un modelo matemático que considera parámetros hidrodinámicos, de transferencia de masa y cinéticos, para predecir la respuesta dinámica de oxígeno y la productividad de biomasa. Las simulaciones estiman que a 35°C y una irradiación de 600 μmol m⁻²s⁻¹ se obtiene el valor máximo de productividad de biomasa (0.78 g_bL⁻¹d⁻¹). Este modelo consta sólo de parámetros cuyos valores se obtienen de experimentos. El efecto de cambios escalón en la concentración de CO₂ muestra que para una concentración de biomasa de 0.5 gL⁻¹ la tasa de consumo de CO₂ es de 3.3 gL⁻¹d⁻¹, y ésta disminuye a 0.68 gL⁻¹d⁻¹ para una concentración de biomasa de 3.1 gL⁻¹. El balance de materia para *Scenedesmus obtusiusculus* demuestra que del carbono alimentado durante la operación del reactor (39.2 g C-CO₂) es fijado el 90% (35.2 g C-CO₂) para la producción de biomasa. El efecto de cambios escalón en la velocidad superficial de la fase gas demuestra que la tasa de fotosíntesis se incrementa debido al aumento en el mezclado induciendo un incremento en la tasa de transferencia de masa y en la frecuencia en ciclos internos de luz-oscuridad. Los valores que se obtienen de la tasa de producción de oxígeno en los cambios son 57.5, 111 y 187 mg_{O2} g_b⁻¹h⁻¹ para los flujos de la fase gas de 3.4, 6.5 y 9.5 L min⁻¹, respectivamente, para una concentración de biomasa de 1.0 g_bL⁻¹. El efecto de cambios en la frecuencia de ciclos de luz-oscuridad demuestra que la productividad de biomasa es más alta (1.1 g_bL⁻¹d⁻¹) cuando la microalga se expone a irradiación continua de luz que irradiaciones intermitentes de luz de 0.0033 Hz (0.53 g_b L⁻¹ h⁻¹) y 1Hz (0.05 g_b L⁻¹ h⁻¹).

Abstract

This paper presents the short-term effect of light intensity, gas phase carbon dioxide concentration, superficial gas phase velocity and light-dark cycles frequencies on the photosynthetic activity by the microalga *Scenedesmus obtusiusculus* cultivated in photobioreactors. The analysis of dynamic responses provided information on the specific rate of oxygen production and CO₂ uptake during the growth of the microalga. The effect of light step-changes on the photosynthetic activity indicated pseudo-steady states in the oxygen concentration indicating a short-term photosynthetic acclimation. The highest values of the oxygen production rate were 103 and 207 mg O₂ g_b⁻¹h⁻¹ for irradiation of 141 and 505 μmol m⁻²s⁻¹, respectively, and for a biomass concentration of 0.13 g_bL⁻¹. In addition, a mathematical model was validated to estimate the oxygen concentration and biomass productivity using parameters obtained from experiments considering the hydrodynamics and mass transfer within the system and a kinetic expression for intrinsic oxygen production rate representing the photosynthetic activity under N-replete conditions. The simulations predicted the highest biomass productivity (0.78 g_bL⁻¹d⁻¹) at 35°C and a irradiance of 600 μmol m⁻²s⁻¹. Furthermore, the effect of gas phase CO₂ concentration step-changes on the CO₂ consumption rate indicated that the highest value was of 3.3 gL⁻¹d⁻¹ for a biomass concentration of 0.5 g_bL⁻¹ and the lowest value was of 0.68 gL⁻¹d⁻¹ for a biomass concentration of 3.1 gL⁻¹. *Scenedesmus obtusiusculus* mass balance showed that during the operation of the reactor the 90% of the carbon fed (39.2 g C-CO₂) was used to (35.2 g C-CO₂) biomass production. The effect of superficial gas phase velocity step-changes indicated that the photosynthesis rate increases due to increment in the mass transfer and the light-dark cycles frequency. The values obtained of the oxygen production rate were 57.5, 111 and 187 mgO₂ g_b⁻¹h⁻¹ to gas phase flows of 3.4, 6.5 and 9.5 L min⁻¹, respectively, for a biomass concentration 1.0g_bL⁻¹. The effect of the light-dark cycles frequencies indicated that biomass productivity is higher (1.1 g_bL⁻¹d⁻¹) when the microalga was exposed to continuous irradiation contrary to intermittent light of 0.0033 Hz (0.53 g_b L⁻¹ h⁻¹) and 1Hz (0.05 g_b L⁻¹ h⁻¹).

ÍNDICE

Resumen	i
Nomenclatura.....	vii
Introducción.....	1
CAPÍTULO 1. Antecedentes.....	4
1.1 Microalgas	4
1.2 Fotosíntesis	5
1.2.1 Fase luminosa.....	5
1.2.2. Fase oscura	6
1.2.3 Estequiometría de la fotosíntesis.....	7
1.3 Acumulación de lípidos en microalgas.....	7
1.3.1 Biosíntesis de lípidos.....	8
1.4 Sistemas de cultivo	10
1.4.1 Sistemas Abiertos.....	10
1.4.2 Fotobiorreactores.....	11
1.5 Fotobiorreactores con sistema de burbujeo	14
1.5.1 Descripción general de un fotobiorreactor con sistema de burbujeo	14
1.5.2 Bases de diseño para un fotobiorreactor	16
1.6 Factores que afectan la productividad de biomasa	18
1.7 Hidrodinámica y transferencia de masa.....	20
1.7.1 Régimen de flujo de burbuja homogénea.....	21
1.7.2 Régimen turbulento	21
1.7.3 Volumen de retención de la fase gas.....	22
1.7.4 Características de mezclado de las fases fluidas	23
1.7.5 Coeficiente volumétrico de transferencia de masa gas-líquido.....	23
1.8 Transferencia de energía por radiación.....	24
1.9 Antecedentes directos	28
CAPÍTULO 2. Justificación, hipótesis y objetivos	31
CAPÍTULO 3. Materiales y Métodos	33

3.1 Inóculo	33
3.2 Medio de cultivo	33
3.3 Sistemas experimentales	34
3.4 Técnicas analíticas	35
3.5 Expresiones matematicas	37
CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga <i>Scenedesmus obtusiusculus</i>	38
4.1. Introducción	39
4.2 Modelo Matemático	41
4.3 Experimentación	44
4.3.1. Descripción del fotobiorreactor air-lift instrumentado.....	44
4.3.2. Experimentos dinámicos de la intensidad de luz	46
4.3.3. Determinación de parámetros.....	47
4.4. Resultados y discusión.....	49
4.4.1 Fluctuaciones de la intensidad de luz.....	52
4.4.2 Validación del modelo matemático.....	60
Conclusiones	65
CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga <i>Scenedesmus obtusiusculus</i>	66
5.1. Introducción	66
5.2. Materiales y Métodos.....	69
5.2.1. Descripción del fotobiorreactor de columna de burbujeo instrumentado	69
5.2.2. Experimentos dinámicos de la concentración de CO ₂	71
5.2.3. Carbono inorgánico total en el medio de cultivo	72
5.2.4 Balance de carbono inorgánico	73
5.3. Resultados y discusión.....	74
5.3.1 Balance de carbono inorgánico para la microalga <i>S. obtusiusculus</i>	74
5.3.1 Comportamiento global del fotobiorreactor	78
5.3.2. Respuesta dinámica ante cambios en escalón de la concentración de CO ₂	79
5.3.3. Balance macroscópico en la fase gas para el CO ₂	84

5.3.3. Balance diferencial en la fase líquida para el CO ₂	91
Conclusiones	94
CAPÍTULO 6. Efecto de la velocidad de la fase gas sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga <i>Scenedesmus obtusiusculus</i>	95
6.1. Introducción	96
6.2 Modelo matemático	99
6.2.1 Modelo hidrodinámico	99
6.3 Materiales y Métodos.....	101
6.3.1. Experimentos dinámicos de la velocidad superficial de la fase gas.....	102
6.3.2. Determinación del coeficiente de transferencia de masa gas-líquido	102
6.3.3. Distribución de tiempos de residencia en la fase líquida	103
6.4. Resultados y Discusión	104
6.4.1 Simulaciones de Dinámica de Fluido Computacional	104
6.4.1.1 Generación de la malla computacional y condiciones de frontera	104
6.4.1.2 Solución numérica del modelo hidrodinámico.....	106
6.4.2 Fluctuaciones en la velocidad superficial de la fase gaseosa	113
Conclusiones	119
CAPÍTULO 7. Efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga <i>Scenedesmus obtusiusculus</i>	120
7.1. Introducción	121
7.2. Materiales y Métodos.....	122
7.2.1 Descripción del fotobiorreactor de placas instrumentado	122
7.2.2 Experimentos dinámicos de frecuencia de ciclos L-O.....	124
7.3. Resultados y discusión.....	125
7.3.1 Cambios en la frecuencia de ciclos luz-oscuridad	125
7.3.2 Respuesta en horas para las frecuencias de ciclos luz-oscuridad.....	131
7.3.3 Cambios en la intensidad de luz para iluminación continua y una frecuencia de 1Hz	135
Conclusiones	139
Conclusiones Generales.....	140
Referencias	143

Apéndice A. Bases de diseño del fotobioreactor airlift-columna..... 152
Apéndice B. Simulaciones del flujo de burbuja en el reactor de placas..... 158

Nomenclatura

A	Área de sección transversal de la columna, m
c	concentración del trazador, adimensional
C_b	Concentración de biomasa, $g L^{-1}$
CE	Capacidad de eliminación de CO_2 , $g L^{-1}d^{-1}$
C_{G,O_2}	Concentración de oxígeno en el seno de la fase gas, $mg L^{-1}$
C_{G,O_2}^0	Concentración inicial de oxígeno, $mg L^{-1}$
C_{L,O_2}	Concentración de oxígeno en el seno de la fase líquida, $mg L^{-1}$
C_{L,O_2}^*	Concentración en equilibrio para el oxígeno, $mg L^{-1}$
$C_{L,O_2,i}$	Concentración de oxígeno para cada estado pseudo-estacionario, $mg L^{-1}$
$C_{G,CO_2,s}$	Concentración de CO_2 en fase gas en la entrada del reactor , $mg L^{-1}$
$C_{G,CO_2,e}$	Concentración de CO_2 en fase gas en la salida del reactor , $mg L^{-1}$
C_{L,CO_2}^*	Concentración en equilibrio del dióxido de carbono, $mg L^{-1}$
C_{L,CO_2}	Concentración de CO_2 en el seno de la fase líquida, $mg L^{-1}$
C_{CIT}	Concentración de carbono inorgánico total, $g L^{-1}$
$C_{HCO_3^-}$	Concentración del ion bicarbonato, $g L^{-1}$
$C_{CO_3^{2-}}$	Concentración del ion carbonato, $g L^{-1}$
C_{H^+}	Concentración de protones, $mol L^{-1}$
C_D	Coefficiente de arrastre, adimensional
D_{O_2}	Coefficiente de difusión para el oxígeno, $m^2 s^{-1}$
D_{CO_2}	Coefficiente de difusión para el dióxido de carbono, $m^2 s^{-1}$
D_{az}	Coefficiente de dispersión axial, $m^2 s^{-1}$
d_b	Diámetro de burbuja, m

d_t	Diámetro del tubo, m
E_a	Energía de activación, Kcal mol ⁻¹
E_d	Energía de desactivación, Kcal mol ⁻¹
F_G	Flujo de gas, L min ⁻¹
g	Gravedad, m ² s ⁻¹
H	Coefficiente de partición, definido como $H=H^*/RT$, adimensional
H^*	Coefficiente de Henry, atm·m ³ mol ⁻¹
h_G	Hold-up local de la fase gas, m ³ m ⁻³ reactor
h_{Ge}	Hold –up promedio de la fase gas, m ³ m ⁻³ reactor
h_L	Hold-up local de la fase líquida, m ³ m ⁻³ reactor
h_L	Hold-up promedio de la fase líquida, m ³ m ⁻³ reactor
I_0	intensidad de luz en la superficie del reactor, μmol m ⁻² s ⁻¹
I_{av}	Intensidad de luz promedio dentro del reactor, μmol m ⁻² s ⁻¹
k_0, k_1	Factor de frecuencia de Arrhenius, mg _{O2} g _b ⁻¹ s ⁻¹
K_a	Coefficiente de absorción de luz, m ² g _b ⁻¹
K_d	Coefficiente metabólico, h ⁻¹
K_I	Constante de inhibición de intensidad de luz, μmol m ⁻² s ⁻¹
K_{LaO_2}	Coefficiente volumétrico de transferencia de masa para el O ₂ , h ⁻¹
K_{LaCO_2}	Coefficiente volumétrico de transferencia de masa para el CO ₂ , h ⁻¹
K_s	Constante de irradiación, μmol m ⁻² s ⁻¹
k_1, k_2, k_3	Contantes de reacción en la solubilidad del CO ₂
K_1, K_2	Constantes de equilibrio
K_w	Constante de disociación del agua
L	Longitud del reactor, m

P	Presión, atm
Pe	Número de Peclet, adimensional
P _b	Productividad de biomasa, g _b L ⁻¹ h ⁻¹
P _{O₂,max}	Tasa máxima de fotosíntesis, mg _{O₂} g _b ⁻¹ s ⁻¹
PPFR	Tasa de fotones fotosintéticos, μmol m ⁻² s ⁻¹
r	distancial radial, m
r _{O₂,exp}	Tasa experimental de producción de oxígeno, mg _{O₂} g _b ⁻¹ h ⁻¹
r _{O₂,intr}	Tasa intrínseca de producción de oxígeno, mg _{O₂} g _b ⁻¹ h ⁻¹
r _{CO₂,exp}	Tasa experimental de consumo de dióxido de carbono, mg _{CO₂} g _b ⁻¹ h ⁻¹
Re _b	Numero de Reynolds para una burbuja, adimensional
T	Temperatura, K
t	Tiempo, min
u _{Ge}	Velocidad media de la fase gas, m s ⁻¹
u _G	Velocidad local de la fase gas, m s ⁻¹
u _{Le}	Velocidad media de la fase líquida, m s ⁻¹
u _L	Velocidad local de la fase líquida, m s ⁻¹
u _{slip}	Velocidad en la interfaz gas-líquido, m s ⁻¹
Y _{b/O₂}	Rendimiento de biomasa a oxígeno, g _b g _{O₂} ⁻¹
V _R	Volumen del reactor, m ³
z	Dirección axial, m

Símbolos griegos

ρ _L	Densidad de la fase líquida, Kg m ⁻³
ρ _G	Densidad de la fase gas, Kg m ⁻³
η _L	Viscosidad dinámica de la fase líquida, cP

θ	Tiempo, adimensional
σ_{θ}^2	Varianza adimensional
σ_t	Varianza, s ²

Introducción

En la actualidad existe conciencia de la problemática del cambio climático ocasionado por los gases de efecto invernadero, sus orígenes, del papel que la actividad humana ha jugado y de las graves repercusiones que enfrentará la humanidad. Se prevé que existirá un aumento en la demanda de energía/combustibles y existe preocupación por el aumento en las emisiones de efecto invernadero. Adicionalmente existe gran incertidumbre en la industria petrolera, respecto a las reservas y existe gran interés por el uso de fuentes alternativas y renovables de energía.

El uso de biocombustibles obtenidos a partir de biomasa se plantea como una alternativa para, reducir de manera intensiva, las emisiones de dióxido de carbono, que es el principal gas de efecto invernadero, y contribuir, a través de una menor afectación al medio ambiente, a satisfacer la demanda creciente de combustibles.

La producción de biomasa a partir de microalgas es una alternativa con la que podría ser viable desarrollar proyectos tecnológicos en México para reducir las emisiones de dióxido de carbono (CO₂) y elaborar combustibles renovables de tercera generación. Las microalgas son microorganismos fotosintéticos que convierten el CO₂ en biomasa que puede usarse para la obtención de alimentos y productos de alto valor agregado en la industria farmacéutica. Entre los diferentes tipos de combustibles, que pueden obtenerse de ellas, se encuentran: el biodiesel (ésteres de ácidos grasos) a partir del aceite extraídos de la microalga, la producción de metano por procesos de digestión anaerobia en la biomasa microalgal, o la producción de hidrógeno a partir de procesos fotobiológicos (Chisti, 2007).

Las microalgas presentan una alta productividad por unidad de área de cultivo, alta área (m²/m³ de reactor) interfacial líquido-sólido, alta eficiencia fotosintética, una alta tasa de crecimiento en comparación con la biomasa producida por algunos cultivos oleaginosos, así como la capacidad de crecimiento en condiciones no aptas para el cultivo de alimentos, esto la hace una fuente de materia prima promisoría para la producción de aceite. Por otra parte, la producción de biomasa puede coadyuvar a reducir significativamente las emisiones de CO₂ emitidas a la atmósfera por procesos industriales. Esto, combinando la alta capacidad de las

microalgas para la fijación biológica de CO₂ con las emisiones de gas provenientes de procesos de combustión; en concentraciones de CO₂ aptas para el crecimiento de algas. Sin embargo, a pesar de que actualmente existe investigación sobre diferentes especies de microalgas, los costos actuales son altos para aplicaciones en la producción de biocombustibles.

Por lo tanto es importante profundizar en el conocimiento sobre aspectos de ingeniería básica que permitan incrementar la productividad de biomasa, con la cual se podría disminuir los costos de inversión y de operación del proceso. Dentro de los sistemas de cultivo, los fotobiorreactores pueden proveer condiciones para el desarrollo de microalgas, sin embargo se requiere contar con una representación lo más precisa posible de los fenómenos biológicos como lo es la fotosíntesis (el crecimiento, producción de oxígeno, fotoinhibición ó fotolimitación) y los aspectos físicos más relevantes como la hidrodinámica, la transferencia de masa, la distribución de la luz y la frecuencia de ciclos luz-oscuridad, (Luo y col., 2003). Por lo tanto, es fundamental evaluar dichos fenómenos e incluirlos en una representación teórica que incluya, los aspectos físicos que permitan: a) escalar los experimentos de laboratorio a nivel industrial, b) validar el modelo matemático y c) diseñar el equipo y simular el proceso.

En el presente trabajo se explora:

- a) el uso de una estrategia experimental, a través del estudio de la respuesta dinámica del sistema ante perturbaciones en la intensidad de luz, en la concentración de CO₂, en la velocidad superficial de gas y en la frecuencia de ciclos luz-oscuridad. para evaluar y cuantificar la actividad fotosintética de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* a través de determinaciones tanto de la tasa específica de producción de oxígeno como de consumo de CO₂ que permitan eventualmente la predicción de la productividad de biomasa de los sistemas y también
- b) se plantea y valida un modelo matemático que acopla parámetros cinéticos intrínsecos, hidrodinámicos y de transferencia de masa, para estimar la producción de oxígeno como respuesta de la actividad fotosintética y, con la estequiometría global de la reacción, la productividad de biomasa para diferentes intensidades de luz.

En el Capítulo 1 se presenta los fundamentos sobre la fotosíntesis en microalgas y sistemas de cultivo además de los aspectos relacionados con las principales bases de diseño de reactores para el crecimiento de microalgas y su operación incluyendo los principales aspectos que afectan la velocidad específica de crecimiento, la productividad de biomasa en reactores, y el estudio de estos factores a través de la tasa específica de producción de oxígeno y de la tasa de consumo de CO₂. Al final del capítulo 1 se plantea una sección de antecedentes directos relacionados con el trabajo previo del grupo de investigación. En el Capítulo 2 se plantea la justificación del trabajo y los objetivos de esta tesis. En el Capítulo 3 se describe la metodología y las técnicas analíticas que se emplearon de forma general en el presente proyecto. En los Capítulos 4, 5, 6 y 7 se reportan los resultados de las respuestas dinámicas ante los cambios: 1) en la intensidad de luz, 2) en la alimentación de CO₂, 3) en la velocidad de la fase gas y 4) en la frecuencia de ciclos luz-oscuridad, respectivamente durante el crecimiento de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*. En cada uno de estos capítulos se incluye una introducción específica, y los materiales y métodos utilizados en cada sección. Finalmente, en las conclusiones generales se exponen las aportaciones de la presente investigación al campo de estudio de los fotobiorreactores.

CAPÍTULO 1. Antecedentes

1.1 Microalgas

Las microalgas han recibido una atención especial por su alta capacidad de fijación de CO₂ y la generación de productos de valor agregado a escala comercial. Por ello, a continuación se describen algunos fundamentos y conceptos sobre el crecimiento de microalgas y la acumulación intracelular de lípidos en las mismas.

Las algas son un grupo diverso de organismos acuáticos, fotosintéticos, generalmente clasificados como macroalgas y microalgas. Las algas pueden ser, en función de su hábitat, de agua dulce o de agua marina. Las macroalgas son organismos eucariotas, es decir, con un alto grado de organización celular interna, que incluyen una membrana celular, un núcleo que contiene el material genético y diferentes organelos internos. Las microalgas son generalmente unicelulares e incluyen organismos eucariontes y procariontes (cianobacterias). Estos últimos son células sin núcleo celular diferenciado (Rosenberg y col. 2008). Las microalgas, como el nombre lo indica, son microscópicas (2-10 μm). Muchas de ellas son unicelulares y pueden ser móviles o inmóviles dependiendo de la presencia de flagelos.

Una de las características adaptivas que presentan las microalgas planctónicas es la capacidad de adsorber rápidamente los nutrientes y acumularlos intracelularmente para su reproducción y mantenimiento celular. La nutrición es por adsorción iónica de C, H, O, N, P, S, K, Ca, Fe y Mg y de cantidades traza de Mn, B, Co, Cu, Zn y Mo, sin embargo, para algunas especies son necesarias otras moléculas inorgánicas y orgánicas complejas, incluyendo la vitamina B₁₂. De los grupos que conforman el fitoplancton, las pertenecientes a las divisiones *Cyanobacteria*, *Chlorophyta*, *Heterokontophyta* y *Euglenophyta* son las más comunes en aguas dulces, mientras que las *Bacilliarophyta*, las *Dinophyta* y las *Haptophyta* abundan en el mar (Lara, 1996). En determinadas condiciones las microalga puede aumentar casi el doble de su masa celular, en periodos de 24 horas, y durante su fase de crecimiento exponencial, hasta en 3.5 horas (Chisti, 2007).

1.2 Fotosíntesis

El proceso por el cual las microalgas sintetizan carbohidratos es denominado fotosíntesis y requiere energía solar (espectro de luz visible: longitud de onda de 400-700 nm), dióxido de carbono, y nutrientes para producir glucosa y oxígeno. La fotosíntesis es un proceso de óxido-reducción en el que existe una transferencia de electrones y se lleva a cabo en los cloroplastos de las células fotosintéticas. El agente reductor es el agua y la molécula que se reduce es el dióxido de carbono, que acepta electrones del agua para transformarse en glucosa ($C_6H_{12}O_6$). Sin embargo, la transferencia de electrones del agua al CO_2 requiere de un aporte de energía de al menos 686 Kcal. La energía para llevar a cabo dicha transferencia proviene de la luz solar, que en forma de cuantos de energía o fotones es capaz de activar los fotosistemas de las células (Lara y col., 1996).

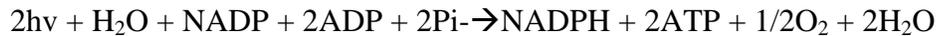
1.2.1 Fase luminosa

La transferencia de electrones comienza con la clorofila (fotosistema I), en las membranas tilacoides de los cloroplastos. Un fotón de suficiente energía puede impactar con uno de los electrones periféricos de la molécula y desprenderlo. El electrón desprendido es altamente energético y se mueve a través de una cadena de enzimas transportadoras, liberando su energía. Una de éstas es el $NADP^+$ (fosfato de nicotinamida adenín-nucleótido oxidado), que al recibir un electrón se reduce a NADPH. Si no hay $NADP^+$ disponible, los electrones retornan a la molécula de clorofila a través de otros transportadores del grupo de los citocromos. La energía liberada por el electrón al regresar a su estado fundamental en parte se almacena como ATP (adenosín-trifosfato) y en parte es emitida como fluorescencia. La producción de ATP a partir de ADP (adenosín-difosfato) y Pi (radical fosfato) se llama fosforilación. El papel del fotosistema I es, en síntesis, la fotofosforilación y la reducción del $NADP^+$.

A diferentes longitudes de onda, otro fotosistema (II) puede ser excitado por la luz para desprender un segundo electrón. En las clorofitas y en las plantas terrestres este fotosistema está constituido por la clorofila *b* y un pigmento denominado P680. Lo mismo que en el

fotosistema I, este electrón de alta energía es transportado a través de una cadena de enzimas, produciendo fosforilación en el trayecto. Este segundo electrón es utilizado para llenar el hueco electrónico dejado por el primer electrón en el fotosistema I. De esta manera, la clorofila *a* recupera su electrón y vuelve a sus estado fundamental para ser nuevamente excitada. A su vez, el hueco electrónico del fotosistema II es llenado por otro electrón que proviene de la fotólisis del agua (Richmond, 2004).

En síntesis, la función del fotosistema II es la producción de oxígeno a partir del agua. En lo sucesivo, la luz solar no es necesaria para el proceso, por lo cual la siguiente etapa se denomina fase oscura. Lo que hasta el momento se ha descrito se puede expresar en la reacción:



1.2.2. Fase oscura

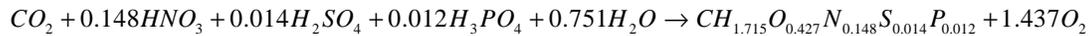
En el estroma del cloroplasto, el NADPH y el ATP producidos en la fase luminosa almacenan la energía luminosa en forma de enlaces químicos. Ambas son moléculas capaces de transferir su energía para la formación de nuevos enlaces moleculares. De hecho, se utilizan en la fase oscura para la reducción del CO₂ a glucosa. La ribulosa-1,5-difosfato, un azúcar de cinco átomos de carbono, se une al CO₂ para que, a través de una serie de reacciones en las que se utiliza la energía del ATP y el NADH, se forme glucosa, de 6C. La ecuación global en la fase oscura es:



Posteriormente, la regeneración de la ribulosa 1,5 difosfato pasa por un proceso de transformaciones químicas denominado ciclo de Calvin, que parte de dos moléculas de fructuosa-6-fosfato y dos de glucosa-6-fosfato (Richmond, 2004).

1.2.3 Estequiometría de la fotosíntesis

La formulación estequiométrica de la reacción global de la fotosíntesis corresponde a la relación de conservación de la materia de los elementos C, H, O, N, S, P, entre otros, y de su interacción en el metabolismo celular. Si se procede de un análisis elemental de la biomasa seca de una microalga, en particular, se puede establecer una fórmula química promedio para dicha microalga. Los cálculos son efectuados considerando 1 mol (o un átomo-gramo) de carbono, para obtener una fórmula elemental C-molar. Después, se equilibra la ecuación estequiométrica para obtener las proporciones que relacionan los principales constituyentes entre ellos. Así, por ejemplo, la medición de la composición elemental de la *Neochloris oleabundans* ha sido determinada (Richmond, 2004). Y con base a esto se ha reportado la siguiente ecuación estequiométrica:



A partir de la composición elemental de la biomasa, la cantidad de carbono es de 23.45 g C-mol⁻¹. Esta relación es práctica, si se conoce la velocidad específica de crecimiento, se pueden deducir las otras velocidades de reacción para los otros elementos, a partir de los rendimientos molares. Se puede observar que por cada mol de CO₂ que se consume se producen aproximadamente 1.4 moles de oxígeno.

1.3 Acumulación de lípidos en microalgas

Además de mostrar alta productividad de biomasa, las microalgas acumulan altos niveles de lípidos y pueden ser consideradas como materia prima en la producción de biodiesel. En estudios realizados por Sheehan y col., (1998) se presenta el desarrollo de métodos para la producción de biomasa con alto contenido de lípidos para diferentes especies de microalgas.

El laboratorio nacional de energía renovable (conocido por sus siglas en inglés como NERL), realizó un amplio estudio de caracterización bioquímica sobre una población de 3,000 cultivos de alga incluyendo diatomeas (*Bacillariophyceae*), algas verdes (*chlorophyceae*), y algas verde-azules (*Cyanophyceae*). Principalmente, para determinar la acumulación de lípidos en la

célula, las mejores especies fueron: la *Chlorophyceae* (alga verde) y la *Bacilliarophyceae* (diatomea). Ambos microorganismos muestran alta productividad de biomasa, alta capacidad de crecimiento a gran escala y una gran acumulación de lípidos en condiciones de estrés de nutrientes. En el caso de las diatomeas (del género *Amphora*) limitando la disponibilidad de Si (sílice polimerizada), componente de la pared celular, se puede inducir la acumulación de aceite. Por el contrario, las microalgas verdes (*Neochloris oleoabundans*, *Scenedesmus obtusiusculus*, *Chlorella* y *Botryococcus baunii*), acumulan mayor cantidad de lípidos por limitación de la fuente de nitrógeno (Rosenberg y col., 2008; Toledo-Cervantes y col., 2013). Sin embargo, el nitrógeno es un componente principal en varias moléculas celulares, por lo tanto, inducir la limitación de fuente de nitrógeno genera una respuesta muy compleja, que afecta a la fotosíntesis, síntesis de ácido nucleicos y de proteínas, y otros procesos bioquímicos. En comparación con el Si, este compuesto no interviene en procesos intracelulares, así que la respuesta debido a la limitación de Si debería ser más simple de estudiar y de controlar (Sheehan, y col., 1998). La desventaja de cultivar diatomeas es el alto costo que implica el suministro de Si en el medio de cultivo, para el crecimiento de biomasa.

Por ello, se debe estudiar con más detalle la complejidad de las rutas metabólicas en los microorganismos fotosintéticos, bajo condiciones de limitación. Considerando que la limitación de nutrientes en el medio de cultivo causa una disminución en la actividad del crecimiento celular. En general, inducir la limitación de nutrientes para estresar la célula y acumular una mayor cantidad de lípidos repercute en una disminución significativa en la productividad de biomasa (Sheehan y col., 1998). Estudios por Sheehan y col., (1998) sugieren que un mejor entendimiento de la cinética del proceso metabólico podría ser crítico y permitiría identificar el paso de reacción donde la productividad de biomasa y los niveles de acumulación de lípidos son óptimos.

1.3.1 Biosíntesis de lípidos

Una célula viva comprende un gran número de compuestos diferentes y de metabolitos. De estos, el agua es el componente más abundante que integra casi el 70 % de todo el material celular. El resto de la masa celular, usualmente referida como biomasa celular por peso seco,

se distribuye principalmente entre las macromoléculas de DNA, ácido ribonucleico (RNA), proteínas, lípidos y carbohidratos. La síntesis y organización de estas macromoléculas en el funcionamiento celular ocurre por varias reacciones interdependientes. Los precursores para la síntesis de estas macromoléculas son compuestos de bajo peso molecular con alta tasa de reacción, los cuales se renuevan constantemente por la síntesis bioquímica de metabolitos derivados de la glucosa ó de alguna otra fuente de carbono.

Los ácidos grasos más comunes en los lípidos contienen de 16 a 18 átomos de carbono y son saturados o tienen uno o más dobles enlaces (ácido palmítico (C16:0), ácido palmitoleico (C16:1), ácido esteárico (C18:0), ácido oleico (C18:1), ácido linoleico (C18:2), ácido linolénico (C18:3)). El precursor para la síntesis de ácidos grasos es la acetil CoA. Los ácidos grasos C₁₆ a C₁₈ se forman por adición consecutiva de dos átomos de carbono a la cadena de crecimiento. Estas unidades de dos carbonos se derivan de la molécula de malonil CoA (de tres carbonos), la cual a su vez se forma a partir de la acetil CoA. En el trabajo presentado por Dorval y col. (2009) se muestra la ruta global de biosíntesis de triacilglicéridos (TAGs) en las células, la cual comprende tres etapas principales: 1) carboxilación de la acetil-CoA para formar malonil-CoA; 2) la elongación de la cadena acil; y 3) la formación de TAGs. En el caso de los eucariotas, la formación de los TAGs se lleva a cabo en organelos especializados, como las mitocondrias. En cambio, en las células procariontas, la síntesis de TAGs se efectúa en el citoplasma. La primera etapa de la síntesis de TAGs es la reacción (acilación) del glicerol-3-fosfato (G3P) con un acil-CoA para formar lipofosfatidato (LPA, por sus siglas en inglés), que es catalizado por una acil-CoA-glicerol-sn-3-fosfato acil transferasa (GPAT, por sus siglas en inglés). Esta enzima exhibe una actividad específica en la ruta de síntesis de TAGs y ha sugerido ser una etapa limitante (Dorval y col., 2009). El LPA reacciona nuevamente, mediante la interacción por la GPAT, con otro acil-CoA para producir fosfatidato (PA, por sus siglas en inglés). Posteriormente el PA puede ser desfosforilado por un ácido fosfatídico fosfatasa (PAP, por sus siglas en inglés) para producir diacilglicerol. La etapa final de la síntesis es catalizada por la acil-CoA-diacilglicerol acil-trasferasa (DGAT, por sus siglas en inglés), la cual incorpora el tercer acil-CoA dentro de la molécula de

diacilglicerol para la obtención de los triacilgliceridos. Los TAGs pueden ser posteriormente almacenados en la célula.

1.4 Sistemas de cultivo

Los sistemas de cultivo para microalgas se clasifican en sistemas abiertos y cerrados; los sistemas abiertos, en los que el cultivo está expuesto a la atmósfera, incluyen estanques poco profundos, canales abiertos, estanques circulares y tipo carrusel, por otra parte los sistemas cerrados incluyen diferentes geometrías y comúnmente se denominan fotobiorreactores, en los que el cultivo tiene poco o ningún contacto con la atmósfera, estos sistemas representan los únicos métodos para la producción de microalgas. Por ello, en esta sección se exponen los antecedentes más relevantes en torno a la producción de biomasa microalgal, utilizando: 1) sistemas abiertos usados en el proceso convencional y 2) a los fotobiorreactores como una alternativa promisoriosa con la que se podría aumentar la productividad de biomasa

1.4.1 Sistemas Abiertos

Los cultivos abiertos comprenden sistemas naturales (lagos, lagunas, estanques), artificiales, de superficie inclinada y estanques tipo circuito (“raceway ponds”), estos últimos son los más utilizados (Figura 1.1). Los estanques de tipo “raceway” consisten en circuitos de 15 a 30 cm de profundidad, en los cuales gira una propela a una revolución constante para inducir el mezclado en el cultivo. Este tipo de sistemas presenta una baja productividad de biomasa ($10\text{-}25\text{ g m}^{-2}\text{ d}^{-1}$) y tiempos de operación prolongados, en el orden de semanas, para alcanzar concentraciones alrededor de 1 gL^{-1} . Estos, son utilizados para la producción de productos alimenticios y en el tratamiento de aguas residuales (Pulz, 2001). Las ventajas que presentan los sistemas abiertos (Tabla 1.1) son el bajo costos de inversión, de operación y de mantenimiento, sin embargo presentan problemas como una alta tasa de evaporación de agua, limitación por transferencia del CO_2 atmosférico al medio de cultivo, difícil control en las condiciones de operación y la susceptibilidad a contaminarse en tiempos cortos (Pulz, 2001; Chisti, 2007).

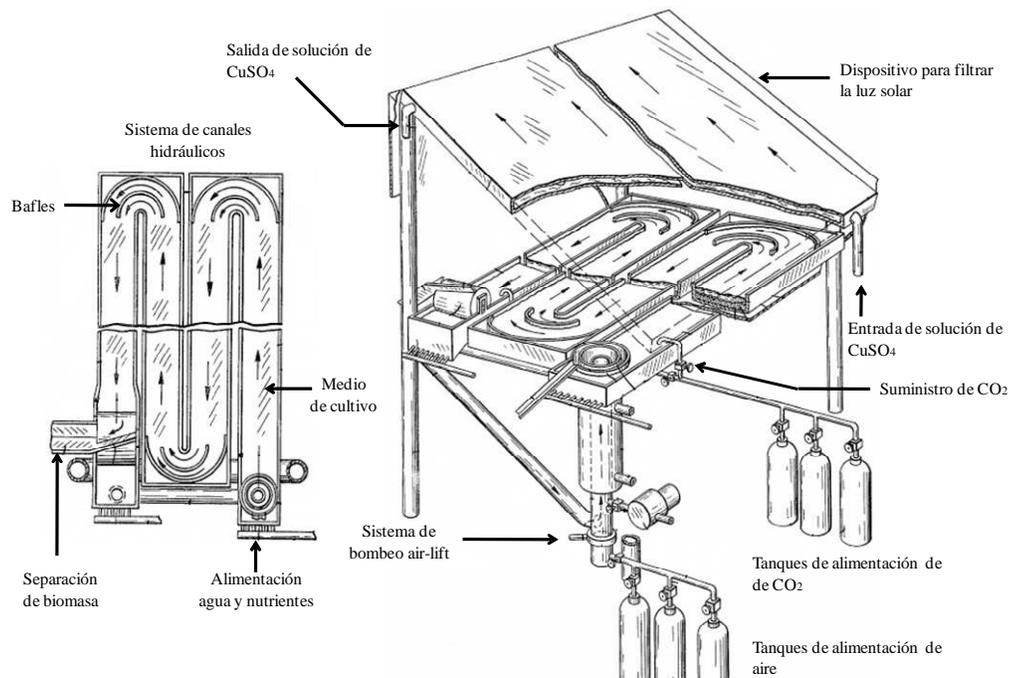


Figura 1.1. Representación esquemática de un proceso para el cultivo de microalgas (estanque abierto tipo circuito), en contacto directo con la atmósfera (Raymond, 1981).

1.4.2 Fotobiorreactores

Los sistemas cerrados o fotobiorreactores tienen diferentes configuraciones, entre las más usadas están las tubulares, helicoidales, paneles planos y columnas verticales (Tabla 1.1). Los fotobiorreactores tubulares consisten en una serie de arreglos de tubos horizontales (Figura 1.2a) y/o verticales (Fig. 1.2b) (para la captación de luz solar), una zona de desgasificación (para la separación de O₂ y suministro de CO₂) y un sistema de bombeo (de tipo mecánico o de tipo neumático) para circular el medio de cultivo a través del receptor solar. (Molina y col., 1999).

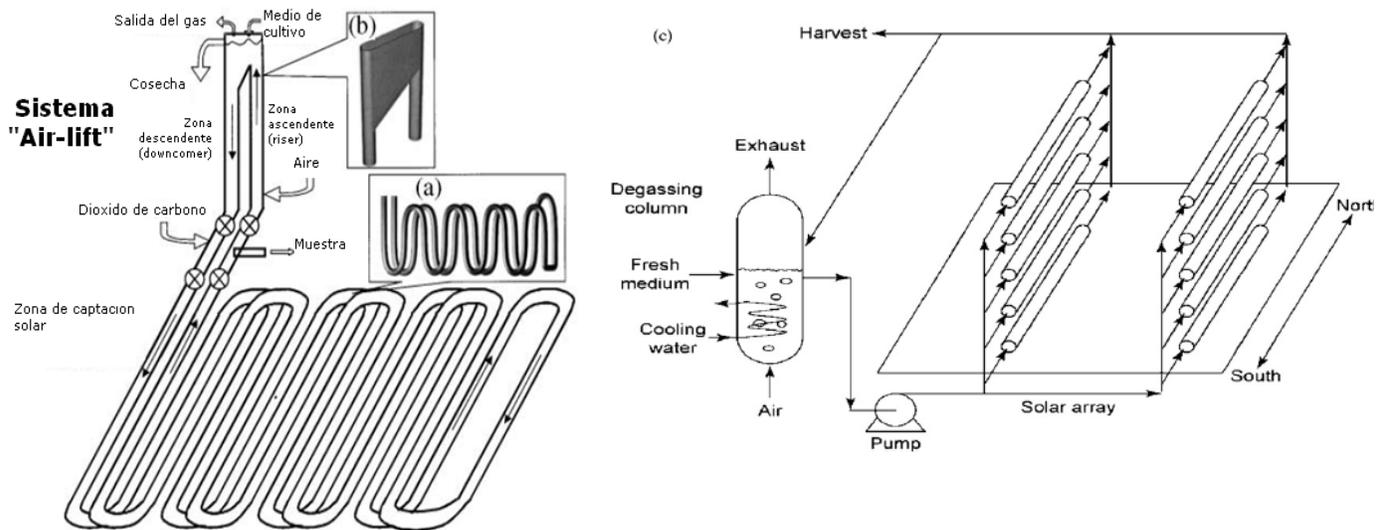


Figura 1.2. Representación esquemática de fotobiorreactores tubulares para el crecimiento de microalgas.

Los fotobiorreactores que se describen anteriormente son una tecnología atractiva para la producción de biomasa a escala industrial, además tienen las siguientes ventajas sobre la producción actual en sistemas abiertos: 1) mejor control de las principales variables de proceso, 2) perfil de temperaturas más uniforme, 3) mayor razón de área de superficie por volumen de reactor y 4) disminución de pérdidas de líquido por evaporación de agua. Una descripción más general sobre las principales ventajas y desventajas entre sistemas abiertos y fotobiorreactores de columna, de placas y tubulares se presenta en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1 Ventajas y desventajas en diferentes configuraciones de sistemas usados en el cultivo de microalgas.

Sistema	Ventajas	Desventajas
Abierto	<ul style="list-style-type: none"> • Construcción económica • Fácil mantenimiento • Bajo consumo de energía • Construcción a escala industrial 	<ul style="list-style-type: none"> • Baja productividad de biomasa • Se requiere grandes áreas para el cultivo • Limitados al cultivo de pocas especies • Bajo nivel de mezclado • Susceptible a contaminación
Fotobiorreactores con sistema de burbujeo		
Tubular	<ul style="list-style-type: none"> • Alta área de superficie iluminada • Alta productividad de biomasa • Relativamente económicos • Operación en condiciones externas 	<ul style="list-style-type: none"> • Difícil mantenimiento • Requiere grandes áreas de superficie • Baja transferencia de masa • Alta acumulación de O₂ • Sensible a efectos de fotoinhibición y fotooxidación • Gradientes de pH, O₂ y CO₂ en la fase líquida
Placa	<ul style="list-style-type: none"> • Alta área de superficie iluminada • Alta penetración de luz • Alta productividad de biomasa • Operación en condiciones externas • Baja acumulación de O₂ • Alta eficiencia fotosintética 	<ul style="list-style-type: none"> • Altos esfuerzos de corte • Difícil control de temperatura • Bajo nivel de mezclado • Adherencia de biopelícula en las paredes
Columna	<ul style="list-style-type: none"> • Bajos esfuerzos de corte • Bajo consumo de energía • Relativamente económicos • Alto nivel de mezclado • Bajos esfuerzos de corte • Fácil operación • Fácil control de variables • Alta tasa de transferencia de masa • Se reducen efectos de fotooxidación y fotoinhibición • Alta tasa de reacción por unidad de reactor 	<ul style="list-style-type: none"> • Baja área de superficie iluminada

1.5 Fotobiorreactores con sistema de burbujeo

A continuación, se presentan los antecedentes más relevantes en el desarrollo de la tecnología de reactores con sistema de burbujeo (Tabla 1.1) (tubulares, placas y columnas) con énfasis en el crecimiento de biomasa. La información existente sobre la tecnología de fotobiorreactores (FBR) aplicada al crecimiento de biomasa es relativamente escasa. Por ello, se acude también a revisar el conocimiento existente sobre otros procesos que comparten semejanzas con la tecnología de FBR, tales como los reactores de columna de burbujeo y de fluidización (las bases de diseño en estos sistemas está bien desarrollada).

1.5.1 Descripción general de un fotobiorreactor con sistema de burbujeo

Los reactores con sistema de burbujeo se usan ampliamente en la industria química y bioquímica en procesos de tratamiento biológico de aguas residuales, en fermentaciones y para el crecimiento de microalgas. En los reactores anteriores se cuenta con un sistema de mezclado por burbujeo, sin presentar un alto nivel de esfuerzo hidrodinámico que dañen a las células, esto en comparación con el mezclado inducido por la agitación mecánica que genera altos esfuerzos mecánicos en la superficie de los microorganismos. Este tipo de configuración, con alto grado de mezclado, ofrece un mejor control sobre el suministro de dióxido de carbono, la temperatura y el pH, y con esto una mayor productividad de biomasa por volumen de reactor (Anderson y col., 2003; Luo y col., 2003; Van Baten y col., 2003; Walter, 2008). En los reactores con sistema de burbujeo se pueden tener tres clasificaciones los denominados reactores de columna de burbujeo, los reactores air-lift con circulación neumática interna y los reactores air-lift con circulación neumática externa (lazo externo).

Por ejemplo, el funcionamiento de reactores air-lift con circulación neumática interna se basa principalmente en el diseño del sistema de alimentación de la fase gas, el cual es ensamblado en la parte inferior de la columna compuesta por dos cilindros coaxiales, (Fig. 1.3). El flujo de gas asciende como fase dispersa y el flujo de líquido como fase continua, a través del área de sección transversal de la zona concéntrica del sistema air-lift. En esta sección, el sistema funciona como una columna de burbujeo donde se lleva a cabo la transferencia de masa del

dióxido de carbono del gas al líquido y del líquido a las células, y la separación del oxígeno de la fase líquida a la fase gas. En la parte superior de la columna el dispositivo de desgasificación separa la fase gaseosa; la cual es enviada a una línea de salida y la fase líquida; y posteriormente pasa a un sistema de recirculación para descender (libre de burbujas) a través de la sección anular de la columna. En esta sección la microalga suspendida se expone a la luz para llevar a cabo el proceso de fotosíntesis dentro del reactor. La fuerza motriz generada por la diferencia de presión estática, entre la zona del flujo ascendente y la zona del flujo descendente, causa el movimiento de las fases a lo largo de la dirección axial de la columna y el mezclado macroscópico de naturaleza neumática (Van Baten y col., 2003) dentro del sistema.

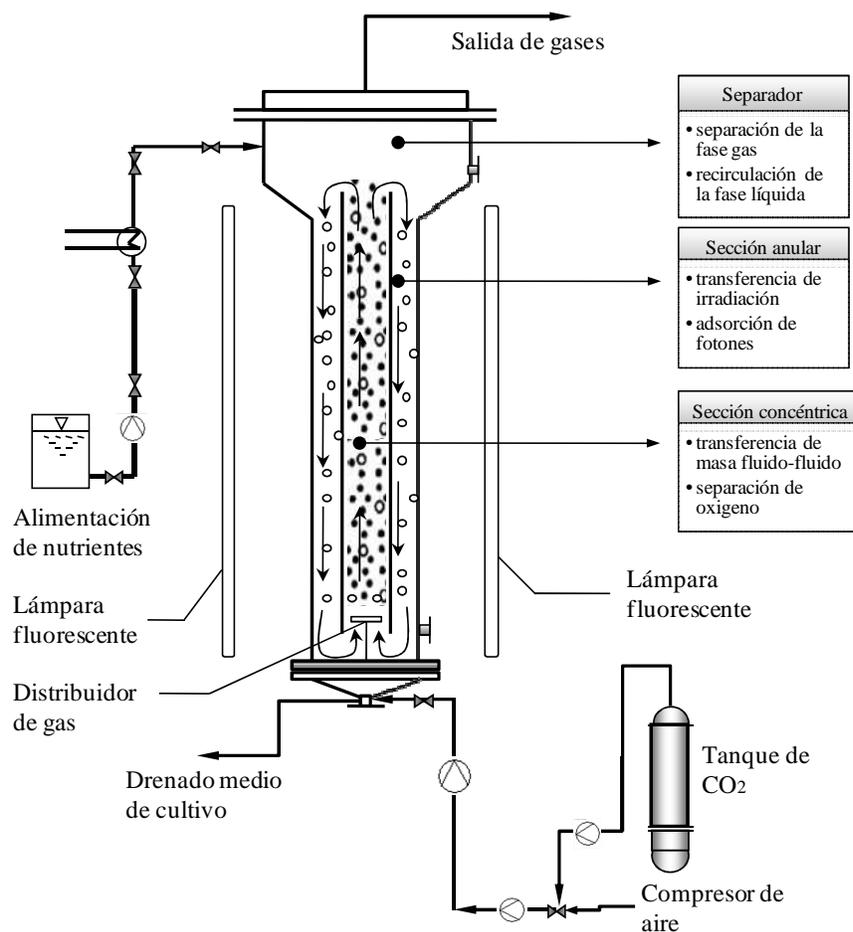


Figura 1.3. Representación esquemática del funcionamiento de un fotobiorreactor air-lift para la producción de biomasa.

A continuación se presentan algunas bases de diseño que se deben considerar para la construcción de fotobiorreactores con sistema de burbujeo.

1.5.2 Bases de diseño para un fotobiorreactor

De acuerdo a la revisión que se presenta, casi no existen criterios y parámetros establecidos que permitan diseñar fotobiorreactores. Tomando en consideración esto, a continuación se presentan algunas bases de diseño (Contreras y col., 2003; Molina y col., 1999) como son:

- La geometría de la columna debe considerar superficies con alta área superficial, para optimizar la transferencia de luz dentro del reactor.
- La geometría interna de la columna debe estimular la intensidad de turbulencia e inducir la generación de remolinos, para aumentar la frecuencia de las células a la exposición de luz.
- El sistema de iluminación artificial debe transmitir luz con longitudes de onda en el rango de 400-700 nm.
- La distancia óptica (dirección radial) debe estar en el intervalo de 1.5-2.5cm, para cultivos con alta densidad celular. Usar tramos cortos de tubería (30-60cm) para evitar inhibición del crecimiento por acumulación de O₂.
- Diseñar el sistema evitando cualquier posible sedimentación de la microalga, lo que puede ocurrir en determinadas circunstancias si se alcanza un flujo laminar en alguna zona del circuito hidráulico. En este sentido, se debe de realizar el diseño teniendo en cuenta que el número Reynolds debe ser superior a 4,000 para garantizar un caudal en régimen turbulento.
- El sistema de alimentación de la fase gas debe mantener en fluidización las fases fluidas, con un gasto mínimo de energía. Por ello, el diseño de un distribuidor debe asegurar una dispersión uniforme de las burbujas a través del área de sección transversal y una baja caída de presión en la dirección axial de la columna (Woods, 2007).
- La distancia entre el tubo externo y el tubo coaxial debe tener en un intervalo entre 3 y 5 cm, para inducir altas velocidades de circulación de la fase líquida (sin generar altos esfuerzos de corte) y evitar la formación de biopelícula en posibles zonas estancadas.

Además, en la patente registrada por Walter, (2008) se muestra el diseño de un fotobiorreactor para el cultivo de microorganismos fotoautotrófos, el cual pueden ser construido de forma simple, rápida y con bajos costos de capital. El autor sigue usando como material de construcción el polipropileno y polietileno para la construcción del reactor, ya que son materiales con buenas propiedades ópticas, de las que destaca; alta transmitancia de la luz visible al medio de cultivo, buena resistencia mecánica y larga durabilidad bajo condiciones ambientales. La construcción del reactor diseñado por el autor consiste de láminas flexibles, resistentes a la presión hidrostática generada por el sistema neumático. La geometría interna del sistema presenta una alta área específica por volumen de reactor. La alimentación de la fase gaseosa produce el movimiento de las fases en régimen turbulento, con un mezclado eficiente que induce la formación de remolinos en la superficie de la columna. Esta base de diseño proporciona una alta actividad en el proceso de fotosíntesis con bajo consumo de energía.

Walter (2008) describe también que es posible construir fotobiorreactores, con superficies rugosas y/o texturizadas para aumentar el área de superficie por volumen de reactor (a_s , m^2/m^3 de reactor), y con superficies que combinen lentes fresnel; que además de aumentar el área de superficie por volumen de reactor, estos concentran la luz y la emiten como rayos colimados hacia el medio de cultivo. El aumento en el área de superficie induce la formación de remolinos, esto mejora la penetración de la luz y optimiza el uso de la misma dentro de la sección anular del reactor (Walter, 2008).

Estudios empíricos reportados por Woods (2007) en columnas de fluidización para la producción de esteroides, de ácido acético, de proteínas, de cerveza, de levaduras, de bacterias y para el tratamiento de aguas residuales, sugieren la operación de reactores de columna de burbujeo (gas-líquido-microorganismos) en velocidades superficiales de gas del orden de $0.01-0.03 \text{ m s}^{-1}$, en este intervalo la columna opera en régimen de burbuja homogénea, alcanzando valores de volumen de retención de gas de casi 0.2 m^3 (volumen de gas) m^{-3} (volumen de reactor) y valores del coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $k_L a$ del orden de $1.8-36 \text{ h}^{-1}$. La alimentación de energía es de 0.01 a 3.5 KW m^{-3} , con tasas de transferencia de oxígeno (OTR, por sus siglas en inglés) alrededor de $3.3 \text{ g m}^{-3} \text{ s}^{-1}$, tiempos de mezclado de casi 200 s y hold-up de gas de $0.3 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$. Como regla heurística; para columnas

de burbujeo con partículas sólidas de diámetro menor a 100 μm , se puede considerar una fase pseudo-homogénea (sólido-líquido), mientras que para tamaños de partícula de diámetro mayor a 100 μm , se debe considerar la distribución axial de la fase sólida.

Para sistemas biológicos, Woods (2007) menciona que es preferible el uso de los reactores air-lift sobre los reactores de burbujeo, ya que los primeros promueven mejor el mezclado de las fases, la tasa de transferencia de oxígeno (OTR, por sus siglas en inglés) y disminuyen la intensidad de los esfuerzos de corte. El intervalo de valores del coeficiente volumétrico de transferencia de masa, $k_L a$ está en el orden de 36-360 h^{-1} , para potencias de alimentación de 0.5-1 KW m^{-3} y del orden de 36-90 h^{-1} , para potencias de alimentación de 0.2-0.5 KW m^{-3} . La relación de altura a diámetro de columna, H/D , en reactores air-lift es de 5 a 12 y los tiempos de mezclado de casi 80 s, esto con un volumen de retención de gas de casi 0.3 $\text{m}^3 \text{m}^{-3}$. La velocidad en ambos sistemas, columnas de burbujeo y columnas air-lift deben operar por arriba de la velocidad superficial crítica del gas para causar la fluidización de la fase sólida. Además, la velocidad del gas debe ser de 3 a 5 veces la velocidad de sedimentación de las partículas.

1.6 Factores que afectan la productividad de biomasa

La tecnología de fotobiorreactores requiere atención especial en los aspectos de las etapas de diseño de equipos, cinética de crecimiento, hidrodinámica, transferencia de masa, distribución de la irradiación, operación, dinámica de la columna en respuesta a variables exógenas del proceso y modelado matemático, ya que es considerablemente más complejo que en los reactores convencionales. Por ello, a continuación se presentan algunas características importantes que determinan la productividad de biomasa.

Algunos aspectos que influyen en la velocidad específica de crecimiento son: a) la intensidad de luz puede inducir fenómenos de limitación, de saturación y de inhibición en los fotosistemas (PSI y PSII), b) los cambios en la temperatura afectan la actividad enzimática en el metabolismo fotosintético y en el ciclo de Calvin, b) la concentración de CO_2 afecta el pH, el equilibrio químico de $\text{CO}_2/ \text{HCO}_3^-/ \text{CO}_3^{=}$ en la fase líquida y la tasa específica de consumo

de CO₂, c) la intensidad de turbulencia de la fase líquida puede ocasionar ruptura celular, d) la velocidad de la fase líquida afecta el mezclado macroscópico, la tasa de transferencia de masa y puede inducir cambios en la frecuencia de las células a la exposición de la luz y de la oscuridad, e) la tasa de transferencia de masa afecta el suministro de nutrientes y de dióxido de carbono del medio de cultivo a la microalga, y la separación de oxígeno que se genera por el proceso de fotosíntesis (Novakovic y col., 2005; Mirón y col., 2000; Molina y col., 1999), f) la limitación de la fuente de nitrógeno induce la acumulación de lípidos intracelular y afecta la actividad fotosintética de la microalga a cambios en las condiciones ambiente (Fig. 1.4).

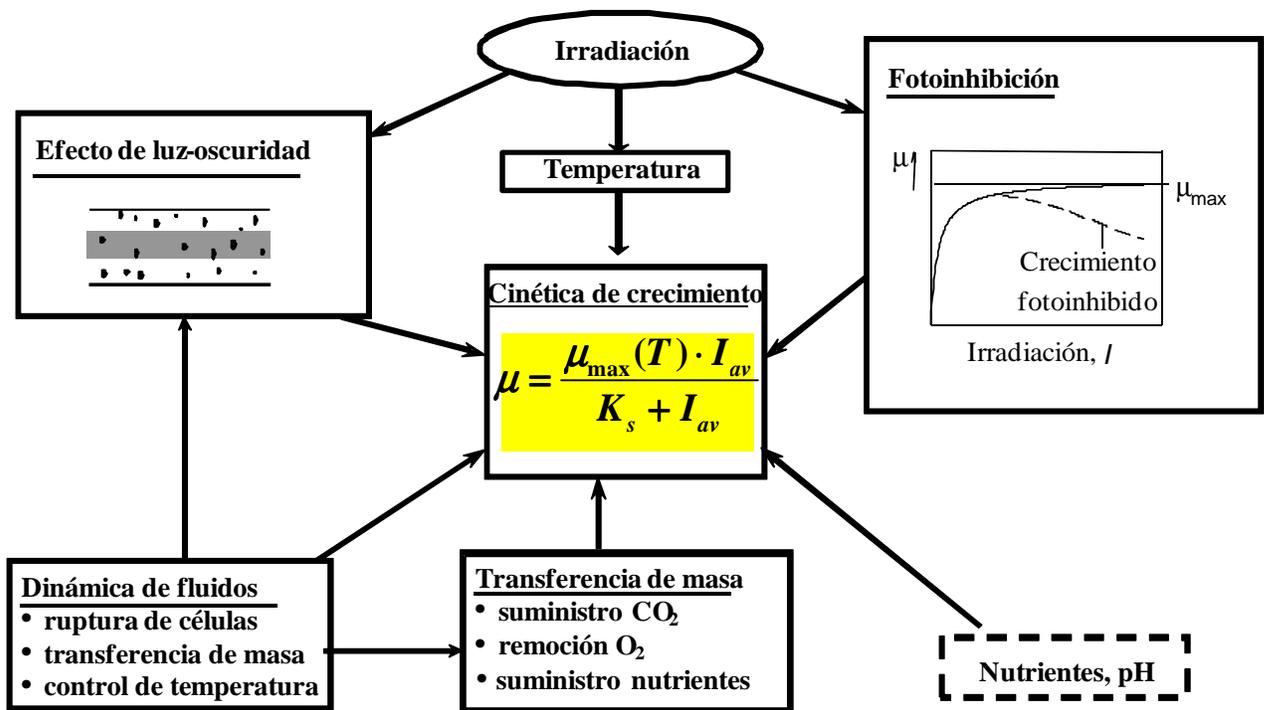


Figura 1.4. Factores que afectan la actividad de fotosíntesis y el crecimiento de biomasa en fotobiorreactores (adaptado de Chisti y col., 2006).

Debido al poco conocimiento y la complejidad de los fenómenos que influyen sobre la productividad de biomasa en fotobiorreactores, es importante cuantificar los principales parámetros físicos que afectan de manera directa el proceso de fotosíntesis y en consecuencia la velocidad específica de crecimiento, esto para un diseño y escalamiento propio del

fotobiorreactor (Sastre y col., 2007). Para ello, se utilizan técnicas experimentales y herramientas computacionales de Dinámica de Fluidos Computacional (CFD), para obtener parámetros globales. Si bien existen correlaciones que permiten determinar algunos de estos parámetros su aplicación para diferentes geometrías, escalas y condiciones de operación de reactores presenta incertidumbre (Van Baten y col., 2003; Shah y col., 1982) y por ello es recomendable su obtención experimental. A continuación se exponen algunos conceptos teóricos sobre los principales parámetros hidrodinámicos, de transferencia de masa y las consideraciones en la transferencia de energía por radiación. Estas características son importantes en el diseño y afectan las dimensiones del fotobiorreactor. Por lo que se describen a continuación.

1.7 Hidrodinámica y transferencia de masa

La eficiencia de un reactor de burbujeo gas-líquido-sólido está determinada por las propiedades geométricas del sistema y por las características hidráulicas y de transferencia de masa de las fases fluidas. Estas características son necesarias para conocer y describir estos sistemas. La consideración del régimen de flujo en los reactores trifásicos es de primordial importancia, ya que de éste dependen: las magnitudes de los coeficientes de transferencia de masa, las áreas de contacto gas-líquido y líquido-microalga, los volúmenes de retención de las fases fluidas y los coeficientes de dispersión axial para cada fase. El régimen de flujo a su vez depende de la velocidad superficial de la fase gas. Los regímenes de flujo pueden ser: flujo de burbuja homogénea, flujo turbulento y flujo de tipo Slug (Fig. 1.5). Puesto que la hidrodinámica y los coeficientes de transporte son dependientes de los patrones de flujo, es importante identificar y predecir los regímenes de flujo prevalecientes como una función de las variables de operación y propiedades físicas del sistema de interés.

Además, se debe considerar que los parámetros hidrodinámicos y de transferencia de masa influyen de manera determinante el rendimiento y selectividad de un reactor de columna de burbujeo (Shah y col., 1982; Shah y col., 1978; Fan, 1989).

1.7.1 Régimen de flujo de burbuja homogénea

Este régimen se caracteriza por la forma simétrica que presenta las burbujas que ascienden, a la misma velocidad, sobre el área de sección transversal de la columna y por la distribución homogénea de las mismas. Este régimen ocurre para velocidades superficiales de gas por debajo de 0.04 m s^{-1} (Krishna y col., 1995). Sin embargo, se debe tener en cuenta que la mayoría de los datos experimentales sobre mapas de regímenes de flujo en este tipo de columnas son obtenidos para sistemas aire-agua (Fig. 1.5).

1.7.2 Régimen turbulento

En altas velocidades superficiales de gas, la homogeneidad de las burbujas dispersas en la fase líquida que caracterizan a un régimen homogéneo no se puede mantener estable y, en consecuencia, fluctuaciones en el patrón de flujo producen fenómenos de canalamiento, de recirculación de las fases fluidas y de coalescencia entre las burbujas que fluyen dentro del reactor. Este régimen de flujo denominado heterogéneo y/o turbulento se caracteriza por burbujas de forma irregular y de gran tamaño, las cuales ascienden en altas velocidades, de forma preferencial, sobre el área de sección transversal de la columna. El movimiento de las burbujas se clasifica por su estructura que puede ser elipsoidal, esférica y/o semiesférica con interfaces muy flexibles y móviles. Esto, depende de las distintas fuerzas que predominan en el sistema, tales como: fuerzas superficiales, fuerzas viscosas o fuerzas inerciales, que actúan sobre las burbujas.

El régimen de flujo turbulento se puede alcanzar en velocidades superficiales de gas, u_G hasta casi a una velocidad de 0.36 ms^{-1} , la cual mejora el rendimiento del reactor para un determinado diámetro de columna. Por ello, en la práctica y en algunos casos, este régimen de flujo se prefiere (Krishna y col., 1995).

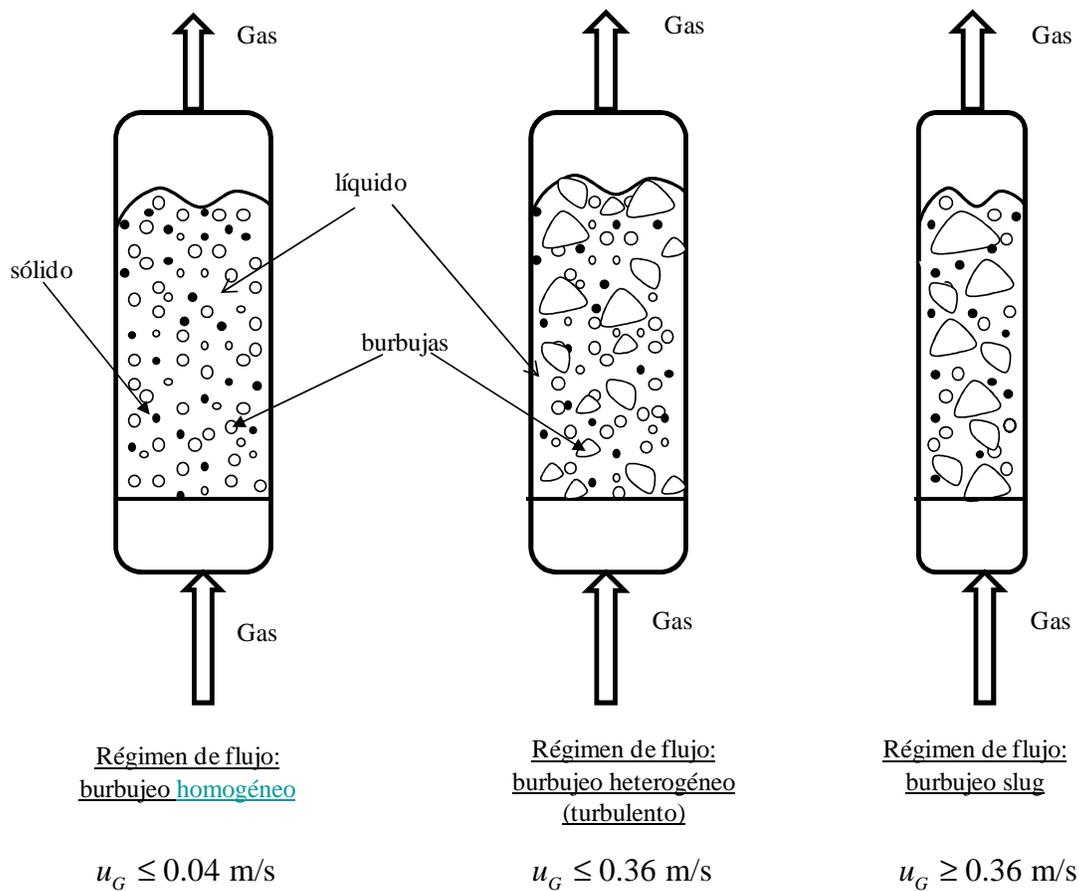


Figura 1.5. Representación esquemática de los regímenes de flujo presentes en columnas de burbujeo.

1.7.3 Volumen de retención de la fase gas

El volumen de retención de la fase gas, h_G , es uno de los parámetros más importantes que caracteriza la hidrodinámica en columnas de burbujeo, ya que éste está relacionado directamente con la velocidad mínima de fluidización y la velocidad terminal de la fase sólida. El volumen de retención de la fase gas se puede definir como el cociente del volumen ocupado por la fase gas entre el volumen total del reactor. Además, el h_G en relación con el diámetro promedio de burbuja, d_{vs} , definen el área interfacial disponible para la transferencia de masa entre la fase gas y la fase líquida.

1.7.4 Características de mezclado de las fases fluidas

El funcionamiento de una columna de burbujeo y/o de fluidización no solo depende de la cinética intrínseca del sistema químico o biológico, si no también y con frecuencia del comportamiento del flujo de las fases individuales. En el modelado es importante el grado de mezclado (macromezclado) de las fases individuales, el cual puede representarse por alguno de los límites ideales (flujo pistón, mezclado completo) o modelos de flujo no ideales. Algunas posibles causas de las desviaciones de la idealidad son, por ejemplo, fluctuaciones en el campo de velocidad debido a la difusión turbulenta y/o molecular, canalamiento, recirculación debido al mezclado, generación de zonas estancadas y la geometría del reactor (Shah y col., 1978). El modelo de flujo más cercano a la realidad se infiere del comportamiento de la distribución de tiempos de residencia (DTR) de las fases dentro del reactor. La DTR depende del tipo de equipo, geometría, dirección del flujo de las fases (cocorriente, contracorriente), las magnitudes de los flujos, propiedades de las fases y de la naturaleza de la distribución del gas y del líquido.

El mezclado de la fase líquida depende de la distribución y del tamaño de las burbujas gaseosas que ascienden a lo largo de la columna. Por esto, en casi la mayoría de reactores de burbujeo trifásicos la fase líquida tiene un alto grado de mezclado, que es inducido por la transferencia de momentum de la fase gaseosa a la fase líquida (Fan, 1989), esto se puede representar por modelos de dispersión axial (MDA).

1.7.5 Coeficiente volumétrico de transferencia de masa gas-líquido

Las características de transferencia de masa dentro de una columna de burbujeo tienen una importancia significativa en el comportamiento global del proceso. Esto, proporciona información sobre la tasa de transferencia de masa del gas al líquido y del líquido a la microalga, la cual influye directamente en la tasa de reacción del proceso biológico. El coeficiente global de transferencia de masa, $k_L a$, depende del área interfacial gas-líquido y de la velocidad efectiva de la fase líquida en el reactor. Para estimar el coeficiente de

transferencia de masa global del líquido se puede utilizar la correlación de Akita y Yoshida (1973), la cual cubre un amplio rango de condiciones de operación y de sistemas acuosos y orgánicos.

1.8 Transferencia de energía por radiación

La aproximación más empleada para representar la velocidad de crecimiento en microalgas considera expresiones cinéticas en función de la intensidad de luz promedio, I_{av} , (Molina y col., 1999). Por otra parte, el campo de distribución de irradiación depende de las coordenadas espaciales y de la temporal, con fenómenos de adsorción, emisión y dispersión de radiación dentro del medio de cultivo en un fotobiorreactor. Por ello, se debería considerar la ecuación de transferencia de energía por radiación (Cassano y col., 1995; Berberoglu y col., 2007), para obtener una mejor caracterización de la intensidad específica de luz (energía por unidad de tiempo, por unidad de área normal y por unidad de ángulo), que se pueda acoplar con velocidades cinéticas de crecimiento o de producción de oxígeno y a través de simulaciones poder representar las interacciones locales a las que están expuestas las células dentro del reactor (Cassano y col., 2008; Berberoglu y col., 2007; Wu y Merchuk, 2001). La siguiente ecuación representa la distribución espacial de irradiación en la dirección \vec{s} y considera, la dispersión de luz causada por los microorganismos y las burbujas de aire en un fotobiorreactor, la ecuación es unidimensional y en estado estacionario (Berberoglu y col., 2007) y es representada por:

$$\vec{s} \cdot \frac{\partial I_{\lambda}(z, \vec{s})}{\partial z} = -\kappa_{ef, \lambda} I_{\lambda}(z, \vec{s}) - \sigma_{ef, \lambda} I_{\lambda}(z, \vec{s}) + \frac{\sigma_{X, \lambda}}{4\pi} \int_{4\pi} I_{\lambda}(z, \vec{s}') \phi_{X\lambda}(\vec{s}', \vec{s}) d\Omega_i + \sigma_{ef, \lambda} I_{\lambda}(z, \vec{s}) + \frac{\sigma_{B, \lambda}}{4\pi} \int_{4\pi} I_{\lambda}(z, \vec{s}') \phi_{B\lambda}(\vec{s}', \vec{s}) d\Omega_i \quad (1.1)$$

Donde $I_{\lambda}(z, \vec{s})$ es la intensidad de irradiación en la dirección \vec{s} en un punto z (dentro de la columna), y $\kappa_{ef, \lambda}$ y $\sigma_{ef, \lambda}$ son el coeficiente efectivo de absorción y de dispersión, respectivamente. Los parámetros $\sigma_{X, \lambda}$ y $\sigma_{B, \lambda}$ son el coeficiente efectivo de dispersión del microorganismo y de la burbuja, respectivamente. La función fase de dispersión de los

microorganismos y de las burbujas, son $\phi_{X,\lambda}$ y $\phi_{B,\lambda}$ respectivamente. Estas describen la probabilidad de que la radiación se transporte en un ángulo $d\Omega_i$ alrededor de la dirección \vec{s}_i mientras se dispersa dentro de un ángulo sólido de $d\Omega$ alrededor de la dirección \vec{s} . El coeficiente de absorción efectiva $\kappa_{ef,\lambda}$ representa la absorción de luz en el medio de cultivo, esto en una longitud de onda λ específica (Berberoglu y col., 2007).

La ecuación 1.1 representa la transferencia de energía por radiación (Berberoglu y col., 2007) e involucra una ecuación integro-diferencial, la solución de la misma es compleja y difícil. Es por esto, que se han desarrollado soluciones que se aproximan al problema de radiación. La aproximación supone un campo de radiación isotrópico y homogéneo, lo cual reduce la ecuación de radiación a un sistema de dos ecuaciones diferenciales ordinarias, con solución analítica, que incluyen el coeficiente de dispersión y el de absorción de luz, este método fue usado por Cornet y col., (1992) en fotobiorreactores. La aproximación más empleada por investigadores en fotocatalisis heterogénea y en fotobiorreactores supone: 1) que toda la radiación incidente es absorbida por la suspensión y 2) que una expresión simple del tipo de la ley de Beer-Lambert describe este fenómeno dentro de la emulsión. La expresión de Beer-Lambert, la cual se puede derivar de la ecuación gobierno de transferencia de energía de radiación (ecuación 1.1), supone un estado estacionario, que los efectos de dispersión son despreciables, y que el transporte es monocromático y unidireccional.

De lo anterior, la información de hidrodinámica, transferencia de masa y de transferencia de energía por radiación es importante para el desarrollo de modelos matemáticos que permitan la simulación, la optimización y el control de procesos de producción de biomasa en fotobiorreactores, como se muestra en el siguiente esquema de diseño (Fig. 1.6).

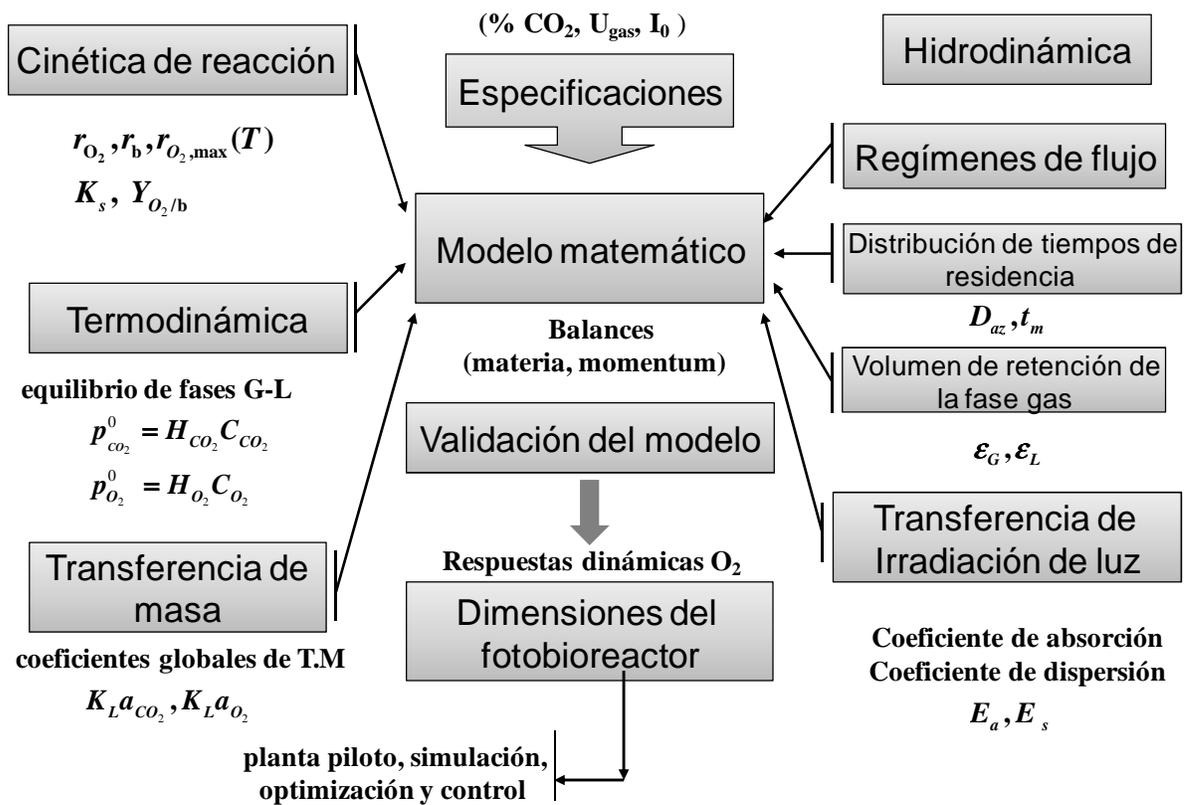


Figura 1.6. Esquema de diseño de fotobiorreactores para el crecimiento de microalgas.

En las secciones anteriores se describió el grado de avance sobre el conocimiento actual de los fenómenos que suceden en un fotobiorreactor para el crecimiento de microalgas. La importancia en determinar: a) el efecto de los principales factores sobre la velocidad específica de crecimiento (Fig. 1.4) y b) los principales parámetros biológicos y físicos que permiten cuantificar los fenómenos más representativos del sistema (Fig. 1.6); para el desarrollo de modelos matemáticos que se utilicen como herramienta en la simulación del proceso, el diseño del equipo y la obtención de condiciones de operación que mejoren la productividad biomasa. Sin embargo, para el primer caso, el estudio de las diferentes variables requiere experimentos en el orden de días y la velocidad específica de crecimiento es resultado de un efecto interdependiente de la actividad de fotosíntesis, la dinámica de fluidos, la transferencia de masa y la distribución de radiación dentro del reactor (Brindley y col., 2010; Luo et al., 2003). Para el segundo caso, y para simular procesos que representen con certidumbre el proceso, los

modelos matemáticos requieren la validación con información dinámica y/o en estado estacionario de variables respuesta durante la operación del sistema.

Una alternativa a lo antes mencionado es el uso de estrategias de operación a través de la perturbación de **variables exógenas** (intensidad de luz, velocidad de la fase gas, concentración de CO₂ en fase gas y frecuencia de ciclos luz-oscuridad) para evaluar y determinar la tasa específica de producción de oxígeno y la tasa específica de consumo de CO₂ como resultado de la actividad metabólica en la microalga. En estos experimentos las variables respuesta se encuentran en el orden de minutos y están relacionadas con la productividad de biomasa a través de la estequiometría global de la reacción de fotosíntesis (Brindley y col., 2010). Además, con dicha estrategia se obtendría información de diferentes estados dinámicos y estacionarios del proceso de fotosíntesis, que podría ser utilizada en la validación de modelos dinámicos que permitan estimar con certidumbre la productividad de biomasa. También, se podría desarrollar esquemas de control predictivo que permitan la implementación de controladores programables al sistema de medición y la automatización de la unidad experimental, para incrementar el tiempo de funcionalidad, la capacidad del proceso y el rendimiento (Hegde y col., 2007) de la producción de biomasa.

Finalmente, el éxito en la comercialización de la tecnología de producción de biomasa a partir de microalgas, radica en: la selección adecuada de una especie de microalga que presente una alta productividad de biomasa con alto contenido de lípidos, un mayor conocimiento en la ingeniería de fotobiorreactores para: el diseño, el desarrollo de modelos matemáticos, la simulación del proceso, la obtención de condiciones óptimas de operación y la implementación de estrategias de control automatización, y así reducir los altos costos de operación que presenta la tecnología de FBR's.

En la siguiente sección se describen los antecedentes directos del presente trabajo de investigación.

1.9 Antecedentes directos

Cuatro Ciénegas, Coahuila es un valle localizado en el centro del desierto de Chihuahua, el cual es considerado equiparable a las Islas Galápagos en biodiversidad. Esta zona está constituida por una serie de pozas y ríos, en las que coexisten diferentes comunidades microbianas incluyendo estromatolitos vivos. Estas estructuras están formadas por una comunidad microbiana que lleva más de 3,500 millones de años de coexistencia. El humedal de Cuatro Ciénegas, se encuentra actualmente en peligro de desaparición, debido a las sequías y la extracción del agua para el cultivo de alfalfa en las zonas aledañas. El estudio de una microalga proveniente esta zona con gran diversidad biológica representa una gran oportunidad para generar nuevo conocimiento sobre la producción de sustancias de interés biotecnológico (lípidos) en organismos resistentes a condiciones adversas.

Los trabajos previos del grupo de investigación (UAM-I y UAM-C) son:

En el trabajo de Toledo-Cervantes, (2010) se obtuvo una comunidad de microalgas proveniente de laguna Churince (26°50'25"N; 102°08'02"O) localizada a 19.5 Km al sur-oeste de Cuatro Ciénegas (Rodríguez-Almaraz *et al.*, 1997), la cual fue cultivada en fotobiorreactores para la fijación de CO₂. El cultivo de microalgas de Cuatro Ciénegas presentó una tasa de fijación de CO₂ de 0.95 gCO₂ L⁻¹ d⁻¹ (Toledo-Cervantes, 2010), lo cual es superior a lo reportado para otras microalgas. Se determinó el contenido total de lípidos, el cual estuvo entre 20-30% en relación a su peso seco. Además, se obtuvo una productividad de 0.5 g_b L⁻¹ d⁻¹, y se alcanzaron concentraciones de biomasa de alrededor de 6 g L⁻¹ (Toledo-Cervantes, 2010). Estos valores fueron similares a los reportados para una de las principales especies utilizadas en la producción de biodiesel, *Neochloris oleoabundans* (productividad de 0.63 g L⁻¹ d⁻¹), aunque la concentración máxima de biomasa fue de 3.15 g L⁻¹ (Li *et al.*, 2008a), ésta fue menor a la del cultivo de Cuatro Ciénegas.

En el trabajo de Toledo-Cervantes, (2014) se estudió la acumulación de lípidos en una microalga aislada de Cuatro Ciénegas, Coahuila y se identificó la especie morfológica y molecularmente como *Scenedesmus obtusiusculus* AT-UAM. La acumulación de lípidos que estudió fue en condiciones de limitación de nitrógeno utilizando tres estrategias. Los

resultados que obtuvo muestran que la microalga requiere de un suministro de 5% v/v de CO₂ en la fase gaseosa (flujo de 2 L min⁻¹), para acumular 49 ± 0.2 % en un periodo de 28 días. Y que, la estrategia de resuspender la biomasa en medio con limitación de nitrógeno, permitió obtener la máxima acumulación de lípidos (49 ± 2.45 %), a partir de los 4 días de cultivo. En experimentos para diferentes concentraciones de biomasa, obtuvo que para una concentración de 0.2 gL⁻¹ (mayor disponibilidad de luz), los lípidos fueron 52 ± 2.08 % con una productividad máxima de 0.15 ± 0.004 g_{Lip}L⁻¹ d⁻¹. Además, estudió el efecto de la intensidad de luz sobre la acumulación de lípidos y el perfil de ácidos grasos en columnas de burbujeo con un flujo de 1.5 L min⁻¹ al 5% CO₂. La concentración máxima de lípidos (1.73 g_{Lip}L⁻¹) y de productividad lipídica (0.24 g_{Lip}L⁻¹d⁻¹), fue a una irradiación de 343 μmol m⁻²s⁻¹, obteniendo 3.45 ± 0.32 gL⁻¹ de biomasa con un porcentaje de lípidos entre 50 y 54%, donde la mayor cantidad (>75%) correspondieron a ácido esteárico y oleico. También, en experimentos a la intemperie obtuvo que la microalga fue capaz de acumular 51.6% de lípidos (en una columna de burbujas con un volumen de operación de 1 L, a un flujo de 1.5 L min⁻¹ de gas con 5% de CO₂) en limitación de nitrógeno. Por último, determinó las mejores condiciones para la acumulación de lípidos, aplicando un método basado en la determinación de la actividad fotosintética mediante el cálculo de las tasas de producción de oxígeno, en limitación de nitrógeno y a diferentes temperaturas, irradiaciones y pH's. Las condiciones de acumulación de lípidos que obtuvo con el método antes descrito las probó (temperatura de 28.5 °C, irradiación de 200 μmol m⁻² s⁻¹ y pH de 5.5) en un reactor de placas planas (1.8 L volumen de operación) con control de temperatura y pH, utilizando medio BG11 2x sin fuente de nitrógeno. Bajo estas condiciones obtuvo la mayor concentración de lípidos y de productividad lipídica, 2.22 g_{Lip}L⁻¹ y 0.34 gL⁻¹ d⁻¹, respectivamente. Con lo anterior es posible clasificar a la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* AT-UAM como una de las más productivas, ya que acumula altas concentraciones de lípidos, contando además con un perfil bioquímico y de ácidos grasos de interés en la producción de biocombustibles.

En el trabajo de Sánchez, (2013) se estudió a la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* por su potencial en la acumulación en aceite y se evaluó la influencia de la intensidad luminosa y de la temperatura como factores críticos en sistemas que se operan a la intemperie y donde son expuestos a ciclos naturales de luz-oscuridad y variaciones de temperatura. Para esto,

determinó la actividad fotosintética de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* en condiciones controladas a través de mediciones de oxígeno producido variando la intensidad luminosa y la temperatura en rangos representativos de la operación a la intemperie. En estos experimentos observó que la máxima actividad fotosintética fue a 35°C y entre 300 y 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

También, realizó experimentos en un reactor air-lift con circulación neumática externa (lazo extendido) operando a la intemperie durante las cuatro estaciones del año observando que en primavera se presenta la mayor concentración de biomasa (5.2 g L⁻¹). En esta época observó un fenómeno de inhibición seguido por la adaptación de la cepa a las condiciones climáticas de alta intensidad luminosa (hasta 2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y altas temperaturas (hasta 47°C). También, que la microalga soportó condiciones extremas durante la operación a lo largo del año, en las que se registraron temperaturas desde los 0°C, registradas durante la época invierno y hasta los 47°C en primavera. Además, en estas condiciones realizó experimentos en limitación de nitrógeno, en los cuales obtuvo que la microalga fue capaz de acumular hasta un 30 % de lípidos con un perfil de ácidos grasos saturados y monoinsaturados en el rango de C16 a C18.

Con sus resultados se comprobó que es posible cultivar a *S. obtusiusculus* para su uso en la generación de biomasa microalgal en condiciones a la intemperie y como una alternativa para la generación de aceite.

CAPÍTULO 2. Justificación, hipótesis y objetivos

En la sección anterior se describieron los aspectos más importantes que se presentan en fotobiorreactores para la producción de biomasa a partir de microalgas. Así mismo, se discutió cómo la intensidad de luz, la concentración de CO₂, la velocidad de la fase gas y la frecuencia de ciclos L-O afectan de manera directa las condiciones a las que están expuestas las células y en consecuencia en la productividad de biomasa. Además, se presentó una estrategia de operación a través de perturbaciones en las variables exógenas que presenta una alternativa poco explorada y que permite determinar en experimentos cortos la tasa de producción de oxígeno y la tasa de consumo de CO₂ en respuesta a la actividad del proceso de fotosíntesis. También, la importancia en desarrollar modelos matemáticos que permitan representar la respuesta dinámica de la actividad fotosintética ante fluctuaciones en las variables exógenas y que se puedan relacionar con la productividad de biomasa. Por otra parte, se mencionaron los trabajos previos que se han realizado sobre la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* aislada de Cuatro Ciénegas, Coahuila por el grupo de trabajo de la UAM-C. De lo anterior, hasta el momento, no hay información de la tasa específica de fotosíntesis para la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*, obtenida a través de experimentos dinámicos inducidos por perturbaciones de variables exógenas, y el cómo ésta es afectada por aspectos hidrodinámicos y de transferencia de masa que suceden en un fotobiorreactor durante el crecimiento de la misma. Esto último podría contribuir en desarrollar la tecnología de producción de biomasa a partir de microalgas, ya que ésta radica principalmente en: 1) selección de nuevas especies, 2) diseño y operación de fotobiorreactores, 3) obtener condiciones que aumenten la productividad, y 4) control y automatización del sistema experimental.

En vista de las consideraciones expuestas, se proponen las siguientes hipótesis y objetivos para este proyecto de investigación.

Hipótesis

El análisis de la respuesta dinámica del fotobiorreactor ante perturbaciones de las variables exógenas y de los nuevos estados cuasi-estacionarios de producción de O₂ y de consumo de CO₂ permitirán, a través de experimentos cortos, conocer el efecto que pueden tener sobre la productividad de biomasa.

Objetivo General

Estudiar la respuesta dinámica de fotobiorreactores ante variables exógenas que afectan el crecimiento de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

Objetivos particulares

Para alcanzar los objetivos generales se proponen los siguientes objetivos particulares:

- Diseñar, operar e instrumentar un fotobiorreactor air-lift, de columna de burbujeo y de placas planas para estudiar la actividad del proceso de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.
- Caracterizar la actividad fotosintética ante cambios en la intensidad luminosa, concentraciones de alimentación de CO₂, velocidad superficial de la fase gas y ciclos de luz-oscuridad evaluando la respuesta dinámica.
- Desarrollar y validar un modelo matemático que integre la cinética de producción de O₂ como función de la temperatura y la intensidad luminosa, la transferencia de masa gas-líquido y la hidrodinámica del flujo burbujeante para estimar la productividad de biomasa.

Se pretende que con los objetivos anteriores se proporcione una visión integral del efecto de los factores más importantes en un fotobiorreactor para el crecimiento de microalgas, así como de su operación y comportamiento.

CAPÍTULO 3. Materiales y Métodos

A continuación se describen las técnicas analíticas generales que se emplearon de manera general para cumplir con los objetivos planteados. En cada una de las secciones de resultados se presentará los materiales y métodos específicos relacionados con los experimentos específicos.

3.1 Inóculo

Se utilizó la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*, ésta es una cepa promisoriosa para la fijación de dióxido de carbono y la acumulación de lípidos. Se cultivó por 2 semanas en un reactor de columna de burbujeo de 3 L con medio mineral BG-11 (Tabla 3.1), a una temperatura de 30°C, a un pH alrededor de 7.5 y con una iluminación continua de luz fluorescente (MAGG, 28 Watts, México) de $96 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. El reactor se alimentó con una mezcla de aire y CO₂ (3.8%) a una velocidad superficial de 0.014 m s^{-1} (con base en al área de sección transversal de la columna). Los experimentos sin limitación se refieren al medio BG-11 con la concentración normal de nitrógeno y con limitación es cuando el medio no contiene fuente de nitrógeno.

3.2 Medio de cultivo

Tabla 3.1. Composición del medio mineral BG11.

Reactivo	Peso (gr/L)	Metales traza (g)	
NaNO ₃	1.5	H ₃ BO ₃	2.86
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0.04	MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.81
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.075	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.222
EDTA	0.001	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.39
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.036	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.079
Cítrico	0.006	Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0.049
<i>Citrato de amonio férrico</i>	0.006	Agua destilada	1.0 L
Na ₂ CO ₃	0.02		
<i>Metales traza A5+Co</i>	1 ml		

3.3 Sistemas experimentales

Diferentes sistemas experimentales se usaron en cada una de las etapas del desarrollo de esta tesis entre los que se incluyen:

- Minifotobiorreactor (3.5 mL): en este sistema se estudió la influencia intrínseca de la intensidad de luz, el pH y la temperatura sobre la tasa de producción de oxígeno de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* (ver Fig. 4.2(c) y sección 4.3.3 donde se presenta una descripción de la misma)
- Minifotobiorreactor (100 mL): en este sistema se estudio la influencia de la temperatura, ante cambios en escalón de la intensidad de luz, sobre la histéresis aparente en la producción de oxígeno (ver Fig. 4.2(b) y sección 4.3.3 donde se presenta una descripción de la misma)
- Reactor air-lift-column de burbujeo de 20 L instrumentado (el esquemas técnico de diseño se muestra en el Apéndice A). Este sistema es versátil y permitió su uso con dos configuraciones:
 - Columna de burbujeo*: en este sistema se estudió la influencia de la concentración de CO₂ y de la velocidad superficial de la fase gaseosa sobre la tasa de consumo de CO₂ y de producción de O₂ (ver sección 5.2.1 donde se presenta una descripción detallada de la misma).
 - Columna airlift*: en este sistema se estudió la influencia de la intensidad de luz sobre la tasa de producción de oxígeno (ver Fig. 4.2(a) y sección 4.3.1 donde se presenta una descripción detallada de la misma).
- Reactor de placas planas: en este sistema se estudió la influencia de diferentes frecuencias de exposición a la luz y a la oscuridad sobre la producción de oxígeno y la productividad de biomasa. (ver Fig. 7.1 y sección 7.2.1 donde se presenta una descripción detallada de la misma).

3.4 Técnicas analíticas

Concentración de biomasa mediante peso seco

La concentración de biomasa microalgal en el medio de cultivo se determinó usando el método de peso seco. Para lo cual la biomasa producida a diferentes tiempos de cultivo se filtró, usando un matraz kitasato de 500 ml conectado a una bomba de vacío, en membranas de 0.45 μm de tamaño de poro. Las cuales fueron previamente llevadas a peso seco y pesadas. Posteriormente las membranas que contenían la biomasa se colocaron en una estufa a 50°C, durante 24 h, después de este tiempo se pesaron nuevamente y la cantidad de biomasa es calculada por diferencia de peso.

Determinación de ácidos grasos con Rojo de Nilo

El rojo de Nilo (7-diethylamino-3,4-benzophenoxazine-2-one) es un agente de tinción lipofílico, éste tiene una alta afinidad y sensibilidad al grado de hidrofobicidad de lípidos. El reactivo muestra cambios en el espectro de emisión desde el rojo hasta el amarillo, esto en presencia de lípidos polares (ácidos grasos, fosfolípidos) y no polares (triglicéridos), respectivamente. La determinación se realizó con muestras de 20 μl de medio de cultivo, a éstas se agregaron 100 μl de dimetilsulfóxido (DMSO) y se agitaron por un 1 minuto en un vortex, posteriormente se pusieron en un horno de microondas (100% de potencia) por 50 segundos, enseguida se agregaron 20 μl de Rojo de Nilo y se aforaron a 1 ml, se agitaron en un vortex por un minuto, por último fueron colocadas en el horno de microondas por 60 segundos y dejadas en reposo por 10 minutos en la oscuridad para medir la intensidad de fluorescencia emitida. El fluorómetro que se utilizó tiene un filtro en la banda de excitación de 485 nm y un filtro en la banda de emisión de 585 nm. Las unidades de lectura están dadas como Unidades de Referencia de Fluorimetría (URF).

Determinación del contenido de aceite por Soxhlet

La determinación del contenido de aceite en la microalga se realizó por el método de Soxhlet. En éste la biomasa seca fue previamente pesada y puesta en un dedal de extracción. El solvente se agregó en un matraz de extracción y se puso en el sistema Soxhlet. El aceite fue extraído con hexano como solvente durante 6 horas de operación del sistema. Una vez terminada la extracción, el solvente se recuperó por destilación. Finalmente el matraz fue pesado con el aceite y se calculó el porcentaje de aceite usando la siguiente ecuación.

$$\text{Aceite (\%)} = \left(\frac{(\text{peso matraz} + \text{aceite}) - (\text{peso matraz})}{\text{peso seco de biomasa}} \right) \times 100$$

Determinación de la concentración de N-NO₃ por espectrofotometría

La concentración de nitratos en la fase líquida se determinó por espectrofotometría en la región del ultravioleta, a una longitud de onda de 220 nm. Para las mediciones, se tomaron muestras del medio de cultivo, previamente filtradas a través de membranas de fibra de vidrio GFF (Whatman GFF), una segunda filtración fue requerida a través de una membrana de 0.2 µm. Una alícuota del filtrado se diluyó en función de la concentración de N-NO₃ (1:10 o 1:20). En seguida, y afín de eliminar las interferencias por los carbonatos a dicha longitud de onda, se agrega a la dilución 0.5 ml de HCL 1N. En seguida 1.5 mL de la solución fue colocada en la celda para la lectura en la región del ultravioleta. Las lecturas se efectuaron por triplicado en un espectrofotómetro (Perkin Elmer UV/VIS, Lambda 11) a 220 nm. Finalmente, la concentración de nitrógeno como nitrato (N-NO₃) se calculó a partir de una curva de calibración.

3.5 Expresiones matemáticas

La tasa velocidad específica de crecimiento fue determinada con:

$$\mu = \frac{\ln C_{bt} - \ln C_{bo}}{t - t_o}$$

La productividad de biomasa se calculó con:

$$P_b = \frac{C_{bt} - C_{bo}}{t - t_o}$$

donde C_{bo} es la concentración de biomasa (g L^{-1}) en el tiempo t_o (d) y C_{bt} es la concentración de biomasa en el tiempo t .

La actividad intrínseca de fotosíntesis en el minifotobioreactor (3.5ml) fue calculada con base en la producción específica de oxígeno, r_{O_2} ($\text{g}_{O_2} \text{Kg}_b^{-1} \text{h}^{-1}$) como:

$$r_{O_2} = \frac{1}{C_b} \frac{dC_{O_2}}{dt}$$

donde C_{O_2} es la concentración de oxígeno en la fase líquida ($\text{g}_{O_2} \text{L}^{-1}$).

En los siguientes capítulos se presentan los resultados dinámicos de los efectos por cambios en la intensidad de luz, en la alimentación de CO_2 , en la velocidad de la fase gaseosa y en la frecuencia de luz-oscuridad durante el crecimiento de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

Resumen

Los experimentos en estado transitorio permiten evaluar el efecto de variables exógenas sobre el proceso de fotosíntesis y el planteamiento de modelos dinámicos para el diseño de fotobiorreactores. En este capítulo se presenta el efecto de cambios en escalón, tanto ascendentes como descendentes, en la irradiación sobre la producción de oxígeno de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*, la cual se cultivó en un fotobiorreactor air-lift de 20L. La respuesta se determinó a diferentes tiempos de operación, para condiciones tanto de suficiencia en nitrógeno como en limitación de nitrógeno. Los resultados de la producción de oxígeno en estados pseudo-estacionarios, indicaron una aclimatación fotosintética a corto plazo, los valores más altos para los cambios escalón en el incremento fueron de 103 y 207 mg O₂ g_b⁻¹h⁻¹ para irradiaciones entre 141 y 505 μmol m⁻²s⁻¹ y una concentración de biomasa de 0.13 g_bL⁻¹. La respuesta fotosintética fue asimétrica para el incremento y el decremento en irradiación, lo anterior estuvo relacionado a las variaciones de temperatura que se generaron por el sistema de iluminación. Por otra parte, en condiciones de limitación de nitrógeno, la respuesta dinámica de fotosíntesis fue más lenta con relación a las condiciones de suficiencia de nitrógeno, para una concentración de biomasa de 0.5 g_b L⁻¹ y una irradiación de 505 μmolm⁻²s⁻¹. Además, se desarrolló un modelo matemático para predecir la respuesta dinámica de oxígeno y la productividad de biomasa. Las simulaciones, estimaron que a 35°C y una irradiación de 600μmol m⁻²s⁻¹ se obtuvo el valor máximo de la productividad de biomasa de 0.78 g_bL⁻¹d⁻¹.

4.1. Introducción

El cultivo de microalgas es una tecnología promisoría para la fijación biológica de dióxido de carbono y la generación de productos de alto valor agregado, que incluyen combustibles renovables (Chisti, 2007). Por ejemplo, el aceite extraído de algas puede usarse para producir biodiesel a través de transesterificación y gasolina a través de destilación y craqueo. Diferentes configuraciones de fotobiorreactores se pueden utilizar para el cultivo, incluyendo tubulares, de placas, y helicoidales (Tabla 1.1, Capítulo 1). En estos, la intensidad de luz ó irradiación afecta el proceso de fotosíntesis, la tasa específica de crecimiento, y por lo tanto, la productividad de biomasa. Una fracción de la irradiación incidente en el reactor es absorbida por las células y otra es dispersada por las mismas (Yun y Park, 2001), existiendo una distribución espacial que en la mayoría de los sistemas de cultivo limita el crecimiento de la microalga. El efecto de la intensidad de luz sobre la tasa de fotosíntesis puede obtenerse de curvas de fotosíntesis-irradiación, P-I (Brindley y col., 2010), las cuales son específicas para cada cepa, y éstas deben obtenerse en cultivos diluidos para asegurar que las células estén expuestas a la misma intensidad de luz. Para representar la distribución espacial de la luz algunos trabajos consideran la irradiación como el promedio de los valores locales dentro del cultivo (Molina y col., 1994), pero algunos otros representan la distribución radial de la intensidad de luz (Yun y Park, 2001; Ación y col., 2000) y los efectos de mezclado (Barbosa y col., 2003; Camacho y col., 2003). Por otra parte, la dinámica del proceso de fotosíntesis en condiciones de fluctuación en la intensidad luz y la cuantificación de los parámetros físicos y biológicos es importante y necesario para: a) el diseño, modelado y simulación del proceso; b) el escalamiento de los experimentos de nivel laboratorio a nivel industrial y; c) el desarrollo de sistemas de control que se pueden implementar para la medición o estimación de las principales variables en la unidad de proceso, para aumentar la velocidad de crecimiento y la producción de biomasa (Béchet y col., 2013; Fernández y col., 2012; Concas y Pisu, 2010; Hekmat y col., 2010). La temperatura es otra variable importante, que afecta la estructura de los componentes celulares y las velocidades de reacción. Recientemente, Béchet y col. (2013) presentaron una revisión completa de los modelos utilizados para describir la cinética de crecimiento de microalgas.

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

La evolución de biomasa en un fotobiorreactor es el resultado de efectos que combinan fenómenos físicos y biológicos, que incluyen la actividad de fotosíntesis, la dinámica de fluidos, la transferencia de masa y la distribución espacial de irradiación (Luo y Al-Dahhan, 2004; Luo y Al-Dahhan, 2012). Los modelos que describen el crecimiento generalmente agrupan estos efectos y, en consecuencia, no es posible analizarlos de forma independiente. Además, los experimentos que involucran crecimiento se encuentran en la escala de tiempo de días, y se requieren ensayar diferentes condiciones iniciales de operación. Una alternativa es determinar la tasa de producción de oxígeno (Brindley y col., 2010; Fernández y col., 2012), que a diferencia de la tasa de crecimiento, tiene una respuesta dinámica en escala de tiempo de minutos. Esta medición es proporcional a la tasa de crecimiento que está relacionada con la estequiometría global de la reacción de fotosíntesis (Brindley y col., 2010) y, además proporciona información acerca de fenómenos de fotoaclimatación en el fotosistema II (PSII) como una respuesta a las fluctuaciones en la intensidad de la luz (Avendaño y Shubert, 2005; Satoh y col., 2002). Por otra parte, el tiempo requerido para determinar las curvas de fotosíntesis-irradiación y los parámetros cinéticos se reduce; algunos modelos (Béchet y col., 2013; Fernández y col., 2012; Hu y col., 2012; Concas y Pisu, 2010; Camacho y col., 1999; Reboloso y col., 1999) se han desarrollado para estimar la producción de O₂. Sin embargo, las curvas de fotosíntesis no se han determinado cuantitativamente en condiciones de limitación de nitrógeno y no se ha evaluado la respuesta transitoria ante fluctuaciones en la intensidad de luz incidente. Estudios dinámicos podrían proporcionar información de los cambios en la regulación metabólica debido al ajuste en la estequiometría de los fotosistemas (PSI:PSII) y a la alteración en la síntesis de proteínas (Berges y col., 1996).

El objetivo de este capítulo fue estudiar la respuesta dinámica de la actividad fotosintética de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* para diferentes intensidades de luz y en un fotobiorreactor air-lift, bajo condiciones de crecimiento sin limitación de nitrógeno y con limitación de nitrógeno. El primer caso se puede relacionar con la foto-aclimatación a corto plazo y el segundo caso a la adaptación metabólica a largo plazo. Por otra parte, se desarrolló y validó un modelo matemático que estima la concentración de oxígeno en la fase líquida y la productividad de biomasa, éste considera parámetros hidrodinámicos, de transferencia de masa

y una expresión de reacción intrínseca para la tasa de producción de oxígeno que representa la actividad de fotosíntesis como función de la temperatura, la intensidad de luz y la concentración de biomasa, en condiciones de suficiencia de nitrógeno.

A continuación se presentarán las suposiciones que se consideraron en el planteamiento del modelo matemático.

4.2 Modelo Matemático

Se utilizó un modelo en una dimensión y en estado transitorio para estimar la concentración de oxígeno en un fotobiorreactor air-lift. Con las siguientes suposiciones:

- 1) Las fases gaseosa y líquido-microalga están distribuidas homogéneamente en el reactor y la fracción volumen se conserva, es decir, la suma del hold up del gas (h_G) y del hold up del líquido (h_L) es $h_L + h_G = 1$.
- 2) Distribución homogénea de las burbujas que ascienden a través del área de sección transversal del riser.
- 3) La fase de gas puede representarse por un flujo tapón.
- 4) La representación de la fase líquida se hace a través de un modelo de dispersión axial.
- 5) Las propiedades físicas y de transporte del medio de cultivo como la viscosidad, la densidad y el coeficiente de dispersión axial se aproximan a las del agua.
- 6) La distribución de la luz se considera dentro de un medio homogéneo.
- 7) Se considera una intensidad de luz promedio en el fotobiorreactor e independiente de los ciclos internos de luz que induce la configuración air-lift. La concentración de biomasa se considera homogénea en todo el reactor.
- 8) La concentración de biomasa no cambia durante la realización de los experimentos dinámicos.
- 9) Las concentraciones de dióxido de carbono y de nutrientes no limitan la producción de oxígeno durante los experimentos dinámicos.

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

Con base en lo anterior, la ecuación 4.1 representa el balance de masa macroscópico en la fase líquida y permite calcular la concentración de oxígeno C_{L,O_2} en el tiempo.

$$\underbrace{h_L \frac{\partial C_{L,O_2}}{\partial t}}_{\text{acumulación}} = \underbrace{h_L D_{az} \frac{\partial^2 C_{L,O_2}}{\partial z^2}}_{\text{dispersión axial}} - \underbrace{h_L u_{Le} \frac{\partial C_{L,O_2}}{\partial z}}_{\text{convección}} - \underbrace{K_L a_{O_2} \left(C_{L,O_2} - \frac{C_{G,O_2}}{H} \right)}_{\text{transferencia gas-líquido}} + \underbrace{r_{O_2, \text{intr}} C_b}_{\text{reacción}} \quad (4.1)$$

con las siguientes condiciones iniciales y de frontera:

$$t = 0; C_{L,O_2} = C_{L,O_2}^* \quad z = 0; C_{L,O_2} = C_{L,O_2}^* + \frac{D_{az}}{u_{Le}} \frac{\partial C_{L,O_2}}{\partial z} \quad z = L; \quad \frac{\partial C_{L,O_2}}{\partial z} = 0 \quad (4.2)$$

En la ecuación 4.1, $r_{O_2, \text{intr}}$, es la tasa de producción intrínseca de O_2 por unidad de biomasa y se define como:

$$r_{O_2, \text{intr}} = p_{O_2, \text{max}} \left(\frac{I_{av}}{K_s + I_{av} + \frac{I_{av}^2}{K_I}} \right) \quad (4.3)$$

donde I_{av} es la intensidad de luz promedio dentro del fotobiorreactor air-lift y está representada, (Acién y col., 2013), por:

$$I_{av} = \frac{I_0}{d_t K_a C_b} \left[1 - \exp(-d_t K_a C_b) \right] \quad (4.4)$$

Por otra parte, $P_{O_2, \text{max}}$ es la producción máxima de O_2 para la microalga y para las condiciones de cultivo. La $P_{O_2, \text{max}}$ está relacionada con la temperatura a través de una expresión de Arrhenius con la ecuación (4.5) (Costache y col., 2013);

$$p_{O_2, \text{max}} = k_0 \exp\left(\frac{-E_a}{T R}\right) - k_1 \exp\left(\frac{-E_d}{T R}\right) \quad (4.5)$$

El balance de masa para la concentración de oxígeno en la fase gas C_{G,O_2} es:

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

$$\underbrace{h_g \frac{\partial C_{G,O_2}}{\partial t}}_{\text{acumulación}} = - \underbrace{u_{Ge} h_g \frac{\partial C_{G,O_2}}{\partial z}}_{\text{convección}} + \underbrace{K_L a_{O_2} \left(C_{L,O_2} - \frac{C_{G,O_2}}{H} \right)}_{\text{transferencia gas-líquido}} \quad (4.6)$$

Con las siguientes condiciones iniciales y de frontera:

$$t = 0; C_{G,O_2} = C_{G,O_2}^0 \quad z = L; \frac{\partial C_{G,O_2}}{\partial z} = 0 \quad (4.7)$$

La productividad de la biomasa P_b está relacionada con $r_{O_2, \text{intr}}$, Y_{b/O_2} (coeficiente de rendimiento) y con el coeficiente metabólico (K_d) (Béchet y col., 2013; Hu y col., 2012) de la forma:

$$\frac{dC_b}{dt} = P_b = r_{O_2, \text{intr}} C_b Y_{b/O_2} - K_d C_b \quad (4.8)$$

La solución numérica de las ecuaciones (4.1) a (4.8) se realizó con el software *FlexPDE* 6.06 versión estudiante. Se utilizó el método de elemento finito para resolver las ecuaciones diferenciales parciales. La hidrodinámica del fotobiorreactor se obtuvo usando la aplicación de flujo de burbuja (Bubbly Flow application), en el módulo de Ingeniería Química del software comercial COMSOL Multiphysics, (Burlington MA, EE.UU.).

4.3 Experimentación

4.3.1. Descripción del fotobiorreactor air-lift instrumentado

Las Figuras 4.1 y 4.2 muestran la representación esquemática y fotográfica del fotobiorreactor air-lift de 20L con circulación interna, respectivamente. La columna de acrílico tiene una sección coaxial con un diámetro interno de 12.7 cm, una altura de 110 cm y una zona de desgasificación de 40 cm de altura con un diámetro de 20 cm. El tubo concéntrico tiene un diámetro interno de 8.3 cm y una altura efectiva de 105 cm, éste se encuentra 5 cm por encima de la parte inferior de la columna. La fase gaseosa se distribuye desde la parte inferior a través de un difusor con 60 orificios de 0.56 mm de diámetro interno.

El sistema de iluminación artificial integra LEDs de alta intensidad de luz blanca (10 m de tira de LEDs 5050, LED illuminate, China) y cuatro lámparas fluorescentes de 54 Watts (400-700 nm, Magg, México). La intensidad de la luz que incide en la superficie del reactor se midió con un sensor cuántico 2π (407026sp, Extech, EE.UU.) y la tasa de fotones disponibles para la fotosíntesis (PPFR, por sus siglas en inglés) en el centro del reactor con un sensor cuántico 4π micro-esfera (US-SQS/L, Heinz Walz GmbH, Alemania). El pH se midió con un sensor electroquímico (27003-20, Cole-Parmer, EE.UU.). Un sensor polarográfico (SN-29020-10, Cole-Parmer, EE.UU.) se utilizó para medir la concentración de oxígeno en la fase líquida en el intervalo de 0-200%. El CO₂ en la fase líquida se midió con un sensor electroquímico (SN-29000-01, Cole Parmer, EE.UU.) y en la fase gaseosa se determinó con un detector de infrarrojo (9500, Omega Alpha, EE.UU.). Las señales de los sensores se registraron en línea con un módulo de adquisición de datos (CompactDAQmx, NI, EE.UU.) conectado a un computadora con un software NI LabVIEW (2009) para el registro de datos.

En condiciones iniciales el fotobiorreactor air-lift se operó en lotes con 16.8 L de medio sin limitación de nitrógeno, 1.8 L de inóculo de *S. obtusiusculus* y una intensidad de luz continua de $117 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. La concentración de CO₂ fue 3.8% y se suministró con aire a una velocidad superficial de 0.0104 m s^{-1} (basado en el área de sección transversal del riser, 3.4 L min^{-1}).

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

También, para las condiciones anteriores el sistema se operó en limitación de la fuente de nitrógeno.

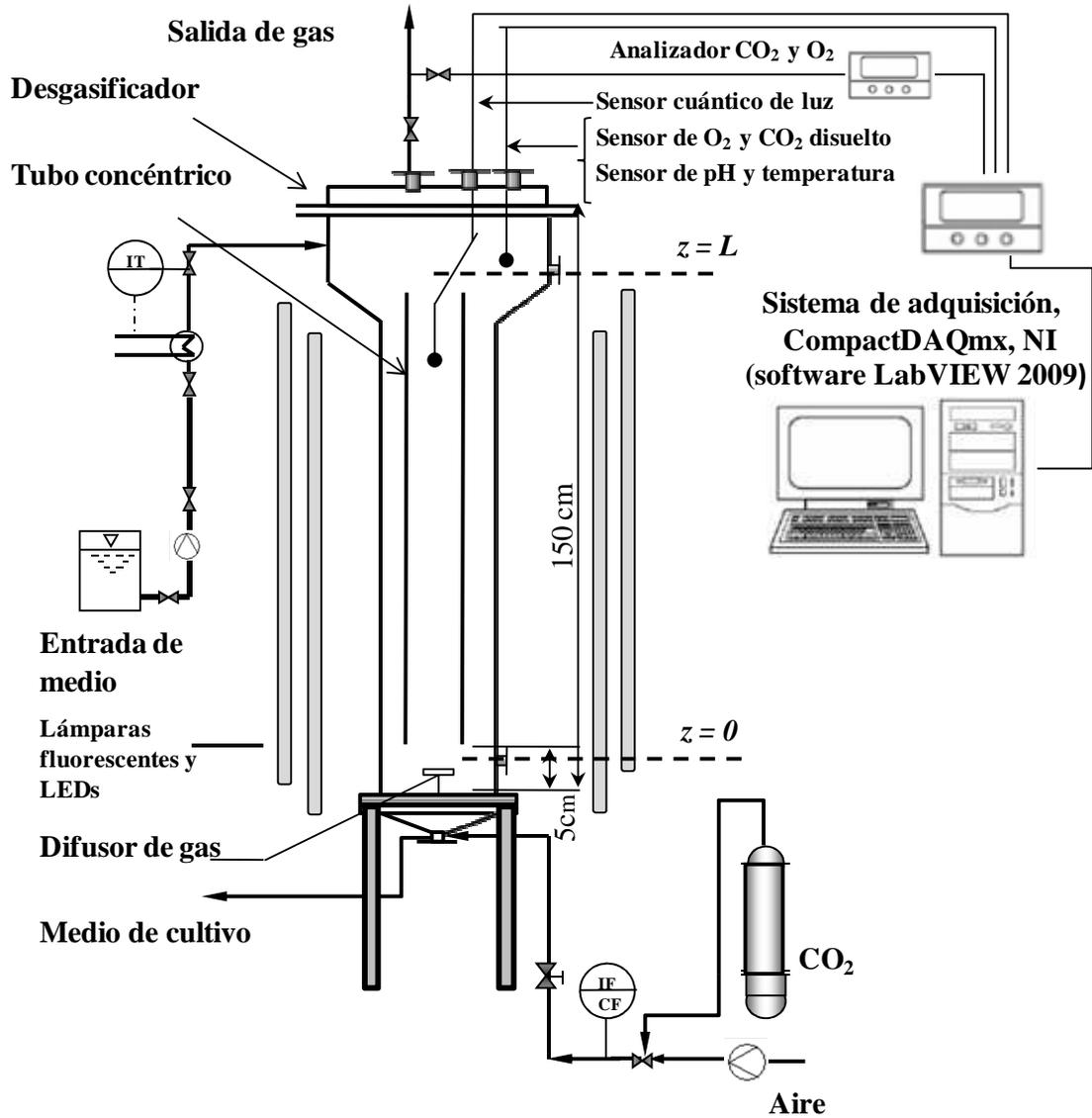


Figura 4.1. Representación esquemática del fotobiorreactor air-lift que se utilizó para el crecimiento de la microalga *S. obtusiusculus*.

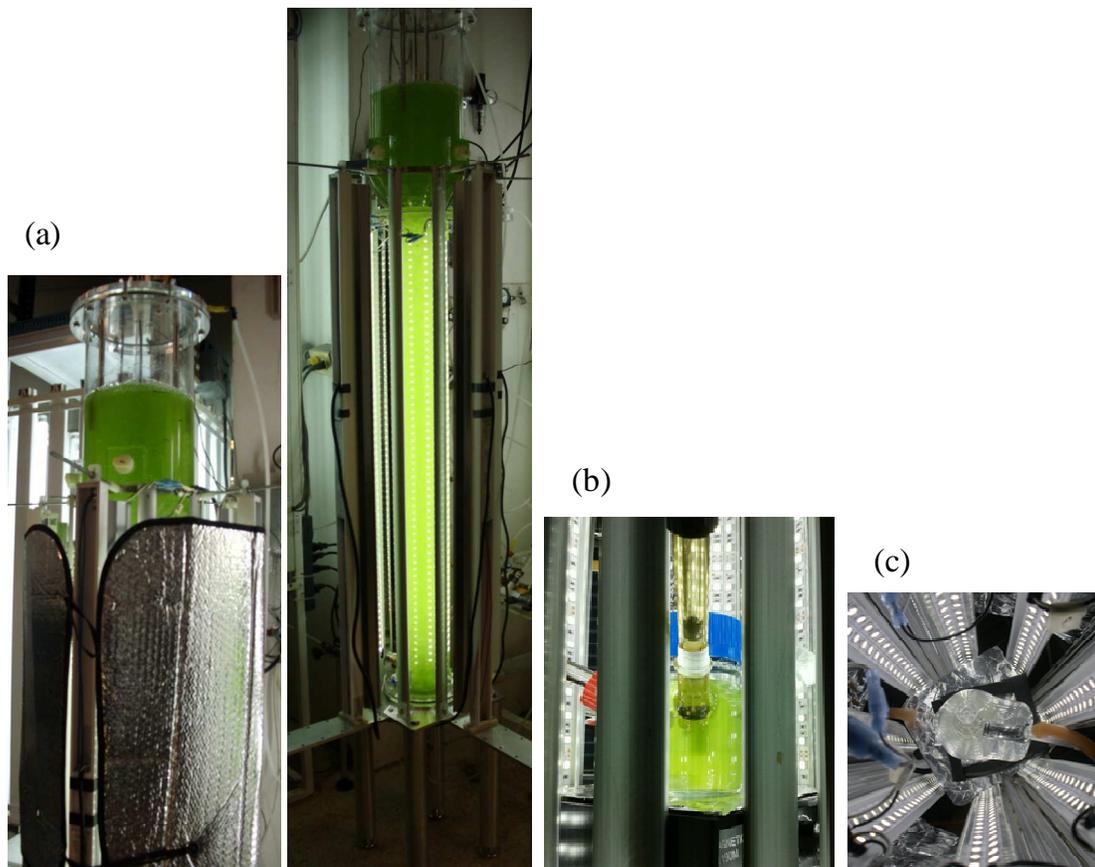


Figura 4.2. (a) Representación fotográfica del fotobiorreactor air-lift durante el crecimiento de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*, (b) Reactor de tanque agitado de 100 ml con control de temperatura y (c) Reactor de 3.5 ml con agitación mecánica y con condiciones controladas de intensidad de luz y de temperatura.

4.3.2. Experimentos dinámicos de la intensidad de luz

Los experimentos dinámicos para determinar la evolución de O_2 a diferentes intensidades de luz y en diferentes etapas de crecimiento de la microalga *S. obtusiusculus*, se realizaron desde el primer día de operación. Los experimentos dinámicos se iniciaron con una intensidad de luz de $117 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, seguido de incrementos en escalón de 141, 180, 336 y $505 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para períodos de 30 minutos cada uno. Una vez que se alcanzó la intensidad de luz máxima, se disminuyó secuencialmente a las mismas intensidades de luz durante 30 minutos, hasta llegar

a las condiciones iniciales ($117 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Estos experimentos se realizaron en diferentes tiempos de operación para contenidos de biomasa de 0.13, 0.3, 0.4, 0.5, 1.7 y 1.9 g L⁻¹. En estas condiciones, las variables respuesta alcanzaron estados pseudo-estacionarios y se determinó la tasa de producción de O₂ por unidad de biomasa para cada experimento dinámico, por la ecuación:

$$r_{O_2,\text{exp}} = K_L a_{O_2} (C_{L,O_2,i} - C_{L,O_2}^*) \quad (4.9)$$

Para cada experimento dinámico, la tasa de consumo de CO₂ se determinó con la velocidad del gas y la diferencia entre la concentración de CO₂ en la entrada y en la salida del reactor, para cada estado pseudo-estacionario, con la ecuación 4.10.

$$r_{CO_2,\text{exp}} = \frac{(C_{G,CO_2,s} - C_{G,CO_2,e}) \cdot F_G}{V_R} \quad (4.10)$$

Estos experimentos dinámicos se realizaron en condiciones de limitación de nitrógeno y sin limitación de nitrógeno.

4.3.3. Determinación de parámetros

Un experimento independiente a $28 \pm 3^\circ\text{C}$, sin limitación de la fuente de nitrógeno, se llevó a cabo en el fotobiorreactor air-lift, sin perturbaciones de la intensidad de luz para determinar el coeficiente estequiométrico de rendimiento, Y_{b/O_2} y el coeficiente metabólico, K_d . Los parámetros se calcularon a partir de la producción de O₂ y la evolución de biomasa durante 9 días de operación.

El coeficiente de dispersión axial, D_{az} , se obtuvo experimentalmente en condiciones abióticas, a partir de la curva de distribución de tiempo de residencia obtenida por inyección de un trazador (NaOH 1 M, 15 ml) en la fase líquida. El hold-up de la fase gas, h_G , la velocidad efectiva del gas, u_{Ge} y la velocidad efectiva del líquido, u_{Le} , en el fotobiorreactor air-lift se estimaron con el software COMSOL de forma similar al trabajo presentado por Hekmat et al. (2010), usando las ecuaciones de transporte (modelo de dos-fluidos Euler-Euler) de

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

momentum para el flujo de burbujas en la columna y para una geometría con simetría axial (2D) (malla de 12,704 elementos triangulares). La simulación se realizó a una velocidad superficial de gas de 0.0104 m s^{-1} . Para más detalles sobre los perfiles de velocidad de la fase líquida ver Fig. A3 y para los perfiles del hold-up de la fase gas ver Fig. A4 del Apéndice A.

El coeficiente de transferencia de masa para el O_2 , K_{LaO_2} , se estimó a partir del coeficiente volumétrico de transferencia de masa gas-líquido para el CO_2 (experimental). Este se determinó a un pH de 4, con un balance de masa para la absorción de CO_2 en la fase líquida y para una velocidad superficial del gas de 0.0104 m s^{-1} . El balance de masa de CO_2 y la corrección de los coeficientes de difusión se establecieron como (Pegallapati y Nirmalakhandan, 2012):

$$\frac{dC_{L,CO_2}}{dt} = K_L a_{CO_2} (C_{L,CO_2}^* - C_{L,CO_2}); \quad K_L a_{O_2} = K_L a_{CO_2} \left(\frac{D_{O_2}}{D_{CO_2}} \right)^{1/2} \quad (4.11)$$

Las curvas de fotosíntesis-irradiación de *S. obtusiusculus* para diferentes temperaturas se obtuvieron con un método similar al presentado por Brindley y col. (2010). La tasa de producción de oxígeno intrínseca se determinó en un reactor de 3.5 ml con agitación magnética y en condiciones controladas de intensidad de luz y de temperatura (Fig. 4.2c). La cantidad de biomasa inicial se ajustó a 0.1 g L^{-1} . Se evaluaron las temperaturas entre 5 y 40°C y las intensidades de la luz entre 9 y $2400 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, en un arreglo de LEDs y de lámparas fluorescentes alrededor del reactor. La concentración de oxígeno en la fase líquida se registró continuamente en línea por un módulo de adquisición de datos y para un período de 20 min. El efecto de la respuesta dinámica de oxígeno por las variaciones de temperatura (debido a los cambios escalón de luz), se evaluó en un reactor isotérmico de tanque agitado de 100 ml, que contiene 80 ml de 0.5 g L^{-1} de células en suspensión (Fig. 4.2b).

Los parámetros cinéticos intrínsecos en la Ec. (4.3), K_s , K_I and $p_{O_2,max}$ se obtuvieron de las curvas fotosíntesis-irradiación. Los valores de la tasa de producción de oxígeno se expresaron en función de la irradiación promedio, I_{av} , a la que se expusieron las células, y se ajustaron con un modelo hiperbólico (coeficiente de regresión, $R^2 = 0.98$), que considera un término de inhibición (Béchet y col., 2013; Bernard, 2011). Los valores de E_a , E_b , k_0 and k_I se obtuvieron

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

mediante el ajuste de la Ec. (4.5) (coeficiente de regresión, $R^2 = 0.96$), para la producción máxima de oxígeno, $P_{O_2,max}$, y la temperatura. El ajuste de los datos para la obtención de los parámetros cinéticos se realizó en OriginPro versión 9.0. La tasa de producción intrínseca de O_2 cuantifica el efecto biológico y considera una resistencia mínima de los fenómenos de transporte, una baja atenuación de luz y una radiación uniforme dentro del reactor.

El coeficiente de absorción de luz en la Ec. (4.4), K_a , se determinó midiendo la intensidad de luz en el centro del reactor de 3.5 ml (Fig. 4.2c) a diferentes concentraciones iniciales de biomasa. El sistema se encontró iluminado desde todas las direcciones y la intensidad de luz se midió con el micro-sensor 4π . El coeficiente de absorción se calculó con la ecuación de Beer-Lambert.

4.4. Resultados y discusión

El propósito principal de este capítulo es presentar la respuesta dinámica de producción de oxígeno y de consumo de dióxido de carbono en un reactor air-lift con circulación neumática interna, que sirven de base para discutir una metodología de análisis, en tiempos cortos, que lleva a determinar la tasa específica de producción de O_2 y de consumo de CO_2 que, según la teoría están relacionadas estequiométricamente con la productividad de biomasa. Se explican también los procesos que ocurren en un fotobiorreactor, así como el comportamiento de éste derivado de un análisis realizado con base en el modelo presentado en este capítulo. Finalmente, se discute la validación del modelo propuesto con base en la comparación de sus predicciones con datos experimentales obtenidos en este trabajo.

La Figura 4.3 muestra la evolución de la biomasa y las condiciones de operación en el fotobiorreactor para el crecimiento de la microalga *S. obtusiusculus* sin limitación de nitrógeno. Las discontinuidades son los períodos en los que se realizaron los experimentos dinámicos sometiendo al fotobiorreactor airlift a los cambios escalón de la intensidad de luz. Como puede observarse, la concentración de O_2 en la fase líquida aumentó del valor de saturación,

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

6.4 mg L⁻¹, a 10.5 mg L⁻¹ cuando la concentración de biomasa fue de 1.7 g L⁻¹. La concentración de CO₂ en la fase líquida se mantuvo alrededor del 95.6% (0.043 gL⁻¹) del valor en saturación con respecto a la concentración de CO₂ en la entrada del gas. El pH aumentó 6.4 a 7.2 debido al consumo de nitrato y de CO₂. Los resultados globales muestran variaciones cíclicas de la temperatura, debido a los cambios en las condiciones ambiente, que a su vez afectaron, la producción de O₂ debido al cambio en la actividad fotosintética, el consumo de CO₂ a través de una acumulación inicial de carbono inorgánico intracelular y otras reacciones de carboxilación, (Moroney y Somanchi, 1999) y el pH por cambios en el CO₂ y el ión bicarbonato en la fase líquida. La reducción en la actividad, que se observa alrededor del día 11, está relacionada con la disminución en la temperatura. Se realizó un balance de la cantidad de nitrógeno, el aumento en la concentración de biomasa a casi 2 gL⁻¹, en un periodo de 15 días de operación, es consistente con concentración inicial en el medio mineral y la concentración residual de nitrógeno soluble (64 mg L⁻¹). Los valores de Y_{b/O₂} de 0.65 g_b g_{O₂}⁻¹ (±5%) y del coeficiente metabólico (K_d) de 0.005 h⁻¹ (coeficiente de regresión, R²=0.975) se obtuvieron en el experimento sin perturbación de la fuente de luz. El Y_{b/O₂} fue similar al reportado por Ación y col. (2013) de 0.77 g_b g_{O₂}⁻¹ y el K_d al reportado por Molina y col. (1994) de 0.00385 h⁻¹.

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

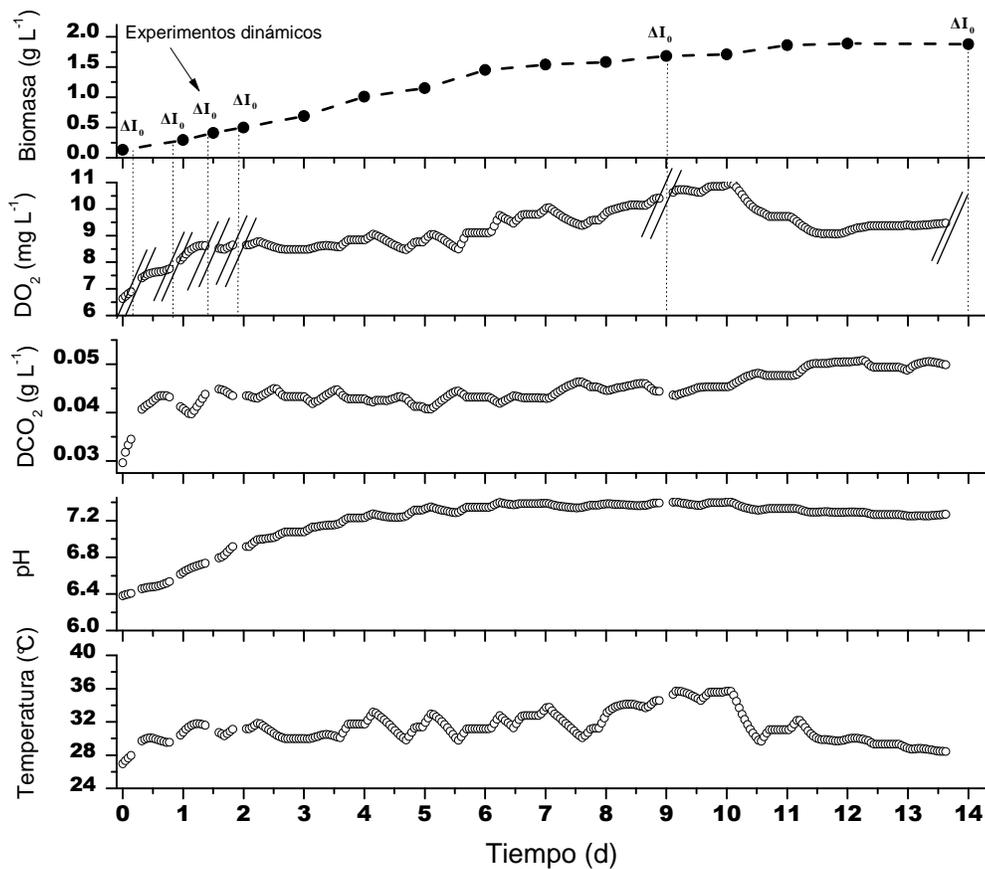


Figura 4.3. Datos experimentales de crecimiento de biomasa sin limitación de nitrógeno, concentración de O₂ en la fase líquida, concentración de CO₂ en la fase líquida, el pH y de la temperatura durante la operación del fotobiorreactor air-lift, y los períodos en los que se llevaron a cabo las perturbaciones en la intensidad de la luz (ΔI_0).

La Figura 4.4 muestra la relación entre la PPFR interna y la concentración de biomasa. El comportamiento no-lineal es debido a la atenuación de la luz, y ésta es causada por la absorción y la dispersión que está asociada con el incremento de la biomasa (Luo y Al-Dahhan, 2012). Por ejemplo, para contenidos de biomasa de 0.25 y 0.5 g L⁻¹, la densidad de flujo de fotones en el centro del reactor disminuyó de 120 a 30 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. En este caso, para concentraciones de biomasa mayores a 1 g L⁻¹, el reactor operó con menos de 17.2 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de PPFR en la sección anular (flujo laminar) y una fase oscura en la sección concéntrica (flujo burbuja). En estas condiciones de crecimiento, la concentración final de biomasa (cerca

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

de 2.0 g L^{-1}) fue menor que la obtenida previamente para esta especie, (Toledo y col., 2013) en un reactor de columna de burbujas con un diámetro interno de 0.105 m y con una irradiación de $134 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

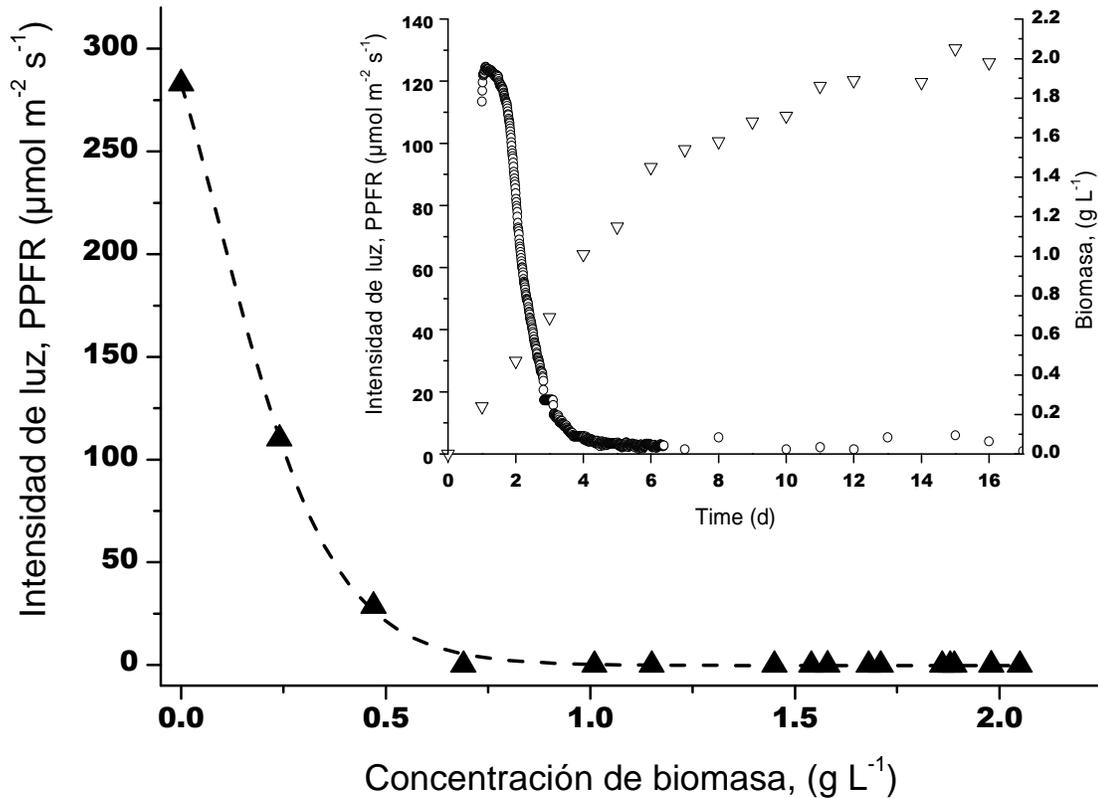


Figura 4.4. Tasa fotosintética de fotones (PPFR) en el centro del fotobiorreactor air-lift en función del contenido de biomasa y del tiempo (gráfica insertada) durante las condiciones normales de operación.

4.4.1 Fluctuaciones de la intensidad de luz

La Figura 4.5a muestra los resultados de los cambios en escalón ascendentes y descendentes realizados para una concentración de biomasa de 0.5 g L^{-1} y sin limitación de nitrógeno. Como se puede observar inicialmente, y para todos los cambios, hubo una variación súbita en la concentración de O_2 como respuesta de la actividad fotosintética al cambio en la intensidad de

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

luz, posteriormente se observó una respuesta más lenta que es asociada a pequeños cambios en la temperatura causados por el calor generado de las lámparas externas usadas para alcanzar las intensidades de luz ensayadas. La concentración de O₂ en estado pseudo-estacionario, y para cada irradiación, se obtuvo a partir del valor promedio en el periodo de respuesta lenta con su respectiva temperatura. De igual manera, puede observarse que la respuesta de la concentración de O₂ fue asimétrica en las etapas de incrementos/decrementos de los cambios escalón de irradiación. Las concentraciones de O₂ en estado pseudo-estacionario que se obtuvieron durante los cambios en descenso fueron más altas que las obtenidas en la parte de incremento, esto estuvo asociado a una actividad fotosintética más alta y temperaturas mayores. El efecto de la temperatura se muestra en la Figura 4.5a para una irradiación de 336 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, donde un incremento de casi 3°C aumentó la cantidad de oxígeno en estado pseudo-estacionario aproximadamente 21% con respecto a la saturación, a pesar de que a esta temperatura, que es más alta, la solubilidad del oxígeno se reduce aproximadamente un 5%. Para esta microalga, el valor máximo de la actividad fotosintética se alcanza para una temperatura óptima de 35°C (Cabello y col., 2015). Un experimento dinámico de irradiación que se realizó independiente en un reactor de 100 ml (Fig. 4.2b) bajo condiciones isotérmicas (30°C) mostró que los valores de O₂ en estados pseudo-estacionarios son similares en los escalones de incremento/decremento de irradiación, esto confirma que el comportamiento asimétrico en la Figura 4.5b fue inducido por la temperatura. Los experimentos presentados por Levy y col. (2004) mostraron que, para algunas algas, la actividad fotosintética puede variar durante el día, la mañana y la tarde, a los mismos niveles de intensidades de luz solar. Este efecto de histéresis aparente se ha atribuido a un retardo entre la respuesta ante la irradiación y el gradiente de temperatura que se genera (Levy y col., 2004).

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

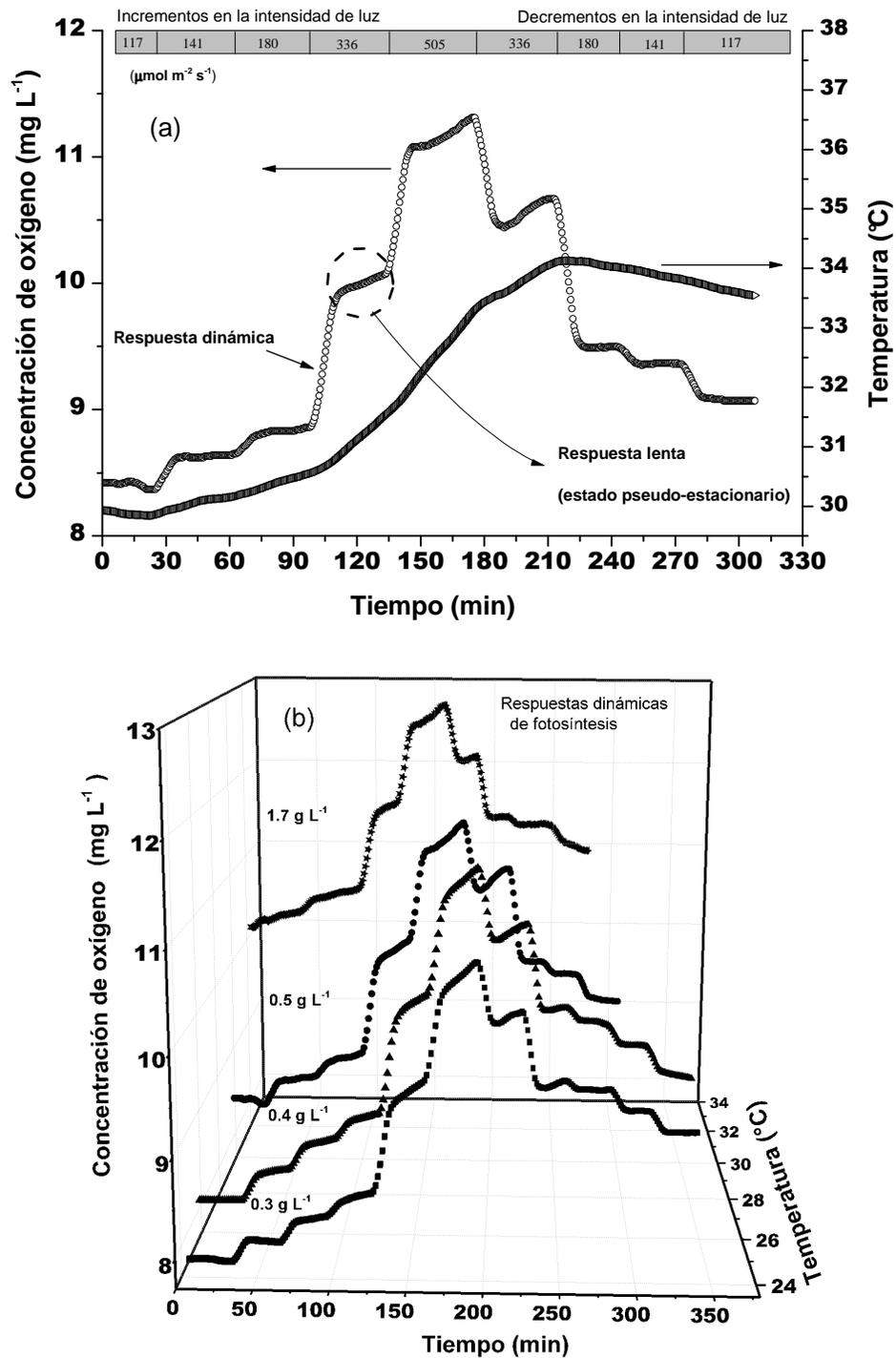


Figura 4.5. Respuesta dinámica de oxígeno para los experimentos de cambio escalón en la intensidad de luz, (a) y el efecto de la temperatura para un contenido de biomasa de 0.5 g L^{-1} . (b) Para el contenido de biomasa de 0.3 , 0.4 , 0.5 y 1.7 g L^{-1} .

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

La Figura 4.5b también muestra los resultados de la respuesta fotosintética asimétrica para concentraciones de biomasa entre 0.3 y 1.7 g L⁻¹ y los cambios escalón de intensidades de luz. Para el contenido de biomasa de 0.3, 0.4, 0.5 y 1.7 g L⁻¹, los valores más altos de las concentraciones de O₂ en estado pseudo-estacionario fueron 10.4, 11.1, 11.3 y 12.6 g L⁻¹ para el incremento en los cambios de la irradiación y hasta 505 μmol m⁻² s⁻¹. Cada estado pseudo-estacionario representa el período de foto-aclimatación a corto plazo de *S. obtusiusculus*. En este caso, el estado de transición (redistribución de la energía de excitación entre los fotosistemas) y el mecanismo de reacciones no fotoquímicas operan para ajustar la cantidad de energía de luz transportada al fotosistema II en una escala de tiempo de minutos (Avendaño y Shubert, 2005; Satoh y col., 2002; Bonardi y col., 2005).

Por otra parte, en los experimentos dinámicos bajo condiciones de limitación de nitrógeno se observaron cambios en la pigmentación de la microalga *S. obtusiusculus*. La Figura 4.6 compara las respuestas dinámicas de la concentración de O₂, en condiciones de limitación y sin limitación de nitrógeno, durante los cambios escalón en las intensidades de luz. La limitación de nitrógeno afectó los mecanismos que regulan la aclimatación fotosintética a corto plazo, lo que resultó en una reducción en la actividad de fotosíntesis y, por lo tanto, el rendimiento de la concentración de O₂ disminuyó un 29% (3 días de N-limitación) y un 70% (18 días de N-limitación) en comparación con los niveles obtenidos sin limitación de nitrógeno, esto se debe a los cambios observados en la pigmentación de las células. Berges y col., (1996) y Merzlyak y col., (2007) reportan que, para algunas microalgas, la limitación de nitrógeno afecta la actividad de fotosíntesis reduciendo la eficiencia de captación de energía debido a la disminución de clorofila y al ajuste en las cantidades relativas de moléculas fotoquímicamente no activas, tales como lípidos o carotenoides.

Además, el retraso en las respuestas dinámicas de O₂ en condiciones de limitación de nitrógeno (Fig. 4.6) en comparación con el medio sin limitación de nitrógeno, se puede atribuir al ajuste lento de la relación estequiometría de PSI/PSII (Satoh y col., 2002), debido a la disminución en la síntesis de proteínas que afecta directamente a las proteínas del PSII (Bonardi y col., 2005; Berges y col., 1996) por la limitación de nitrógeno. La respuesta dinámica de O₂ en limitación por nitrógeno alcanzó el 95% la respuesta en estado pseudo-

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

estacionario en casi 6 horas, (datos mostrados en el Apéndice A, Figura A5) lo que indica una adaptación fotosintética a largo plazo de las células contrario a lo observado bajo condiciones sin limitación donde esta adaptación es del orden de 3 min.

La Figura insertada (Fig.4.6) muestra la atenuación de luz en condiciones de limitación de nitrógeno y el incremento en la disponibilidad de luz debido a cambios en la despigmentación de las células. Por ejemplo, en la intensidad máxima de luz incidente ($505 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), el valor de PPFR incrementó hasta 3 veces en el centro del reactor en el día 18 de N-limitación ($300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en comparación con el valor registrado el día 3 de N-limitación ($90 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). En estas condiciones, la penetración de luz fue más alta y las células se expusieron a una mayor cantidad de energía, lo que resultó en un aumento en la actividad metabólica generada de la fotosíntesis para canalizarse a la acumulación de lípidos pasando de un contenido de 19% en el día 3, a 42% en el día 18.

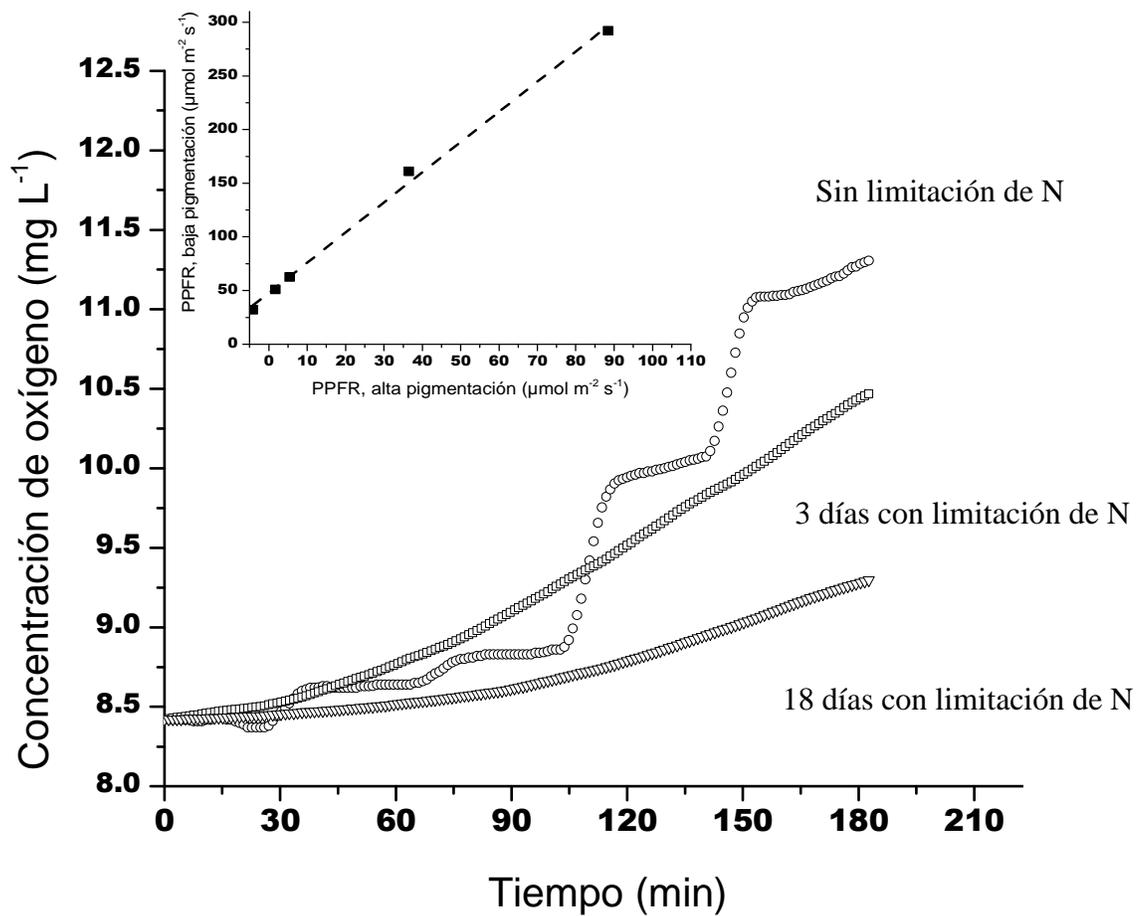


Figura 4.6. Comparación entre las respuestas dinámicas de fotosíntesis, sin limitación y con limitación de la fuente de nitrógeno, para un contenido de biomasa de 0.5 g L⁻¹. Figura insertada: relación de la tasa de fotones fotosintéticos (PPFR) en condiciones de limitación-N; con una alta pigmentación de clorofila (día 3) y despigmentación de la biomasa por reducción en clorofila (día 18).

La Figura 4.7a muestra las tasas de producción de O₂ de los cambios escalón en incremento de la intensidad de luz que fueron determinados por la ecuación (4.9) para cada estado de fotoaclimatación (Fig. 4.5b) sin limitación de nitrógeno. Para contenidos de biomasa de 0.13 a 1.9 g L⁻¹ la actividad fotosintética aumentó linealmente como la intensidad de la luz incidente se incrementó de 141 a 505 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, esto indica que no hay una región de saturación de luz a las intensidades de luz que se usaron en los experimentos. Para el reactor utilizado en este

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

estudio, a un contenido de biomasa de 1.9 gL^{-1} la tasa de producción específica de O_2 disminuye en un 87% debido a la atenuación de luz. La Figura 4.7b muestra las tasas globales de consumo de dióxido de carbono que se determinaron con la ecuación (4.10), los valores aumentaron con respecto a la intensidad de la luz y disminuyen con el aumento en la concentración de biomasa. La Figura A6 (Apéndice A) muestra la relación lineal entre los valores de la tasa de consumo de CO_2 (Figura 4.7b) y los valores de la tasa de producción de O_2 (4.7a), donde el valor de la ordenada al origen se relaciona con la tasa de respiración endógena de $27.7 \text{ mg CO}_2 \text{ g}_b^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($R^2 = 0.96$).

Las curvas de respuesta (Fig. 4.7a y 4.7b) muestran que el proceso global de fotosíntesis es gobernado por la intensidad de luz, que a su vez definen el rendimiento de la microalga. La respuesta a la intensidad de luz depende en gran medida de la especie y de los fenómenos presentes en el fotobiorreactor. Hasta donde se sabe, no hay un análisis y no se ha publicado de este tipo de curvas de fotosíntesis que se hayan obtenido por cambios escalón en la intensidad de la luz para la microalgas del género **Scenedesmus**. El comportamiento de las curvas de respuesta se puede comparar cualitativamente con las obtenidas por Mazzuca et al. (1999) y Reboloso et al. (1999) para un fotobiorreactor tubular a escala piloto que se operó en condiciones de radiación solar.

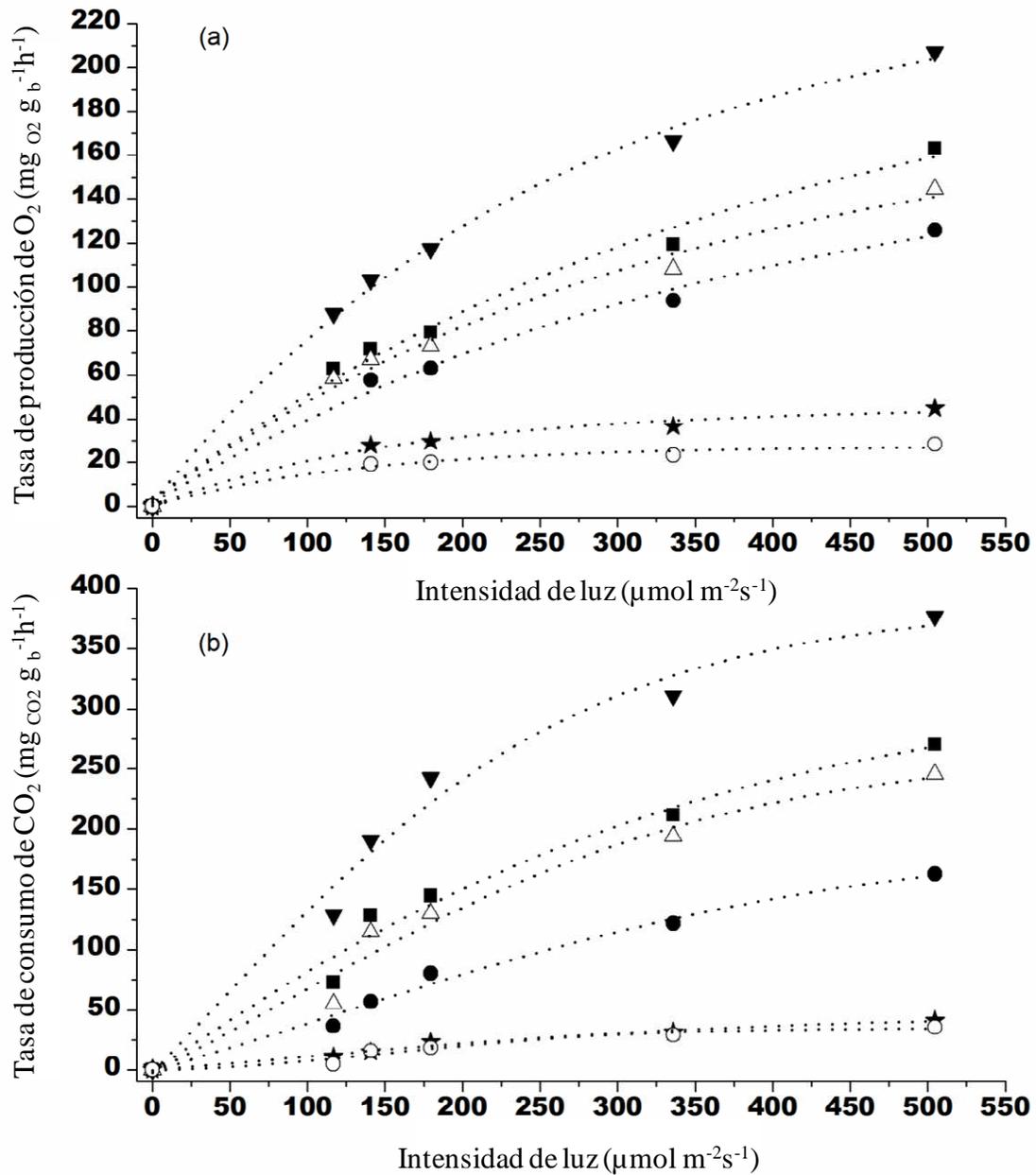


Figura 4.7. Datos experimentales que representan la aclimatación fotosintética a corto plazo de *S. obtusiusculus* en diferentes fluctuaciones de luz incidente y para contenidos de biomasa de 0.13 (\blacktriangledown), 0.3 (\blacksquare), 0.4 (\triangle), 0.5 (\bullet), 1.7 (\star) y 1.9 g L^{-1} (\circ). (a) Las tasas específicas de producción de O_2 ; y (b) las tasas específicas de consumo de CO_2 .

4.4.2 Validación del modelo matemático

El modelo matemático fue validado comparando los datos experimentales (los incrementos de los cambios escalón de luz en la Figura 4.4b) y la estimación de la concentración de O₂. Los parámetros utilizados en la simulación del modelo se muestran en la Tabla 4.1. Los valores de los parámetros son consistentes con los que reporta Fernández y col. (2012) y un reporte reciente de Béchet y col. (2013). La Figura 4.8 muestra un buen ajuste ($R^2 = 0.99$) entre los datos experimentales y los datos estimados, por esto el modelo que se desarrollo en el presente trabajo se puede considerar como un buen método de aproximación para obtener el estado pseudo-estacionario de la concentración de O₂ para concentraciones de biomasa de hasta 1.7 g L⁻¹. Mientras, la Figura 4.9 muestra la respuesta dinámica estimada y experimental de la concentración de O₂, para las diferentes intensidades de luz y para una concentración de biomasa de 0.5 gL⁻¹.

Tabla 4.1. Parámetros utilizados en el modelo matemático.

Parámetro	Valor	Unidades
D_{az}	0.027	m ² s ⁻¹
D_{CO_2}	1.9x10 ⁻⁵	cm ² s ⁻¹
D_{O_2}	2.7x10 ⁻⁵	cm ² s ⁻¹
E_a	16.1	Kcal mol ⁻¹
E_d	30	Kcal mol ⁻¹
h_G	0.02	m ³ m ⁻³
K_a	0.096	m ² g _b ⁻¹
K_d	0.005	h ⁻¹
K_I	4970	μmol m ⁻² s ⁻¹
K_{LaO_2}	12.3	h ⁻¹
K_{LaCO_2}	10.3	h ⁻¹
K_s	75.7	μmol m ⁻² s ⁻¹

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

k_0	8.60×10^{13}	$\text{gO}_2 \text{ Kg}_b^{-1} \text{ h}^{-1}$
k_1	3.63×10^{23}	$\text{gO}_2 \text{ Kg}_b^{-1} \text{ h}^{-1}$
u_{Ge}	0.74	m s^{-1}
u_{Le}	0.07	m s^{-1}
Y_{b/O_2}	0.65	$\text{g}_b \text{ gO}_2^{-1}$

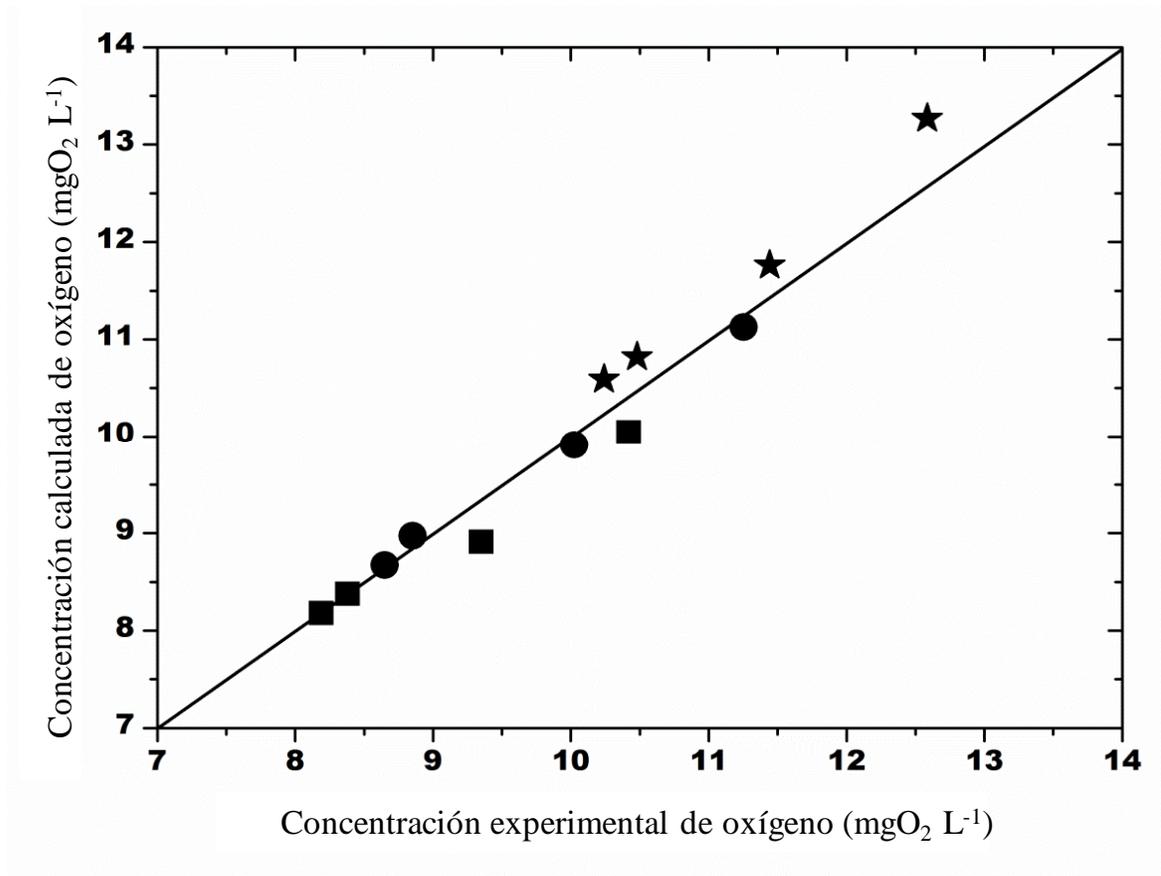


Figura 4.8. Relación entre valores estimados y experimentales obtenidos para las concentraciones de O_2 en estado pseudo-estacionario y para la biomasa de 0.3 (■), 0.5 (●) y 1.7 g L^{-1} (★).

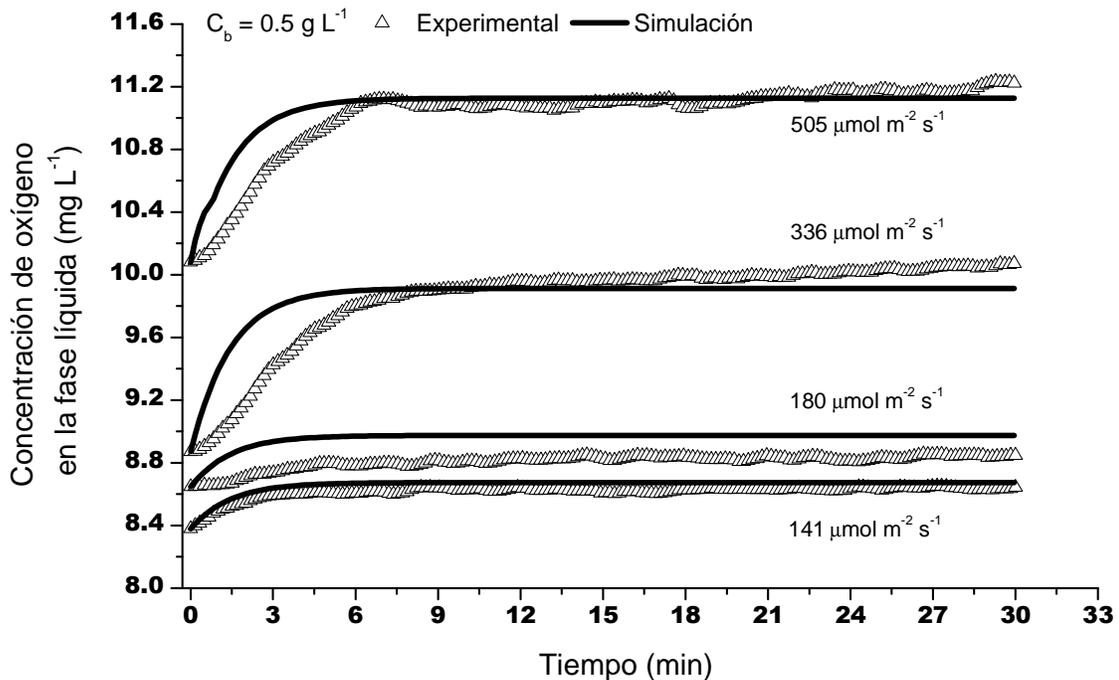


Figura 4.9. Valores experimentales y estimados por simulación para la concentración de oxígeno en estado transitorio, para una concentración de biomasa de 0.5 g L⁻¹.

Las simulaciones obtenidas a través del modelo matemático se muestran en la Figura 5.10, para condiciones sin limitación de nitrógeno y para una biomasa de 0.5 g L⁻¹. El efecto de la intensidad de luz y de la temperatura en la producción de O₂ se consideró para obtener las mejores condiciones de operación para el crecimiento de la microalga *S. obtusiusculus* en el fotobiorreactor air-lift. La producción de O₂ estimada se normalizó para observar el efecto de las variables. Con el modelo se obtuvieron predicciones de las curvas respuesta del efecto de irradiación sobre la actividad de fotosíntesis, estimando entre el 72 y el 85%, respecto a la concentración de O₂ más alta, para intensidades de luz entre 600 y 980 μmol m⁻² s⁻¹. El efecto de la temperatura en la actividad de fotosíntesis estima la concentración máxima de O₂ a 35°C, y ésta disminuye a temperaturas entre 38 y 45°C, esto debido a una mayor sensibilidad en el parámetro E_d de la ecuación 5. E_d representa la energía de desactivación enzimática del aparato fotosintético de *S. obtusiusculus*. La validación del modelo con valores de Y_{b/O_2} y K_d , (Ec. 4.8), a 35°C y los datos experimentales para la producción de biomasa en 117 μmol⁻¹s⁻¹ se

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

muestra en la Figura 5.11. La respuesta global de crecimiento (Figura 5.11) de la microalga no mostró un efecto debido a los experimentos dinámicos, esto puede deberse a que la duración de las fluctuaciones fue en el orden de horas, en comparación con la duración del experimento global (16 días), y por el otro lado, la respuesta en cuanto al crecimiento de biomasa es lenta en comparación con las producción de O₂ ó consumo de de CO₂. Además, el modelo se utilizó para estimar la concentración de biomasa (Figura A7) y la productividad de biomasa (Figura 4.12) a diferentes intensidades de luz, obteniendo valores de hasta 0.78 g_bL⁻¹d⁻¹ para 610 μmol m⁻² s⁻¹.

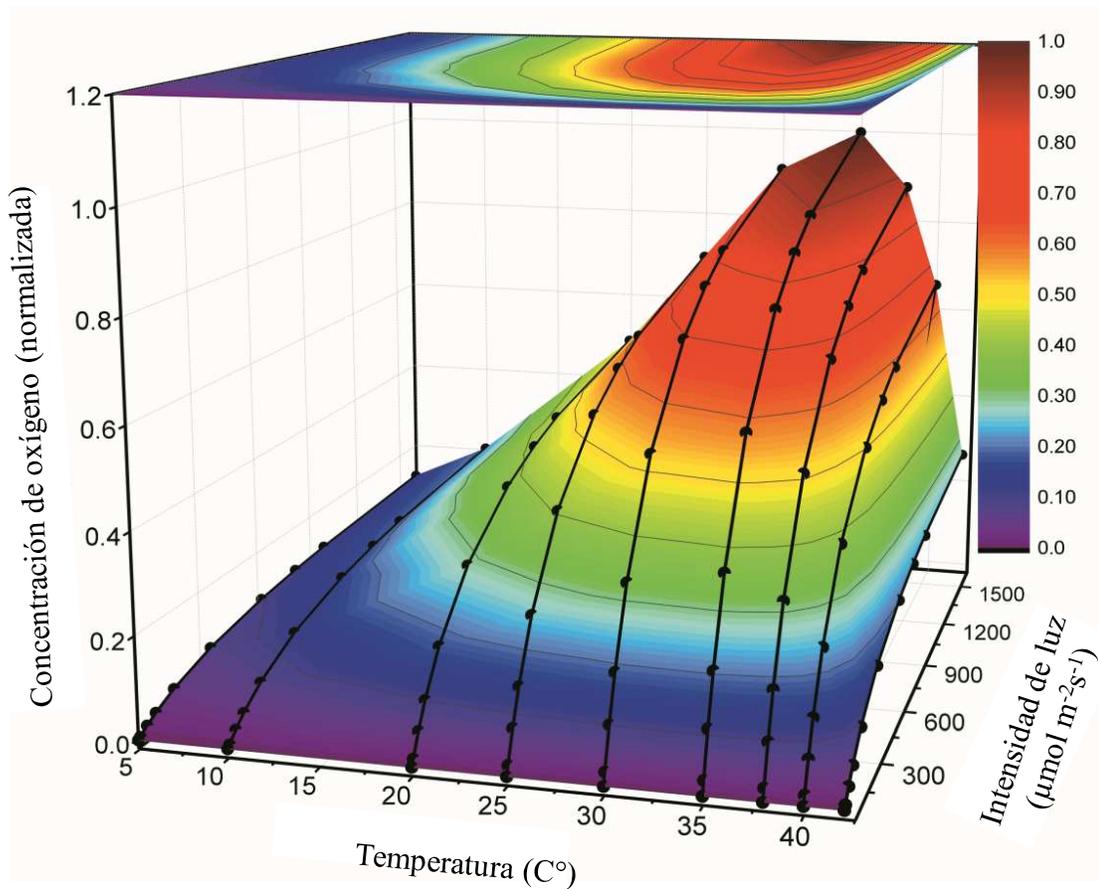


Figura 4.10. Simulaciones del efecto de la temperatura y de la intensidad de luz en la estimación de la concentración de O₂ en la fase líquida.

CAPÍTULO 4. Efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

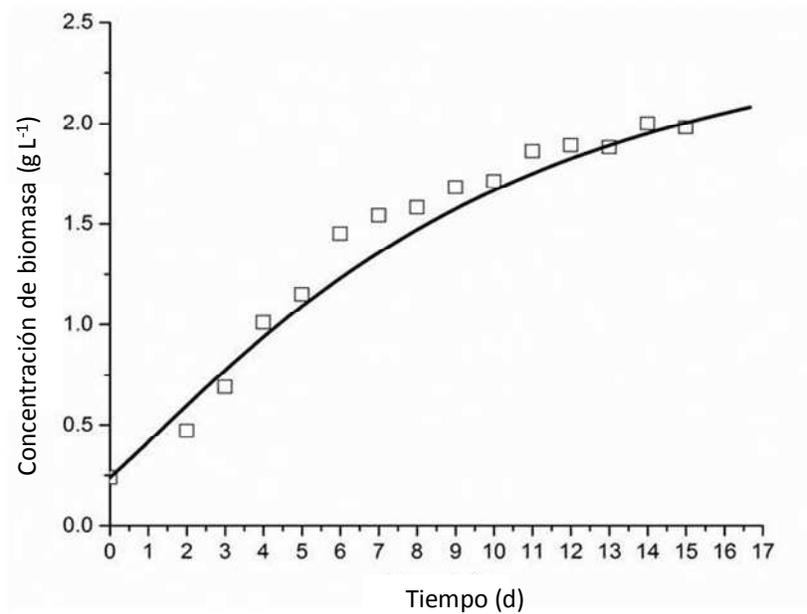


Figura 4.11. Datos experimentales (□) y de simulación (—) para el crecimiento de biomasa, para una intensidad de luz de 117 μmol⁻¹ s⁻¹.

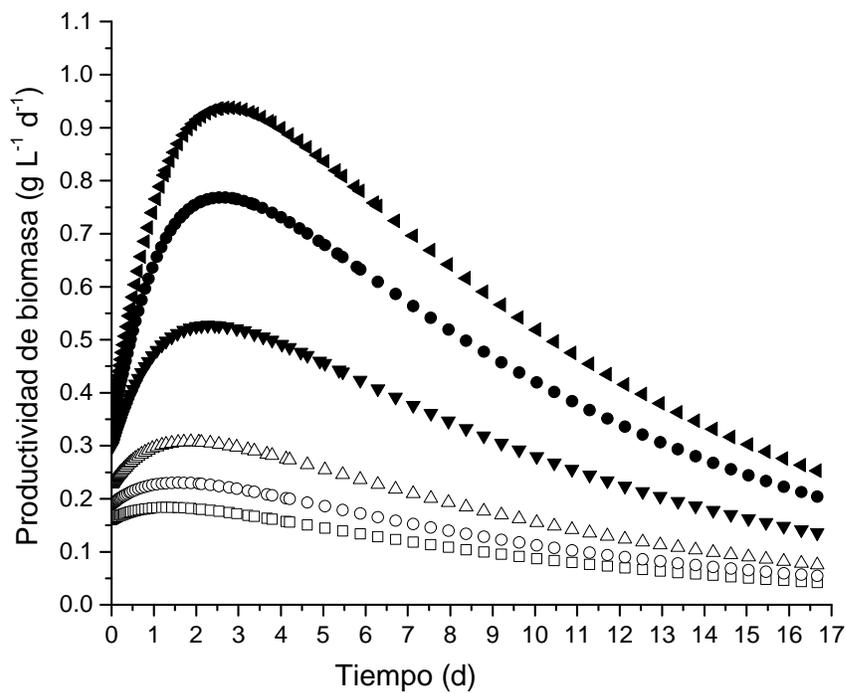


Figura 4.12. Estimación de la productividad de biomasa para intensidades de luz de 117(□), 150(○), 200(△), 335(▼), 500(●) y 610 μmol⁻¹ s⁻¹(◄).

Conclusiones

Los resultados mostraron que experimentos en estado transitorio permiten obtener información sólida, que se puede utilizar para un análisis de la respuesta de células fotosintéticas, ante los cambios en la fluctuación de luz evitando experimentos de largo plazo. En este estudio, la respuesta dinámica indicó que la adaptación del aparato fotosintético a fluctuaciones de luz, en células limitadas por la fuente de nitrógeno, fue muy lenta para dirigir la energía metabólica a la acumulación de lípidos y esto podría presentar el cuello de botella actual para la producción de aceite de microalgas.

El modelo propuesto es una herramienta eficiente para estimar el efecto de la temperatura y de la intensidad luz en la concentración de O_2 , en el consumo de CO_2 y en la productividad de biomasa. También, podría ser utilizado para implementar estrategias de control en fotobiorreactores y para seleccionar las mejores condiciones de operación y optimizar el crecimiento y la productividad en procesos de producción microalgal.

Las respuestas dinámicas de producción de O_2 y de consumo de CO_2 también se podrían utilizar para evaluar otras variables críticas de operación, tales como la concentración de CO_2 en fase gas y/o el efecto de la velocidad superficial de la fase gas, que modifica la frecuencia de las células a ciclos luz-oscuridad, especialmente en reactores de columna de burbujeo, y la tasa de transferencia de nutrientes y de gases entre el medio de cultivo y la microalga.

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

Resumen

En este capítulo se presenta, el efecto de la concentración de CO₂ en fase gas sobre la tasa de consumo de dióxido de carbono para la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*, cultivada en un reactor de columna de burbujeo de 20L, a diferentes tiempos de operación y para diferentes concentraciones de biomasa. Se realizaron experimentos dinámicos que representan la rapidez de cambio del proceso de desorción-reacción y del proceso de absorción-reacción para la concentración de CO₂ durante el crecimiento de la microalga. En estado cuasi-estacionario la tasa de consumo de CO₂ más alta fue de 3.3 gL⁻¹d⁻¹ obtenida para una concentración de biomasa de 0.5 gL⁻¹, y ésta disminuyó a 0.68 gL⁻¹d⁻¹ para una concentración de biomasa de 3.1 gL⁻¹. En experimentos la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* toleró concentraciones de CO₂ de 14.6%, en estas condiciones el pH del medio de cultivo fue 6.8 y para el medio sin microalga fue 5.4. Resultados del balance de materia muestran que el 90% de carbono que se alimentó durante la operación (15 días) del reactor (39.2 g C-CO₂) fue fijado por la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* (35.2 g C-CO₂) para la producción de biomasa.

5.1. Introducción

El dióxido de carbono (CO₂) es un gas emitido por una gran variedad de procesos industriales y contribuye al efecto invernadero. Las microalgas usan con alta eficiencia fotosintética la energía solar y el CO₂ para sintetizar compuestos de valor agregado que pueden usarse en la industria farmacéutica y de alimentos (Chisti, 2007) como, vitaminas, ácidos grasos poli-insaturados, antioxidantes y pigmentos. También, son de interés ambiental en la integración con procesos de combustión, de tratamiento de aguas residuales y de producción de biogás; esto intensifica el proceso de producción de biomasa, reduciendo los costos de inversión y de operación (Zhao y Su, 2014). Actualmente, hay diferentes configuraciones de reactores que se

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

pueden utilizar para el cultivo de algas, entre los más reportados están los de tipo columna, de placas y tubulares (Tabla 1.1, capítulo 1). En estos, la intensidad de luz, la concentración de nutrientes y la concentración de CO₂ afectan el rendimiento global del proceso de fotosíntesis, la velocidad específica de crecimiento y, por consecuencia, la productividad de biomasa. Las microalgas emplean el CO₂ atmosférico para la fijación de carbono inorgánico. En el interior de la célula, el bicarbonato es convertido en CO₂ por la enzima anhidrasa carbónica. El CO₂ es incorporado al ciclo de Calvin por la enzima ribulosa 1-5-bifosfato carboxilasa-oxigenasa (Rubisco) y en las rutas metabólicas que están relacionadas con dicho ciclo para la síntesis de macromoléculas celulares (proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos) (Rosenberg y col., 2008). La adaptación de las microalgas a los cambios en la concentración de CO₂ se realizan a través de mecanismos de acumulación de carbono (CCM, por sus siglas en inglés) (Zhao y Su, 2014). En microalgas unicelulares los mecanismos de acumulación son importantes en el proceso de fijación de carbono, debido a que mantienen la concentración requerida de CO₂ en el sitio activo de la enzima Ribulosa 1,5 bifosfato carboxilasa-oxigenasa (Rubisco), a través del transporte de carbono inorgánico o de CO₂ en la células, también los CCM contribuyen a incrementar la tasa de fotosíntesis y a disminuir la tasa de fotorespiración en condiciones de limitación de la fuente de carbono.

La relación estequiométrica para la fijación de CO₂ como biomasa microalgal depende de la cepa y de las condiciones de operación, y puede ser entre 1.6 y 1.88 g CO₂ por cada g de biomasa que se produce. El CO₂ en fase gas es una variable importante en el cultivo de microalgas: 1) bajas concentraciones podría limitar el proceso de fotosíntesis y afectar la tasa específica de crecimiento y, 2) altas concentraciones podrían inhibir enzimas asociadas al metabolismo en el ciclo de Calvin, debido a la acidificación. Además, el transporte de CO₂ de la fase gas al medio de cultivo cambia el equilibrio químico entre las especies de CO₂/HCO₃⁻/CO₃²⁻, el pH del medio de cultivo, la cantidad disponible de carbono inorgánico en forma de CO₂ ó HCO₃⁻ y la magnitud de la tasa de consumo de carbono inorgánico por la microalga.

Por otro lado, cuando se usan concentraciones del CO₂ atmosférico (0.04%) las tasas específicas de crecimiento son muy lentas, debido a limitación de CO₂ (Zhao y Su, 2014). Por esto, una alternativa es mezclar CO₂ con el flujo de aire en concentraciones que no limiten o inhiban el crecimiento, para aumentar la eficiencia de fotosíntesis (razón entre la tasa de

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

consumo de CO₂ y/o la tasa de producción de O₂ entre la tasa de absorción de luz) y, con esto, la productividad de biomasa en reactores.

La evolución de biomasa en reactores es el resultado de efectos que acoplan la transferencia de masa, la actividad de fotosíntesis y depende de las condiciones iniciales de operación (intensidad de luz, temperatura, concentración de nutrientes y concentración de CO₂) (Cabello y col., 2014). Los modelos que describen el crecimiento generalmente agrupan a estos efectos y, en consecuencia, no es posible analizarlos de forma independiente. Además, los experimentos de crecimiento de biomasa son en periodos de días y, se requieren realizar varios experimentos con diferentes condiciones iniciales (Cabello y col., 2014). Una alternativa para esto, es determinar la tasa fotosintética de consumo de CO₂ que, a diferencia de la tasa de crecimiento, tiene una respuesta dinámica en escala de tiempo de minutos (Merchuk y col., 2007). Esta medición es proporcional a la tasa específica de crecimiento que está relacionada con la estequiometría global de la reacción de fotosíntesis y, además proporciona información acerca de la tolerancia de la microalga a altas concentraciones de CO₂, la región limitada por la transferencia de masa y la región limitada por la reacción, esto en respuesta a cambios en la concentración de CO₂ en la fase gas alimentada. Además, el tiempo requerido para determinar las curvas de fotosíntesis en respuesta a cambios en la concentración de CO₂ y los parámetros cinéticos se reduce, además se han desarrollado algunos modelos para estimar la tasa de consumo de CO₂ (Nedbal y col., 2010; Camacho y col., 1999; Pegallapati y Nirmalakhandan, 2012).

El objetivo de este capítulo fue evaluar el efecto de la concentración de CO₂ sobre la respuesta dinámica de la actividad de fotosíntesis para la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*, en un reactor de columna de burbujeo de 20L. También, determinar la tasa de consumo de CO₂ en respuesta a cada cambio en escalón de la concentración de CO₂. Además, se realizó un balance de masa para el CO₂ que considerara la cantidad de carbono inorgánico que fija la microalga y la cantidad de carbono que se absorbe en el medio de cultivo.

5.2. Materiales y Métodos

5.2.1. Descripción del fotobiorreactor de columna de burbujeo instrumentado

La Figura 5.1 muestra la representación esquemática del fotobiorreactor de columna de burbujeo de 20L. La columna de acrílico tiene un diámetro interno de 12.7 cm, una altura de 110 cm y una zona de desgasificación de 40 cm de altura con un diámetro de 20 cm. La fase gaseosa se distribuye desde la parte inferior a través de un difusor con 60 orificios de 0.56 mm de diámetro interno.

El sistema de iluminación artificial integra LEDs de alta intensidad de luz blanca (10 m de tira de LEDs 5050, LED illuminate, China) y cuatro lámparas fluorescentes de 54 Watts (400-700 nm, MaGG, México). La intensidad de la luz que incide en la superficie del reactor se midió con un sensor cuántico 2π (407026sp, Extech, EE.UU.), la tasa de fotones disponibles para la fotosíntesis, PPRF, en el centro del reactor con un sensor cuántico 4π micro-esfera (US-SQS / L, Heinz Walz GmbH, Alemania). El pH se midió con un sensor electroquímico (27003-20, Cole-Parmer, EE.UU.). Un sensor polarográfico (SN-29020-10, Cole-Parmer, EE.UU.) se utilizó para medir la concentración de oxígeno en la fase líquida en el intervalo de 0-200%. El CO_2 en la fase líquida se midió con un sensor electroquímico (SN-29000-01, Cole Parmer, EE.UU.). El CO_2 y el O_2 en la fase de gas se determinó con un detector de infrarrojo y un electroquímico, respectivamente (9500, Omega Alpha, EE.UU.). La alimentación de la fase gas se midió con un controlador de flujo másico (32708-28, Cole Parmer, EE.UU.). La temperatura se controló con un equipo de calentamiento (PolyScience, EE.UU.) Las señales de los sensores se registraron en línea con un módulo de adquisición de datos (CompactDAQmx, NI, EE.UU.) conectado a un computadora con un software NI LabVIEW (2009) para el registro de datos.

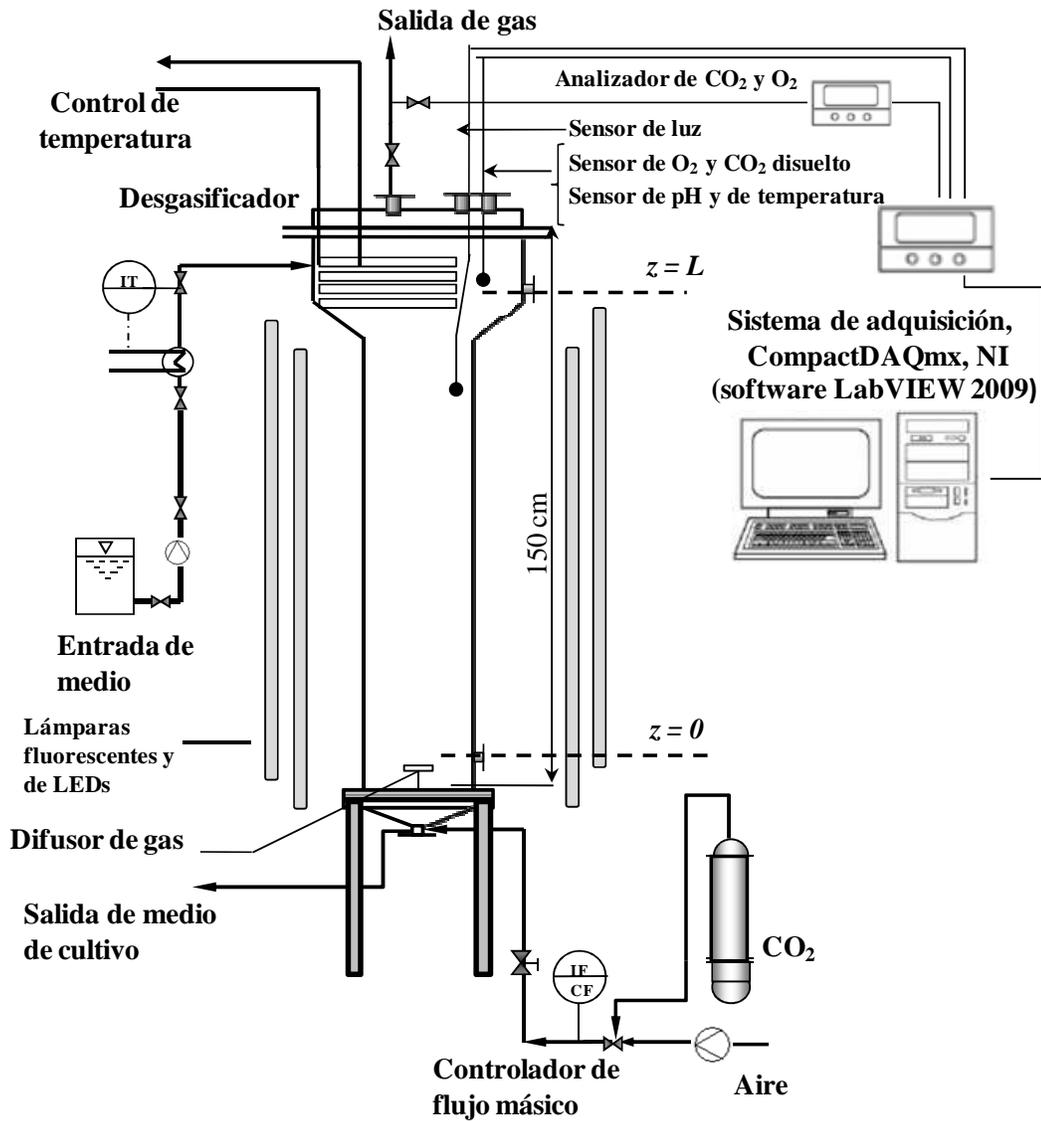


Figura 5.1. Representación esquemática del fotobiorreactor de columna de burbujeo que se utilizo para el crecimiento de la microalga *S. obtusiusculus*.

En condiciones iniciales el fotobiorreactor de columna de burbujeo de 20L (Figura 5.1) se operó por lotes con 17.6 L de medio BG-11, 1.8 L de inóculo de *S. obtusiusculus* y una intensidad de luz continua de $336 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La fase gas fue suministrada a un flujo de 3.4 L min^{-1} con 5.6% de CO_2 .

A continuación se describe la metodología que se empleó para la perturbación de la variable exógena en el fotobiorreactor de columna de burbujeo

5.2.2. Experimentos dinámicos de la concentración de CO₂

Los experimentos dinámicos con la realización de cambios escalón en la concentración de CO₂ en fase gas se realizaron desde el primer día de operación y con dos estrategias diferentes. La primera estrategia fue para evaluar la tolerancia de la microalga a altas concentraciones de CO₂ y la segunda para evaluar el efecto de la concentración de CO₂ en fase gas sobre la capacidad de eliminación de CO₂. En la primera parte de experimentos se disminuyó la concentración de CO₂ de 5.6% a 0.04% y posteriormente se realizaron incrementos en escalón partiendo de 0.04% (concentración atmosférica) con la siguiente secuencia: 3.3, 6.4, 8.2, 11.4 y 14.3% los cambios se realizaron en periodos de 50 minutos y se ensayaron para concentraciones de biomasa de 0.73 y de 2.4 g L⁻¹. En la segunda parte de experimentos se realizaron fluctuaciones de CO₂ iniciando a la concentración de 5.6%, seguido por decrementos en escalón (proceso de desorción-reacción) de 3.8, 2.2, 1.55 y de 0.04% en periodos de 30 minutos, el tiempo de adquisición de los datos de CO₂ fue de 1 s. Después de alcanzar la concentración mínima de CO₂ (concentración atmosférica), se incrementó ésta en forma secuencial y en escalón (proceso de absorción-reacción) durante 30 minutos, hasta la condición inicial de operación (5.6% de CO₂). La metodología para un cambio escalón fue similar a la presentada por Jacob-Lopes y col., (2010), para determinar la tasa de consumo de CO₂. Los experimentos en este trabajo se obtuvieron para concentraciones de biomasa de 0.2, 0.5, 2.5 y 3.5 g L⁻¹. En estas condiciones, las variables respuesta alcanzaron estados pseudo-estacionarios y se determinó la capacidad de eliminación de CO₂ por unidad de volumen, a partir de un balance macroscópico en la fase gas (Jacob-Lopes y col., 2009; Jacob-Lopes y col., 2010) con la ecuación:

$$CE = \frac{(C_{G,CO_2,e} - C_{G,CO_2,s}) \cdot F_G}{V_R} \quad (5.1)$$

También, para las condiciones anteriores, se determinó la tasa de consumo de CO₂ a partir de un balance diferencial de masa en la fase líquida (Jacob-Lopes y col., 2010) que considera la

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

descripción física de un proceso de absorción-reacción; la acumulación de carbono inorgánico total (CIT) por el cambio en el equilibrio químico, entre las especies CO_2 , HCO_3^- , CO_3^{2-} , y la transferencia de masa de CO_2 a la fase líquida, por la ecuación:

$$\frac{dC_{CIT}}{dt} = K_L a_{CO_2} (C_{L,CO_2}^* - C_{L,CO_2}) - r_{CO_2} \quad (5.2)$$

Para algunos datos se determinó la eficiencia de remoción de CO_2 con relación al dióxido de carbono que se alimenta al sistema, por la siguiente relación:

$$\text{Eficiencia de Remoción} = \left(\frac{C_{G,CO_2,e} - C_{G,CO_2,s}}{C_{G,CO_2,e}} \right) \times 100 \quad (5.3)$$

5.2.3. Carbono inorgánico total en el medio de cultivo

El carbono inorgánico total en el medio de cultivo se determinó con la concentración de CO_2 en la fase líquida, C_{L,CO_2} , la concentración de bicarbonato, $C_{HCO_3^-}$, y la concentración de carbonato, $C_{CO_3^{2-}}$, a partir de la siguiente expresión:

$$C_{CIT} = C_{L,CO_2} + C_{HCO_3^-} + C_{CO_3^{2-}}$$

Las concentraciones entre las especies químicas están relacionadas con reacciones en equilibrio, como se muestra en el siguiente esquema:

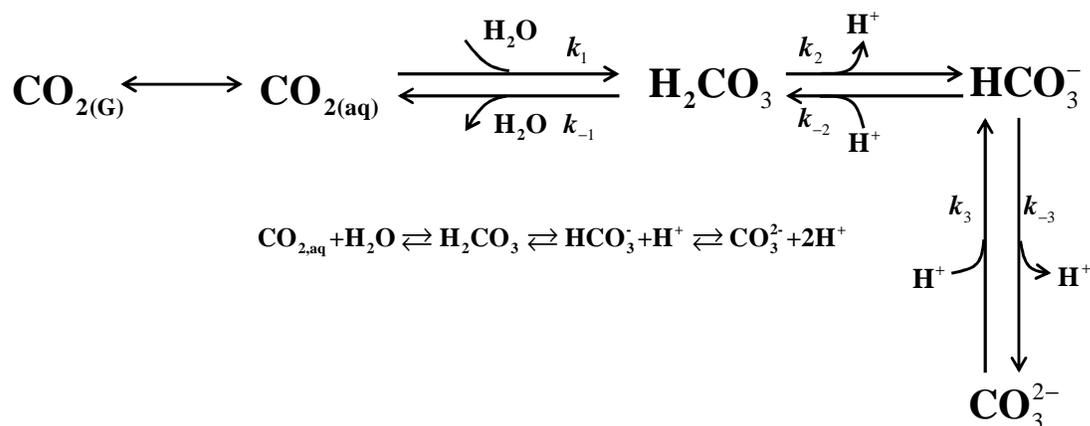


Figura 5.3. Reacciones de solubilización y equilibrio del CO_2 en la fase líquida (adaptado de Sugai-Guérios et al. 2014)

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

Considerando la Figura 5.3, la concentración de CO₂ en la fase líquida está relacionada con la cantidad de carbono inorgánico total (C_{CIT}) mediante la siguiente expresión:

$$C_{CIT} = C_{L,CO_2} \cdot \left(1 + \frac{K_1}{C_{H^+}} + \frac{K_1 K_2}{C_{H^+}^2} \right); \quad K_1 = \frac{C_{HCO_3^-} \cdot C_{H^+}}{C_{L,CO_2}}; \quad K_2 = \frac{C_{CO_3^{2-}} \cdot C_{H^+}}{C_{HCO_3^-}}$$

Donde K_1 y K_2 son las constantes de disociación que dependen de la temperatura de la siguiente forma:

$$pK_1 = 3404.7 \cdot T^{-1} + 0.033 \cdot T - 14.8$$

$$pK_2 = 2902.4 \cdot T^{-1} + 0.023 \cdot T - 6.5$$

y C_{H^+} es la concentración de protones en el medio de cultivo ($C_{H^+} = 10^{-pH}$).

La concentración teórica de dióxido de carbono en la fase líquida se determinó considerando una condición de electroneutralidad, el equilibrio de disociación del agua y el equilibrio de las especies carbonatadas, con la siguiente expresión (Camacho y col., 1999):

$$dC_{H^+} = \frac{\frac{K_1}{C_{H^+}} + 2 \frac{K_1 K_2}{C_{H^+}^2}}{1 + \frac{K_w}{C_{H^+}^2} + \frac{K_1 C_{L,CO_2}}{C_{H^+}^2} + 8 \frac{K_1 K_2 C_{L,CO_2}}{C_{H^+}^3}} dC_{L,CO_2} \quad (5.4)$$

La concentración teórica de CO₂ disuelto, las constantes de disociación (K_1 y K_2) y la concentración de carbono inorgánico total (teórica) se calcularon para cada experimento dinámico de la concentración de CO₂ (que se describe en la sección 5.2.2).

5.2.4 Balance de carbono inorgánico

Se realizó un experimento en el reactor de columna de burbujeo de 20L (sin perturbaciones) para una intensidad de luz de 336 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, flujo de gas de 3.4 L min^{-1} , una concentración de CO₂ de 2.2% y una temperatura controlada de 30°C±1.5. Se adquirió en línea (por 1hr) la concentración de CO₂ en la salida y en la entrada del reactor, para obtener un valor promedio de la respuesta. Con esto, se determinó la capacidad de eliminación de CO₂ (ecuación 5.1) cada 24hr. Se realizó un balance de masa para determinar la relación entre la cantidad de carbono inorgánico fijado por la microalga y la cantidad de carbono inorgánico que se alimentó al sistema. La cantidad de CO₂ por consumo se obtuvo con el área bajo la curva de la

tasa de consumo de CO₂ versus el tiempo de operación, aplicando un método de integración (OriginPro v.9). La cantidad de carbono fijado por la microalga se determinó con la concentración de biomasa final y con la fracción de carbono inorgánico (0.55 g-C / g-biomasa) en la misma; esta última se midió por el método de análisis elemental (Toledo y col., 2013). La concentración de compuestos solubles en el medio y de volátiles en la fase gaseosa no se determinaron.

5.3. Resultados y discusión

Los propósitos de este capítulo fueron determinar: 1) la cantidad de carbono que se recupera en la biomasa de la microalga *S. obtusiusculus*, 2) la respuesta en el orden de minutos en un reactor de columna de burbujeo a altas concentraciones de CO₂ y 3) las respuestas dinámicas a cambios escalón en la concentración de CO₂ en la entrada del reactor, éstas últimas sirven de base para determinar a partir de un balance estequiométrico, la tasa de consumo de CO₂ que están relacionadas con la productividad de biomasa.

5.3.1 Balance de carbono inorgánico para la microalga *S. obtusiusculus*

La Figura 5.4 muestra el consumo de CO₂ y la producción de biomasa para la microalga *S. obtusiusculus*. A partir de estos datos se pudo estimar que el valor máximo de la productividad de biomasa para este período fue 0.36 g_bL⁻¹d⁻¹, y que la tasa de consumo de CO₂ fue 0.9 g_{CO2}L⁻¹d⁻¹ y de la eficiencia máxima de remoción de CO₂ fue 6.6%, estos valores se corresponden a la fase exponencial de crecimiento. Para obtener el balance de carbono inorgánico se utilizó el método que se describe en la sección 5.2.4. La relación (Fig. 5.4) de la cantidad de CO₂ consumidos y de la biomasa producida fue entre 1.9 y 2.2 g_{CO2}g_b⁻¹. Para el balance de masa se usaron los valores de consumo de 7.2 g_{CO2}L⁻¹ y de producción de 3.2 g_bL⁻¹, de los cuales los gramos totales de carbono alimentados al reactor de 20L fueron 39.2 g C-CO₂ y los gramos totales de carbono que se fijaron en la microalga fueron 35.2 g C-CO₂. Por lo tanto, se fijó el 90% del carbono que se destinó para el crecimiento de la microalga, el 10% restante podría estar en forma de carbono inorgánico disuelto en el medio, como compuestos orgánicos

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

volátiles y/o como polisacáridos extracelulares producidos por la microalga (Jacob-Lopes y col., 2010).

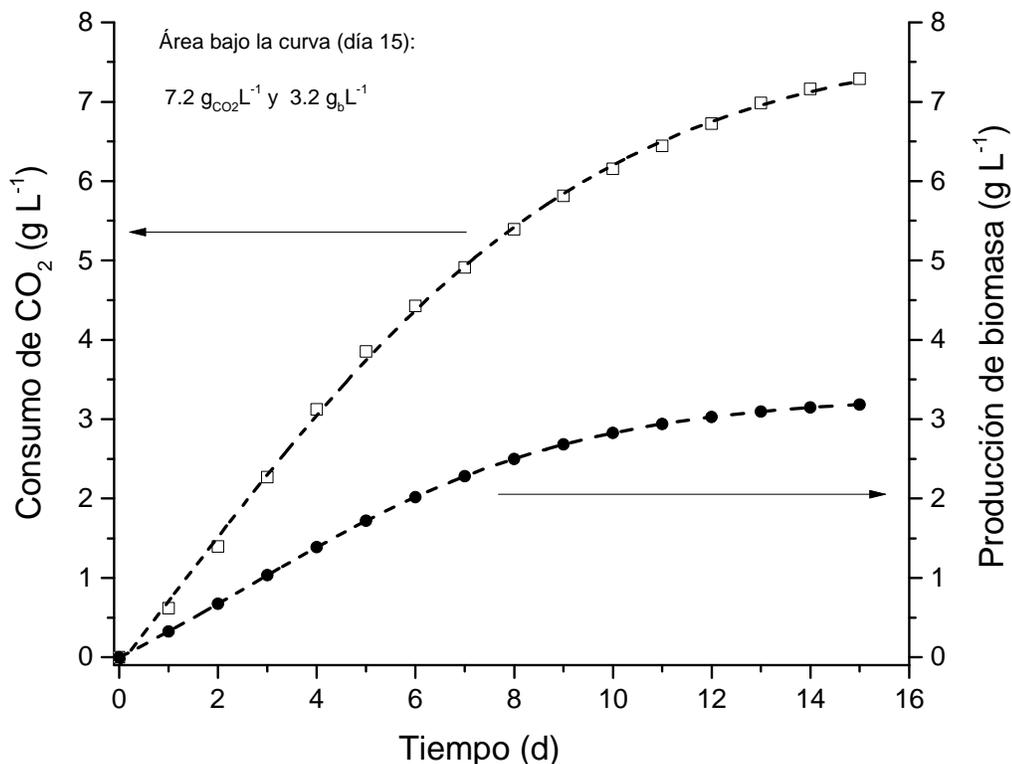


Figura 5.4. Evolución del consumo de CO₂ y producción de biomasa para la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*. Estos datos fueron obtenidos a una concentración constante de CO₂ de 2.2%, intensidad de luz de 336 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, flujo de gas de 3.4 L min⁻¹ y una temperatura controlada de 30°C±1.5.

En la literatura se expone que los valores de productividad de biomasa y de tasa de fijación de CO₂ dependen de cada especie y de las condiciones de operación en que estas fueron cultivadas. Esto se debe considerar al comparar entre diferentes especies ó los diferentes géneros de cada una. En el presente trabajo, para *Scenedesmus obtusiusculus*, la productividad máxima de biomasa y la tasa máxima de consumo de CO₂ tienen valores más altos que los reportados por Zhao y Su, (2014) para las microalgas *Scenedesmus obliquus* y *Scenedesmus* sp., en éstas la productividad máxima de biomasa es de 0.14 y de 0.22 g_bL⁻¹d⁻¹,

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

respectivamente y la tasa máxima de fijación de CO₂ es de 0.26 y de 0.41 g_{CO2}L⁻¹d⁻¹, respectivamente. En el trabajo de Zhao y Su, (2014), los datos de la tasa de fijación de CO₂ se obtuvieron teóricamente a partir de la productividad máxima de biomasa (1.88xP_b, según estequiometría reportada por Chisti, 2007). En contraste con los datos obtenidos experimentalmente (Figura 5.4) en nuestro trabajo para diferentes etapas de crecimiento de la microalga *S. obtusiusculus*. Por otra parte, diferentes trabajos presentan la eficiencia de remoción para medir la capacidad del medio de cultivo sobre el CO₂ que se alimenta al sistema. En el trabajo de Chai y Zhao, (2012) determinan la eficiencia de remoción de CO₂ en un fotobiorreactor de columna de burbujas para la microalga *Chlorococcum* sp. Las eficiencias de remoción que reportan son de 94, 87 y 68% para concentraciones de CO₂ (en la alimentación del reactor) de 5%, 10% y 15%, respectivamente, los valores son altos y no muestran un balance de carbono. En el presente trabajo, la eficiencia máxima de remoción para *Scenedesmus obtusiusculus* fue de 6.6% para una concentración de CO₂ de 2.2%. Mientras que en el trabajo de Chai y Zhao, (2012), la eficiencia máxima de eliminación fue del 94%, la cantidad de CO₂ transportado al medio de cultivo es principalmente capturada por el medio alcanzando una concentración de biomasa de 0.9 g_bL⁻¹. Contrario a lo anterior, en los resultados mostrados de la Figura 5.4, y en el balance de carbono presentado, el CO₂ fue principalmente fijado en la microalga para la producción de biomasa.

También, Jacob-Lopes y col., (2010) presentan datos experimentales en términos de captura de CO₂ y de la cantidad fijada de CO₂ por una cianobacteria. En estos, la fracción más alta de fijación de CO₂ en biomasa representa el 5.6% de la tasa de captura de CO₂ (14.4 g_{CO2} L⁻¹d⁻¹), para un tiempo de operación de 48 hr. En promedio, la razón entre la cantidad total de CO₂ secuestrado y la cantidad de biomasa final indica que sólo el 3.1% del total de CO₂ es convertido en biomasa. También, presenta datos de recuperación de C-CO₂ en un cultivo de *Chlorella* sp. (15% de CO₂), en los cuales reportan que el 3.9% del CO₂ secuestrado en la microalga es para la fijación de carbono. Para la cianobacteria, el rendimiento de la reacción global de fotosíntesis para la conversión de C-CO₂ en biomasa es bajo, mientras que el 96.9% del C-CO₂ que no es convertido en biomasa es transformado por procesos físicos y/o por procesos secundarios de origen biológico. Con esto, Jacob-Lopes y col., (2010) propone otras rutas de conversión de CO₂ en cultivos de microorganismos fotoautotróficos como son: rutas

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

fisicoquímicas de secuestro de CO₂ (precipitación de carbonato y bicarbonato) y rutas biológicas de secuestro de CO₂ (secreción de biopolímeros en el medio de cultivo y la producción de compuestos orgánico volátiles; hidrocarburos volátiles y aldehídos).

De la poca información experimental con respecto a los balances de carbono en fotobiorreactores. Sydney y col., (2010) presentan un análisis de diferentes microalgas con aplicación industrial para la fijación de CO₂. En éste, hace mención de varios estudios para cuantificar la producción de biomasa en términos de carbono fijado y de producción de compuestos extracelulares como son: compuestos orgánicos volátiles, organohalógenos, polisacáridos y otros. Los autores reportan valores experimentales de 86.68, 87.96, 80.40 y 70.42% de recuperación de C-CO₂ en biomasa, para las microalgas *C. vulgaris*, *B. braunii*, *S. plantensis* y *D. tertiolecta*, respectivamente. Para estas mismas, la tasa de fijación de CO₂ son de 251.6, 496.9, 318.6 y 272.4 mg L⁻¹d⁻¹. También, Godos y col., (2014) presentaron un análisis de la transferencia de dióxido de carbono en sistemas abiertos para el cultivo de la microalga *Scenedesmus* sp.. En este reportan que el 66% del C-CO₂ alimentado (gases de combustión) al sistema fue incorporado en biomasa, el 6% fueron pérdidas en la salida del desgasificador y la cantidad restante como carbono inorgánico disuelto en la fase líquida. En el presente trabajo, el consumo de CO₂ por la microalga *S. obtusiusculus* se dirigió principalmente hacia la producción de biomasa, 90% de recuperación de C-CO₂. Del análisis anterior, es importante realizar estudios que permitan la estimación con certidumbre de la tasa de fijación de CO₂ y también determinar en forma apropiada el balance de carbono, durante el crecimiento de microalgas, y con esto, evaluar la viabilidad ambiental y de producción de biomasa en estos sistemas. Sin duda, y a manera que se genere más conocimiento sobre la tecnología de fotobiorreactores, la producción a escala industrial tendría un impacto significativo sobre la captación biológica de carbono y podría coadyuvar de forma eficiente en la reducción de emisiones de dióxido de carbono de origen antropogénico.

A continuación se presentan resultados globales y de naturaleza dinámica obtenidos en el fotobiorreactor de columna de burbujeo para la microalga *S. obtusiusculus*.

5.3.1 Comportamiento global del fotobiorreactor

En la Figura 5.5 se muestra el comportamiento global de las variables de proceso durante el experimento de crecimiento de biomasa. También, se señalan las diferentes etapas en las que se realizaron los experimentos dinámicos de concentración de CO₂ en fase gas. La concentración máxima de biomasa fue de 3.2 gL⁻¹, la concentración de oxígeno en la fase líquida aumentó a 19 mgL⁻¹, la concentración final de N-NO₃ fue 70.4 mgL⁻¹, la concentración de CO₂ en la fase líquida se mantuvo en un valor entre 0.051 y 0.057 gL⁻¹, el pH incrementó a 7.0 por actividad de la microalga y los valores de la temperatura oscilaron entre 22 y 28°C.

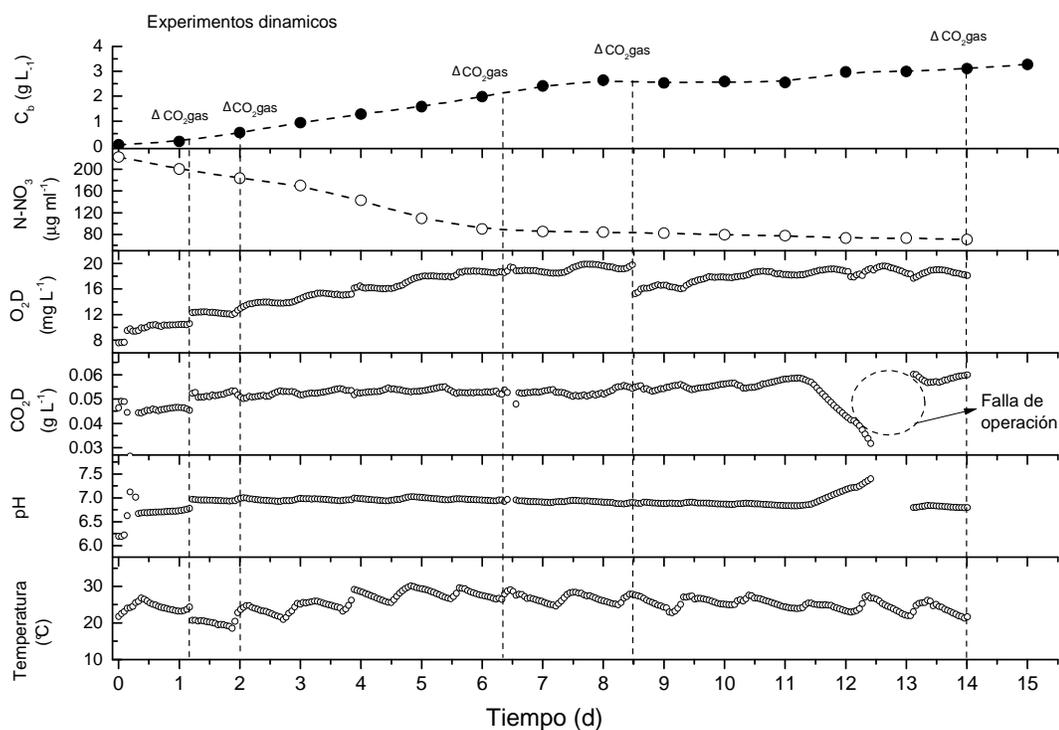


Figura 5.5. Datos experimentales de crecimiento de biomasa, N-NO₃ en la fase líquida, O₂ en la fase líquida, CO₂ en la fase líquida, el pH y la temperatura durante la operación del fotobiorreactor de columna de burbujeo. Los periodos en los que se realizaron los cambios en la alimentación de CO₂ en fase gas se señalan como ΔCO₂ y una línea punteada.

5.3.2. Respuesta dinámica ante cambios en escalón de la concentración de CO₂

La Figura 5.6 muestra el comportamiento dinámico de la concentración de CO₂ en la salida del reactor, del pH (Figura insertada) y de la concentración de CO₂ en la fase líquida (Figura insertada) en respuesta a cambios escalón en la alimentación de CO₂. Para una concentración de biomasa de 0.73 y de 2.4gL⁻¹ la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* toleró la concentración de 14.3% de CO₂. En estas condiciones, y para la concentración de biomasa más alta (2.4gL⁻¹), la concentración de CO₂ en la fase gas disminuyó de 14.3% a 13%, el pH del medio aumentó de 6.3 a 6.7 y la concentración de CO₂ en la fase líquida disminuyó de 0.06 gL⁻¹ a 0.053 gL⁻¹, con respecto a los valores presentados para la concentración de biomasa de 0.73 gL⁻¹. Estos cambios indican que la microalga *S. obtusiusculus* presenta actividad fotosintética, aún en altas concentraciones de CO₂ que disminuyen el pH en el medio de cultivo y que podrían afectar el crecimiento de la microalga. Sabiendo que la respuesta a altas concentraciones de CO₂ depende de cada especie y de las condiciones iniciales de operación en el cultivo. *S. obtusiusculus* toleró una concentración mayor de CO₂ en comparación con los datos reportados por Zhao y Su, (2014) para *Scenedesmus obliquus* y *Scenedesmus* sp. con valores máximos de 12% y 10%, respectivamente. Por ello, la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* podría usarse en corrientes provenientes de gases con concentraciones de CO₂ entre 10 y 15%. Con respecto a otras especies las *Chlorella* son promisorias para el consumo de CO₂ y para la fijación de CO₂ en carbono intracelular, éstas toleran concentraciones en el orden de 40% de CO₂ y son utilizadas en la integración con unidades secundarias y/o equipos de combustión. Sin embargo, se debe considerar que esto disminuye el pH, por la alta concentración de CO₂, lo que puede inhibir la actividad de la enzima Rubisco por la acidificación, inactivar los mecanismos de acumulación intracelular de carbono inorgánico, y con esto disminuir la productividad de biomasa en fotobiorreactores. Esto se debe considerar en aplicaciones industriales donde se evalúan algas con alta velocidad de crecimiento, alta actividad de fotosíntesis, alto contenido de lípidos y/o carbohidratos, además la adaptación y/o tolerancia en condiciones extremas (pH, intensidad de luz y temperatura).

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

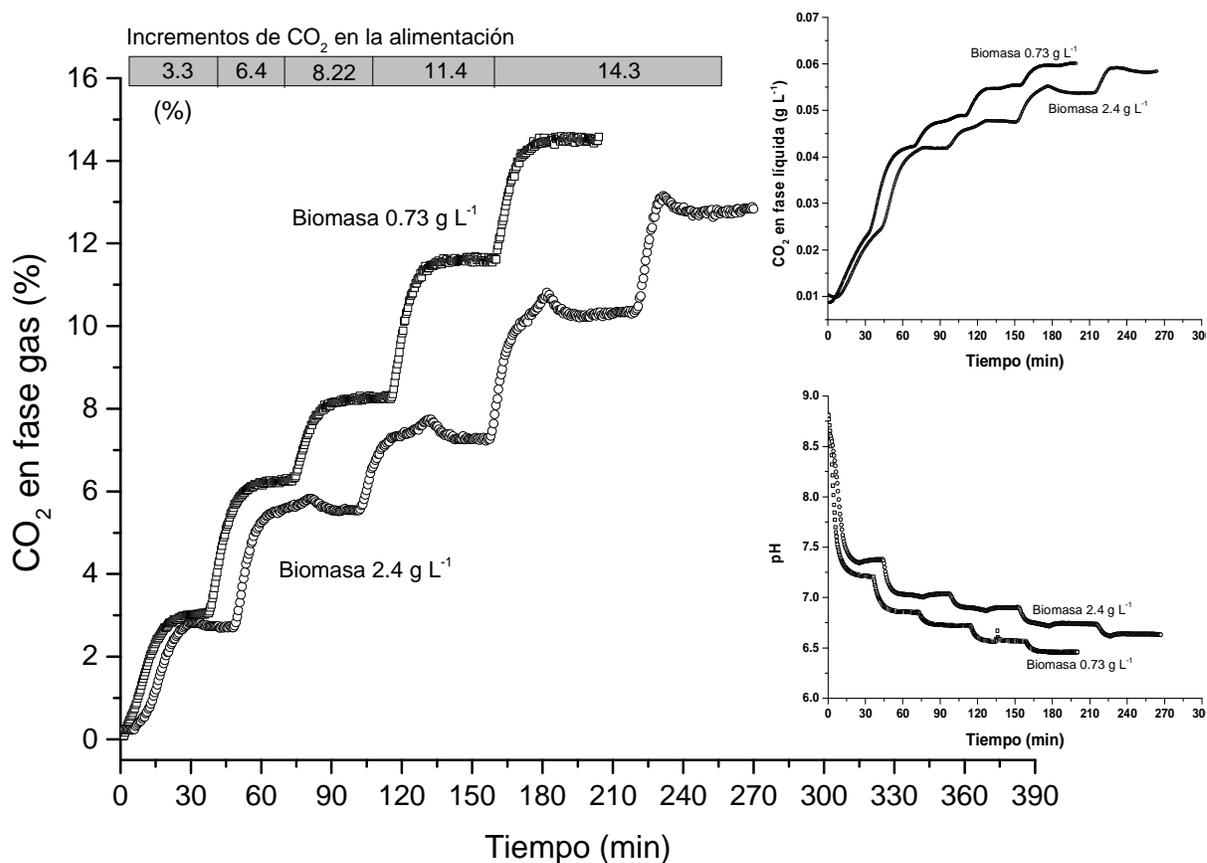


Figura 5.6. Respuesta dinámica de la concentración de CO₂ en la salida del reactor, del pH (gráfica insertada) y del CO₂ en la fase líquida (gráfica insertada), para cambios en concentraciones de 0.04 a 14.3 % de CO₂ en la alimentación al reactor y para concentraciones de biomasa de 0.74 y 2.4 g L⁻¹.

La Figura 5.7 muestra la respuesta dinámica de la concentración de CO₂ (normalizada) en la entrada y en la salida del reactor (en medio sin microalga). El proceso de absorción y desorción, en respuesta a los cambios escalón (de 0.04 a 1.55 y hasta 5.6%), representa la rapidez de cambio de la concentración de CO₂ en alcanzar el estado estacionario en el sistema. El valor de la concentración de CO₂ alcanza el 95% de los cambios con respecto al valor en estado estacionario en un tiempo de 20 minutos. En este tiempo el equilibrio químico y la transferencia de CO₂ de la fase gas a la fase líquida alcanzan el estado estacionario en el reactor. En el caso donde la fase biológica esta presente en el reactor, los procesos son de absorción-reacción y de desorción-reacción, y la diferencia entre la concentración de CO₂ (en

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

estado estacionario) en la entrada y en la salida del reactor está asociada a la eliminación de CO₂ por el medio de cultivo. El estado transitorio representará la rapidez de cambio de los mecanismos asociados al transporte de masa, al equilibrio químico entre las especies carbonatadas y a la tasa de consumo de CO₂ por la microalga *S. obtusiusculus*.

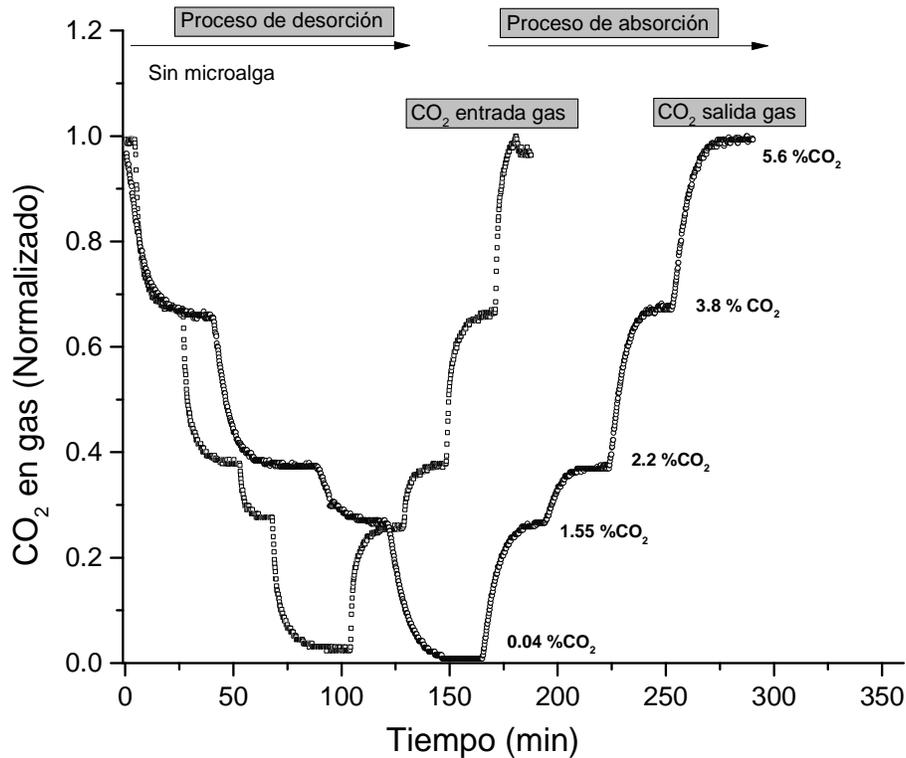


Figura 5.7. Respuesta dinámica de la concentración de CO₂ en la alimentación y en la salida del reactor de columna de burbujeo para un sistema (aire-medio mineral) sin microalga.

La Figura 5.8 muestra la respuesta dinámica de la concentración de CO₂, en respuesta a los cambios escalón de la variable exógena, para una concentración de biomasa de 1.6 gL⁻¹ y para el medio sin microalga. El análisis se realizó con base en la descripción dinámica del proceso de absorción-reacción de CO₂ en el medio de cultivo. La diferencia entre las concentraciones de CO₂ en estado estacionario (Fig. 5.8) representa el consumo de CO₂ por la microalga *S. obtusiusculus* (Ec. 5.1), para cada cambio escalón. La parte dinámica representa la rapidez de cambio con la que los mecanismos de transporte de masa del CO₂ a la fase líquida, las reacciones de equilibrio químico y el consumo por la microalga alcanzan un nuevo estado

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

estacionario (95% respecto al valor final), en respuesta al cambio en la concentración de CO₂ en fase gas.

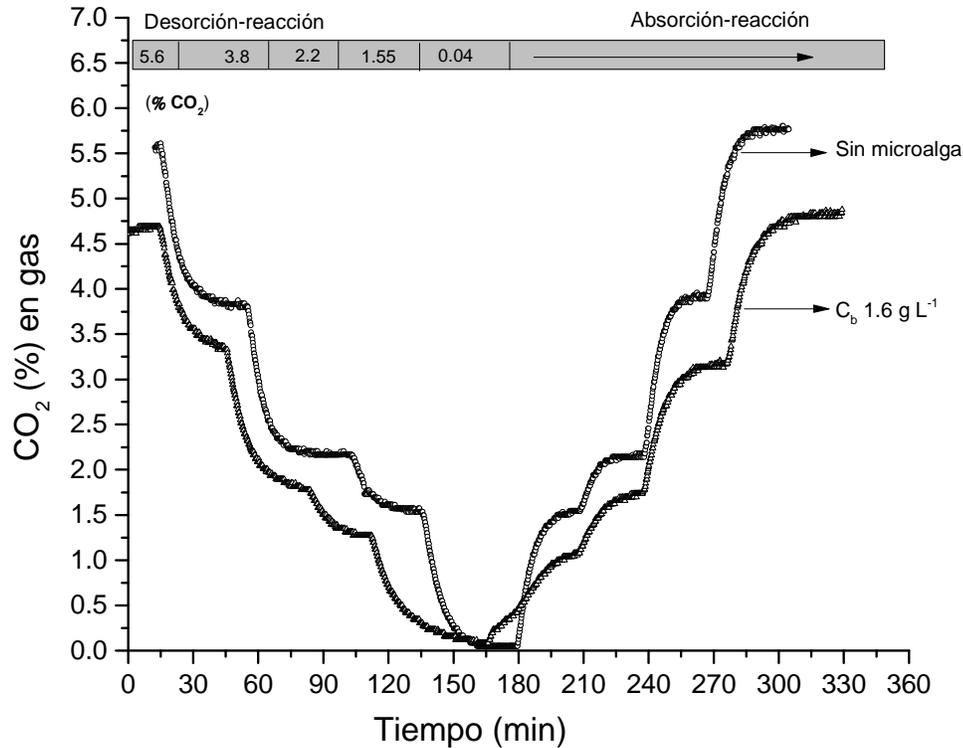


Figura 5.8. Respuesta dinámica de dióxido de carbono en fase gas, para los experimentos de cambio escalón en la concentración de alimentación de CO₂. Para medio sin microalga y para una concentración de biomasa de 1.6 g L⁻¹.

La Figura 5.9 muestra la respuesta dinámica del proceso de absorción-reacción y de desorción-reacción para el CO₂ y representa la interacción entre los diferentes mecanismos fenomenológicos que suceden dentro del reactor. Los experimentos fueron para concentraciones de biomasa de 0.5, 1.6, 2.2 y 3.1 g L⁻¹. Estos valores se indican en la curva de crecimiento (Fig. 5.5). Para una concentración de biomasa de 0.5 g L⁻¹ (desorción-reacción con concentraciones de CO₂ a la entrada de 5.5, 3.8, 2.2, 1.55 y 0.04%) los valores en estado estacionario de la concentración de CO₂ a la salida fueron 4.3, 3.0, 1.65, 1.18 y 0.04%. Para una concentración de biomasa de 3.1 g L⁻¹ los valores en estado estacionario de la

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

concentración de CO₂ fueron 5.46, 3.87, 2.10, 1.44 y 0.37%. Se observa en la Figura 5.9 que la diferencia entre la concentración de CO₂ en la entrada y en la salida del reactor disminuye para concentraciones de biomasa por arriba de 2.6 gL⁻¹, esto indica un menor consumo por la microalga, debido a limitación en la disponibilidad de luz y al agotamiento de nutrientes. Con los datos de la Figura 5.9 se obtuvieron los valores de la tasa de consumo de CO₂ (Ec. 5.1) para la microalga *S. obtusiusculus*, estos se presentan en la siguiente sección.

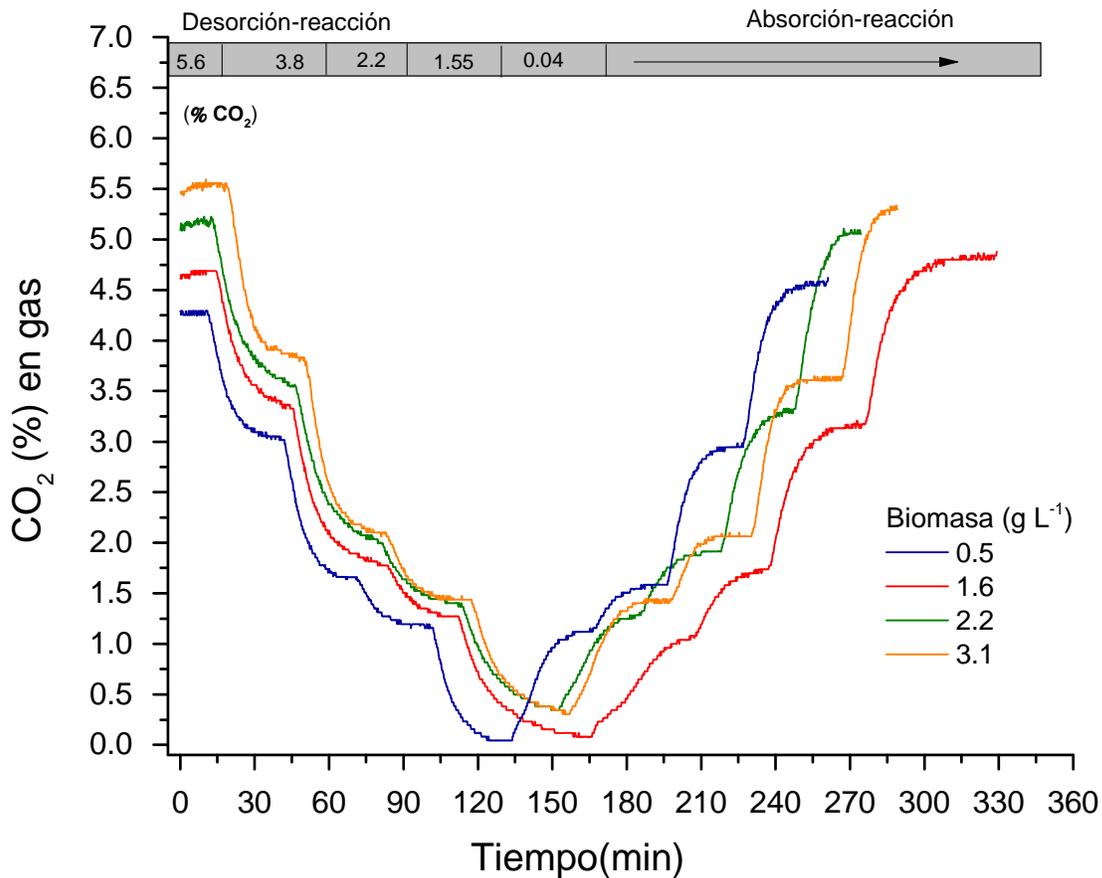


Figura 5.9. Respuesta dinámica de CO₂ en la salida del reactor para los experimentos de cambio escalón en la concentración de alimentación de CO₂. Para contenidos de biomasa de 0.5, 1.6, 2.2 y 3.1 g L⁻¹.

5.3.3. Balance macroscópico en la fase gas para el CO₂

La Figura 5.10 muestra la tasa de consumo de CO₂ para cada cambio en escalón en la concentración de CO₂. Para concentraciones de biomasa de 0.5 a 2.2 gL⁻¹ la relación entre la tasa de consumo de CO₂ y la concentración de CO₂ en la fase gas (0.04 a 2.2%) fue lineal. Para una concentración de biomasa de 0.5 gL⁻¹ y una concentración de CO₂ de 5.6% la tasa máxima de consumo de CO₂ fue 3.26 gCO₂L⁻¹d⁻¹ y la eficiencia máxima de remoción fue 17%. Para la misma concentración de biomasa (0.5gL⁻¹) y el intervalo de concentración de 0.04 a 2.2% de CO₂, de 2.2 a 3.6% de CO₂ y de 3.6 a 5.6% de CO₂ la tasa de consumo de CO₂ aumentó 93%, 31.3% y 9.2%, respectivamente. Para la concentración de biomasa de 3.1 gL⁻¹ la tasa de consumo de CO₂ fue 0.68 gCO₂L⁻¹d⁻¹ (5.6% de CO₂), la eficiencia de remoción fue 5%, y presentó cambios del 14.5% para concentraciones por arriba del 1.5% de CO₂. El valor en la tasa de consumo de CO₂ (3.1 gL⁻¹ de biomasa y 5.6% de CO₂) disminuyó 80% en comparación con el valor obtenido para una concentración de biomasa de 0.5 g L⁻¹ (5.6% de CO₂). Se observa en la Figura 5.10 que la concentración de CO₂ en la fase gas es uno de los factores que limita el transporte de carbono inorgánico del seno de la fase líquida a la microalga (Chai y Zhao, 2012) y que en concentraciones por arriba del 2% de CO₂ (en la alimentación) el proceso en el reactor está limitado por la reacción de consumo de carbono inorgánico (Chai y Zhao, 2012), para concentraciones de biomasa de 1.6, 2.2 y 3.1 g L⁻¹. Con lo anterior es posible obtener la región de operación en la cual dicho factor no limite ó inhiba el crecimiento de microalgas en fotobiorreactores.

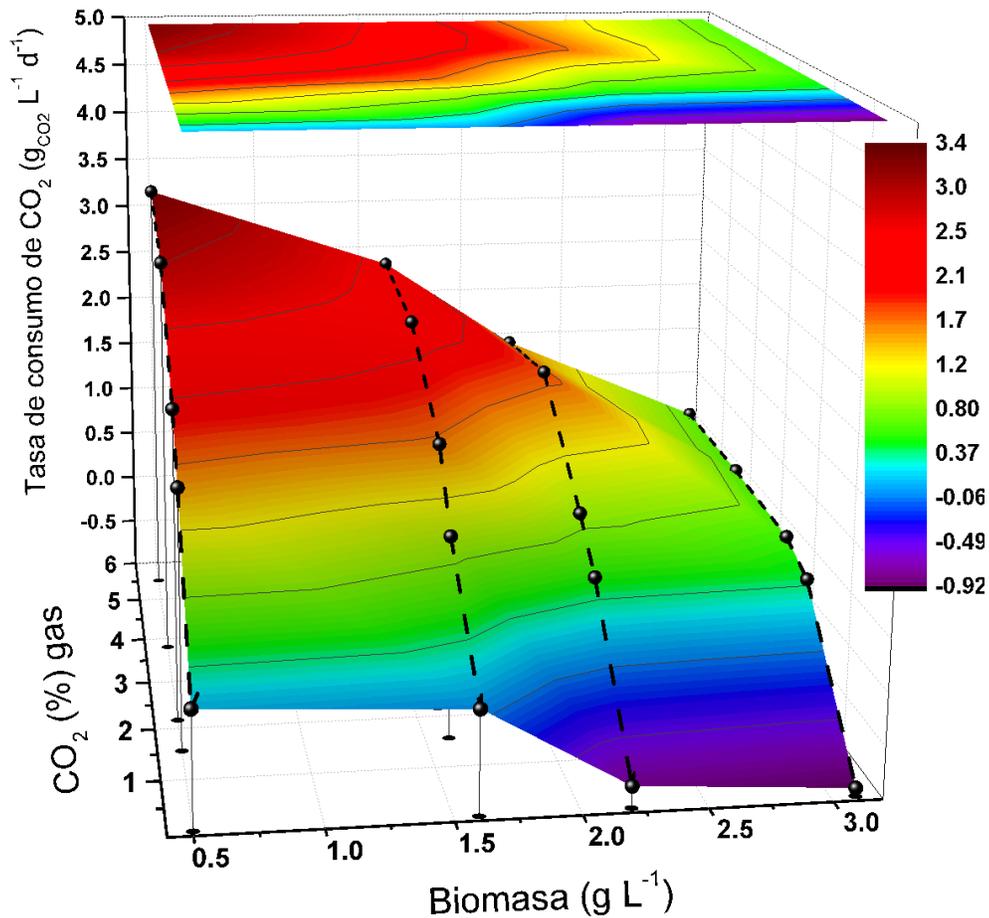


Figura 5.10. Datos experimentales de la tasa de consumo de CO₂ por la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*, en diferentes concentraciones de CO₂ y para contenidos de biomasa de 0.5, 1.6, 2.2 y 3.1 g L⁻¹.

Con respecto a lo reportado en la literatura a cerca del efecto anterior. Satho y col., (2002) describe que la concentración atmosférica de CO₂ (<0.04%) es un factor que limita el proceso de fotosíntesis. Para la microalga *Chlorella* se estableció que para concentraciones por arriba del 5% de CO₂ la tasa específica de crecimiento no aumenta significativamente, y que en este caso, el proceso está limitado por la tasa de consumo de CO₂ y no por la concentración de CO₂ en la fase líquida. El mismo comportamiento se observó para la microalga *Chlorococcum littorale* (resistente a altas concentraciones de CO₂), además de encontrar que en altas

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

concentraciones de CO₂ puede ocurrir inhibición del proceso de fotosíntesis, debido a la acidificación del estroma por la enzima anhidrasa carbónica (CA) (en el ciclo de Calvin-Benson). Esta enzima CA es el catalizador en la reacción de $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$, y por lo tanto aumenta la producción de protones en concentraciones de CO₂ en exceso. En otro trabajo, Zhao y Su, (2014) reportaron que en concentraciones de CO₂ por arriba de 1%, y para algunas microalgas, se presenta un efecto negativo ó no aumenta la magnitud en la tasa específica crecimiento. También, que la mayoría de las microalgas que crecen en concentraciones bajas de CO₂ se inhiben en concentraciones de CO₂ por arriba del 5%, sin embargo éstas son capaces de crecer en altas concentraciones de CO₂ (10-15%) provenientes de corrientes gaseosas de combustión y, que en este caso, la productividad de biomasa y la tasa de fijación es menor que en condiciones normales de operación (< 5% de CO₂). Los autores anteriores presentan datos para la microalga *Chlorella* sp. en concentraciones de CO₂ de 2, 5, 10 y 15% (v/v) donde la eficiencia de remoción disminuye 58, 27, 20 y 16%, respectivamente. En estos resultados, la especie *Scenedesmus obliquus* se adaptó a corrientes provenientes de gases de combustión y alcanzó eficiencias de remoción de 67%, para una intensidad de 150 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y una concentración de 12% de CO₂ (Zhao y Su, 2014). Sin embargo, para ambas microalgas, se debe considerar que pH bajos, debido a altas concentraciones de CO₂, pueden inhibir la actividad de la enzima Rubisco y disminuir el crecimiento de la microalga. Para *Scenedesmus obliquus* reportaron productividades máximas de biomasa de 0.04 a 0.14 g L⁻¹d⁻¹ y tasas de fijación de CO₂ de 0.075 a 0.263 g L⁻¹d⁻¹ (determinadas teóricamente), para concentraciones de CO₂ entre 0.04 y 12%. Para *Scenedesmus* sp. una productividad máxima de 0.22 g L⁻¹d⁻¹ y una tasa máxima de fijación de CO₂ de 0.41 g L⁻¹d⁻¹, para una concentración de CO₂ de 10%. Por otra parte, Huang y col., (2012) presentan un estudio para la microalga *Desmodesmus* sp. en reactores de columna de burbujeo que operan en condiciones externas. En este, se realizaron experimentos con concentraciones de CO₂ de 10, 5, 2% y 380 ppm (flujo de gas 5 Lmin⁻¹). Los valores que reportan de la velocidad de crecimiento específica para las 3 concentraciones más altas son mayores que en concentraciones de 380 ppm de CO₂ (aire atmosférico). Sin embargo, la velocidad de crecimiento específica en concentraciones de 10 y 5% de CO₂ no cambia significativamente con respecto a la que obtienen en una concentración de 2% de CO₂, esto

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

indica que para una corriente de alimentación con más del 2% de CO₂, el crecimiento de la microalga no presenta limitaciones por la cantidad de CO₂ disuelto en el medio de cultivo. También, Cheng y col., (2006) reportan datos experimentales de la tasa de fijación de CO₂ y de la eficiencia de remoción para concentraciones de CO₂ de 0.04 hasta 3% (*Chorella vulgaris*). El valor máximo de la tasa de consumo de CO₂ fue de 1.92 g_{CO2} L⁻¹d⁻¹ (reactor convencional) y de 6.2 g_{CO2} L⁻¹d⁻¹ (reactor con módulo de membrana) para 1.0% de CO₂ y una eficiencia de remoción de 55.3% para 0.15% de CO₂.

Jacob-Lopes y col, (2009) menciona datos para *Chlorella vulgaris* sobre la capacidad de eliminación de 6.24 g_{CO2}L⁻¹d⁻¹ y una eficiencia de remoción de 15%, para una concentración de 1% de CO₂. En otro trabajo (Chiu y col., 2008) realizado en un reactor de columna de burbujeo, se reporta una capacidad de eliminación de 7.8 g_{CO2}L⁻¹d⁻¹ y una eficiencia de remoción de 58%, para una concentración de 2% de CO₂ para la *Chorella* sp. En el caso de *Chorella vulgaris* una capacidad de eliminación de 1.53 g_{CO2} L⁻¹d⁻¹ y una eficiencia de remoción de 74%, para una concentración de 1850 ppm de CO₂. También, para la cianobacteria *Aphanothece microscopia* N. una capacidad de eliminación de 12.2 g L⁻¹d⁻¹ y una eficiencia de remoción de 52.5%, para una concentración de CO₂ de 15% en un reactor air-lift secuencial. Ho y col., (2011) presentan un análisis de diferentes microalgas que se han empleado en estudios sobre mitigación de CO₂. En éste, se describe que la mayoría de las microalgas y cianobacterias son capaces de utilizar el CO₂ y el HCO₃⁻ a través de mecanismos de concentración de carbono inorgánico, y que sólo algunas *Chlorellas* y cianobacterias podrían tener un alta productividad con una alta capacidad de fijación de CO₂ (500-1800 mg L⁻¹d⁻¹) bajo condiciones de alta temperatura y/o alta concentración de CO₂.

Especies como *C. vulgaris* (6.24 g_{CO2} L⁻¹d⁻¹) (Cheng y col., 2006) y *Aphanothece microscopia* N. (5.43 g_{CO2} L⁻¹d⁻¹) tienen alta capacidad de eliminación de CO₂, de la cual poca usan para transformar en biomasa (Jacob-Lopes y col., 2009), contrario a esto otras especies (*Scenedesmus*) presentan valores de tasas de consumo de CO₂ en un intervalo entre 0.2 y 1.0 g L⁻¹d⁻¹ (datos teóricos). Para la microalga *Scenedesmus* sp. (10% de CO₂) se muestra un valor máximo de productividad de biomasa de 0.217 g L⁻¹d⁻¹ y una tasa de consumo de CO₂ de 0.408 g L⁻¹d⁻¹, para la especie *Scenedesmus obliquus* (6% de CO₂) se presenta una productividad de biomasa de 0.105 g L⁻¹d⁻¹ y una tasa de consumo de CO₂ de 0.198 g L⁻¹d⁻¹,

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

para la misma especie (10% de CO₂) una productividad de biomasa de 0.29 g L⁻¹d⁻¹ y una tasa de consumo de CO₂ de 0.549 g L⁻¹d⁻¹. Los datos reportados anteriormente de la tasa de consumo de CO₂ son obtenidos teóricamente ($P_{CO_2} = 1.88 \times P_b$ gL⁻¹d⁻¹). En el presente trabajo, la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* presentó una mayor tasa de consumo de CO₂ en comparación con los valores reportados por Ho y col., (2011) para la misma especie. Incluso, en los primeros días de crecimiento (0.5 gL⁻¹) la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* presentó una alta tasa de consumo de CO₂ (3.26 gCO₂L⁻¹d⁻¹) en comparación con algunas especies (Ho y col., 2011; Jacob-Lopes y col., 2009; Cheng y col., 2006) que presentan buenas características para la captura de CO₂.

La Figura 5.11a muestra las respuestas dinámicas del pH a los cambios en la concentración de CO₂ en fase gas (Fig. 5.9). Para una concentración de 1.6 g L⁻¹ el pH incrementó en 1.5 unidades en comparación con el valor del pH para medio sin microalga. El aumento de pH está asociado al consumo de CO₂ en respuesta a la actividad fotosintética de la microalga. La respuesta dinámica del pH alcanza el 95% del valor en estado estacionario en 8 minutos para cada uno de los cambios escalón que representan el proceso de absorción-reacción y de desorción-reacción. El consumo de carbono inorgánico (Figura insertada) disminuyó al aumentar la concentración de biomasa a 3.1 g L⁻¹, debido a limitaciones causadas por la atenuación de luz y el agotamiento de nutrientes. Los valores máximos de pH se alcanzan para concentraciones menores a 1.55% de CO₂. Para *S. obtusiusculus* el valor óptimo de la actividad fotosintética está entre 7.5 y 8 de pH (Cabello y col., 2015), en este intervalo la mayor cantidad de carbono inorgánico está presente en la forma de bicarbonato (HCO₃⁻).

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

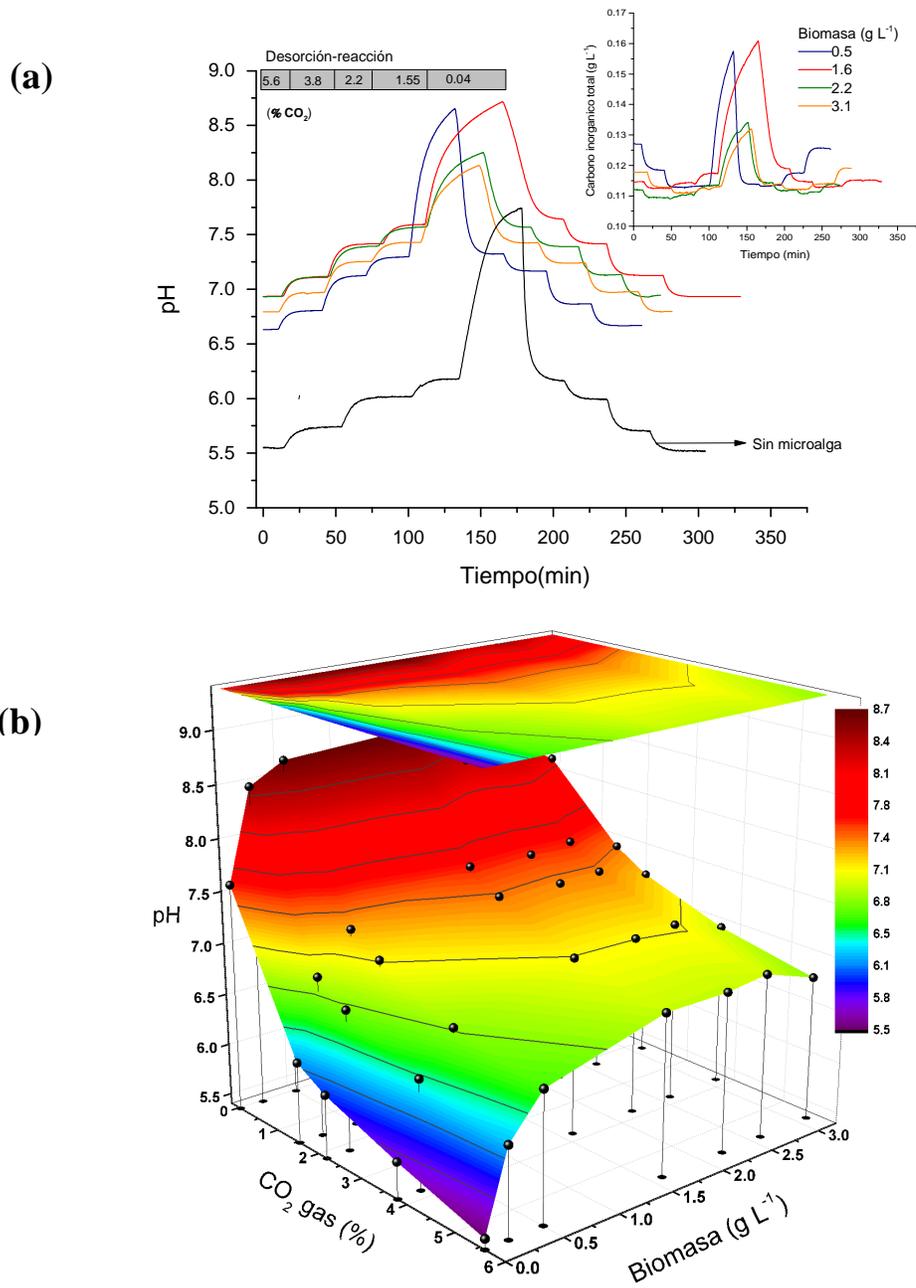


Figura 5.11. (a) Respuesta dinámica del pH para los cambios en escalón de la concentración de alimentación de CO_2 , con medio sin microalga y para concentraciones de biomasa de 0.5, 1.6, 2.2 y 3.1 g L^{-1} . (b) Datos del pH en estado estacionario para cada respuesta en la Figura 5.11a.

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

En el trabajo de Zhao y Su, (2014) se describe que el crecimiento de biomasa y la tasa de fijación de CO₂ están relacionados directamente con CCM. Altas concentraciones de CO₂ (incluso más alta que el 1%) inhiben la actividad de la enzima anhidrasa carbónica (CA) y afectan los CCM en la célula. Cuando se incrementa la concentración de CO₂ la reacción de hidrólisis aumenta la concentración de HCO₃⁻ y de H⁺, en consecuencia el valor del pH en el medio de cultivo disminuye. Bajos valores de pH pueden inhibir la actividad de la enzima CA, ésta es el catalizador entre las especies de HCO₃⁻ y de CO₂ y es importante en el funcionamiento de los CCM intracelular. Como resultado de lo anterior, el rendimiento de la microalga para la fijación de CO₂ disminuye. Sin embargo, algunas microalgas son capaces de adaptarse al incremento en la concentración de CO₂ y al cambio en el pH del medio de cultivo. A través de diferentes métodos, regulación a nivel genético y/o incrementando la proporción en la distribución de energía entre PSI/PSII. Estos métodos reducen temporalmente la síntesis de carbono inorgánico y proveen simultáneamente más ATP para mantener estable el pH intracelular. Es por esto, que las microalgas son capaces de tolerar altas concentraciones de CO₂. Por otra parte, el pH determina la distribución de la fracción másica entre las especies de carbono en la fase líquida, y esto, afecta la magnitud de la productividad de biomasa en fotobiorreactores. Por ejemplo, para la microalga *Chlorella* la productividad máxima de biomasa se alcanza a un pH de 8 (mayor cantidad de HCO₃⁻) y una concentración de CO₂ de 3%, por el contrario, la productividad de la misma disminuye a un pH de 6.2 y una concentración de CO₂ de 5% (Godos y col., 2014). En este estudio, para la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* y una concentración de 5.6% de CO₂, el pH se mantuvo entre 6.5 (56% HCO₃⁻ y 43% CO₂) y 7.0 (81% HCO₃⁻ y 18% CO₂).

Los resultados de la respuesta dinámica de pH (Fig. 5.11) en la fase líquida se podrían utilizar en el desarrollo de esquemas de control predictivo no-lineal y para estimar la concentración de biomasa en tiempo real (Tebbani y col., 2014). Esta información ha sido utilizada para la optimización de procesos biológicos. En fotobiorreactores las mediciones en línea del pH se han utilizado en la implementación de estrategias de control, para regular: 1) el flujo de CO₂ en la alimentación del reactor que permita mantener un pH óptimo y para suministrar la cantidad de CO₂ requerida en el sistema, esto permite disminuir los costos de operación y 2) el flujo de alimentación de la fase líquida durante la operación en continuo de fotobiorreactores

en condiciones internas y externas. Además, la implementación de estimadores de estados (Tebbani y col., 2014) podría predecir la concentración de metabolitos a través de mediciones experimentales del pH y de la concentración de CO₂ en la fase líquida. Actualmente, la mayor parte de la investigación en control de fotobiorreactores está dirigida en regular el pH y la temperatura en valores para mantener la máxima actividad de fotosíntesis.

Los resultados discutidos en la Figura 11a se complementan con los presentados en la Figura 5.11b, donde se muestran los valores en estado estacionario del pH para diferentes concentraciones de biomasa. Para concentraciones de 1.55, 2.2, 3.8 y 5.6% de CO₂ el pH en el medio de cultivo aumenta debido a una mayor actividad de fotosíntesis resultado de un incremento en la concentración de biomasa (de 0 a 0.5 gL⁻¹), después se mantiene con cambios menores al 2% hasta una concentración de biomasa de 2.6 gL⁻¹, por último disminuye 3.2% para una concentración de biomasa de 3.1 gL⁻¹. En la Figura 5.11b se puede observar que para concentraciones menores a 2.2% de CO₂ el valor del pH es cercano al valor óptimo para esta especie (*Scenedesmus obtusiusculus*) y que para concentraciones mayores de 2.2 % de CO₂ la respuesta del pH derivada del consumo de carbono inorgánico no cambia significativamente.

A continuación se presentan los resultados obtenidos de la tasa de consumo de carbono inorgánico a partir del balance diferencial de masa en la fase líquida (ecuación 5.2), éste considera la descripción física de un proceso de absorción-reacción; la acumulación de carbono inorgánico por el cambio en el equilibrio químico entre las especies CO₂, HCO₃⁻¹, CO₃⁻², y la transferencia de masa de CO₂ de la fase gas a la fase líquida.

5.3.3. Balance diferencial en la fase líquida para el CO₂

En la Figura 5.12a,b,c se muestra la respuesta dinámica de la concentración de CO₂ en equilibrio con la fase líquida y la concentración de CO₂ en el seno de la fase líquida (calculada con la ecuación 5.4), para concentraciones de biomasa de 0.5, 1.6 y 2.2 gL⁻¹, respectivamente. Para cada cambio escalón la diferencia de concentraciones representa la fuerza motriz del flux másico. Para una concentración de biomasa de 2.2 gL⁻¹ y una concentración de 5.6 % de CO₂ el gradiente de concentraciones fue 3.5 veces mayor en comparación con el valor para una

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

concentración de biomasa de 0.5 gL^{-1} . La cantidad de carbono inorgánico se mantuvo en un intervalo de 0.1 a 0.16 gL^{-1} , durante el proceso de absorción-reacción y para cada una de las concentraciones de biomasa (Figura 5.11a). En la Figura 5.12d se presenta la tasa de consumo de CO_2 para diferentes concentraciones de CO_2 en fase gas y para diferentes concentraciones de biomasa. Para una concentración de biomasa de 0.5 g L^{-1} la tasa de consumo de CO_2 fue $1.9 \text{ gL}^{-1}\text{d}^{-1}$ (5.6% de CO_2) y ésta aumenta a $6.5 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1}$ para una concentración de biomasa de 2.2 gL^{-1} . Para una concentración de biomasa de 3.1 gL^{-1} la tasa de consumo de CO_2 disminuyó 23% en comparación con el valor obtenido para una concentración de biomasa de 2.2 gL^{-1} . En la Figura 5.12d la tasa de consumo de CO_2 mostró un incremento lineal con respecto al cambio en la concentración de CO_2 (diferente a lo mostrado en la Figura 5.10), indicando que a estas condiciones aún existe limitación por transporte de masa.

Los resultados de la tasa de consumo de CO_2 en la Figura 5.12d y en la Figura 5.10 (valores de menor magnitud) son diferentes en magnitud y en comportamiento. Los valores en ambas figuras deberían aproximarse. Sin embargo, en la Figura 5.12a,b,c se consideraron valores teóricos de la concentración de CO_2 en el seno de la fase líquida, esto podría generar un error por las suposiciones de electro-neutralidad del medio de cultivo, que permite obtener dicha cantidad a partir de considerar las reacciones de equilibrio químico entre las especies carbonatas y la cantidad de carbono inorgánico total. A diferencia de los resultados presentados en este capítulo, Jacob-Lopes y col., (2010) presentaron un análisis por ambos métodos (balance en fase gas y en fase líquida) para evaluar la conversión de CO_2 en la cianobacteria *Aphanothece microscópica*. En éste, la tasa de captura de CO_2 a partir de un balance diferencial en la fase líquida es de $24.6 \text{ gCO}_2 \text{ L}^{-1}\text{d}^{-1}$ y a partir de un balance macroscópico en la fase gas es de $27 \text{ gCO}_2 \text{ L}^{-1}\text{d}^{-1}$ es similar (concentración de biomasa de 1.7 g L^{-1}). En ambos métodos determinan con 6.3% de diferencia la tasa de captura de CO_2 en fotobiorreactores.

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

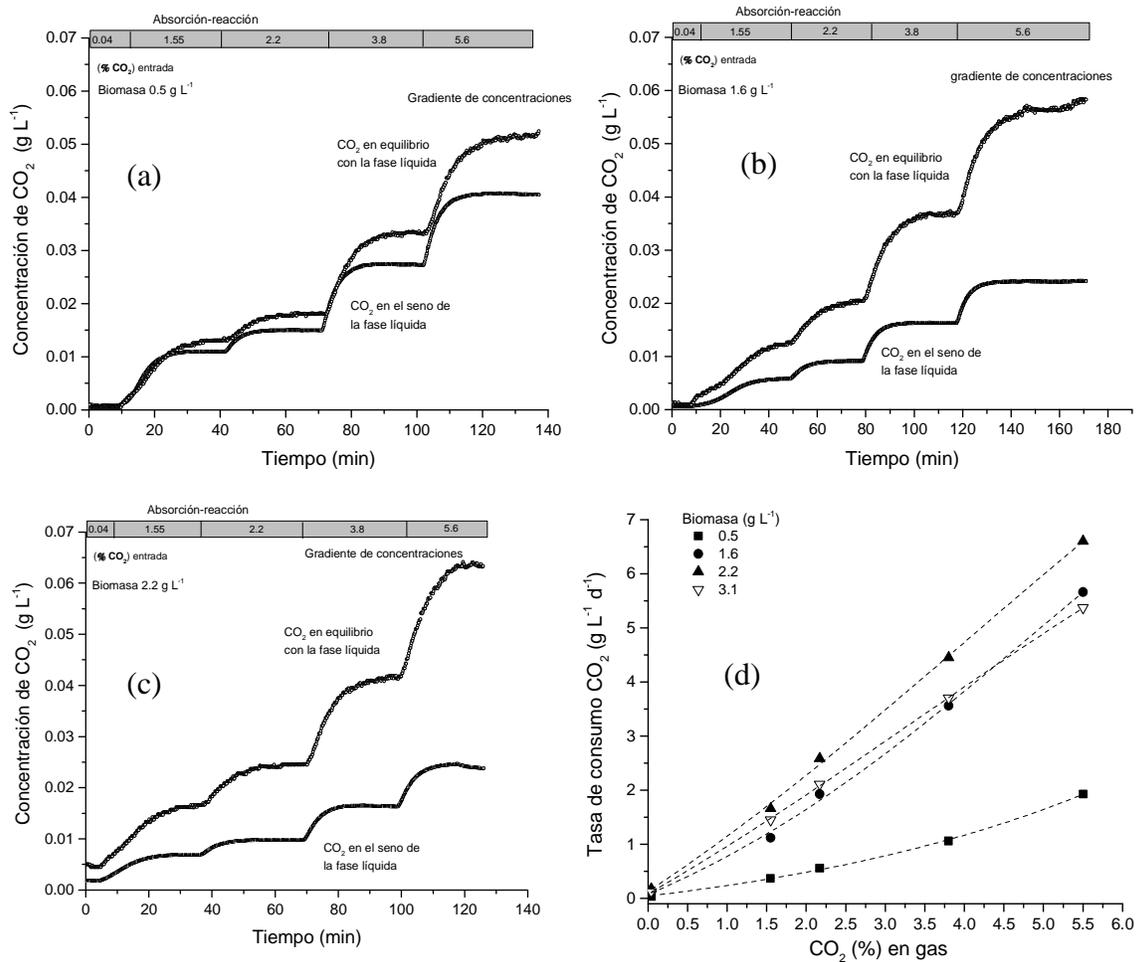


Figura 5.12. Respuestas dinámicas de CO₂ en equilibrio con la fase líquida (experimental) y del CO₂ en el seno de la fase líquida (teórica). Para concentraciones de biomasa de (a) 0.5, (b) 1.6 y (c) 2.2 g L⁻¹. (d) La tasa de consumo de CO₂ fue determinada con el balance diferencial de la ecuación 5.2.

Por último, los resultados presentados en este capítulo exponen que el análisis derivado del efecto de la concentración de CO₂ sobre la tasa de consumo de CO₂ es más complejo que para otras variables exógenas (intensidad de luz), debido a los cambios en el equilibrio químico de las especies carbonatadas que se presentan durante el crecimiento de la microalga. Por otra parte, los mecanismos metabólicos que intervienen en la actividad de la enzima CA, en la

CAPÍTULO 5. Efecto de la concentración de dióxido de carbono sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

regulación y/o control de los mecanismos de acumulación de carbono inorgánico (CCM), aún no son lo bastante claros, y deben ser explorados en estudios que permitan obtener velocidades de reacción que representen el efecto intrínseco de la concentración de CO₂. Por último, a continuación se presentan las conclusiones del presente capítulo.

Conclusiones

El análisis de experimentos dinámicos permitió obtener la tasa de consumo de CO₂ en tiempos cortos y en diferentes concentraciones de CO₂ para la microalga *S. obtusiusculus*.

El balance de carbono para la microalga *S. obtusiusculus* estimó que el 90% de C-CO₂ es fijado para la producción de biomasa.

Se presentó información de estados transitorios y estacionarios en respuesta a una de las principales variables exógenas que afecta la actividad fotosintética en el medio de cultivo. Este análisis es necesario y se debe considerar en la integración con otras tecnologías ambientales que permitan la intensificación de procesos.

CAPÍTULO 6. Efecto de la velocidad de la fase gas sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

Resumen

La definición de estrategias de operación que permitan mejorar el desempeño de fotobiorreactores es importante y para ello un aspecto fundamental es la evaluación de la hidrodinámica sobre la tasa de fotosíntesis. En este capítulo se determinó el efecto de variaciones en la velocidad de la fase gas sobre la actividad de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*, cultivada en un reactor de columna de burbujeo de 20L. Se obtuvieron estados pseudo-estacionarios considerando la respuesta en la producción de O₂ y al consumo de CO₂. Estos estados conjuntan los efectos del mezclado macroscópico de la fase líquida, el incremento en la frecuencia de ciclos internos de luz-oscuridad y la tasa de transferencia de nutrientes y de gases del medio de cultivo a la microalga. Los valores de la tasa de producción de oxígeno en los cambios escalón fueron 57.5, 111 y 187 mg_{O2} g_b⁻¹h⁻¹ para flujos de la fase gas de 3.4, 6.5 y 9.5 L min⁻¹, respectivamente, para una concentración de biomasa de 1.0 g_bL⁻¹. Para concentraciones de biomasa de 0.4, 1.0, 2.2 y 2.9 g_bL⁻¹ se obtuvo una relación de 2.15, 1.38, 0.91 y de 0.86 g_{CO2} g_{O2}⁻¹, respectivamente. Los valores anteriores muestran que la tasa de fotosíntesis incrementa (2 veces) debido al aumento en el mezclado induciendo una mayor tasa de transferencia de masa y una alta frecuencia en ciclos internos de luz-oscuridad. Respecto a la caracterización de la columna de burbujas (sistema aire-agua) los resultados obtenidos del coeficiente de dispersión axial fueron 0.017, 0.024 y 0.030 m² s⁻¹, del coeficiente volumétrico de transferencia de masa del CO₂ fueron 6.3, 13.8 y 24 h⁻¹ y del coeficiente volumétrico de transferencia de masa del O₂ fueron 7.5, 16.5 y 28.5 h⁻¹ para los flujos volumétricos de la fase gas de 3.4, 6.5 y 9.5 L min⁻¹, respectivamente.

6.1. Introducción

La intensidad de luz, la temperatura, la concentración inicial y el pH son las principales condiciones de operación que determinan la velocidad en el crecimiento de microalgas en fotobiorreactores. Sin embargo, hay otros factores operacionales importantes que se deben considerar en el proceso. La velocidad superficial de la fase gas suministra la energía necesaria para mantener en suspensión la biomasa y define el tipo de régimen de flujo (flujo homogéneo, heterogéneo y/o turbulento y el flujo tipo slug) que se establece en reactores trifásicos (Figura 6.1). Y con base al tipo de régimen de flujo establecido se determina: la distribución del tamaño de burbuja, el volumen de retención de la fase gas, las velocidades efectivas de las fases y el grado de mezclado macroscópico en el reactor (Shah y col., 1982). Estos parámetros hidrodinámicos determinan la magnitud con la que se lleva a cabo la transferencia de nutrientes, la transferencia de CO₂ del medio de cultivo a la microalga, la separación por arrastre de O₂ del medio de cultivo a la fase gas, la frecuencia interna de ciclos luz-oscuridad y afectan de manera directa el proceso de fotosíntesis, en consecuencia la tasa específica de crecimiento, y por ello es importante la cuantificación de los mismos (Grobbelaar y col., 1994; Sánchez-Mirón y col., 2000; Pruvost y col., 2008). La técnica experimental de estímulo-respuesta se usa para medir el grado de mezclado macroscópico mediante el análisis de curvas de distribución de tiempos de residencia (DTR) (Van Baten y col., 2003; Luo y Al-Dahhan, 2008; Camacho-Rubio y col., 2004). El método de Dinámica de Fluidos Computacional (CFD) es una herramienta que se usa para estimar parámetros hidrodinámicos (hold-up de la fase gas, la velocidad específica de la fase gas y de la fase líquida) en diferentes geometrías y optimizar el diseño de reactores (Van Baten y col., 2003; Hektman y col., 2013).

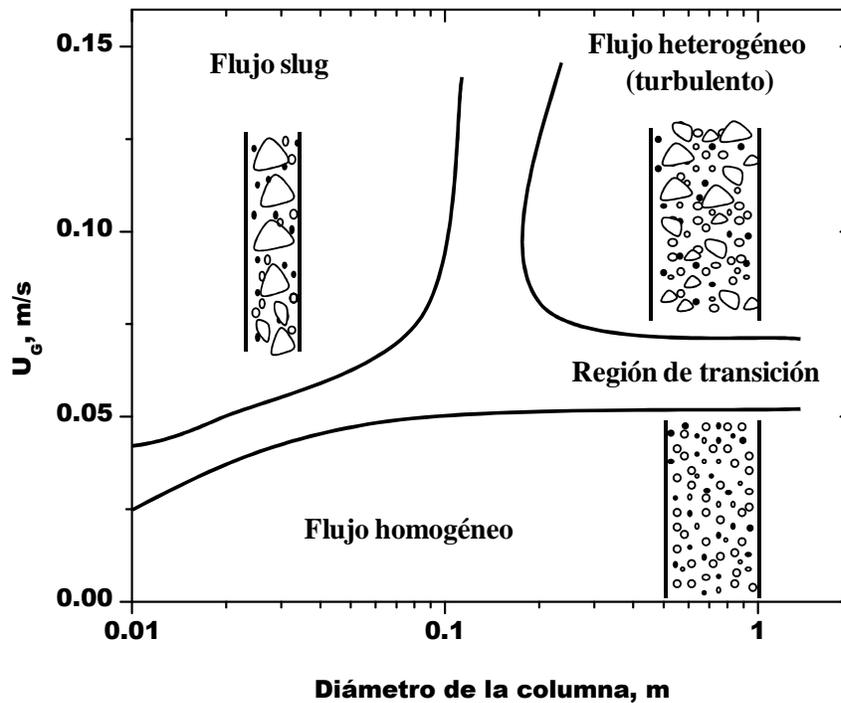


Figura 6.1. Regímenes de flujo en columnas de burbujas (modificado de Shah y col., 1982).

Por otra parte, existen actualmente varios modelos que representan el crecimiento de microalgas (Béchet y col., 2013) en donde los tiempos que representan los fenómenos biológicos y los físicos son de orden de magnitud diferente; para el crecimiento de biomasa en el orden de días, para la velocidad de transferencia de masa y el mezclado de las fases en el orden de segundos a minutos y para las reacciones de fotosíntesis, que implican la captación de fotones, en el orden de picosegundos a milisegundos (Luo y Al-Dahhan, 2012). Contrario al crecimiento de biomasa, la producción de oxígeno y el consumo de dióxido de carbono son respuestas cinéticas que ocurren en el orden de segundos a minutos (Cabello y col. 2014), éstas son afectadas por cambios ó variaciones, en la misma escala de tiempo, en las condiciones de operación. Lo anterior, permite desarrollar modelos dinámicos para simular la actividad de fotosíntesis, considerando los mecanismos más representativos de la fenomenología en fotobiorreactores.

CAPÍTULO 6. Efecto de la velocidad de la fase gas sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

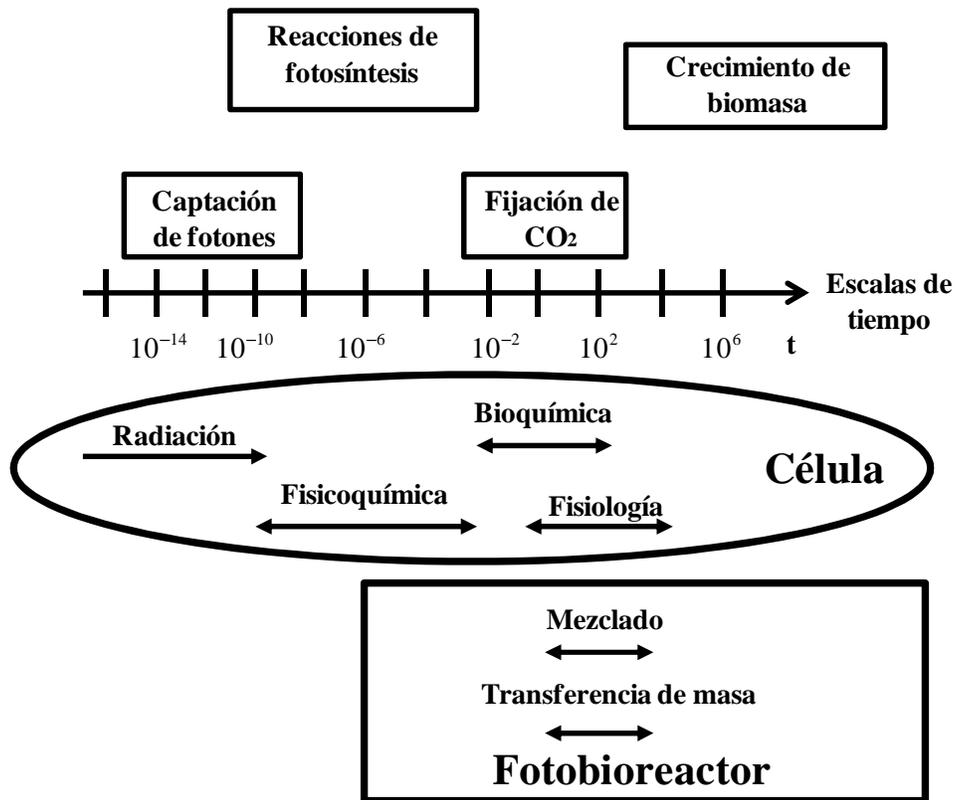


Figura 6.2 Escalas de tiempo de los procesos que ocurren durante la fotosíntesis y la dinámica de fluidos en un fotobiorreactor (modificado de Merchuck y col., 2007).

Merchuk y col., (2007) presentaron una relación de los órdenes de magnitud en el tiempo, en que ocurren los fenómenos físicos y las diferentes etapas en el proceso de crecimiento de microalgas. La Figura 6.2 muestra que el tiempo característico en el mezclado es igual o mayor en magnitud que el tiempo en el que se lleva a cabo el proceso de consumo de CO₂ en la microalga. De esta manera, un cambio en la dinámica de fluidos podría afectar la respuesta dinámica del consumo de CO₂. La dinámica de estos mecanismos está relacionada directamente con velocidades de reacción que generan suficiente energía libre de Gibbs en la forma de ATP (en el fotosistema II) y NADPH, con velocidades de reacción en la fase oscura que utilizan los compuestos de la fase luminosa para la reducción del CO₂ a glucosa en el ciclo de Calvin-Benson, y en consecuencia, con la tasa específica de crecimiento de biomasa.

De lo anterior, un incremento en la velocidad superficial de la fase gas aumentaría el grado de mezclado y la tasa de transferencia de los gases (CO₂ y O₂) al medio de cultivo y de los

nutrientes a las células, incrementando la productividad en un sistema de cultivo. Para evaluar el efecto anterior se requiere la medición de la tasa específica de crecimiento, ésta se obtiene en el orden de días. Por el contrario, perturbaciones en las condiciones de operación proporcionan respuestas dinámicas, en el orden de minutos, de la actividad de fotosíntesis y, además, de la tasa específica de producción de O₂ y de la tasa de consumo de CO₂, para diferentes especies de microalgas (Cabello y col., 2014).

En vista de lo expuesto, el objetivo del presente capítulo fue evaluar el efecto de la velocidad de fase gas sobre la tasa específica de producción de O₂ y de la tasa de consumo de CO₂ para la microalga *S. obtusiusculus*, en un reactor de columna de burbujeo de 20 L. También, se caracterizó la hidrodinámica del reactor de columna de burbujeo utilizando la técnica experimental de estímulo-respuesta y un modelo hidrodinámico de COMSOL Multiphysics.

6.2 Modelo matemático

6.2.1 Modelo hidrodinámico

Las ecuaciones que representan el modelo hidrodinámico de CFD para un flujo de burbujas (gas-líquido) se plantean suponiendo que ambas fases se pueden representar por medios continuos y que estos pueden ser representados y gobernados por ecuaciones diferenciales parciales de mecánica continua. Se consideran variables promediadas en el espacio y en el tiempo, esto resulta en ecuaciones que representan el movimiento de dos fases con interpenetración (se desarrollan ecuaciones de continuidad y de momentum para cada fase) e interacción continua, suponiendo que cada elemento o volumen finito del dominio espacial contiene una fracción, h_L , para la fase continua (líquido) y una fracción, h_G , para la fase dispersa (gas). Lo anterior se desarrolla en un marco de referencia Euleriano, se conoce como modelo Euler-Euler de dos fases (Sokolichin y Eigenberger, 2004).

A continuación se presenta el modelo hidrodinámico de dos fases para un flujo de burbujas, considerando las siguientes suposiciones:

CAPÍTULO 6. Efecto de la velocidad de la fase gas sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

- 1) La velocidad de interfaz, u_{slip} , considera el transporte de momentum entre la fase gas y la fase líquida.
- 2) La fase dispersa (flujo de burbujas de gas) y la fase continua (flujo de líquido) se representan con un modelo Euler-Euler de dos fases.
- 3) Las fases fluidas se consideran incompresibles y el campo de presión es el mismo para ambas fases.
- 4) Se considera una distribución homogénea de las burbujas que ascienden sobre el área de sección transversal de la columna.
- 5) Todas las burbujas que se generan por efecto del difusor son agrupadas en una clase de burbujas de masa constante y las burbujas de cada clase mantienen su masa a través del dominio espacial del flujo gas-líquido. Esto significa que los efectos de ruptura, re-dispersión y de coalescencia de burbujas se desprecian (Sokolichin y Eigenberger, 2004).
- 6) El movimiento relativo entre las burbujas de gas y la fase líquida se determina por un balance entre las fuerzas viscosas y las fuerzas de presión.
- 7) La densidad de la fase gas es despreciable en comparación con la densidad de la fase líquida.

Con base en las suposiciones anteriores, la ecuación de movimiento que representa la dinámica del campo de flujo local para la fase líquida, u_L , es:

$$\underbrace{h_L \cdot \rho_L \frac{\partial u_L}{\partial t}}_{\text{temporal}} + \underbrace{h_L \cdot \rho_L u_L \cdot \nabla u_L}_{\text{convección}} = \underbrace{-\nabla p}_{\text{gradiente de presión}} + \underbrace{\nabla \cdot [h_L \cdot \eta_L (\nabla u_L + \nabla u_L^T)]}_{\text{tensor de esfuerzos}} + \underbrace{h_L \cdot \rho_L g}_{\text{gravedad}} \quad (6.1)$$

La ecuación de continuidad es:

$$\nabla \cdot (u_L) = 0 \quad (6.2)$$

La ecuación para la fracción volumen del gas, h_G , es representada por:

$$\frac{\partial \rho_G h_G}{\partial t} + \nabla \cdot (h_G \cdot \rho_G \cdot u_G) = 0 \quad (6.3)$$

La velocidad local de la fase gas, u_G , y la fracción volumen del líquido, h_L , son calculadas por:

$$u_G = u_L + u_{\text{slip}}; \quad h_G + h_L = 1 \quad (6.4)$$

donde u_{slip} es la velocidad de la interfaz entre la fase líquida y la fase gas, que considera un balance entre las fuerzas de presión en una burbuja y las fuerzas viscosas en el líquido. Los términos de estas fuerzas están representados por:

$$\frac{3}{4} \frac{C_D}{d_b} \rho_L |u_{\text{slip}}| u_{\text{slip}} = -\Delta p; \quad \text{donde: } C_D = \frac{16}{\text{Re}_b}; \quad \text{Re}_b = \frac{d_b \rho_L |u_{\text{slip}}|}{\eta_l} \quad (6.5)$$

d_b es el diámetro de burbuja y C_D es el coeficiente de arrastre.

Las cantidades medias de la velocidad de la fase líquida, la velocidad de la fase gas y el hold up de la fase gas son calculadas con:

$$u_{Le} = \frac{\oint_A r \cdot u_L(r, z) \cdot dA}{\oint_A r \cdot dA}; \quad u_{Ge} = \frac{\oint_A r \cdot u_G(r, z) \cdot dA}{\oint_A r \cdot dA}; \quad h_{Ge} = \frac{\oint_A r \cdot h_G(r, z) \cdot dA}{\oint_A r \cdot dA} \quad (6.6)$$

La solución numérica de las ecuaciones (6.1) a (6.5) representa la hidrodinámica en 2D de la columna de burbujeo. Ésta fue obtenida usando la aplicación de flujo de burbuja (Bubbly Flow application), en el módulo de Ingeniería Química del software comercial COMSOL Multiphysics, (Burlington MA, EE.UU.).

6.3 Materiales y Métodos

Para evaluar el efecto de la velocidad superficial de la fase gas sobre la tasa de fotosíntesis, se operó en condiciones normales un reactor de columna de burbujeo (Figura 5.1) con 17.6 L de medio BG-11, 1.8 L de inóculo de *S. obtusiusculus*, una intensidad de luz continua de 336 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y una temperatura controlada de 30°C. La concentración de CO_2 se mantuvo constante a 3.0% y se suministró con aire a un flujo de 3.5 Lmin^{-1} .

6.3.1. Experimentos dinámicos de la velocidad superficial de la fase gas

Los experimentos dinámicos para determinar la actividad fotosintética en respuesta a diferentes cambios escalón en la velocidad superficial de la fase gas, y en diferentes etapas de crecimiento para la microalga *S. obtusiusculus*, se realizaron desde el primer día de operación y en forma secuencial como se indica en la Figura 6.7. Las fluctuaciones en la velocidad de la fase gas se iniciaron a un flujo de 3.5 Lmin⁻¹, seguido por incrementos en escalón de 6.5, y de 9.5 Lmin⁻¹ en periodos de 50 minutos. En cada cambio escalón la concentración de CO₂ (3.0%) en la entrada del reactor se mantuvo constante. Después de alcanzar la velocidad máxima de la fase gas se regresa a las condiciones iniciales (3.5 Lmin⁻¹) de operación. Estos experimentos se realizaron para contenidos de biomasa de 0.4, 1.0, 2.2 y 2.9 gL⁻¹. En estas condiciones, las variables respuesta alcanzaron estados cuasi-estacionarios y se determinó la tasa aparente de consumo de dióxido de carbono, r_{CO_2} , con la expresión:

$$r_{CO_2} = K_L a_{CO_2} (C_{L,CO_2}^* - C_{L,CO_2}) \quad (6.7)$$

y la tasa aparente de producción de oxígeno, r_{O_2} , por unidad de biomasa, por la ecuación:

$$r_{O_2} = K_L a_{O_2} (C_{L,O_2} - C_{L,O_2}^*) \quad (6.8)$$

6.3.2. Determinación del coeficiente de transferencia de masa gas-líquido

Los coeficientes de transferencia de masa para el O₂, K_{LaO_2} , se estimaron a partir de los coeficientes volumétricos de transferencia de masa del CO₂ (experimental). Estos se determinaron a un pH de 4, con un balance de masa para la absorción de CO₂ en la fase líquida y para los flujos volumétricos de la fase gas de 3.5, 6.5 y 9.5 L min⁻¹. El balance de masa de CO₂ y la corrección de los coeficientes de difusión se establecieron como (Pegallapati y Nirmalakhandan, 2012):

$$\frac{dC_{L,CO_2}}{dt} = K_L a_{CO_2} (C_{L,CO_2}^* - C_{L,CO_2}); \quad K_L a_{O_2} = K_L a_{CO_2} \left(\frac{D_{O_2}}{D_{CO_2}} \right)^{1/2} \quad (6.9)$$

6.3.3. Distribución de tiempos de residencia en la fase líquida

Para determinar las características de mezclado de la fase líquida se utilizó la técnica de estímulo-respuesta. La técnica consiste en inyectar un pulso de trazador (NaOH, 2M) en el fondo de la columna y la adquisición de la señal de respuesta usando un sensor de pH colocado en la parte superior de la columna. El grado de mezclado se determinó mediante las curvas de tiempo de residencia obtenidas por la respuesta del trazador. Para describir el comportamiento de las curvas de tiempo de residencia se utilizó el modelo de dispersión axial (MDA) (Camacho-Rubio y col., 2004) de un solo parámetro. Este modelo diferencial caracteriza el mezclado axial con base en el coeficiente de dispersión axial, D_{az} . Si se realiza la inyección de un pulso de trazador en el reactor la siguiente expresión matemática representa adecuadamente el balance de moles del trazador.

$$\frac{\partial c}{\partial \theta} = \frac{1}{Pe} \frac{\partial^2 c}{\partial z^2} - \frac{\partial c}{\partial z} \quad (6.10)$$

Considerando un sistema cerrado, las siguientes condiciones de frontera son:

$$z=0; \quad c=1+\frac{1}{Pe} \frac{\partial c(0^+, \theta)}{\partial z}; \quad z=1; \quad \frac{\partial c(1^-, \theta)}{\partial z}=0 \quad (6.11)$$

La condición inicial antes de que el trazador sea eyectado en la columna es:

$$\theta=0; \quad c(z, \theta)=0 \quad (6.12)$$

En las ecuaciones anteriores,

$$c = \frac{C}{C_0}; \quad z = \frac{Z}{L}; \quad \theta = \frac{t u_{Le}}{L}, \quad Pe = \frac{u_{Le} L}{D_{az}} \quad (6.13)$$

Para la solución numérica del modelo se necesitó del conocimiento del coeficiente de dispersión axial, D_{az} , o del número de Peclet, Pe . El parámetro D_{az} ó Pe , se calculó en primera instancia de la varianza adimensional de la DTR mediante la siguiente expresión (Levenspiel, 1999).

$$\sigma_{\theta}^2 = \frac{\sigma_t^2}{t^2} = 2 \left(\frac{D_{az}}{u_{Le} L} \right) - 2 \left(\frac{D_{az}}{u_{Le} L} \right)^2 \left[1 - \exp \left(- \frac{u_{Le} L}{D_{az}} \right) \right] \quad (6.14)$$

Posteriormente, se reajustó con la simulación del modelo de dispersión axial, MDA. La solución del modelo matemático adimensionales se realizó con el *software* de solución numérica de ecuaciones diferenciales parciales *FlexPDE* versión 5.0.12, que utiliza el método del elemento finito.

A continuación, se presentan resultados de simulaciones obtenidas con el modelo hidrodinámico (CFD) y de las tasas de producción de oxígeno y de consumo de dióxido de carbono en función de la velocidad superficial de la fase gas.

6.4. Resultados y Discusión

6.4.1 Simulaciones de Dinámica de Fluido Computacional

6.4.1.1 Generación de la malla computacional y condiciones de frontera

En la Figura 6.3 se muestra el dominio computacional y el número de elementos que componen la geometría del sistema. La malla se construyó en COMSOL y está compuesta por 12,000 elementos triangulares y 616 elementos triangulares de frontera, en ésta se obtuvo la solución numérica del modelo presentado en la sección 6.2.1. Las condiciones en la frontera fueron de simetría en el centro de la columna, de no deslizamiento en la pared para la fase gas y líquida, de flux para la entrada de la fase gas y de tipo Neumann y/o natural en la parte superior de la geometría. Se realizó un refinamiento de la malla para evaluar su efecto sobre la solución numérica del campo de flujo. Los resultados indican que para un número mayor de 12,000 elementos en la malla la solución de las ecuaciones no depende de la discretización del dominio y que los resultados no cambian con respecto a los valores promedio de las variables. En la Figura 6.3b se muestra la parte inferior de la columna, en ésta se realizó un refinamiento de la malla que permite capturar los efectos de entrada debido a la geometría del difusor. Para este caso, el distribuidor fue representado como una base uniforme que alimenta la fase gas sobre toda la sección transversal de la columna. También, se estableció una condición de

CAPÍTULO 6. Efecto de la velocidad de la fase gas sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

presión de salida, con un valor que corresponde a la presión atmosférica, y fue establecida en la parte superior de la columna.

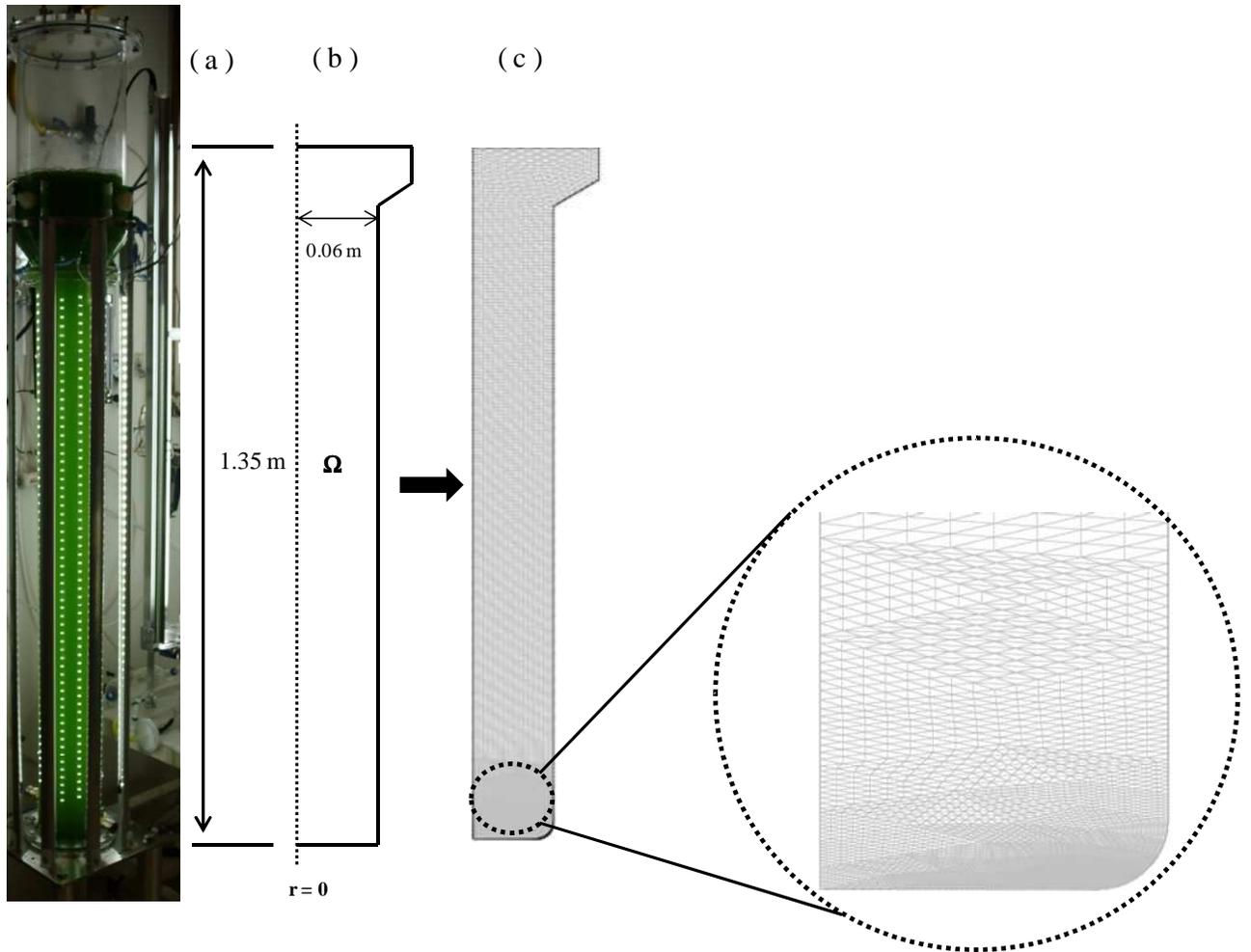


Figura 6.3. (a) Representación fotográfica de la columna de burbujeo, (b) Geometría 2D utilizada en la simulación y (c) Generación de la malla para el dominio.

A continuación se presentan los resultados obtenidos del campo de flujo para los flujos volumétricos de la fase gas de 3.5, 6.5, y de 9.5 Lmin^{-1} . Se muestran los perfiles en estado estacionario de la velocidad local de la fase líquida, u_L , de la velocidad local de la fase gas, u_G , y del hold-up local de la fase gas, h_G . Los resultados de las simulaciones (2D con simetría en la dirección radial) en estado transitorio representan el tiempo necesario ($< 50\text{s}$) para que el

campo de flujo se desarrolle por completo dentro de la columna de burbujeo y no se presentan en este capítulo.

6.4.1.2 Solución numérica del modelo hidrodinámico

Con la malla generada y las condiciones de frontera establecidas, se resolvió numéricamente el modelo hidrodinámico usando el software comercial COMSOL. Se utilizaron las propiedades fisicoquímicas del agua (fase continua) y del aire (fase dispersa) a temperatura ambiente y presión atmosférica. En la Figura 6.4a, 6.4b y 6.4c se muestra la variación local para la velocidad de la fase líquida, la velocidad de la fase gas y del hold-up de la fase gas, para un flujo volumétrico de la fase gas de 3.5 L min^{-1} . La simulación en estado estacionario (Fig. 6.4a) representa la velocidad local de la fase líquida debido a la fuerza de arrastre ejercida por la fase gas (pluma de burbujas) que se alimentó a través del difusor. La magnitud de menor a mayor en las cantidades hidrodinámicas se representa por una escala en colores (lado derecho de la Fig. 6.4a,b,c). La velocidad local de la fase líquida (Fig. 6.4a) en la columna es representada por superficies, líneas de corriente y vectores (flechas) con valores entre 0.08 y 0.132 ms^{-1} (sobre la dirección axial y para un radio de 0.03m). El ángulo de inclinación (65°) en la sección del desgasificador genera que la fase líquida descienda sobre la pared interna de la columna a velocidades entre 0.02 y 0.06 ms^{-1} (esto se observa también por las líneas de corriente y la magnitud de las flechas). La velocidad local de la fase gas (Fig. 6.4b) y el hold-up local del gas (Fig. 6.4c) alcanzan los valores más altos en un radio de 0.03m (sobre la dirección axial), estos son de 0.95 ms^{-1} y de $0.0035 \text{ m}^3\text{m}^{-3}$, respectivamente. En la zona de desgasificación (Fig. 6.4c) se puede observar valores alrededor de $0.0005 \text{ m}^3\text{m}^{-3}$ para el hold-up local del gas, debido a que el aumento en el diámetro genera una mayor separación de la fase gas y de la fase líquida. La fracción local del gas (hold-up) presenta los valores más altos en la línea central de la columna y decrecen cerca de las paredes, este fenómeno es observado experimentalmente en el reactor de columna de burbujeo. La simulación para la velocidad local de la fase líquida (líneas de corriente) muestra un movimiento ascendente del flujo en la

CAPÍTULO 6. Efecto de la velocidad de la fase gas sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

línea central y movimiento descendente cerca de las paredes, denominado régimen de flujo de **Gulstream o cooling tower**.

De la misma forma, la Figura 6.5 y 6.6 muestran la variación en un plano de la velocidad local de la fase líquida, de la velocidad local de la fase gas y del hold-up local de la fase gas, para flujos volumétricos de la fase gas de 6.5 Lmin^{-1} y de 9.5 Lmin^{-1} . La descripción que se realizó para la Figura 6.4 es similar para las Figuras 6.5 y 6.6, por ello a continuación se explicará de forma general los aspectos más importantes en las figuras antes mencionadas.

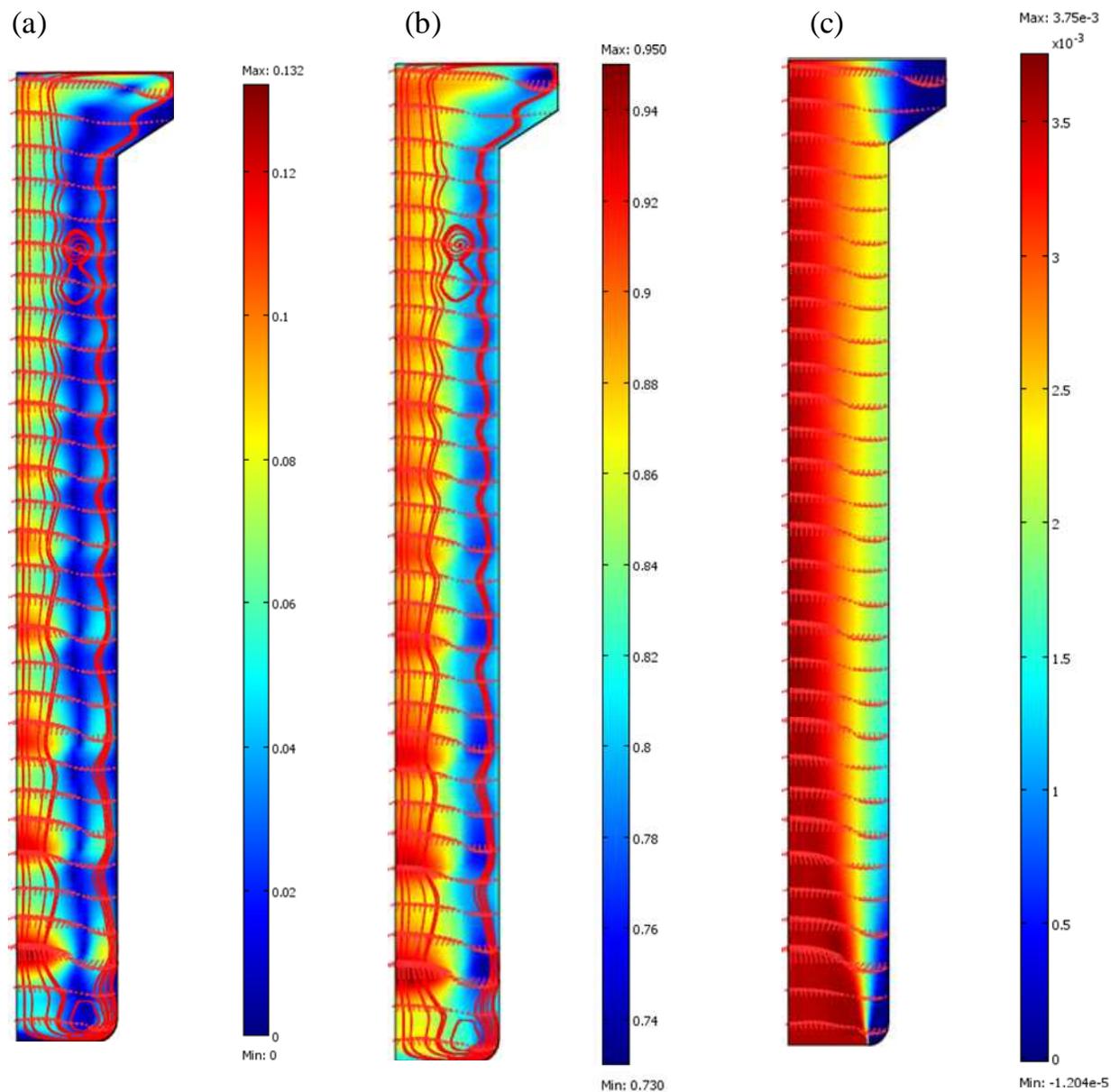


Figura 6.4. Simulación en estado estacionario en la columna de burbujeo para un flujo volumétrico de la fase gas de 3.5 L min⁻¹. a) Velocidad local de la fase líquida u_L (m s⁻¹), b) velocidad local de la fase gas u_G (m s⁻¹) y c) el hold up local de la fase gas, h_G (m³ m⁻³).

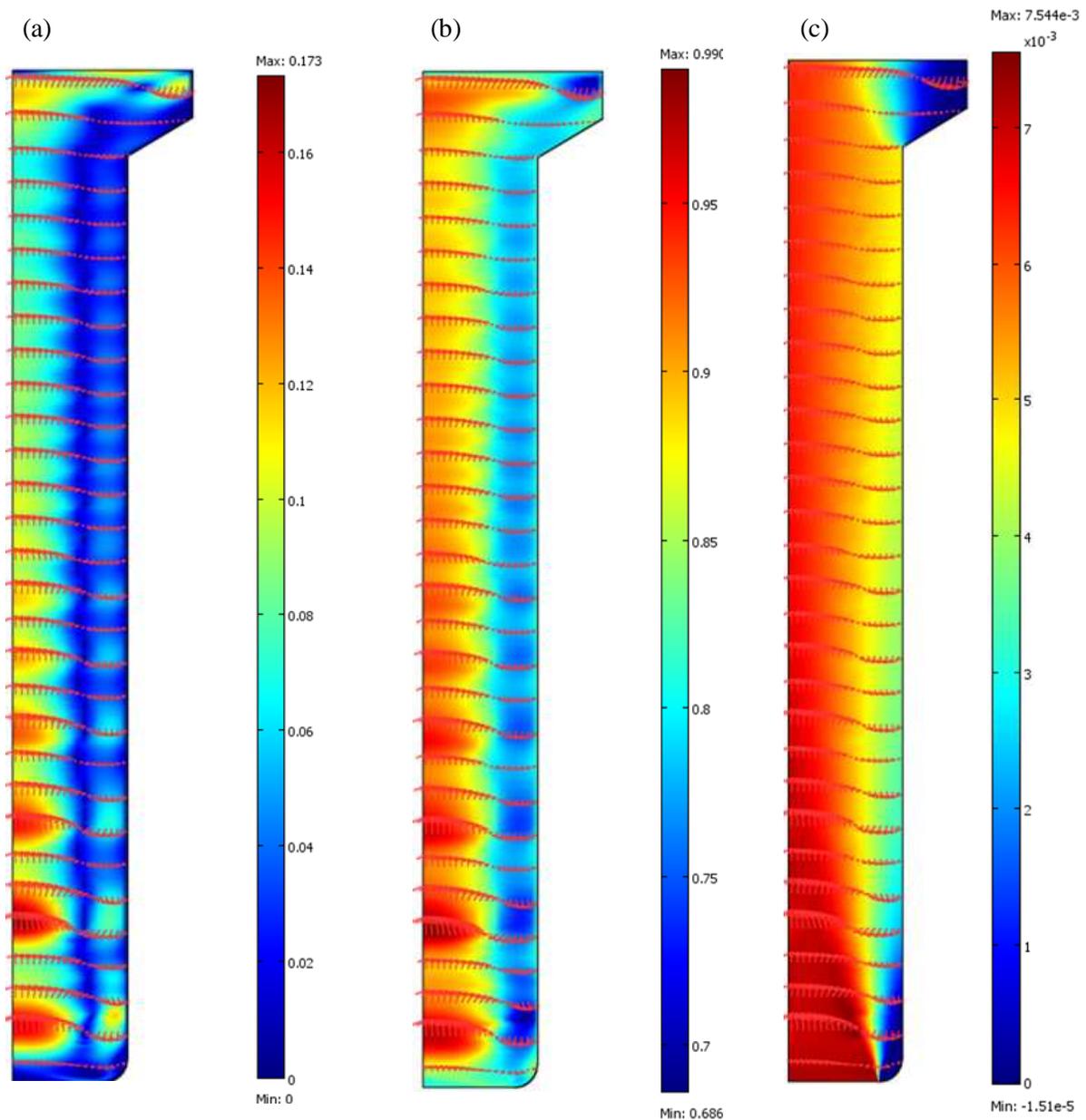


Figura 6.5. Simulación en estado estacionario en la columna de burbujeo para un flujo volumétrico de la fase gas de 6.5 L min^{-1} . a) Velocidad local de la fase líquida u_L (m s^{-1}), b) velocidad local de la fase gas u_G (m s^{-1}) y c) el hold up local de la fase gas, h_G ($\text{m}^3 \text{ m}^{-3}$).

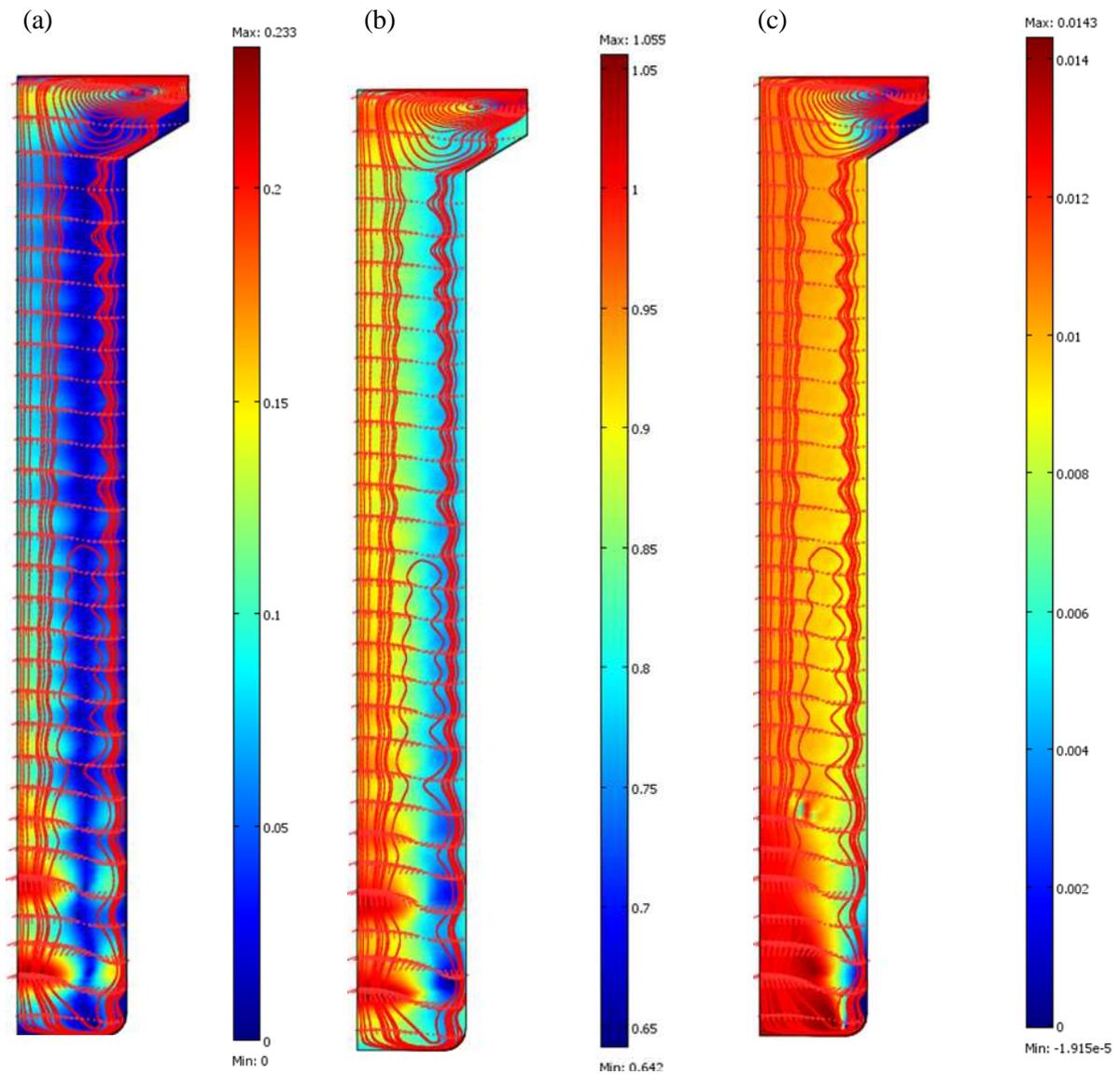


Figura 6.6. Simulación en estado estacionario en la columna de burbujeo para un flujo volumétrico de la fase gas de 9.5 L min⁻¹. a) Velocidad local de la fase líquida u_L (m s⁻¹), b) velocidad local de la fase gas u_G (m s⁻¹) y c) la el hold up local de la fase gas, h_G (m³ m⁻³).

Las Figuras 6.4, 6.5 y 6.6 muestran perfiles de superficie que se desarrollan en estado estacionario en el reactor de columna de burbujeo. La velocidad local de la fase líquida, la velocidad local de la fase gas y el hold-up local del gas dependen de la coordenada axial y de la radial. En las simulaciones los vectores de velocidad (flechas) y las líneas de corriente

CAPÍTULO 6. Efecto de la velocidad de la fase gas sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

(líneas) representan (en otra forma) el movimiento de la fase líquida sobre el área de sección transversal de la columna. La región de mayor velocidad para la fase gas y la fase líquida es en el eje de simetría y ésta disminuye radialmente. Los valores medios para la velocidad local de cada fase y para el hold-up local del gas se obtuvieron al dividir la integral del campo de cada variable entre la integral de área (Ec. 6.6). Los valores medios de las variables hidrodinámicas para flujos volumétricos de la fase gas de 3.5, 6.5 y 9.5 Lmin⁻¹ se muestran en la Tabla 6.1. Para un flujo volumétrico de 9.5 Lmin⁻¹ la velocidad media de la fase líquida (en el reactor de columna de burbujeo) fue 0.064 ms⁻¹ (Tabla 6.1), este valor fue similar (0.07 ms⁻¹) al obtenido en un trabajo previo (para un reactor air-lift) a un flujo de alimentación de 3.5 Lmin⁻¹ (Cabello y col., 2014). Esto muestra un mejor mezclado en sistemas con circulación neumática interna. El hold up medio de la fase gas, h_{Ge} , que se estimó en CFD y el hold up de la fase gas (m³ m⁻³) obtenido experimentalmente en la columna de burbujeo, por el método de diferencia de altura desplazada en el lecho, se muestran en la Tabla 6.1. Los valores estimados (h_{Ge}) con las simulaciones en COMSOL representaron un error global del 11% en comparación con los valores obtenidos experimentalmente (Tabla 6.1). Esto permitió validar los resultados de las simulaciones que se obtuvieron para la columna de burbujeo. Además, el hold up de la fase gas, h_{Ge} , incrementó linealmente con la velocidad superficial de la fase gas (<0.03 ms⁻¹), esto indicó un régimen homogéneo de flujo de burbuja en el reactor (Shah y col., 1982). Por lo tanto, el modelo hidrodinámico de dos fases para flujo burbuja representa en forma adecuada el comportamiento macroscópico del flujo en la columna de burbujeo, sin considerar las ecuaciones de turbulencia $k-\epsilon$.

Para otros parámetros, como el coeficiente de dispersión axial, D_{az} , los valores experimentales se muestran en la Tabla 6.1, son del mismo orden de magnitud en comparación con los que presenta Sánchez-Mirón y col., (2000), para reactores de columna de burbujeo. Los valores experimentales de los coeficientes volumétricos de transferencia de masa del O₂ y del CO₂ se muestran en la Tabla 6.1, y estos también se pueden comparar en magnitud con los reportados en la referencia anterior.

CAPÍTULO 6. Efecto de la velocidad de la fase gas sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

Tabla 6.1. Parámetros hidrodinámicos y de transferencia de masa gas-líquido para la caracterización de la columna de burbujeo.

Flujo Gas (Lmin ⁻¹)	$K_L a_{O_2}$ (h ⁻¹)	$K_L a_{CO_2}$ (h ⁻¹)	D_{az} (m ² s ⁻¹)	u_{Ge} (ms ⁻¹)	u_{Le} (ms ⁻¹)	h_{Ge} (m ³ m ⁻³) (Teórico)	h_{Ge} (m ³ m ⁻³) (Experimental)
3.5	7.5	6.3	0.017	0.84	0.046	0.015	0.017
6.5	16.5	13.8	0.024	0.85	0.058	0.030	0.036
9.5	28.6	24.0	0.030	0.90	0.064	0.053	0.057

Los resultados de la técnica de estímulo-respuesta proporcionaron el tiempo que requirió el trazador para alcanzar el 95% de la concentración en equilibrio, éste fue de 500 s para un flujo volumétrico de gas de 9.5 Lmin⁻¹, este valor está relacionado con el tiempo de mezclado en el reactor. El valor experimental del coeficiente de dispersión axial, D_{az} , obtenido a partir del ajuste de las curvas de distribución de tiempo de residencia, (ecuación 6.10), está relacionado con la difusión molecular (en el orden de 10⁻⁹ m²s⁻¹) y la difusión turbulenta. La magnitud de estos coeficientes (en orden de 10⁻² m²s⁻¹) indica la desviación con respecto al flujo ideal y caracteriza el grado de retromezclado durante el flujo. Los casos para el parámetro que mide la magnitud de dispersión axial son: cuando $D_{az}/u_{Le}L \rightarrow 0$ es dispersión despreciable y por lo tanto flujo pistón y cuando $D_{az}/u_{Le}L \rightarrow \infty$ es dispersión alta y por lo tanto flujo mezclado. El análisis y los valores de D_{az} obtenidos a partir de las curvas de DTR muestran que el macromezclado en el reactor de columna de burbujeo se aproxima a un reactor de tanque mezclado. El incremento en el flujo volumétrico de la fase gas aumentó la velocidad media de la fase líquida y, como consecuencia, la magnitud del coeficiente volumétrico de transferencia de masa del CO₂ de la fase gas al seno de la fase líquida y del O₂ de la fase líquida al seno de la fase gas (Tabla 6.1), esto aumentará la eficiencia del proceso en el reactor.

Con la caracterización de la columna a partir de métodos experimentales y teóricos, las simulaciones obtenidas por CFD proveen información adicional que puede ser usada en un análisis más detallado del comportamiento hidrodinámico en columnas de burbujeo (diferentes configuraciones geométricas, otros regímenes de flujo, el efecto de la viscosidad aparente en cultivos densos de microalga). A continuación se muestran los resultados de la actividad de fotosíntesis para cada uno de los flujos volumétricos de la fase gas que se analizaron anteriormente.

6.4.2 Fluctuaciones en la velocidad superficial de la fase gaseosa

En la Figura 6.7 se muestra el comportamiento global de las variables de proceso durante el experimento de crecimiento de biomasa. También, las diferentes etapas en las que se realizaron los experimentos dinámicos de la velocidad superficial de la fase gas sobre la actividad aparente de fotosíntesis. La concentración máxima de biomasa fue de 3.0 gL^{-1} , la concentración de oxígeno en la fase líquida aumentó a 18 mgL^{-1} , la intensidad de luz dentro del reactor disminuyó de 350 a $10 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (por efecto de atenuación debido al crecimiento de biomasa) la concentración de CO_2 en la fase líquida se mantuvo en un valor entre 0.03 y 0.034 mgL^{-1} , el pH incrementó a 7.4 por la actividad de la microalga y los valores de la temperatura oscilaron entre $\pm 3 \text{ } ^\circ\text{C}$.

CAPÍTULO 6. Efecto de la velocidad de la fase gas sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

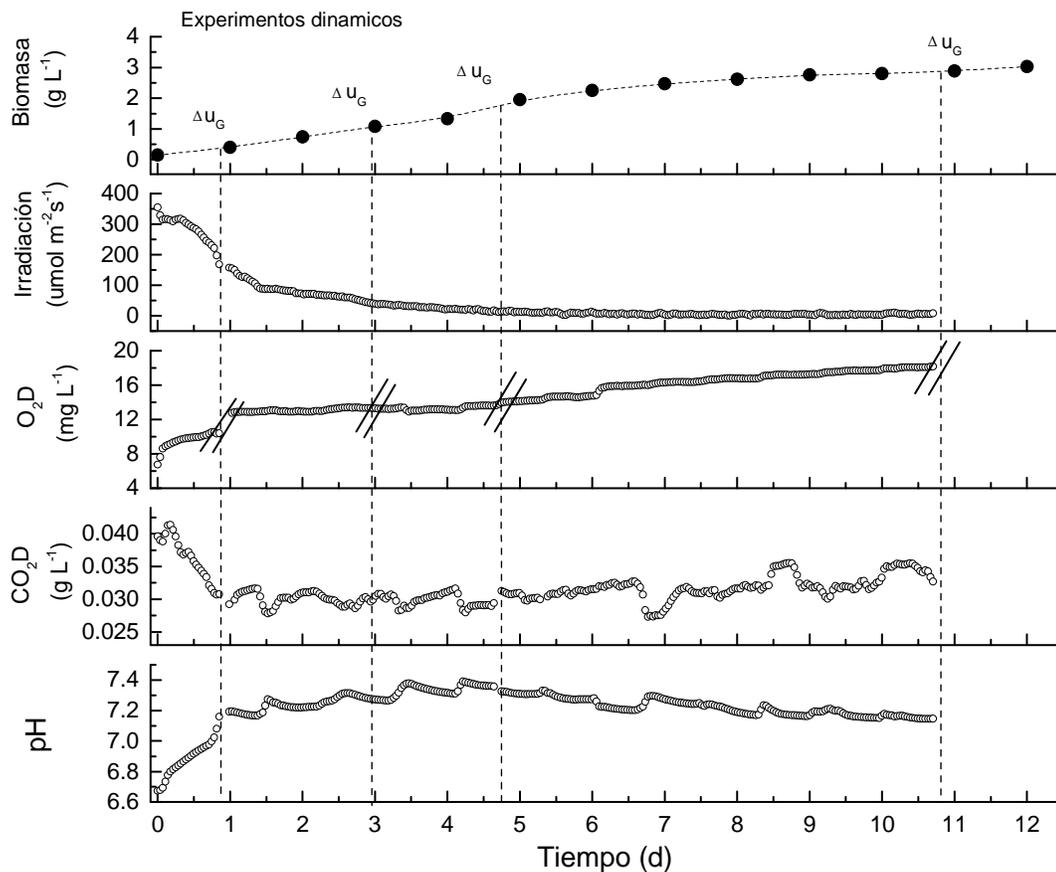


Figura 6.7. Datos experimentales de crecimiento de biomasa, irradiación, concentración de O₂ en la fase líquida, concentración de CO₂ en la fase líquida y el pH durante la operación del fotobiorreactor, y los períodos en los que se llevaron a cabo las perturbaciones en el flujo volumétrico de la fase gas (Δu_G).

La respuesta en los cambios escalón del flujo volumétrico de la fase gas proporcionaron nuevos estados cuasi-estacionarios para la variables endógenas. La concentración de CO₂ en la fase gas y en el seno de la fase líquida alcanzó el 95% del valor final en 20 min. La concentración de O₂ en el seno de la fase líquida alcanzó el 95% del valor final alrededor de 9 minutos. La tasa específica de producción de O₂ y la tasa específica de consumo de CO₂ se determinaron para cada estado cuasi-estacionario a partir de las ecuaciones 6.7 y 6.8. Los valores se muestran en la Tabla 6.2.

CAPÍTULO 6. Efecto de la velocidad de la fase gas sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

Tabla 6.2. Tasa de producción de oxígeno y de consumo de dióxido de carbono en respuesta a cambios en el flujo volumétrico la fase gas.

Biomasa (gL ⁻¹)	Flujo gas (Lmin ⁻¹)	r _{O₂} (mg _{O₂} g _b ⁻¹ h ⁻¹)	r _{CO₂} (mg _{CO₂} g _b ⁻¹ h ⁻¹)
0.4	3.5	91.5	173
	6.5	173	395
	9.5	287	658
1.0	3.5	57.5	75.3
	6.5	111	153
	9.5	187	275
2.2	3.5	26.6	26.0
	6.5	57.3	44.1
	9.5	100	98.5
2.9	3.5	24.7	21.4
	6.5	53.6	42.0
	9.5	93.4	88.0

El valor máximo de la tasa específica de producción de O₂ (287 mg_{O₂}g_b⁻¹h⁻¹) se alcanzó con un flujo de gas de 9.5 L min⁻¹, en estas condiciones se obtuvo una relación de O₂:CO₂ de 2.15 g_{CO₂} g_{O₂}⁻¹ para una concentración de biomasa de 0.4 gL⁻¹. Los valores de 91.5 mg_{O₂}g_b⁻¹h⁻¹ y de 173 mg_{CO₂}g_b⁻¹h⁻¹ fueron similares a los reportados por Cabello y col. (2014), para una irradiación de 336 μmolm⁻²s⁻¹, una concentración de biomasa de 0.4 gL⁻¹ y un flujo volumétrico de gas de 3.5 Lmin⁻¹ (105 mg_{O₂}g_b⁻¹h⁻¹ y 190 mg_{CO₂}g_b⁻¹h⁻¹). Los cambios en el flujo volumétrico de la fase gas (de 3.5 a 6.5 Lmin⁻¹) aumentaron la tasa de producción de O₂ y la tasa de consumo de CO₂ (aprox. dos veces), para los diferentes contenidos de biomasa. Esto es consistente con el trabajo presentado por Toledo y col., (2013) para la misma cepa (S.

CAPÍTULO 6. Efecto de la velocidad de la fase gas sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

obtusiusculus), donde un incremento en el flujo de la fase gas de 0.4 a 0.8 vvm aumentó la velocidad específica de crecimiento de 0.23 a 0.51 d⁻¹.

Los datos de la tasa específica de producción de O₂ y de la tasa específica de consumo de CO₂ presentan una tendencia asintótica con respecto a la concentración de biomasa, para contenidos por arriba de 1.5 gL⁻¹ (dato interpolado). La Figura 6.9 muestra la relación entre la tasa de producción de O₂ y la tasa de consumo de CO₂, O₂:CO₂ (gCO₂ gO₂⁻¹), la cual disminuye en forma no lineal por el aumento en la concentración de biomasa, este comportamiento es consistente con la curva de crecimiento (Fig. 6.7). El valor de 1.35 gCO₂gO₂⁻¹ (Fig. 6.9), para una concentración de biomasa de 1 gL⁻¹, es similar al reportado por Ación et al., (2013) (1.38 gCO₂gO₂⁻¹). Por otra parte, los cambios en la velocidad superficial de la fase gas aumentan en forma lineal la tasa específica de producción de O₂ y la tasa específica de consumo de CO₂ de la microalga *S. obtusiusculus*. En la situación anterior y como se observa en la Tabla 6.1, el incremento lineal de las tasas específicas es resultado del aumento: 1) en el mezclado de la fase líquida (D_{az}), 2) en el hold up de la fase gas (h_{Ge}), 3) en la tasa de transferencia de masa del CO₂ al medio de cultivo, 4) en la tasa de transferencia de oxígeno de la fase líquida a la fase gaseosa (alta concentración de O₂ (>18,gL⁻¹) y alta irradiación podrían causar inhibición; Cabello y col. (2015) y 5) en la frecuencia interna de ciclos luz-oscuridad. Esto indica, en la región de operación en que se realizaron los experimentos dinámicos, que el proceso global en el reactor está limitado por la atenuación de luz (capítulo 4, Fig. 4.4), mecanismos de transporte de masa y mecanismos cinéticos de la reacción de fotosíntesis.

De lo anterior, se podrían realizar experimentos con velocidades más altas para el suministro de la fase gas. Sin embargo, se debe considerar que en el presente estudio, la energía suministrada al reactor fue de 49, 93 y de 137 W m⁻³ para los flujos volumétricos de la fase gas de 3.5, 6.5 y 9.5 L min⁻¹, respectivamente. Los valores fueron calculados con base en la definición presentada en Sánchez-Mirón y col., (2000), estos muestran que un aumento del 73% (en 2.9 gL⁻¹) en la actividad aparente de fotosíntesis (Tabla 6.2) requieren un gasto extra de energía del 64% con respecto al valor inicial (0.005 ms⁻¹).

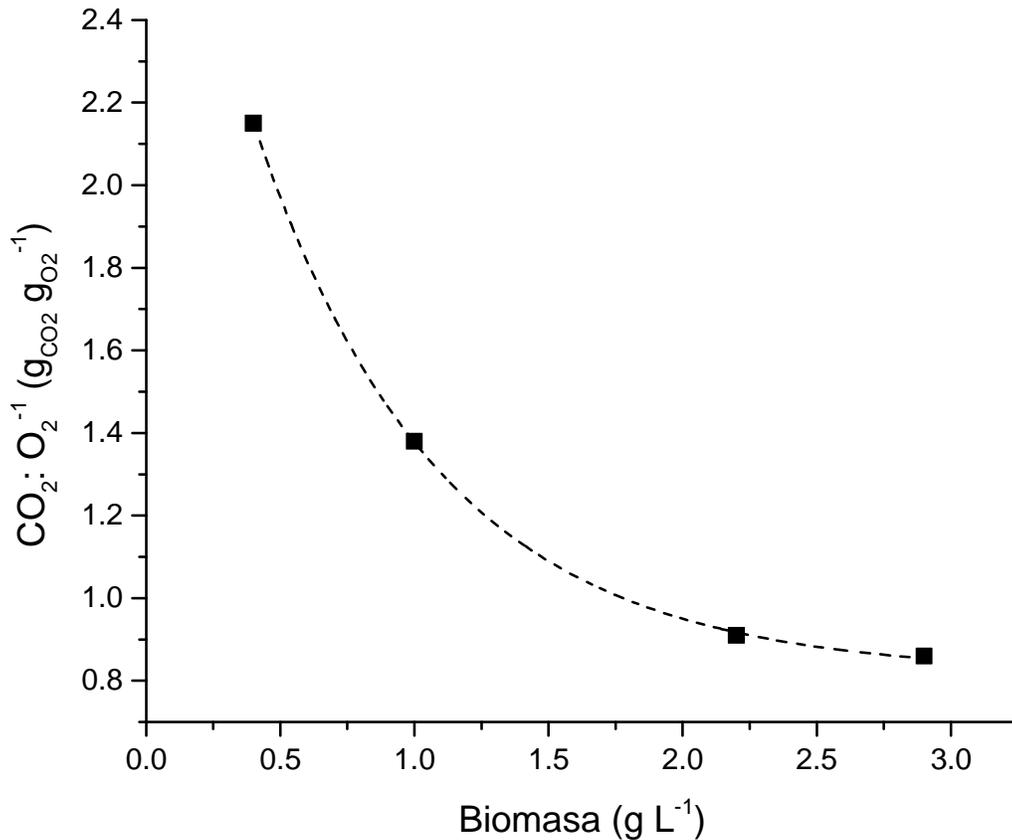


Figura 6.9. Relación entre la tasa de producción de O_2 y la tasa de consumo de CO_2 durante el crecimiento de la microalga *S. obtusiusculus*.

Un estudio realizado por Grobbelar y col., (1994) muestran que el aumento en la tasa de producción de O_2 es debido a un efecto de sinergia entre la transferencia de masa y la frecuencia interna de ciclos de luz-oscuridad. Contrario a lo presentado en la mayor parte de los trabajos donde evalúan el efecto del mezclado y lo relacionan únicamente con el aumento en la frecuencia de exposición a la luz por la microalga. Los resultados en la Tabla 6.2 obtenidos a partir de la respuesta dinámica de experimentos en el orden de minutos muestran semejanza con lo analizado por Grobbelar y col., (1994) en cultivos microalgales. Los autores reportan el aumento en la tasa de producción de oxígeno de 0.9 a $1.8 \text{ mgO}_2 \text{ mg Cla}^{-1}\text{h}^{-1}$ al incrementar al doble la velocidad de la fase líquida.

CAPÍTULO 6. Efecto de la velocidad de la fase gas sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

De lo anterior, es importante un estudio específico del efecto de la frecuencia interna de ciclos de luz-oscuridad, para éste se puede utilizar: 1) la técnica empleada (CARPT, trayectoria de partículas radiactivas) por Luo y Al-Dahhan, (2012) que proporciona información experimental de los tiempos de exposición a la luz y a la oscuridad por la microalga (en la coordenada radial y axial), esta técnica se basa en la detección del movimiento de partículas radioactivas dentro del reactor (de difícil acceso y costosa) y 2) el desarrollo de modelos teóricos (Lagrange-Euler) de fase discreta (CFD) que permitan conocer la trayectoria (posición en x,y,z) de una partícula de masa cero dentro del fotobiorreactor. Con este último método, se podría evaluar el efecto de la velocidad local de la fase líquida sobre el grado de homogeneidad de las frecuencias internas de ciclos luz-oscuridad, que experimenta una cantidad representativa de células dentro de un reactor (Sokolichin y Eingenberger, 2004; Luo y Al-Dahhan, 2008; Heckmat y col., 2010).

Si bien el aumento en el flujo volumétrico de la fase gas incrementa la velocidad local de la fase líquida, y ésta genera una mayor frecuencia interna de ciclos luz-oscuridad, este efecto de forma independiente podría no incrementar la tasa de producción de O₂ y la tasa de consumo de CO₂. Por lo tanto, en el siguiente capítulo se presentará un equipo experimental, con el que se podrá controlar los tiempos de exposición a la luz y a la oscuridad, para frecuencias de 1 a 0.003 Hz, y obtener dicho efecto de manera independiente y evaluarlo sobre la productividad de biomasa para la microalga *S. obtusiusculus*. A continuación se presentan las conclusiones del trabajo realizado.

Conclusiones

Se desarrolló un modelo usando herramientas de Dinámica de Fluidos Computacional (COMSOL) que permitió simular el campo de flujo (sistemas aire-agua) y determinar parámetros hidrodinámicos para caracterizar reactores de columnas de burbujeo para el crecimiento de microalgas.

Implementar el método de trayectoria de partícula de masa cero (modelo Langragiano) en modelos hidrodinámicos de dos fases permitirá obtener información teórica sobre las frecuencias internas de exposición de L-O de una partícula en el reactor.

La sinergia entre la frecuencia de ciclos internos de luz-oscuridad, el mezclado, la transferencia del CO₂ de la fase gas a la fase líquida y la transferencia del O₂ de la fase líquida a la fase gas incrementará la tasa de producción de O₂ y la tasa de consumo de CO₂ en fotobiorreactores.

La metodología desarrollada es una alternativa para evaluar la región de operación donde hay limitación por transporte de masa o limitación por cinética de reacción en procesos de crecimiento de microalgas. Con lo anterior se podrá mejorar la eficiencia y contribuir al avance del conocimiento de fotobiorreactores

Se deberá obtener de manera independiente el efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad para analizar la contribución de dicho efecto sobre la tasa de fotosíntesis y la productividad de biomasa.

CAPÍTULO 7. Efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

Resumen

Una alternativa para disminuir costos de energía y aumentar la eficiencia fotosintética en fotobioreactores es inducir frecuencias de exposición a ciclos luz-oscuridad y el movimiento de las células en zonas de luz-oscuridad. En este capítulo se presenta el efecto de perturbaciones en la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la actividad de fotosíntesis de la microalga *S. obtusiusculus* en un reactor de placas de 2L, con experimentos dinámicos en iluminación continua y para periodos de 0.0033, 0.016, 0.03, 0.16 (303, 62, 33, 6.2 s) y 1Hz a una irradiancia de $300 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ seguido de 0.0033, 0.016, 0.03, 0.16 y 1Hz de oscuridad, respectivamente, para una concentración celular de 0.5 g L^{-1} . La actividad de fotosíntesis más alta se presentó cuando el cultivo se expuso a radiación continua de luz y para un ciclo de 0.003 Hz. La productividad de biomasa determinada en un periodo de 12 hr de operación fue $0.53 \text{ gb L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ para una frecuencia de 0.003Hz y de $1.1 \text{ gb L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ para iluminación continua. Por otra parte, se determinó el efecto de cambios en la intensidad de luz sobre la actividad de fotosíntesis para *S. obtusiusculus*, en iluminación continua y en una frecuencia de 1Hz. Para una operación continua de exposición a la luz se obtuvieron estados estacionarios en la producción de oxígeno, los cuales indican la aclimatación aparente del aparato fotosintético en tiempos mayores a 3 min. Para una operación intermitente de ciclos de 1Hz la respuesta de producción de oxígeno fue dinámica, durante los incrementos en la intensidad de luz, indicando que los fotosistemas (PSII y PSI) no alcanzan un estado de saturación de luz en el orden de segundos.

7.1. Introducción

Las microalgas son una fuente importante para la obtención de químicos finos. La producción de biomasa a escala industrial requiere de condiciones controladas de pH, temperatura, intensidad de luz y frecuencia de ciclos luz-oscuridad. Una alternativa para aumentar la actividad de fotosíntesis, y reducir los costos de energía en reactores que operan con iluminación artificial, es la operación intermitente de ciclos luz-oscuridad (L-O) y la fluctuación de ciclos de L-O debido a la intensidad de turbulencia en el medio de cultivo (Terry, 1986). Se ha reportado que la actividad de fotosíntesis en operación intermitente, en la cual el cultivo se expone a una frecuencia de luz y de oscuridad por periodos de tiempo en el orden de milisegundos, se aproxima ó es más alta a la que se obtiene en una operación continua de luz. Nedbal y col., (1996) describe que el proceso de fotosíntesis, para microalgas y cianobacterias, es más eficiente en el uso de la energía en altas frecuencias de ciclos L-O (1-10 Hz), en comparación con el uso en iluminación continua de luz. Este efecto denominado “flashing” podría estar relacionado con una mejor sincronización y optimización de la energía capturada por el aparato fotosintético (PSII), para llevar a cabo la producción de moléculas energéticas (reacciones en fase luminosa) y que son usadas por el ciclo de Calvin para la producción de proteínas (reacciones en fase oscura) (Nedbal y col., 1996). La dinámica que presentan los mecanismos metabólicos que regulan los tiempos entre las reacciones fotoquímicas (en fase luminosa) y las reacciones en el ciclo de Calvin (en fase oscura), en respuesta a cambios en la intensidad de luz y a cambios en la frecuencia de ciclos LO, son diferentes y han sido poco estudiados y, hay poca información que evalué dicha respuesta sobre la actividad de fotosíntesis y la productividad de biomasa (Kono y Terashima, 2004). Por otra parte, en fotobiorreactores que operan en condiciones internas y/o externas, las microalgas están expuestas a diferentes frecuencias de exposición a la luz, que ocurren en diferentes escalas de tiempo, y que se inducen por la intensidad de radiación directa y/o difusa (horas, minutos ó segundos), por el movimiento macroscópico del fluido (>1s) y por la formación de remolinos que se generan debido a la turbulencia en la fase líquida (1s) (Grobbelar, 1994). En estos sistemas el aumento en la velocidad de la fase líquida incrementa la intensidad de turbulencia, y ésta a su vez la formación de remolinos (escala microscópica <

1s), que inducen el aumento en la frecuencia de ciclos L-O y, por lo tanto, aumenta la actividad aparente de fotosíntesis en el fotobiorreactor. Este efecto, combina fenómenos de geometría de reactor, de tiempos de residencia de las fases, de transferencia de masa y de atenuación de luz por el crecimiento de biomasa. Para determinar el efecto de la frecuencia de ciclos L-O sobre la actividad de fotosíntesis, se deben usar sistemas con un régimen controlado de iluminación intermitente, en condiciones de operación controladas y con dimensiones que no limiten el transporte de luz por la atenuación causada por el crecimiento de la biomasa (Posten, 2009). Este problema aún se mantiene abierto en investigaciones presentadas en la literatura abierta e intenta usar el efecto “flashing” para incrementar la productividad de biomasa. Sin embargo, las aplicaciones prácticas aún son incipientes.

Para cuantificar el efecto de la operación intermitente de ciclos L-O sobre el crecimiento de microalgas se requieren realizar experimentos en distintas frecuencias de ciclos de L-O que podrían experimentar las células en fotobiorreactores. Además, es importante separar el efecto causado por la fluctuación interna del ciclo L-O con el efecto que induce la dinámica del fluido (mezclado), para obtener la respuesta del medio de cultivo bajo condiciones de luz fluctuante (Nedbal y col., 1996).

El objetivo de esta parte del trabajo fue evaluar el efecto de la frecuencia de ciclos L-O sobre la actividad de fotosíntesis y la productividad de biomasa para *Scenedesmus obtusiusculus*, para un mismo patrón de flujo y/o nivel de mezclado. También, la respuesta dinámica de fotosíntesis por cambios en escalón (incremento/decremento) en la intensidad de luz; considerando iluminación continua y una frecuencia de L-O de 1Hz. Estos experimentos fueron realizados en condiciones controladas de temperatura, de intensidad de luz y de pH, en un reactor de placas instrumentado de 2L.

7.2. Materiales y Métodos

7.2.1 Descripción del fotobiorreactor de placas instrumentado

La Figura 7.1 muestra una representación fotográfica del fotobiorreactor de placas de 2L, construido en acrílico con dimensiones de 30 cm de longitud, 30 cm de altura y 2.5 de ancho

CAPÍTULO 7. Efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

(camino óptico) y que se utilizó para evaluar diferentes frecuencias de ciclos L-O. La fase gas se distribuyó desde la parte inferior a través de un difusor con 16 hoyos de 1 mm de diámetro interno. El pH se midió con un sensor electroquímico (AppliSens, EE.UU.). La temperatura se controló con un intercambiador de calor de tipo tubular. Se utilizaron dos paneles de LED's de alta intensidad de luz blanca (cada panel tiene 5m de tira de LED's 5050, LED ilumileds China) para iluminar las partes laterales del reactor. Las frecuencias de los ciclos de L-O fueron inducidas a través de temporizadores que controlan el tiempo de encendido y de apagado en los LED's. La intensidad de la luz incidente sobre la superficie del reactor se midió con un sensor cuántico 2π (Extech, EE.UU.). La tasa de fotones o la radiación activa para la fotosíntesis en el centro del reactor se midió con un sensor cuántico 4π (US-SQS/L, Heinz Walz GmbH, Germany). La concentración de O_2 en la fase líquida se midió con un sensor polarográfico (AppliSens, EE.UU.). La concentración de CO_2 en fase gas se determinó con un detector infrarrojo (9500, Omega Alpha, EE.UU.). El flujo de la fase gas se controló con un controlador de flujo másico (32708-28, Cole Parmer, EE.UU.). Las señales de los sensores se registraron en línea con un módulo de adquisición de datos (CompactDAQmx, NI, EE.UU.), conectado a un computadora con un software NI LabVIEW (2009) para el registro de datos.

El fotobiorreactor de placas se operó en modo batch con 1.5 L de medio BG11, 0.15 L de inóculo de *S. obtusiusculus*, en condiciones óptimas de temperatura (35°C) y de irradiancia ($300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), estas condiciones fueron obtenidas en un trabajo previo (Cabello y col., 2015) para la misma cepa. El flujo de gas contuvo 2% de CO_2 y fue suministrado a una velocidad superficial de 0.008 m s^{-1} (basado en el área de sección transversal del reactor, 2.5 L min^{-1}).

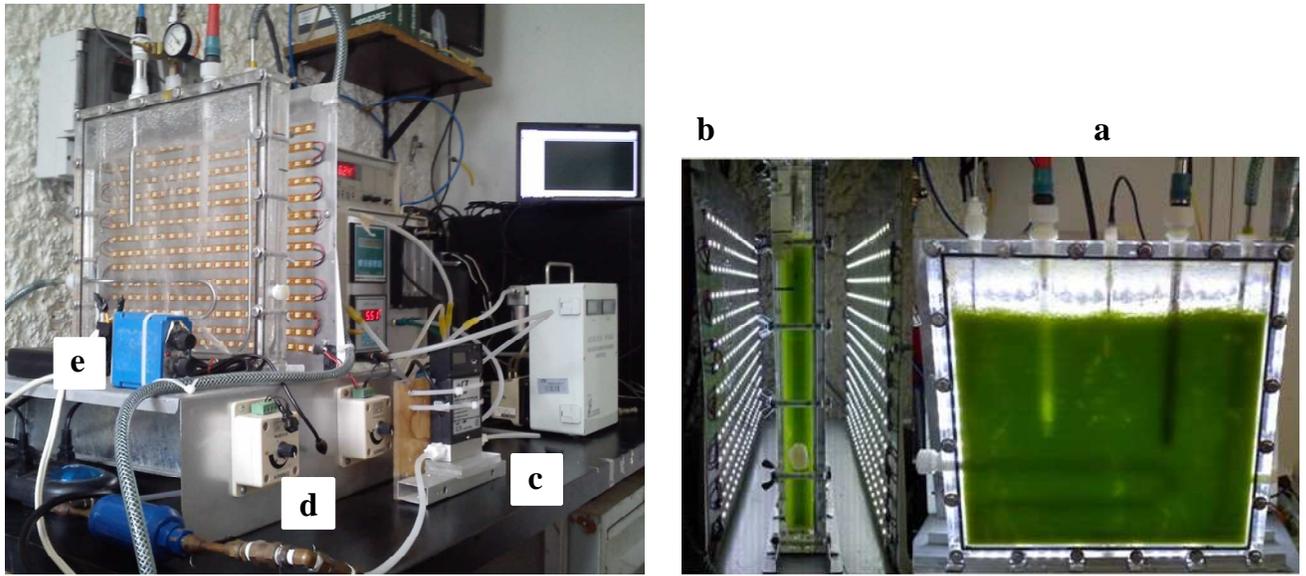


Figura 7.1. (a) Representación fotográfica del reactor de placas que se utilizó para determinar el efecto de la frecuencia de ciclos de L-O en la microalga *S. obtusiusculus*. (b) Paneles de LEDs de alta intensidad de luz, (c) controlador de flujo másico, (d) reguladores de intensidad de luz (dimmer) y (e) reguladores de frecuencia (temporizadores).

7.2.2 Experimentos dinámicos de frecuencia de ciclos L-O

Las fluctuaciones para determinar la actividad de fotosíntesis en diferentes frecuencias de L-O para *S. obtusiusculus*, se realizaron para una concentración de biomasa de 0.5 g L^{-1} (baja atenuación de luz). Los experimentos se iniciaron con una frecuencia de 0.0033 Hz (5:5min de L:O) seguido por 0.016 Hz (1:1min de L:O), 0.03 Hz (30:30s de L:O), 0.16 Hz (6:6s de L:O), 1 Hz (1:1s de L:O) y finalizan con luz continua, para periodos de 50 minutos cada uno. También, estos experimentos se realizaron en un tiempo de operación de 12 h, para determinar el cambio en la concentración de biomasa en respuesta a cada frecuencia del ciclo L-O. En estas condiciones se determinó la productividad de biomasa para cada ensayo, por la ecuación:

$$P_b = \frac{C_{b,f} - C_{b,i}}{t_f - t_i} \quad (7.1)$$

CAPÍTULO 7. Efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

donde, $C_{b,f}$ y $C_{b,i}$ son las concentraciones de biomasa para el tiempo final, t_f , y para el tiempo inicial, t_i , del experimento.

Los experimentos para analizar la respuesta dinámica de fotosíntesis en condiciones de iluminación continua y en condiciones de luz fluctuante (frecuencia de L-O de 1Hz), se realizaron a diferentes intensidades de luz y para una concentración de biomasa de 0.5 g L^{-1} . Los experimentos se iniciaron con una intensidad de luz de $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, seguidos de incrementos en escalón de 100, 200, 300 y $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ por periodos de 4 minutos cada uno. Una vez que se alcanzó la intensidad de luz máxima, se disminuyó secuencialmente a las mismas intensidades de luz durante 4 minutos hasta llegar a las condiciones iniciales ($50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

7.3. Resultados y discusión

El propósito de este capítulo fue presentar la respuesta dinámica de producción de oxígeno y la productividad de biomasa debido a fluctuaciones de luz inducidas en un reactor de placas, que sirven de base para complementar el análisis y los resultados que se presentaron en el capítulo anterior. De acuerdo a esto, se consideró que el aumento en la frecuencia interna de ciclos L-O gobierna el proceso de fotosíntesis cuando hay una perturbación en la hidrodinámica del sistema.

7.3.1 Cambios en la frecuencia de ciclos luz-oscuridad

La Figura 7.2 muestra las frecuencias en las que se realizaron los experimentos dinámicos de cambio en los ciclos L-O (con medio sin microalga). Para la intensidad continua de luz y frecuencias de 5:5min, 1:1min, 30:30s y de 6:6s la intensidad de luz promedio dentro del reactor fue de $275 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Para frecuencias de 1:1s la intensidad de luz, registrada por el sensor cuántico 4π , disminuyó con valores entre 50 y $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Para esta frecuencia la intensidad de luz medida depende del tiempo de adquisición y del tiempo de respuesta del

CAPÍTULO 7. Efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

sistema de iluminación, a cambios en el voltaje, por esto se deberían usar técnicas de filtrado y/o aumentar la velocidad de adquisición de la señal, para obtener una mejor respuesta de la tasa de fotones por el cambio dinámico de 1:1s en el reactor. Los datos presentados en la Figura 7.2 no fueron tratados por técnicas de suavizado y/o de filtrado de señal y tuvieron como objetivo mostrar cualitativamente la respuesta en la intensidad de luz a cambios en la frecuencia (el almacenamiento de los datos fue de 1s).

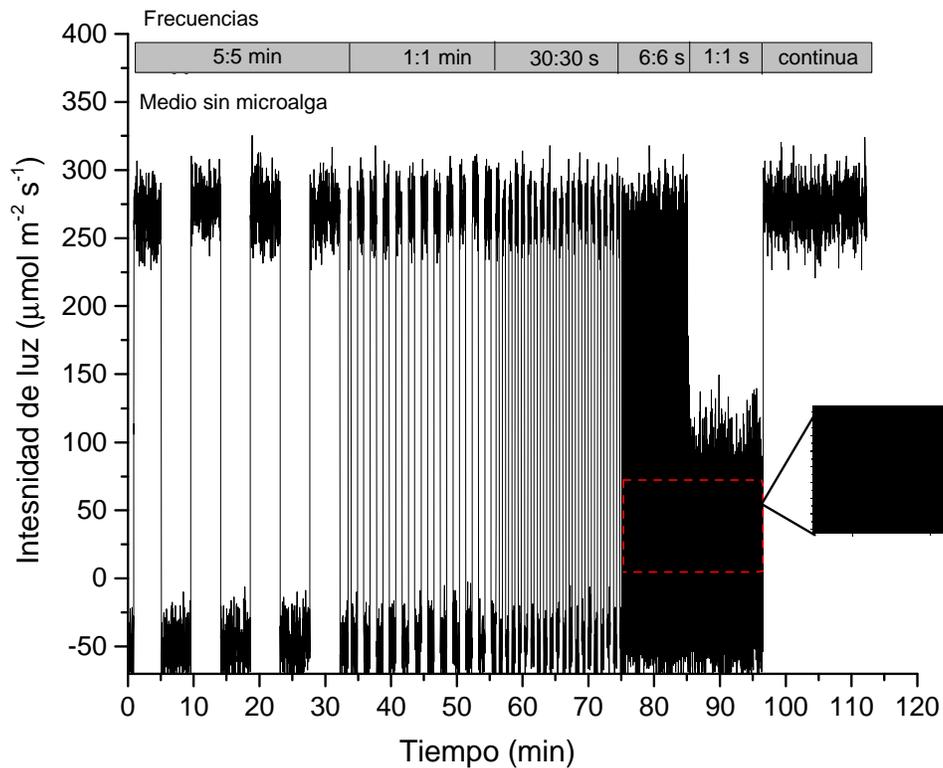


Figura 7.2. Fluctuaciones de la intensidad de luz en el centro del reactor de placas, para medio sin microalga y para las frecuencias luz-oscuridad.

La Figura 7.3 muestra la fluctuación de la concentración de O_2 en la fase líquida en respuesta a la actividad fotosintética de la microalga, para una concentración de biomasa de 0.5gL^{-1} . Se observa que para una intensidad de luz continua la concentración de O_2 incrementó 53 % (7.7 mg L^{-1}) y para una frecuencia de 1:1s la concentración de O_2 incrementó sólo 23%, ambos con respecto al valor de la concentración de saturación de O_2 (5.01 mgL^{-1}) a 35°C . Por otro lado,

CAPÍTULO 7. Efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

se registraron los valores de la tasa de fotones en el centro del reactor durante la producción de oxígeno (Fig. 7.3). Para una intensidad de luz continua y una frecuencia de 5:5 min el valor máximo fue de $110 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Para una frecuencia de 6:6 s y de 1:1 s la tasa de fotones disminuyó 10% y 25%, respectivamente, ambos con respecto al valor máximo obtenido en luz continua. Los valores para la tasa de fotones fueron obtenidos a partir de una técnica de suavizado que se aplicó a la señal registrada por el sensor cuántico. A continuación se presenta la discusión de los resultados con relación a lo reportado en la literatura.

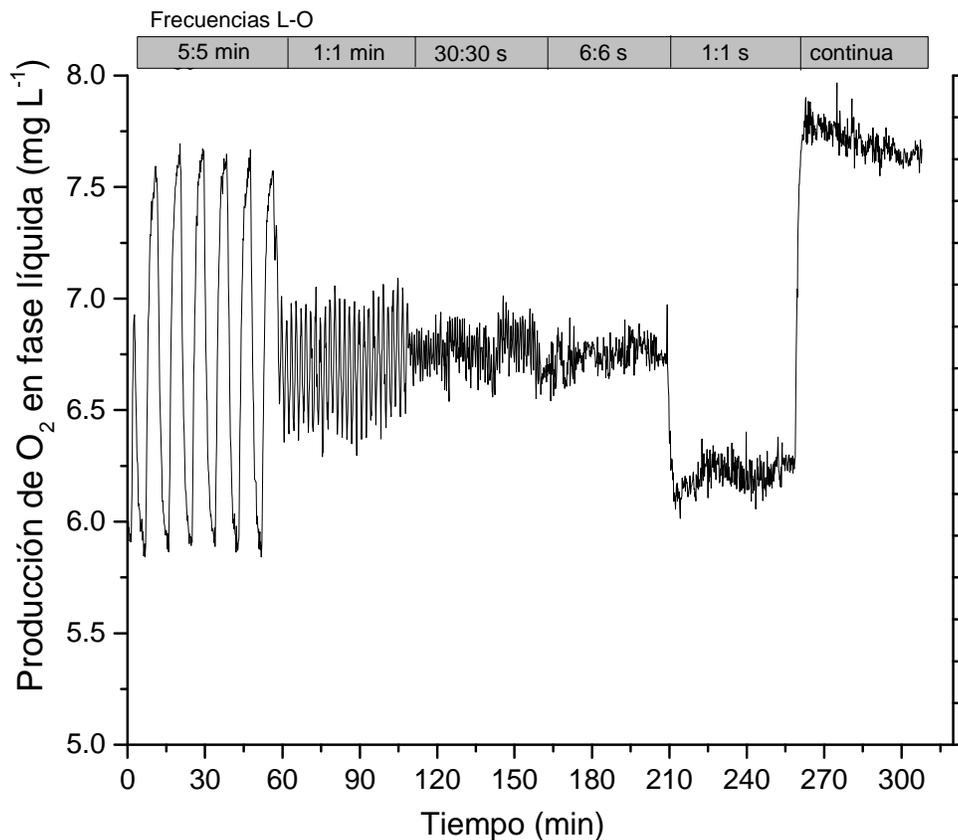


Figura 7.3. Respuesta dinámica de producción de oxígeno en los experimentos de fluctuaciones en la frecuencia de L-O, para una concentración de biomasa de 0.5 g L^{-1} .

En el trabajo de Terry y col., (1986) se reporta que un aumento en la frecuencia con periodos de luz en el orden de 1s y hasta de 10ms podrían aumentar al doble la tasa específica de

CAPÍTULO 7. Efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

fotosíntesis, y como consecuencia de esto, aumentar la productividad de biomasa en cultivos de microalgas. Posten y col., (2009) presenta resultados de la velocidad específica de crecimiento para la microalga *Phorphyridium purpureum*, en un reactor de placas iluminado con LEDs, en los que se desacopla el efecto hidrodinámico y el efecto inducido por altas frecuencias en los ciclos internos de L-O. Los autores obtienen para frecuencias de 0.3 Hz (3000:3000s) que la velocidad específica de crecimiento disminuye 62% en comparación con el valor en iluminación continua. Por el contrario, para una frecuencia de 5:5ms (200Hz) obtienen que la velocidad específica de crecimiento aumenta 2 veces en comparación con el valor obtenido en iluminación continua. Por esto, proponen que la operación de fotobiorreactores con tiempos de mezclado que induzcan ciclos internos de L-O por debajo de 1 Hz debe evitarse, ya que esto disminuye la eficiencia de fotosíntesis y afecta el crecimiento de la microalga. También, Nedbal y col. (1996) presentan experimentos de operación intermitente para frecuencias de ciclos L-O entre 0.1 y 10 Hz, para *Scenedesmus quadricauda*, *Chlorella vulgaris* y *Synechococcus elongatus*. Para las microalgas *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus quadricauda* la tasa específica de producción de oxígeno que reportan es más alta en operación continua de luz que en operación intermitente de luz de 1:1s. En ambas microalgas, la velocidad específica de crecimiento (4h de operación), para una frecuencia de exposición a la luz de 1ms ($1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), es de igual magnitud en comparación con el valor que reportan en iluminación continua ($1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Mientras que en una frecuencia de exposición a la luz de 70 ms la velocidad específica de crecimiento aumenta 10% para *Chlorella vulgaris*, para una frecuencia de exposición de 20 ms dicho parámetro aumenta 20% para *Scenedesmus quadricauda*, en comparación con el valor que reportan en iluminación continua. Para ambas microalgas, la tasa específica de producción de oxígeno y la velocidad específica de crecimiento disminuye 50% en frecuencias mayores a 300Hz. Por otro lado, Yohimoto y col., (2005) presenta datos de producción de oxígeno en experimentos con operación intermitente de luz, para la microalga *Chaetoceros calcitrans*. El valor máximo de producción de oxígeno en operación continua es 2 veces mayor que en operación con una frecuencia de 10Hz, para una intensidad de luz de $188 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. También, Iluz y col., (2012) muestran datos experimentales del efecto de la frecuencia de ciclos L-O sobre la tasa de fotosíntesis para la microalga *Chlorella sp.* Para una frecuencia de 10Hz la tasa específica

CAPÍTULO 7. Efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

de producción de oxígeno es 3 veces mayor que el valor para una frecuencia de 0.5 Hz, y para una frecuencia de 100 Hz la tasa específica de producción de oxígeno aumenta un orden de magnitud en comparación con el valor a 0.5 Hz. Los resultados obtenidos por Nedbal y col. (1996); Yohimoto y col. (2005) y Iluz y col. (2012) en operación intermitente con altas frecuencias de ciclos L-O generan amplia información biológica sobre la sincronización entre las reacciones metabólicas que intervienen en la fase oscura y en la fase iluminada. Por otra parte, en otros trabajos se considera de mayor interés el estudio de frecuencias de ciclos L-O menor ó igual a 1s (Grobbelaar, 1991), que son más comunes en el interior de reactores que operan al exterior y al interior, y que son inducidas por cambios en la dinámica de fluidos.

Grobbelaar (1991) presenta que no hay un incremento significativo en la productividad de biomasa para la microalgas *Chlorella* y *Scenedesmus* sp. en frecuencias entre 0.0038 y 1 Hz. Por otra parte muestra que el aumento en la velocidad de la fase líquida, fijando una frecuencia externa de L-O entre 0.5 y 1 Hz, incrementa 2 veces la productividad de biomasa en el reactor. También, presenta respuestas dinámicas para una frecuencia de 10:10 s (0.1 Hz), en las cuales la producción de oxígeno muestra una respuesta lineal debido a la operación intermitente de luz (estos datos son similares a los mostrados en la Figura 7.3). Para una frecuencia con 260 s de exposición a la luz, la producción de oxígeno presenta un comportamiento sinusoidal que refleja los cambios de la intensidad de luz por el ciclo de L-O, estas oscilaciones en la producción de oxígeno son obtenidas en frecuencias mayores a 90s de exposición a la luz. Por arriba de este tiempo de exposición la energía capturada por la microalga es suficiente para generar estados pseudo-estacionarios en la producción de oxígeno. Para *Scenedesmus* sp. y *Chlorella* la operación intermitente para ciclos L-O de 1 a 0.0038 Hz (1 a 260 s) no tuvo un efecto significativo sobre la producción de oxígeno. En contraste con los resultados mostrados en la Figura 7.3, donde se obtuvo una diferencia del 10% entre la actividad de fotosíntesis para una frecuencia de 1 Hz (1:1s) y para una frecuencia de 0.016 Hz (60:60s).

Por otra parte, Avendaño y Shubert, (2005) presentan un estudio de la operación intermitente con frecuencias de ciclos de L-O en el orden de segundos a minutos. Reportan la evolución de oxígeno de una cianobacteria (*Synechocystis* sp.) para ciclos de L-O en escala de minutos (1:1, 5:5 y 10:10 min). En los cuales, la tasa de fotosíntesis para la cianobacteria es menor en condiciones de luz intermitente que en condiciones de luz continua (curva de fotosíntesis). La

CAPÍTULO 7. Efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

tasa de producción de oxígeno para ciclos de 1:1min es menor (60% menor con respecto al ciclo de 10:10 min) que para ciclos de 5:5 y 10:10min de L-O ($360 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Para estos tiempos de operación intermitente presentan estados estacionarios (como los mostrados en la Figura 7.3, frecuencia de 1:1 y 5:5min) de la variable respuesta, los cuales representan el fenómeno de foto-aclimatación en la cianobacteria; que ocurre cuando la escala de tiempo en el proceso de regulación metabólica es menor que la escala de tiempo debido al cambio en la intensidad de luz y/o en la frecuencia del ciclo de L-O esto es, entre más tiempo se exponen las células al cambio mejor es la respuesta de aclimatación del PSI y del PSII. De esta forma, los intervalos de oscuridad en la operación intermitente afectan y/o eliminan la pre-aclimatación a la intensidad de luz. Los resultados mostrados en la Figura 7.3 presentan un comportamiento dinámico (no sinusoidal) donde el fenómeno de foto-aclimatación no ocurre para frecuencias de 6:6s y 1:1s. Para obtener una alta eficiencia de fotosíntesis se requiere que las células lleven cabo el fenómeno de foto-aclimatación, el cual debería invertirse durante el periodo de oscuridad. Por el contrario, si los periodos intermitentes de luz y de oscuridad son demasiado cortos para permitir una foto-aclimatación en el sistema, el rendimiento fotosintético tiende a disminuir y esto afectaría el crecimiento de la microalga. El intervalo de 1 min de luz, en el trabajo de Avendaño y Shubert, (2005), permite que las células regulen (foto-aclimatación) la producción de oxígeno después del intervalo de oscuridad (1 min) y en respuesta se alcancen estados pseudo-estacionarios en el sistema. Por otro lado, el intervalo de 1 min de oscuridad es suficiente para eliminar la aclimatación parcial durante el intervalo de luz que le precede. En comparación, en la Figura 7.3 se observa que para ciclos menores a 6:6 s de L-O no hubo una mayor producción de oxígeno, debido a que no se alcanzó un equilibrio global del proceso de fotosíntesis (foto-aclimatación), para la microalga *S. obtusiusculus*, en el fotobiorreactor de placas.

Por último, los resultados presentados en este capítulo fueron para periodos de L-O en proporción 1:1 s y estos fueron para frecuencias medianas, es decir $<1\text{Hz}$. Esto es común en fotobiorreactores que operan en altas concentraciones de biomasa y en condiciones donde el movimiento del fluido induce que las células estén expuestas a un gradiente de irradiación. Por ello, fue importante evaluar el efecto de frecuencias de luz-oscuridad sobre la actividad de fotosíntesis, esto permitió comprender en mejor medida el cambio de la respuesta fisiológica a

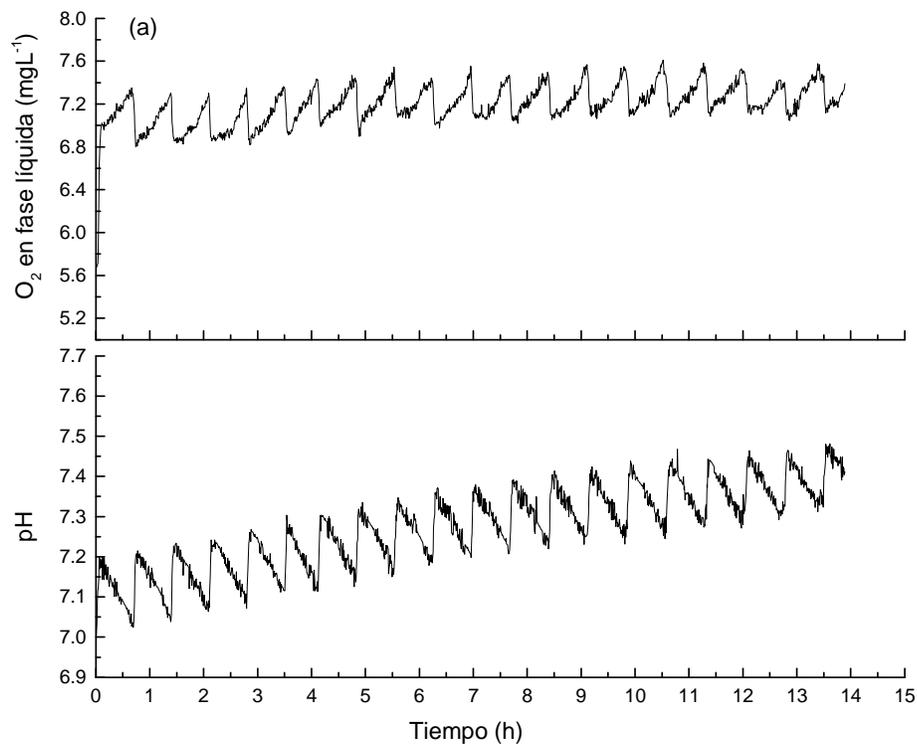
estas condiciones fluctuantes de operación. La información que se presenta en este trabajo podría ser más completa al integrar resultados de diferentes tiempos y proporciones de exposición de luz y de oscuridad. Sin embargo, se muestra en la Figura 7.3 que la respuesta del proceso de fotosíntesis para una operación intermitente de luz de 1Hz no es eficiente. Con la información presentada, se podría plantear que, al aumentar la frecuencia de exposición a la luz (mayor a 1Hz) la actividad de fotosíntesis para la microalga *S. obtusiusculus* no sería más eficiente que la obtenida para iluminación continua.

7.3.2 Respuesta en horas para las frecuencias de ciclos luz-oscuridad

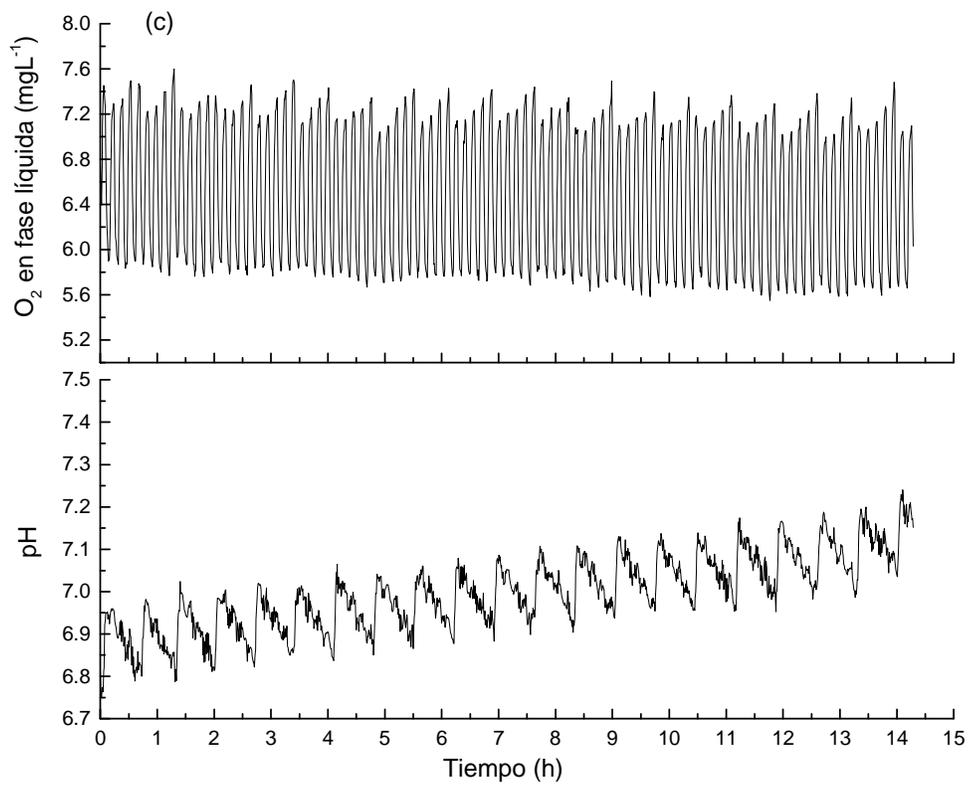
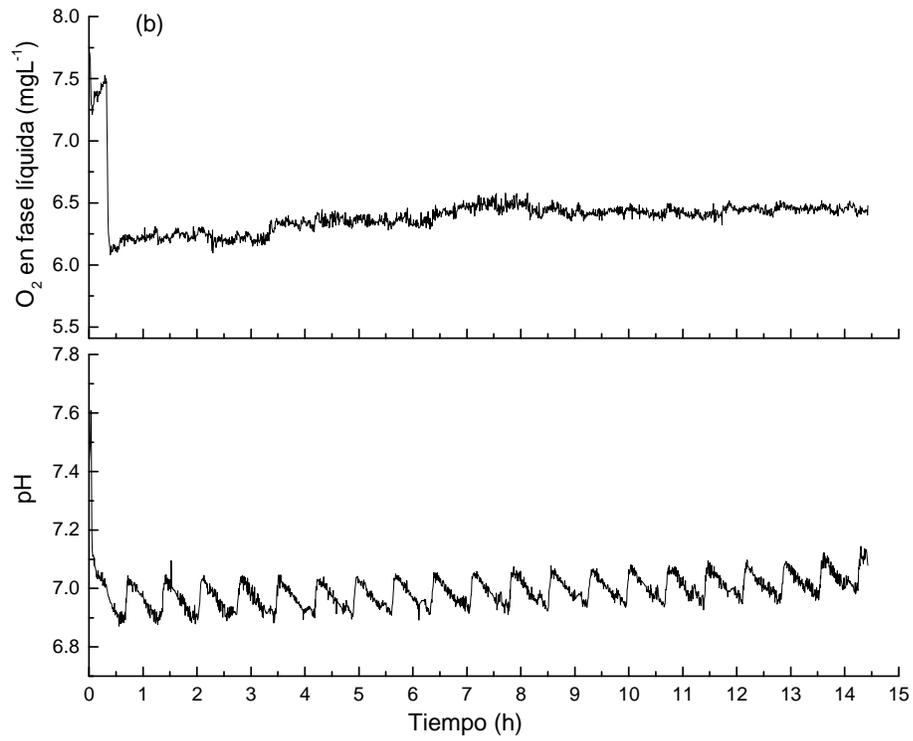
La Figura 7.4a muestra la concentración de O₂ en la fase líquida y el cambio en el pH en el medio de cultivo, para una concentración inicial de biomasa de 0.5 g L⁻¹, para una iluminación continua y para un tiempo de operación de 14 h. Las pequeñas oscilaciones que se observan en la Figura 7.4a están asociadas a cambios en el equilibrio G-L entre las concentraciones de O₂ y CO₂. Después de inocular el reactor y poner el medio de cultivo por un periodo corto de oscuridad se observa en la Figura 7.4a que en 14 horas de operación la concentración de O₂ en la fase líquida aumentó 47% con respecto al valor de saturación. El pH del medio aumentó hasta 7.4 debido al consumo de CO₂ por la actividad de fotosíntesis de la microalga. La intensidad de luz dentro del reactor disminuyó de forma exponencial debido a la atenuación de luz que se genera por el crecimiento de biomasa. La productividad de biomasa fue de 1.1 g L⁻¹ d⁻¹ para una intensidad de luz continua. Este valor fue similar (0.97 g L⁻¹ d⁻¹) al reportado por Cabello y col., (2015) para la misma cepa. La Figura 7.4b muestra los datos experimentales (concentración de oxígeno y pH) para una frecuencia de 1:1 s, una concentración inicial de biomasa de 0.5 g L⁻¹ y para un tiempo de operación de 12 h. La concentración de O₂ en la fase líquida disminuyó de 7.7 mg L⁻¹ (intensidad de luz continua) a 6.2 mg L⁻¹ (frecuencia 1:1 s), este valor se mantuvo sin cambios significativos durante la operación del reactor. El pH se mantuvo alrededor de 7. La productividad de biomasa fue de 0.05 g L⁻¹d⁻¹, este valor disminuyó 95% con respecto al valor obtenido en una intensidad de luz continua. La Figura 7.4c muestra los datos experimentales (concentración de oxígeno y pH) para una frecuencia de

CAPÍTULO 7. Efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

5:5 min, una concentración inicial de biomasa de 0.5 g L^{-1} y para un tiempo de operación de 12 h. La concentración de O_2 en la fase líquida fluctuó s entre 6.0 y 7.2 mg L^{-1} . Se observa en la Figura 7.4c que la concentración de O_2 tiende a disminuir al aumentar el tiempo de operación en el reactor. La exposición a la oscuridad de 5 min podría afectar a largo plazo la velocidad de crecimiento en la microalga. El pH del medio de cultivo incrementó de 6.8 a 7.1 por actividad de la microalga. La productividad de biomasa fue de $0.53 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, y ésta disminuyó 51% con respecto al valor obtenido en una intensidad de luz continua. Además, para el periodo de 5:5 min de L-O la tasa de respiración en la fase oscura no afectó en gran medida la productividad de biomasa, esto en comparación con el periodo de 1:1 s de L-O donde la tasa de respiración es menor debido al tiempo corto en que las células permanecen en la fase oscura.



CAPÍTULO 7. Efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.



CAPÍTULO 7. Efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

Figura 7.4. Datos experimentales de la concentración de O₂ y del pH durante la operación del reactor de placas, para una temperatura de 35°C. (a) Para una intensidad de luz continua (300 μmol m⁻² s⁻¹), (b) una frecuencia de luz-oscuridad de 1Hz y (c) para una frecuencia de luz-oscuridad de 0.0033Hz.

De acuerdo a lo reportado en la literatura, Molina y col., (2001) presentaron datos de operación intermitente en un reactor tubular para el cultivo de la microalga *Phaeodactylum tricornutum*. En estos, la productividad de biomasa disminuye en frecuencias menores a 1Hz. Contrario a lo anterior y como se pudo observar en la Figura 7.4, la productividad de biomasa para la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* aumentó en frecuencias menores (0.03 a 0.0033Hz) a 1Hz. También, Globbelaar, (1994) presenta un trabajo en el que describe que el transporte celular en un reactor está expuesto a fluctuaciones de frecuencias de energía en el orden de 1Hz y menores a 1Hz. En éste, expone que el aumento en la productividad de biomasa es resultado de una mayor intensidad de turbulencia; que induce una mayor velocidad de transferencia de nutrientes y de metabolitos entre las células y el medio de cultivo, y que además acoplado a esto, hay un incremento en las frecuencias internas de ciclos L-O. En estos experimentos no se evaluó cuantitativamente, y en forma independiente, el efecto hidrodinámico y el efecto por altas frecuencias de exposición a la luz sobre la actividad de fotosíntesis por la microalga.

En resumen, la Tabla 7.1 muestra los valores obtenidos de la productividad de biomasa para las diferentes frecuencias evaluadas en el presente trabajo. El valor más alto fue para una intensidad de luz continua, y éste disminuye hasta 95% para una frecuencia de 1:1s (1Hz) de L-O. Con base en lo anterior, para la microalga *S. obtusiusculus*, la fluctuación en frecuencias de 0.0033 a 1Hz no incrementa la productividad de biomasa y, por lo tanto, tampoco la eficiencia del proceso. Por esta razón y con base en la discusión del capítulo anterior (efecto de la velocidad de la fase gas), se puede plantear que el incremento en la actividad aparente de fotosíntesis es en gran medida por el aumento en la transferencia de gases entre el medio de cultivo y la microalga, más que por las altas frecuencias de ciclos L-O que se inducen en el reactor.

CAPÍTULO 7. Efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

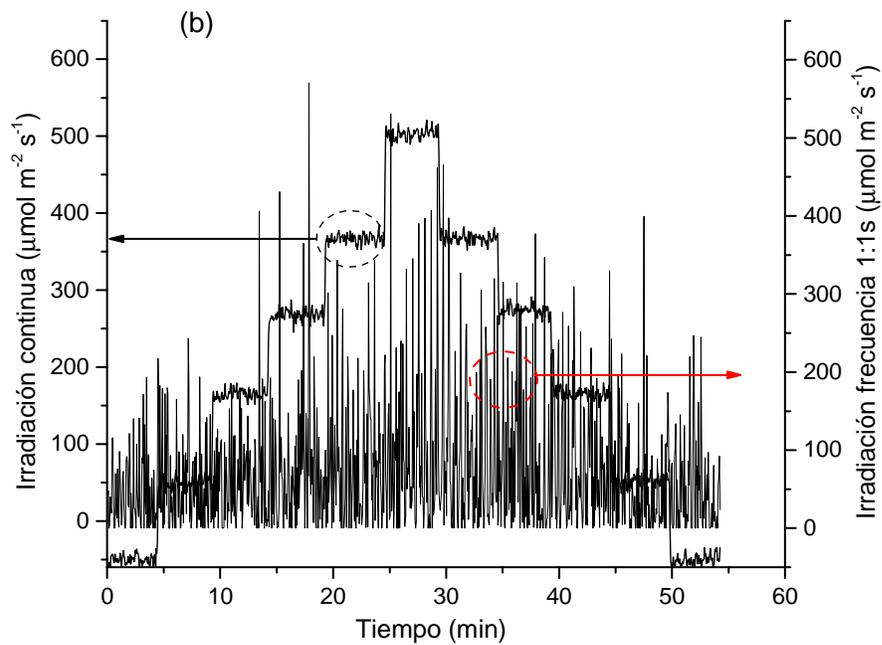
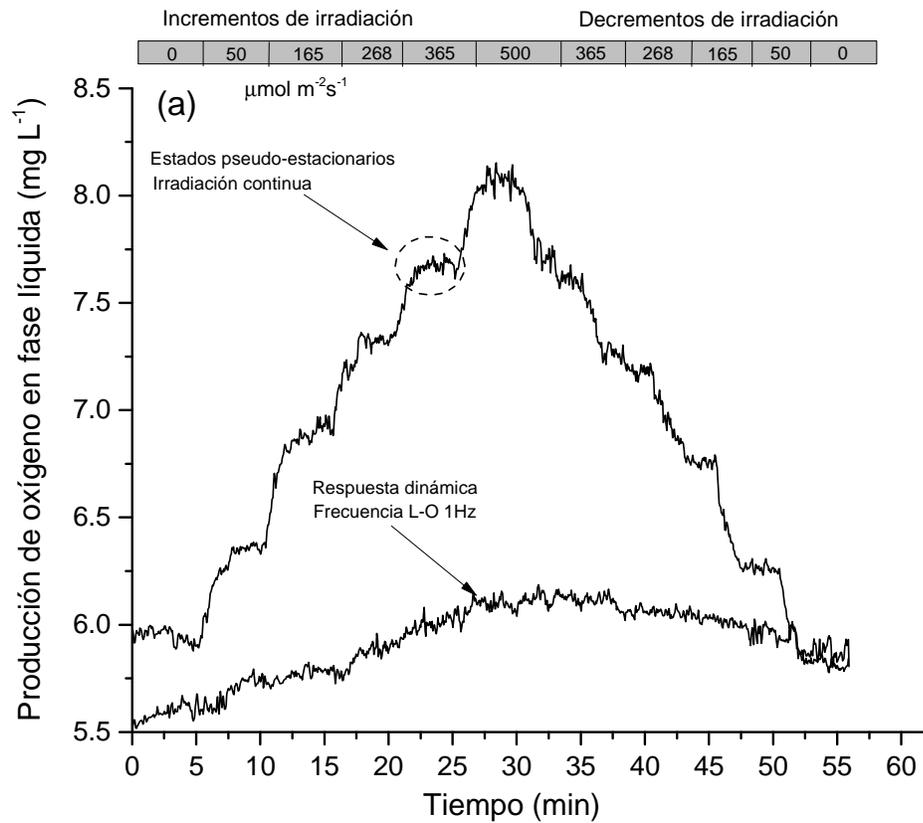
Tabla 7.1. Datos de la productividad de biomasa para diferentes frecuencias de luz-oscuridad y para iluminación continua.

Tipo de operación	P_b , ($g_b L^{-1} d^{-1}$)
Continua	1.1
Intermitente 1:1s (1Hz)	0.05
30:30s (0.03Hz)	0.26
60:60s (0.016Hz)	0.37
5:5min (0.0033Hz)	0.53

7.3.3 Cambios en la intensidad de luz para iluminación continua y una frecuencia de 1Hz

La Figura 7.5a muestra el efecto de la intensidad de luz sobre la respuesta dinámica de producción de oxígeno. Ante incrementos en escalón en la irradiancia ascendentes y descendentes se compararán los obtenidos en iluminación continua con los mismos incrementos asociados a una frecuencias de 1:1s. Para una intensidad de luz continua, las respuestas son similares a las reportadas por Cabello y col., (2014). Las curvas de producción de oxígeno son simétricas en el incremento y en el decremento de la intensidad de luz. Se observan respuestas rápidas con tiempos de 3 min para alcanzar el 95% de los cambios con respecto al valor en estado estacionario. Para una frecuencia de 1:1 s de L-O la respuesta de producción de oxígeno no alcanzó estados estacionarios como los observados para una intensidad de luz continua. En la Figura 7.5b se compara la respuesta de la tasa de fotones que se registró con el sensor cuántico, el valor del área bajo la curva fue de $10,674 \mu\text{mol m}^{-2}$ y de $4,028 \mu\text{mol m}^{-2}$, para iluminación continua y para una frecuencia de 1:1 Hz, respectivamente. El ahorro en la cantidad de energía promedio durante el experimento con una frecuencia de 1 Hz es 62% con respecto a la suministrada en forma continua. Sin embargo, la disminución en la concentración de oxígeno y el efecto sobre la productividad de biomasa no compensan el ahorro de energía.

CAPÍTULO 7. Efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.



CAPÍTULO 7. Efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

Figura 7.5. (a) Respuesta dinámica de oxígeno para los experimentos de cambio escalón en la intensidad de luz, para un contenido de biomasa de 0.5 g L^{-1} (b) tasa fotosintética de fotones (PPFR) en el reactor de placas, con medio sin microalga, para intensidad de luz en continua y en una frecuencia de 1Hz. Los datos del sensor de O_2 y del sensor cuántico se obtuvieron con una velocidad de adquisición de 10 Hz (CompactDAQmx).

En la Figura 7.5a se observa que el efecto de la operación intermitente (1 Hz) sobre la actividad de fotosíntesis es un fenómeno dinámico que ocurre a nivel intracelular, el cual no es posible explicar través de modelos cinéticos que se han obtenido en estado estacionario (Yoshimoto y col., 2005). En estos, el principal problema sería considerar la dinámica del proceso de fotosíntesis (reacciones de no equilibrio en la fase oscura y en la fase expuesta a la luz, la sincronización entre dichas reacciones y efectos dinámicos entre los mecanismos que inducen la fotoinhibición y la fotoaclimatación celular) que consiste en escalas de tiempo y de longitud diferente. Mientras que el crecimiento de biomasa tiene un tiempo característico en el orden de horas y/o días, las reacciones en la fase oscura y en la fase expuesta a la luz son del orden de milisegundos (Luo y Al-Dahhan, 2011). Además, otro proceso que define el régimen de luz en fotobioreactores son los ciclos internos de L-O, estos se inducen por el incremento en la velocidad de la fase líquida y ocurren generalmente en el orden de segundos. En cultivos de microalgas el fenómeno de foto-aclimatación ocurre como una respuesta a cambios en la intensidad y distribución espectral de luz. Falkowski y LaRoche (1991) describen que este fenómeno de aclimatación fisiológica no ocurre cuando las células se exponen a altas frecuencias de ciclos de luz y de oscuridad.

Por otra parte, Kono y Terashima, (2014) reportan varios estudios que evalúan el efecto de cambios en el orden de minutos y/o horas de la intensidad de luz sobre la actividad de fotosíntesis en microalgas. En estos, se describe que estudios que evaluann la interacción entre la fluctuación de frecuencias de luz y la dinámica del proceso de fotosíntesis, serían más complejos, y que aún no se han reportado y/o entendido del todo para cultivos microalgales.

Con lo anterior se puede establecer que la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*, en régimen de luz intermitente (frecuencia 1:1s), no mostró periodos de foto-aclimatación en respuesta a cambios en la intensidad de luz (Figura 7.5a), ya que en estas condiciones se presenta

CAPÍTULO 7. Efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

inactividad en los mecanismos de transición de estado (regulan la energía capturada) que son los encargados de la distribución de energía entre los fotosistemas (PSI:PSII) en condiciones de saturación de luz.

Por último, para explicar con más detalle los estados estacionarios que se observan en la Figura 7.5a (iluminación continua). Iluz y col., (2012) describen que la foto-aclimatación a corto plazo (segundos a minutos) incluye fenómenos de disipación del exceso de energía por carotenoides vía ciclo de xantofilas y/o de transiciones de estado que pueden cambiar la distribución excitada entre los fotosistemas I y II (PSI, PSII). La foto-aclimatación a largo plazo (horas) ocurre cuando los cambios a corto plazo no son suficientes ante cambios en la intensidad de luz, de esta forma se generan cambios en la actividad enzimática y en la expresión genética que pueden conducir a cambios en la concentración de complejos fotosintéticos, en la composición de la antena y en la estequiometría de los fotosistemas. En otras palabras, la foto-aclimatación trata de mantener constante la eficiencia fotosintética, debido a cambios en la intensidad de luz, ajustando la capacidad de la microalga de utilizar la energía. Por lo tanto, la pregunta a responder sería: ¿A qué nivel de intensidad de luz las células se foto-aclimatan en condiciones de fluctuación de luz?. Lo anterior es importante en reactores y permite conocer las frecuencias para las cuales el efecto por fotoinhibición disminuye; ya que células que se exponen a tiempos cortos de altas intensidades de luz sufren daño en el aparato fotosintético, y posterior a esto, en un intervalo de tiempo en la oscuridad éste se repara por el estrés causado por dicho efecto. Por ello, en periodos de tiempo en el orden de milisegundo y en altas intensidades de luz no se genera un daño en el aparato fotosintético por efecto de fotoinhibición. Además, periodos en el mismo orden de tiempo no permiten que se active de forma completa los mecanismos de disipación de energía térmica de la energía absorbida, vía ciclos de xantofilas, y esto reduce la energía dirigida para el proceso fotoquímica (Iluz y col., 2012). Lo anterior sería una de las pocas ventajas que proporciona la operación intermitente de fotobiorreactores sobre el crecimiento de microalgas. Se espera que lo mostrado en este capítulo contribuya para esclarecer aspectos relacionados con la respuesta fotosintética de microalgas expuestas a condiciones de operación continua e intermitente de luz.

CAPÍTULO 7. Efecto de la frecuencia de ciclos luz-oscuridad sobre la respuesta dinámica de fotosíntesis de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

Por último, con los resultados mostrados en los capítulos 6 y en éste se puede concluir que el incremento en la tasa específica de producción de oxígeno está en gran medida asociada por el cambio en la hidrodinámica del sistema; que aumenta la transferencia de gases entre las fases, más que por el efecto de inducir altas frecuencia de ciclos internos de L-O en el medio de cultivo.

Conclusiones

Se evaluó el efecto de la frecuencia de ciclos L-O sobre la actividad de fotosíntesis de la microalga, esto permitió obtener información de la productividad de biomasa para dicho efecto.

El aumento en la frecuencia de ciclos de luz-oscuridad no incrementó la productividad de biomasa para la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

En operación intermitente (1:1s) de irradiación el proceso de fotosíntesis de la microalga *S. obtusiusculus* no alcanzó estados estacionarios que representen la foto-aclimatación del sistema.

La metodología presentada en este capítulo permitió evaluar el efecto de frecuencias de ciclos luz-oscuridad en intervalos donde se presenta una producción dinámica y estacionaria de oxígeno por la actividad fotosintética de la microalga

Se mostró que la operación intermitente en reactores de placas para una frecuencia de 1:1 s de L-O no es eficiente y no incrementa la tasa de producción de oxígeno, en comparación con la operación con iluminación continua.

Conclusiones Generales

Se demostró que el análisis de las respuestas dinámicas ante perturbaciones en la intensidad luminosa, concentraciones de alimentación de CO₂, velocidad superficial de la fase gas y ciclos de luz-oscuridad y de los estados cuasi-estacionarios permiten la estimación, en tiempos cortos, de la tasa específica de producción de O₂ y de consumo de CO₂ en fotobiorreactores.

Considerando lo anterior, el análisis de las respuestas dinámica puede ser de gran utilidad para interpretar los datos de producción de O₂ y de consumo de CO₂ que se obtienen en un fotobiorreactor y, con ello, reducir el tiempo y la cantidad de experimentos necesarios para caracterizar la actividad fotosintética ante cambios en las principales variables que afectan el crecimiento de la microalga.

Se desarrolló un modelo para un fotobiorreactor y se obtuvieron los parámetros que representan la actividad fotosintética de la microalga y caracterizan el comportamiento hidráulico y de transferencia de masa gas-líquido del sistema. El modelo desarrollado reproduce efectivamente datos experimentales de concentración de oxígeno en la fase líquida, para la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*, hasta concentraciones de biomasa de 1.7 gL⁻¹. En contraste con otros modelos, el desarrollado aquí no requiere de estimación o ajuste de parámetros, y los que utiliza se obtienen a partir de datos experimentales.

Se obtuvo que la microalga *S. obtusiusculus* ante un régimen intermitente de frecuencias de 0.0033 a 1Hz de L-O no incrementó la productividad de biomasa y, por lo tanto, tampoco la eficiencia del proceso. Por esta razón y con base en la discusión del capítulo 6 (efecto de la velocidad de la fase gas), se puede probar que el incremento en la actividad aparente de fotosíntesis es en gran medida por el aumento en la transferencia de gases entre el medio de cultivo y la microalga, más que por las frecuencias de ciclos L-O que se inducen en el reactor.

Se obtuvo que la microalga *Scenedesmus obtusiusculus* ante un régimen de luz intermitente (frecuencia 1:1s), no muestra periodos de foto-aclimatación en respuesta a cambios en la intensidad de luz, es posible que en estas condiciones se presenté poca actividad en los mecanismos de transición de estado (regulan la energía capturada) que son los encargados de la distribución de energía entre los fotosistemas (PSI:PSII) en condiciones de saturación de luz.

Por último, se pretende que el análisis transitorio de las variables medibles proporcione una visión integral de la actividad fotosintética, la transferencia de CO₂ de la fase gas al medio de cultivo y la frecuencia de las células a la exposición de luz y oscuridad en un fotobiorreactor, así como de su operación y comportamiento.

Perspectivas

Existen varios problemas que deben ser considerados. Se deberá buscar un mejor entendimiento sobre la distribución de luz dentro del fotobiorreactor. Esto es, un mejor conocimiento de la transferencia de radiación ayudará a comprender y cuantificar variables tan importantes como la función fase, el coeficiente de absorción y el coeficiente de dispersión en sistemas alga-líquido-gas. Ello podría llevar, además, a que futuros modelos puedan implementar parámetros cinéticos, hidrodinámicos, de transferencia masa y de transferencia de radiación en un ambiente matemático más riguroso que ayude a superar algunas incertidumbres asociadas con el diseño del proceso y el escalamiento del proceso.

Otro es el comportamiento dinámico de los fotobiorreactores. Aunque de una dinámica más rápida que el crecimiento de biomasa, en diversos sistemas la producción de oxígeno puede presentar problemas de inhibición. Por ello, se debe prestar más atención al desarrollo de modelos que permitan predecir la concentración de oxígeno en un fotobiorreactor.

Por otra parte, es importante y necesario la optimización y el análisis de sensibilidad de los principales parámetros físicos y biológicos para: a) la simulación del proceso; b) el escalamiento de los experimentos de nivel laboratorio a nivel industrial y; c) el desarrollo de sistemas de control que se pueden implementar para la medición ó estimación de las principales variables en la unidad del proceso, para aumentar la velocidad de crecimiento y la producción de biomasa.

Sin duda, y a manera que se genere más conocimiento sobre la tecnología de fotobiorreactores, la producción de biomasa a escala industrial tendrá un impacto mayor sobre la captación biológica de carbono y así coadyuvar de forma eficiente en la reducción de emisiones de dióxido de carbono de origen antropogénico. Por otra parte, una mejor caracterización de fotobiorreactores permitirá integrar el crecimiento de microalgas con otros procesos físicos y/o químicos y, reducir de esta manera, el tamaño de equipos y los costos de operación.

Referencias

- Acién F.G., Sánchez J.A.S, Fernández J.M., García F., Molina E., (2000), Modeling of eicosapentaenoic acid (EPA) production from *Phaeodactylum tricornutum* cultures in tubular photobioreactors. Effects of dilution rate, tube diameter, and solar irradiance, *Biotechnol. Bioeng.*, 68: 173-183.
- Acién F.G., Fernández J.M., Molina E., (2013), Photobioreactors for the production of microalgae, *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 12: 131-151.
- Anderson A. G., Kommareddy A., Schipull A. M., (2002), Photobioreactor, *ASAE/CSAE North-Central Intersectional Meeting*, Saskatoon, Canada, Paper No. MBSK02-216.
- Akita K., Yoshida F., (1973), Gas holdup volumetric mass transfer coefficient in bubble columns, *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.* 12(1): 76-80.
- Avendaño D., Shubert H., (2005), Oxygen evolution and respiration of the cyanobacterium *Synechocystis* sp., *Physiol. Plant.*, 125 (3): 381-391.
- Barbosa M.J., Janssen M., Ham N., Tramper J., (2003), Microalgae cultivation in air-lift reactors: modeling biomass yield and growth rate as a function of mixing frequency, *Biotechnol. Bioeng.* 82: 170-179.
- Béchet Q., Shilton A., Guieysse B., (2013), Modeling the effects of light and temperature on algae growth: State of the art and critical assessment for productivity prediction during outdoor cultivation, *Biotechnol. Adv.* 31: 1648-1663.
- Berberoglu H., Yin J., Pilon L., (2007), Light transfer in bubble sparged photobioreactors for H₂ production and CO₂ mitigation. *Int. J. Hydrogen Energy*, 32(13): 2273-2285.
- Berges J.A., Charlebois D.O., Mauzerall D.C., Falkowski P.G., (1996), Differential effects of nitrogen limitation on photosynthetic efficiency of photosystems I and II in microalgae, *Plant. Physiol.* 110: 689-696.
- Bernard O., (2011), Hurdles and challenges for modeling and control of microalgae for CO₂ mitigation and biofuel production, *J. Process Control*, 21: 1378-1389.

- Bonardi V., Pesaresi P., Becker T., Schleiff E., Wagner R., Pfannschmidt T., Jahns P., Leister D., (2005), Photosystem II core phosphorylation and photosynthetic acclimation require two different protein kinases, *Nature*, 437: 1179-1182.
- Brindley C., Ación F.G., Fernández J.M., (2010), The oxygen evolution methodology affects photosynthetic rate measurements of microalgae in well-defined light regimes, *Biotechnol. Bioeng.*, 106: 228-237.
- Cabello J., Morales M., Revah S., (2014), Dynamic photosynthetic response of the microalga *Scenedesmus obtusiusculus* to light intensity perturbations, *Chem. Eng. J.*, 252: 104-111.
- Cabello J., Toledo-Cervantes A., Sánchez L., Revah S., Morales, M., (2015), Effect of the temperature, pH and irradiance on the photosynthetic activity by *Scenedesmus obtusiusculus* under nitrogen replete and deplete conditions. *Bioresour. Technol.*, 181: 128-135.
- Camacho F., Ación F.G., Sánchez J.A., García F., Molina E., (1999), Prediction of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration profiles in tubular photobioreactors for microalgal cultures, *Biotechnol. Bioeng.* 62: 71-86.
- Camacho F., García F., Fernández J.M., Chisti Y., E. Molina, (2003), A mechanistic model of photosynthesis in microalgae, *Biotechnol. Bioeng.* 81: 459-473.
- Camacho-Rubio F., Sánchez Mirón A., Cerón García M. C., García Camacho F., Molina Grima E. y Chisti Y., (2004), Mixing in bubble columns: a new approach for characterizing dispersion coefficients. *Chem. Eng. Sci.*, 59(20): 4369-4376.
- Chai X., y Zhao X., (2012), Enhanced removal of carbon dioxide and alleviation of dissolved oxygen accumulation in photobioreactor with bubble tank. *Bioresour. Technol.*, 116: 360-365.
- Cheng L., Zhang L., Chen H., Gao C., (2006), Carbon dioxide removal from air by microalgae cultured in a membrane-photobioreactor. *Sep.Purif. Technol.*, 50(3): 324-329.
- Cassano A. E., Martin C. A., Brandi R. J., Alfano O. M., (1995), Photoreactor analysis and design: fundamentals and applications, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 34, 2155-2210.
- Contreras F. C., Peña C. J. M., Flores C. L. B., Villanueva C. R. O., (2003), Avances en el diseño conceptual de fotobioreactores para el cultivo de microalgas, *Interciencia*, 28 (8): 450-456.

- Concas A., Pisu M., (2010), Novel simulation model of the solar collector of Biocoil photobioreactors for CO₂ sequestration with microalgae, *Chem. Eng. J.*, 157: 297-303.
- Costache T.A., Acién F.G., Morales M.M., Fernández J.M., Stamatini I., Molina E., (2013), Comprehensive model of microalgae photosynthesis rate as function of culture conditions in photobioreactors, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97: 7627-7637.
- Cornet J. F., Dussap C. G., Cluzel P., Dubertret G., (1992), A structured model for simulation of cultures of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in photobioreactors: II. Identification of kinetic parameters under light and mineral limitations. *Biotechnol. Bioeng.*, 40(7): 826-834.
- Chisti Y., (2007), Biodiesel from microalgae, *Biotechnol. Adv.*, 25: 294-306.
- Chisti Y., (2006), Microalgal biotechnology: production of high-value products in photobioreactors, disponible en:
[http://notes.ump.edu.my/fkksa/FKKSA/Archive/2006&2007%20SEM%20I/Public%20Lecture%20Notes/Prof.%20Dr.%20Yusuf%20Chisti/Malaysia%20Microalgae%2006%20\(Chisti\).ppt](http://notes.ump.edu.my/fkksa/FKKSA/Archive/2006&2007%20SEM%20I/Public%20Lecture%20Notes/Prof.%20Dr.%20Yusuf%20Chisti/Malaysia%20Microalgae%2006%20(Chisti).ppt).
- Chiu S. Y., Kao C. Y., Chen C. H., Kuan T. C., Ong S. C., Lin, C. S., (2008), Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor. *Bioresour. Technol.*, 99(9): 3389-3396.
- Dorval N. M., Parisien A., Wang B., Lan Ch., Q., (2009), Enhancement of lipid using biochemical, genetic and transcription factor engineering approach, *J. Biotechnol.*, 141: 31-41.
- Fan Liang-Shih, (1989), Gas-Liquid-Solid Fluidization Engineering, Butterworths series in Chemical engineering, USA.
- Farrelly D. J., Brennan L., Everard C. D., y McDonnell K. P., (2014), Carbon dioxide utilisation of *Dunaliella tertiolecta* for carbon bio-mitigation in a semicontinuous photobioreactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 98(7): 3157-3164.
- Fernández I., Acién F.G., Fernández J.M., Guzmán J.L., Magán J.J., Berenguel M., (2012), Dynamic model of microalgal production in tubular photobioreactors, *Bioresour. Technol.* 126: 172-181.

- Godos I., Mendoza J. L., Ación F. G., Molina E., Banks C. J., Heaven S., y Rogalla, F., (2014), Evaluation of carbon dioxide mass transfer in raceway reactors for microalgae culture using flue gases. *Bioresour. Technol.*, 153: 307-314.
- Grobbelaar J. U., (1994), Turbulence in mass algal cultures and the role of light/dark fluctuations. *J. Appl. Phycol.*, 6(3): 331-335.
- Grobbelaar, J. U., Nedbal, L., & Tichý, V., (1996), Influence of high frequency light/dark fluctuations on photosynthetic characteristics of microalgae photoacclimated to different light intensities and implications for mass algal cultivation. *J. Appl. Phycol.*, 8(4-5): 335-343.
- Hegde A., (2007), Development of biomass transducer for automated microalgal bioreactors, A thesis submitted to the graduate faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Engineering Science.
- Hekmat A., Amooghin A.E., Moraveji M.K., (2010), CFD simulation of gas-liquid behavior in an air-lift reactor: determination of the optimum distance of the draft tube, *Simul. Model. Pract. Th.*, 18: 927-945.
- Hu D., Li M., Zhou R., Sun Y., (2012), Design and optimization of photo bioreactor for O₂ regulation and control by system dynamics and computer simulation, *Bioresour. Technol.*, 104: 608-615.
- Huang C. C., Hung J. J., Peng S. H., Chen, C. N. N., (2012), Cultivation of a thermo-tolerant microalga in an outdoor photobioreactor: influences of CO₂ and nitrogen sources on the accelerated growth. *Bioresour. Technol.*, 112, 228-233.
- Ho Shih-Hsin, Chen Chun-Yen, Lee Duu-Jong, Chang Jo-Shu, (2011), Perspectives on microalgal CO₂-emission mitigation-A review, *Biotechnol. Adv.*, 29: 189-198.
- Hu D., Li M., Zhou R., Sun Y., (2012), Design and optimization of photo bioreactor for O₂ regulation and control by system dynamics and computer simulation, *Bioresour. Technol.*, 104: 608-615.
- Iluz D., Alexandrovich I., y Dubinsky Z., (2012), The enhancement of photosynthesis by fluctuating light, *Artif. Photosynth.*, 115-134.

- Jacob-Lopes E., Revah S., Hernández S., Shirai K., y Franco, T. T., (2009), Development of operational strategies to remove carbon dioxide in photobioreactors, *Chem. Eng. J.*, 153(1): 120-126.
- Jacob-Lopes E., Gimenes Scoparo C. H., Queiroz M. I., y Franco T. T., (2010). Biotransformations of carbon dioxide in photobioreactors, *Energy Convers.Manage.*, 51(5): 894-900.
- Kono M., y Terashima I., (2014), Long-term and short-term responses of the photosynthetic electron transport to fluctuating light, *J. Photochem. Photobiol. B*, 137: 89-99.
- Krishna R., Sie S. T., (1995), Strategies for multiphase reactor selection, *Chem. Eng. Sci.*, 49, 4029-4064.
- Lara M. A., Moreno J. L., Amaro E. J., (1996), Fitoplancton; Conceptos básicos y técnicas de laboratorio, Universidad Autónoma Metropolitana, primera impresión.
- Levy O., Dubinsky Z., Shneider K., (2004), Diurnal hysteresis in coral photosynthesis, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 268: 105-117.
- Levenspiel O., (1999), Chemical Reaction Engineering, John Wiley Sons., New York.
- Luo H. P., Kemoun A., Al-Dahhan M. H., Fernández S. J. M., García S. J. L., García C. F., Molina G. E., (2003), Analysis of photobioreactors for culturing high-value microalgae and cyanobacteria via an advanced diagnostic technique: CARPT, *Chem. Eng. Sci.*, 58: 2519-2527.
- Luo H.P., Al-Dahhan M.H., (2004), Analyzing and modeling of photobioreactors by combining first principles of physiology and hydrodynamics, *Biotechnol. Bioeng.*, 85: 382-393.
- Luo H. P. y Al-Dahhan M. H., (2008), Macro-mixing in a draft-tube airlift bioreactor, *Chem. Eng. Sci.*, 63: 1572-1585.
- Luo H.P., Al-Dahhan M.H., (2012), Airlift column photobioreactors for *Porphyridium* sp. culturing: part I. effect of hydrodynamics and reactor geometry, *Biotechnol. Bioeng.*, 109: 932-941.

- Mazzuca T., García F., Camacho F., Acién F.G., Molina E., (1999), Carbon dioxide uptake efficiency by outdoor microalgal cultures in tubular airlift photobioreactors, *Biotechnol. Bioeng.*, 67: 465-474
- Merzlyak M.N., Chivkunova O.B., Gorelova O.A., Reshetnikova I.V., Solovchenko A.E., Khozin I., Cohen Z., (2007), Effect of nitrogen starvation on optical properties, pigments, and arachidonic acid content of the unicellular green alga *Parietochloris incise* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta), *J. Phycol.*, 43: 833-843.
- Merchuk, J. C., Garcia-Camacho, F., & Molina-Grima, E. (2007). Photobioreactor design and fluid dynamics. *Chem. Biochem. Eng. Quarterly*, 21(4), 345-355.
- Molina G. E., Fernandez F. G .A., Camacho F.G., Chisti Y., (1999), Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup, *J. Biotechnol.*, 70: 231-248.
- Molina E., García F., Sánchez J.A., Fernández J.M., Acién F.G., A. Contreras, (1994), A mathematical model of microalgal growth in light limited chemostat culture, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 61: 167-173.
- Molina E., Fernández J., Acién F. G., y Chisti, Y., (2001), Tubular photobioreactor design for algal cultures. *J. Biotechnol.*, 92(2): 113-131.
- Moroney J.V., Somanchi A., (1999), How do algae concentrate CO₂ to increase the efficiency of photosynthetic carbon fixation, *Plant. Physiol.*, 119: 9-16.
- Nedbal, L., Červený, J., Keren, N., & Kaplan, A., (2010), Experimental validation of a nonequilibrium model of CO₂ fluxes between gas, liquid medium, and algae in a flat-panel photobioreactor. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 37(12): 1319-1326.
- Nedbal, L., Tichý, V., Xiong, F., & Grobbelaar, J. U. (1996). Microscopic green algae and cyanobacteria in high-frequency intermittent light. *J. Appl. Phycol.*, 8(4-5): 325-333.
- Novakovic G. V., Kim Y., Wu X. Berzin I., Merchuk J. C., (2005), Air-lift bioreactors for algal growth on flue gas: mathematical modeling and pilot-plant studies, *Ind. Eng. Chem Res.*, 44: 6154-6163.
- Pegallapati A.K., Nirmalakhandan N., (2012), Modeling algal growth in bubble columns under sparging with CO₂-enriched air, *Bioresour. Technol.*, 124: 137-145.

- Pruvost, J., Cornet, J. F., y Legrand, J., (2008), Hydrodynamics influence on light conversion in photobioreactors: an energetically consistent analysis. *Chem. Eng. Sci.*, 63(14): 3679-3694.
- Pulz, O., (2001), Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 57(3): 287-293.
- Raymond L. P., (1981), Mass algal culture system, *United States Patent* No. 4,253,271, Mar. 3.
- Reboloso M.M., García J.L., Fernández J.M., Ación F.G., Sánchez J.A., Molina E., (1999), Outdoor continuous culture of *Porphyridium cruentum* in a tubular photobioreactor: quantitative analysis of the daily cyclic variation of culture parameters, *J. Biotechnol.*, 70: 271-288.
- Rosenberg J. N., Oyler G. A., Wilkinson L., Betenbaugh M. J., (2008), A green light for engineered algae: redirecting metabolism to fuel a biotechnology revolution, *Biotechnol.*, 19: 430-436
- Richmond A., (2004), Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. Blackwell Science Ltd.
- Rosenberg J. N., Oyler G. A., Wilkinson L., Betenbaugh M. J., (2008), A green light for engineered algae: redirecting metabolism to fuel a biotechnology revolution, *Biotechnol.*, 19: 430-436.
- Sanchez-Mirón A. S., Camacho G. F., Gómez C. A., Grima E. M., Chisti Yusuf, (2000), Bubble-column and airlift photobioreactors for algal culture, *AIChE J.*, 46, 1872-1887.
- Sánchez J. F., Fernández-Sevilla J. M., Ación F. G., Cerón M. C., Pérez-Parra J., y Molina-Grima, E., (2008), Biomass and lutein productivity of *Scenedesmus almeriensis*: influence of irradiance, dilution rate and temperature. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 79(5): 719-729.
- Sanchez G. L., Cultivo a la interperie de *Scenedesmus obtusiusculus* en un fotobioreactor solar “air-lift”. Tesis de Maestria, Universidad Autonoma Metropolitana-Iztapalapa (2013).
- Sastre R. R., Csogor Z., Nohta I. P., Schneider P. F., Posten C., (2007), Scale-down of microalgae cultivations in tubular photo-bioreactors-A conceptual approach, *J. Biotechnol.*, 132: 127-133.

- Satoh A., Kurano N., Senger H., Shigetoh M., (2002), Regulation of energy balance in response to changes in CO₂ concentrations and light intensities during growth in extremely-high- CO₂-tolerant green microalgae, *Plant Cell Physiol.* 43: 440-451.
- Shah Y. T., Kelkar B. g., Godbole S. P., (1982), Design parameters estimation for bubble columns reactors, *AIChE J.*, 28 (3): 353-400.
- Shah Y. T., Stiegel G. J., Sharma M. M., (1978), Backmixing in gas-liquid reactors, *AIChE J.*, 24(3): 369-399.
- Sheehan J., Dunahay T. G., Benemann J. R., Roessler P. G., Weissman J. C., (1998), A look back at the U.S. department of energy's aquatic species program: biodiesel from algae,, NREL/TP-580-24190.
- Sokolichin A., Eigenberger G. y Lapin A., (2004), Simulation of buoyancy driven bubbly flow: established simplifications and open questions. *AIChE J.*, 50(1): 24-45.
- Sugai-Guérios M. H., Mariano A. B., Vargas J. V. C., de Lima Luz L. F., Mitchell, D. A., (2014), Mathematical model of the CO₂ solubilisation reaction rates developed for the study of photobioreactors. *Can. J. Chem. Eng.*, 92(5): 787-795.
- Sydney E. B., Sturm W., Carvalho J. C., Thomaz-Soccol V., Larroche C., Pandey A., y Soccol C. R., (2010), Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae. *Bioresour. Technol.*, 101(15): 5892-5896.
- Terry Kenneth L, (1986), Photosynthesis in modulated light: quantitative dependence of photosynthetic enhancement on flashing rate, *Biotechnol. Bioeng.*, 28(7): 988-995.
- Falkowski Paul G., y Julie LaRoche, (1991), Acclimation to spectral irradiance in algae. *J. Phycol.*, 27(1), 8-14.
- Toledo-Cervantes A., (2010), Captura de CO₂ por una comunidad de microalgas obtenidas de un ecosistema natural mexicano. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.
- Toledo-Cervantes A., (2014), Estudio de la acumulación de lípidos con una microalga aislada de Cuatro Ciénegas, Coahuila. Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.

- Toledo A., Morales M., Novelo E., Revah S., (2013), Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*, *Bioresour. Technol.*, 130: 652-658.
- Tebbani S., Lopes F., Filali R., Dumur D., y Pareau D., (2014), Nonlinear predictive control for maximization of CO₂ bio-fixation by microalgae in a photobioreactor. *Bioprocess Biosyst. Eng.*, 37(1): 83-97.
- Van Baten J. M. Ellenberger J., Krishna, (2003), Using CFD to describe the hydrodynamics of internal air-lift reactors, *Can. J. Chem. Eng.*, 81: 660-668.
- Walter T., (2008), Bio-reactor for the cultivation of micro-organisms and method for the production thereof, *United States Patent* No. 7,374,928 B2, May 20.
- Woods D. R., (2007), Rules of Thumb in Engineering Practice, *WILEY-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, Weinheim*.
- Wu X., Merchuk J. C., (2001), A model integrating fluid dynamics in photosynthesis and photoinhibition processes, *Chem. Eng. Sci.*, 56: 3527-3538.
- Yoshimoto N., Sato T., Kondo Y., (2005), Dynamic discrete model of flashing light effect in photosynthesis, *J. Appl. Phycol.*, 17: 207-214.
- Yun Y.S., Park J.M., (2001), Attenuation of monochromatic and polychromatic lights in *Chlorella vulgaris* suspensions, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 55: 765-770.
- Zhao B., y Su Y., (2014), Process effect of microalgal-carbon dioxide fixation and biomass production: A review. *Renew.Sustainable Energy Rev.*, 31: 121-132.

Apéndice A. Bases de diseño del fotobioreactor airlift-columna

A continuación se describen las bases de diseño del reactor air-lift que se utilizó en el presente proyecto para el crecimiento de la microalga *Scenedesmus obtusiusculus*.

Información disponible en Van Baten y col., (2003); Luo y col., (2003); Shah y col., (1982); Shah y col., (1978); Krishna y col., (1995); Akita and Yoshida, (1973) y Mathew Abraham y col., (1992) se describe que una aproximación en el diseño de reactores de columnas de burbujeo gas-líquido-sólido, es usar la velocidad crítica de gas como la energía mínima que se requiere para mantener en fluidización la fase slurry. La correlación de Koide y col., (1983) calcula la velocidad de gas crítica a partir de las propiedades fisicoquímicas del sistema, del diámetro del distribuidor de la fase gas y del diámetro de columna en reactores de burbujeo trifásicos.

El sistema aire-agua se consideró para la obtención de la velocidad de gas crítica a condiciones de temperatura ambiente y presión atmosférica. Luo H., Muthanna H. y Al-Dahhan, (2008b) mencionan que para disminuir los efectos de pared, de la mala distribución del líquido y, en consecuencia, obtener una operación más estable en la distribución del tamaño de burbuja y en la eficiencia de transferencia de masa del gas al líquido se deben considerar razones de altura de columna a diámetro, H/D_c entre 10-12. Para reactores air-lift con circulación neumática interna se considero una relación de área del tubo concéntrico (tubo riser) al área de tubo externo (downcomer), A_r/A_D , de 1.

Con lo mostrado en la parte de arriba se obtuvieron las bases de diseño para la construcción de los reactores. La Figura A1 presenta el esquema técnico de un reactor de columna de burbujas de 3L que se utilizo para propagar el inóculo que se utilizó en el reactor de 20L en modo air-lift y modo de columna de burbujeo. La Figura A2 presenta el esquema técnico del reactor air-lift de 20L, el distribuidor de la fase gas para este sistema es como el que se muestra en la Figura A1. El reactor air-lift (Figura A2) tiene la funcionalidad de operar como columna de burbujeo, quitando las piezas que ensamblan el tubo coaxial (tubo draft) con el tubo concéntrico del sistema.

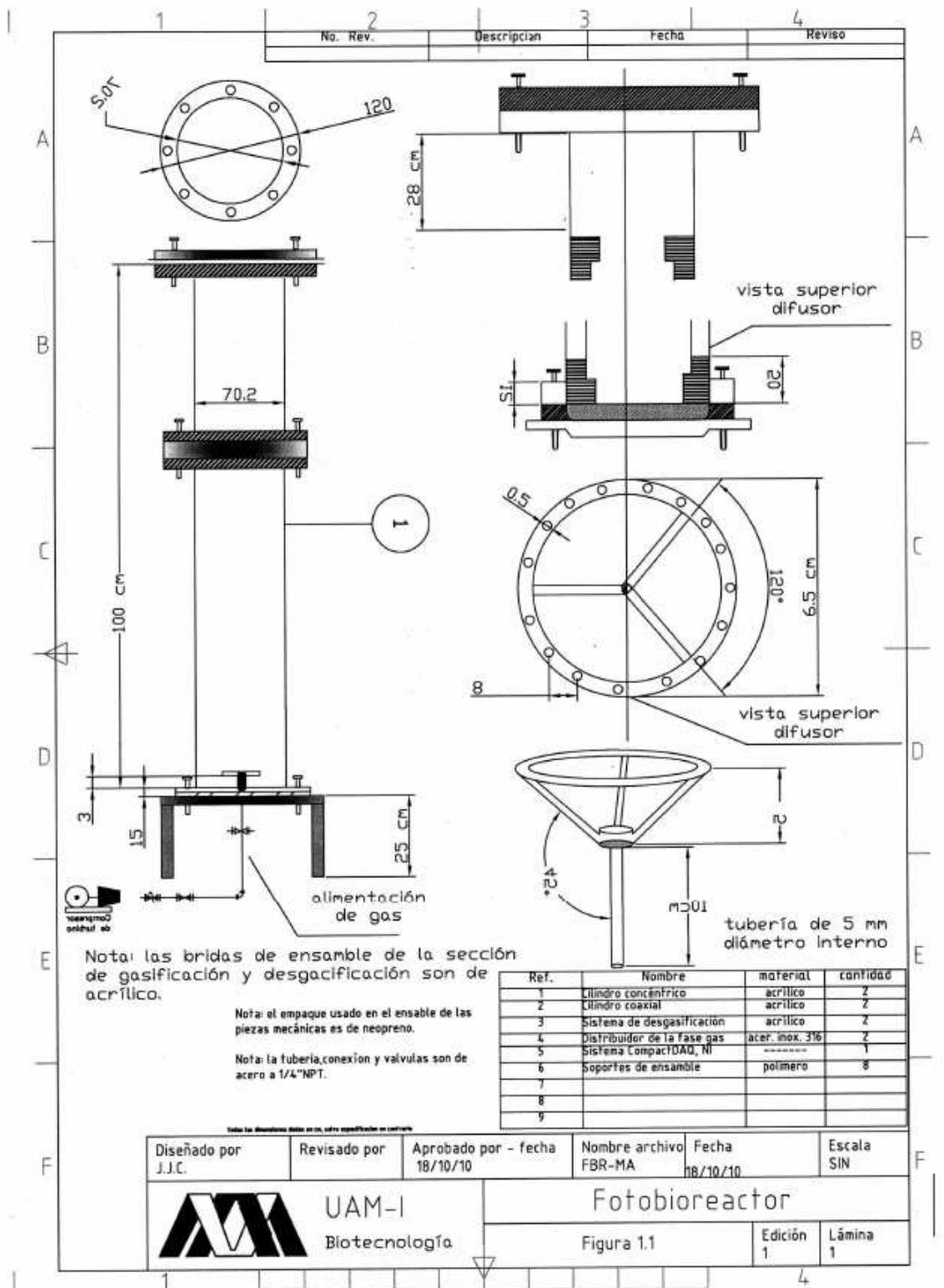


Figura A1. Esquema de diseño a detalle de la columna de burbujeo de 3L.

Apéndice A. Bases de diseño del fotobioreactor airlift-columna

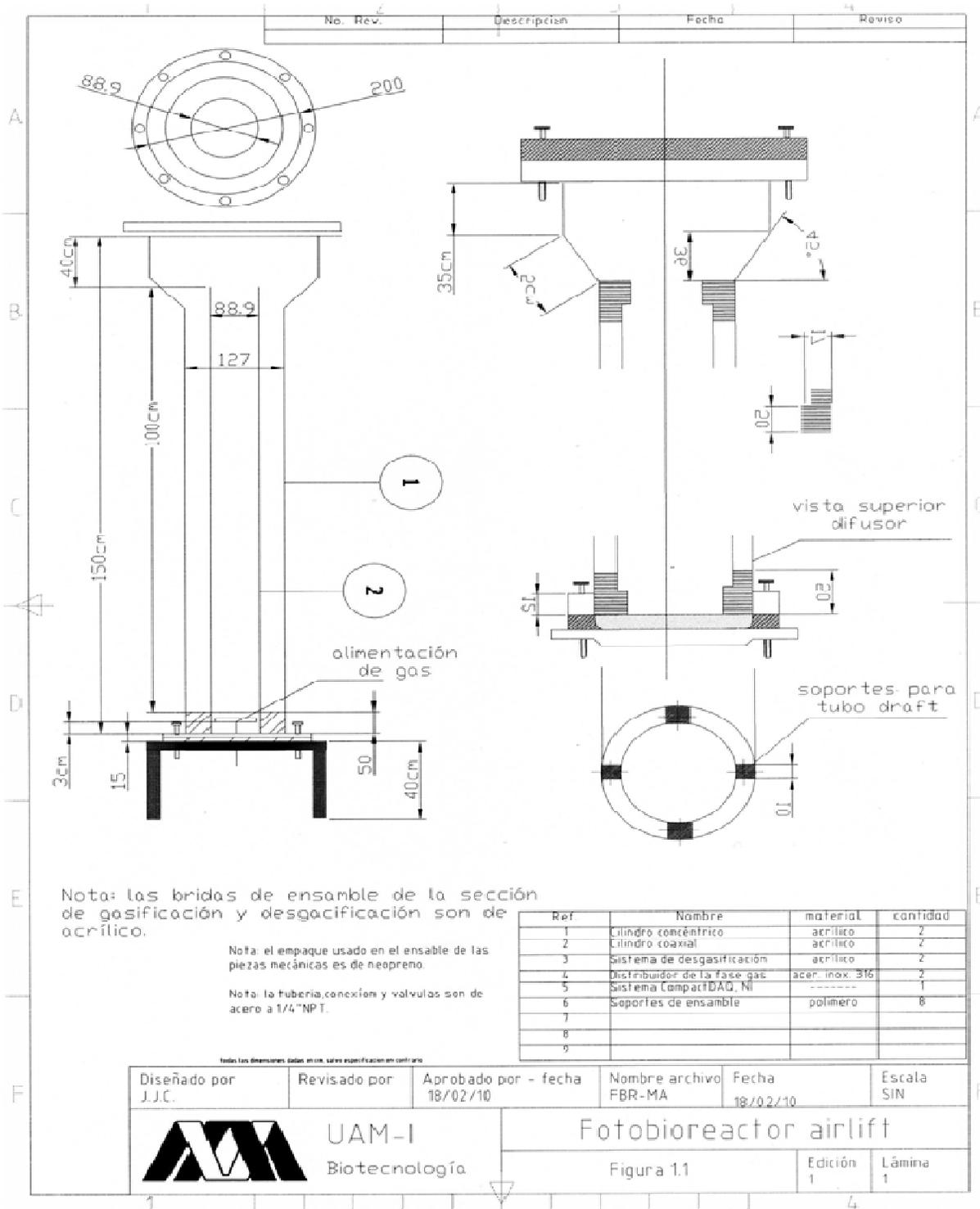


Figura A2. Esquema de diseño del fotobioreactor air-lift de 20L.

A continuación se presentan las Figuras del apéndice A para el Capítulo 4:

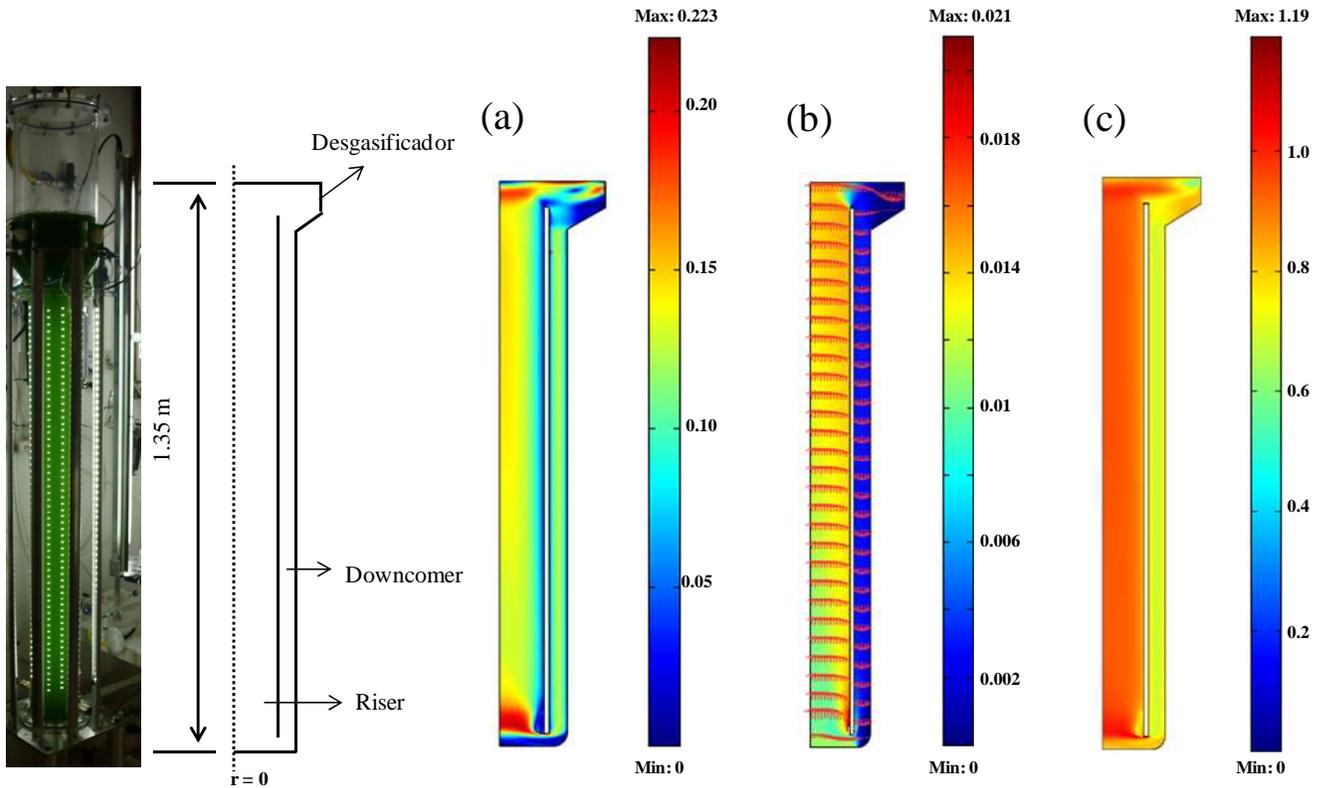


Figura A3 y A4. (a) Simulaciones del campo de velocidad de la fase líquida (m s^{-1}), (b) del volumen de retención de la fase gas en la geometría que representa al reactor air-lift, para una velocidad superficial de fase gas de 0.0104 m s^{-1} .

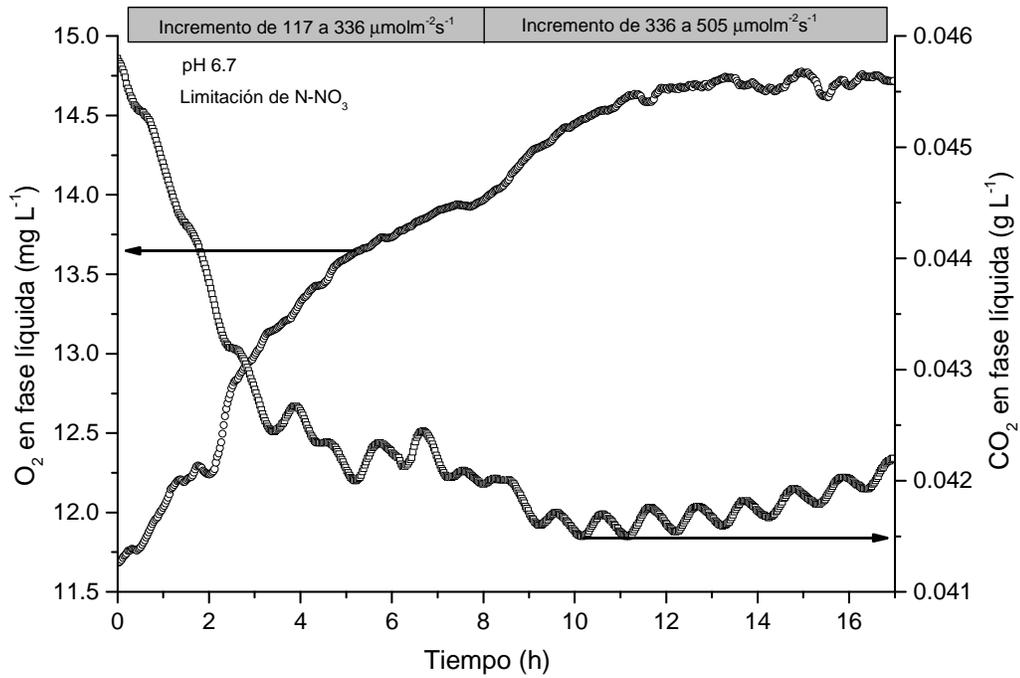


Figura A5. Respuesta dinámica de la concentración de O₂ para cambios en la intensidad de luz, durante condiciones de limitación de la fuente de nitrógeno. Para una concentración de 0.5 gL⁻¹.

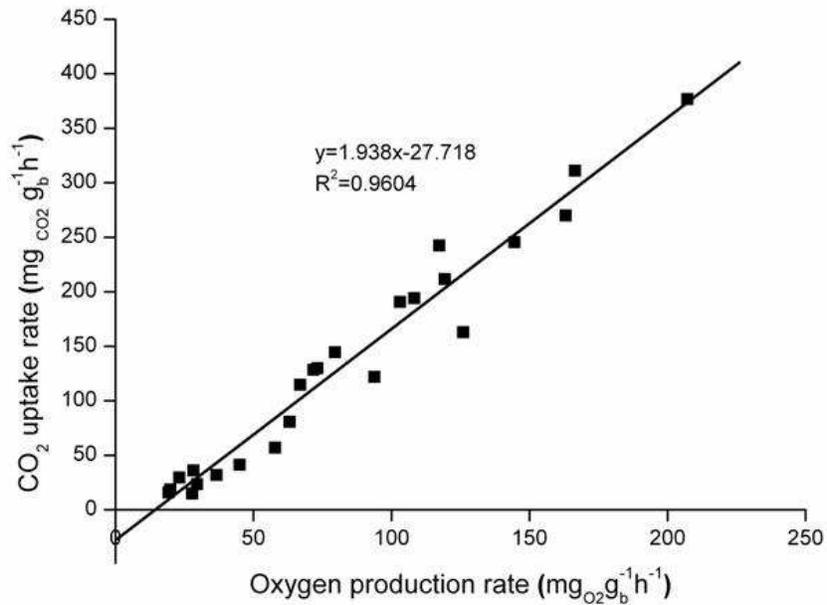


Figura A6. Relación de la tasa de consumo de CO₂ y de la tasa de producción de O₂.

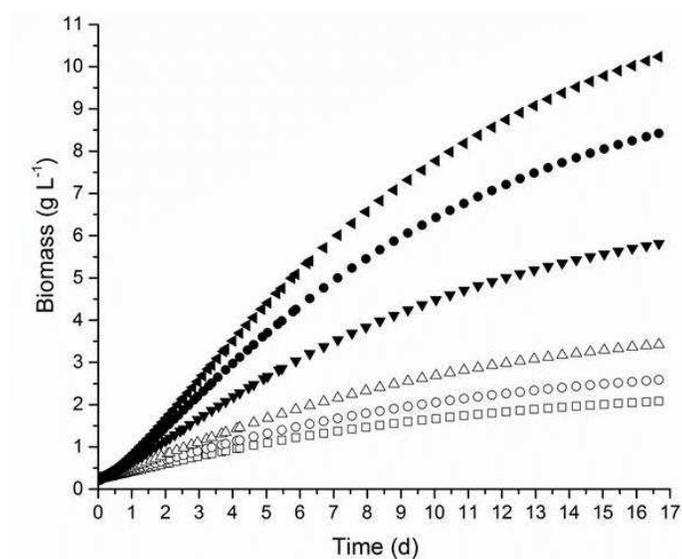


Figura A7. Estimación de la concentración de biomasa para intensidades de luz de 117(□), 150(○), 200(△), 335(▼), 500(●) y 610 $\mu\text{mol}^{-1}\text{s}^{-1}$ (◄).

Apéndice B. Simulaciones del flujo de burbuja en el reactor de placas

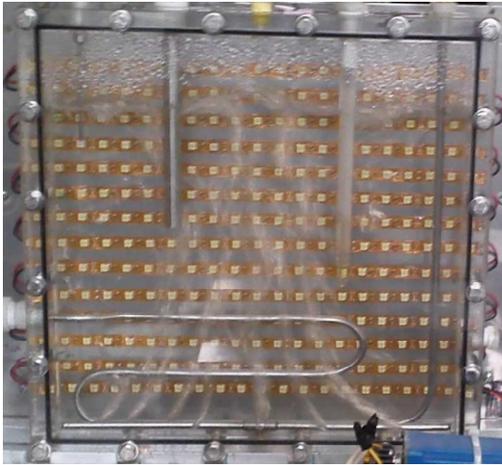
A continuación, se presentan las simulaciones del modelo hidrodinámico (COMSOL) que se obtuvieron en la geometría rectangular del reactor de placas. Con énfasis en las características de mezclado y en las perspectivas sobre la operación de reactores de placas.

Las características del mezclado se obtuvieron con un modelo de Difusión-Convección 2D, para condiciones abióticas; a partir de la curva de distribución de tiempos de residencia (DTR) obtenida por inyección de un trazador numérico (función de Dirac) en la fase líquida (NaOH 1 M). El perfil de superficie para el hold-up de la fase gas, h_G , la velocidad de la fase gas, u_G y la velocidad de la fase líquida, u_L , se estimaron de forma similar al trabajo presentado por Cabello y col., (2014), usando las ecuaciones de transporte de momentum para el flujo de burbujas y considerando una geometría rectangular (2D) (malla de 9700 elementos triangulares). La simulación se realizó a una velocidad superficial de gas de 0.008 m s^{-1} . Información más detallada del modelo de Dinámica de Fluidos Computacional se puede revisar en el Capítulo 6.

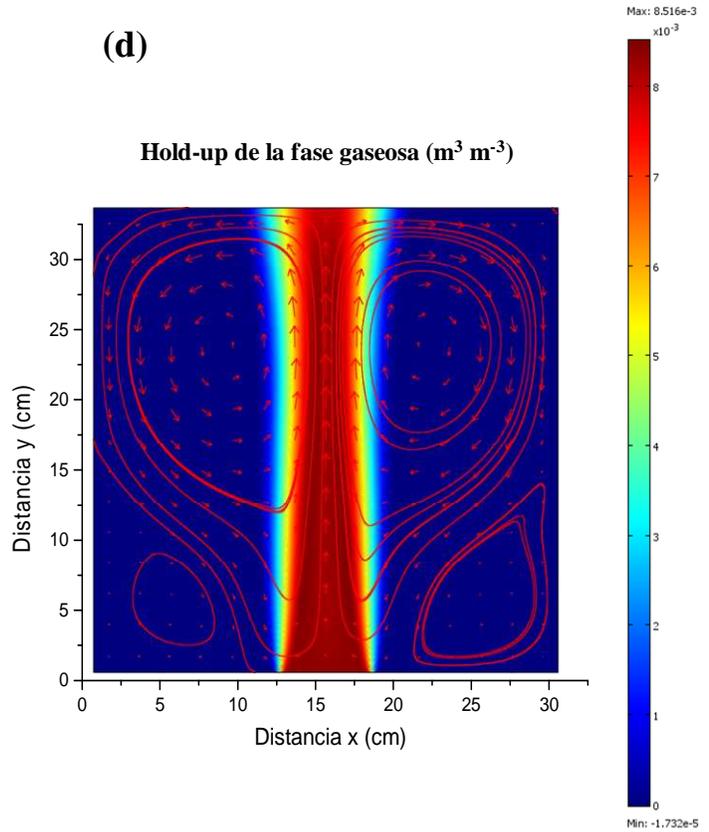
Las Figura B.1a,b,c muestran las simulaciones del campo de flujo que se obtuvieron en COMSOL. El movimiento de la fase líquida es por la fuerza de arrastre ejercida por el gas y la oscilación de la pluma de burbujas que se generan por la alimentación de la fase gas a través del difusor. En la Figura B1a se observa la pluma de burbujas experimental que se genera dentro del reactor y en las Figuras B1c y B1d las simulaciones del flujo de burbuja para la velocidad de la fase líquida y la velocidad de la fase gas, representadas por líneas de corriente y por el perfil de superficie de las variables locales. La representación fotográfica del reactor de placas muestra un movimiento oscilatorio de la fase burbuja, estos son los responsables de que en la columnas de burbujeo se tengan variaciones alrededor de una valor promedio en las variables, lo que se conoce como estado cuasi-estable. La Figura B1b muestra la variación de la fracción del gas en un plano ubicado a una altura de 1cm por encima del difusor, en esta se muestra el inicio de inestabilidades de la fracción del gas en un tiempo en el orden de

segundos, como producto del movimiento de la pluma de burbujas y a partir de este punto el estado cuasi-estable es alcanzado.

(a)



(d)



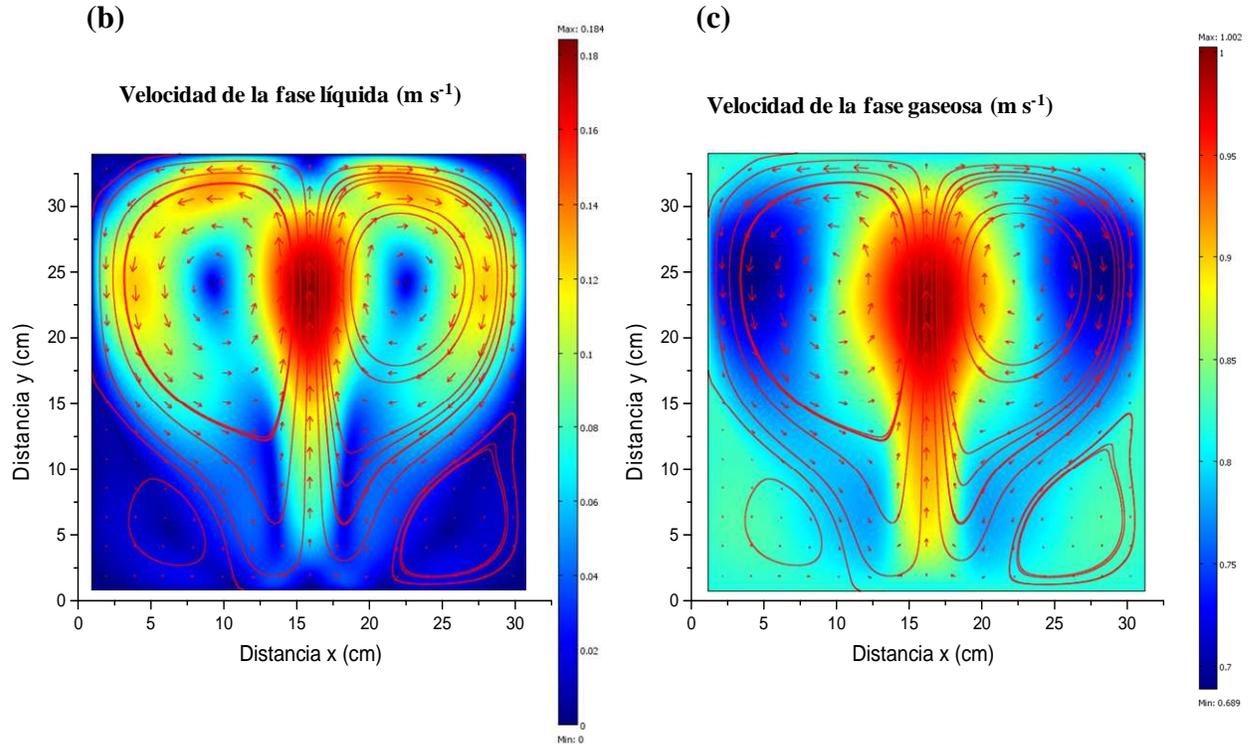


Figura B1. (a) Comportamiento real del movimiento inducido por la pluma de burbujas en el reactor de placas y las simulaciones de la velocidad local de líquido (b), velocidad local del gas (c) y el hold up de la fase gas (d), para una velocidad superficial de la fase gas de 0.008 m s^{-1} .

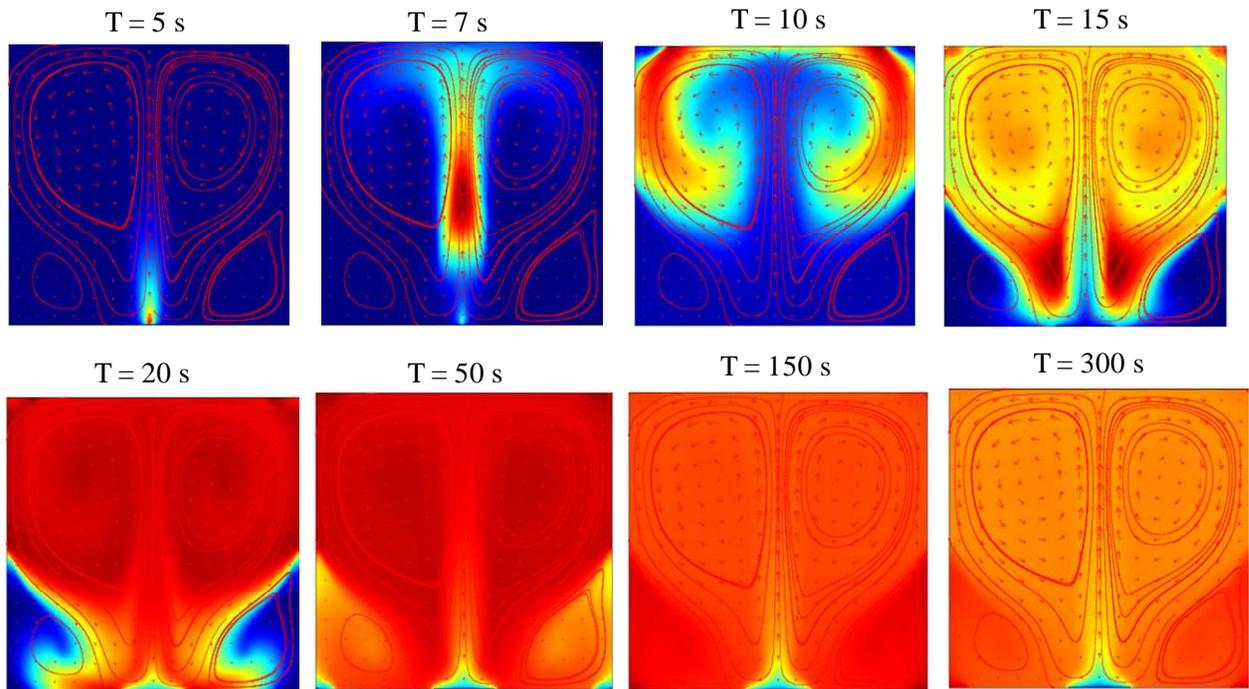


Figura B2. Simulaciones para la concentración de un trazador numérico (mol/m^3) en la fase líquida, para una velocidad superficial de la fase gas de 0.008 m s^{-1} .

Para evaluar el modelo de CFD en el reactor de placas se estimó el tiempo de mezcla. La Figura B2 muestra la concentración del trazador numérico, en diferentes tiempos, después de un pulso representado por una expresión matemática. Se utilizó el modelo de Difusión-Convección en COMSOL para simular el transporte de masa de un componente (NaCl). Se inyectó un pulso representado por una función de Dirac y se determinó la respuesta del trazador. Se consideró la concentración del trazador en un punto donde estaría ubicado un sensor para medir la conductividad eléctrica. El tiempo para alcanzar un mezclado homogéneo del trazador es de 150 s. El movimiento del trazador es principalmente en las paredes del reactor debido al movimiento de la pluma de burbujas. La información presentada en este apéndice podría ser parte de un trabajo a futuro donde se mejore las características de diseño en reactores de placas, para escalamiento del sistema y, acoplado lo anterior con las condiciones óptimas de operación aumentar la eficiencia del proceso de crecimiento de la microalga.