

# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

## Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas



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

### **“Construcción, diseño, análisis y puesta en funcionamiento de un foto-bio-reactor; modelado del campo radiante; de los fenómenos de transferencia y de la cinética de crecimiento de algas microscópicas de interés tecnológico”.**

Heinrich, Josué Miguel.

Director de Tesis: Irazoqui, Horacio A.

Grupo de Innovación en Ingeniería de Bioprocesos, GiiB.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Cátedra de Operaciones y Procesos Biotecnológicos. FBCB - UNL.

<sup>2</sup> Grupo de Operaciones y Procesos Biotecnológicos. INTEC - CONICET y UNL.



# Agradecimientos

---

Quiero expresar mi gratitud a mi director, el Prof. Horacio Irazoqui y a mis compañeros de laboratorio Lic. Ignacio Niizawa y Lic. Fausto Botta. A mi familia. A mis amigos. Compañeros de carrera. Miembros de la cátedra de Operaciones y Procesos. A los Sres. Ramón Saavedra, Antonio Negro y Gerardo Rintoul. A los miembros del jurado. A la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral (FBCB- UNL). Al Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC). Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

A todos ustedes, muchas gracias.



# Índice

---

<b>Resumen</b>	<b>vii</b>
<b>Abstract</b>	<b>ix</b>
<b>Símbolos y Abreviaturas</b>	<b>xi</b>
<b>Introducción</b>	<b>1</b>
(1) Microalgas	3
(2) Fotosíntesis en microalgas	4
(3) Usos y aplicaciones de las microalgas	10
(4) Microalgas como fuente de aceite para la producción de biodiesel.	14
(5) Cultivo de microalgas	16
(6) Foto-bio-reactores.	17
<b>Objetivos.</b>	<b>23</b>
(1) Objetivo General	25
(2) Objetivos Específicos	27
<b>Capítulo 1: Diseño y construcción del foto-bio-rector.</b>	<b>29</b>
(1) Introducción.	31
(2) Diseño y construcción del FBR.	32
(3) Sistema difusor de aire y tabicado del reactor.	34
(4) Lámpara fluorescente: emisión isotrópica y espectro de emisión.	35
(5) Conclusiones	36
<b>Capítulo 2: Régimen de mezclado en el foto-bio-rector.</b>	<b>39</b>
(1) Introducción.	41
(2) Procedimiento experimental.	45
(3) Modelo de flujo.	46
(4) Programa de Optimización: Algoritmo Genético	49
(5) Resultados y Discusión.	52
(6) Modelo del sistema difusor de aire.	55
(7) Conclusiones	62
<b>Capítulo 3: Modelo fisicoquímico de los medios de cultivo.</b>	<b>63</b>
(1) Introducción.	65
(2) Determinación de la constante de Henry para el CO <sub>2</sub> .	68

(3) Modelado y simulación del medio BBM.	77
(4) Medio BBMU	93
(5) Conclusiones.	98
<b>Capítulo 4: La transferencia líquido - gas</b>	<b>101</b>
(1) Introducción.	103
(2) Transferencia de O <sub>2</sub> en el reactor.	104
(3) Transferencia de CO <sub>2</sub> en el reactor.	114
(4) Conclusiones	125
<b>Capítulo 5: Simulación del campo de energía radiante por el método de Monte Carlo</b>	<b>127</b>
(1) Introducción.	129
(2) Interpretación microscópica del campo de energía radiante.	132
(3) Simulación del campo de energía radiante mediante el método Monte Carlo.	135
(4) Conclusiones.	144
<b>Capítulo 6: Determinación de las propiedades ópticas de suspensiones de microalgas</b>	<b>145</b>
(1) Introducción	147
(2) Materiales y métodos.	151
(3) Procedimiento experimental: Transmitancia Directa, Difusa y Reflectancia Difusa.	153
(4) Simulación computacional del procedimiento experimental.	155
(5) Resultados de las determinaciones experimentales.	157
(6) Regresión de los coeficientes de absorción y dispersión de energía radiante.	160
(7) Conclusiones.	166
<b>Capítulo 7: Validación del método de simulación y de los parámetros ópticos.</b>	<b>167</b>
(1) Introducción	169
(2) Materiales y métodos.	171
(3) El Sistema Emisor-Detector de Energía Radiante.	172
(4) El espectro de emisión de la lámpara fluorescente.	173
(5) Modelo y simulación de la fuente de emisión.	175
(6) Validación del método de simulación del sistema emisor-detector de energía radiante.	178
(7) Validación experimental del método de simulación del campo de energía radiante.	179
(8) Conclusiones.	183
<b>Capítulo 8: Evolución del campo de energía radiante durante el cultivo de microalgas.</b>	<b>185</b>
(1) Introducción	187
(2) Materiales y métodos.	187
(3) Simulación del Campo de energía radiante dentro del foto-bio-rector.	188
(4) Resultados experimentales.	194

(5) Densidad de flujo de energía radiante.	196
(6) Velocidad volumétrica local de absorción de fotones.	202
(7) Función de distribución de velocidades volumétricas de absorción de fotones.	204
(8) Conclusiones.	208
<b>Capítulo 9: Cinética de propagación celular.</b>	<b>211</b>
(1) Introducción	213
(2) Materiales y métodos.	219
(3) Resultados experimentales.	220
(4) Mecanismo de reacción.	224
(5) Ajuste de parámetros.	228
(6) Conclusiones.	230
<b>Conclusiones.</b>	<b>231</b>
(1) Conclusiones Generales	233
(2) Perspectivas a Futuro	235
<b>Bibliografía.</b>	<b>237</b>
<b>Anexos.</b>	<b>249</b>
Anexo Capítulo 2.	251
Anexo Capítulo 3.	255
Anexo Capítulo 5.	257
Anexo Capítulo 6.	283
Anexo I Capítulo 7.	287
Anexo II Capítulo 7.	291
Anexo III Capítulo 7.	293
Anexo I Capítulo 8.	297
Anexo II Capítulo 8.	309





# Resumen

---

La biotecnología de microalgas ha adquirido gran importancia en los últimos años debido a la gran cantidad de productos de interés que pueden obtenerse a partir de su cultivo. Estos productos van desde la propia biomasa para consumo animal o humano, hasta productos extraídos de su estructura como triglicéridos (potenciales materias primas para la producción de biodiesel), carotenoides, proteínas, productos bio-activos utilizados por la industria farmacéutica, etc. Por otro lado, la gran variedad de especies de microalgas existentes y los desarrollos en la ingeniería genética y metabólica posicionan al cultivo de microalgas como una plataforma biotecnológica de gran potencial para la producción de diversos productos de interés tecnológico y/o comercial.

A pesar del gran desarrollo logrado en los últimos tiempos, existen aún numerosos problemas que son necesario resolver a fin de lograr una tecnología de cultivo eficiente y rentable. Con este trabajo, se busca abordar la resolución de cuestiones asociadas al análisis de los foto-bio-reactores en escala de laboratorio; principalmente en relación con el modelado del campo de energía radiante; el modelado de los fenómenos de transporte que ocurren dentro de los reactores; y, con la obtención de un modelo cinético que exprese la velocidad de crecimiento celular como una función de la disponibilidad de luz en el cultivo.

Los objetivos trazados intentan lograr el desarrollo de modelos que puedan utilizarse como base del diseño, optimización y cambio de escala de foto-bio-reactores. En tal sentido, se busca que los valores de los parámetros incluidos en el modelo y la funcionalidad del mismo con las diferentes variables sean invariantes e independientemente de la configuración de reactor utilizado.



# Abstract

---

The microalgae biotechnology has acquired great importance in recent years due to the large number of products of interest which may be obtained from its culture. These products range from biomass for animal or human consumption, to products extracted from its structure such as triglycerides (potential raw materials for biodiesel production), carotenoids, proteins, bio-active compounds used by the pharmaceutical industry, etc.. Moreover, due to the wide variety of existing microalgal species and the developments in genetic engineering and metabolic, microalgae have become a potential platform for the production of various products of technological interest.

Despite the great development achieved in recent times, there are still many problems that need to be solved in order to achieve a efficient cultivation technology. With this work, we seek to address the resolution of issues associated with the analysis of reactors at laboratory scale, mainly in relation to the modeling of radiant energy field, the modeling of the transport phenomena occurring within the reactors and obtaining a kinetic model that expresses the cell growth rate as a function of the light availability in the culture.

The objectives outlined try to achieve the development of models that can be used as a basis for the design, optimization and scaling-up of photo-bio-reactors. In this sense, it is intended that the values of the parameters included in the models and its functionality with the different variables of the system do not depend on the reactor configuration.



# **ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS**

---



## CAPÍTULO 1.

---

$D_E$	diámetro del vidrio exterior [mm]
$D_I$	diámetro del vidrio interior [mm]
$D_L$	diámetro de la lámpara [mm]
FBR	foto-bio-reactores
$H_L$	altura del medio de cultivo en el reactor [mm]
$H_R$	altura del reactor [mm]
$V_T$	volumen de medio de cultivo en el reactor [L]

## CAPÍTULO 2.

---

AG	Algoritmo Genético
$A_G$	área total de intercambio entre las burbujas residentes en el reactor y el medio líquido [cm <sup>2</sup> ]
$C_0$	concentración inicial de trazador en el pulso [gr L <sup>-1</sup> ]
$C_n(t)$	concentración de trazador para el tiempo $t$ en el $n$ -ésimo reactor de la serie
$\tilde{C}_n(\theta)$	transformada de Laplace de la función $C_n(t)$
$E(t)$	la función de distribución de tiempos de residencia de los elementos de trazador en cada uno de los $N$ reactores.
$\tilde{E}(\theta)$	transformada de Laplace de la función $E(t)$
FBR	foto-bio-reactores
$f_L^{(CB)}$	fracción del volumen ocupado por el líquido en las zonas del reactor con burbujas.
$g$	aceleración de la gravedad [m s <sup>-2</sup> ]
$G(r'_B)$	probabilidad acumulativa de que al escoger al azar una burbuja entre aquellas que residen en el reactor, la misma tenga radio $r'_B$ en el rango $0 < r'_B < r_B$ .
$H_L$	altura del líquido dentro del reactor [mm]
$H(x)$	función escalón de Heaviside
$lpm$	litros por minuto [L min <sup>-1</sup> ].
$N$	número de reactores que componen la serie de $N$ - reactores
$N_T$	número total de burbujas residentes en el reactor [burbujas]

- $N(r_B)$  número de burbujas presentes en el medio considerando únicamente aquellas burbujas con radio  $r'_B$  incluido en el rango  $0 < r'_B < r_B$
- $n(r_B)$  función de distribución de número de burbujas residentes en el medio de cultivo en función de su radio  $r_B$  [burbujas  $\text{mm}^{-1}$ ]
- $\dot{N}_T$  número total de burbujas que ingresan al reactor por unidad de tiempo [burbujas  $\text{min}^{-1}$ ]
- $\dot{N}(r_B)$  número de burbujas que ingresan al medio de cultivo considerando aquellas burbujas con radio  $r'_B$  en el rango  $0 < r'_B < r_B$  [burbujas  $\text{min}^{-1}$ ].
- $\dot{n}(r_B)$  función de distribución de número de burbujas que ingresan al medio en función de  $r_B$  [burbujas  $\text{min}^{-1} \text{mm}^{-1}$ ]
- $P(r_B)$  probabilidad acumulativa de que al escoger al azar una burbuja entre aquellas que salen del difusor, la misma tenga radio  $r'_B$  en el rango  $0 < r'_B < r_B$ .
- $p(r_B)$  función de distribución de burbujas con radio  $r_B$  que ingresan al medio por unidad de tiempo [burbujas  $\text{min}^{-1} \text{mm}^{-1}$ ]
- $Q_L$  caudal del líquido circulante entre los reactores que componen la serie [L  $\text{min}^{-1}$ ]
- $Q_A$  caudal de aire [L  $\text{min}^{-1}$ ]
- $Q(r_B)$  caudal volumétrico de aire considerando las burbujas con radios  $r'_B$  en el rango  $0 < r'_B < r_B$  [L  $\text{min}^{-1}$ ]
- $q(r_B)$  función de distribución de caudales en términos de  $r_B$  [L  $\text{min}^{-1} \text{mm}^{-1}$ ]
- $R_I$  radio del vidrio interior [mm]
- $R_E$  radio del vidrio exterior [mm]
- $r_B$  radio de las burbujas [mm]
- $\bar{r}_B$  radio promedio de las burbujas que salen del difusor [mm]
- $\bar{r}_{BR}$  el radio promedio de las burbujas residentes en el medio de cultivo [mm]
- SST Sólidos suspendido totales.
- $t_R$  residencia hidráulico [min]
- $V_T^{(l)}$  volumen total de medio de cultivo en el reactor [L]
- $V_G$  volumen total de las burbujas de gas retenidas en la fase líquida [L]
- $V_R$  volumen total de cada uno de los  $N$  reactores que componen la serie [L]
- vvm volumen de aire por minuto por volumen de medio de cultivo [ $\text{min}^{-1}$ ]
- $\bar{v}_L^{SB}$  velocidad lineal vertical promedio del líquido en la zona sin burbujas [ $\text{cm min}^{-1}$ ]
- $\bar{v}_L^{CB}$  velocidad lineal vertical promedio del líquido en la zona con burbujas [ $\text{cm min}^{-1}$ ]
- $V(r_B)$  volumen de una burbujas con radio  $r_B$  [L]
- $v_T(r_B)$  velocidad terminal de ascenso de una burbuja de radio  $r_B$  en un líquido en reposo [ $\text{cm s}^{-1}$ ]



$v_B(r_B)$	velocidad con la cual una burbuja de radio $r_B$ se mueven dentro de un líquido en movimiento [cm s <sup>-1</sup> ]
$\delta(t)$	función delta de Dirac.
$\theta$	variable de Laplace asociada a la variable tiempo $t$ .
$\sigma$	tensión superficeial [mN m <sup>-1</sup> ]
$\rho_L$	densidad del líquido [Kgr m <sup>-3</sup> ]
$\rho_G$	densidad del gas [Kgr m <sup>-3</sup> ]

### CAPÍTULO 3.

---

$A_i^j$	$i$ -esimo parámetro para la regresión de la constante $K_j$ de equilibrio de la reacción $j$ con la temperatura.
$a_i$	corresponde a la actividad del la especie $i$ ,
<i>BG-11</i>	Blue-Green Medium
<i>BBM</i>	Bold's Basal Medium
$C$	número de componentes de un sistema menos el de las reacciones químicas estequiométricamente independientes existente en las fases.
$F$	número de fases de un sistema
$H_{CO_2}$	Constante de Henry para el CO <sub>2</sub> .
$I$	fuerza iónica [mol L <sup>-1</sup> ]
$K_i$	constante de equilibrio para la reacción $i$ .
$k_i$	constante cinética de reacción para $i$ -esima racción.
$m_i$	concentración molal de la especie $i$ en la solución [mol Kg <sup>-1</sup> ].
$P$	presión [mmHg]
$PO$	presión osmótica [atm]
$p_i$	presión parcial de la especie $i$ en la fase gaseosa [mmHg]
$r_i$	velocidad de reacción para $i$ -esima racción.
$T$	temperatura [°K]
$v$	número de propiedades intensivas independientemente variables de un suistema
$z_i$	carga iónica de la especie $i$
$\gamma_i$	coeficiente de actividad para la especie $i$

---

## CAPÍTULO 4.

---

<i>AG</i>	Algoritmo Genético
<i>a</i>	área específica de intercambio entre las fases líquida y gaseosa [ $m^2 m^{-3}$ ]
<i>a<sub>B</sub></i>	área específica de intercambio entre el medio de cultivo y las burbujas [ $m^2 m^{-3}$ ]
<i>a<sub>C</sub></i>	área específica de intercambio entre el medio de cultivo y la cámara de aire [ $m^2 m^{-3}$ ]
<b>BBM</b>	Bold's Basal Medium
<i>c<sub>A,i</sub></i>	concentración del componente <i>A</i> en la interfase gas-líquido [ $\text{mol L}^{-1}$ ].
<i>c<sub>A,l</sub></i>	concentración del componente <i>A</i> en la fase líquida [ $\text{mol L}^{-1}$ ]
<b>FBR</b>	foto-bio-reactor
<i>J<sub>A,g</sub></i>	flujo a del componente <i>A</i> a través de la película gaseosa
<i>J<sub>A,l</sub></i>	flujo a del componente <i>A</i> a través de la película líquida
<i>K<sub>H</sub></i>	Constante de Henry para el componente <i>A</i> .
<i>k<sub>g</sub></i>	coeficiente de transferencia de masa del componente <i>A</i> en la película gaseosa
<i>k<sub>l</sub></i>	coeficiente de transferencia de masa del componente <i>A</i> en la película líquida
<i>lpm</i>	litros por minuto.
<i>m<sub>i</sub></i>	concentración molal instantánea del componente <i>i</i> en el medio de cultivo
<b>PSII</b>	foto-sistema II
<i>p<sub>A,i</sub></i>	presión parcial del componente <i>A</i> en la interfase líquido-gas [mmHg]
<i>p<sub>A</sub></i>	presión parcial del componente <i>A</i> en la fase gaseosa [mmHg].
<i>p<sub>i</sub><sup>C</sup></i>	presión parcial instantánea del componente <i>i</i> en la cámara [mmHg]
<i>p<sub>i</sub><sup>B</sup></i>	presión parcial del componente <i>i</i> en las burbujas [mmHg]
<i>Q<sub>A</sub></i>	caudal de aire [ $\text{L min}^{-1}$ ]
<i>q<sub>A,i</sub></i>	velocidad de transferencia por unidad de volumen de medio de cultivo.
<i>R</i>	constante universal de los gases ideales.
<i>T</i>	temperatura [ $^{\circ}\text{K}$ ]
<i>t</i>	tiempo [min]
<i>V<sub>C</sub></i>	volumen de la cámara de aire sobre el medio de cultivo [L]

## CAPÍTULO 5.

---

$B(\hat{\underline{Q}}' \cdot \hat{\underline{Q}})$  función de fase

$c$  velocidad de la luz [ $\text{m s}^{-1}$ ]

$c_0$  velocidad de la luz en el vacío

$dF(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, \lambda)$  probabilidad diferencial: fracción de fotones dentro de un volumen elemental alrededor de la posición  $\underline{r}$ , que se desplazan en la dirección  $\hat{\underline{Q}}$ , y que poseen longitudes de onda  $\lambda$ .

$E(S, \hat{\underline{Q}}, \lambda)$  energía radiante monocromática.

$e(\underline{r})$  densidad local de energía radiante alrededor de la posición  $\underline{r}$ , incluyendo todas las longitudes de onda  $\lambda$ .

$e_\lambda(\underline{r})$  densidad local de energía radiante de los fotones con longitud de onda comprendida en el intervalo entre  $\lambda$  y  $\lambda + d\lambda$ .

$\hat{e}_i$  vector unitario

FBR foto-bio-reactor.

$f(\hat{\underline{Q}}, \lambda / \underline{r})$  función de **distribución de probabilidad condicional** de que un fotón de longitud de onda  $\lambda$  se mueva en la dirección  $\hat{\underline{Q}}$ , dado por cierto el hecho de que el fotón se encuentra en la posición  $\underline{r}$ .

$h$  constante de Planck

$L_\lambda(\underline{r}, \hat{\underline{Q}})$  intensidad de radiación en la posición  $\underline{r}$ , con dirección  $\hat{\underline{Q}}$  y longitud de onda  $\lambda$ .

$n_p(\underline{r})$  concentración de fotones alrededor de la posición  $\underline{r}$ ; incluyendo todas las direcciones  $\hat{\underline{Q}}$  y longitudes de onda  $\lambda$  posibles [ $\mu\text{mol de fotones L}^{-1}$ ].

$n_p(\underline{r}, \lambda)$  concentración de fotones que, encontrándose alrededor de la posición  $\underline{r}$ , tienen longitud de onda comprendida en el intervalo entre  $\lambda$  y  $\lambda + d\lambda$ ; incluyendo todas las direcciones  $\hat{\underline{Q}}$  posibles [ $\mu\text{mol de fotones L}^{-1} \text{nm}^{-1}$ ].

$n_p(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, \lambda)$  concentración de fotones que, encontrándose alrededor de la posición  $\underline{r}$ , se desplazan en la dirección  $\hat{\underline{Q}}$  contenida en  $d^{(2)}\hat{\underline{Q}}$  y que tienen longitud de onda comprendida en el intervalo entre  $\lambda$  y  $\lambda + d\lambda$  [ $\mu\text{mol de fotones L}^{-1} \text{nm}^{-1} \text{sr}^{-1}$ ].

$P(A)$  probabilidad de absorción del fotón

$P(D)$  probabilidad de dispersión del fotón

$P(NA, ND)$  probabilidad de que no se produzcan ni absorción ni dispersión del fotón

$\underline{q}_\lambda(\underline{r}, t)$  Vector Densidad de Flujo Radiativo Espectral Neto

$\underline{r}$  vector posición

$S$  distancia de movimiento del fotón.

$s_{LM}$  camino libre medio

$T$  temperatura

$t$  tiempo.

$\phi$  ángulo azimutal

$\mu$   $\cos \theta$

$\theta$  ángulo polar.

$\lambda$  longitud de onda [nm]

$\underline{\hat{\Omega}}$  dirección de movimiento

$\alpha$  número fraccionario, tal que  $0 < \alpha < 1$

$\alpha_\lambda$  coeficiente espectral de absorción de energía radiante

$\xi_\lambda$  coeficiente espectral de dispersión de energía radiante

$\eta_i$  índice de refracción de medio  $i$

$\delta_i$  número aleatorio, cumple la condición  $0 \leq \delta_i \leq 1$

## CAPÍTULO 6.

---

$B\left(\underline{\hat{\Omega}}' \cdot \underline{\hat{\Omega}}\right)$  función de fase

$C_i$  coeficientes del  $i$ -ésimo polinomio de la expansión en serie de la función de fase

$L_0$  cantidad de energía emitida por la fuente de radiación.

$L_{NN}$  cantidad de energía registrada por el detector en la medición T-NN

$L_{SE}$  cantidad de energía registrada por el detector en la medición T-SE

$P(A)$  probabilidad de absorción del fotón

$P(D)$  probabilidad de dispersión del fotón

$P(NA, ND)$  probabilidad de que no se produzcan ni absorción ni dispersión del fotón

$RD$  reflectancia difusa

$SST$  Sólidos Suspending Totales

$TL$  transmitancia lineal

$TD$  transmitancia difusa

$T-NN$  transmitancia Normal-Normal

$T-SE$  transmitancia Semiesférica

$\alpha_\lambda$  coeficiente espectral de absorción de energía radiante [ $\text{mm}^{-1}$ ]

$\alpha_\lambda^{chl}$  coeficiente específico espectral de absorción [ $\text{L mgr}^{-1} \text{mm}^{-1}$ ]

$\beta_\lambda$  coeficiente de extinción lineal [ $\text{mm}^{-1}$ ]

$\xi_\lambda$  coeficiente espectral de dispersión de energía radiante [ $\text{mm}^{-1}$ ]

$\xi_\lambda^{DW}$  coeficiente específico espectral de dispersión [ $\text{L gr}^{-1} \text{mm}^{-1}$ ]

$\Delta S$  distancia [mm]

$\hat{\underline{\Omega}}$  dirección de movimiento

$\phi$  ángulo azimutal

$\mu_0$   $\cos \theta$

$\theta$  ángulo polar.

## CAPÍTULO 7.

---

$B\left(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}\right)$  función de fase

$BG-11$  Blue-Green Medium

$c$  velocidad de la luz [ $\text{m s}^{-1}$ ]

$C_i$  coeficientes del  $i$ -ésimo polinomio de la expansión en serie de la función de fase

$dG(\lambda)$	probabilidad diferencial de que un fotón escogido al azar entre aquellos emitidos desde cualquier superficie elemental de la lámpara tenga una longitud de onda incluida entre $\lambda$ y $\lambda + d\lambda$ .
<i>FBR</i>	Foto-bio-reactor
$G(\lambda)$	probabilidad acumulativa de que un fotón escogido al azar entre aquellos emitidos desde cualquier superficie elemental de la lámpara tenga una longitud de onda incluida entre 0 y $\lambda$ .
$h$	constante de Planck.
$L_{\lambda}^L$	Intensidad de emisión de la lámpara [ $\text{KJ m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{mm}^{-1} \text{sr}^{-1}$ ]
$n_p^L(\lambda)$	función de distribución de probabilidades de que un fotón emitido desde la lámpara tenga longitud de onda $\lambda$ [ $\mu\text{mol de fotones s}^{-1} \text{nm}^{-1}$ ]
<i>SST</i>	sólidos suspendidos totales [ $\text{gr L}^{-1}$ ]
$S_D$	señal del detector
$\phi_D$	ángulo acimutal para caracterizar la posición del detector
$\theta_D$	ángulo polar para caracterizar la posición del detector
$\xi_{\lambda}^{DW}$	coeficiente específico espectral de dispersión [ $\text{L gr}^{-1} \text{mm}^{-1}$ ]
$\alpha_{\lambda}^{chl}$	coeficiente específico espectral de absorción [ $\text{L mgr}^{-1} \text{mm}^{-1}$ ]
$\lambda$	longitud de onda
$\kappa$	constante de normalización
$\delta_{\lambda}$	número aleatorio generado al azar
$\hat{\underline{Q}}$	dirección de movimiento del fotón
$\phi$	ángulo azimutal
$\mu$	$\cos \theta$
$\theta$	ángulo polar.

## CAPÍTULO 8.

---

*AG* Algoritmo Genético

BMMU Bold's Basal Medium, modificado reemplazando nitrato por urea como fuente de nitrógeno

$\underline{B}$  Vector para determinar la posición de la burbuja.

$B\left(\underline{\hat{\Omega}}' \cdot \underline{\hat{\Omega}}\right)$  función de fase

$CER$  Campo de energía radiante

$c$  velocidad de la luz [ $m\ s^{-1}$ ]

$\hat{e}_i$  vectores unitarios accesorios

$FBR$  foto-bio-reactor

$G\left(r_{VIS}^{abs}, t\right)$  probabilidades acumulativa para la velocidad volumétrica local  $r_{VIS}^{abs}$  de absorción de fotones el rangos  $400 - 700nm$ .

$g\left(r_{VIS}^{abs}, t\right)$  función de distribución de probabilidades para la velocidad volumétrica local  $r_{VIS}^{abs}$  de absorción de fotones el rangos  $400 - 700nm$  en el reactor

$H$  variable *altura* para fijar una posición en el reactor en coordenadas cilíndricas. [mm]

$H_L$  altura del medio de cultivo en el reactor [mm]

$H_R$  altura total del reactor [mm]

$MC$  Monte Carlo

$N_T$  número total de burbujas residentes en el reactor [burbujas]

$\dot{N}_T$  número total de burbujas que ingresan al reactor por unidad de tiempo [burbujas  $min^{-1}$ ]

$\hat{n}$  vector unitario normal a la superficie

$n_p(\underline{r})$  concentración de fotones alrededor de la posición  $\underline{r}$ ; incluyendo todas las direcciones  $\underline{\hat{\Omega}}$  y longitudes de onda  $\lambda$  posibles [ $\mu mol$  de fotones  $L^{-1}$ ].

$n_p(\underline{r}, \lambda)$  concentración de fotones que, encontrándose alrededor de la posición  $\underline{r}$ , tienen longitud de onda comprendida en el intervalo entre  $\lambda$  y  $\lambda + d\lambda$ ; incluyendo todas las direcciones  $\underline{\hat{\Omega}}$  posibles [ $\mu mol$  de fotones  $L^{-1} nm^{-1}$ ].

$n_p(\underline{r}, \underline{\hat{\Omega}}, \lambda)$  concentración de fotones que, encontrándose alrededor de la posición  $\underline{r}$ , se desplazan en la dirección  $\underline{\hat{\Omega}}$  contenida en  $d^{(2)}\underline{\hat{\Omega}}$  y que tienen longitud de onda comprendida en el intervalo entre  $\lambda$  y  $\lambda + d\lambda$  [ $\mu mol$  de fotones  $L^{-1} nm^{-1} sr^{-1}$ ].

$n_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{\Omega}}, t)$  concentración de fotones  $n_p(\underline{r}, \underline{\hat{\Omega}}, \lambda)$ ; indicando su dependencia indirecta con el tiempo.

$P(B)$  probabilidad de encuentro fotón - burbuja

$P(r_B)$  función de distribución de burbujas con radio  $r_B$  que ingresan al medio por unidad de tiempo [burbujas  $min^{-1} mm^{-1}$ ]

$Q_A$  caudal de aire [ $L\ min^{-1}$ ]

- $q_{\lambda}(\underline{r}, t)$  densidad local de flujo de fotones  $\lambda$  en la posición  $\underline{r}$  en dirección radial [ $\mu\text{moles de fotones mm}^{-2} \text{s}^{-1} \text{nm}^{-1}$ ]
- $q_{VIS}^L$  densidad de flujo de fotones-Vis ( $400 < \lambda < 700\text{nm}$ ) sobre la superficie de emisión de la lámpara [ $\mu\text{moles de fotones mm}^{-2} \text{s}^{-1}$ ]
- $q_{VIS}(\underline{r}, t)$  densidad local de flujo de fotones-Vis ( $400 < \lambda < 700\text{nm}$ ) en la posición  $\underline{r}$  en dirección radial [ $\mu\text{moles de fotones mm}^{-2} \text{s}^{-1}$ ]
- $q_{540}(\underline{r}, t)$  densidad local de flujo de fotones-540 ( $535 < \lambda < 545\text{nm}$ ) en la posición  $\underline{r}$  en dirección radial [ $\mu\text{moles de fotones mm}^{-2} \text{s}^{-1}$ ]
- $q_{450}(\underline{r}, t)$  densidad local de flujo de fotones-450 ( $445 < \lambda < 455\text{nm}$ ) en la posición  $\underline{r}$  en dirección radial [ $\mu\text{moles de fotones mm}^{-2} \text{s}^{-1}$ ]
- $q_{PS}(\underline{r}, t)$  densidad local de flujo de fotones-PS ( $400 < \lambda < 500\text{nm}$  y  $600 < \lambda < 700\text{nm}$ ) en la posición  $\underline{r}$  en dirección radial [ $\mu\text{moles de fotones mm}^{-2} \text{s}^{-1}$ ]
- $R$  variable *radio* para fijar una posición en el reactor en coordenadas cilíndricas [mm].
- $R_L$  radio de la lámpara [mm]
- $R_{VI}$  radio interno del reactor [mm]
- $R_{VE}$  radio externo del reactor [mm]
- $r_x$  velocidad de crecimiento [ $\text{gr L}^{-1} \text{d}^{-1}$ ]
- $\underline{r}$  vector posición.
- $r_B$  radio de una burbuja en el medio de cultivo [mm]
- $\bar{r}_B$  radio promedio de las burbujas que salen del difusor [mm]
- $\bar{r}_{BR}$  radio promedio de las burbujas residentes en el medio de cultivo [mm]
- $r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t)$  velocidad volumétrica local de absorción de fotones  $\lambda$  en la posición  $\underline{r}$  [ $\mu\text{moles de fotones L}^{-1} \text{s}^{-1} \text{nm}^{-1}$ ]
- $r_{VIS}^{abs}(\underline{r}, t)$  velocidad  $r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t)$  considerando el rango  $400 < \lambda < 700\text{nm}$ , en la posición  $\underline{r}$  [ $\mu\text{moles de fotones L}^{-1} \text{s}^{-1}$ ]
- $r_{PS}^{abs}(\underline{r}, t)$  velocidad  $r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t)$  considerando el rango  $400 < \lambda < 500\text{nm}$  y  $600 < \lambda < 700\text{nm}$ , en la posición  $\underline{r}$  [ $\mu\text{moles de fotones L}^{-1} \text{s}^{-1}$ ]
- $r_{540}^{abs}(\underline{r}, t)$  velocidad  $r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t)$  considerando el rango  $535 < \lambda < 545\text{nm}$ , en la posición  $\underline{r}$  [ $\mu\text{moles de fotones L}^{-1} \text{s}^{-1}$ ]
- $r_{450}^{abs}(\underline{r}, t)$  velocidad  $r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t)$  considerando el rango  $445 < \lambda < 455\text{nm}$ , en la posición  $\underline{r}$  [ $\mu\text{moles de fotones L}^{-1} \text{s}^{-1}$ ]
- $\bar{r}_{VIS}(t)$  velocidad volumétrica promedio de absorción de fotones [ $\mu\text{moles de fotones L}^{-1} \text{s}^{-1}$ ]



- $SST$  Sólidos Suspendidos Totales [ $\text{gr L}^{-1}$ ]
- $s_{LM}$  camino libre medio [mm]
- $V_R$  volumen del reactor [Lts]
- $V(r_{450}^{abs}, t)$  volumen del reactor con  $r_{450}^{abs}$  en el rango  $0 < r_{450}^{abs} < r_{450}^{abs}$  [Lts].
- $vvm$  volumen de aire administrado por volumen de medio de cultivo por minuto [ $\text{min}^{-1}$ ]
- $v_B(r_B)$  velocidad con la cual una burbuja de radio  $r_B$  se mueven en un líquido en movimiento [ $\text{cm s}^{-1}$ ]
- $x$  concentración de biomasa [ $\text{gr L}^{-1}$ ]
- $\alpha_\lambda$  coeficiente espectral de absorción de energía radiante [ $\text{mm}^{-1}$ ]
- $\alpha_\lambda^{chl}$  coeficiente específico espectral de absorción [ $\text{L mgr}^{-1} \text{mm}^{-1}$ ]
- $\hat{\underline{\Omega}}$  vector unitario que caracteriza la dirección de movimiento del fotón
- $\lambda$  longitud de onda [nm]
- $\Delta S$  magnitud de los pasos sucesivos en que avanza el fotón [mm].
- $\phi_R$  variable *ángulo acimutal* para fijar una posición en el reactor en coordenadas cilíndricas
- $\theta_G$  es la fracción de gas en la zona sobre el difusor.
- $\mu$  velocidad intrínseca de crecimiento [ $\text{d}^{-1}$ ]
- $\mu_B$   $\cos \theta_B$
- $\delta_i$  número generado aleatoriamente
- $\theta_B$  ángulo polar formados entre la dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$  del fotón y el vector  $\hat{\underline{n}}$ .
- $\sigma_{VIS}^2(t)$  variancia en la distribución  $g(r_{VIS}^{abs}, t)$  de velocidades volumétricas de absorción de fotones [ $(\mu\text{moles de fotones L}^{-1} \text{s}^{-1})^2$ ]
- $\phi_B$  ángulo acimutal formados entre la dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$  del fotón y el vector  $\hat{\underline{n}}$

## CAPÍTULO 9.

---

- $BBMU$  Bold's Basal Medium modificado con urea
- $FBR$  foto-bio-rector
- $C_T$  concentración de carbono inorgánico total en el medio acuoso [ $\text{mol L}^{-1}$ ]

$g(r_{VIS}^{abs}, t)$  función de distribución de probabilidades para la velocidad volumétrica local  $r_{VIS}^{abs}$  de absorción de fotones el rangos  $400 - 700nm$  en el reactor

$MCC$  mecanismos de concentración de carbono

$PSI$  fotosistema I

$PSII$  fotosistema II

$r_x(t)$  velocidad de crecimiento celular [ $gr L^{-1} d^{-1}$ ]

$r_{VIS}^{abs}(r, t)$  velocidad volumétrica local de absorción de fotones-VIS, considerando el rango de longitudes de onda  $400 < \lambda < 700$ . [ $\mu moles de fotones s^{-1} mL^{-1}$ ]

$\bar{r}_{VIS}^{abs}$  velocidad volumétrica promedio de absorción de fotones-VIS, considerando el rango de longitudes de onda  $400 < \lambda < 700$ . [ $\mu moles de fotones s^{-1} L^{-1}$ ]

$R_{VIS}^{abs}$  velocidad volumétrica celular de absorción de fotones [ $\mu moles de fotones s^{-1} mL^{-1}$ ]

$SST$  sólidos suspendidos totales

$t$  tiempo [s]; [d]

$x(t)$  concentración de biomasa [ $gr L^{-1}$ ]

$\mu$  velocidad de crecimiento intrínseco [ $d^{-1}$ ]

# INTRODUCCIÓN

---

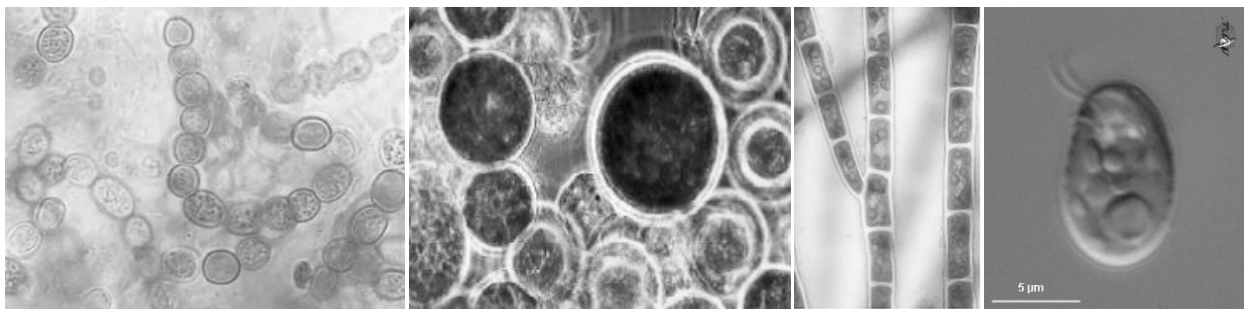


## (1) MICROALGAS.

---

Las microalgas fueron evolutivamente los primeros organismos con capacidad de realizar fotosíntesis y los principales agentes en la creación de las condiciones de la actual atmósfera terrestre. Son clave en el equilibrio planetario ya que la dinámica del dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) en el planeta está, en gran medida, determinada por ellas (son responsables del 50% de la fotosíntesis global). Las microalgas se encuentran principalmente en el agua (dulce o salada) pero pueden encontrarse en prácticamente cualquier ambiente del planeta, desde algunas montañas nevadas hasta en la superficie de rocas en desiertos (Spolaore y col. 2005; Sierra y col., 2007).

La ficología o algología es la disciplina que estudia las algas. El campo de la ficología es muy extenso: existe una enorme variedad de microalgas, abarcando una gran diversidad de géneros. El término microalgas incluye a especies con diferentes características metabólicas, fenotípicas y genotípicas. Más aún, con esa designación se encierra tanto a microalgas eucariotas como a cianobacterias (procariotas) (Olaizola, 2003). Esta diversidad en formas, tamaños y composiciones hace que las mismas tengan el potencial de ser utilizadas en una enorme cantidad de procesos que van desde la bio-remediación de aguas contaminadas hasta la producción de proteínas recombinantes por ingeniería genética (Borowitzka, 1992).



**Figura 1.1:** Micrografías de algunas especies de microalgas. (a) *Nostoc commune*. (b) *Chlorella pyrenoidosa*. (c) *Rhodothamniella floridula* Nägeli. (d) *Chroomona* sp..

En la mayoría de los casos actúan como el eslabón primario de la cadena alimenticia, produciendo materia orgánica a partir de  $\text{CO}_2$ , luz, agua y sales. Sin embargo las algas pueden ser autótrofas o heterótrofas. Si son autótrofas, utilizan compuestos inorgánicos como fuente de carbono; a su vez

pueden ser foto-autótrofas si utilizan la luz como fuente de energía o quimio-autótrofas cuando oxidan compuestos inorgánicos para obtener la energía. Si son heterótrofas, las algas utilizan compuestos orgánicos como fuente de carbono para el crecimiento. Algunas algas, particularmente las flageladas, son auxótrofas, requiriendo una pequeña cantidad de un compuesto orgánico para su crecimiento en el medio de cultivo; no como una fuente de energía, sino vitaminas, aminoácidos o factores de crecimiento. Algunas algas fotosintéticas son capaces de utilizar simultáneamente compuestos orgánicos suministrados en el medio de cultivo y luz como fuente de energía, en estos casos se utiliza la designación de mixotróficas (Cerón García y col., 2005).

Para la clasificación de las microalgas se utilizan distintos criterios, tales como tipos y combinaciones de los pigmentos fotosintéticos presentes; la naturaleza química de los productos de reserva y de la pared celular; los caracteres bioquímicos derivados de la citología y morfología de los organismos; etc. Las algas se agrupan en forma más general en cuatro grupos según la taxonomía propuesta por Lee Robert Edward (Lee, 2008):

- 1- Algas procariotas. Las cianobacterias son las únicas en este grupo
- 2- Algas eucariotas con cloroplastos rodeados por una doble membrana cloroplastídica.
- 3- Algas eucariotas con cloroplastos rodeados por una membrana adicional del retículo endoplasmático.
- 4- Algas eucariotas con cloroplastos rodeados por una doble membrana del retículo endoplasmático.

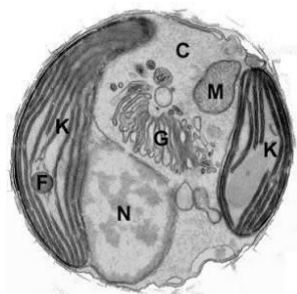
En base a estas y otras características pueden realizarse dentro de los mismos grupos distintas subdivisiones que escapan a los objetivos de esta tesis.

## **(2) FOTOSÍNTESIS EN MICROALGAS.**

---

A la hora de caracterizar a las algas se pueden distinguir dos tipos básicos de organización celular, las procariotas y eucariotas. La diferencia más notoria entre ambos tipos celulares es que las primeras carecen de organelas limitadas por membranas (plástidos, mitocondrias, núcleos, aparato de Golgi) (Nelson D.L. y col. 2004a; Madigan 2003). Excepto las cianobacterias, el resto de las microalgas son eucariotas. En microalgas eucariota la fotosíntesis se realiza en los cloroplastos. Los cloroplastos son un tipo especializado de plástidos, están limitados por una envoltura formada por dos membranas concéntricas que contienen una serie de vesículas llamadas tilacoides, en donde se encuentran

organizadas las clorofilas y demás estructuras celulares que convierten la energía luminosa en energía química. En el caso de cianobacterias, las vesículas tilacoidales se encuentran directamente en el citoplasma (Prasanna Mohanty y col, 2002).



**Figura 1.2:** (a) microfotografía electrónica de una fina sección del alga *Chrysochromulina*. N (Núcleo), C (citoplasma), K (cloroplasto), G (aparato de Golgi), F (grasas y aceites), M (mitocondria).

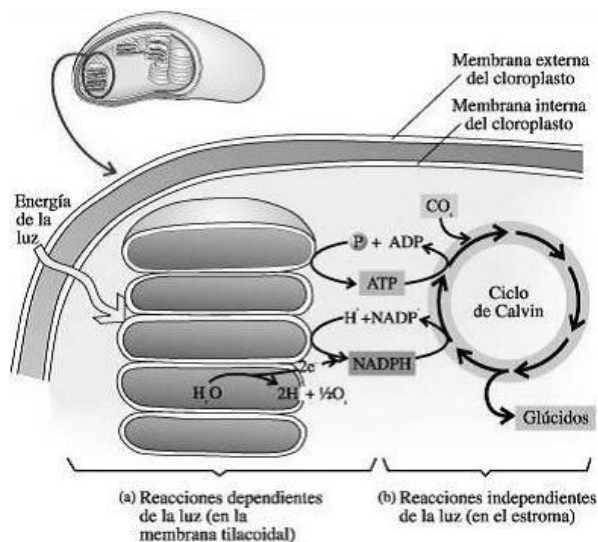
Durante el crecimiento fotosintético, la mayoría de las microalgas utilizan agua como fuente de electrones, luz como fuente de energía y  $\text{CO}_2$  como fuente de carbono. Antiguamente se dividió a la fotosíntesis en dos etapas: una etapa dependiente de la luz, llamada la etapa de las reacciones "lumínicas", y una etapa enzimática, independiente de la luz, llamada etapa de las reacciones "oscuras". Aunque las reacciones "oscuras" no requieren de la luz como tal y puedan ocurrir tanto en la luz como en la oscuridad, dependen de los productos químicos de las reacciones "lumínicas". Incluso, varias enzimas que controlan reacciones "oscuras" claves son reguladas indirectamente por la luz. Como resultado, estas designaciones han caído en desuso y están siendo reemplazados por vocablos que describen los procesos que ocurren durante cada etapa de la fotosíntesis: reacciones de captación de energía y reacciones de fijación del carbono (Nelson D.L. y col., 2004b).

En la primera etapa de la fotosíntesis, la luz es absorbida en las membranas tilacoidales de los cloroplastos por moléculas de clorofila, las cuales están compactadas de un modo especial en las membranas. La energía de la luz es usada para reducir una molécula de  $\text{NADP}^+$  y fosforilar una molécula de  $\text{ADP}$ . Luego,  $\text{ATP}$  y  $\text{NADPH}$  son utilizados en la segunda etapa de la fotosíntesis para reducir y fijar una molécula de  $\text{CO}_2$  en la síntesis de hidratos de carbono (Alberts y col, 2008).

## 2.1- Reacciones de captación de luz.

La generación de electrones en microalgas (al igual que en plantas superiores) comienza con la captación de fotones en estructuras especializadas llamadas *fotosistemas* (PSI y PSII) ubicadas en la

membrana de las tilacoides. Los PS consisten en tres partes principales: (a) el centro de reacción, (b) la antena central y (b) la antena periférica (Figura 2.2).(Heldt H.W., 2005a)

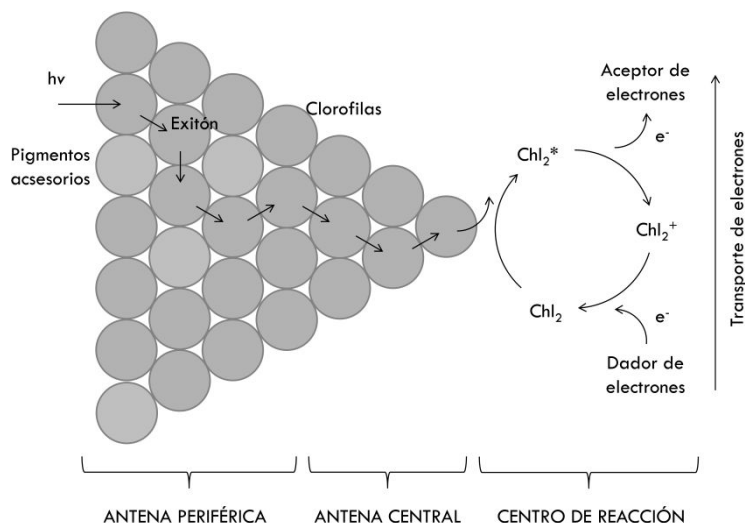


**Figura 2.1:** Esquema de las dos etapas implicadas en la fotosíntesis dentro de los cloroplastos. La etapa de captación de luz ocurre sobre las membranas de las vesículas tilacoidales. La fijación de dióxido de carbono se produce en el estroma de los cloroplastos.

La antena periférica está compuesta de clorofilas y otros pigmentos accesorios como carotenoides y ficobilinas. Se ubica rodeando a la antena central y es la parte más extensa del PS. La antena central rodea al centro de reacción y contiene principalmente clorofilas. En el centro de reacción se produce la separación fotoquímica de cargas. La disposición de las estructuras en los PS es de suma importancia en la absorción y canalización de la energía de los fotones hacia el centro de reacción. Cuando un fotón es absorbido la energía del mismo es transferida, de pigmento en pigmento, desde el lugar de absorción hacia el centro de reacción en forma de *exitón* (Nelson J, 2003), perdiendo irreversiblemente en cada transferencia parte de su energía, la cual se disipa como calor. Dentro de las antenas las clorofilas se ubican de manera tal que aquellas que absorben fotones (o exitones) de mayor energía (menor longitud de onda) se ubican en la zona más periférica del complejo. Esta disposición de los pigmentos asegura que la transferencia de energía se produzca en una sola dirección: hacia el centro de reacción. Así, las antenas actúan como un embudo, permitiendo una gran superficie de captación de fotones al servicio del centro de reacción. La extensión de la antena periférica puede variar de acuerdo a la disponibilidad de luz, cuando la luz es muy tenue las células aumentan la superficie de las antenas asegurando la captación de la luz necesaria. Por otro lado, cuando la intensidad de luz es muy elevada las células desensamblan la antena periférica de manera



tal que absorban energía radiante pero en forma desacoplada a las reacciones fotosintéticas. Esta estrategia es un mecanismo de protección frente a posibles daños por exposición a elevadas intensidades de luz.

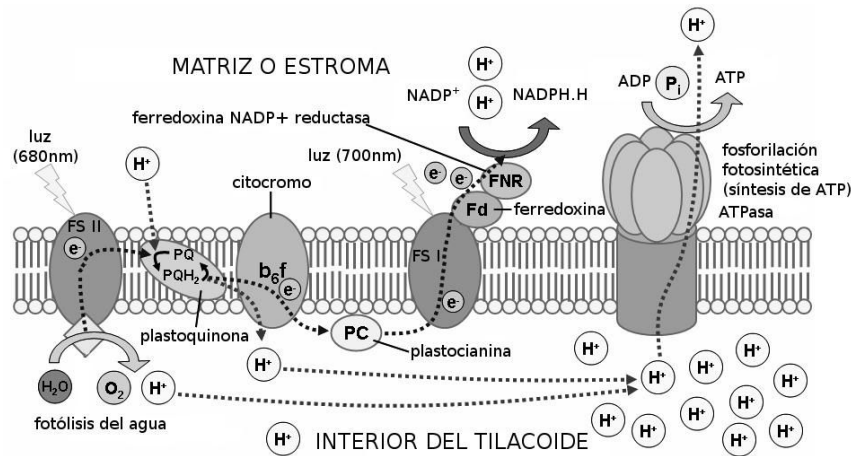


**Figura 2.2:** Esquema de la reacción de captación y transferencia de fotones en los fotosistemas. Los pares dador-aceptor de electrones son agua-plastoquinona en el *PSII*, y plastocianina-ferredoxina en el *PSI*.

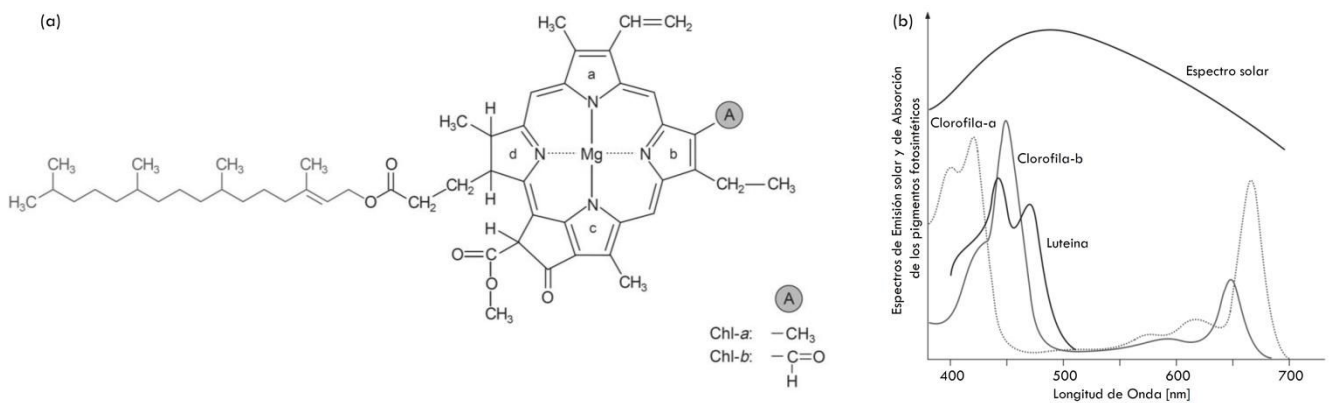
Cuando un *excitón* llega al centro de reacción es recibido por un par de clorofilas especiales, ubicadas espacialmente muy próximas, tanto que sus orbitales moleculares se solapan. Al recibir el excitón, un electrón del par de clorofilas es promovido hacia un nivel de energía superior y transferido hacia otra molécula cercana (aceptor de electrones), dejando una carga positiva en el par de clorofilas. Esta carga es neutralizada luego a través de un electrón proveniente de otra molécula (dador de electrones). Los aceptores de electrones son plastoquinona para el *PSII* y ferredoxina para el *PSI*. Los respectivos dadores de electrones son agua y plastocianina (Figura 2.3).

El principal pigmento necesario para la etapa lumínica de la fotosíntesis es la clorofila (Figura 2.4(a)), su estructura básica es un anillo tetrapirrólico llamado porfirina, con un átomo de magnesio ( $Mg^{2+}$ ) ubicado en el centro del anillo. El  $Mg^{2+}$  se encuentra covalentemente unido a dos átomos de nitrógeno del anillo y coordinado con otros dos. La porfirina posee una cola hidrofóbica (fitol) que favorece la solubilidad de la clorofila en la membrana lipídica. La diferencia entre *Chl-a* y *Chl-b* reside en el grupo sustituyente ubicado en la posición designada con la letra A en la Figura 2.4(a). Cuando un fotón alcanza las molécula de clorofila, éstas absorben la energía del fotón provocando la excitación de la molécula, elevando un electrón hacia un orbital de mayor energía. La energía del pigmento aumenta una cantidad igual a la energía del fotón absorbido. Lo remarcable de este proceso

es que ocurre en la forma "todo o nada" y que la energía que se absorbe en forma cuantos, resultando en estados de excitación discretos. La cantidad de energía absorbida depende de la estructura del pigmento (Heldt H.W., 2005b). El espectro de absorción de las clorofilas *a* y *b* puede observarse en la Figura 2.4(b).



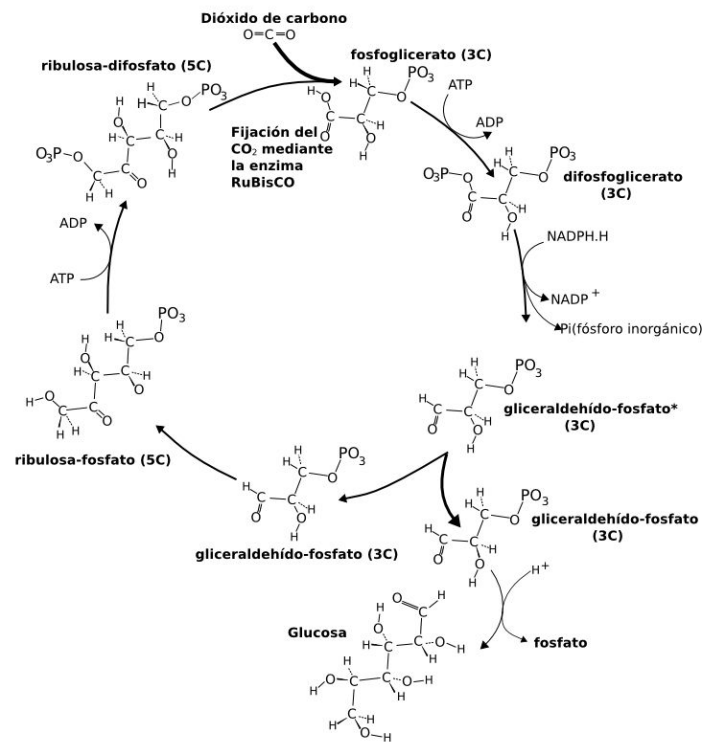
**Figura 2.3:** Esquema del sistema de absorción de fotones y transferencia de electrones entre los fotosistemas I y II. La cadena se inicia con la absorción de un fotón en el PSII. El fotón promueve la transferencia de un electrón desde una molécula de agua hasta una molécula de plastoquinona. La plastoquinona acepta dos electrones. La plastoquinona difunde luego a través de la membrana hasta el citocromo *b<sub>6</sub>/f*. En el citocromo el electrón es transferido a una molécula de plastocianina, que acepta un electrón y difunde hasta el PSI. En el PSI la absorción de un fotón promueve el paso de un electrón a una ferredoxina. La ferredoxina funciona como dador de electrones en la reducción de NADP<sup>+</sup> por medio de la enzima NADP-reductasa. En diferentes etapas de esta cadena se produce la acumulación de protones en el interior de las tilacoides. La transferencia de protones a favor del gradiente de concentración mediante la bomba de protones ATPasa permite la fosforilación de ADP.



**Figura 2.4:** (a) Molécula del cromóforo clorofila; el cromóforo unido a la proteína forma el pigmento clorofila. (b) Espectro de absorción de las moléculas de *clorofila-a* y *clorofila-b* junto al de uno de los pigmentos accesorios (*luteína*) y el espectro de emisión solar sobre la superficie terrestre.

Las características de la interacción entre el campo de energía radiante y el complejo de moléculas encargadas de la absorción de energía radiante y síntesis de potencial reductor son muy importantes para una correcta definición del mecanismo que vincula los fenómenos ópticos con el metabolismo celular. En este sentido debemos destacar que (1) la absorción de energía radiante es dependiente de la longitud de onda: sólo se absorbe energía de determinadas longitudes de onda; y (2) la energía se absorbe en forma discreta: como "paquetes de energía". Además, la cantidad de energía de cada "paquete" depende de la longitud de onda del fotón absorbido.

## 2.2- Reacciones de fijación de CO<sub>2</sub>.



**Figura 2.3:** Esquema del ciclo de Calvin-Benson que se produce en el estroma de los cloroplastos para la reducción y fijación de una molécula de dióxido de carbono inorgánica.

En la segunda etapa de la fotosíntesis, el ATP y el NADPH formados en la primera etapa se utilizan para reducir el átomo de carbono del CO<sub>2</sub> por medio del ciclo de Calvin (Figura 2.3). En este conjunto de reacciones, la energía química almacenada temporalmente en las moléculas de ATP y de NADPH se transfiere a moléculas adecuadas para el transporte y el almacenamiento de energía en las algas o en el cuerpo de las plantas. La resultante de este proceso es pues la formación de un esqueleto

de carbono, a partir del cual pueden construirse luego otras moléculas orgánicas. La incorporación inicial de CO<sub>2</sub> en compuestos orgánicos se conoce como fijación del carbono. En algas eucariotas este proceso ocurre en el estroma del cloroplasto; mientras que en cianobacterias se produce en el citoplasma. La enzima más importante en la fijación de CO<sub>2</sub> es la RubisCO. Esta enzima cataliza la carboxilación de un azúcar de 5 carbonos: ribulosa-1,5-bifosfato y la formación de dos moléculas de 3-fosfoglicerato. A este paso le siguen la reducción del 3-fosfoglicerato para dar una triosa-fosfato y la regeneración del azúcar receptor de CO<sub>2</sub> a partir de la triosa-fosfato (Heldt H.W., 2005c). Además de la RubisCO, numerosos mecanismos intervienen en el proceso de fijación de CO<sub>2</sub>, entre ellos un sistema de transportadores de carbono inorgánico y anhidrasas carbónicas que aumentan la concentración de CO<sub>2</sub> en el sitio de fijación. Estos mecanismos se denominan "*mecanismos de concentración de carbono*" (Giordano, M. y col. 2005; Bartlett, S.G. y col 2006)

### (3) USOS Y APLICACIONES DE LAS MICROALGAS

---

El primer registro de uso de algas por el hombre data de 2000 años atrás en China, cuando algunos nativos utilizaron *Nostoc* como alimento en épocas de hambruna. Las microalgas han sido utilizadas desde entonces por la humanidad principalmente como alimento, aunque existen una multitud de usos y aplicaciones de las microalgas ya que en su estructura poseen una gran diversidad de compuestos de interés tecnológico y/o comercial. A lo largo del tiempo, las aplicaciones de las microalgas han ido diversificándose, desde su uso tradicional como fuente de alimento hasta posibles usos como fuente de metabolitos para tratamientos contra enfermedades. A continuación se muestra una breve revisión de sus usos.

□ **Algas para consumo humano:** Las microalgas para el consumo humano hoy en día se venden en distintas formas como tabletas, cápsulas y en forma de suspensiones. Debido a su composición y características químicas, las mismas pueden actuar como suplementos nutricionales, conservantes o colorantes naturales para alimentos. *Spirulina* (*Arthrospira*) es una de las principales algas utilizadas para la fabricación de productos alimenticios humanos. Debido a los altos niveles de proteínas en su composición, esta biomasa posee un alto valor nutritivo. Además, el consumo regular de microalgas tiene varios efectos saludables como por ejemplo: la atenuación de la hiperlipidemia, supresión de la hipertensión, protección contra fallas renales y la disminución del nivel de azúcar en plasma. Otro género muy utilizado con estos fines es *Chlorella*. La sustancia más importante en su composición es

el  $\beta$ -1,3-glucano, que es un inmuno-estimulador activo, un captador de radicales libres y un reductor de lípidos de la sangre. Además se han identificado otros efectos beneficiosos para la salud, como por ejemplo la acción preventiva anti-tumorales y contra la arteriosclerosis (Muller-Feuga, 2000; Chae, 2006; Harker, 1996).

□ **Algas para consumo animal:** Las algas pueden ser incorporadas en la alimentación tanto de animales de granja, de peces (acuicultura) como de mascotas. El uso de microalgas en la acuicultura es muy importante, lo que no sorprende ya que son el alimento natural de muchos animales acuáticos. Los sistemas de acuicultura que incluyen la producción de microalgas y el tratamiento de agua de desechos parecen ser muy útiles para la combinación de la producción de algas con la “limpieza” biológica. Esto permite el crecimiento de las microalgas consumiendo compuestos orgánicos (nitrógeno y fosforo) presentes en las aguas residuales de ciertas industrias. Para poder ser usadas en este campo, las especies de microalgas deben satisfacer varios criterios: ser fáciles de cultivar; no ser tóxicas; tener el tamaño y forma correctos para que puedan ser ingeridas; tener altos valores nutricionales; tener paredes celulares fácilmente digeribles para que sus nutrientes puedan ser asimilados; etc. (Wolfgang Becker, 2004) . Las especies más comunes para estos fines son: *Chlorella*, *Tetraselmis*, *Isochrysis*, *Pavlova*, *Phaeodactylum*, *Chaetoceros*, *Nannochloropsis*, *Skeletonema* *Thalassiosira*. Se ha demostrado a través de estudios nutricionales y toxicológicos que la biomasa de microalgas es capaz de servir como suplemento alimenticio para animales de granja (caballos, vacas, etc.) y mascotas (perros, gatos, pájaros, etc.). Para el consumo animal la especie más utilizada es también *Spirulina*. El consumo de algas favorece el buen desarrollo de los animales, proveyéndolos de vitaminas naturales, minerales, ácidos grasos esenciales y ayudándolos a mantener un peso correcto.

□ **Utilización de microalgas para el tratamiento de efluentes:** el uso de microalgas para el tratamiento de efluentes fue intensamente desarrollado por Oswald y colaboradores (Oswald W.J. y col, 1973). Las microalgas poseen características que las hacen muy interesante su uso en este campo, como ser: (a) tienen la capacidad de consumir nitrógeno, fósforo y amonio del agua, los cuales son unas de las principales causas de la eutrofización de los medios; (b) poseen diversos metabolismos dependientes del consumo de metales pesados, géneros tales como *Chlorella* *Scenedesmus*, han demostrado ser excelentes captadoras de estos metales en el tratamiento de efluentes; (c) a través de su crecimiento, pueden brindar el O<sub>2</sub> necesario para lograr el crecimiento de bacterias heterótroficas; y, (d) una vez terminado el tratamiento, la biomasa generada puede ser utilizada en sistemas de acuicultura (Grönlund. E. y col 2004; Hammouda O. y col 1995).

□ **Eliminación del CO<sub>2</sub> de los gases de emisión de fábricas:** Los gases de emisión de las fábricas son responsables de más del 7% del total de CO<sub>2</sub> mundial emitido por el uso de energía. Los procesos normalmente usados para la eliminación o disminución del nivel de CO<sub>2</sub> en los gases de emisión consumen energía e implican la inversión de mucho dinero. En este campo las microalgas cobran una gran importancia, ya que muestran tener gran efectividad a la hora de retener el CO<sub>2</sub>, incluso mayor a la de plantas superiores. Experimentos llevados a cabo usando la especie de microalgas *Monoruphidium minutum*, demostraron que éstas eran capaces de crecer eficientemente a través de la utilización, como fuente de alimentación, de gases que contenían altos niveles de CO<sub>2</sub>, sulfuros y óxidos de nitrógeno, produciendo buenos rendimientos de biomasa (Zeiler, K. G. y col. 1995).

□ **Productos bioactivos de microalgas:** Dependiendo de las distintas especies de algas, se pueden extraer distintos compuestos de alto valor comercial, como por ejemplo: pigmentos, antioxidantes, β-carotenos, polisacáridos, vitaminas, etc. (Borowitzka, 1999; Dallaire, 2007; Chetsumon, 1994 y 1996). A modo de ejemplo podemos citar:

- Se ha encontrado que algunas especies, como *Spirulina* sp., tienen distintos tipos de esteroides como el clionasterol, que mostraron tener la capacidad de incrementar la producción de factores activadores de plasminógeno en células endoteliales vasculares, facilitando la prevención de enfermedades vasculares.

- Compuestos antioxidantes como β-carotenos y astaxantina aislados de microalgas, protegen a las células frente al estrés oxidativo causado por un amplio espectro de enfermedades y por el propio envejecimiento. Estudios preclínicos sugieren que el consumo de astaxantina, producida por especies como por ejemplo *Haematococcus pluvialis*, podría modular funciones anti-cancerígenas, y antiinflamatorias, dar protección contra los rayos UV y mejorar la salud cardiovascular, entre otras.

- La luteína, pigmento amarillo que se encuentra en vegetales y en el grupo de algas de las xantófitas, es usada para la prevención y tratamiento de enfermedades degenerativas.

□ **Microalgas en la industria cosmética:** Extractos de microalgas pueden encontrarse en distintos productos del cuidado de la piel y cara, como cremas *anti-age*, emolientes, cremas regenerativas o refrescantes, etc. También se usan en cremas de protección solar y productos de cuidado del cabello (Lorenz, 2000; Arad, 1992). Por ejemplo, el producto llamado “Protulines” de Exsysmol S.A.M, contiene un extracto de *Arthrospira* rico en proteínas que reparan señales de envejecimiento temprano de la piel, tiene un efecto astringente y evita la formación de estrías.

□ **Microalgas como plataformas para proteínas recombinantes:** Hasta el momento las microalgas no han sido utilizadas masivamente para la producción industrial de proteínas de interés farmacéutico. Sin embargo, tienen un enorme potencial para convertirse en una plataforma muy importante para la producción de proteínas recombinantes. Son capaces de generar altos niveles de expresión de proteínas en medios de muy bajo costo (los medios de cultivo consisten básicamente en medios salinos), son fáciles de cultivar bajo distintas condiciones de crecimiento, con bajos consumos de energía. Una ventaja que presentan frente a sistemas de expresión de plantas, es que son mucho menos sensibles a la salinidad del agua que utilizan, ya que las plantas frente a altas concentraciones de sodio en el agua sufren un gran estrés, que repercute en cambios bioquímicos de los productos expresados. Además al ser células eucariotas (excepto las cianobacterias) pueden inducir modificaciones postraduccionales a las proteínas, como glicosilaciones y plegamientos necesarios para el buen funcionamiento de las mismas. Para transformar microalgas con ADN recombinante, es posible utilizar los métodos empleados para la transformación de células vegetales, como *electroporación* o *biobalística* (Qingfang He, 2004).

□ **Producción de metano a partir de microalgas:** La producción de metano (CH<sub>4</sub>) a través de la fermentación anaeróbica de biomasa de microalgas fue propuesta como método de conversión de energía solar hace más de 50 años. Es un método muy simple que no requiere demasiada infraestructura. Básicamente consiste en la construcción de biodigestores en los cuales la materia orgánica a fermentar es la biomasa de microalgas (Oswald, 1960; Alzate, 2012; Ehimen, 2011).

□ **Producción de bio-hidrogeno:** la utilización del hidrogeno (H<sub>2</sub>) como combustible es un tema que ha ido cobrando importancia en los últimos años. Es un combustible muy eficiente y no contaminante. Los procesos de producción de H<sub>2</sub> (como la electrolisis foto-voltaica y la gasificación de biomasa) han mostrado ser poco rentables y, en consecuencia no se ha avanzado mucho en estos procesos. La idea de utilizar microalgas y otros microbios para producir hidrógeno cobró impulso en la década del '70, principalmente en Japón, Estados Unidos y Europa. Hay dos vías principales para generar H<sub>2</sub> utilizando algas: la biofotólisis directa y la biofotólisis indirecta. La primera se basa en la transferencia directa de electrones del agua a protones, a través de la combinación de la disociación del agua y las reacciones de reducción de la ferredoxina, mediante una hidrogenasa generadora de H<sub>2</sub>, resultando en la producción simultanea de H<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>. (Benemann J.R., 2000)



La segunda surgió del trabajo con algas verdes adaptadas a ambientes anaeróbicos en estudios con cianobacterias. Se genera una separación temporal o espacial de la generación de O<sub>2</sub> y las reacciones

de producción de H<sub>2</sub>, ligadas a través de la fijación de CO<sub>2</sub> en hidratos de carbono. El mayor inconveniente de estos procesos es que se llevan a cabo por periodos muy cortos, ya que estas reacciones se inhiben por el oxígeno generado. Ambas tecnologías siguen siendo hasta ahora caras e ineficientes y se encuentran todavía en etapas tempranas de desarrollo.

#### **(4) MICROALGAS COMO FUENTE DE ACEITE PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL.**

---

Destacaremos en forma separada esta aplicación debido al impulso que ha cobrado la misma en los últimos años a nivel mundial (Mata, T. M., 2010; Halim, R., 2012; Olivieri, G., 2013, Chisti, Y 2007, Balasubramanian, L. 2011). Durante décadas la mayor parte de la energía empleada en el mundo ha provenido de los combustibles fósiles. Se utilizan en el transporte, la generación de electricidad, la generación de vapor, la calefacción de hogares, etc. El uso desmedido de este recurso trajo consigo dos efectos: la liberación de grandes cantidades de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) a la atmósfera y la disminución de las reservas de petróleo, hechos que en la actualidad se traducen en cambio climático y aumento de precios. La solución a estos problemas radica en la generación de fuentes alternativas de energía, que sean renovables y ambientalmente amigables. Entre ellas podemos citar la energía eólica, hidrocínética, solar, los biocombustibles y el hidrógeno, entre otras.

Entre los biocombustibles, los tres de mayor desarrollo a nivel mundial son el bioetanol, el biodiesel y el biogás. En el caso de la Argentina, el biodiesel es el que ha logrado un mayor crecimiento. Durante 2011, Argentina se posicionó como uno de los cuatro principales productores de biodiesel a nivel mundial, y segunda en el ranking de exportadores. La principal ventaja del biodiesel sobre los demás biocombustibles es su aplicación directa en motores diesel, principal combustible de los sectores agrícola, industrial y transportista. (Irazoqui, H.A. y col., 1996a y b).

El biodiesel se obtiene por transesterificación de aceites vegetales o grasas animales. En nuestro país, el principal recurso es el aceite de soja, siendo las principales zonas productoras, Santa Fe, Córdoba y Buenos Aires, a las que se le suman -con una producción menor- Chaco, Santiago de Estero, Salta y Tucumán. Durante 2011 la producción nacional de biodiesel alcanzó una cifra cercana a los 3 millones de toneladas, requiriéndose para ello unas 17 millones de toneladas de este cultivo. Del total producido, aproximadamente 1 millón se destinó al mercado interno para la sustitución prevista por la Ley 26.093 (Régimen de Regulación y Promoción para la Producción y Uso Sustentables de Biocombustibles) aprobada en 2006, mientras que el volumen restante, al mercado externo.



Según la visión de expertos en la materia, el mercado mundial de biocombustibles continuará creciendo de manera sostenida. La producción nacional de soja durante la campaña 2010/2011 alcanzó 50 millones de toneladas, cantidad que pondría un tope de 8.5 millones de toneladas anuales a la capacidad nacional de producción de biocombustibles. De este modo, una industria de biodiesel que utilice aceite de soja como principal materia prima trae consigo las siguientes problemáticas:

- (1) Restringe la participación nacional en el mercado mundial.
- (2) Retira el aceite de soja del mercado de alimentos, con la consecuente repercusión sobre su precio y comprometiendo la disponibilidad del mismo.
- (3) Consume grandes extensiones de suelo fértil, reduciendo la superficie disponible para otros cultivos.
- (4) Limita la oportunidad de negocios a las zonas sojeras, típicamente las zonas más ricas del país, excluyendo a las regiones menos fértiles, tradicionalmente las más pobres.

Para mantener el liderazgo internacional en el mercado de biocombustibles sin perjudicar al mercado de alimentos, el aumento en la capacidad de oferta deberá hacerse sobre la base de materias primas no alimenticias y que puedan producirse en suelos no agrícolas. Entre las diversas alternativas, una de las que ha recibido mayor impulso en los últimos años es la producción de microalgas. En 2009 Exxon Mobil anunció una inversión de 600 millones de dólares destinada al desarrollo de esta tecnología.

Lo atractivo de las microlagas es que (Mata, T.M. y col .2010; Chisti, 2007):

- (1) Pueden producirse en tierras áridas, por lo que no compiten por tierras fértiles con los cultivos tradicionales.
- (2) Pueden crecer en aguas residuales o no aptas para consumo,
- (3) Se pueden producir utilizando agua de mar, en zonas costera o en terrenos inundables.
- (4) Tienen una tasa de crecimiento muy superior a la de las planta terrestres.
- (5) En su estructura presentan un porcentaje elevado de aceite, llegando a contener un 30, 50 y hasta un 80% de aceite, dependiendo de las condiciones de cultivo.
- (6) El costo de las tareas de labranza, siembra y cosecha es muy inferior debido a que pueden sembrarse y cosecharse por bombeo desde un único punto.
- (7) El subproducto o residuo no lipídico es una fuente de proteína de alta calidad, que puede ser destinada al consumo animal o humano.

La apuesta de Exxon no es aislada, numerosas empresas e iniciativas científicas están actualmente intentando desarrollar biocombustibles a partir de algas. En nuestro país existen dos antecedentes

destacados: Oil Fox (<http://www.oilfox.com.ar/>) y Biocombustibles Chubut (Goldstein y col, 2010), ambas empresas productoras de biocombustibles a partir de aceite de soja que han incursionado en esta nueva tecnología con el objetivo de reducir su dependencia de las aceiteras tradicionales. Sin embargo, estos esfuerzos no han resultado en aplicaciones concretas debido a la falta de desarrollo en esta tecnología aún incipiente y, aunque la idea es prometedora, la viabilidad económica es aún incierta.

## **(5) CULTIVO DE MICROALGAS**

---

Los medios de cultivos empleados para la propagación de microalgas son generalmente soluciones acuosas de sales. Estas sales proveen al medio con todos los nutrientes necesarios para un correcto desarrollo del cultivo de las microalgas. El agregado de fuentes orgánicas de carbono no es lo más habitual, aunque hay números antecedentes de cultivos heterotróficos y mixotróficos; empleándose principalmente glicerol, glucosa u otros carbohidratos de bajo peso molecular, los cuales pueden ser obtenidos por hidrólisis de almidones, celulosas, u otros hidratos de carbonos de alto peso molecular.

En términos generales podemos decir que hasta el momento el cultivo de microalgas es más costoso que el cultivo de granos, siendo este el factor principal de la limitada aplicación de estos sistemas productivos. El crecimiento fotosintético requiere fuentes de luz (natural o artificial), CO<sub>2</sub>, agua y sales inorgánicas. Las algas tienen temperaturas óptimas de crecimiento entre 20 y 30° C. Los medios de cultivo utilizados para su crecimiento deben incluir en su composición los elementos inorgánicos que constituyen las células y otros componentes traza, como por ejemplo, cobalto, zinc, hierro, etc., para poder ser aptos para el desarrollo de las algas. Vonshak (Vonshak, A., 1986) compiló los requerimientos para la formulación de los medios de cultivo para algas, destacando los siguientes puntos a tener en cuenta: (1) el contenido total de sales en el hábitat de donde es originaria el alga; (2) la composición celular en relación a los componentes iónicos mayoritarios, como K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> y Cl<sup>-</sup>; (3) la fuente de nitrógeno, especialmente nitratos, amonio, urea o peptonas; (4) la fuente de carbono que se toma desde el medio acuoso, sea CO<sub>2(aq)</sub>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> o HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>; (5) el pH; (6) los requerimientos de elementos traza y algún agente quelante como el EDTA; y, (7) vitaminas.

Los medios conteniendo vitaminas, peptonas o buffers orgánicos sólo se emplean para el cultivo de algas muy exigentes, con altos requerimientos nutricionales y en condiciones de cultivo que permitan un control riguroso del proceso de manera de evitar la contaminación, especialmente por parte de

bacterias cuyas velocidades de replicación son mucho mayores a las de la mayoría de las algas. Además estos compuestos incrementen el costo del medio limitando su aplicación a productos de alto valor agregado

Las características básicas del proceso que deben ser consideradas a la hora de cultivar microalgas para un fin específico son: que cepa utilizar, de qué manera extraer el compuesto de interés, cómo proveer luz al cultivo, cómo mantener las algas en suspensión evitando la precipitación de las mismas, qué materiales usar para la construcción de reactor, cómo proveer CO<sub>2</sub> en forma eficiente evitando el escape del mismo a la atmósfera, cómo remover el O<sub>2</sub> producido durante la fotosíntesis, cómo controlar el pH y la temperatura, etc.

La luz es un parámetro de relevancia durante el cultivo de microalgas. La luz puede ser suministrada en forma continua o en ciclos de luz y oscuridad. A medida que cambia la concentración celular, también lo hacen los requerimientos de luz. El crecimiento celular se ve limitado si los niveles de luz son muy bajos, pero demasiada intensidad puede ser incluso perjudicial para la célula, provocando daños en los sistemas celulares por acumulación de especies reactivas del oxígeno producidas durante la fotosíntesis. Los organismos fototróficos necesitan recibir suficiente cantidad de luz para mantener su crecimiento, un suministro insuficiente provocará una disminución en el crecimiento por pérdida respiratoria. Incrementando el suministro por sobre el punto de compensación provocará un incremento en el grado de crecimiento hasta el punto de saturación. A partir de este punto, mayores intensidades lumínicas llevarán a la fotoinhibición.

En cultivos autotróficos las microalgas utilizan CO<sub>2</sub> como fuente de carbono. La alimentación de CO<sub>2</sub> puede ser controlada a través de los cambios de pH generados en el medio. O por modificación de la concentración de CO<sub>2</sub> en la corriente de aireación. Siempre que se modifique la concentración de CO<sub>2</sub> en la atmósfera gaseosa en contacto con el medio líquido, deberán tomarse los recaudos necesarios para evitar perturbaciones en el cultivo debido a los cambios de pH que se producen en la fase acuosa (Molina Grima E., 1999).

Para la producción a gran escala de biomasa se utilizan generalmente cultivos continuos. En estos procesos se alimentan periódicamente los reactores con medio fresco y se cosecha el mismo volumen de medio con algas. Casi el 25% de la biomasa producida durante las horas de luz puede perderse durante la noche debido principalmente a la respiración celular que ocurre en la ausencia de luz. La magnitud de esta pérdida también es función de los niveles de luz a los que se exponen las algas, de la temperatura de crecimiento y de la temperatura durante la noche (Ogbonna J.C. y col., 2000; Richmond, A., 2004).

## (6) FOTO-BIO-REACTORES.

---

Los métodos más efectivos de producción de microalgas a gran escala se realizan en “*open ponds*” y en foto-bio-reactores (FBR) (Tredici M.R., 2004).

### - Open ponds.

Fueron los primeros sistemas en ser utilizados para el cultivo de microalgas (desde 1950). Su construcción varía en cuanto al tamaño, dimensiones, materiales, inclinación, etc.; pero básicamente se trata siempre de piletones construidos a cielo abierto, con una profundidad no mayor a 40-50 centímetros. Estos sistemas operan de forma continua para evitar la sedimentación de las algas. Son muy sencillos de operar y el costo de construcción es muy bajo. Sin embargo tienen la gran desventaja de que es difícil controlar muchas de las variables de cultivo. Por ejemplo la temperatura, que oscila mucho entre las horas del día y la noche, y mucho más entre las distintas estaciones del año; el consumo del CO<sub>2</sub> administrado es muy poco eficiente, ya que gran parte del gas alimentado termina siendo liberado a la atmosfera. A su vez, los *open ponds* están muy expuestos a contaminaciones por otras especies indeseables de microalgas e incluso otros tipos de microorganismos, debido a que estas “piletas” se encuentran a cielo abierto. Por otra parte, al utilizar la luz del sol como fuente de radiación, los mismos no pueden ser muy profundos ni alcanzar densidades celulares elevadas, ya que la radiación incidente no lograría penetrar a través del medio.

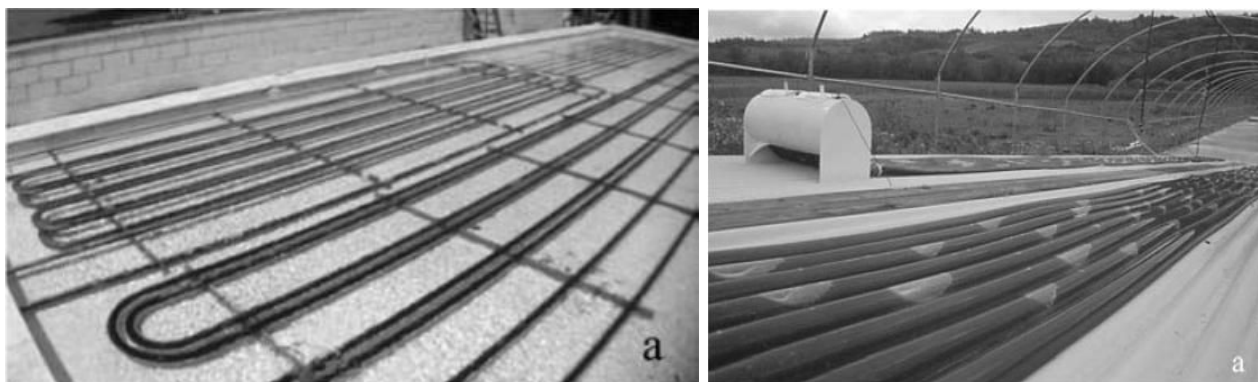


**Figura 6.1:** Fotografía de un *open pond* utilizado para la producción masiva de *Dunaliella* en el Nature Beta Technologies Ltd (Eilat, Israel)

### - Foto-Bio-Reactores (FBR).

Estos pueden ser definidos como sistemas de cultivos fototróficos en los cuales la luz no incide directamente sobre la superficie del cultivo sino que debe lograr pasar a través de las paredes transparentes del reactor para alcanzar a las células cultivadas. Una de las principales ventajas de estos sistemas es que, al ser cerrados, permiten trabajar con cultivos libres de contaminaciones durante largos periodos. Además permiten un mayor control de las variables operativas como temperatura (a través de intercambiadores de calor), pH, agitación (permiten utilizar bombas peristálticas o neumáticas), alimentación y consumo de CO<sub>2</sub>, etc.

El grado de sofisticación de los FBR dependerá de su propósito, si el producto final deseado es la íntegra biomasa de microalgas, un diseño sencillo será suficiente. El vidrio y el acrílico son ampliamente utilizados. En la actualidad se han ensayado numerosos materiales de menor costo, como PVC, polietileno y policarbonatos, pensándose incluso en el diseño de reactores descartables. La superficie de los FBR debe ser diseñada para minimizar la reflexión y la refracción de la luz; aquéllos realizados con superficies curvas como tubos darán una menor disponibilidad de luz que aquellos con superficies planas. Algunos diseños han incorporado sofisticados dispositivos de iluminación, como espejos parabólicos de recolección de luz, fibras ópticas, o guías lumínicas (Behrens P.W., 2005; Scragg, A. H. y col, 2002).

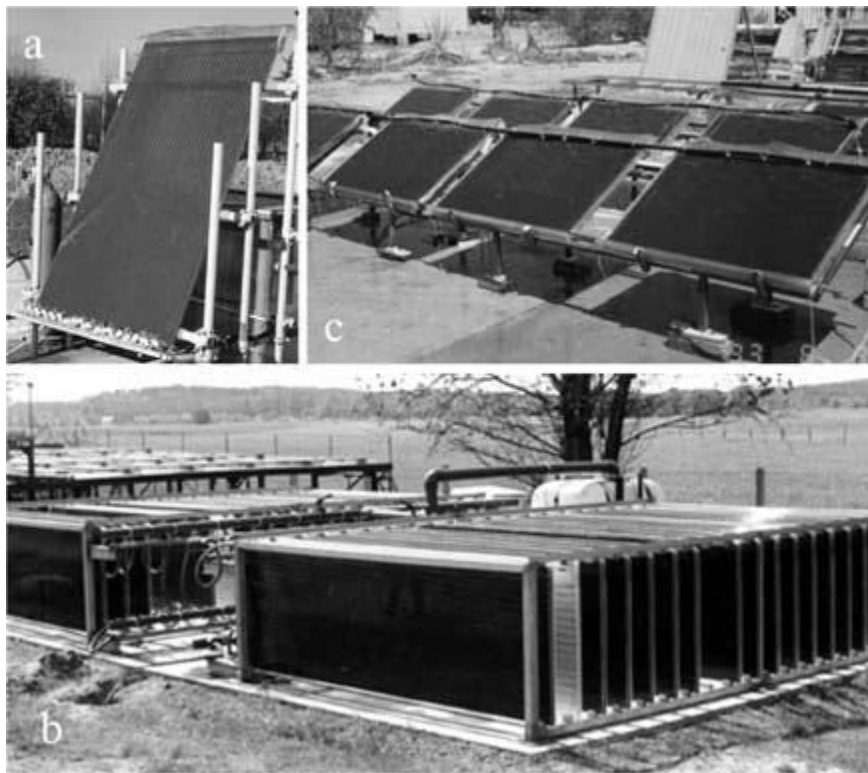


**Figura 6.2 :**(a) Reactor serpentina del Departamento de Ingeniería Química en la Universidad de Almería, España. (b) FBR colector inclinado en el Departamento de Agricultura y Biotecnología de la Universidad de Florencia (Italia)

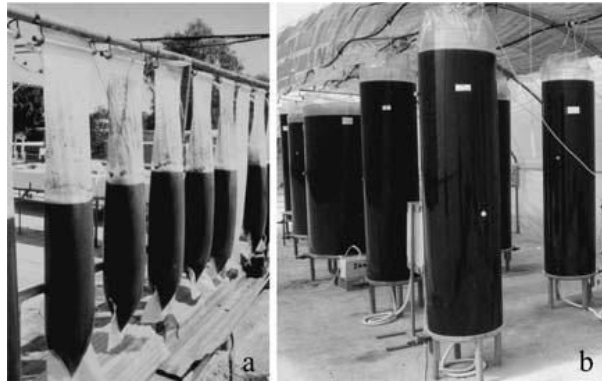
Los FBR pueden ser clasificados en base a su diseño y modo de operación.

◆ FBR tubulares: existen básicamente 3 tipos de reactores tubulares: (1) Serpentina: son sistemas en los cuales varios tubos transparentes paralelos están conectados entre sí en sus extremos por codos en U, formando un arreglo plano que puede ser orientado en forma horizontal o vertical. El intercambio de gas y el agregado de nutrientes se llevan a cabo en otro receptáculo. La circulación del medio

entre los tubos transparentes y el intercambiador de gases se realiza a través de sistemas de bombas o sistemas tipo *air-lift*. (2) Colectores (*manifold PBR*): consisten en una serie de tubos paralelos conectados al final por dos colectores, uno para distribución y otro para coleccionar las suspensiones de cultivos. Estos reactores ahorran más energía que los anteriores, ya que los FBR serpentina consumen una considerable cantidad de energía para hacer circular el cultivo a través de los codos para poder cambiar la dirección del mismo. (3) Helicoidales (*bio-coil PBR*): consisten en tubos de pequeño diámetro, generalmente flexibles que se enrollan alrededor de una estructura vertical. Pueden colocarse varios de estos FBR en forma paralela y unirlos a través de conectores a un sistema de bombeo central, permitiendo reducir el flujo necesario y acortar la longitud de los tubos.



**Figura 6.3:** (a) Panel plano alveolar del Departamento de Agricultura y Biotecnología de la Universidad de Florencia (Italia); (b) Sistema FBR del Instituto IGV (Alemania); (c) Paneles planos de vidrio en la Universidad de Ben Gurion en Negev (Israel)



**Figura 6.4 :**(a) “mangas” de polietileno en el Instituto de Investigación Aplicada (Beer-Sheva, Israel); (b) columnas anulares del Departamento de Agricultura y Biotecnología de la Universidad de Florencia (Italia)

◆ FBR Planos: se construyen unas especies de cajas transparentes rectangulares, que internamente se dividen con tabiques para formar canales anchos llamados alveolos, que ayudan a la circulación ordenada del medio. Estos se deben montar con una cierta orientación e inclinación para maximizar la captación de la luz solar durante el día.

◆ FBR Cilindros verticales y “bolsas”: son posiblemente los sistemas más simples. Los cilindros verticales rígidos se construyen por lo general de vidrio, con una altura cercana a los 2 metros y diámetros de 30-50 cm. El aire para el mezclado se inyecta desde el fondo y pueden ser iluminados artificial o naturalmente. Las “bolsas” o “mangas” son reactores verticales descartables, los cuales se construyen fácilmente cortando tiras de algún plástico descartable, como polietileno, y sellándolas en los extremos por calor. Estas bolsas se cuelgan en soportes y se iluminan en forma natural o artificial. El burbujeo de aire para el mezclado es inyectado desde el fondo. Tienen una vida útil corta ya que las microalgas luego de un tiempo comienzan a pegarse a la pared interna de la bolsa. Gracias a su bajo costo, pueden ser fácilmente descartadas y reemplazadas.





# OBJETIVOS

---



## **(1) OBJETIVO GENERAL.**

---

Desarrollar herramientas de análisis, diseño, optimización y cambio de escala de foto-bio-reactores (FBR) destinados a la propagación de algas microscópicas y producción de metabolitos derivados de ellas.



## (2) OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

---

1. Diseñar y construir un foto-bio-reactor a escala laboratorio destinado al análisis de los fenómenos que afectan la disponibilidad de luz y  $\text{CO}_2$  en el medio de cultivo.
2. Modelar el régimen de mezclado dentro del reactor. Obtener los parámetros incluidos en el modelo.
3. Desarrollar un modelo físico-químico y un algoritmo de simulación matemática de los medios de cultivos utilizados en la producción de microalgas, considerando los equilibrios químicos presentes en las fases líquida y gaseosa.
4. Determinar los parámetros de la constante de la solubilidad del  $\text{CO}_2$  en soluciones acuosas en función la temperatura, desacoplada del resto de los equilibrios que se presentan en solución, considerando la influencia del pH sobre la misma.
5. Analizar el efecto de los cambios introducidos en los medios de cultivo o en las condiciones de crecimiento sobre las características fisicoquímicas del medio, considerando aquellas propiedades más relevantes para el crecimiento de las algas.
6. Modelar los fenómenos de transferencia de  $\text{CO}_2$  y  $\text{O}_2$  líquido-gas en el reactor. Obtener los parámetros del modelo.
7. Desarrollar un modelo físico para la simulación computacional del campo de energía radiante en cultivos sumergidos de algas, considerando los fenómenos de absorción y dispersión de radiación, que sea aplicable a diferentes reactores.
8. Desarrollar un método experimental *ad hoc* para la determinación de los coeficientes de absorción y dispersión de energía radiante en diferentes suspensiones de microalgas.
9. Analizar la evolución en el tiempo de las propiedades más relevantes del campo de energía radiante dentro del FBR considerando la concentración de algas en la suspensión, la presencia de pigmentos, la geometría del reactor y las características de la fuente de emisión de radiación.
10. Realizar cultivos autotróficos en el reactor con cepas de microalgas modelo para medir la evolución de biomasa, sustratos y metabolitos en el tiempo; controlando temperatura, pH, caudal de aire, oxígeno disuelto, régimen de mezclado, etc.

11. Integrar los modelos para los diferentes procesos que fueron desarrollados durante la etapa de análisis del reactor, para la interpretación de los resultados obtenidos a partir de los cultivos de microalgas.
12. Obtener una expresión cinética intrínseca para la velocidad de propagación de las microalgas, que se aplicable a cualquier tipo de reactor y fuente de iluminación.

# **CAPÍTULO 5**

**Simulación del campo de energía radiante por  
el método de Monte Carlo.**

---





## (1) INTRODUCCIÓN.

---

La luz es uno de los dos “sustratos” más importantes en el crecimiento fotosintético y, por lo tanto, la iluminación eficiente del reactor es uno de los aspectos claves en el diseño y optimización de foto-bio-reactores (FBR) destinados al crecimiento de microalgas. Para lograr comprender la forma en que la luz interviene en el funcionamiento del reactor son necesarias dos condiciones: la primera es conocer la cantidad de energía radiante que llega a cada posición dentro del reactor; y, la segunda, es disponer de un modelo físico-matemático que vincule la cantidad de esa energía radiante con la velocidad de crecimiento de microorganismos fotosintéticos (Wei Wen Su y col., 2003; Perner-Nochta, I. y col., 2007; Molina Grima, E. y col., 1999).

**Tabla 1.1:** Propiedades de la energía radiante incluida en la región visible del espectro electromagnético.

Color	Rango de longitud de onda [nm]	Longitud de onda representativa [nm]	Frecuencia [Hz]	Energía [KJ mol de fotones <sup>-1</sup> ]
Ultravioleta	<400	254	11.8 x 10 <sup>14</sup>	471
Violeta	400-425	410	7.31 x 10 <sup>14</sup>	292
Azul	425-490	460	6.52 x 10 <sup>14</sup>	260
Verde	490-560	520	5.77 x 10 <sup>14</sup>	230
Amarillo	560-585	570	5.26 x 10 <sup>14</sup>	210
Anaranjado	585-640	620	4.84 x 10 <sup>14</sup>	193
Rojo	640-740	680	4.41 x 10 <sup>14</sup>	176
Infrarrojo	>740	1400	2.14 x 10 <sup>14</sup>	85

La luz visible es la porción del espectro electromagnético ubicada en el rango de longitudes de onda desde los 400nm hasta los 700nm y puede ser captada por el ojo humano. La luz llega a las algas en suspensión desde la fuente de iluminación a través de sus superficies. A medida que los haces de luz se propagan en el medio, los pigmentos fotosintéticos absorben parte de su energía, disminuyendo la intensidad de los mismos. Las algas pueden ser consideradas como partículas cuyos tamaños generalmente se encuentran en el rango de 1 a 100µm y que dispersan de energía radiante dentro de la suspensión. Este fenómeno consiste en el cambio de la dirección en que se propagan los haces de luz, pero sin restarle energía a los mismos. La existencia simultánea de los fenómenos de absorción y dispersión de energía radiante dentro de la suspensión de microalgas, hace que la cantidad de luz en cada posición del reactor, dependa tanto de las características de la fuente de emisión y del reactor,

como de las concentraciones de algas y pigmentos fotosintéticos en el medio (Mautusi Mitra, 2008; Pilon L. y col., 2011).

La luz visible, está compuesta por radiación de diferentes longitudes de onda (Tabla 1.1). Los pigmentos presentes en la suspensión absorben energía radiante con alta selectividad respecto a la longitud de onda, atenuando en mayor medida las fracciones del espectro electromagnético incluidas en los rangos  $400\text{-}500\text{nm}$  y  $600\text{-}690\text{nm}$ . La absorción de energía radiante reduce la cantidad de energía portada por el haz de luz. Debido a la especificidad del fenómeno de absorción, la pérdida neta de energía provoca un aumento en la proporción relativa de energía radiante que porta el haz de energía en aquellas longitudes que no son absorbidas por los pigmentos en la suspensión ( $500$  a  $600\text{nm}$ ). Por ello, para lograr interpretar adecuadamente la relación que existe entre la luz y las microalgas, es necesario conocer tanto la cantidad neta de energía radiante que alcanza cada posición dentro del reactor, como la composición de la misma respecto a la longitud de onda (Huang y col., 2012; Pruvost, J. y col., 2002).

En este capítulo nos enfocaremos en el desarrollo de un modelo que permita la simulación del campo de energía radiante dentro de las suspensiones de microalgas, considerando las características de la fuente de emisión, los límites y geometría del reactor y las propiedades ópticas de la suspensión.

Según la hipótesis cuántica de Planck, la luz se propaga en forma de partículas o paquetes de energía, denominadas cuantos de luz o fotones. Por otro lado, la teoría electromagnética clásica de Maxwell propone que la luz viaja en forma de ondas electromagnéticas. Ambas teorías son aplicadas en el estudio de los fenómenos de transferencia de energía, por ejemplo la teoría electromagnética es utilizada en el computo de propiedades como la emisividad y la reflectividad; mientras que el aspecto corpuscular del fotón resulta más adecuada para caracterizar aquellos fenómenos en los cuales la luz y la materia intercambian energía (Özsisik, M. N., 1973; Nelson J., 2003).

En este capítulo se considera al campo de energía radiante como un conjunto de fotones moviéndose a la velocidad de la luz  $c$ . Cada fotón se asume como una partícula, y el campo radiante como un fluido no uniforme de fotones moviéndose a la misma velocidad  $C$ . El fenómeno de dispersión de energía se considera elástico; es decir, que no implica pérdida de energía, por lo que un haz de luz dispersado conserva su longitud de onda y energía. Otra consideración importante en el modelo es que en el seno de la suspensión no existe emisión de luz.

Las células en suspensión pueden interpretarse como partículas compuestas por un conjunto de organelas y otros componentes celulares envueltos por una membrana celular rodeada por la pared celular. En el interior de las células, los cloroplastos son las estructuras responsables de la captación

de energía solar para la generación del poder reductor que luego es utilizado en la fijación de CO<sub>2</sub> u otras vías metabólicas. Los cloroplastos son organelas celulares que contiene un conjunto de vesículas, llamadas tilacoides, en donde se encuentran organizados los pigmentos y demás moléculas que captan y convierten la energía lumínica. Además de cloroplastos existen numerosas organelas en el interior de las células, cada una de ellas con formas, tamaños y propiedades ópticas particulares (Tabla 1.2) , y que participan en los fenómenos ópticos que ocurren dentro de la suspensión.

<b>Tabla 1.2:</b> Tamaño de algunos de los compuestos celulares junto con su factor de tamaño.			
Componente celular	Diámetro medio (D) [μm] **	Factor de tamaño aproximado*.	
		λ= 400 nm	λ= 700 nm
Mitocondria	0.5	3.9	2.2
Cloroplasto	5	39.3	22.4
Núcleo	3 - 10	23.6 - 78.5	13.5 - 44.9
Lisosomas	0.5	3.9	2.2
Ribosomas	30 ×10 <sup>-3</sup>	0.235	0.134
Proteínas globulares	5 ×10 <sup>-3</sup>	0.039	0.022
* Factor de tamaño = $\pi D / \lambda$ ; ** (Datos extraídos desde Alberts, B. y col., 2008).			

La complejidad matemática que implica la consideración de todos estos fenómenos hace que la resolución por vías analíticas no sea posible. Para incluir simultáneamente los fenómenos de absorción y dispersión de energía radiante en el seno de la solución, el medio de cultivo será tratado como una suspensión homogénea y continua, con centros de absorción y dispersión de energía radiante distribuidos al azar dentro de la suspensión. En este modelo, las algas pierden identidad como partículas, y la suspensión se considera como un medio continuo con centros de absorción y dispersión de energía radiante homogéneamente distribuidos en toda la suspensión.

Durante el cultivo de microalgas en un FBR, el crecimiento celular produce un aumento en la cantidad de algas suspendidas y en la concentración de pigmentos en el medio, alterando las propiedades ópticas de la suspensión y modificando la magnitud con la cual se producen los fenómenos de absorción y dispersión de luz, lo cual resulta en la alteración del campo de energía radiante. Sin embargo, si se compara la velocidad de crecimiento celular con la velocidad con la cual se producen los fenómenos ópticos, podemos asumir que el campo de energía radiante evoluciona durante el cultivo, a través de una sucesión de estados estacionarios, ajustándose de manera instantánea a las modificaciones que se produzcan en la composición del medio. De este modo, la dependencia del campo de energía respecto al tiempo no es directa, sino a través de los cambios que se produzcan en la composición del medio debido al crecimiento celular.

En este capítulo se define el modelo físico-matemático que se aplicará en la presente tesis para la simulación del campo de energía radiante dentro del FBR por analogía con un conjunto de moléculas de gas moviéndose a la misma velocidad. En el Anexo, al final del capítulo, se describen en detalle las ecuaciones incluidas en el análisis del campo de energía radiante como ecuaciones continuas; este compendio resulta muy importante para comprender y vincular la metodología aquí descrita con los diferentes métodos de resolución del campo de energía radiante que son de uso frecuente en este campo de aplicación.

## **(2) INTERPRETACIÓN MICROSCÓPICA DE LAS PROPIEDADES DEL CAMPO RADIANTE POR ANALOGÍA CON LA TEORÍA DINÁMICA DE GASES IDEALES.**

---

En esta sección enfatizaremos el aspecto de partícula de la energía radiante por sobre el de onda. El campo radiante será modelado como un gas no uniforme de fotones que se mueven en cada punto en diferentes direcciones pero con una única velocidad  $c$ : la velocidad de la luz. Las bases para la simulación física de Monte Carlo de un campo radiante descritas en esta sección pueden utilizarse para calcular las propiedades del campo de luz que son relevantes para la simulación y el cambio de escala de FBR. Nuestra premisa básica es que el movimiento de los fotones en el campo radiante obedece las leyes de los sistemas clásicos de muchos cuerpos (“classical many-body systems”).

Se trata de una excelente aproximación en tanto las temperaturas de trabajo (normalmente en el rango de  $298^{\circ}K$  a  $303^{\circ}K$ ) y las longitudes de onda útiles (de  $400$  a  $700nm$ ) cumplan la condición  $N_{Avog}hc/\lambda \ll RT$  que evita la necesidad de considerar efectos cuánticos. De hecho, para el caso de luz violeta de longitud de onda de aproximadamente  $400nm$ , la energía de un mol de fotones es  $300 KJ mol de fotones^{-1}$ , mientras que para la temperatura de trabajo de  $300^{\circ}K$ , el producto  $RT$  es  $2494 KJ mol de fotones^{-1}$ , casi diez veces el valor de  $N_{Avog}hc/\lambda$  (Frenkel, D. 2004; Sontag, R.E. y col., 1968).

Además, vamos a asumir que en todos los casos de nuestro interés, las propiedades del campo de energía radiante no dependen explícitamente del tiempo, sino sólo a través de la evolución temporal de los parámetros fenomenológicos del campo radiante, los que pueden depender, por ejemplo, de la composición instantánea del medio. Como consecuencia de esto, el campo de energía radiante seguirá estos cambios en el tiempo del medio pasando por una sucesión de estados estacionarios, sin ningún retraso detectable.

## 2.1- Las propiedades del campo radiante a partir de modelo de gas de fotones

Podemos pensar en un experimento virtual, consistente en tomar un fotón por vez, al azar, de entre aquéllos contenidos en un volumen diferencial alrededor de la posición  $\underline{r}$  en el campo de la energía radiante y registrar su energía (es decir, su longitud de onda  $\lambda$ ) y su dirección de movimiento  $\hat{\underline{\Omega}}$ . Si suponemos que todos los fotones son igualmente accesibles para el observador, y por lo tanto, el muestreo no está sesgado, la probabilidad diferencial  $dF(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)$  es la fracción de fotones que en un volumen elemental alrededor de la posición  $\underline{r}$ , se desplazan en direcciones incluidas en el ángulo sólido elemental  $d^{(2)}\hat{\underline{\Omega}}$  alrededor de la dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$ , y que poseen longitudes de onda dentro del intervalo diferencial comprendido entre  $\lambda$  y  $\lambda + d\lambda$ .

La probabilidad diferencial  $dF^{(3)}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)$  de este evento compuesto puede escribirse en términos de la **función de distribución de probabilidad** ( $d^{(3)}F/d^{(2)}\hat{\underline{\Omega}} d\lambda$ ):

$$dF^{(3)}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) = \frac{d^{(3)}F}{d^{(2)}\hat{\underline{\Omega}} d\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) d^{(2)}\hat{\underline{\Omega}} d\lambda \quad (2.1)$$

Podemos asignar a  $(d^{(3)}F/d^{(2)}\hat{\underline{\Omega}} d\lambda)$  la interpretación física de ser la concentración  $n_p(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)$  de fotones que, encontrándose alrededor de la posición  $\underline{r}$ , se desplazan en la dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$  contenida en  $d^{(2)}\hat{\underline{\Omega}}$  y que tienen longitud de onda comprendida en el intervalo entre  $\lambda$  y  $\lambda + d\lambda$  (en lo sucesivo, la concentración de fotones  $(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)$ , para abreviar):

$$\frac{d^{(3)}F}{d^{(2)}\hat{\underline{\Omega}} d\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) = n_p(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) = n_p(\underline{r}) f(\hat{\underline{\Omega}}, \lambda/\underline{r}) \quad (2.2)$$

En la Ecuación 2.2,  $n_p(\underline{r})$  es la **función de distribución de probabilidad** de que un fotón se encuentre en un pequeño volumen centrado en  $\underline{r}$  (es decir, es la función de la distribución espacial de un fotón, o de manera equivalente, la concentración de número de fotones alrededor de la posición  $\underline{r}$ , y  $f(\hat{\underline{\Omega}}, \lambda/\underline{r})$  es la función de **distribución de probabilidad condicional** de que un fotón de longitud de onda  $\lambda$  se mueva en la dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$ , dado por cierto el hecho de que el fotón se encuentra en la posición  $\underline{r}$ .

Con estas definiciones, la Ecuación 2.1 puede ser escrita de la siguiente manera:

$$d^{(3)}F(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) = n_p(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) d^{(2)}\hat{\underline{\Omega}} d\lambda = n_p(\underline{r}) f(\hat{\underline{\Omega}}, \lambda/\underline{r}) d^{(2)}\hat{\underline{\Omega}} d\lambda \quad (2.3)$$

Por definición, la concentración de fotones de energía  $hc/\lambda$  alrededor de la posición  $\underline{r}$ , es

$$n_{p,\lambda}(\underline{r}) = n_p(\underline{r}, \lambda) = \frac{dF(\underline{r}, \lambda)}{d\lambda} = \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d^{(2)} \hat{\underline{\Omega}} n_p(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) = n_p(\underline{r}) \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d^{(2)} \hat{\underline{\Omega}} f(\hat{\underline{\Omega}}, \lambda / \underline{r}) =$$

$$\int_0^{2\pi} d\phi \int_{-1}^1 d\mu n_p(\underline{r}, \mu, \phi, \lambda) = n_p(\underline{r}) \int_0^{2\pi} d\phi \int_{-1}^1 d\mu f(\mu, \phi, \lambda / \underline{r})$$
(2.4)

mientras que la concentración de fotones alrededor de la posición  $\underline{r}$ , incluyendo todas las longitudes de onda  $\lambda$ ,  $n_p(\underline{r})$ , es

$$n_p(\underline{r}) = \int_0^{\infty} d\lambda \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d^{(2)} \hat{\underline{\Omega}} \frac{d^{(3)}F}{d^{(2)} \hat{\underline{\Omega}} d\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) = \int_0^{\infty} d\lambda \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d^{(2)} \hat{\underline{\Omega}} n_p(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) =$$

$$n_p(\underline{r}) \int_0^{\infty} d\lambda \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d^{(2)} \hat{\underline{\Omega}} f(\hat{\underline{\Omega}}, \lambda / \underline{r}) = n_p(\underline{r}) \int_0^{\infty} d\lambda \int_0^{2\pi} d\phi \int_{-1}^1 d\mu f(\mu, \phi, \lambda / \underline{r})$$
(2.5)

De la Ecuación 2.5, puede inmediatamente concluirse

$$\int_0^{\infty} d\lambda \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d^{(2)} \hat{\underline{\Omega}} f(\hat{\underline{\Omega}}, \lambda / \underline{r}) = \int_0^{\infty} d\lambda \int_0^{2\pi} d\phi \int_{-1}^1 d\mu f(\mu, \phi, \lambda / \underline{r}) = 1$$
(2.6)

La contribución a la densidad local de energía radiante  $e_\lambda(\underline{r})$  de los fotones con longitud de onda  $\lambda$  alrededor de la posición  $\underline{r}$ , es:

$$e_\lambda(\underline{r}) = e(\underline{r}, \lambda) = \left(\frac{hc}{\lambda}\right) \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d^{(2)} \hat{\underline{\Omega}} n_p(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) = \left(\frac{hc}{\lambda}\right) n_p(\underline{r}) \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d^{(2)} \hat{\underline{\Omega}} f(\hat{\underline{\Omega}}, \lambda / \underline{r}) =$$

$$\left(\frac{hc}{\lambda}\right) \int_0^{2\pi} d\phi \int_{-1}^1 d\mu n_p(\underline{r}, \mu, \phi, \lambda) = \left(\frac{hc}{\lambda}\right) n_p(\underline{r}) \int_0^{2\pi} d\phi \int_{-1}^1 d\mu f(\mu, \phi, \lambda / \underline{r})$$
(2.7)

En la Ecuación 2.7,  $n_p(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) d^{(2)} \hat{\underline{\Omega}} d\lambda = (hc/\lambda) n_p(\underline{r}) f(\mu, \phi, \lambda / \underline{r}) d^{(2)} \hat{\underline{\Omega}} d\lambda$  es la contribución a la densidad de energía radiante local debida a los fotones  $(\lambda, \hat{\underline{\Omega}})$  que se encuentran alrededor de la posición  $\underline{r}$ . La densidad de energía radiante alrededor de la posición  $\underline{r}$ , incluyendo todas las longitudes de onda  $\lambda$ , es:

$$e(\underline{r}) = \int_0^{\infty} d\lambda \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d^{(2)} \hat{\underline{\Omega}} \left(\frac{hc}{\lambda}\right) n_p(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) = n_p(\underline{r}) \int_0^{\infty} d\lambda \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d^{(2)} \hat{\underline{\Omega}} \left(\frac{hc}{\lambda}\right) f(\hat{\underline{\Omega}}, \lambda / \underline{r}) =$$

$$\int_0^{\infty} d\lambda \int_0^{2\pi} d\phi \int_{-1}^1 d\mu \left(\frac{hc}{\lambda}\right) n_p(\underline{r}, \mu, \phi, \lambda) = n_p(\underline{r}) \int_0^{\infty} d\lambda \int_0^{2\pi} d\phi \int_{-1}^1 d\mu \left(\frac{hc}{\lambda}\right) f(\mu, \phi, \lambda / \underline{r})$$
(2.8)

## 2.2- Intensidad de Radiación Monocromática y Concentración de Fotones ( $\hat{\underline{Q}}, \lambda$ ).

A partir de los resultados detallados en el Anexo (Ecuación 18), es posible establecer la siguiente identidad respecto a las definiciones de la densidad loca de energía radiante  $e_\lambda(\underline{r})$  calculada a partir de la intensidad de radiación  $L_\lambda(\underline{r}, \hat{\underline{Q}})$  y la densidad de fotones  $n_p(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, \lambda)$ :

$$e_\lambda(\underline{r}) = \frac{I}{c} \int_{\hat{\underline{Q}}} d\hat{\underline{Q}} L_\lambda(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}) = \frac{hc}{\lambda} \int_{\hat{\underline{Q}}} d\hat{\underline{Q}} n_p(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, \lambda) \quad (2.9)$$

De la que concluimos que :

$$L_\lambda(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}) = \frac{hc^2}{\lambda} n_p(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, \lambda) \quad (2.10)$$

Consideremos la definición de *Vector Densidad de Flujo Radiativo Espectral Neto*  $\underline{q}_\lambda(\underline{r}, t)$  como función de  $L_\lambda(\underline{r}, \hat{\underline{Q}})$  (tal como se expresa en la Ecuación 13 del Anexo), por sustitución de la Ecuación 2.10, tenemos:

$$\underline{q}_\lambda(\underline{r}) = \left( \frac{hc^2}{\lambda} \right) \int_{\hat{\underline{Q}}} d\hat{\underline{Q}} \hat{\underline{Q}} n_p(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, \lambda) \quad (2.11)$$

Operando de la misma manera con la Ecuación 54 del mismo Anexo, luego de cancelar factores comunes a todos sus términos, tenemos la siguiente expresión de la **Ecuación de Transferencia de Energía Radiante**:

$$\hat{\underline{Q}} \cdot \nabla n_p(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, \lambda) + [\alpha_\lambda(\underline{r}, t) + \xi_\lambda(\underline{r}, t)] n_p(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, \lambda) = \frac{\xi_\lambda(\underline{r}, t)}{4\pi} \int_{\hat{\underline{Q}'}} d\hat{\underline{Q}'} B(\hat{\underline{Q}}' \cdot \hat{\underline{Q}}) n_p(\underline{r}, \hat{\underline{Q}'}, \lambda) \quad (2.12)$$

### (3) SIMULACIÓN DEL CAMPO DE ENERGÍA RADIANTE MEDIANTE EL MÉTODO MONTE CARLO.

---

El método de Monte Carlo es un método numérico no determinístico o estadístico que consiste en un muestreo aleatorio repetido para el cálculo de resultados. Debido al alto número de repeticiones necesarias para conseguir exactitud en la solución, estos métodos son aplicados mediante el cálculo computacional y suelen utilizarse cuando no es viable la obtención de un resultado exacto con un

algoritmo determinista. El método resulta especialmente útil en la simulación de sistemas con muchos grados de libertad o en aquellos problemas en los cuales las limitaciones matemáticas no permiten converger en un resultado analítico (Hammersley, J.M., 2009; Forgan, D., 1965).

El método Monte Carlo ha sido aplicado en muchas ocasiones en la simulación de sistemas clásicos de cuerpos en movimiento, donde la palabra clásicos hace referencia a que el movimiento de los cuerpos responde a la *mecánica clásica*. La ventaja de este método en la simulación del campo radiante en FBR radica en permitir la inclusión de diferentes aspectos imposibles de reproducir mediante métodos analíticos, como ser geometrías complejas, la presencia de burbujas, fuentes de emisión múltiples y no ideales, condiciones de contorno complicadas, etc.

### 3.1- Simulación del Campo Radiante dentro de la suspensión de microalgas.

Consideremos ahora un fotón con longitud de onda  $\lambda$  y dirección  $\underline{\hat{\Omega}}$  en un volumen alrededor de la posición  $\underline{r}$ . La probabilidad de este fotón es  $n_p(\underline{r}, \underline{\hat{\Omega}}, \lambda)$ .

Dicho fotón se mueve dentro del medio  $i$  en la dirección  $\underline{\hat{\Omega}}$  con velocidad  $c = \eta_i / c_0$ , donde  $\eta_i$  es el índice de refracción de medio  $i$ , y  $c_0$  es la velocidad de la luz en el vacío. A medida que avanza una distancia  $\Delta S$ , este fotón puede ser absorbido o dispersado por el medio. Definimos entonces tres eventos posibles para este fotón durante su paso  $\Delta S$ :

- Absorción:  $(A)$
- Dispersión:  $(D)$
- Ninguna de las dos:  $(NA, ND)$

Estos eventos son complementarios y mutuamente excluyentes, por ello

$$P(A) + P(D) + P(NA, ND) = 1 \quad (3.1)$$

Debido a que el evento  $ND$  no implica necesariamente al evento  $NA$ , esos eventos son independientes, por lo tanto

$$P(NA, ND) = P(NA) \times P(ND) \quad (3.2)$$

En un medio puramente dispersivo el evento  $(A)$  no es posible, por lo que  $P(A) = 0$  y  $P(NA) = 1$ .



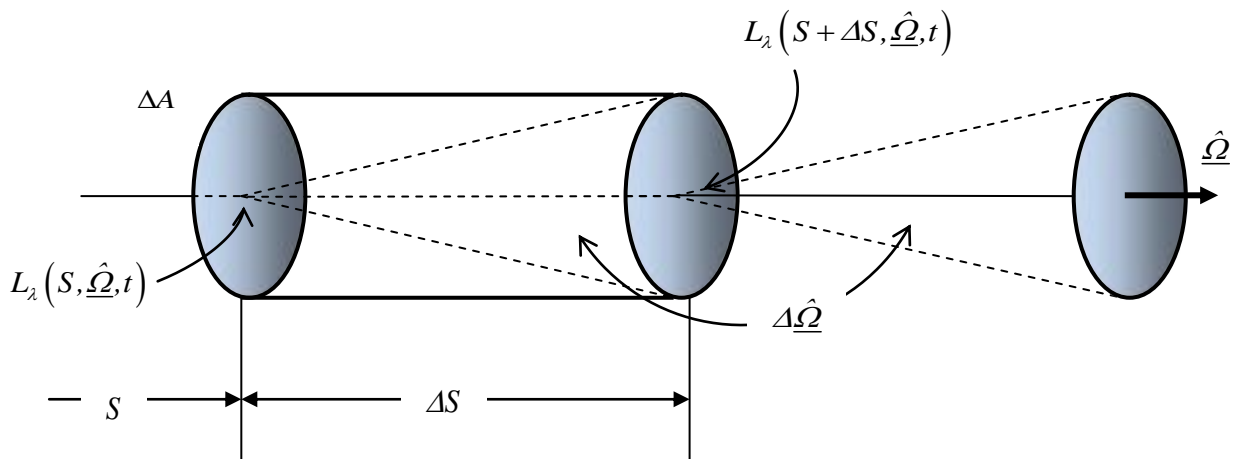
De esta manera  $P(D) + P(ND) = 1$ ; o lo que es lo mismo  $P(D) = 1 - P(ND)$ . Análogamente, en un medio puramente absorbente  $P(A) = 1 - P(NA)$

El problema en este punto es asignar una expresión matemática a cada una de las probabilidades. Para solucionar esto, analizaremos dos casos particulares:

- 1.- Medios puramente absorbentes y no dispersivos.
- 2.- Medios puramente dispersivos y no absorbentes.

### 3.2- Medios puramente absorbentes.

Consideremos ahora un cilindro elemental de altura  $\Delta S$  centrado en la dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$ , con su base  $\Delta A$  en la posición  $S$ .



**Figura 3.1:** absorción de energía radiante en un cilindro elemental de altura  $\Delta S$  centrado en la dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$ , con base  $\Delta A$  en la posición  $S$ .

Considerando que la intensidad de radiación monocromática  $L_\lambda(r, \hat{\underline{\Omega}})$  puede relacionarse con el número de fotones  $n_p(r, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)$  a partir de la igualdad  $L_\lambda(r, \hat{\underline{\Omega}}) = \frac{hc^2}{\lambda} n_p(r, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)$  la Energía Radiante Monocromática que ingresa al cilindro a través de su base en  $S$  debido a los fotones con frecuencia  $\lambda$  y dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$  puede escribirse como:

$$\frac{\Delta E(S, \hat{\Omega}, \lambda)}{\Delta t} = \frac{hc^2}{\lambda} n_p(S, \hat{\Omega}, \lambda) \Delta A \Delta \hat{\Omega} \Delta \lambda = \frac{hc^2}{\lambda} n_p(S) f(\hat{\Omega}, \lambda / S) \Delta A \Delta \hat{\Omega} \Delta \lambda \quad (3.3)$$

Mientras que la correspondiente energía que sale por la cara del cilindro en  $S + \Delta S$  es:

$$\begin{aligned} \frac{\Delta E(S + \Delta S, \hat{\Omega}, \nu)}{\Delta t} &= \frac{hc^2}{\lambda} n_p(S + \Delta S, \hat{\Omega}, \lambda) \Delta A \Delta \hat{\Omega} \Delta \lambda = \\ &= \frac{hc^2}{\lambda} n_p(S + \Delta S) f(\hat{\Omega}, \lambda / S + \Delta S) \Delta A \Delta \hat{\Omega} \Delta \lambda \end{aligned} \quad (3.4)$$

Definimos ahora  $\frac{\Delta E_{abs}(S + \alpha \Delta S, \hat{\Omega}, \nu)}{\Delta t}$ ; donde  $0 < \alpha < 1$ , como la Energía Radiante Absorbida

Localmente en el medio, por unidad de tiempo, entre  $S$  y  $S + \Delta S$ . Haciendo un balance de energía en el cilindro de la Figura 3.1 tenemos que:

$$\frac{\Delta E(S, \hat{\Omega}, \lambda)}{\Delta t} = \frac{\Delta E(S + \Delta S, \hat{\Omega}, \lambda)}{\Delta t} + \frac{\Delta E_{abs}(S + \alpha \Delta S, \hat{\Omega}, \lambda)}{\Delta t} \quad (3.5)$$

Si proponemos la siguiente expresión para la velocidad de absorción de energía

$$\frac{\Delta E_{abs}(S + \alpha \Delta S, \hat{\Omega}, \lambda)}{\Delta t} \equiv \alpha_\lambda \frac{c^2 h}{\lambda} n_p(S + \alpha \Delta S, \hat{\Omega}, \lambda) \Delta A \Delta \hat{\Omega} \Delta \lambda \Delta S \quad (3.6)$$

donde  $\alpha_\lambda$  es el Coeficiente Volumétrico de Absorción de Energía Radiante de longitud de onda  $\lambda$ .

Sustituyendo en la Ecuación 3.5, las Ecuaciones 3.3, 3.4 y 3.6 llegamos a:

$$n_p(S, \hat{\Omega}, \lambda) = n_p(S + \Delta S, \hat{\Omega}, \lambda) + \alpha_\lambda n_p(S + \alpha \Delta S, \hat{\Omega}, \lambda) \Delta S \quad (3.7)$$

Reordenando:

$$\frac{1}{n_p(S + \alpha \Delta S, \hat{\Omega}, \lambda)} \frac{n_p(S + \Delta S, \hat{\Omega}, \lambda) - n_p(S, \hat{\Omega}, \lambda)}{\Delta S} = -\alpha_\lambda \quad (3.8)$$

En el límite de  $\Delta S \rightarrow 0$

$$\left. \frac{1}{n_p(S, \hat{\Omega}, \lambda)} \frac{dn_p(S, \hat{\Omega}, \lambda)}{\partial S} \right]_{\hat{\Omega}} = \left. \frac{\partial}{\partial S} \ln n_p(S, \hat{\Omega}, \lambda) \right]_{\hat{\Omega}} = -\alpha_\lambda \quad (3.9)$$

Integrando en  $\Delta S$  a través de la trayectoria  $r(S + \Delta S, \hat{\Omega}) = r(S, \hat{\Omega}) + \hat{\Omega} \Delta S$

$$\frac{n_p(S + \Delta S, \underline{\hat{\Omega}}, \lambda)}{n_p(S, \underline{\hat{\Omega}}, \lambda)} = e^{-\alpha_\lambda \Delta S} \quad (3.10)$$

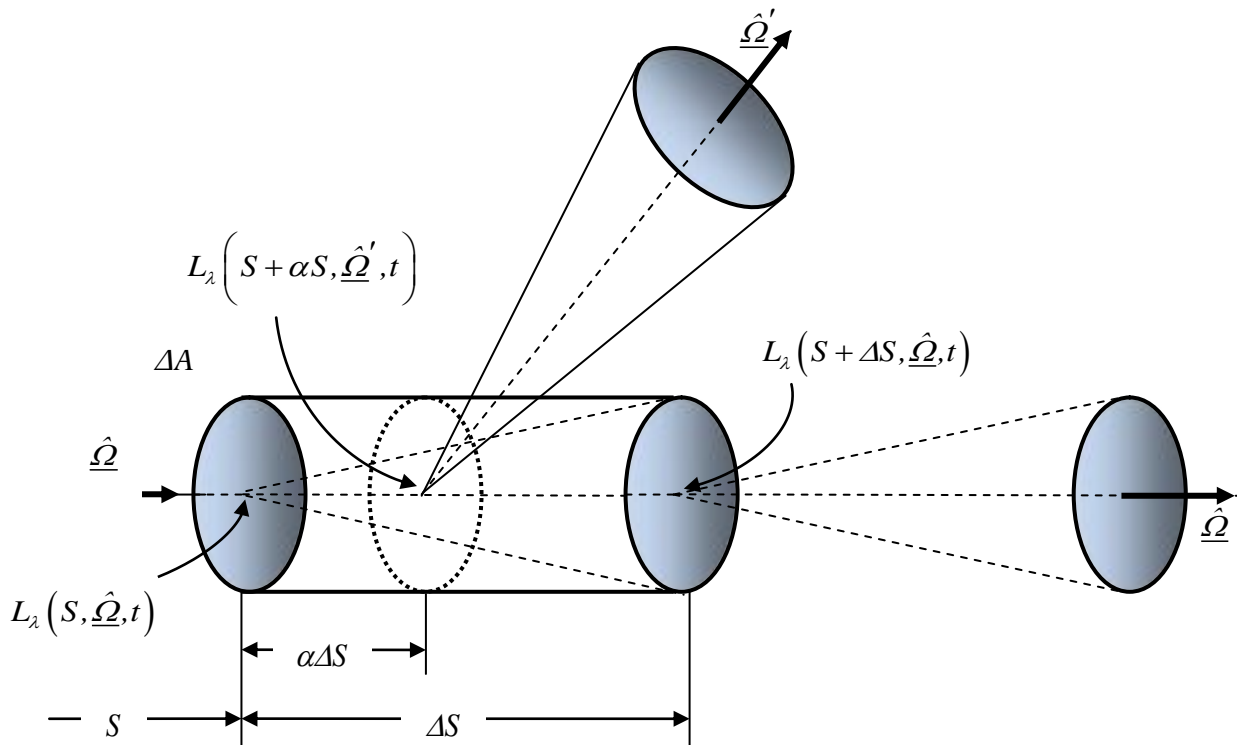
La relación  $\frac{n_p(S + \Delta S, \underline{\hat{\Omega}}, \lambda)}{n_p(S, \underline{\hat{\Omega}}, \lambda)}$  es la proporción de fotones  $\lambda$  que partiendo de  $r(S, \underline{\hat{\Omega}})$  con dirección  $\underline{\hat{\Omega}}$  llegan a la posición  $r(S + \Delta S, \underline{\hat{\Omega}})$ , lo que es equivalente a decir que estos fotones tienen la probabilidad  $\frac{n_p(S + \Delta S, \underline{\hat{\Omega}}, \lambda)}{n_p(S, \underline{\hat{\Omega}}, \lambda)}$  de no ser absorbidos durante su trayectoria  $\underline{\hat{\Omega}} \Delta S$ . Por lo que:

$$P(NA) = e^{-\alpha_\lambda \Delta S} \quad (3.11)$$

Expresión que es análoga a la ley de Lambert-Beer. Teniendo en cuenta que en un medio puramente absorbitivo  $P(A) + P(NA) = 1$

$$P(A) = 1 - e^{-\alpha_\lambda \Delta S} \quad (3.12)$$

Esta es la probabilidad de absorción de un fotón, condicionada al hecho de no haber dispersión.



**Figura 3.2:** Dispersión de energía radiante en un cilindro elemental de altura  $\Delta S$  centrado en la dirección  $\underline{\hat{\Omega}}$ , con base  $\Delta A$  en la posición  $S$ .

### 3.3- Medios puramente dispersivos.

Análogamente, definimos un cilindro de altura  $\Delta S$  centrado en la dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$ , con su base  $\Delta A$  en la posición  $S$ .

En este caso la energía  $\frac{\Delta E(S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)}{\Delta t}$  que ingresa por  $S$  puede ser desviada por dispersión desde su dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$  a la dirección  $\hat{\underline{\Omega}}'$ .

Si definimos de la siguiente manera a la Velocidad Local de Dispersión de Energía:

$$\frac{\Delta E_{disp}(S + \alpha \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)}{\Delta t} \equiv \xi_\lambda \frac{hc^2}{\lambda} n_p(S + \alpha \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) \Delta A \Delta \hat{\underline{\Omega}} \Delta \lambda \Delta S \quad (3.13)$$

Donde  $\xi_\lambda$  es el Coeficiente Volumétrico de Dispersión de Energía Radiante de Frecuencia  $\lambda$  en un medio puramente dispersivo.

Haciendo el balance de Energía, reordenando, tendiendo  $\Delta S \rightarrow 0$  e integrando, al igual que en el caso anterior, llegamos a:

$$\frac{n_p(S + \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)}{n_p(S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)} = e^{-\xi_\lambda \Delta S} \quad (3.14)$$

De esta manera la probabilidad de que un fotón  $\lambda$  y dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$  que parte de  $r(S, \hat{\underline{\Omega}})$  alcance la posición  $r(S + \Delta S, \hat{\underline{\Omega}})$  es:

$$P(ND) = n_p(S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda / S_0, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) = e^{-\xi_\lambda \Delta S} \quad (3.15)$$

Y la probabilidad de que durante la trayectoria  $\hat{\underline{\Omega}} \Delta S$  se produzca el evento  $(D)$  es entonces:

$$P(D) = 1 - e^{-\xi_\lambda \Delta S} \quad (3.16)$$

### 3.4- Medios absorbentes y dispersivos.

En este caso ambos eventos  $(A)$  y  $(D)$  son posibles durante la trayectoria  $\hat{\underline{\Omega}} \Delta S$ . Por lo que el balance de energía resultante es:

$$\frac{\Delta E(S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)}{\Delta t} = \frac{\Delta E(S + \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)}{\Delta t} + \frac{\Delta E_{abs}(S + \alpha \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)}{\Delta t} + \frac{\Delta E_{disp}(S + \alpha \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)}{\Delta t} \quad (3.17)$$

Luego:

$$n_p(S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) = n_p(S + \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) + (\alpha_\lambda + \xi_\lambda) n_p(S + \alpha \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) \Delta S \quad (3.18)$$

Por lo que

$$P(NA, ND) = \frac{n_p(S + \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)}{n_p(S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)} = e^{-(\alpha_\lambda + \xi_\lambda) \Delta S} \quad (3.19)$$

Ahora es necesario encontrar las expresiones para  $P(A)$  y  $P(D)$ . Debido a que  $(A)$ ,  $(D)$  y  $(NA, ND)$  son eventos mutuamente excluyentes, de la Ecuación 3.19 es posible deducir:

$$P(A) + P(D) = 1 - P(NA, ND) = 1 - e^{-(\alpha_\lambda + \xi_\lambda) \Delta S} \quad (3.20)$$

Si de la Ecuación 3.18 despejamos  $n_p(S + \alpha \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)$  obtenemos

$$n_p(S + \alpha \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) = \frac{1}{(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)} \frac{n_p(S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda) - n_p(S + \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)}{\Delta S} \quad (3.21)$$

Reemplazando  $n_p(S + \alpha \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)$  en la Ecuación 3.17 y dividiendo por  $n_p(S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)$

$$\frac{n_p(S + \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)}{n_p(S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)} + \frac{\alpha_\lambda}{(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)} \left[ 1 - \frac{n_p(S + \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)}{n_p(S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)} \right] + \frac{\xi_\lambda}{(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)} \left[ 1 - \frac{n_p(S + \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)}{n_p(S, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)} \right] = 1 \quad (3.22)$$

Reemplazando la Ecuación 3.19:

$$P(NA, ND) + \frac{\alpha_\lambda}{(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)} [1 - P(NA, ND)] + \frac{\xi_\lambda}{(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)} [1 - P(NA, ND)] = 1 \quad (3.23)$$

$$e^{-(\alpha_\lambda + \xi_\lambda) \Delta S} + \frac{\alpha_\lambda}{(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)} [1 - e^{-(\alpha_\lambda + \xi_\lambda) \Delta S}] + \frac{\xi_\lambda}{(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)} [1 - e^{-(\alpha_\lambda + \xi_\lambda) \Delta S}] = 1 \quad (3.24)$$

Luego  $\frac{\alpha_\lambda}{(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)} [1 - P(NA, ND)]$  es la fracción de fotones absorbidos y  $\frac{\xi_\lambda}{(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)} [1 - P(NA, ND)]$  la de fotones dispersados; o lo que es equivalente, son las probabilidades de absorción  $P(A)$  y de dispersión  $P(D)$ .

### 3.5- El camino libre medio.

Los coeficientes  $\alpha_\lambda$  y  $\xi_\lambda$ , junto con la función de fase  $B(\underline{\hat{\Omega}}', \underline{\hat{\Omega}})$  de dispersión deben ser obtenidos previamente para luego incluirlos en el método de simulación. Un parámetro importante para el cálculo de las probabilidades de ocurrencia de cada uno de los fenómenos es la distancia  $\Delta S$  que el fotón avanza en cada paso dentro de la suspensión. Para poder elegir de manera sistemática esta magnitud definiremos el camino libre medio como

$$s_{LM} = \frac{\int_0^\infty s e^{-(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)\Delta s} ds}{\int_0^\infty e^{-(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)\Delta s} ds} \quad (3.25)$$

Integrando:

$$s_{LM} = \frac{(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)}{(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)^2} = \frac{1}{(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)} \quad (3.26)$$

De esta manera se selecciona un paso óptico comparable al camino medio esperable.

### 3.6- Algoritmo de simulación dentro de la suspensión.

Conocidas las expresiones matemáticas que permiten adjudicar una probabilidad a cada uno de los eventos posibles para un fotón propagándose dentro de la suspensión, resulta evidente que para poder aplicar el Método Monte Carlo al proceso de simulación del campo radiante es necesario conocer los coeficientes  $\alpha_\lambda$  y  $\xi_\lambda$  de absorción y dispersión. Conocidos estos coeficientes, el algoritmo de cálculo entonces tendría la siguiente estructura básica:

1.- Conocidos  $\Delta S$ ,  $\alpha_\lambda$  y  $\xi_\lambda$  se calculan:

$$P(NA, ND) = e^{-(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)\Delta S} \quad (3.27)$$

$$P(A) = \frac{\alpha_\lambda}{(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)} \left[ 1 - e^{-(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)\Delta S} \right] \quad (3.28)$$

$$P(D) = \frac{\xi_\lambda}{(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)} \left[ 1 - e^{-(\alpha_\lambda + \xi_\lambda)\Delta S} \right] \quad (3.29)$$

2.- El fotón de frecuencia  $\lambda$  se encuentra en la posición  $\underline{r}(S, \underline{\hat{\Omega}})$  con dirección  $\underline{\hat{\Omega}}$  resultado de un cálculo anterior o de la iniciación del algoritmo.

3.- Se genera un número aleatorio  $0 \leq \delta_1 \leq 1$ .

4.- A partir de su valor:

a.- Si,  $0 \leq \delta_1 < P(A)$  entonces sucede el evento  $(A)$ .

En este caso el fotón es absorbido y se debe reiniciar el cálculo para un nuevo fotón.

b.- Si,  $P(A) \leq \delta_1 < P(A) + P(D)$  entonces sucede el evento  $(D)$ .

En este caso el fotón cambia su dirección  $\underline{\hat{\Omega}}(u, \phi)$  por otra  $\underline{\hat{\Omega}}'(u', \phi')$  de manera aleatoria. Luego, el fotón avanza a la posición  $\underline{r}'(S + \Delta S, \underline{\hat{\Omega}}') = \underline{r}(S, \underline{\hat{\Omega}}) + \underline{\hat{\Omega}}' \Delta S$ .

c.- Si,  $P(A) + P(D) \leq \delta_1 \leq 1$  entonces sucede el evento  $(NA, ND)$ .

En este caso el fotón conservó su dirección de movimiento  $\underline{\hat{\Omega}}$  y alcanzó la posición  $\underline{r}'(S + \Delta S, \underline{\hat{\Omega}}) = \underline{r}(S, \underline{\hat{\Omega}}) + \underline{\hat{\Omega}} \Delta S$ .

5.- Luego de cada paso se chequea si el fotón alcanzó alguna condición de contorno. En tal caso dicha condición debe tratarse de manera particular en cada caso. Si el fotón sigue en la suspensión de algas el algoritmo se continúa desde la sentencia 3.

### 3.7- Determinación de la dirección $\underline{\hat{\Omega}}'$ de dispersión.

Ocurrido un evento de dispersión, el fotón cambia su dirección original  $\underline{\hat{\Omega}}$  por una nueva  $\underline{\hat{\Omega}}'$ . La selección de esta nueva dirección se hace de acuerdo a la función de fase de la dispersión  $B(\underline{\hat{\Omega}}' \cdot \underline{\hat{\Omega}})$ , la cual debe cumplir la condición (las propiedades de la función de fase se describen en detalle al final de esta sección):

$$\frac{1}{4\pi} \int_{\underline{\hat{\Omega}}'} d\underline{\hat{\Omega}}' B(\underline{\hat{\Omega}}' \cdot \underline{\hat{\Omega}}) = 1 \quad (3.30)$$

Esta función es rotacionalmente invariable alrededor de la dirección  $\underline{\hat{\Omega}}$ , por lo cual todos los ángulos  $0 \leq \phi' \leq 2\pi$  son igualmente probables. La función de fase determina la frecuencia de aparición de nuevas direcciones según el producto  $\underline{\hat{\Omega}}' \cdot \underline{\hat{\Omega}} = \mu = \cos \theta$ , donde  $\theta$  es el ángulo entre  $\underline{\hat{\Omega}}$  y  $\underline{\hat{\Omega}}'$ .

Para la selección de  $\underline{\hat{\Omega}}'$  es necesario generar dos números aleatorios  $\delta_2$  y  $\delta_3$  de modo de obtener los valores de  $\mu$  y  $\phi$  de acuerdo a:

$$\delta_2 = \frac{1}{2\pi} \int_0^\phi d\phi' \quad (3.31)$$

$$\delta_3 = \frac{1}{2} \int_0^\mu d\mu' B(\mu') \quad (3.32)$$

Luego la nueva dirección se calcula según:

$$\underline{\hat{\Omega}}' = (1 - \mu^2)^{1/2} (\cos \phi \underline{\hat{e}}_1 + \sin \phi \underline{\hat{e}}_2) + \mu \underline{\hat{\Omega}} \quad (3.33)$$

Donde los vectores  $\underline{\hat{e}}_1$  y  $\underline{\hat{e}}_2$  cumplen las condiciones

$$(\underline{\hat{\Omega}} \cdot \underline{\hat{e}}_1) = (\underline{\hat{\Omega}} \cdot \underline{\hat{e}}_2) = (\underline{\hat{e}}_1 \cdot \underline{\hat{e}}_2) = 0 \quad (3.34)$$

$$(\underline{\hat{e}}_1 \times \underline{\hat{e}}_2) = \underline{\hat{\Omega}} \quad (3.35)$$

#### (4) CONCLUSIONES.

---

En este capítulo se desarrolló el método de simulación del campo de energía radiante dentro de suspensiones de microalgas por técnicas de Monte Carlo. Dicho método considera al campo de energía radiante como un gas no uniforme de fotones que se mueven en cada punto en diferentes direcciones pero con una única velocidad  $c$ : la velocidad de la luz. En cuanto a la suspensión, el modelo asume al medio de cultivo como una suspensión homogénea y continua, con centros de absorción y dispersión de energía radiante distribuidos al azar dentro de la suspensión. En este modelo, las algas pierden identidad como partículas, y la suspensión se considera como un medio continuo con centros de absorción y dispersión de energía radiante homogéneamente distribuidos en toda la suspensión

El modelo desarrollado es utilizado en los próximos capítulos para la determinación de los coeficientes  $\alpha_\lambda$  y  $\xi_\lambda$  junto con la función de fase  $B(\underline{\hat{\Omega}}' \cdot \underline{\hat{\Omega}})$  (Heinrich, J.M. y col., 2012a); la validación del modelo y los valores de los parámetros ópticos obtenidos (Heinrich, J.M. y col., 2012b); y en la simulación del campo de energía radiante dentro el FBR diseñado (Heinrich, J.M. y col., 2013).



# Capítulo 6

## **DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS DE SUSPENSIONES DE MICROALGAS.**

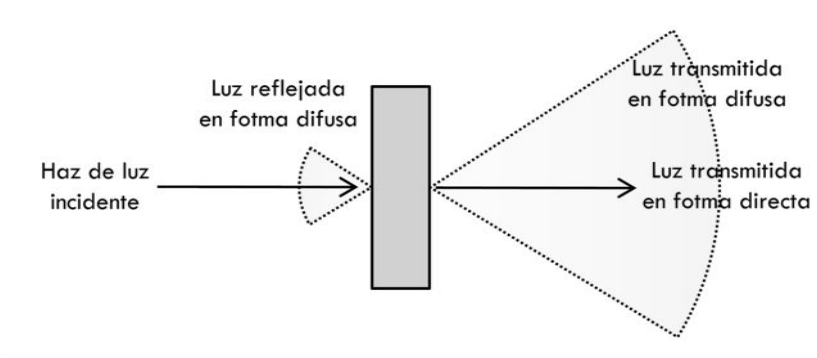
---



## (1) INTRODUCCIÓN.

---

En el Capítulo anterior se estableció el método de simulación que se utilizará para predecir el valor de las propiedades del campo de energía radiante dentro de una suspensión de microalgas, este algoritmo se basa en el método Monte Carlo y considera al campo de energía radiante como un conjunto de fotones moviéndose a la velocidad de la luz. Sin importar cual sea el método de elección para la resolución del campo de energía radiante dentro de una suspensión, un requisito ineludible es conocer los valores de los parámetros  $\alpha_\lambda$  y  $\xi_\lambda$ , y la forma que posee la función de fase  $B(\hat{\Omega}' \cdot \hat{\Omega})$ .



**Figura 1.1:** Esquema del procedimiento experimental que se llevó adelante para la determinación de los coeficiente de absorción y dispersión.

En este Capítulo, el método de simulación desarrollado se empleará para determinar experimentalmente el valor de los coeficientes espectrales de absorción y dispersión de energía radiante, además de caracterizar la función de fase de dispersión. Para ello diferentes suspensiones de microalgas son irradiadas con un haz colimado de luz monocromática (en el rango 400 a 700nm) midiéndose el flujo de energía radiante a través las caras anterior y posterior de la cubeta, y la fracción transmitida en forma lineal. Luego el procedimiento experimental es simulado mediante el método Monte Carlo. Para la determinación de las propiedades ópticas de la suspensión, un programa de optimización provee sucesivamente al simulador Monte Carlo un conjunto provisorio de parámetros ópticos. Utilizando estos parámetros, el simulador reproduce computacionalmente el experimento y devuelve al optimizador los valores hipotéticos para las medidas experimentales.

Comparando los valores reales y los obtenidos computacionalmente es posible encontrar aquel conjunto de parámetros que reproduzcan con fidelidad los resultados obtenidos experimentalmente.

### 1.1- Los coeficientes de absorción y de dispersión.

Los coeficientes volumétricos de absorción y dispersión ( $\alpha_\lambda$  y  $\xi_\lambda$ ) representan la fracción de la radiación incidente que es, respectivamente, absorbida o dispersada por unidad de longitud a lo largo de un paso  $\Delta S$  del haz de energía a través de la suspensión. Ambos coeficientes poseen unidades de  $m^{-1}$  y dependen tanto de la longitud de onda como de la composición del medio (Özsisik, M. N., 1973a).

Un método frecuentemente empleado para la determinación de los coeficientes  $\alpha_\lambda$  y  $\xi_\lambda$  en suspensiones de micro-partículas es la medición de la Transmitancia Normal-Normal (T-NN) (Bohren, C.F., 1998). La T-NN (Figura 1.2(a)) permite calcular el coeficiente de extinción lineal  $\beta_\lambda$ , el cual representa la pérdida de energía de un haz de luz al atravesar una suspensión. Si se toman las precauciones de elegir un paso óptico lo suficientemente delgado, que el detector tenga un ángulo de aceptación lo suficientemente estrecho y se asegura que en las condiciones de medición la dispersión múltiple sea despreciable, luego el coeficiente de extinción lineal  $\beta_\lambda$  puede obtenerse a partir de:

$$\frac{L_{NN}}{L_0} = e^{-\beta_\lambda \Delta S} \quad (1.1)$$

Donde  $L_0$  es la cantidad de energía emitida por la fuente de radiación,  $L_{NN}$  es la cantidad de energía registrada por el detector,  $\Delta S$  es el espesor de la suspensión y  $\beta_\lambda$  representa el coeficiente de extinción lineal, el cual puede relacionarse con los coeficientes  $\alpha_\lambda$  y  $\xi_\lambda$  a través de la Ecuación 1.2:

$$\beta_\lambda = \alpha_\lambda + \xi_\lambda \quad (1.2)$$

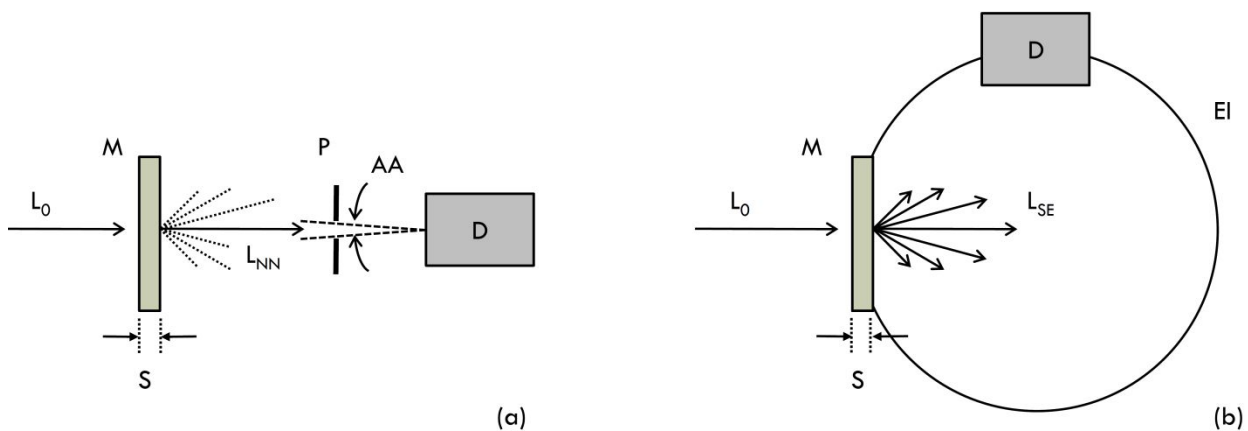
Por otro lado, el coeficiente  $\alpha_\lambda$  puede obtenerse directamente mediante la medición de la Transmitancia Semiesférica (T-SE) (Davies-Colley R.J.1983 y col.,; Davies-Colley, R.J. y col.,1986; Stramski, D. y col.,2003). La T-SE (Figura 1.2(b)), se mide empleando una esfera integradora colocada en la cara posterior de la cubeta. Esta esfera colecta toda la energía que es transmitida a través de la suspensión, sin importar su dirección, y la redirige al detector. Debido a que las suspensiones de algas dispersan la luz principalmente hacia adelante (Berberoglu, H. y col., 2007;

Berberoglu, H. y col., 2008), la atenuación de la cantidad de energía incidente registrada mediante este procedimiento es exclusivamente producto de la absorción, por lo cual:

$$\frac{L_{SE}}{L_0} = e^{-\alpha_\lambda \Delta S} \quad (1.3)$$

En este caso,  $L_{SE}$  es proporcional a la cantidad de energía registrada por el detector, correspondiente a toda la energía radiante transmitida a través de la cubeta. Finalmente, el coeficiente  $\xi_\lambda$  puede obtenerse a partir de la Ecuación 1.2 como  $\xi_\lambda = \beta_\lambda - \alpha_\lambda$ .

Aunque este método es muy habitual, deben tomarse diversas precauciones durante las mediciones y aplicarse numerosas correcciones sobre las medidas finales (Merzlyak, M.N. y col., 2000). Por ejemplo, en la T-NN, el diámetro finito del haz de energía radiante, junto con el ángulo de aceptación del detector, permiten que una cierta cantidad de radiación dispersada alcance al detector, subestimando el coeficiente de extinción lineal. Por otro lado, en la T-SE, la pérdida de radiación por las paredes laterales resulta en una sobreestimación del coeficiente de absorción.



**Figura 1.2:** Esquema del dispositivo experimental utilizado en la determinación directa de (a) el coeficiente de extinción  $\beta_\lambda$  mediante Transmitancia Normal-Normal y (b) el coeficiente absorción  $\alpha_\lambda$  a partir de la Transmitancia Semi-Esférica. D: detector; S: espesor del paso a través de la suspensión diluida de microalgas; M: muestra;  $L_0$ : haz de luz incidente; EI: esfera integradora; AA: ángulo de aceptación del detector; P:mirilla.

Otro recaudo imprescindible a tomar en este par de medidas es garantizar que prevalezca el fenómeno de dispersión simple (Bohren, C.F., 1986; Jonasz, M. y col., 2007). Para lograr esto las mediciones deben ser llevadas a cabo en suspensiones diluidas. Si se consideran los errores inherentes al método, sumado a que la estimación de los coeficientes se realiza en suspensiones diluidas que buscan reproducir condiciones de idealidad, esta técnica podría proporcionar resultados

que no sean válidos cuando el objetivo final sea modelar sistemas muy concentrados o en condiciones no ideales.

## 1.2- La función de fase.

La función de fase  $B(\hat{\underline{Q}}' \cdot \hat{\underline{Q}})$ , por su parte, caracteriza la forma en que la radiación dispersada es redistribuida entre en las direcciones  $\hat{\underline{Q}}'$  alrededor de la dirección original  $\hat{\underline{Q}}$  (Özsisik, M. N., 1973b). Numerosos autores proponen deducir analíticamente la función de fase  $B(\hat{\underline{Q}}' \cdot \hat{\underline{Q}})$  en suspensiones de microalgas aplicando la teoría de Mie (Mie G., 1908; Pottier, L. y col., 2005), en la cual la interacción entre los objetos y el campo de energía radiante se descifra en términos de índice de refracción de la suspensión, geometría e índice de refracción de la partícula, y longitud de onda de la radiación incidente. Una de las limitaciones de esta estrategia es que la teoría de Mie concierne solamente a partículas de formas simples con coeficientes de refracción homogéneos, que actúan como centros independientes de dispersión, suspendidas en un medio dieléctrico y homogéneo y, además, solo es válida para suspensiones muy diluidas e iluminadas con luz polarizada.

Cuando la luz se propaga a través del medio, son las células de microalgas las responsables de la dispersión de energía radiante. Las células de microalgas consisten en una envoltura externa transparente que contiene numerosos componentes celulares. Las formas, tamaños y propiedades ópticas de estos componentes celulares pueden llegar a ser muy disimiles (ver Tabla 1.2; Capítulo 5). De este modo, reducir el fenómeno de dispersión en suspensiones de microalgas a un problema de partículas homogéneas, con un solo índice de refracción, alejadas infinitamente unas de otras, es una restricción al modelo que podría resultar poco precisa y entregar resultados que podrían estar muy alejados de las observaciones experimentales. Incluso Ozisik, afirma que ninguna teoría es adecuada para predecir la dispersión de la radiación en suspensiones de partículas heterogéneas, y que los enfoques experimentales son la única manera de determinar las funciones de fase en tales condiciones (Özsisik, M. N., 1973a y b).

Estas dificultades matemáticas en la búsqueda de soluciones a la teoría de Mie en sistemas de partículas heterogéneas, con propiedades, formas y tamaños variables, ha llevado a numerosos autores a utilizar formas empíricas propuestas para la función de fase. De esta manera el problema se simplifica a la implementación de funciones de fases existentes (o propuestas por el autor) y el posterior ajuste de parámetros mediante optimización numérica por comparación con datos obtenidos experimentalmente (Berberoglu, H. y col., 2007a, b y c; Pilon, L. y col., 2011). No obstante, ninguna

de las funciones de fase propuestas podría ser adecuada para el sistema en estudio. Más aún, una propuesta errónea para la función de fase podría resultar en la aparición de errores sistemáticos durante resolución del campo de energía radiante en el sistema a modelar cuando se haga uso de las propiedades  $\alpha_\lambda$ ,  $\xi_\lambda$  y  $B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}})$  calculadas en esta etapa.

Para superar las dificultades matemáticas que implican las soluciones teóricas, pero evitando caer en la incorporación de errores sistemáticos, Chu y Churchill (Chu, C. M. y col., 1955) proponen expresar la función de fase  $B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}})$  como una expansión en serie de Polinomios de Legendre:

$$B_\lambda(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}) = \sum_{n=0}^{\infty} c_n P_n(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}) = \sum_{n=0}^{\infty} c_n P_n(\mu) \quad (1.4)$$

En donde  $-1 < \mu < 1$ . En la Ecuación 1.4,  $c_n$  corresponde al enésimo coeficiente que multiplica al enésimo polinomio  $P_n(\mu_0)$  de la serie, el cual está definido por la fórmula de Rodrigues según:

$$P_n(\mu) = \frac{1}{2^n n!} \frac{d^n}{d\mu^n} (\mu^2 - 1)^n \quad (1.5)$$

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

## (2) MATERIALES Y MÉTODOS.

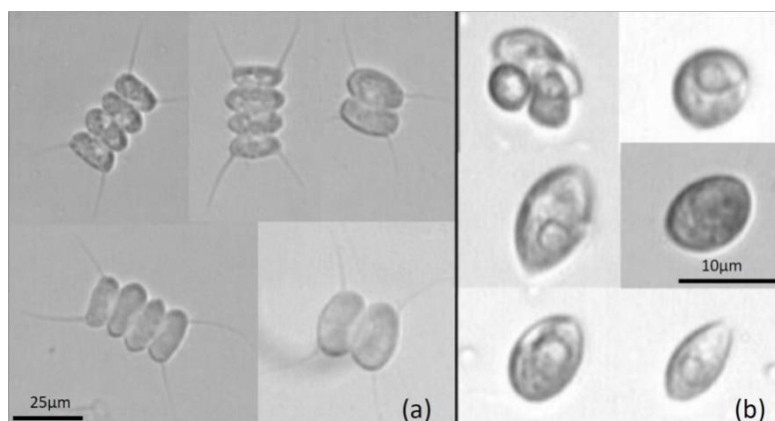
---

1.- Preparación de la muestra. Con el objetivo de caracterizar ópticamente las suspensiones de microalgas, en este trabajo se utilizaron dos cepas de microalgas como organismos modelo: *Scenedesmus quadricauda* (obtenida de Culture Collection of Algae and Protozoa, UK) y *Chlorella* sp. (gentilmente cedida por la Dr. A. M. Gagneten, FHUC, UNL). Las células de *Scenedesmus quadricauda* poseen forma casi bacilar y aparecen agrupadas en clústeres de 2 o 4 células (Figura 2.1(a)). Las células de *Chlorella* sp, por otro lado, poseen forma ovalada, asemejándose a elipses de revolución sobre el eje mayor. Para esta última cepa, la agrupación celular solo se presenta en altas concentraciones, en forma de aglomerados celulares, sin ningún patrón particular (Figura 2.1(b)).

Ambas cepas son muy importantes en la producción de biocombustibles (Halim, R. y col., 2012; Rodolfi, L. y col., 2008; Chisti, Y., 2007), sin embargo la selección de estas dos algas se debió a sus formas contrastantes, permitiendo determinar experimentalmente hasta qué punto la forma de las células es importante en el patrón de dispersión de energía radiante.

Los cultivos de ambas microalgas fueron llevados adelante de la misma manera: Erlenmeyers con 750mL de medio BG-11 (Atlas, R. M., 2005) (ver Capítulo 3, Tabla 1.1) fueron esterilizados por 15 minutos a 121° C en autoclave e inoculados con cada una de las cepas de microalgas. Los cultivos fueron crecidos axénicamente a temperatura ambiente, iluminados con luz fluorescente (Philips, 20Watts, daylight fluorescent lamp) [Intensidad de la lámpara:  $82\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{sr}^{-1}$ ], burbujeando aire atmosférico esterilizado mediante filtración ( $0.45\mu\text{m}$  pore size filter) para agitar, proveer  $\text{CO}_2$  y evitar la acumulación del  $\text{O}_2$  producido por fotosíntesis oxigénica.

Luego de alcanzar una concentración celular suficientemente alta ( $445 \text{ mg L}^{-1}$ ) las algas fueron cosechadas y resuspendidas en el mismo medio de modo de obtener una suspensión concentrada de células. La concentración de biomasa en peso seco fue determinada a través de la técnica de Sólidos Suspendidos Totales (TSS) (Eaton, A. D., 2005).



**Figura 2.1:** Microscopías de las dos especies de microalgas utilizadas en este trabajo: (a) *Scenedesmus quadricauda* y (b) *Chlorella* sp.

2.- Determinación de Sólidos Suspendidos Totales. Las células contenidas en una alícuota de 50mL de la solución concentrada fueron retenidas mediante un filtro de fibra de vidrio ( $0,45\mu\text{m}$ ), lavadas con agua destilada para retirar los restos de medio de cultivo y secadas en estufa a  $100^\circ \text{C}$  durante 1 hora. La biomasa celular fue reportada en gramos de biomasa seca por litro de medio de cultivo [ $\text{gDW L}^{-1}$ ].



<b>Tabla 2.1:</b> Concentración de clorofila y biomasa en las suspensiones madre de microalgas		
Especie de microalga	<i>Chlorella sp.</i>	<i>Scenedesmus quadricauda.</i>
Concentración de Biomasa [gDW L <sup>-1</sup> ]	1.650	1.355
Clorofila [mg gDW <sup>-1</sup> ]	47.4	57.8

3.- Determinación de la concentración de clorofila en la muestra. El contenido total de clorofila fue determinado utilizando la técnica reportada por Ritchie (Ritchie, R. J., 2008). Las células en una alícuota de la suspensión concentrada fueron centrifugadas, resuspendidas en agua destilada y centrifugadas nuevamente para eliminar el medio de cultivo. La clorofila fue extraída con alcohol metílico a 80° C durante 5 minutos. El contenido de clorofila fue calculado a partir de la absorbancia a 632, 652 y 665nm, utilizando los coeficientes de absorción reportados en el mismo trabajo.

5.- Preparación de la soluciones diluidas. A partir de la suspensión concentrada fueron preparadas diluciones de 1/5, 2/25 y 1/25. La concentración celular y el contenido de biomasa se reportan en la Tabla 2.1.

### **(3) PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL: MEDICIÓN DE LA TRANSMITANCIA DIRECTA, DIFUSA Y REFLECTANCIA DIFUSA.**

---

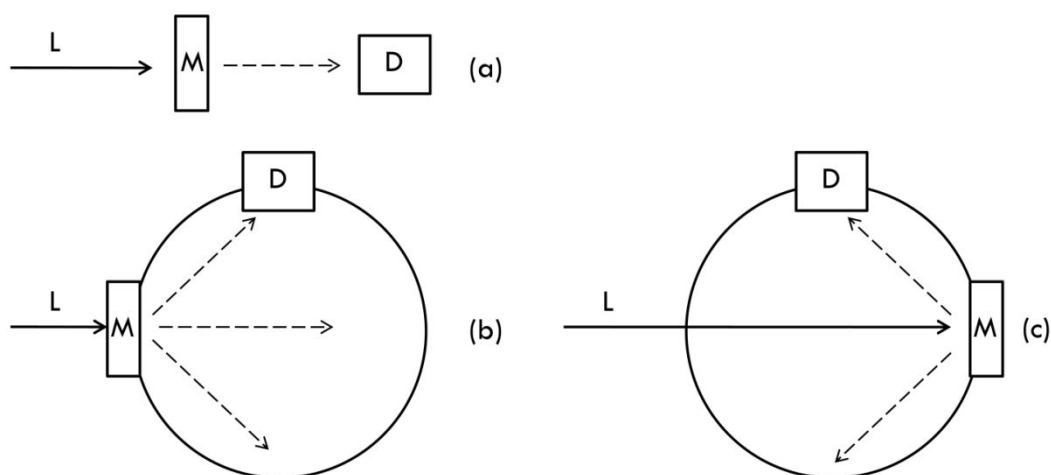
Como se mencionó con anterioridad, para calcular los coeficientes  $\alpha_\lambda$  y  $\xi_\lambda$  mediante las determinaciones T-NN y T-SE es necesario trabajar en condiciones de idealidad, en suspensiones muy diluidas y despreciar el aporte de alguno de los fenómenos sobre la medida efectuada. Para evitar realizar este tipo de hipótesis y poder medir las propiedades ópticas de las suspensiones en condiciones reales, semejantes a las de cultivo en gran escala, se diseñó una serie de experimentos que en conjunto permiten determinar los coeficientes  $\alpha_\lambda$  y  $\xi_\lambda$ ; y los parámetros de la expansión en serie de la función de fase  $B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}})$ .

Los ensayos consisten en determinar la forma en la cual la energía radiante de un haz de luz se redistribuye en diferentes direcciones durante su paso a través de una suspensión de microalgas de concentraciones de biomasa y clorofila conocidas. Las tres medidas complementarias e independientes, fueron denominadas transmitancia lineal (TL), transmitancia difusa (TD) y

reflectancia difusa (RD) (Figura 3.1). La TL mide la relación entre la energía radiante incidente  $L_0$  y la transmitida a través de la cubeta que incide sobre el detector colocado en la cara posterior de la cubeta. La TD mide la relación entre  $L_0$  y la energía transmitida a través de la cara opuesta de la cubeta. La RD mide la relación entre  $L_0$  y la energía que fluye a través de la cara anterior de la cubeta.

El equipo utilizado es un espectrofotómetro Optronic OL series 750, utilizando el accesorio Esfera Integradora OL 740-70 para las determinaciones *TD* y *RD*. Las mediciones se realizaron independientemente cada 10 nm de longitud de onda en el rango 400 a 700nm. En todos los ensayos el haz de energía incidente fue de sección circular con 5mm de diámetro. La muestra fue colocada en una cubeta plástica transparente de poliestireno, de sección cuadrada, con 10mm de lado y de 45mm de altura. En todas las determinaciones se utilizó agua destilada como blanco ya que, al igual que el agua, el medio de cultivo es totalmente transparente a la energía radiante en el rango 400 a 700nm.

La TL espectral fue medida con la muestra colocada entre la fuente y el detector (Figura 3.1(a)). El detector utilizado posee un ángulo de aceptación suficientemente grande para captar toda la energía radiante emergente desde la cara posterior de la cubeta. Como se mencionó con anterioridad, ningún recaudo fue tomado para eliminar la radiación dispersa. Las TL y RD fueron hechas con el mismo espectralradiómetro, utilizando una esfera integradora OL 740-70 dispuesta como se muestra esquemáticamente en las Figuras 3.1(b) y 3.1(c). Las paredes de la esfera integradora están recubiertas de poli-tetrafluoroetileno (PTFE) para asegurar la reflexión difusa total .



**Figura 3.1:** Representación esquemática de las configuraciones del detector para la determinación experimental de las propiedades ópticas.. (a)- Transmitancia directa; (b)- Transmitancia difusa y (c)- Reflectancia difusa. S: muestra, D: detector, AA: ángulo de aceptación de detector, y B: haz de luz colimado monocromático.

#### (4) SIMULACIÓN COMPUTACIONAL DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL Y PROGRAMA DE OPTIMIZACIÓN.

---

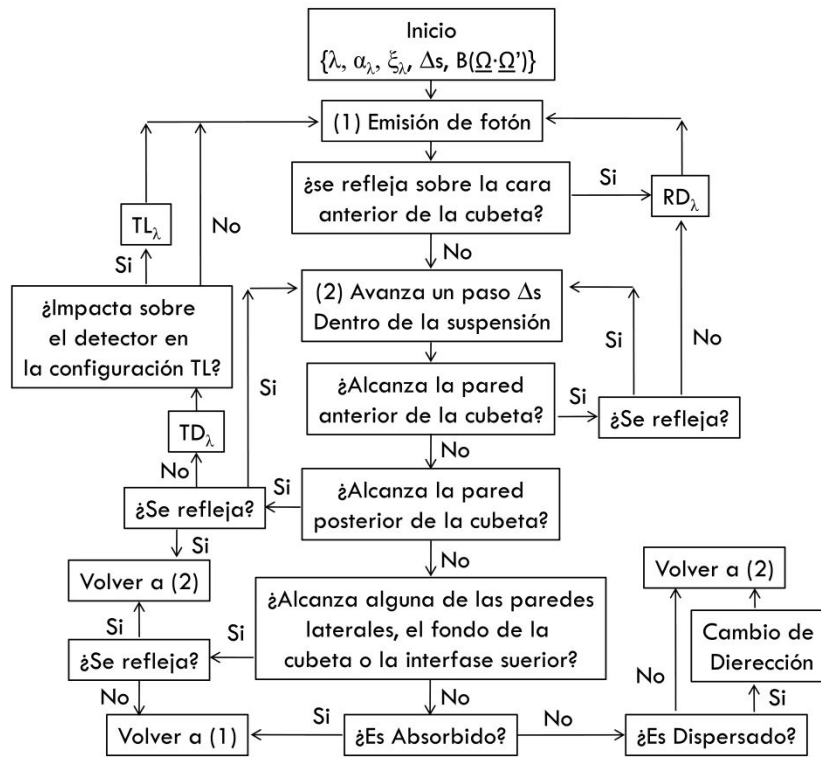
El algoritmo de simulación computacional fue escrito enteramente en lenguaje Fortran 90, utilizando el editor/compilador Force, versión 2.0. El programa de simulación del campo de energía radiante dentro de la suspensión se describe en forma de pseudocódigo esquemáticamente en el Anexo.

En condiciones muy distantes de aquéllas consideradas ideales, ningún experimento permite determinar directamente los parámetros  $\alpha_\lambda$ ,  $\xi_\lambda$  o  $B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}})$ , sino que el resultado de la medición es producto de la contribución de todos los efectos. El método de simulación del campo de energía radiante desarrollado en capítulos anteriores permite reproducir computacionalmente la forma en que estos fenómenos intervienen para redistribuir luz a través de la suspensión, sin embargo, la aplicación del mismo requiere que se conozcan previamente los valores de  $\alpha_\lambda$ ,  $\xi_\lambda$  y  $B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}})$ .

De este modo para aplicar el método de simulación en la determinación de los coeficientes de absorción y dispersión y la función de fase, el módulo de simulación fue anidado como una subrutina a un programa de optimización: Algoritmo Genético (AG) (Deb, K., 2001; Rezende, M. C. y col., 2008). El programa principal de optimización provee a la subrutina de simulación con sucesivos valores para los parámetros característicos de cada muestra que estamos intentando determinar. El módulo de simulación reproduce computacionalmente el procedimiento experimental y devuelve al algoritmo de optimización el resultado hipotético para los valores  $TL^{MC}$ ,  $TD^{MC}$  y  $RD^{MC}$ . Para asignar al conjunto provisional de parámetros  $\alpha_\lambda$ ,  $\xi_\lambda$  y  $B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}})$  un grado de precisión, el programa de optimización compara, mediante una función objetivo, los valores simulados y los obtenidos experimentalmente. Cuando los valores  $TL^{MC}$ ,  $TD^{MC}$  y  $RD^{MC}$  obtenidos por simulación y aquellos registrados experimentalmente ( $TL^{Exp}$ ,  $TD^{Exp}$  y  $RD^{Exp}$ ) sean iguales, habremos encontrado el valor para  $\alpha_\lambda$ ,  $\xi_\lambda$  y los coeficientes incluidos en la expansión de  $B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}})$  que caracterizan a esa suspensión.

La subrutina de simulación reproduce el campo de energía radiante en el sistema que incluye la cubeta de poliestireno llena con las suspensiones de microalgas, devolviendo los valores provisorios de las mediciones experimentales  $TL^{MC}$ ,  $TD^{MC}$  y  $RD^{MC}$ . Esta rutina de simulación reproduce el procedimiento experimental emitiendo sucesivamente un número suficientemente grande de fotones, simulando su trayectoria dentro del sistema cubeta-suspensión y determinando la fracción de fotones

que emergen por la cara anterior ( $RD^{MC}$ ), por la cara posterior ( $TD^{MC}$ ) y la fracción de los mismos que impacta sobre la superficie virtual que representa al detector colocado según se muestra esquemáticamente en la Figura 3.1 ( $TL^{MC}$ ).



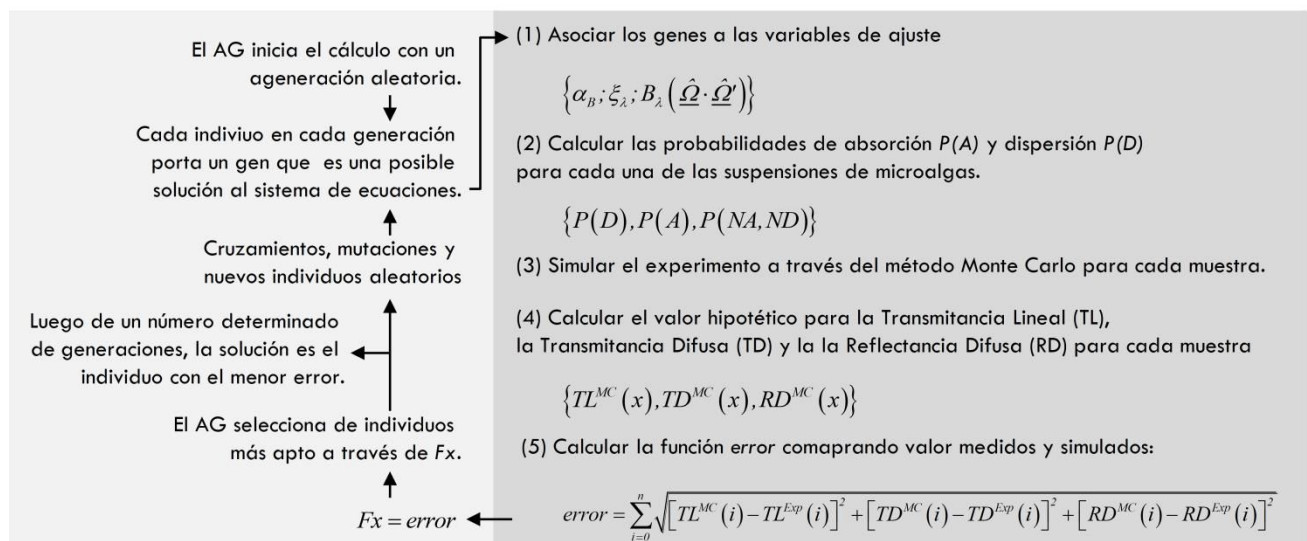
**Figura 4.1:** Esquema del programa de simulación para el procedimiento experimental a partir del cual se determinaron los valores de la Transmitancia Directa, Difusa y Reflectancia Difusa. Los resultados de a simulación dependen tanto de la muestra, como de la longitud de onda del haz de luz incidente.

La simulación computacional (ver Figura 4.1) comienza con la generación de un fotón de longitud de onda  $\lambda$ , con dirección inicial  $\hat{\Omega}$  horizontal, establecida de acuerdo a las características de emisión de la fuente de radiación. El primer evento en el trayecto del fotón es el impacto sobre la cara anterior de la cubeta. Sobre esta cara el fotón puede ser reflejado o refractado al interior de la suspensión. La probabilidad de reflexión se calcula a partir de la reflectividad, según se detalla en el Anexo. En caso de ser reflectado el fotón contribuye al valor de la  $RD^{MC}$ . Dentro de la suspensión el camino del fotón se simula según la metodología desarrollada en el Capítulo anterior; considerando los eventos posibles de Absorción y Dispersión. Si en su camino el fotón se encuentra con alguno de los límites de la cubeta, se consideran la probabilidad de reflexión sobre la misma. Si sobre este límite el fotón no es reflejado, el mismo abandona la cubeta. Si el fotón sale por la cara anterior el mismo contribuye a la  $RD^{MC}$ . Si sale por la cara posterior contribuye a  $TD^{MC}$ . Además, en este último caso, es necesario calcular si la dirección del mismo está incluida en el ángulo sólido del detector, colocado según la configuración  $TL$ ; en tal caso también contribuye a la  $TL^{MC}$ . Luego de un número

suficiente ente grande de fotones emitidos, los valores  $TD^{MC}$ ,  $TL^{MC}$  y  $RD^{MC}$  se calculan como el número de fotones que han contribuido a cada una de las respectivas medidas, sobre el número total de fotones emitidos.

#### 4.1- El programa de optimización: Algoritmo Genético.

El AG (Deb, K., 2001; Rezende, M. C. y col., 2008), es un algoritmo de optimización estocástico de búsqueda global que funciona proveyendo aleatoriamente valores tentativos o provisorios de parámetros desconocidos para la resolución de un sistema de ecuaciones (ver Capítulo 2). En este caso, los valores desconocidos son los coeficientes volumétricos espectrales de absorción  $\alpha_\lambda$  y dispersión  $\xi_\lambda$  y los parámetros incluidos en la expansión en serie de la función de fase de la dispersión  $B(\hat{\underline{\Omega}}; \hat{\underline{\Omega}})$ . Estos coeficientes dependen tanto de la dilución realizada a la suspensión, como de la longitud de onda con la cual se ilumina la suspensión  $\lambda$ . En la Figura 4.2 se detalla el esquema del sistema de cálculo desarrollado.



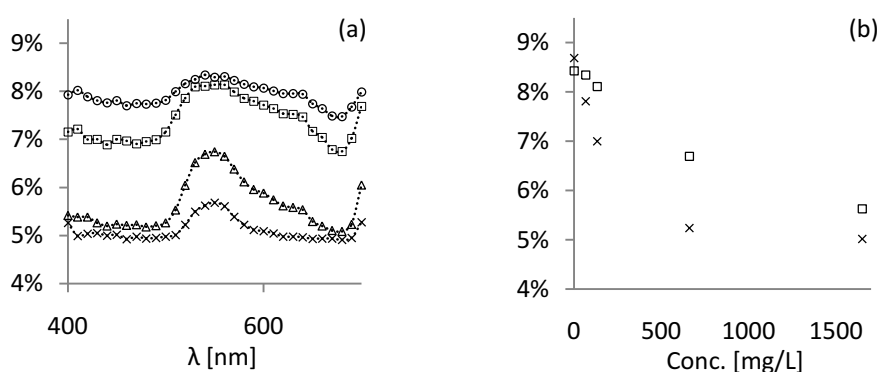
**Figura 4.2:** Esquema de cálculo del programa de optimización Algoritmo Genético utilizado para la determinación de los parámetros ópticos a partir de las medidas experimentales. El esquema de simulación por Monte Carlo del procedimiento experimental se encuentra detallado en la Figura 4.1

## (5) RESULTADOS DE LAS DETERMINACIONES EXPERIMENTALES.

Los resultados de las determinaciones experimentales para diferentes suspensiones de *Chlorella* sp. se muestran en las Figuras 5.1 a 5.3. Aunque no se presentan, los resultados obtenidos para la cepa

de *S. quadricauda* son similares y siguen casi el mismo patrón. En la Figura 5.1(a) puede verse que el valor que toma la reflectancia difusa decrece a medida que la concentración de microalgas aumenta, esta atenuación, además, es más pronunciada en aquellas longitudes de onda en donde ocurre la absorción fotosintética de energía radiante. En la Figura 5.1(b), puede observarse que el valor de  $RD^{Exp}$  para concentraciones muy diluidas de microalgas es casi idéntico al valor de  $RD^{Exp}$  medida para la cubeta llena con agua. Cuando la cubeta se encuentra llena con agua, sus dos caras transversales al haz de radiación contribuyen al valor registrado de la reflectancia difusa. Por otro lado, cuando la suspensión de microalgas es muy concentrada, el valor de  $RD^{Exp}$  es similar al valor de la reflectividad sobre la primer cara de la cubeta.

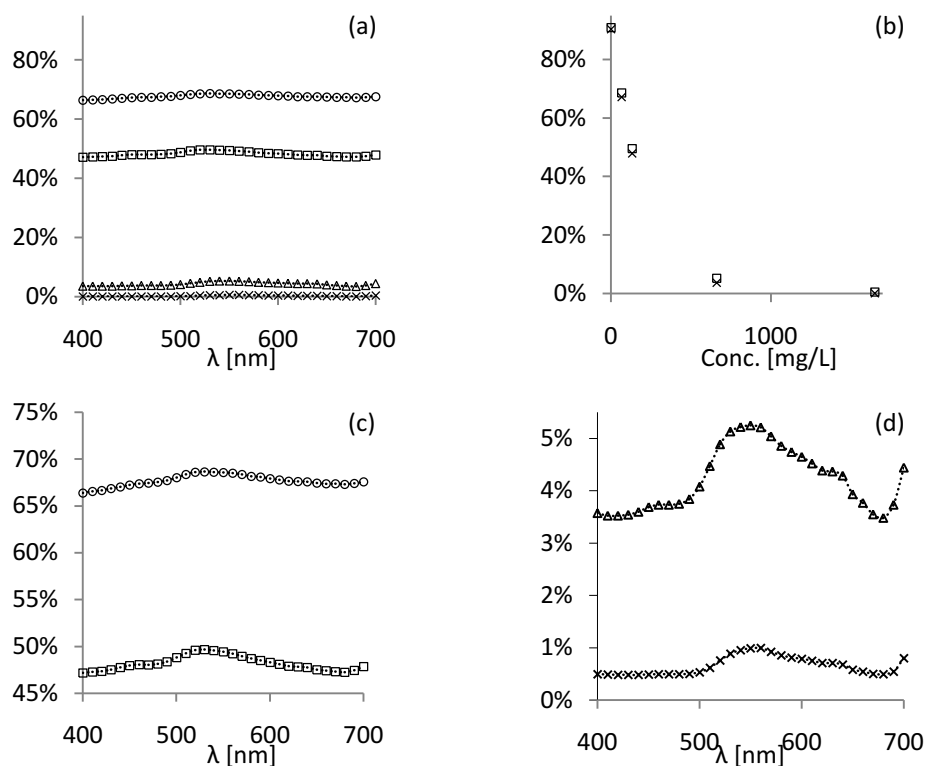
Los antecedentes bibliográficos indican que la función de fase en suspensiones de microalgas es no-isotrópica y que la misma favorece principalmente la dispersión de la luz en las direcciones hacia adelante en el fenómeno dispersivo (Berberoglu, H. y col., 2008; Berberoglu, H. y col., 2007; Pilon, L., 2011). Así, cuando la concentración de biomasa es baja, la dispersión múltiple es insignificante y la disminución en el valor medido de  $RD^{Exp}$  con el incremento de la concentración de biomasa se debe al aumento de la absorción de energía radiante durante el paso del haz de luz a través de la solución hasta alcanzar la cara posterior de la cubeta y en su camino de regreso hacia la cara anterior luego de ser reflejada. Cuando la concentración de biomasa es alta, el valor de  $RD^{Exp}$  tiende al valor de la reflectancia sobre la primer cara de la cubeta. Esta tendencia se debe a que cuando la concentración celular es alta, la absorción de fotones es también elevada compitiendo con la posibilidad de ocurrencia de múltiple dispersión que redireccione los fotones hacia la cara anterior de la cubeta.



**Figura 5.1:** (a)- Reflectancia Difusa en función de la longitud de onda para cuatro concentraciones de microalgas {1.650gDW L<sup>-1</sup> (x), 0.660 gDW L<sup>-1</sup> (Δ), 0.132 gDW L<sup>-1</sup> (□) and 0.066 gDW L<sup>-1</sup> (o)}; (b)- Reflectancia Difusa en función de la concentración de biomasa para las longitudes de onda 450nm (x) y 540 nm (□)

Por su parte,  $TL^{Exp}$  decae con el aumento en la concentración de biomasa en forma casi exponencial (Figura 5.2(b)).  $TL^{Exp}$  muestra una dependencia con la longitud de onda en todo el rango de

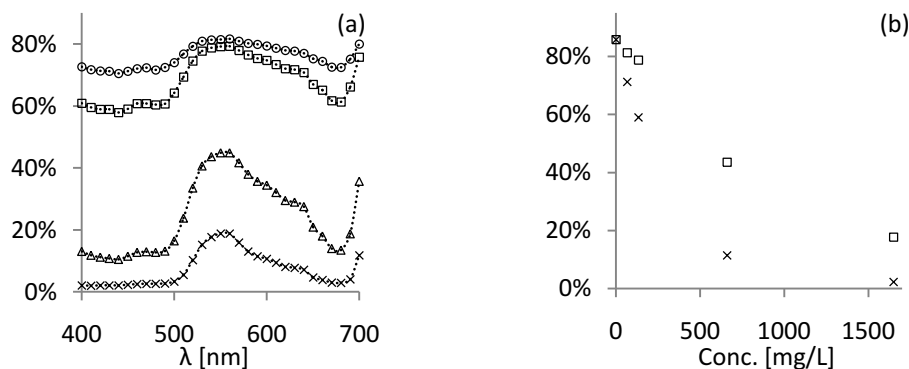
concentraciones (Figura 5.2(a)). La diferencia en los valores obtenidos para  $TL^{Exp}$  entre longitudes de onda fotosintéticamente útiles y no fotosintéticamente útiles se vuelve casi imperceptible cuando la concentración de biomasa es elevada. Cuando la concentración es baja, la diferencia se debe a la absorción de energía radiante, a medida que la concentración de células en suspensión aumenta, esta diferencia se torna más pequeña debido a que la dispersión de energía se vuelve el efecto dominante. La dispersión de energía radiante reduce la relación entre el valor de la energía medida como  $TL^{Exp}$  y la energía portada por el haz de luz incidente a medida que la concentración de algas aumenta, suavizando de esta manera la dependencia de  $TL^{Exp}$  con la longitud de onda debido a la absorción selectiva de fotones.



**Figura 5.2:** (a) Transmitancia Directa en función de la longitud de onda para cuatro concentraciones de microalgas { 1.650gDW L<sup>-1</sup> (x), 0.660 gDW L<sup>-1</sup> (Δ), 0.132 gDW L<sup>-1</sup> (□) y 0.066 gDW L<sup>-1</sup> (o) ; (b) Transmitancia Directa en función de la concentración de biomasa para las longitudes de onda 450nm (x) y 540 nm (□). (c y d) Ampliaciones de la Figura 5.3(a).

Por último,  $TD^{Exp}$  decrece sostenidamente con la concentración de biomasa, pero esta tendencia es claramente dependiente de la longitud de onda de la radiación incidente (Figuras 5.3(a) y 5.3(b)). Como es esperado, la atenuación en el valor medido como  $TD^{Exp}$  es más pronunciada en aquellas longitudes de onda donde los pigmentos fotosintéticos son capaces de absorber energía radiante. Como en el caso de  $TL^{Exp}$ , los haces de luz emergentes desde la cara posterior de la suspensión han sido dispersados en múltiples direcciones. Para el caso de  $TD^{Exp}$ , el fenómeno de dispersión de

energía radiante no tiene un efecto significativo sobre la medida experimental, aumentando así la dependencia espectral de  $TD^{Exp}$  con la longitud de onda debido a la absorción selectiva de radiación.



**Figura 5.3:** (a)- Transmitancia Difusa en función de la longitud de onda para cuatro concentraciones de microalgas {1,650gDW L<sup>-1</sup> (x); 0,660 gDW L<sup>-1</sup> (Δ); 0,132 gDW L<sup>-1</sup> (□) y 0,066 g L<sup>-1</sup> (o)}; (b)- Transmitancia Difusa en función de la concentración de biomasa para las longitudes de onda 450nm (x) y 540 nm (□) wavelengths.

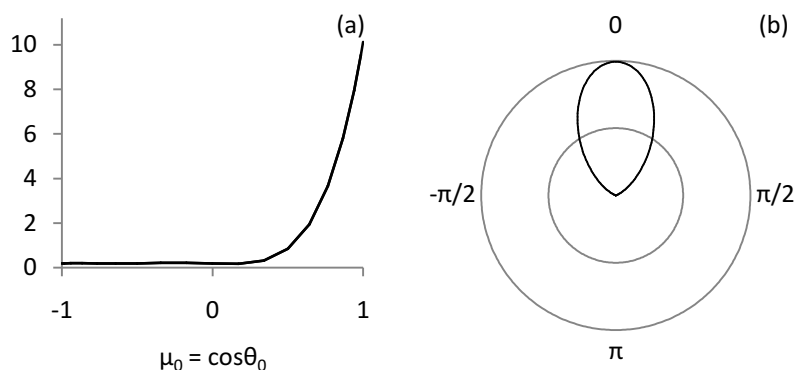
## (6) REGRESIÓN DE LOS COEFICIENTES DE ABSORCIÓN Y DISPERSIÓN DE ENERGÍA RADIANTE.

El programa de optimización (AG) provee a la subrutina de simulación por Monte Carlo valores provisorios para los coeficientes de absorción y dispersión, y para los parámetros incluidos en la expansión en serie de Legendre de la función de fase de la dispersión. Esta subrutina calcula los resultados hipotéticos de las determinaciones  $TL^{MC}$ ,  $TD^{MC}$  y  $RD^{MC}$ , devolviendo el valor correspondiente para la función error al programa principal de optimización, el cual minimiza la diferencia entre los datos experimentales ( $TL^{Exp}$ ,  $TD^{Exp}$  y  $RD^{Exp}$ ) con aquellos predichos por el programa estocástico de simulación.

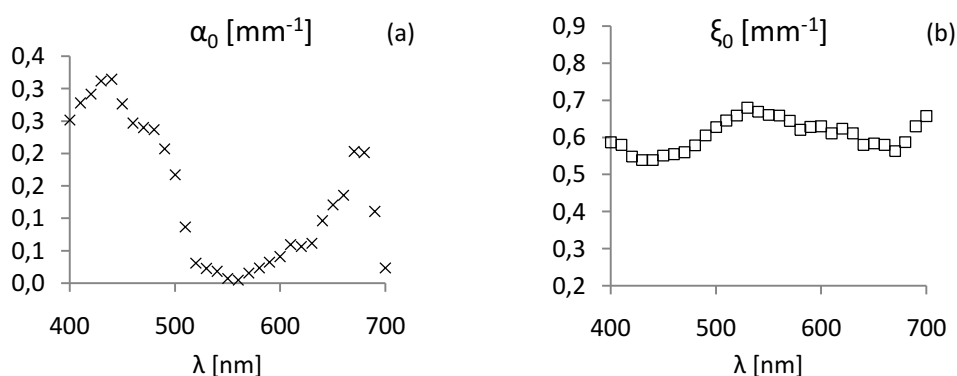
<b>Tabla 6.1:</b> Parámetros ópticos para la suspensión de microalgas más concentrada de la cepa <i>Chlorella sp.</i> (1,65g L <sup>-1</sup> ) para 450nm	
Parámetro	Valor
C <sub>1</sub>	2,496
C <sub>2</sub>	2,852
C <sub>3</sub>	2,173
C <sub>4</sub>	1,107
C <sub>5</sub>	0,302
$\zeta_{450}^0$	0,552
$\alpha_{450}^0$	0,276



Diferentes fuentes bibliográficas señalan que la función de fase de la dispersión en suspensiones de celulares pueden ser modeladas mediante la función de fase de Henyey-Greenstein (Berberoglu, H. y col., 2007a y b, 2008; Pilon, L. y col., 2011). La aptitud del modelo de Henyey-Greenstein de predecir los resultados obtenidos experimentalmente fue evaluada durante este trabajo. Sin embargo, la precisión de los resultados obtenidos no fue aceptable. Para revertir esta situación, se siguió la estrategia definida por Chu y Churchill (Chu, C. M. y col., 1955). La función de fase de la dispersión fue expandida como una serie de polinomios de Legendre en función del coseno del ángulo de dispersión, la cual garantiza la convergencia con la función correcta en cualquier punto en el intervalo  $-1 < (\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}) < 1$  si se incluye un número suficiente de términos en la expansión. Como veremos más adelante, seis términos en la expansión son suficientes para reproducir las mediciones experimentales con un error numéricamente aceptable.



**Figura 3.9:** Función de fase obtenida a partir de la expansión en serie de Legendre, considerando el conjunto de coeficientes detallados en la Tabla 6.1. (a)  $B$  vs.  $\mu_0$ , (b)  $B$  vs.  $\theta_0$  en coordenadas polares.

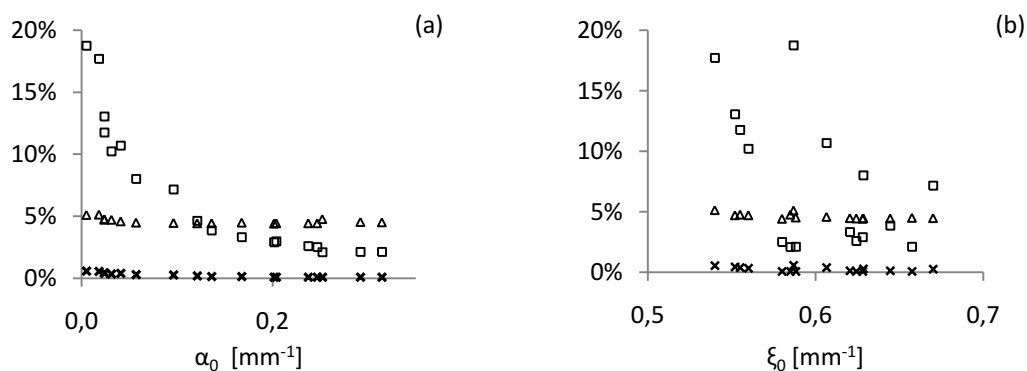


**Figura 3.10:** (a)  $\alpha_\lambda^0$  coeficiente espectral de absorción de energía radiante en función de la longitud de onda  $\lambda$  (b)  $\xi_\lambda^0$  coeficiente espectral de dispersión de energía radiante en función de la longitud de onda  $\lambda$ . Ambos corresponden a una suspensión con  $1,65 \text{ g L}^{-1}$  de *Chlorella sp.*

El conjunto de parámetros de ajuste obtenidos para la expansión en serie de la función de fase de la suspensión más concentrada de *Chlorella sp.* ( $1,65 \text{ g L}^{-1}$ ) a  $450 \text{ nm}$  se resume en la Tabla 6.1, junto

con el valor de los coeficientes de absorción y dispersión de energía radiante con igual longitud de onda, para la misma suspensión. En la Figura 6.1 se muestra la dependencia de la función de fase con el coseno del ángulo de dispersión (Figura 6.1(a)) y, en coordenadas polares, con el ángulo de dispersión (Figura 6.1(b)).

Los coeficientes de absorción y dispersión de energía radiante y los parámetros para la expansión en polinomios de Legendre de la función de fase fueron obtenidos cada  $10nm$  en el intervalo  $400$  a  $700nm$  para cada una de las cuatro concentraciones de microalgas. La variación del coeficiente espectral de absorción  $\alpha_\lambda$  mostró el resultado esperado, presentando los mayores valores en aquellas longitudes en las cuales se presenta la absorción de energía radiante por parte de los pigmentos fotosintéticos (Figura 6.2(a)). La clorofila libre muestra dos picos de absorción pronunciados:  $435$  y  $676nm$  para la clorofila-a y  $475$  y  $650nm$  para la clorofila-b (Heldt, H. W., 2004a y b). Estos picos están ensanchados en los resultados obtenidos para las suspensiones de microalgas debido a que, en este caso, los cromóforos se encuentran ligados a proteínas que desplazan los picos de absorción, al punto de solapar las gráficas, suavizando el espectro de transmisión (Figura 5.3(a)) (Heldt, H. W., 2004a y b; Masojidek, J., M. y col., 2005). Por la misma razón, los picos en los coeficientes de absorción están suavizados en la gráfica del coeficiente de absorción  $\alpha_\lambda$  en función de longitud de onda  $\lambda$  (Figura 6.2(a)).



**Figura 6.3:** Valores Experimentales de Transmitancia Lineal ( $\times$ ), Transmitancia Difusa ( $\square$ ) y Reflectancia Difusa ( $\Delta$ ) para la suspensión con  $1,65g L^{-1}$  de *Chlorella sp.* (a) En función del coeficiente espectral de absorción de energía radiante obtenido por ajuste numérico. (a) En función del coeficiente espectral de dispersión de energía radiante obtenido por ajuste numérico.

En la Figura 6.3(a) puede observarse que los valores de  $TL^{Exp}$ ,  $TD^{Exp}$  y  $RD^{Exp}$  medidos experimentalmente decrecen sostenidamente a medida que el valor del coeficiente de absorción de energía radiante aumenta, independientemente del valor de la longitud de onda dentro del rango  $400$

a  $700\text{nm}$ . Por otro lado, cuando los valores experimentales de las mismas mediciones se grafican en función del coeficiente de dispersión (Figura 3.3(b)) no es posible distinguir ningún patrón definido. Esto indica que la absorción de fotones juega un papel importante en la definición de los valores experimentales obtenidos. Más aun, podríamos decir que el valor de estos resultados depende de la longitud de onda principalmente a través del coeficiente de absorción. Como el valor medido experimentalmente es también dependiente del coeficiente de dispersión y de la forma de la función de fase, el corolario es que estas dos últimas propiedades son casi independientes de la longitud de onda. Más aún, los resultados descritos en la Figura 6.3(b) corroboran esta hipótesis para el caso del coeficiente de dispersión.

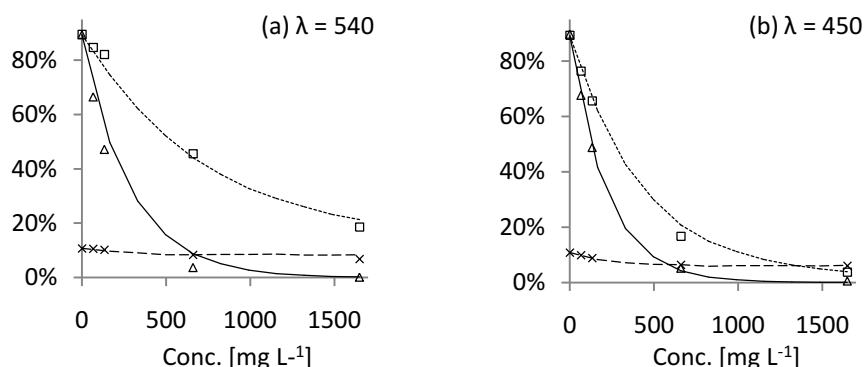
La captación de luz es una de las claves de la fotosíntesis. El primer evento es la absorción de luz por los pigmentos fotosintéticos. El principal pigmento fotosintético en plantas y algas verdes es la clorofila-*a*, la cual se encuentra alojada sobre la membrana tilacoidal, dentro de los cloroplastos. Además de los cloroplastos, las microalgas poseen diversas organelas y componentes intracelulares, los cuales poseen diversos tamaños, formas y propiedades ópticas. En la Tabla 1.2 del Capítulo 5, se presentó ilustrativamente una lista breve de componentes celulares junto con su "size factor" calculado de acuerdo a Özisik (Özisik, M. N., 1973a).

Abordar en forma teórica el problema de la dispersión de energía radiante, incorporando todas las variables intervinientes en una forma manejable, acarrea la necesidad de realizar simplificaciones rigurosas y, además, cuestionables respecto a los centros de dispersión. En particular, cuando las algas son simplificadas a partículas esféricas de igual tamaño, compuestas de un solo material homogéneo, con propiedades físicas uniformes; asumiéndose que estas son los centros de dispersión, se está ignorando el efecto sobre la dispersión de los componentes intracelulares, cuyos tamaños, formas y propiedades ópticas pueden ser muy heterogéneas.

En este trabajo hemos propuesto un modelo físico simplificado para la interacción entre el campo de energía radiante y la suspensión celular. El modelo propuesto se basa en asumir a la suspensión de microalgas como un medio continuo, en el cual las partículas complejas suspendidas que causan la dispersión de energía radiante han sido reemplazadas por centros de absorción o dispersión homogéneamente dispersos en forma aleatoria dentro de la suspensión.

Los valores experimentales y aquellos predichos por la simulación mediante el método de Monte Carlo para las determinaciones  $TL$ ,  $TD$  y  $RD$  para las diferentes suspensiones de *Chlorella sp.* (preparadas a partir de la solución concentrada,  $1,67\text{gr L}^{-1}$ ) se muestran en las Figuras 6.4(a) (para  $540\text{nm}$ ) y 6.4(b) (para  $450\text{nm}$ ). En este caso se asumió que los coeficientes de absorción y dispersión

varían linealmente con la dilución, y que la función de fase de la dispersión puede considerarse constante en el rango 400 a 700nm. Como puede verse en dichas gráficas, estas aproximaciones resultan en una buena aproximación entre los datos experimentales y los resultados de la simulación.



**Figura 6.4:** Resultados de la simulación por Monte Carlo utilizando los parámetros de ajuste (líneas) y las medidas experimentales (puntos) de  $TL$ ,  $TD$  y  $RD$  en función de la concentración de biomasa para *Chlorella sp.* ( $\Delta$ , -) Trasmismitancia Directa, ( $\times$ , -) Reflectancia Difusa y ( $\square$ , -) Trasmismitancia Difusa. (a) 540nm. (b) 450nm. Los parámetros de la simulación son  $\xi_{540}^0 = 0,671 \text{ mm}^{-1}$ ;  $\xi_{450}^0 = 0,552 \text{ mm}^{-1}$ ;  $\alpha_{540nm}^0 = 0,024 \text{ mm}^{-1}$  y  $\alpha_{450nm}^0 = 0,292 \text{ mm}^{-1}$ .

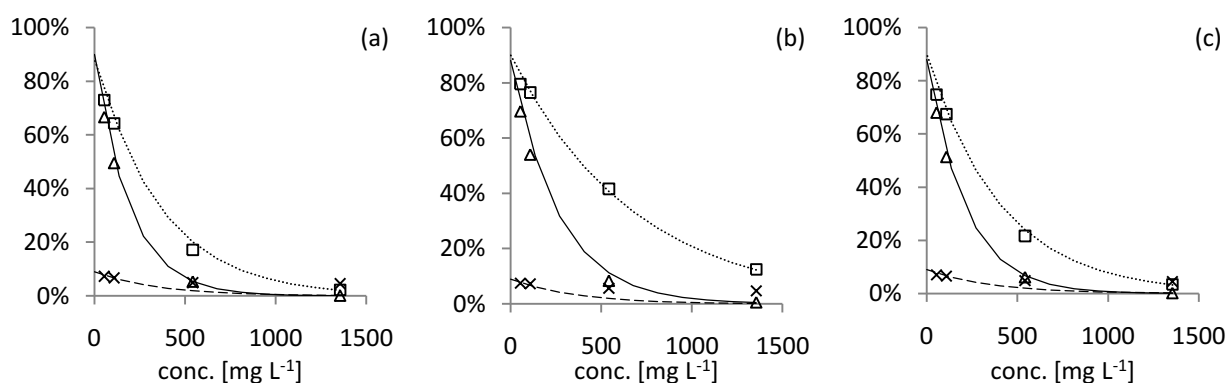
La energía radiante absorbida por el sistema fotosintético está restringida a longitudes de onda incluidas en los rangos 400 a 500nm y 620 a 690nm del espectro electromagnético. La absorción de energía radiante en estas regiones está principalmente mediada por las clorofilas. Carotenoides y ficobilinas (en cianobacterias y algas rojas) son pigmentos accesorios que son producidos por las microalgas para proteger al sistema fotosintético del daño producido por exceso de radiación, condición que es preciso evitar en FBR destinados a la producción de materias primas para la industria de biocombustibles. En algas verdes, estos pigmentos no transfieren energía al centro de reacción y la producción celular de los mismos se limita a condiciones de crecimiento desfavorables (p.ej., deficiencia de nutrientes, temperaturas extremas, alta irradiancia) (Masojidek, J. y col., 2005). Considerando que el contenido celular de clorofila depende de las condiciones de cultivo y, que en las condiciones de cultivo que emplearemos la expresión de pigmentos accesorios es baja, relacionamos el coeficiente espectral volumétrico de absorción con la concentración de clorofila en el medio de cultivo. Las siguientes relaciones lineales se propusieron para correlacionar los resultados obtenidos para las cuatro suspensiones de *Chlorella sp.* preparadas por dilución de una suspensión madre como fue explicado previamente (ver Tabla 2.1).

$$\xi_{\lambda} \left[ \frac{1}{\text{mm}} \right] = \xi_{\lambda}^{DW} \left[ \frac{\text{L}}{\text{mgDW mm}} \right] x \left[ \frac{\text{mgDW}}{\text{L}} \right] \quad (6.1)$$

$$\alpha_{\lambda} \left[ \frac{1}{\text{mm}} \right] = \alpha_{\lambda}^{Chl} \left[ \frac{\text{L}}{\text{mg mm}} \right] Chl \left[ \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right] \quad (6.2)$$

Donde  $\xi_\lambda$  es el coeficiente de dispersión de energía radiante con longitud de onda  $\lambda$  para una suspensión de microalgas con una concentración celular igual a  $x$  y  $\xi_\lambda^{DW}$  es el coeficiente específico de dispersión para la misma longitud de onda referido a una concentración de biomasa en base seca igual a  $1 \text{ gr L}^{-1}$ . Asimismo,  $\alpha_\lambda$  es el coeficiente de absorción de energía radiante para esa longitud de onda, para una suspensión de microalgas con una concentración de clorofila igual a  $Chl$  y  $\alpha_\lambda^{Chl}$  es el coeficiente específico de absorción para la misma longitud de onda referido a una concentración de clorofila igual a  $1 \text{ mgr L}^{-1}$ .

Para validar las hipótesis hechas en este capítulo respecto a: (1) que la forma y tamaño de las células de microalgas posee un efecto mínimo en lo que respecta al coeficiente de dispersión y la forma de la función de fase; (2) que el coeficiente de dispersión puede ser relacionado linealmente con la concentración de células expresada en gramos de biomasa seca por litro de medio de cultivo, independientemente de la especie de microalgas; y (3) que el coeficiente de absorción espectral puede correlacionarse con la concentración de clorofila expresada en  $\text{mg L}^{-1}$ , siempre que se eviten condiciones en las cuales se expresen pigmentos accesorios, procedimos de la siguiente forma: utilizando el conjunto de parámetros para la expansión en polinomios de Legendre de la función de fase detallados en la Tabla 6.1, y los coeficiente espectrales específicos de absorción y dispersión obtenidos para la cepas de *Chlorella sp.*; se determinaron por simulación numérica mediante la utilización de la subrutina basada en el método de Monte Carlo los resultados hipotéticos de las mediciones  $TL$ ,  $TD$  y  $RD$  para las cuatro suspensiones de *S. quadricauda* preparados de acuerdo a la metodología mencionada.



**Figura 6.5:** Resultados de la simulación por Monte Carlo utilizando los parámetros de ajuste (líneas) obtenidos para la cepa *Chlorella sp.* y las medidas experimentales obtenidas para *Scenedesmus quadricauda* (puntos) de  $TL$ ,  $TD$  y  $RD$  en función de la concentración de biomasa. ( $\Delta$ ,—)  $TL$ , ( $\times$ ,-- )  $RD$  y ( $\square$ ,···)  $TD$ . Los parámetros de la simulación son  $\alpha_{450nm} = 3,53 \cdot 10^{-3} \text{ mm}^{-1}$  y  $\xi_{450nm} = 0,335 \text{ mm}^{-1}$ ;  $\alpha_{620nm} = 7,30 \cdot 10^{-4} \text{ mm}^{-1}$  y  $\xi_{620nm} = 0,378 \text{ mm}^{-1}$ ;  $\alpha_{680nm} = 2,57 \cdot 10^{-3} \text{ mm}^{-1}$  y  $\xi_{680nm} = 0,356 \text{ mm}^{-1}$ .

En la Figura 6.5 los valores hipotéticos para las determinaciones TL, TD y RD obtenidos mediante simulación para suspensiones de *S. quadricauda*, utilizando los parámetros obtenidos para *Chlorella sp.* se grafican junto con los resultados registrados experimentalmente para esta cepa, para tres longitudes de onda diferentes. Como puede verse, es posible reproducir con buena precisión los resultados experimentales utilizando el conjunto de parámetros  $\xi_{\lambda}^{DW}$ ,  $\alpha_{\lambda}^{chl}$  y  $C_i$  obtenidos independientemente, utilizando suspensiones de microalgas de una especie diferente, con geometrías contrastantes y con diferentes concentraciones de clorofila y biomasa.

## (7) CONCLUSIONES.

---

En este capítulo se determinaron las propiedades ópticas de las suspensiones de microalgas, necesarias para reproducir por simulación las propiedades del campo de energía radiante dentro de los foto-bio-reactores. Estas propiedades son: los coeficientes  $C_i$  para la expansión en serie de la función de fase, y valores de los coeficientes espectrales específicos de absorción  $\alpha_{\lambda}^{chl}$  y dispersión  $\xi_{\lambda}^{DW}$  de energía radiante.

Debido a que la dispersión se produce principalmente por la presencia de algas en la suspensión, el coeficiente de dispersión se relacionó a través de una función lineal con la concentración de biomasa seca [ $gr L^{-1}$ ] en la suspensión. Por otro lado, como el principal pigmento responsable de la absorción de energía radiante en el medio es la clorofila-*a*, el coeficiente espectral de absorción de energía radiante se relacionó linealmente con la concentración de este pigmento en la suspensión [ $mg L^{-1}$ ].

Por último, considerando las características estructurales de las células de microalgas, habiéndose asumido a la suspensión como un medio pseudo-continuo, se planteó la hipótesis de que el fenómeno de dispersión es independiente de la forma de las células. Esta hipótesis fue comprobada mediante el empleo de dos cepas de microalgas con tamaños y formas celulares muy diferentes: *Chlorella sp.* y *Scenedesmus quadricauda*.

Los coeficientes  $\alpha_{\lambda}$  y  $\xi_{\lambda}$  junto con la función de fase  $B(\underline{\hat{Q}}' \cdot \underline{\hat{Q}})$  obtenidos en este trabajo (Heinrich, J.M. y col., 2012a) serán validados en el próximo capítulo (Heinrich, J.M. y col., 2012b); y posteriormente utilizados en la simulación del campo de energía radiante dentro del FBR diseñado (Heinrich, J.M. y col., 2013).

# Capítulo 7

## **VERIFICACIÓN EXPERIMENTAL DEL MÉTODO DE SIMULACIÓN DEL CAMPO DE ENERGÍA RADIANTE EN SUSPENSIONES DE MICROALGAS.**

---

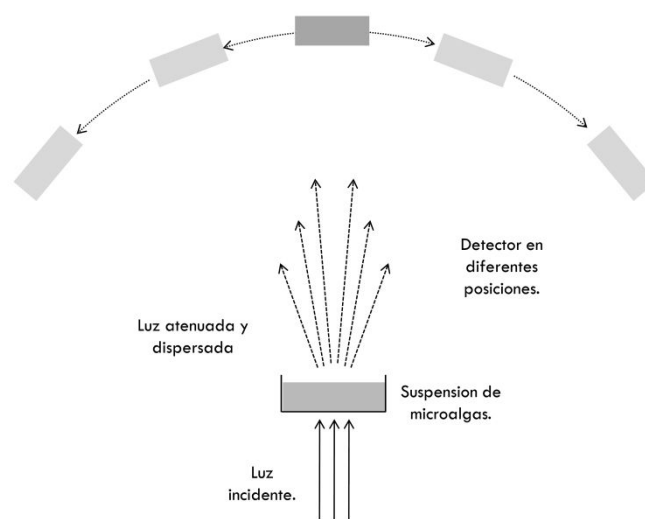




## (1) INTRODUCCIÓN.

---

En el Capítulos 5 se estableció el modelo de campo de energía radiante dentro de suspensiones de algas microscópicas y se desarrolló el método de simulación que se utilizará para calcular la densidad local de energía radiante dentro de las suspensiones. Posteriormente, Capítulos 6, el modelo de campo de energía radiante y el método de simulación por Monte Carlo fueron utilizados para la determinación de las propiedades ópticas de las suspensiones de microalgas. Dichas propiedades son: los coeficientes  $C_i$  para la expansión en serie de la función de fase, y valores de los coeficientes espectrales específicos de absorción  $\alpha_\lambda^{chl}$  y dispersión  $\xi_\lambda^{DW}$  de energía radiante.



**Figura 1.1:** Esquema del experimento diseñado. Una suspensión de algas contenidas en una caja de Petri es iluminada desde abajo con rayos casi verticales. La absorción y dispersión de los rayos de luz es función de la concentración de células y pigmentos en la suspensión.

Para comprobar la validez del método de simulación y la precisión de los resultados obtenidos, se diseñó un experimento totalmente independiente que consiste en medir la atenuación en la intensidad de luz, y la desviación respecto a su dirección original, de los haces de luz provenientes de una lámpara fluorescente, luego de atravesar diferentes cultivos de microalgas. Para ello distintas suspensiones contenidas en una caja de Petri fueron iluminada desde abajo, con rayos que se propagan en dirección casi vertical, registrándose el flujo de energía radiante en diferentes posiciones

equidistantes a la mencionada caja de Petri (Figura 1.1). Los cambios observados en los flujos direccionales de energía para las diferentes suspensiones de algas se deben a un efecto combinado de absorción y dispersión de luz. La magnitud con la que cada uno de los efectos ocurre depende de la concentración de células en suspensión y de su contenido de clorofila.

Este experimento, permite chequear no solo la validez del método de simulación, sino además, verificar la precisión de los parámetros ópticos, obtenidos en un experimento totalmente independiente, demostrando así su carácter intrínseco. Un punto interesante de este experimento es que la situación respecto al campo de energía radiante dentro de la suspensión es similar a aquella que se presenta en estanques abiertos; sólo que en este caso, la iluminación proviene desde abajo. De este modo, los resultados obtenidos permiten valorar la importancia y magnitud de los fenómenos de dispersión en la resolución del campo de energía radiante dentro de la suspensión durante el cultivo de microalgas.

Para la iluminación de la caja de Petri se utilizó un dispositivo que consiste en una lámpara fluorescente y un espejo parabólico; el cual fue construido previamente para una aplicación diferente a la presente (Imoberdorf, G.E y col., 2007). Para la medición del flujo de energía radiante, el dispositivo consta de un sistema que permite posicionar el detector de un radiómetro en diferentes posiciones  $(\theta_D, \phi_D)$  sobre la mencionada placa de Petri, manteniendo una distancia constante al centro de la base de la misma.

Paralelamente, el experimento fue simulado mediante una subrutina Monte Carlo en lenguaje Fortran90, según el método desarrollado y utilizando las regresiones de los coeficientes  $\alpha_\lambda^{sp}$  y  $\xi_\lambda^{sp}$ , y los coeficientes para la expansión de la función de fase  $B_\lambda(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}})$  que fueran obtenidos en el Capítulo 6. Para verificar la validez del modelo y de los parámetros ópticos, se compararon los valores experimentales con aquellos obtenidos mediante simulación computacional.

En la primera parte se explica en qué consiste y cómo funciona el sistema Emisor-Detector de Energía Radiante. A continuación, se detallan la metodología experimental y el algoritmo de simulación del experimento. Por último, los resultados experimentales y simulados son comparados para verificar la fidelidad del modelo.

## (2) MATERIALES Y MÉTODOS.

---

1.- Preparación de la muestra. En este trabajo se utilizó la cepa de microalga *Chlorella* sp. (gentilmente cedida por la Dr. A. M. Gagneten, FHUC, UNL). El cultivo de microalgas fue llevado adelante de la siguiente manera: un Erlenmeyers con 750mL de medio BG-11 (Atlas, R. M., 2005) (ver Capítulo 3, Tabla 1.1) fueron esterilizados por 15 minutos a 121° C en autoclave e inoculados con la cepa de microalga. El cultivo fue crecidos axénicamente a temperatura ambiente, iluminado con luz fluorescente (Philips, 20Watts, daylight fluorescent lamp), burbujeando aire atmosférico esterilizado mediante filtración (0.45µm pore size filter) para agitar, proveer CO<sub>2</sub> y evitar la acumulación del O<sub>2</sub> producido por fotosíntesis oxigénica.

Luego de alcanzar una concentración celular suficientemente alta las algas fueron cosechadas y resuspendidas en el mismo medio de modo de obtener una suspensión concentrada de células.

2.- Determinación de Sólidos Suspendidos Totales (SST). Las células contenidas en una alícuota de 50mL de la solución concentrada fueron retenidas mediante un filtro de fibra de vidrio (0,45µm), lavadas con agua destilada para retirar los restos de medio de cultivo y secadas en estufa a 100° C durante 1 hora. La biomasa celular fue reportada en gramos de biomasa seca por litro de medio de cultivo [ $gDW L^{-1}$ ] (Eaton, A. D y col., 2005)

3.- Determinación de la concentración de clorofila en la muestra. El contenido total de clorofila fue determinado utilizando la técnica reportada por Ritchie (Ritchie, R. J., 2008). Las células en una alícuota de la suspensión concentrada fueron centrifugadas, resuspendidas en agua destilada y centrifugadas nuevamente para eliminar el medio de cultivo. La clorofila fue extraída con alcohol metílico a 80° C durante 5 minutos. El contenido de clorofila fue calculado a partir de la absorbancia a 632, 652 y 665nm, utilizando los coeficientes de absorción reportados en el mismo trabajo.

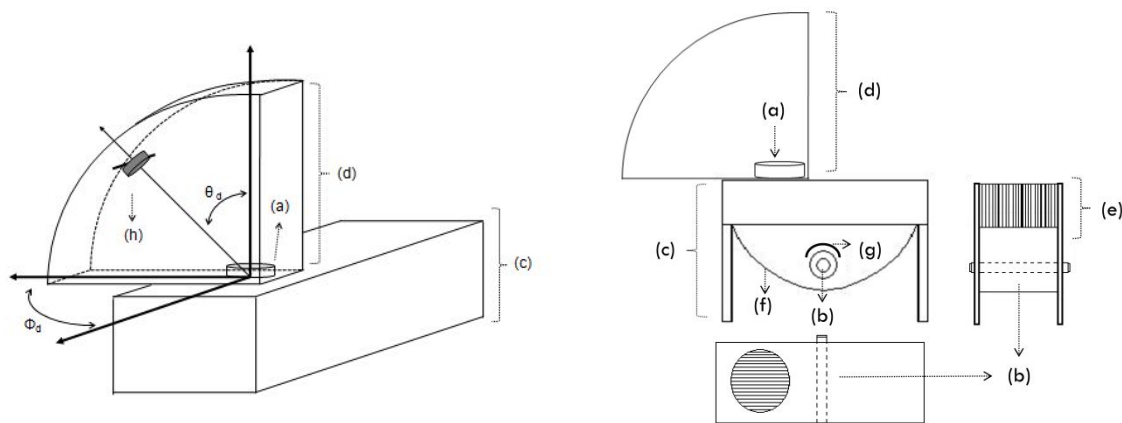
5.- Preparación de la soluciones diluidas. A partir de la suspensión concentrada fueron preparadas 2 diluciones:  $\frac{1}{10}$  y  $\frac{1}{100}$ . Los resultados de estas determinaciones de clorofila y SST para la solución concentrada se resumen en la Tabla 2.1

<b>Tabla 2.1:</b> concertación de biomasa y contenido de clorofila en la suspensión de <i>Chlorella sp.</i> de referencia.	
<b>Biomasa</b> [gDW/L]	1,42
<b>Clorofila</b> [mg/gDW]	47,4

### (3) EL SISTEMA EMISOR-DETECTOR DE ENERGÍA RADIANTE.

En experimento sucesivos, 250mL de cada una de las diluciones fueron colocadas dentro de la caja de Petri ubicada sobre el sistema de emisión de luz y, haciendo uso del dispositivo descrito en la Figura 3.1, se determinó la distribución angular del flujo de energía radiante sobre la misma.

El dispositivo consiste en dos partes separadas, el sistema emisor de luz (c) y el sistema de medición de la densidad de flujo de radiación (d). Entre estas dos partes se coloca una Caja de Petri (a) con 250mL de la suspensión de algas. Dicha Caja de Petri tiene 135mm de diámetro y 20mm de altura, y sus paredes son negras y opacas para absorber toda la luz que llega a ella. El fondo de la misma es también negro y opaco, excepto por un círculo central de 88mm de diámetro que permanece transparente a la luz visible.



**Figura 3.1.** Esquema del dispositivo utilizado. (a) Caja de Petri que contiene las suspensiones de algas. (b) Lámpara fluorescente. (c) Sistema emisor de energía radiante. (d) Soporte para el posicionamiento del sistema de medición de la densidad local de flujo de energía radiante. (e) Serie de placas verticales negras opacas para eliminar los rayos con dirección muy diferente a la vertical. (f) Espejo parabólico. (g) Cubierta negra opaca para evitar la radiación directa desde la lámpara fluorescente. (h) Detector del sistema de medición del flujo de energía. Con los ángulos  $\phi_d$  y  $\theta_d$  se identifica la posición del detector, el cual se mantiene a una distancia constante  $R_d$  desde el centro de la base de la caja de Petri.

La fuente de luz consiste en un tubo fluorescente de 25mm de diámetro ubicado en el eje focal de un espejo parabólico (b). El objetivo del espejo es reorientar la luz de la lámpara en la dirección vertical. Sobre el espejo una serie de laminas negras paralelas de metal (c) fueron colocadas perpendicularmente al eje de la lámpara, separadas unas de otras por una distancia de 8,2mm, con el objetivo de eliminar aquellos rayos con dirección muy diferente a la vertical, inclinados en la dirección del eje de la lámpara. Sobre el tubo fluorescente una plancha de metal negro (g) elimina

todos aquellos rayos que podrían alcanzar la caja de Petri directamente desde la lámpara sin ser reflejados por el espejo. El sistema de detección consiste en un detector Vis-radiometer (International Light IL-1700 SED005/W) (g) montado sobre un soporte (d) que permite registrar la magnitud de la densidad de flujo de energía radiante en los diferentes ángulos azimutales  $\phi_D$  y polares  $\theta_D$ , manteniendo una distancia constante al centro de la base de la caja de Petri.

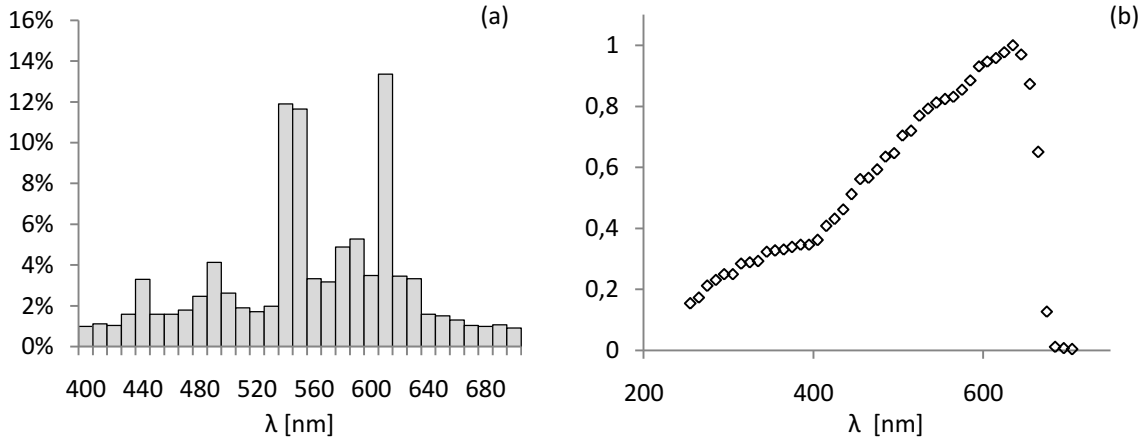
Los haces de luz que llegan a la base de la caja de Petri pueden caracterizarse según la cantidad de energía que portan, su dirección y la composición relativa en cada una de las longitudes de onda. Al atravesar la suspensión, estas tres características se modifican debido a los fenómenos de dispersión y absorción de luz. La dirección, cantidad de energía y composición espectral de los haces de luz que salen desde la superficie superior de la suspensión dependerá del contenido de clorofila y de la concentración de células en la suspensión. La respuesta observada en el detector en cada posición  $(\theta_D, \phi_D)$  sobre la caja de Petri dependerá de la posición del detector, de la energía radiante emergente desde la placa de Petri y de la composición relativa de la luz que alcanza al detector en lo referente a contribución de cada longitud de onda.

#### **(4) EL ESPECTRO DE EMISIÓN DE LA LÁMPARA FLUORESCENTE.**

---

Una lámpara fluorescente doméstica no es una fuente de luz monocromática sino que exhibe un perfil espectral de emisión. Asimismo, el detector no es ciego a la longitud de onda y la respuesta del mismo depende tanto de la energía radiante total que alcanza al detector, como de la cantidad relativa de cada una de las longitudes de onda que componen la radiación. En la Figura 4.1(a) se describe el espectro de emisión de la lámpara fluorescente utilizada, y en la Figura 4.1(b) se grafica la respuesta relativa del sistema de detección de energía radiante, dependiente de la longitud de onda de la radiación incidente.

Los coeficientes espectrales de absorción de energía radiante en la suspensión de microalgas fueron determinados para cada longitud de onda  $\lambda$ , cada 10nm, en el rango 400 a 700nm. La simulación por el método de Monte Carlo requiere que los fotones sean emitidos uno a uno, en forma secuencial analizándose su trayectoria individual hasta su eventual final. Para poder seleccionar una longitud de onda para cada uno de los fotones que son generados, es necesario asignar una probabilidad de ocurrencia a cada longitud de onda.



**Figura 4.1:** (a) Distribución porcentual de emisión de fotones de la lámpara fluorescente en función de la longitud de onda. (b) Respuesta del sistema de detección al ser irradiado con una cantidad de energía constante, pero de diferente longitud de onda; los valores se expresan en forma relativa a la respuesta medida a 650nm.

Supongamos que se escoge al azar un fotón entre aquellos emitidos desde cualquier superficie elemental de la lámpara. Si se representa con  $dG(\lambda)$  la probabilidad diferencial de que ese fotón tenga una longitud de onda incluida entre  $\lambda$  y  $\lambda+d\lambda$ . Es posible decir que

$$dG(\lambda) = n_p^L(\lambda) d\lambda \quad (4.1)$$

Donde

$$n_p^L(\lambda) = \frac{dG(\lambda)}{d\lambda} \quad (4.2)$$

Es la función de distribución de probabilidades de que un fotón emitido desde la lámpara tenga longitud de onda  $\lambda$ . La probabilidad diferencial  $dG(\lambda)$  puede interpretarse como la fracción de fotones con longitud de onda entre  $\lambda$  y  $\lambda+d\lambda$  del total de fotones emitidos por la lámpara. Más aún,  $n_p^L(\lambda)$  puede relacionarse con la intensidad mediante:

$$L_\lambda^L = ch \left( \frac{c}{\lambda} \right) n_p^L(\lambda) \quad (4.3)$$

por lo que  $dG(\lambda)$  puede escribirse como:

$$dG(\lambda) = \left( \frac{\lambda}{hc^2} \right) L_\lambda^L d\lambda \quad (4.4)$$

Como solo estamos interesados en la región visible del espectro electromagnético, la cual se ubica en el rango incluido entre 400 - 700nm, se impuso la siguiente condición de normalización:

$$\tilde{G}(\lambda) = \left( \frac{1}{\kappa h c^2} \right) \int_{400}^{\lambda} L_{\lambda'}^L \lambda' d\lambda' \quad (4.5)$$

De donde:

$$\kappa = G(700\text{nm}) - G(400\text{nm}) = \left( \frac{1}{h c^2} \right) \int_{400}^{700} L_{\lambda}^L \lambda d\lambda \quad (4.6)$$

$$\tilde{G}(\lambda) = [G(\lambda) - G(400\text{nm})] / \kappa \quad (4.7)$$

Esta condición de normalización es consistente con dos hechos experimentales: la ocurrencia de fotones con longitudes de onda menores a 400nm o mayores que 700nm es mínima; y, la respuesta del detector en estas longitudes es baja.

Luego, para elegir una longitud de onda al azar para cada fotón emitido desde la lámpara, se genera un número aleatorio  $\delta_{\lambda}$ ; tal que  $0 < \delta_{\lambda} < 1$  y la  $\lambda$  se escoge según

$$\delta_{\lambda} = \tilde{G}(\lambda) = \left( \frac{1}{\kappa h c^2} \right) \int_{400}^{\lambda} L_{\lambda'}^L \lambda' d\lambda' \quad (4.8)$$

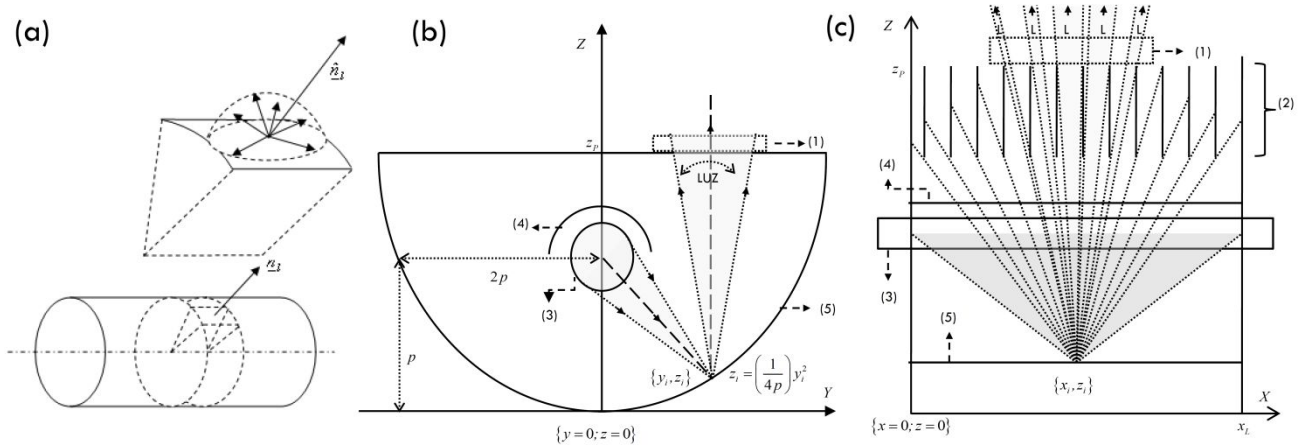
## (5) MODELO Y SIMULACIÓN DE LA FUENTE DE EMISIÓN.

---

Para poder llevar adelante la simulación del procedimiento experimental por el método de Monte Carlo es necesario reproducir el camino de un número suficientemente grande de fotones a través de la suspensión de microalgas hasta su eventual final. El camino que cada fotón recorre dentro de la suspensión dependerá de factores propios del fotón (longitud de onda  $\lambda$  y dirección  $\hat{\Omega}$  con la cual llega a la suspensión), y de factores vinculados a la suspensión de microalgas (concentraciones de biomasa y clorofilas).

Debido a la falta de idealidad del sistema emisor de luz, no todos los rayos llegan al fondo de la lámpara con dirección vertical. Estas desviaciones, que dependen de la posición sobre la base de la caja de Petri, se deben a que la lámpara posee un radio finito, comparable al radio del espejo parabólico (Figura 5.1(b)), y a que la emisión de energía radiante desde un punto ubicado sobre su superficie se produce en forma isotrópica (Figura 5.1(a)). En los Anexos I y II se describen los procedimientos utilizados para el cálculo de los ángulos mínimos y máximos de desviación, respecto a la dirección vertical, con que los haces de luz provenientes de lámpara alcanzan la base de la caja

de Petri. Como se mencionó anteriormente, estos ángulos mínimos y máximos dependen de la posición sobre la base de la caja de Petri.



**Figura 5.1:** (a) Esquema de la propiedad de emisión isotrópica de la lámpara fluorescente. (b) Vista lateral del sistema emisor de luz en la dirección longitudinal de la lámpara fluorescente. (c) Sistema emisor de energía radiante, vista lateral en dirección transversal a la lámpara fluorescente. 1.- Caja de Petri. 2.- Planchas paralelas de metal negro para eliminar los rayos en dirección no vertical. 3.- Cubierta de metal negro para evitar la radiación de directa desde la lámpara fluorescente hacia la Caja de Petri. 5.- Espejo parabólico.

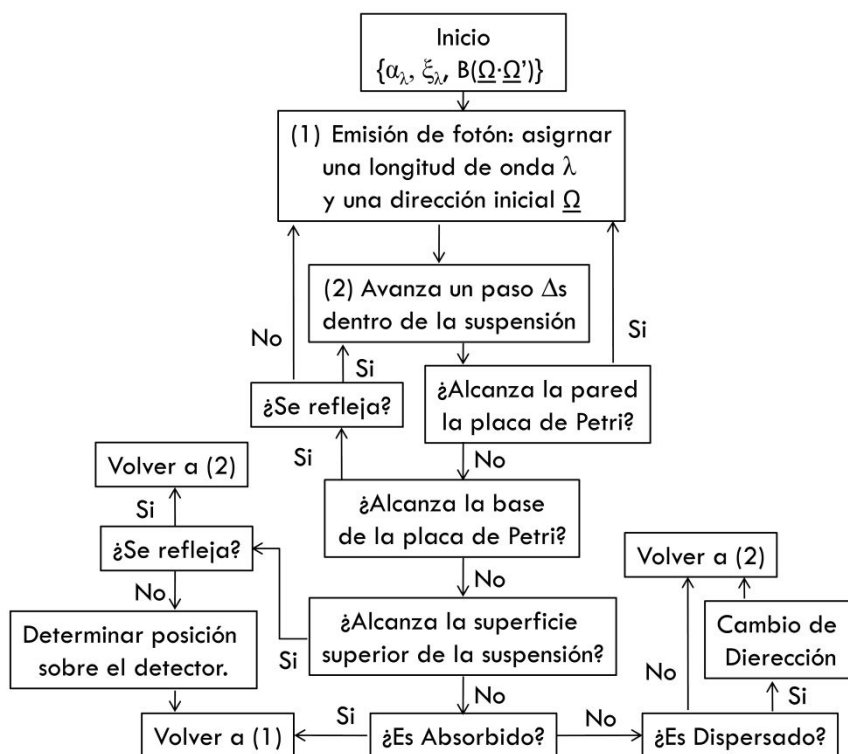
En términos generales podemos decir que las desviaciones máximas y mínimas en la dirección de los haces de luz (respecto a la vertical) en la dirección transversal al eje de la lámpara (Figura 5.1(b)) depende de la distancia horizontal al eje de la misma (correspondiente a la coordenada  $y$ ). En cuanto a las desviaciones máximas y mínimas (respecto a la vertical) en la dirección paralela al eje de la lámpara (Figura 5.1(c)), ésta depende de la distancia perpendicular a la plancha negra de metal más cercana.

El algoritmo de simulación genera, uno a uno, un número suficientemente grande de fotones en cada posición sobre la base de la caja de Petri conteniendo la suspensión de microalgas; le asigna una dirección inicial azar (la cual depende de la posición en que se generó) y una longitud de onda aleatoria (considerando el espectro de emisión de la lámpara fluorescente), simulando luego el camino de cada fotón a través de la suspensión de acuerdo al modelo desarrollado y utilizando los parámetros ópticos obtenidos en la sección anterior. Si durante su camino el fotón alcanza alguna de las paredes de la placa de Petri, éste es eliminado ya que las mismas son negras y opacas. La reflexión sobre la base de la caja de Petri se modela como la reflexión sobre una placa de vidrio de espesor despreciable que separa dos medios con índices de refracción diferentes (al igual que la reflexión sobre las caras de la cubeta en la sección anterior). En este caso, los fotones que no son reflejados se consideran perdidos y se genera un nuevo fotón. La reflexión sobre la superficie



superior de la suspensión se modela como la reflexión sobre una superficie simple que separa dos medios dieléctricos con índices de refracción diferentes (igual que para la reflexión sobre la superficie del medio en la sección anterior). Si sobre esta superficie el fotón no es reflejado, se determina si el mismo impacta sobre alguna de las posiciones en las cuales se coloca el detector. En la Figura 5.2 se desarrolla esquemáticamente el algoritmo de simulación del procedimiento experimental. Asimismo, en el Anexo III es posible encontrar en forma de pseudocódigo y con mayor detalle, la descripción del programa de simulación

La señal del detector  $S_d$  en cada una de las posiciones del detector (caracterizadas según los ángulos  $\theta_d$  y  $\phi_d$ ) se construye sumando los fotones que impactan en dicha posición multiplicado por la respuesta que produce en el detector, la cual es función de la longitud de onda del fotón a través de la función de respuesta del detector (Figura 4.1(b)). Para normalizar las respuestas y comparar resultados de la simulación con los medidos experimentalmente; todas las medidas (simuladas y experimentalmente) se expresan en forma relativa al valor correspondiente obtenido para el detector colocada en posición vertical ( $\theta_d = 0$ ) con la placa de Petri llena de agua destilada.



**Figura 5.2:** Esquema del programa de simulación para el procedimiento experimental a partir del cual se validan el método de simulación y los parámetros ópticos obtenidos. Los resultados de la simulación dependen de los contenidos de biomasa y clorofila en la muestra.

## (6) VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE SIMULACIÓN DEL SISTEMA EMISOR-DETECTOR DE ENERGÍA RADIANTE.

---

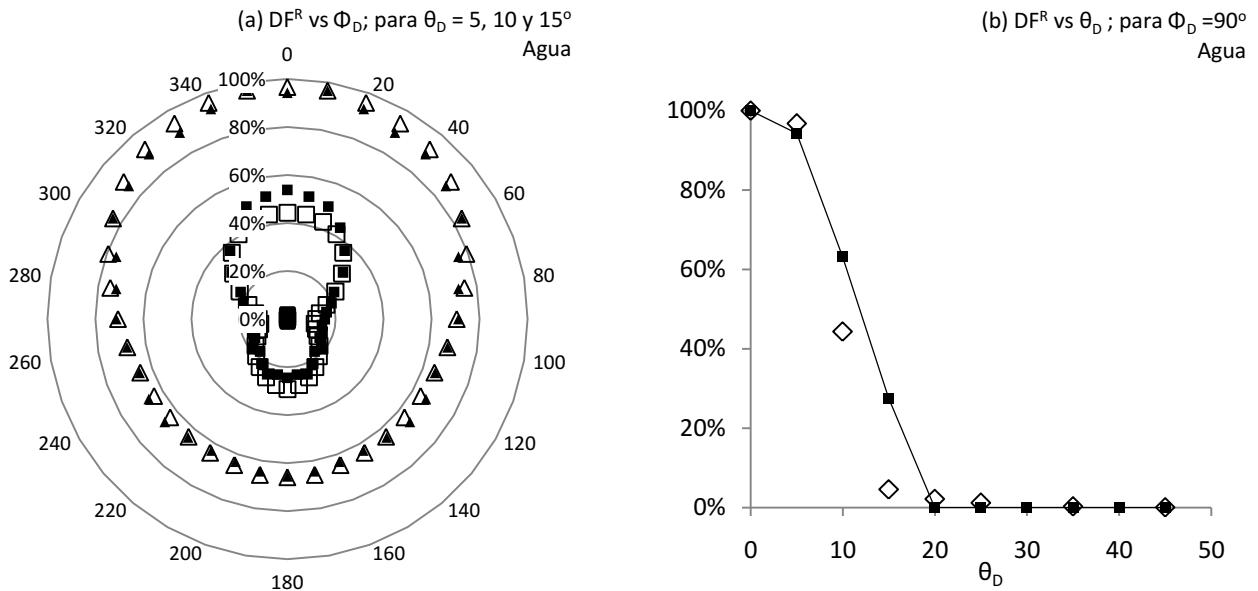
El primer paso es lograr un modelo de simulación preciso del sistema emisor-detector de energía radiante, el cual fue construido previamente, y cuyas características de diseño lo hacen una fuente de radiación no ideal. La lámpara utilizada en este caso es una lámpara fluorescente común, de uso doméstico. Esta lámpara no es monocromática, sino que emite radiación de acuerdo a un espectro de emisión. La emisión de radiación se produce desde la superficie de la lámpara isotrópicamente en todas las direcciones posibles. Para minimizar este efecto y proveer a la suspensión de rayos casi paralelos, la emisión de luz desde la lámpara se hizo por reflexión sobre un espejo parabólico provisto de una serie de planchas negras paralelas. La no idealidad de este equipo tiene dos orígenes: (1) iluminación con haces de luz no paralelos y, (2) emisión de luz no monocromática. Otro factor que es necesario considerar es que la respuesta observada en el detector depende tanto de la cantidad de energía que llega a él, como de la longitud de onda de la radiación incidente.

Para la elaboración del algoritmo de simulación del sistema emisor-detector de energía radiante fue necesario (1) la determinación de una función de distribución de probabilidades para la asignación de una longitud de onda a cada fotón generado (Ecuaciones 4.1 a 4.8); (2) el cálculo de los ángulos máximos y mínimos de desviación respecto a la vertical de los haces de luz que alcanzan la base de la caja de Petri (Anexos I y II); y, (3) considerar la función de respuesta del detector dependiente de la longitud de onda (Figura 4.1(b)).

El patrón de flujo de radiación de energía predicha por el *algoritmo de simulación del sistema emisor-detector de energía radiante*, para un experimento libre de microalgas, se muestran en la Figura 6.1 junto con los valores registrados experimentalmente.

En la Figura 6.1(a) se representa el valor de la densidad de flujo local de energía radiante en función del ángulo azimutal  $\phi_D$  relativo al valor registrado en la dirección vertical ( $\theta_D = 0$ ) para tres ángulos polares ( $\theta_D = 5, 10$  y  $15^\circ$ ) en coordenadas polares. En la Figura 6.1(b), se grafica el valor de la misma propiedad en función del ángulo polar  $\theta_D$  para un ángulo acimutal fijo  $\phi_D = 0$ . Como puede verse gráficamente, los valores predichos reproducen con buena precisión los resultados experimentales, por lo cual puede asegurarse que la metodología de simulación del sistema emisor-detector de energía radiante incorpora de manera precisa los fenómenos intervinientes: iluminación

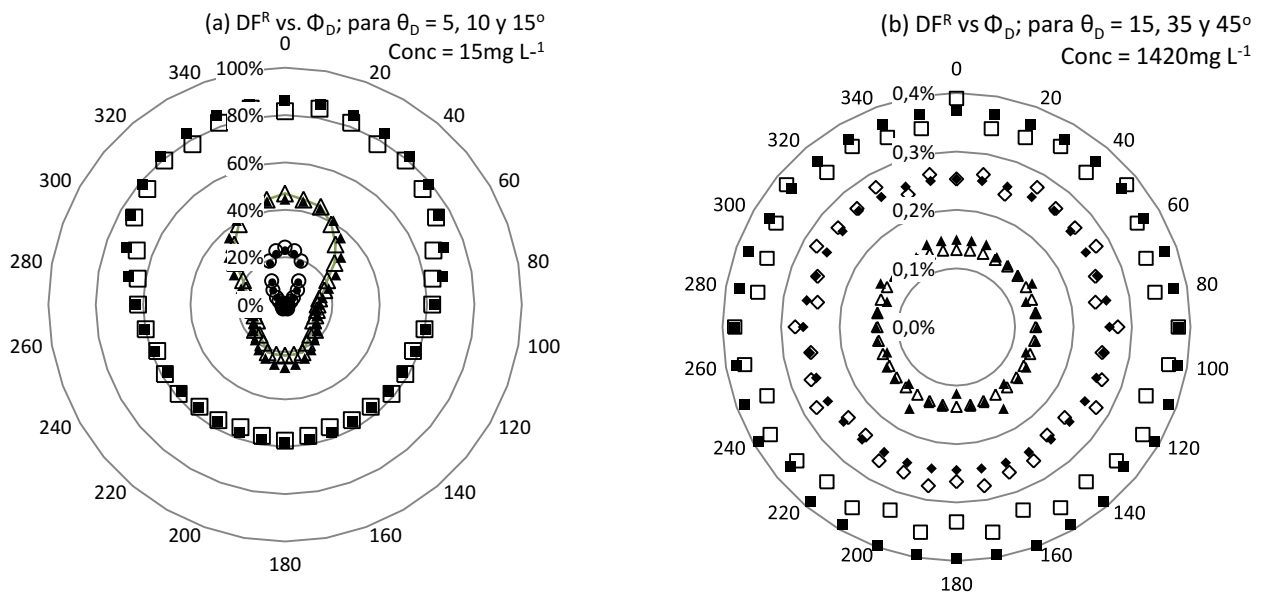
con haces no paralelos, emisión de luz no monocromática y respuesta del detector espectralmente dependiente.



**Figura 6.1:** Densidad de flujo de energía radiante (DF) sobre las diferentes posiciones  $\theta_D$  y  $\phi_D$  del detector para el experimento realizado con la Caja de Petri vacía. Los valores se expresan en valores relativos porcentuales al valor registrado en la posición  $\theta_D = 0$ . **(a)** Densidad de flujo de energía radiante vs. el ángulo acimutal  $\phi_D$  en coordenadas polares, para tres ángulos polares diferentes  $\theta_D = 5^\circ$  ( $\Delta, \blacktriangle$ );  $\theta_D = 10^\circ$  ( $\square, \blacksquare$ );  $\theta_D = 15^\circ$  ( $\diamond, \blacklozenge$ ). **(b)** Densidad de flujo de energía radiante vs. el ángulo polar  $\theta_D$ , para  $\phi_D = 90^\circ$ . Puntos vacíos: valores experimentales. Puntos llenos: valores predichos.

## (7) VALIDACIÓN EXPERIMENTAL DEL MÉTODO DE SIMULACIÓN DEL CAMPO DE ENERGÍA RADIANTE.

Una vez validado el algoritmo de simulación del sistema emisor-detector de energía radiante, es posible incorporar en el algoritmo de simulación el paso de fotones a través de la suspensión de algas. Mediante el método de Monte Carlo, y utilizando los parámetros ópticos obtenidos en el Capítulo anterior, es posible simular el paso de los fotones emitidos desde la fuente de radiación a través de la suspensión de microalgas y calcular el flujo de energía radiante en las diferentes posiciones  $(\theta_D, \phi_D)$  del detector. La radiación registrada por el detector en las diferentes posiciones se modificará dependiendo de la concentración de microalgas en la suspensión, debido a los efectos combinados de absorción y dispersión de energía radiante.

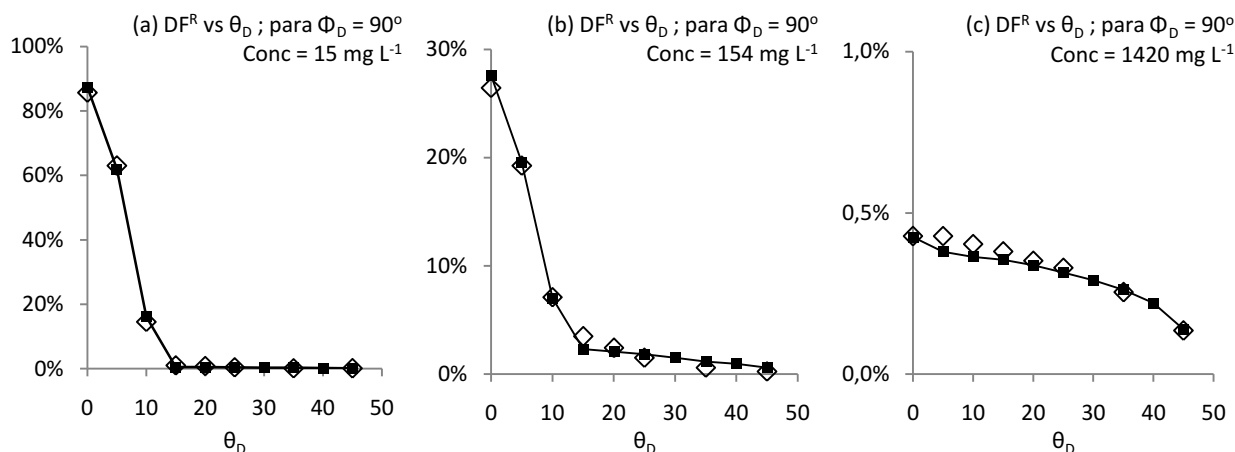


**Figura 7.1:** Densidad de flujo de energía radiante sobre las diferentes posiciones  $(\theta_D, \phi_D)$  del detector en coordenadas polares. Los valores se expresan como valores relativos porcentuales al valor registrado en la posición  $\theta_D = 0$  para la Caja de Petri vacía (a) Para una suspensión con  $15 \text{mg DW L}^{-1}$ ; para  $\theta_D = 5^\circ$  ( $\square, \blacksquare$ );  $\theta_D = 10^\circ$  ( $\Delta, \blacktriangle$ );  $\theta_D = 15^\circ$  ( $\diamond, \blacklozenge$ ). (b) Para una suspensión con  $1420 \text{mg DW L}^{-1}$ ; para  $\theta_D = 5^\circ$  ( $\square, \blacksquare$ );  $\theta_D = 35^\circ$  ( $\diamond, \blacklozenge$ );  $\theta_D = 45^\circ$  ( $\Delta, \blacktriangle$ ). Puntos vacíos: valores experimentales. Puntos llenos: valores predichos.

En la Figura 7.1 se grafican los valores simulados y experimentales obtenidos para dos concentraciones de microalgas (Figuras 7.1(a) y 7.1(b)), en coordenadas polares, para diferentes ángulos polares. Todos los valores se grafican en forma relativa al valor medido para  $\theta_D = 0$  para la caja de Petri vacía. A partir de la Figura 7.1(a) es posible apreciar como la densidad local del flujo de energía radiante varía con el ángulo acimutal para una suspensión de microalgas de  $15 \text{mg L}^{-1}$ , para los ángulos polares  $\theta_D = 5, 10$  y  $15^\circ$ . A partir de estos resultados puede verse que el flujo de energía sobre el detector para concentraciones iguales o menores a  $15 \text{mg L}^{-1}$  en ángulos polares mayores que  $15^\circ$  puede ser considerada cero. Este efecto se aprecia más gráficamente a partir de la Figura 7.2(a). En la Figura 7.1(b), los resultados corresponden a los ángulos  $\theta_D = 15, 35$  y  $45^\circ$  para una concentración celular igual a  $1420 \text{mg L}^{-1}$ . Como puede verse, la magnitud de la densidad de flujo de energía radiante sobre estas posiciones es similar, efecto que se aprecia mejor a partir de la Figura 7.2(c).

El efecto combinado de absorción y dispersión de luz puede apreciarse por comparación de las Figuras 7.2(a) y (b). En las direcciones cercanas a la dirección vertical (ángulos polares bajos) el flujo de energía decrece en forma muy marcada a medida que la concentración de biomasa aumenta ya que en estas direcciones el efecto dominante es la pérdida de energía por absorción o dispersión

de luz. Para direcciones más inclinadas (con ángulos polares grandes) puede observarse un aumento en la densidad de flujo con la concentración de biomasa, en este caso, el efecto predominante es la incorporación de energía en esa dirección por dispersión de radiación desde otras direcciones.

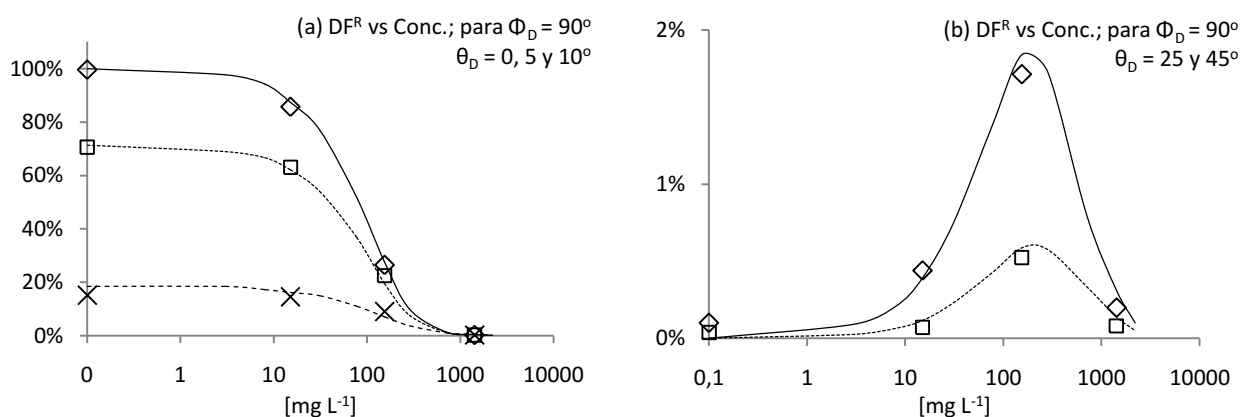


**Figura 7.2:** Densidad de flujo de energía radiante sobre las diferentes posiciones  $\theta_D$  del detector, para un  $\phi_D = 90^\circ$  fijo, para diferentes concentraciones de microalgas en suspensión. Los valores se expresan como valores relativos porcentuales al valor registrado en la posición  $\theta_D = 0$  para la Caja de Petri vacía (a) Para una suspensión con 15mgDW L<sup>-1</sup>. (b) 154 mgDW L<sup>-1</sup>. (c) 1420 mgDW L<sup>-1</sup>. Puntos vacíos: valores experimentales. Puntos llenos: valores predichos.

En las Figuras 7.2(a), (b) y (c) se muestra como el flujo de energía radiante varía con el ángulo polar para tres concentraciones de biomasa, manteniendo el ángulo acimutal fijo. Al comparar estas tres figuras con la Figura 6.1(b), podemos apreciar que para el caso de la suspensión diluida, el patrón direccional de flujo de energía radiante en las diferentes posiciones del detector no sufre grandes modificaciones respecto al patrón de emisión de la lámpara, siendo la principal diferencia una atenuación en la intensidad de radiación en la dirección vertical por absorción de radiación por parte de las algas presentes en el medio. Tanto en la Figura 6.1(b), como en la figura 7.2(a), la densidad de flujo de radiación para ángulos polares iguales o mayores a  $15^\circ$  puede considerarse cero.

En las Figuras 7.2(b) y (c) puede verse cómo el flujo de radiación en la dirección vertical disminuye progresivamente a medida que aumenta la concentración de células en suspensión y, a la vez, cómo el flujo de radiación para ángulos polares grandes comienza a aumentar cuando la concentración de la suspensión crece. Ambos efectos se dan de manera simultánea, lo que resulta en el suavizado progresivo de la curva original. Cuando la concentración celular alcanza un valor igual a  $1420\text{mg L}^{-1}$ , las densidades de flujo para todos los ángulos polares son semejantes.

En la Figuras 7.3 (a) y (b) se puede observar de forma manifiesta el efecto en la variación de la densidad de flujo de radiación para diferentes posiciones del detector a medida que la concentración de algas aumenta. En estas figuras se grafica la densidad de flujo de energía radiante vs. la concentración celular, para diferentes ángulos polares, manteniendo fijo el ángulo azimutal. En el caso de direcciones más cercanas a la vertical (Figura 7.3(a)) puede apreciarse el efecto neto de atenuación en la intensidad de radiación con el aumento de la concentración. Sin embargo, para direcciones más inclinadas, con ángulos polares mayores, el efecto del aumento de la concentración celular en la intensidad de radiación es muy diferente. Al principio la intensidad de luz es cero, ya que no existen haces de luz provenientes de la lámpara con dirección alejadas de la vertical. Cuando la concentración de células en la suspensión aumenta, la dispersión de radiación permite que cierta cantidad de luz se incorpore en estas direcciones aumentando así la intensidad de los haces de luz registrada por el detector en esas posiciones. Cuando la concentración de algas es aún mayor, la absorción de luz en la suspensión se torna tan alta que el efecto observado es una reducción casi total del flujo de la energía en todas las direcciones.



**Figura 7.3:** Densidad local del flujo de energía radiante sobre las diferentes posiciones  $\theta_D$  y  $\phi_D$ , vs. la concentración de microalgas. Los valores se expresan como valores relativos porcentuales al valor registrado en la posición  $\theta_D = 0$  para la Caja de Petri vacía (a) Valores registrados para un  $\phi_D = 90^\circ$  para  $\theta_D = 0^\circ$  ( $\diamond$ ),  $\theta_D = 5^\circ$  ( $\square$ ),  $\theta_D = 10^\circ$  ( $\times$ ). (b) Valores registrados para un  $\phi_D = 90^\circ$  para  $\theta_D = 25^\circ$  ( $\diamond$ ) y  $\theta_D = 45^\circ$  ( $\square$ ). Puntos vacíos: valores experimentales. Línea continuas: valores predichos.

## (7) CONCLUSIONES.

---

Para verificar la confiabilidad del modelo de simulación desarrollado y verificar la validez de los coeficientes  $\alpha_\lambda$  y  $\xi_\lambda$  y de la función de fase  $B(\hat{\underline{\Omega}} \cdot \hat{\underline{\Omega}})$  obtenidos en el capítulo anterior (Heinrich, J.M. y col., 2012a), el método de simulación se utilizó para reproducir computacionalmente un experimento totalmente independiente utilizando los valores obtenidos para los parámetros ópticos citados (Heinrich, J.M. y col., 2012b).

Comparando los valores predichos por el método con aquéllos experimentales se obtuvieron las siguientes conclusiones: (1) es posible predecir las propiedades del campo de energía radiante en suspensiones de microalgas a través del algoritmo estocástico de simulación basado en el método de Monte Carlo; (2) los parámetros ópticos obtenidos permiten reproducir con precisión las características de la interacción entre la suspensión y el campo de energía radiante; y, (3) la dispersión de luz en suspensiones de microalgas es un fenómeno significativo que debe ser tenido en cuenta en la resolución del campo de energía radiante, sobre todo cuando la concentración de biomasa supera 100mg/L.





# Capítulo 8

## **EVOLUCIÓN DEL CAMPO DE ENERGÍA RADIANTE DURANTE EL CULTIVO DE MICROALGAS.**

---



## **(1) INTRODUCCIÓN.**

---

Previamente se desarrolló un método basado en Monte Carlo (MC) que permite la simulación del Campo de Energía Radiante (CER) en suspensiones de microalgas. Posteriormente, se utilizó tal método anidado a un programa de optimización estocástico (Algoritmo Genético. AG) para la determinación de los parámetros incluidos en el modelo (Heinrich, J.M. y col., 2012a) y; por último, el método y los parámetros fueron validados en un experimento totalmente independiente (Heinrich, J.M. y col., 2012b), utilizando una lámpara fluorescente y sistema detector de energía radiante, ambos con características no-ideales.

Durante el cultivo de microalgas las propiedades ópticas del medio de cultivo varían. Este hecho se debe al aumento del número de células en suspensión y a las variaciones en el contenido de clorofila en el medio, ya sea por variación en el número de células, o por alteración en el contenido celular de clorofila. Estas modificaciones en las propiedades ópticas provocan cambios en la forma en que la energía radiante se distribuye dentro de la suspensión de microalgas. De este modo, a medida que el cultivo de microalgas progresa, las células se enfrentan a diferentes situaciones de iluminación producto del cambio en las propiedades ópticas del medio acuoso, a pesar de que la forma en que se ilumina al reactor permanece sin cambios.

En este capítulo el método de simulación desarrollado se aplica para modelar la evolución del CER en un reactor durante un cultivo de microalgas (Heinrich, J.M. y col., 2013). A partir de los resultados obtenidos se espera lograr comprender de qué manera el crecimiento celular modifica al CER en el reactor, alterando la disponibilidad de energía radiante en el interior del mismo, dejando el análisis de las expresiones cinéticas que vinculan al CER con la velocidad de propagación de las algas para el próximo capítulo.

## **(2) MATERIALES Y MÉTODOS.**

---

Cepa y Medio de cultivo: Aproximadamente 500mL de medio BMMU conteniendo un inóculo axénico de *Chlorella* sp. con una  $DO_{540} = 1$  (aprox.) fueron utilizados para inocular 9,5 Lts de medio BMMU estéril dentro del reactor. El cultivo fue crecido axénicamente a 25 °C, iluminado con luz

fluorescente, burbujeando aire atmosférico enriquecido con CO<sub>2</sub> en una concentración igual al 0,34% y esterilizado mediante filtración (0.45µm pore size filter) para agitar, proveer CO<sub>2</sub> y evitar la acumulación del O<sub>2</sub> producido por fotosíntesis. El medio BBMU fue modificado de manera lograr un pH inicial igual a 7; mediante la metodología desarrollada en el Capítulo 3. La composición final del medio se expone con mayor detalle en el Capítulo 9.

2.- Determinación de Sólidos Suspendidos Totales (SST): Las células contenidas en una alícuota de 50mL de la solución concentrada fueron retenidas mediante un filtro de fibra de vidrio (0,45µm), lavadas con agua destilada para retirar los restos de medio de cultivo y secadas en estufa a 100° C durante 1 hora. La biomasa celular fue reportada en gramos de biomasa seca por litro de medio de cultivo [ $gDW L^{-1}$ ] (Eaton, A. D. y col., 2005).

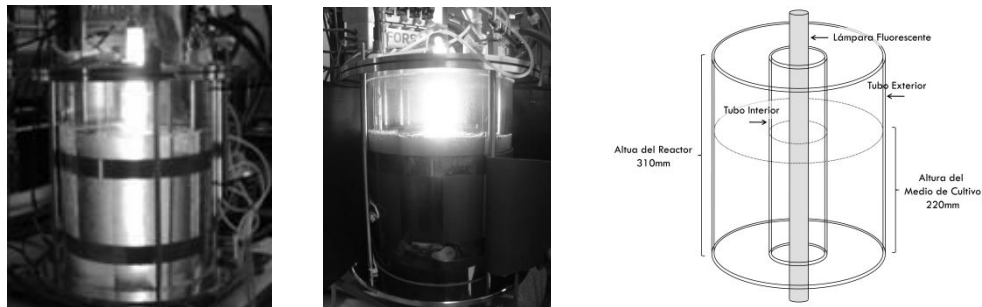
3.- Determinación de la concentración de clorofila en la muestra. El contenido total de clorofila fue determinado utilizando la técnica reportada por Ritchie (Ritchie, R. J., 2008). Las células en una alícuota de la suspensión concentrada fueron centrifugadas, resuspendidas en agua destilada y centrifugadas nuevamente para eliminar el medio de cultivo. La clorofila fue extraída con alcohol metílico a 80° C durante 5 minutos. El contenido de clorofila fue calculado a partir de la absorbancia a 632, 652 y 665nm, utilizando los coeficientes de absorción reportados en el mismo trabajo .

### **(3) SIMULACIÓN DEL CER EN EL REACTOR.**

---

Para determinar los parámetros cinéticos que relacionen la disponibilidad de luz con la velocidad de crecimiento, se diseñó y construyó un reactor anular (Figura 3.1). Las características de diseño y funcionamiento del mismo fueron oportunamente detalladas en el Capítulo 1. Brevemente: el reactor consiste en dos tubos de vidrio concéntricos (ambos de 4mm de espesor y 310mm de altura) de 50mm y 250mm de diámetro externos, respectivamente. El volumen final de medio de cultivo es de 10lts, resultando en una altura de líquido de aprox. 220mm. La geometría anular se eligió para facilitar el modelado matemático. Para administrar CO<sub>2</sub>, eliminar el oxígeno producido por fotosíntesis y favorecer el mezclado, el reactor fue provisto de seis difusores de aire de vidrio sinterizado colocados simétrica y equidistantemente sobre la base del reactor. Para hacer más eficiente el mezclado y ordenar el flujo de burbujas, el reactor fue tabicado con planchas de acero inoxidable espejado. Para regular el caudal de aire y la temperatura, y registrar el pH y la pO<sub>2</sub>, el

reactor fue conectado a una plataforma de cultivo Labfors 3 de Infors-HT. El caudal de aire fue mantenido en  $0,3\text{vvm}$  y la temperatura en  $25^\circ\text{C}$ . La iluminación se realizó mediante una lámpara fluorescente (Philips, daylight fluorescent lamp, de  $16\text{Watts}$ ) de  $26\text{mm}$  de diámetro externo, durante las  $24\text{hs}$  del día. Como fue previamente descrito, la emisión de la lámpara es isotrópica y espectralmente dependiente. Para evitar que la luz ambiental alcance la suspensión de algas, el reactor fue cubierto con una manta negra.



**Figura 3.1:** Reactor utilizado en la presente tesis. El reactor, diseñado y construido *ad hoc*, consiste en dos vidrios cilíndricos concéntricos a una lámpara fluorescente. La geometría anular permite la reducción de los tiempos de simulación debido a la condición de simetría.

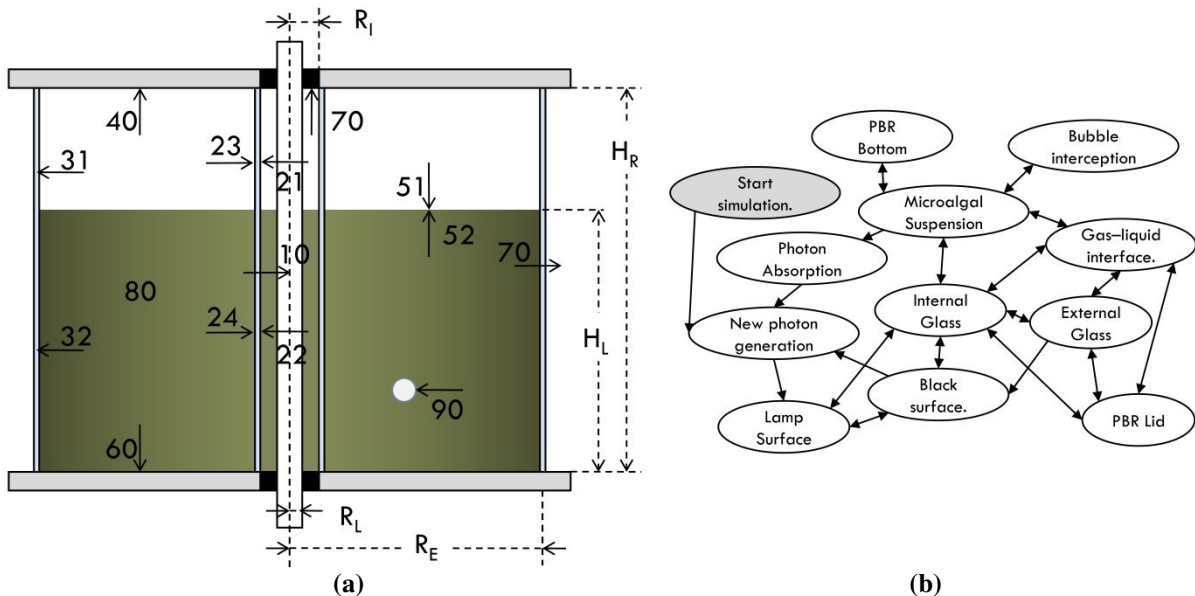
La utilización de difusores de aire como mecanismo de agitación y para el intercambio de gases provoca la acumulación de burbujas en la zona del reactor ubicada sobre los difusores. El alto número de burbujas podría modificar sensiblemente la distribución del CER en esas zonas (respecto a una suspensión sin burbujas) debido a los fenómenos de reflexión y refracción que se producen sobre la interface que separa el medio acuoso de la burbuja de aire. De este modo, para evaluar la modificación del CER en estas zonas, la simulación del CER en el FBR se realizó considerando en el modelo la presencia de burbujas.

### 3.1- Algoritmo de Simulación del Campo de Energía Radiante en el FBR.

La simulación por el método de MC del CER se inicia desde la fuente de emisión. La emisión de la lámpara es superficial e isotrópica; y emite homogéneamente sobre toda su superficie. De forma aleatoria se elige una posición  $r_L$  sobre la superficie de la lámpara y se asignan, al azar, una dirección  $\hat{\Omega}$  y una longitud de onda  $\lambda$  al fotón, considerando las características de emisión de la fuente de radiación. De manera sucesiva se simula la trayectoria de un número suficientemente

grande de fotones a través de cada una de las partes que componen al reactor hasta su eventual final (Figura 3.2(a)).

Los fotones sólo pueden ser removidos del CER al ser absorbidos en la suspensión de microalgas, al impactar sobre alguna superficie negra opaca o al abandonar el reactor por el vidrio externo. La reflexión sobre las superficies de los vidrios se modela de igual manera que en las secciones anteriores. Sobre la base, tapa y tabiques, todos ellos de acero espejado, la reflexión de fotones se modeló como una reflexión especular. El efecto sobre el CER de los dispositivos de medición y control (pH-metro, sonda de O<sub>2</sub>, dedo frio, sensor de temperatura, toma de muestra , etc.) fue despreciado.



**Figura 3.2:** (a) Esquema del reactor y subrutinas en el programa de simulación. 10.- lámpara. 21.- vidrio interior | aire. 22.- vidrio interior | medio. 23.- aire | vidrio interior. 24.- medio | vidrio interior. 31.- aire | vidrio exterior. 32.- medio | vidrio exterior. 40.- aire | tapa. 51.- aire | medio. 52.- medio | aire. 60.- medio | base. 70.- superficies negras opacas. 80.- el interior del medio. 90.- medio | burbuja. (b) Gráfico del Algoritmo de Simulación. Cada evento que el fotón experimenta en su recorrido es simulado por una subrutina diferente: 1.- Los coeficientes de absorción y dispersión característicos del amuestra se establecen al comienzo de cada simulación. 2.- Se define al azar una posición sobre la superficie de la lámpara; luego, se asigna al fotón una longitud de onda considerando las características de emisión de la lámpara. 3.- Se asigna al fotón una dirección de propagación. 4.- Los fotones que alcanzan una superficie negra son eliminados de CER. 5.- La reflexión/ refracción sobre los vidrios interno y externo se modelan de acuerdo a la las Leyes de Fresnel y Snell. 6.- Asimismo, la reflexión/ refracción sobre a interfase líquido-gas se modelan de acuerdo a la las Leyes de Fresnel y Snell. 7.- La base y tapa del reactor se modelan como superficies espejadas. Los difusores de aire se simulan como superficie reflejante isotrópicas. 8.- La suspensión de microalgas se modela como un medio continuo con centros de absorción y dispersión homogéneamente dispersos en el medio. 9.- Si ocurre la absorción de un fotones en el medio, se suma una unidad al contador de fotones localmente absorbidos La velocidad volumétrica local de absorción de fotones se calcula para cada longitud de onda, en cada posición en el reactor.

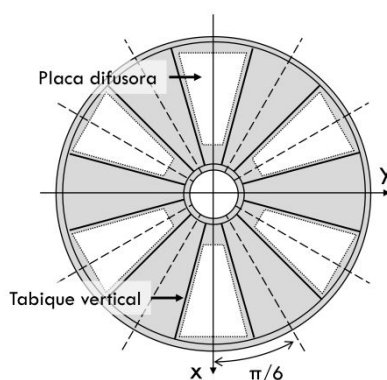
En la simulación del CER dentro del reactor mediante el método Monte Carlo, los fotones son emitidos uno a uno en forma sucesiva desde la lámpara atravesando distintos eventos en su camino.

Aunque los fotones son emitidos secuencialmente y su camino es simulado uno a uno, es importante recordar que todos ellos son simultáneos y que en conjunto simulan la distribución del CER en un instante dentro del reactor, el cual alcanza el estado estacionario, para cada una de las sucesivas etapas a través de las cuales evoluciona el cultivo de microalgas.

Para el modelado matemático, el programa de simulación del CER dentro del reactor fue dividido en 14 subrutinas (Figura 3.2(b)), donde cada una modela independientemente lo que sucede en alguna frontera o espacio dentro del reactor. En el Anexo I se describe en detalle cada una de las subrutinas a través de un esquema o pseudocódigo de cálculo.

### 3.2- Condición de simetría.

Para reducir el tiempo de simulación, el reactor fue dividido en 12 partes simétricas, limitándose la simulación a una de ellas y considerando que en el resto la situación es equivalente (Figura 3.3). Cada parte comprende la mitad de dos regiones contiguas, de iguales dimensiones, separadas por uno de los tabiques que ordenan el flujo y favorecen el mezclado. La región por encima del difusor es una suspensión homogénea de microalgas interrumpida por burbujas de aire, distribuidas homogéneamente dentro del volumen de la sección. La región contigua es considerada como una suspensión homogénea de microalgas.



**Figura 3.3:** Condición de simetría. Para reducir el tiempo de simulación, se asume que el CER posee simetría cilíndrica y, de este modo, sólo se simula la región comprendida entre los ángulos  $0 < \phi_R < \pi/6$ .

### 3.3- Simulación del encuentro con una burbuja.

Dentro de la suspensión de microalgas, en la zona ubicada sobre las pacas difusoras de aire ( $0 < \phi_R < \pi/12$ ), existe la probabilidad de que en su camino, el fotón se encuentre con una burbuja. Al encontrar una interface líquido-aire el fotón puede ser reflejado, cambiando su dirección o ser

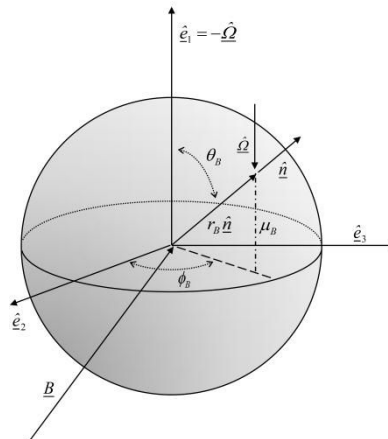
reflejado hacia adentro de la burbuja. Dentro de la burbuja el fotón avanza hasta encontrar la interface aire-líquido, en donde puede nuevamente ser reflejado o retornar al medio de cultivo.

Las piedras difusoras de vidrio sinterizado generan burbujas de diferentes diámetros, produciéndose una distribución de burbujas con diámetros variables (Mendelson, H. D., 1967; Kulkarni A.A. y col., 2005). En el Capítulo 2 se determinó el número total de burbujas residentes en la zona sobre el difusor; la función de distribución de radios para las burbujas residentes en el medio; el volumen total que estas burbujas ocupan en el medio; y, el área de intercambio entre las burbujas y el medio líquido.

Dentro de la suspensión de microalgas, el fotón avanza pasos sucesivos de magnitud  $\Delta S$  a través de la suspensión. Para asignar una probabilidad  $P(B)$  al evento de que durante este paso el fotón encuentre una burbuja haremos uso de la Ecuación 3.1, ecuación que es sistemáticamente deducida en el Anexo II.

$$P(B) = \left\{ 1 - \exp \left[ - \left( \frac{3}{4} \right) \theta_G \frac{\Delta S}{\bar{r}_{BR}} \right] \right\} \quad (3.1)$$

En la Ecuación 3.1,  $\Delta S$  es la distancia que avanza el fotón en cada paso,  $\theta_G$  es la fracción de gas en la zona sobre el difusor y  $\bar{r}_{BR}$  es el radio promedio de las burbujas.



**Figura 3.4:** Esquema del sistema de vectores utilizados para la simulación del evento de encuentro fotón-burbuja.

En el algoritmo de simulación, el fotón avanza pasos sucesivos de longitud  $\Delta S$  a través de la suspensión, para determinar si en cada paso el fotón encontró una burbuja se compara el valor de un número  $0 < \delta_B < 1$  generado aleatoriamente con la probabilidad de encuentro con una burbuja  $P(B)$ . Luego, si el número aleatorio es menor o igual a  $P(B)$ , durante el paso del fotón se producirá el



encuentro con una burbuja. En cambio, si el número aleatorio es mayor, no se produjo el encuentro con una burbuja y el algoritmo continúa normalmente.

### 3.4- La reflexión/refracción sobre las Burbujas.

La simulación del encuentro con una burbuja se realiza considerando a la superficie de la burbuja como una interfase que separa dos medios con índices de refracción diferentes. Producido el evento  $P(B)$  de que un fotón encontró en su camino una burbuja, el fotón puede reflejarse sobre la interfase retornando al medio de cultivo o refractarse hacia el interior de la burbuja. Dentro de la burbuja, el fotón vuelve al medio por refracción, en forma directa o luego de una o más reflexiones sobre la superficie interna de la burbuja.

El primer paso en este cálculo es determinar el vector unitario  $\hat{n}$  normal a la superficie en donde se produce el encuentro. (Figura 3.4) Para determinar los ángulo  $\theta_B$  y  $\phi_B$  formados entre la dirección  $\hat{\Omega}$  del fotón y el vector  $\hat{n}$ , se consideró que todos los ángulos  $\phi_B$  son igualmente probables y que la ocurrencia de  $\theta_B$  sigue una distribución homogénea respecto a  $\mu_B = \cos \theta_B$ . De este modo la selección de las variables  $\mu_B$  y  $\phi_B$  se hizo a partir de dos números ( $0 < \delta_{B,i} < 1$ ) aleatorios de acuerdo a:

$$\mu_B = \delta_{B,1} \quad (3.2)$$

$$\phi_B = 2\pi\delta_{B,2} \quad (3.3)$$

A partir de  $\mu_B$  y  $\phi_B$ , el vector normal  $\hat{n}$  puede obtenerse mediante la Ecuación 3.4:

$$\hat{n}(\mu_B, \phi_B) = (1 - \mu_B^2)^{1/2} (\cos \phi_B \hat{e}_2 + \sin \phi_B \hat{e}_3) + \mu_B \hat{e}_1 \quad (3.4)$$

donde los vectores unitarios accesorios cumplen las siguientes condiciones  $\hat{e}_1 = -\hat{\Omega}$ ;  $\hat{e}_1 \cdot \hat{e}_2 = 0$  y  $\hat{e}_3 = \hat{e}_1 \times \hat{e}_2$ .

Una vez establecido el vector  $\hat{n}$ , para ubicar físicamente la burbuja en el camino del fotón es necesario determinar el radio  $r_B$  de la burbuja, lo cual se realiza con un número ( $0 < \delta_R < 1$ ) generado al azar a través de la Ecuación 3.5, considerando la función de distribución de burbujas con radio  $r_B$  residentes en el medio de cultivo, la cual que fue determinada en el Capítulo 2.

$$\delta_{r_B} = \frac{H_L \dot{N}_T}{N_T} \int_0^{r_B} \frac{p(r'_B)}{v_B(r'_B)} dr'_B = \frac{H_L}{N_T} \frac{24}{17} \frac{Q_A}{\pi^2 \bar{r}_B^3} \int_0^{r_B} \frac{p(r'_B)}{v_B(r'_B)} dr'_B \quad (3.5)$$

Por último la posición  $\underline{B}$  de la burbuja dentro del medio de cultivo puede calcularse según

$$\underline{B} = \underline{r}_P - r_B \hat{n} \quad (3.6)$$

donde  $\underline{r}_P$  es la posición del fotón al momento del encuentro con la burbuja y  $r_B$  es el radio de la burbuja. Conociendo el radio  $r_B$  de la burbuja, la posición de impacto del fotón  $\underline{r}_P$  y el vector  $\hat{n}$  normal a la superficie de la burbuja en la posición  $\underline{r}_P$ , la simulación del evento de encuentro fotón-burbuja se realiza de acuerdo al esquema-pseudocódigo de cálculo detallado en el Anexo I.

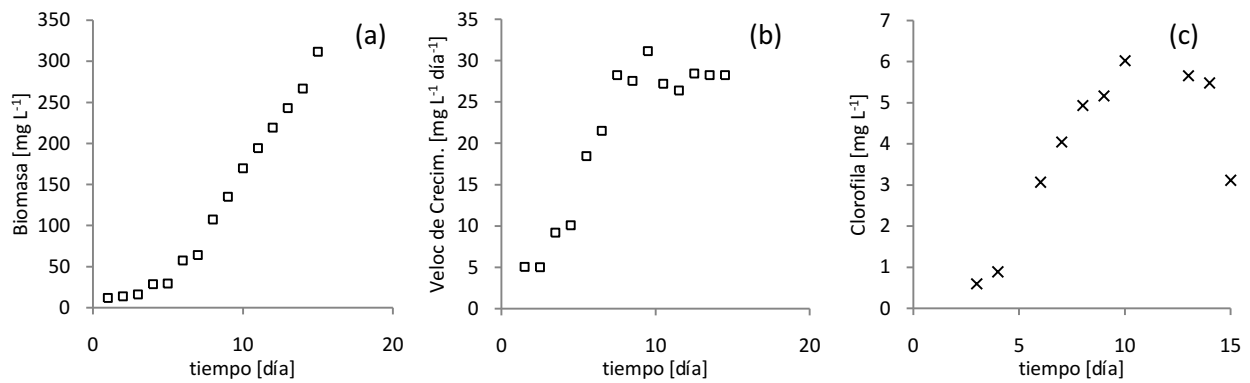
#### **(4) RESULTADOS EXPERIMENTALES.**

---

Para lograr modelar el CER dentro de la suspensión de microalgas aplicando el método de simulación de Monte Carlo, es necesario conocer los coeficientes espectrales de absorción y dispersión de energía radiante, y la expresión analítica de la función de fase. En el Capítulo 6 estas propiedades fueron determinadas y relacionadas con la concentración de biomasa y el contenido de clorofila. En este Capítulo se utiliza el método de simulación del CER en suspensiones de microalgas, junto con los parámetros ópticos obtenidos, para analizar la forma en que el campo de energía radiante se modifica dentro de un reactor durante el cultivo de algas microscópicas.

En la Figura 4.1(a) se muestra la variación de la concentración de biomasa durante el cultivo de microalgas. En dicha gráfica es posible distinguir dos etapas: la primera entre el momento de inoculación y el quinto día de cultivo, donde la concentración celular aumenta de manera muy lenta, producto de la baja concentración de biomasa. En esta etapa, la velocidad de crecimiento aumenta linealmente (Figura 4.1(b)). A partir del día 5, la concentración de biomasa en el medio aumenta linealmente, permaneciendo la velocidad de crecimiento casi constante.

En cuanto a la concentración de clorofila, en la Figura 4.1(c) se muestra la variación de su concentración en el medio de cultivo durante los 15 días de propagación celular. Como puede verse, la concentración de clorofila en el medio aumenta en forma casi lineal durante los primeros diez días de cultivo. A partir de este punto la concentración de clorofila en la suspensión comienza a disminuir.



**Figura 4.1:** Resultados del cultivo de microalgas. **(a)** Biomasa  $x$  [ $mg L^{-1}$ ] en función de tiempo [ $día$ ]. **(b)** Velocidad de crecimiento  $r_x = \mu x$  [ $mg L^{-1} d^{-1}$ ] en función del tiempo [ $día$ ]. **(c)** Concentración de clorofila [ $mg L^{-1}$ ] durante los días de cultivo [ $día$ ].

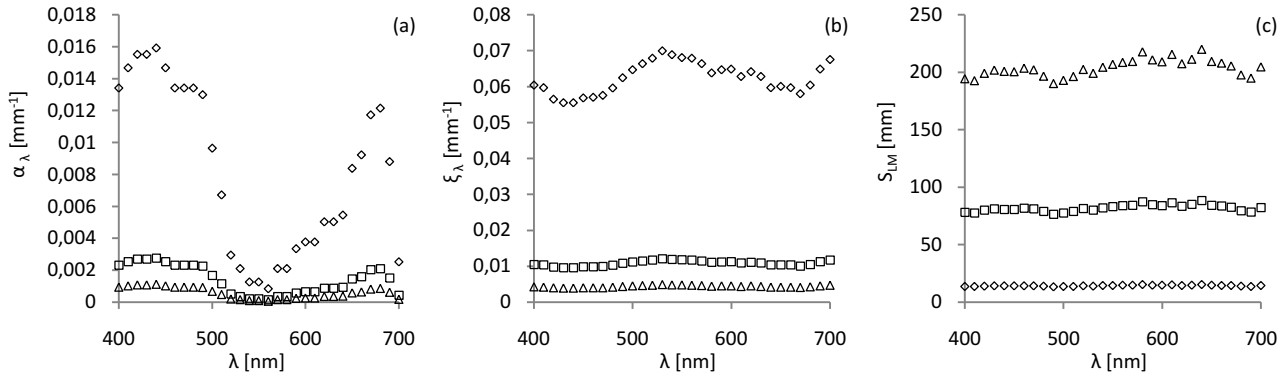
Como se mencionó al principio de esta sección, sólo nos enfocaremos en el análisis de la evolución de la propiedades del CER dentro de la suspensión de algas. Se espera de este modo, lograr una comprensión rigurosa de los fenómenos ópticos que están ocurriendo dentro de la suspensión y de la forma en que éstos evolucionan o son modificados por el crecimiento de algas en la suspensión. Por otro lado, el análisis de la relación que existe entre estos fenómenos y las expresiones cinéticas que rigen la cinética propagación de estos microorganismos se deja para el capítulo próximo.

#### 4.1- Evolución de los parámetros ópticos durante el cultivo de microalgas.

Como se mencionó, el crecimiento celular modifica las propiedades ópticas de la suspensión de microalgas. Considerando que la función de fase permanece sin cambios, son los coeficientes de absorción y dispersión las variables que se ven alteradas. En las Figura 4.2 se representan: el coeficiente de absorción (Figura 4.2(a)), el coeficiente de dispersión (Figura 4.2(b)) y el camino libre medio (Figura 4.2(c)) (calculado como se indicara en el Capítulo 5) para cada una de las longitudes de onda en el rango 400 a 700nm, para los días 1, 5 y 15.

A partir de estos parámetros, aplicando el método de simulación, es posible determinar de qué manera las propiedades del CER en cada punto del reactor se van modificando por acción del crecimiento celular. La propiedad básica empleada en este enfoque es la densidad  $n_p(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, \lambda)$  de fotones con longitud de onda  $\lambda$ , moviéndose en dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$  alrededor de la posición  $\underline{r}$ . Los resultados obtenidos por este método son equivalentes a aquellos obtenidos mediante el análisis del

CER como continuo. Más aún, la relación entre las propiedades básicas de estos dos enfoques puede obtenerse a partir de la Ecuación 2.10, del Capítulo 5.



**Figura 4.2:** coeficientes de absorción (a), de dispersión (b) y camino libre medio (c) en función de la longitud de onda en el rango 400 a 700nm, para los días de cultivo 1 ( $\Delta$ ), 5( $\square$ ) y 15( $\diamond$ ). En estos días la concentración de biomasa registró los valores 12 mg L<sup>-1</sup>, 30 mg L<sup>-1</sup> y 312 mg L<sup>-1</sup> respectivamente.

## (5) DENSIDAD DE FLUJO DE ENERGÍA RADIANTE.

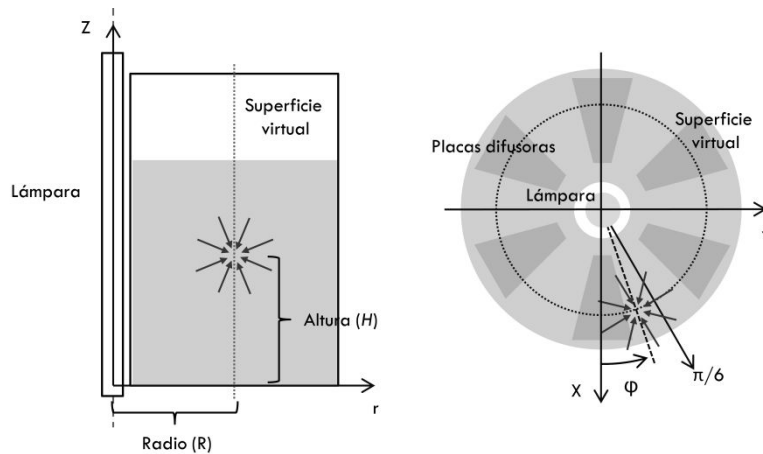
Como se mencionó el reactor posee una geometría cilíndrica, dividida angularmente por tabiques que separan zonas con y sin burbujas. Para analizar la influencia de estos factores sobre la distribución de energía radiante en la suspensión definiremos superficies cilíndricas virtuales concéntricas a la lámpara (Figura 5.1), con radios sucesivamente mayores al radio del vidrio tubular interno, hasta alcanzar la superficie del vidrio externo. Para poder comprender cómo varían las propiedades del CER dentro del reactor analizaremos el valor que la densidad local de flujo de fotones  $q_\lambda(\underline{r}, t)$  en dirección radial toma en diferentes posiciones sobre estas superficies. Sobre cada posición, el valor de  $q_\lambda(\underline{r}, t)$  puede ser calculada a partir de  $n_p(\underline{r}, \underline{\hat{\Omega}}, \lambda)$  según:

$$q_\lambda(\underline{r}, t) = \int_0^{2\pi} \int_0^1 d\theta d\mu (\hat{n} \cdot \underline{\hat{\Omega}}) n_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{\Omega}}, t) - \int_0^{2\pi} \int_0^1 d\theta d\mu (\hat{n} \cdot \underline{\hat{\Omega}}) n_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{\Omega}}, t) = \quad (5.1)$$

A partir de la Ecuación 5.1, la densidad local de flujo de fotones  $q_{\lambda_1, \lambda_2}(\underline{r}, t)$  considerando todos aquellos fotones con longitud de onda  $\lambda$  en el rango  $\lambda_1 \leq \lambda \leq \lambda_2$  puede obtenerse integrando a través de la Ecuación 5.2

$$q_{\lambda_1, \lambda_2}(\underline{r}, t) = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} q_{\lambda}(\underline{r}, t) d\lambda \quad (5.2)$$

Los tabiques de metal espejado que definen las zonas con y sin burbujas, alteran el CER debido a la reflexión de energía radiante que se produce sobre su superficie. Sin embargo, como puede verse en las Figura 5.2(a) y 5.2(b), la alteración en la densidad de flujo de fotones  $q_{VIS}(\underline{r}, t)$ , calculada a través de la Ecuación 5.2 considerando el rango de longitudes entre 400 y 700nm, es casi imperceptible. Esta condición que se cumple tanto en el día cero antes de la inoculación (Figura 5.2(a)) como en el día 15 de cultivo (Figura 5.2(b)). Otro factor capaz de influir sobre la distribución del CER dentro de la suspensión es la presencia de burbujas. Sobre la superficie de las burbujas la luz puede ser reflejada produciendo un cambio en la dirección de propagación de los haces de luz.

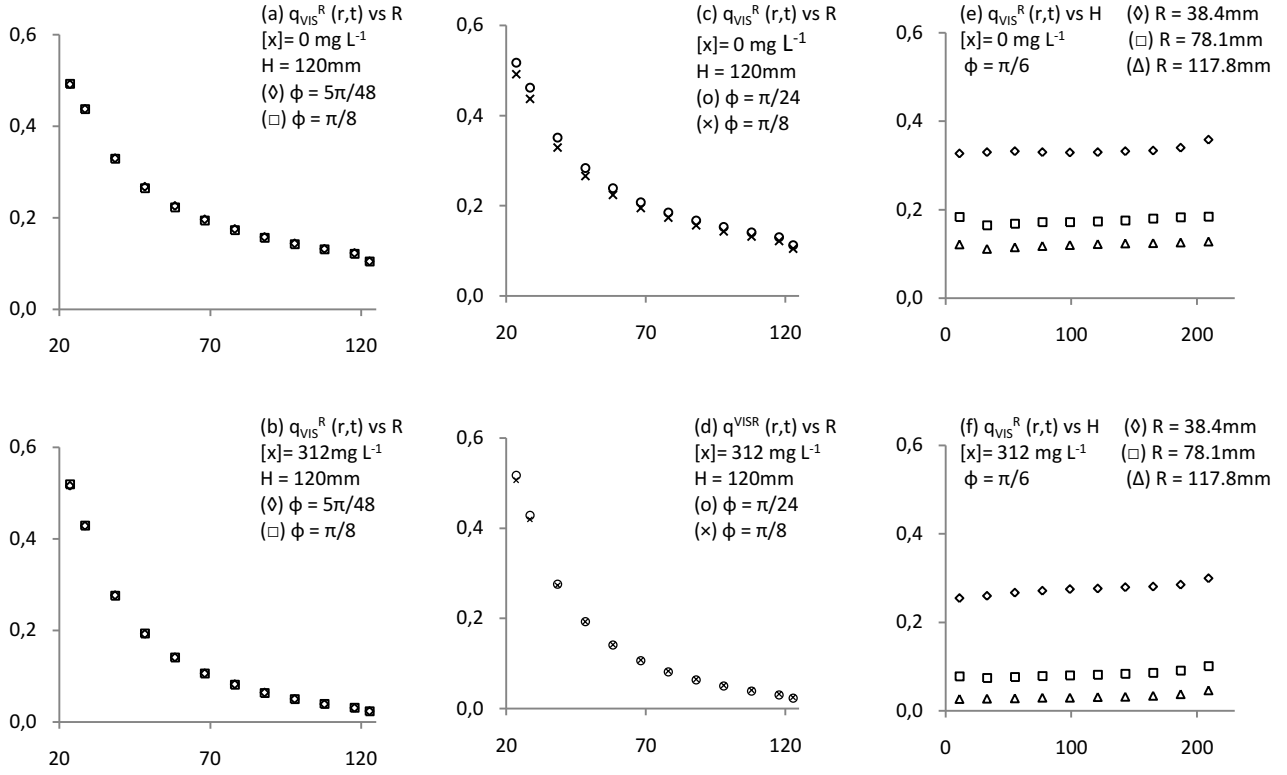


**Figura 5.1:** Gráfico de las superficies virtuales a través de las cuales se mide la densidad de flujo de energía radiante. Las superficies poseen áreas unitaria, son tangenciales a la superficie de la lámpara y pueden ser caracterizadas por las coordenadas: altura sobre el eje  $z$  ( $0 < H < H_M$ ), la distancia radial al eje de la lámpara ( $R_{VI} < R < R_{VE}$ ) y el ángulo  $\varphi$  ( $0 < \varphi < \pi/6$ ). (a) en función del radio  $R$  y la altura  $H$ . (b) en función del radio  $R$  y el ángulo  $\varphi$ .

Como puede apreciarse en las Figuras 5.2(c) y 5.2(d), la diferencia entre los valores de la densidad de flujo de fotones  $q_{VIS}(\underline{r}, t)$  en las zonas con y sin burbujas es muy baja.

En las Figuras 5.2(e) y 5.2(f) se muestra la variación de la densidad  $q_{VIS}(\underline{r}, t)$  con la altura respecto a la base del reactor, para superficies ubicadas a diferentes radios. A medida que la altura aumenta, puede verse un pequeño aumento en el valor de la densidad de flujo a causa de la contribución de luz incidente desde la lámpara a través de la superficie superior del cultivo, efecto que se diluye a medida que la altura desciende hasta llegar al fondo del reactor. Justo por encima de la base del reactor la densidad de flujo es ligeramente superior al valor que toma sobre la base del reactor. Este

efecto se debe a la contribución a la densidad de flujo por parte de la luz reflejada en la base del reactor. En la Figuras 5.2(e) y 5.2(f) se puede apreciar que a medida que la distancia radial al eje de la lámpara aumenta, la densidad de flujo de fotones es cada vez menor.



**Figura 5.2:** Efecto de la distancia radial al centro de la lámpara, los tabiques, las burbujas y la altura respecto a la base del reactor. **(a y b)** Densidad de flujo relativa  $q_{vis}^R(r,t)$  en la dirección radial en función del radio  $R$ , para el *medio de cultivo estéril*  $[x] = 0 \text{ mg L}^{-1}$  **(a)** y para una suspensión con una concentración de microalgas  $[x] = 312 \text{ mg L}^{-1}$  de microalgas **(b)**, a una altura  $H = 120\text{mm}$ , en la zona sin burbujas para  $\phi = 5\pi/48$  ( $\diamond$ ) y  $\phi = \pi/8$  ( $\square$ ). **(c y d)**  $q_{vis}^R(r,t)$  en función de  $R$ , para  $[x] = 0 \text{ mg L}^{-1}$  **(c)** y  $[x] = 312 \text{ mg L}^{-1}$  **(d)**, a  $H = 120\text{mm}$ , para la zona con burbujas  $\phi = 0$  ( $\circ$ ) y zona sin burbujas  $\phi = \pi/6$  ( $\times$ ). **(e y f)**  $q_{vis}^R(r,t)$  en función de  $H$  para  $[x] = 0 \text{ mg L}^{-1}$  **(e)** y  $[x] = 312 \text{ mg L}^{-1}$  de algas **(f)**, para  $R = 38,4\text{mm}$  ( $\diamond$ ),  $R = 78,1\text{mm}$  ( $\square$ ) y  $R = 117,8\text{mm}$  ( $\Delta$ ) en la zona sin burbujas para  $\phi = \pi/6$ . La propiedad  $q_{vis}^R(r,t)$  corresponde a la densidad de flujo de fotones  $q_{\lambda}(r,t)$  en la dirección radial relativos a la densidad de flujo de fotones sobre la superficie de la lámpara  $q_{vis}^L$ , incluyendo fotones con longitud de onda en el rango 400 a 700nm. La densidad de flujo de fotones sobre la superficie de la lámpara  $q_{vis}^L \left[ \frac{\mu\text{mol}}{\text{s m}^2} \right] = \int_{400}^{700} \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi} d\theta d\mu d\lambda (\hat{n} \cdot \hat{\Omega}) n_{\lambda}(r, \hat{\Omega}, t) = 257,6 \mu\text{mol s}^{-2} \text{ m}^{-2}$ ,

Los datos volcados en las Figuras 5.2 corresponden a la densidad de flujo de fotones  $q_{vis}(r,t)$  en la dirección radial incluyendo todos los fotones [fotones  $\text{área}^{-1} \text{ tiempo}^{-1}$ ] con longitud de onda incluida entre 400 y 700nm, relativos a la densidad de flujo  $q_{vis}^L$  de fotones sobre la superficie de emisión de la lámpara [fotones emitidos  $\text{área}^{-1} \text{ tiempo}^{-1}$ ].

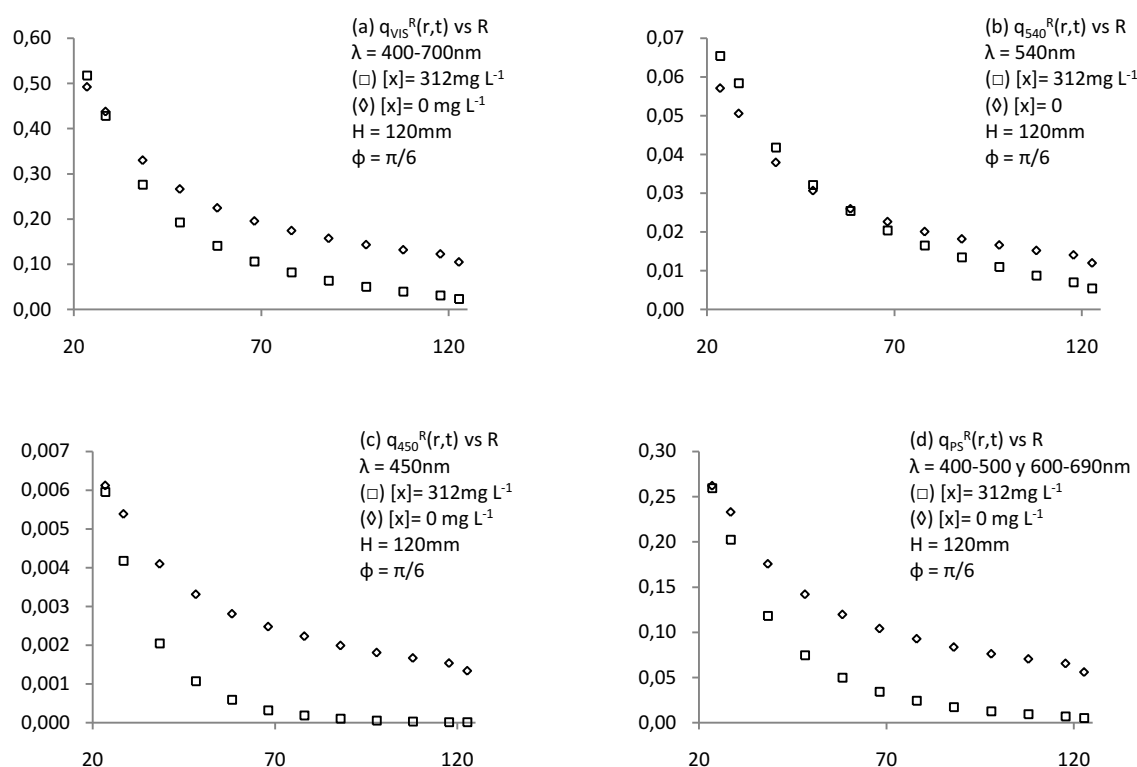
Sobre el tubo de vidrio interno la densidad de flujo de energía radiante alcanza aproximadamente la mitad del valor de la misma propiedad sobre la superficie de la lámpara. A medida que la distancia respecto al eje de la fuente de emisión aumenta, la densidad de flujo disminuye de manera casi exponencial. Si se observa la densidad de flujo de energía radiante sobre el vidrio externo en las Figuras 5.2(a) y 5.2(c), puede distinguirse un decaimiento más pronunciado al alcanzar esta superficie. Al igual que en el caso de la base del reactor, este efecto se atribuye a la contribución al flujo de energía que produce la reflexión sobre el vidrio externo del reactor. Sobre una superficie ubicada justo por delante del vidrio externo, la densidad es mayor ya que la misma recibe radiación directa desde la lámpara y por reflexión desde el vidrio externo. Sobre el vidrio externo, el flujo de energía sólo recibe la contribución de la lámpara, sin existir radiación que alcance al vidrio desde el exterior del reactor.

En la Figura 5.3 puede verse la variación de la densidad de flujo radiante para diferentes rangos de longitudes de onda  $\lambda$ . En la Figura 5.3(a) se observa la variación en la densidad de flujo de fotones relativa  $q_{VIS}(r,t)$  con la distancia a la lámpara incluyendo todos los fotones con longitud de onda incluida en el rango 400 a 700nm, para el reactor con medio de cultivo estéril y para una suspensión de algas con una concentración de  $312mg L^{-1}$ . En las Figuras 5.3(b) y 5.3(c) se observa las variaciones en  $q_{540}(r,t)$  y  $q_{450}(r,t)$  con la distancia radial  $R$ , para el reactor con medio de cultivo y para el día 15 de cultivo. En dichas figuras,  $q_{540}(r,t)$  y  $q_{450}(r,t)$  son las densidades de flujo de fotones para los rangos  $535 \leq \lambda \leq 545nm$  y  $445 \leq \lambda \leq 455nm$ , calculados según la Ecuación 5.2. Como puede verse, la densidad de flujo de fotones  $q_{540}(r,t)$  (Figura 5.3(b)) casi no se ve modificada por la presencia de algas en el medio, sin embargo para  $\lambda$  450nm (Figura 5.3(c)), la diferencia en la densidad de flujo  $q_{450}(r,t)$  es significativa.

Las algas en suspensión absorben la radiación emitida por la lámpara disminuyendo la energía radiante que alcanza las superficies más alejadas a la fuente de radiación. Esta absorción no es igual para todas las longitudes de onda, sino que está determinada por la selectividad de la clorofila, el principal pigmento fotosintético, y se ve reflejada en el valor que el coeficiente de absorción toma en dichas longitudes de onda.

En la Figura 5.3(d), se puede observar la variación en la densidad local del flujo de fotones  $q_{PS}(r,t)$ , en la dirección radial, incluyendo todas los fotones con longitudes de onda en los rangos 400 -500nm y 600 -690nm, identificados como fotosintéticamente útiles para el crecimiento autotrófico. La baja

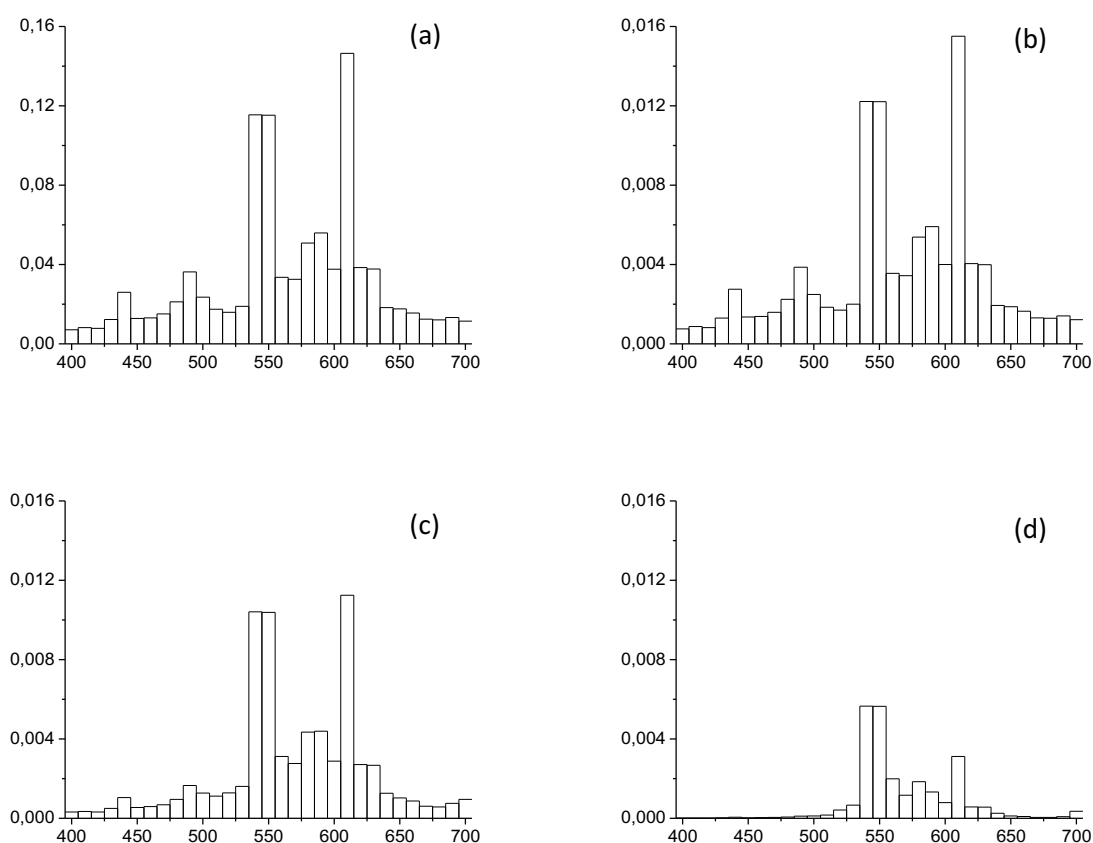
densidad en el flujo de fotones dentro de estos rangos en las posiciones más cercanas al vidrio externo advierte que, cuando la concentración de biomasa es alta ( $312\text{mg L}^{-1}$ ), existen dentro del reactor zonas en las cuales no hay disponibilidad de luz fotosintéticamente útil para el crecimiento autotrófico. Estas posiciones "oscuras" podrían pensarse como zonas improductivas, sin embargo esta conjetura podría no ser adecuada. Dentro del reactor el medio de cultivo se encuentra agitado por el flujo de burbujas. Este régimen de mezclado expone a la luz en forma cíclica a todas las algas en la suspensión. Existen diferentes antecedentes en literatura que señalan que la iluminación del cultivo con luz intermitente favorece el crecimiento celular, fenómeno denominado *efecto flash*. En este sentido, la permanencia periódica entre zonas iluminadas y no iluminadas por agitación dentro del reactor sería equivalente a la exposición del cultivo a luz intermitente. Si este efecto es confirmado para las algas de interés, la partición del reactor en zonas iluminadas y oscuras, asegurando el régimen de mezclado adecuado, podría ser otra variable relevante de diseño de FBR.



**Figura 5.3:** Densidad de flujo de fotones  $q_{\lambda}(r,t)$  en la dirección radial relativos a la densidad de flujo de fotones sobre la superficie de la lámpara  $q_{\text{vis}}^L$  en función del radio  $R$ . (a) considerando todos los fotones con  $\lambda$  incluida en el rango 400 a 700nm. (b) considerando sólo los fotones con  $\lambda$  540nm. (c) considerando sólo los fotones con  $\lambda$  450nm. (d) considerando los fotones con  $\lambda$  incluida en los rangos fotosintéticamente útiles: 400 a 500nm y 600 a 690nm. (♦)  $[x] = 311,6\text{mg L}^{-1}$ ; (□)  $[x] = 311,6\text{mg L}^{-1}$ . Valores correspondientes a  $H = 120\text{mm}$  y  $\phi = \pi/6$ .



En la Figura 5.3(b), puede verse que la densidad de flujo de fotones sobre la superficie del vidrio interno cuando la concentración de algas alcanza los  $312 \text{ mg L}^{-1}$  es mayor que el valor que esta variable toma cuando el reactor está lleno de medio sin inocular. Esta diferencia se atribuye a la contribución al flujo de fotones por el fenómeno de dispersión de radiación. Como puede apreciarse, este fenómeno es más pronunciado en longitudes de onda con menor coeficiente de absorción ( $\lambda \approx 540 \text{ nm}$ ). Cuando el coeficiente de absorción es alto ( $\lambda \approx 450 \text{ nm}$ ), esta contribución a la densidad de flujo de fotones en forma dispersa es atenuada por la disminución en el número total de fotones en el CER, los cuales son absorbidos por las microalgas en suspensión.



**Figura 5.4:** Densidad de flujo de fotones  $q_{\lambda}(r,t)$  relativos a la densidad de flujo de fotones sobre la superficie de la lámpara  $q_{VIS}^L$  en función de la longitud de onda  $\lambda$ . **(a)** Sobre la superficie de la lámpara ( $R = R_L$ ). **(b)** Sobre la superficie del vidrio externo ( $R = R_{VE}$ ) para  $[x] = 0 \text{ mg L}^{-1}$ ; **(c)**  $[x] = 64 \text{ mg L}^{-1}$  y **(d)**  $[x] = 312 \text{ mg L}^{-1}$ . Valores correspondientes a  $H = 120 \text{ mm}$  y  $\varphi = \pi/6$ .

Durante el paso de los haces de luz a través de la suspensión, la absorción de energía radiante provoca la pérdida selectiva de energía radiante en los mismos. Esta selectividad se debe a la especificidad respecto a la longitud  $\lambda$  con a que los pigmentos fotosintéticos absorben la radiación

proveniente desde la fuente de emisión de luz. Si analizamos la distribución en  $\lambda$  de la densidad de flujo de fotones  $q_\lambda(\underline{r}, t)$  sobre la superficie de la lámpara (Figura 5.4(a)) o sobre el vidrio externo del reactor (Figuras 5.4(b), (c) y (d)) para distintas concentraciones de biomasa, puede verse la forma en que los haces de luz pierden energía radiante principalmente en las longitudes de onda dentro de los rangos  $400$  a  $500nm$  y  $600$  a  $690nm$ , y se enriquecen en la proporción de energía en longitudes de onda en que los pigmentos fotosintéticos no absorben energía radiante.

De esta manera, además de la cantidad neta de energía radiante que llega a cada posición dentro de la suspensión de microalgas, también varía durante de cultivo la composición relativa (en términos de la longitud de onda) que caracteriza a esa cantidad de energía radiante en cada posición.

## (6) VELOCIDAD VOLUMÉTRICA LOCAL DE ABSORCIÓN DE FOTONES.

---

La densidad  $n_\lambda(\underline{r}, t)$  de fotones  $\lambda$ , en cualquier posición  $\underline{r}$  dentro reactor, considerando todas las direcciones  $\hat{\underline{Q}}$ , puede calcularse a partir de  $n_p(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, \lambda)$ , según se expuso en secciones anteriores, mediante la siguiente ecuación

$$n_\lambda(\underline{r}, t) = \int_{\hat{\underline{Q}}} d\hat{\underline{Q}} n_\lambda(\underline{r}, \hat{\underline{Q}}, t) = \int_0^{2\pi} d\phi \int_{-1}^1 d\mu n_\lambda(\underline{r}, \mu, \phi, t) \quad (6.1)$$

Luego, a partir de  $n_\lambda(\underline{r}, t)$ , es posible obtener la velocidad volumétrica local de absorción de fotones

$r_\lambda^{abs}$  de acuerdo a:

$$r_\lambda^{abs}(\underline{r}, t) = c \alpha_\lambda(t) n_\lambda(\underline{r}, t) \quad (6.2)$$

Lo importante de esta variable es que permite comprender de qué forma la luz está siendo localmente absorbida por las microalgas. En las Figuras 6.1(a) a 6.1(d) se grafican las velocidades volumétricas locales de absorción de fotones  $r_{VIS}^{abs}(\underline{r}, t)$ ,  $r_{PS}^{abs}(\underline{r}, t)$ ,  $r_{540}^{abs}(\underline{r}, t)$  y  $r_{450}^{abs}(\underline{r}, t)$ , calculados a partir de las Ecuaciones 6.3, 6.4 y 6.5, en función de la distancia radial ( $R$ ) al eje de la lámpara, para diferentes concentraciones de biomasa, considerando distintos rangos de longitudes de onda  $\lambda$ .

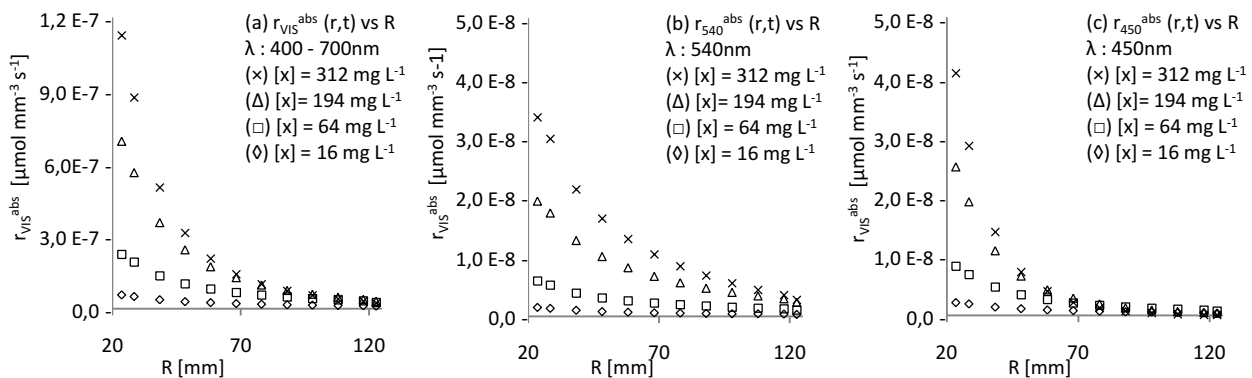
$$r_{VIS}^{abs}(\underline{r}, t) = \int_{400}^{700} r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t) d\lambda = c \int_{400}^{700} \alpha_{\lambda}(t) n_{\lambda}(\underline{r}, t) d\lambda \quad (6.3)$$

$$r_{PS}^{abs}(\underline{r}, t) = \int_{400}^{500} r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t) d\lambda + \int_{600}^{700} r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t) d\lambda \quad (6.4)$$

$$r_{540}^{abs}(\underline{r}, t) = \int_{535}^{545} r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t) d\lambda \quad (6.5)$$

$$r_{450}^{abs}(\underline{r}, t) = \int_{445}^{455} r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t) d\lambda \quad (6.6)$$

En las Figuras 6.1(c) y 6.1(d) puede verse que la velocidad de absorción  $r_{540}^{abs}(\underline{r}, t)$ , para longitudes de onda  $\lambda \approx 540nm$ , es menor que  $r_{450}^{abs}(\underline{r}, t)$  para  $\lambda \approx 450nm$ ; en todas las concentraciones de biomasa a pesar de que la densidad de flujo de fotones  $q_{540}(\underline{r}, t)$  es diez veces mayor que el valor de  $q_{450}(\underline{r}, t)$ . La causa de esta diferencia radica en el valor en que toma el coeficientes de absorción  $\alpha_{\lambda}$  incluido en la Ecuación 6.2, para cada una de las longitudes de onda consideradas.



**Figura 6.1:** Velocidad volumétrica local de absorción de fotones  $r_{\lambda}^{abs}$  relativa a la densidad de flujo de fotones sobre la superficie de la lámpara en función de la distancia radial  $R$  a la lámpara para cuatro concentraciones de diferentes de biomasa  $[x] = 16, 64, 194$  y  $312 mg L^{-1}$ . [fotones absorbidos  $s^{-1} mm^{-3}$  / fotones emitidos  $s^{-1} mm^{-2}$ ] (a)  $r_{\lambda}^{abs}$  para el rango de longitudes de onda  $\lambda$  400-700nm. (b)  $r_{\lambda}^{abs}$  para  $\lambda$  450nm. (c)  $r_{\lambda}^{abs}$  para  $\lambda$  540nm. (b)  $r_{\lambda}^{abs}$  considerando los rangos de longitudes de onda  $\lambda$  400-500nm y 600-690nm. Valores correspondientes a  $H = 120mm$  y  $\varphi = \pi/6$ .

Estas diferencias en las velocidades de absorción de energía radiante para diferentes longitudes de onda es una variable importante para el diseño de reactores. En suspensiones muy concentradas, la radiación de longitudes de onda con un coeficiente de absorción elevado es absorbida en las zonas más cercanas a la superficie iluminada. En consecuencia, las zonas más profundas son menos

iluminadas, con baja disponibilidad de energía fotosintéticamente útil. Estas regiones oscuras poseen una tasa de crecimiento muy bajo, disminuyendo la performance de los equipos.

La utilización de fuentes de radiación de mayor intensidad no es una solución. El aumento en la disponibilidad de energía radiante en las zonas más expuestas a la luz produce, localmente, un aumento en la velocidad de absorción de energía radiante. Este fenómeno resulta en la saturación de los sistemas fotosintéticos y, cuando la intensidad de energía es demasiado elevada, es posible alcanzar un estado de fotoinhibición, en el cual el crecimiento celular se detiene debido a daños fotooxidativos en los fotosistemas (Yoon, J. H. y col., 2002; Melis, A. y col., 1999).

Por otro lado, la utilización de lámparas capaces de emitir radiación con longitudes de onda fotosintéticamente útiles, con coeficientes de absorción relativamente bajos, permitiría una penetración de la luz hacia las zonas más profundas evitando el estrés oxidativo en las zonas más expuestas a la radiación; garantizando un proceso eficiente.

## **(7) FUNCIÓN DE DISTRIBUCIÓN DE VELOCIDADES VOLUMÉTRICAS DE ABSORCIÓN DE FOTONES.**

---

Como puede verse, en el reactor las propiedades del campo de energía radiante no son constantes y dependen tanto de la posición dentro del reactor como de las concentraciones de biomasa y clorofila. Estas diferencias en las propiedades de CER producen una estratificación de la luz dentro la suspensión, distinguiéndose en el volumen de cultivo zona más y menos iluminadas.

Una cuestión de suma importancia en el análisis y/o el diseño de FBR es lograr cuantificar la magnitud con que se produce la estratificación del reactor. Esto puede lograrse a través de la definición de la función de distribución  $g(\psi_\lambda, t)$ . Esta función describe la frecuencia en que los diferentes valores de la propiedad  $\psi_\lambda$  del CER se repiten dentro del reactor.

En otras palabras, si se elige al azar un elemento de volumen dentro del reactor en el instante  $t$ , en condiciones en que todos sean igualmente probables, la probabilidad diferencial  $dG(\psi_\lambda, t)$  de que en ese elemento de volumen el valor de la propiedad  $\psi_\lambda$  del CER esté incluido en el rango  $\psi_\lambda$  y  $\psi_\lambda + d\psi_\lambda$  puede ser escrita como:

$$dG(\psi_\lambda, t) = \frac{dG(\psi_\lambda, t)}{d\psi_\lambda} d\psi_\lambda \quad (7.1)$$

donde  $g(\psi_\lambda, t) = dG(\psi_\lambda, t)/d\psi_\lambda$  es la función de distribución de la propiedad  $\psi_\lambda$  del CER dentro del reactor para el instante  $t$ .

Así, la probabilidad acumulativa  $G(\psi_\lambda, t)$  de que un elemento de volumen cualquiera pertenezca a una zona dentro del reactor en la cual la propiedad  $\psi'_\lambda$  del CER tome valores en el rango 0 a  $\psi_\lambda$ , es la relación entre el volumen  $V(\psi_\lambda)$  de las zonas con  $0 < \psi'_\lambda < \psi_\lambda$  y el volumen  $V_R$  del reactor. En términos de  $g(\psi_\lambda, t)$  esta probabilidad puede calcularse según:

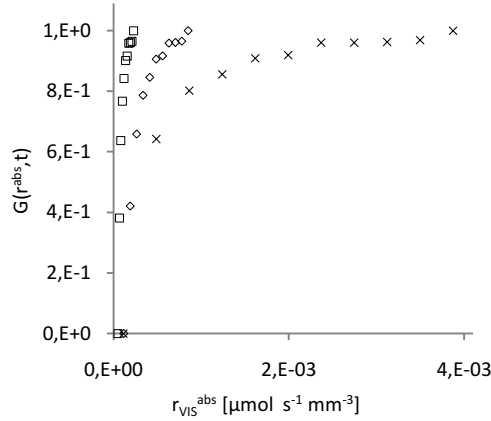
$$G(\psi_\lambda, t) = \frac{V(\psi_\lambda)}{V_R} = \frac{1}{V_R} \int_0^{\psi_\lambda} g(\psi'_\lambda, t) d\psi'_\lambda \quad (7.2)$$

El aspecto más atractivo en la definición de la función  $g(\psi_\lambda, t)$  es que permite conocer, para cada instante  $t$ , cuál es el régimen de iluminación al que está sometida la suspensión de algas, independientemente de la geometría del reactor y de las características de emisión de la fuente de iluminación; constituyéndose así, en un factor de comparación entre reactores operados en condiciones diferentes, lo cual es una herramienta de gran valor para el diseño y escalado de FBR.

En la Figura 7.1 se grafican las distribuciones de probabilidades  $G(r_{VIS}^{abs}, t)$  para la velocidad volumétrica local  $r_{VIS}^{abs}$  de absorción de fotones, incluyendo todas las longitudes de onda en los rangos 400 -700nm, para tres concentraciones de biomasa.

En base a la Figura 7.1 es posible analizar la forma en que se desarrolla la estratificación de la velocidad  $r_{VIS}^{abs}(r, t)$  de absorción de fotones dentro del reactor, a medida que la concentración de biomasa aumenta. Al principio, el reactor opera casi en su totalidad con la misma velocidad  $r_{VIS}^{abs}(r, t)$ , la cual es muy baja debido a la baja concentración de pigmentos fotosintéticos. Esta baja concentración de pigmentos capaces de absorber energía radiante permite que la luz alcance todas las zonas del reactor. A medida que las algas crecen, la concentración de pigmentos también aumenta y con ella lo hace la velocidad de absorción  $r_{VIS}^{abs}(r, t)$ . El aumento en la velocidad de absorción de luz se produce mayormente en las zonas contiguas a la fuente de emisión; al aumentar la absorción en estas zonas, se reduce la cantidad de luz que alcanza las zonas más profundas o alejadas de la lámpara; por lo que, en las zonas apartadas de la fuente de emisión, la velocidad de absorción energía

radiante decae sensiblemente producto de la disminución en la cantidad de luz que alcanza estos lugares. Esto se traduce en la estratificación de la velocidad de absorción de fotones en la suspensión de cultivo, uno de los fenómenos de mayor incidencia en la performance de los equipos.



**Figura 7.1:** Probabilidad acumulativa  $G(r_{VIS}, t)$  de que en un elemento de volumen elegido al azar dentro del reactor, la velocidad volumétrica local de absorción de fotones  $r_{VIS}^{abs}$  este en el rango  $0 - r_{VIS}^{abs}$  para tres concentraciones de biomasa: ( $\times$ )  $312 \text{ mg L}^{-1}$ ; ( $\diamond$ )  $64 \text{ mg L}^{-1}$  y ( $\square$ )  $16 \text{ mg L}^{-1}$ . La velocidad  $r_{VIS}^{abs}$  se calcula considerando fotones con longitud de onda  $\lambda$  incluida en los rangos  $400 < \lambda < 700 \text{ nm}$ ,

A partir de  $g(r_{VIS}, t)$  es posible definir dos parámetros útiles para el diseño y/o la comparación de diferentes reactores o condiciones de operación: la velocidad promedio  $\bar{r}_{VIS}(t)$  de absorción de energía radiante y la variancia  $\sigma_{VIS}^2(t)$  en la distribución de velocidades de absorción, definidas de acuerdo a:

$$\bar{r}_{VIS}(t) = \int_0^{\infty} r_{VIS} g(r_{VIS}, t) dr_{VIS} \quad (7.3)$$

$$\sigma_{VIS}^2(t) = \int_0^{\infty} (r_{VIS} - \bar{r}_{VIS}(t))^2 g(r_{VIS}, t) dr_{VIS} = \int_0^{\infty} r_{VIS}^2 g(r_{VIS}, t) dr_{VIS} - \bar{r}_{VIS}^2(t) \quad (7.4)$$

Junto con  $\bar{r}_{VIS}$  y  $\sigma_{VIS}^2$ , es posible definir 5 parámetros para el análisis del grado de estratificación del reactor: los valores máximos  $r_{VIS}^{max}(t)$  y mínimos  $r_{VIS}^{min}(t)$  para  $r_{VIS}^{abs}(r, t)$  dentro del reactor en el instante  $t$ ; y los valores  $r_{VIS}^{Q1}(t)$ ,  $r_{VIS}^{Q2}(t)$  y  $r_{VIS}^{Q3}(t)$ , los cuales se definen según

$$P(r_{VIS}^{Q1}, t) = \frac{V(r_{VIS}^{Q1})}{V_R} = \frac{1}{V_R} \int_0^{r_{VIS}^{Q1}} g(r_{VIS}^{abs}, t) dr_{VIS}^{abs} = 0.25 \quad (7.5a)$$

$$P(r_{VIS}^{Q2}, t) = \frac{V(r_{VIS}^{Q2})}{V_R} = \frac{1}{V_R} \int_0^{r_{VIS}^{Q2}} g(r_{VIS}^{abs}, t) dr_{VIS}^{abs} = 0.5 \quad (7.5b)$$

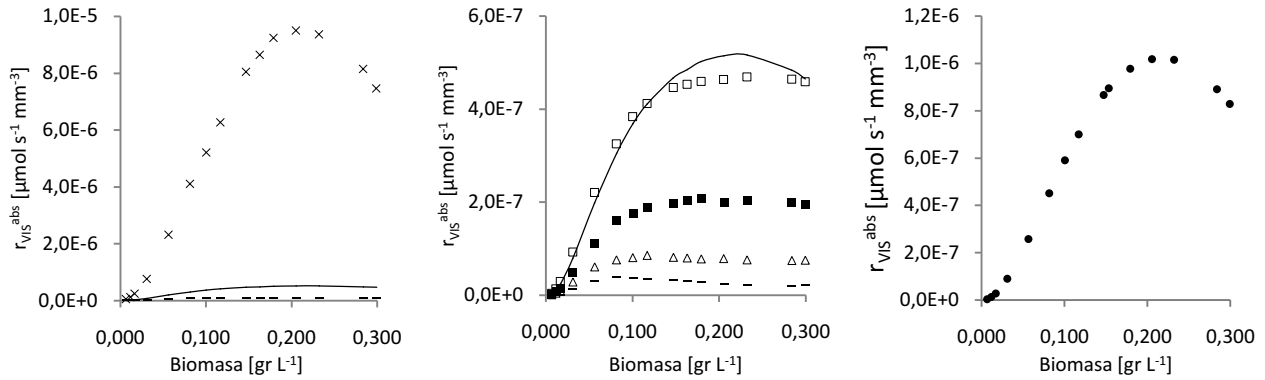
$$P(r_{VIS}^{Q3}, t) = \frac{V(r_{VIS}^{Q3})}{V_R} = \frac{1}{V_R} \int_0^{r_{VIS}^{Q3}} g(r_{VIS}^{abs}, t) dr_{VIS}^{abs} = 0.75 \quad (7.5c)$$

Donde  $V(r_{VIS}^{Q1}) = 0,25 V_R$ ,  $V(r_{VIS}^{Q2}) = 0,5 V_R$  y  $V(r_{VIS}^{Q3}) = 0,75 V_R$  representan los volúmenes del reactor en los cuales  $r_{VIS}^{abs}(r, t)$  está, respectivamente, en los rangos  $(0, r_{VIS}^{Q1})$ ,  $(0, r_{VIS}^{Q2})$  y  $(0, r_{VIS}^{Q3})$ .

En la Figura 7.2(a) se muestra la velocidad volumétrica promedio  $\bar{r}_{VIS}(t)$  de absorción de fotones dentro del reactor para el cultivo realizado bajo concentraciones atmosféricas de  $CO_2$ , junto a los valores de máximos y mínimos  $r_{VIS}^{max}(t)$  y  $r_{VIS}^{min}(t)$ . Como puede verse el valor de  $r_{VIS}^{min}(t)$  es siempre cercano a cero, al comienzo del cultivo debido a la baja concentración de biomasa; y en las etapas más avanzadas, por la presencia de zonas "oscuras" dentro del reactor. Por otro lado  $r_{VIS}^{max}(t)$  alcanza valores mucho mayores a  $\bar{r}_{VIS}(t)$  presentando un máximo para valores de biomasa cercanos los  $200mg L^{-1}$ , cuando la concentración de clorofila es máxima. En la Figura 7.2(b), el valor de  $\bar{r}_{VIS}(t)$  se representa junto a los valores de  $r_{VIS}^{min}(t)$ ,  $r_{VIS}^{Q1}(t)$ ,  $r_{VIS}^{Q2}(t)$  y  $r_{VIS}^{Q3}(t)$ . Como puede verse, el valor de la velocidad promedio de absorción de fotones es similar al valor correspondiente a  $r_{VIS}^{Q3}(t)$ , indicando que solo un 25% del volumen del reactor está operando con velocidades de absorción de fotones superiores al promedio, mientras que en el 75% restante del volumen de cultivo, las velocidades de absorción de fotones son inferiores al promedio  $\bar{r}_{VIS}(t)$ .

En la Figura 7.2(b) se grafica el valor de  $SD(t) = \sqrt{\sigma_{VIS}^2(t)}$  en función de la concentración de biomasa en el reactor. Como es posible observar, hacia el final de cultivo la dispersión de los valores de  $r_{VIS}^{abs}(r, t)$  es menor, indicando una distribución de luz más homogénea en el reactor. La causa de esto es que cuando la concentración de biomasa alcanza los  $0,2gr L^{-1}$  dentro del reactor, la biomasa continua creciendo pero el contenido de clorofilas comienza a disminuir. La reducción en el contenido de clorofila permite que la luz sea absorbida a una tasa menor en las zonas próximas a la fuente de iluminación alcanzando zonas más profundas del reactor. Asimismo una mayor

concentración de biomasa favorece el "mezclado" de la luz, debido a los fenómenos de dispersión de energía radiante. Una mayor penetración de los haces de luz y la dispersión de los mismos dan como resultado una distribución más uniforme de la luz dentro del reactor.



**Figura 7.2:** (a) Valores para  $r_{VIS}^{min}(t)$  (---);  $r_{VIS}^{max}(t)$  (×) y  $\bar{r}_{VIS}(t)$  (—) en función de la concentración de biomasa [mgDW L<sup>-1</sup>], considerando aquellas longitudes de onda incluidas en los rangos 400-500 y 600-690nm. (b) Valores para  $r_{VIS}^{min}(t)$  (---),  $r_{VIS}^{Q1}(t)$  (Δ),  $r_{VIS}^{Q2}(t)$  (•),  $r_{VIS}^{Q3}(t)$  (□) y  $\bar{r}_{VIS}(t)$  (—) en función de la concentración de biomasa. (c) Valor para  $SD(t) = \sqrt{\sigma_{VIS}^2(t)}$ , en función de la concentración de biomasa.

## (8) CONCLUSIONES.

Utilizando el método de simulación por Monte Carlo desarrollado en el Capítulo 5 y el conjunto de parámetros obtenidos en el Capítulo 6 (Heinrich, J.M. y col, 2012 a y b) se desarrolló un programa para la simulación del CER dentro del reactor construido para la presente tesis (Heinrich, J.M. y col, 2013). Empleando este simulador se logró predecir la evolución en el tiempo del valor de las propiedades  $q_{\lambda}(r,t)$  y  $r_{\lambda}^{abs}(r,t)$  en la suspensión de microalgas.

A partir de  $r_{\lambda}^{abs}(r,t)$  es posible calcular la velocidad  $r_{VIS}^{abs}(r,t)$ . Esta propiedad considera el rango de longitudes de onda 400 a 700nm y dependen de la posición dentro del reactor y de las concentraciones de biomasa y clorofila en el medio. A partir de  $r_{VIS}^{abs}(r,t)$  se definió la función  $g(r_{VIS}^{abs},t)$ , la cual permite caracterizar y cuantificar la magnitud con que se produce el fenómeno de estratificación de la velocidad de absorción de luz en del reactor. Esta función constituye una



herramienta de particular interés a la hora de comparar diferentes reactores o regímenes de operación.

Asimismo, a partir de  $g(r_{VIS}, t)$  se calcularon  $\bar{r}_{VIS}(t)$  y  $\sigma_{VIS}^2(t)$ . Dos variables que permiten simplificar la comparación entre reactores.



## **Capítulo 9**

# **CINÉTICA DE PROPAGACIÓN CELULAR.**

---



## (1) INTRODUCCIÓN.

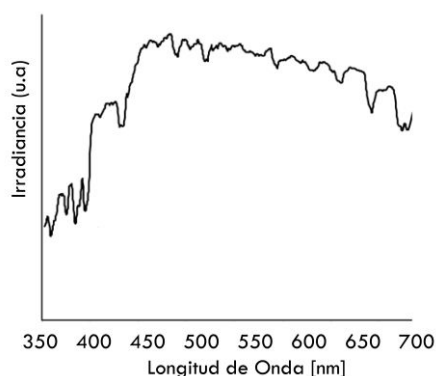
---

Este trabajo comenzó con el diseño y construcción de un foto-bio-reactor (FBR) con el objetivo de analizar de qué manera influyen los diferentes fenómenos involucrados en el funcionamiento del reactor sobre la velocidad de propagación de las microalgas. Construido el reactor, se analizaron los equilibrios químicos presentes en la fase acuosa y entre las fases líquido y gas; el fenómeno de mezclado dentro del mismo; la transferencia de oxígeno y dióxido de carbono entre fases; y, por último, la distribución del campo de energía radiante en la suspensión (Heinrich, J.M. y col., 2013).

Durante el cultivo de algas en el reactor, la luz necesaria para el crecimiento fotoautótrofo es provista mediante una lámpara fluorescente ubicada en el centro del reactor. Como fue expuesto en el capítulo anterior, la cantidad de energía radiante disponible en el reactor no es constante sino que depende de la posición dentro del medio de cultivo. Asimismo, la cantidad de energía radiante que alcanza una posición fija dentro del reactor varía durante el cultivo. Esta variación en la densidad local de energía radiante se debe únicamente a las modificaciones que se producen en las propiedades ópticas de la suspensión. Estas modificaciones son producto del cambio en las concentraciones de microalgas y pigmentos en la fase acuosa. Más aún, para una posición fija, no sólo varía la cantidad neta de energía que llega, sino que además cambia la distribución de esta energía con la longitud de onda, enriqueciéndose en forma relativa en aquellas longitudes de onda que son absorbidas en menor medida por el sistema fotosintético (Heldt, H. W., 2004a; Pilon, L. y col., 2011).

Para poder lograr una mejor comprensión de la forma en que el  $CO_2$  y la disponibilidad de energía radiante en el medio de cultivo interaccionan y gobiernan la cinética con que se propagan las algas, se realizaron cultivos de microalgas, iluminados con luz fluorescente, bajo diferentes concentraciones de dióxido de carbono en la fase gaseosa (0,034; 0,34 y 3,4%).

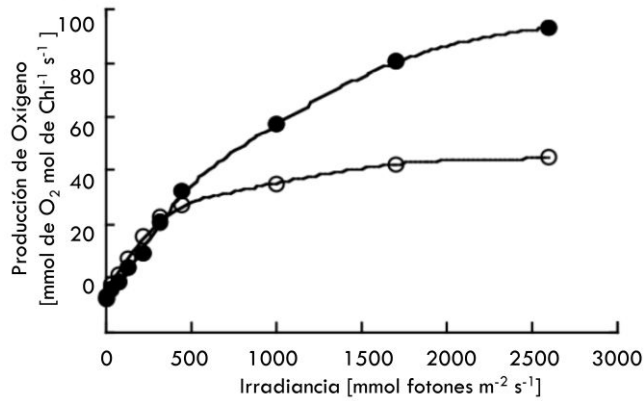
En condiciones de iluminación natural, la densidad de flujo de energía radiante sobre una superficie horizontal durante el mediodía alcanza valores cercanos a  $1,0 \text{ KW m}^{-2}$ . El valor exacto depende de las condiciones climáticas, época del año y posición sobre la superficie terrestre. De acuerdo al trabajo publicado por Pilon y col. (Pilon, L. y col., 2011) menos de la mitad de esta energía corresponde al rango 400 a 700nm.



**Figura 1.1:** Distribución espectral de la energía solar sobre la superficie terrestre en función de la longitud de onda, en unidades arbitrarias (adaptado desde: Pilon, L. y col., 2011)

Considerando la distribución espectral descrita por el mismo autor (Figura 1.1), la densidad de flujo de fotones con longitud de onda en el rango 400 a 700nm sobre una superficie horizontal cuando el sol se ubica en posición vertical, ronda el valor de  $2000 \mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Considerando un estanque de cultivo de 20cm de profundidad, la cantidad de luz que alcanza al cultivo por unidad de volumen es  $10 \mu\text{mol de fotones L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ . Por otro lado, el flujo lumínico (definido como la cantidad de luz emitida por una fuente de radiación incluyendo todas direcciones de emisión) de la lámpara fluorescente utilizada para la iluminación del reactor es de 730 lúmenes, considerando el perfil espectral de emisión de esta lámpara (Capítulo 5) y la función de conversión de fotones (Ryer A. D., 1997) la densidad de flujo de fotones sobre la superficie de la lámpara es de  $200 \mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  y el régimen de iluminación del cultivo es de  $0,44 \mu\text{mol de fotones L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ .

En el trabajo publicado por Mautusi Mitra (Mautusi Mitra y col., 2008) se determinó experimentalmente la cantidad de oxígeno producido dentro de una suspensión de *Chlamydomonas reinhardtii* cuando la misma es iluminada con diferentes densidades superficiales de flujo de fotones (denominada en ese trabajo "light intensity"; con unidades  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). En esta publicación los autores relacionan la producción de oxígeno con la eficiencia en la utilización de los fotones absorbidos, y comparan la eficiencia de cepas *wild type* con una cepa mutante deficiente en la capacidad de producir clorofila. A partir de los resultados obtenidos (Figura 1.2) fue posible observar que el sistema fotosintético de cepas *wild type* no se satura sino hasta superar una densidad superficial en el flujo de fotones de  $500 \mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .



**Figura 1.2:** Producción de oxígeno por unidad de tiempo en función de la intensidad de luz con la cual se ilumina una suspensión de microalgas (adaptado de Mautusi Mitra y col., 2008). Producción de Oxígeno [mmol chl<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>] en cultivos de microalgas *C. reinhardtii* "wild type" (○) y mutante (●).

Los autores pueden observar además que ciertas cepas mutantes, deficientes en la producción de pigmentos fotosintéticos, logran utilizar más eficientemente los fotones absorbidos en condiciones de alta iluminación. La explicación para esto se basa en que, para cepas *wild type*, las altas intensidades de luz resultan en una alta tasa absorción de fotones en las zonas próximas a la superficie iluminada reduciendo la cantidad de luz disponible en zonas más profundas. La absorción local elevada de fotones satura los sistemas enzimáticos responsables de la "asimilación" de la energía captada reduciendo la eficiencia global del reactor en la absorción de fotones. En las cepas mutantes la luz es absorbida a una tasa menor en las proximidades de la fuente de iluminación, sin saturar los sistemas enzimáticos, permitiendo a la vez que la luz alcance zonas del reactor más distantes a la lámpara, mejorando la eficiencia total del reactor. Resultados similares a los anteriores fueron obtenidos por You-Chul Jeon (Jeon y col., 2005).

Comparando las condiciones de iluminación natural y los resultados precedentes, se eligieron condiciones de operación correspondientes a una situación de baja disponibilidad de luz, escenario apto para comprobar la hipótesis de que en esas condiciones, la luz es el sustrato limitante y el crecimiento celular es independiente de la concentración de CO<sub>2</sub> en el medio acuoso.

Por otro lado, la fuente de carbono que las algas utilizan es el dióxido de carbono disuelto en el medio de cultivo (Chen, S. y col., 2010; Martínez, L. y col., 2013). Este compuesto llega a la solución por transferencia desde la fase gaseosa. La concentración de carbono inorgánico total C<sub>T</sub> en el medio acuoso depende de la presión parcial de CO<sub>2</sub> en la fase gaseosa, del tipo y concentración de solutos en la fase acuosa, de la temperatura y, además, de las velocidades de transferencia desde la fase gaseosa y consumo de CO<sub>2</sub>. Como vimos con anterioridad, una vez disuelto en la fase líquida el CO<sub>2</sub> participa de una serie de equilibrios acido-base en la solución. De este modo, al modificar la

presión parcial de  $CO_2$  en la fase gaseosa se produce como consecuencia una modificación en el  $pH$  del medio de cultivo. La adición de ácidos o bases fuertes para corregir el  $pH$  puede resultar en una variación significativa de la presión osmótica y/o la fuerza iónica, influyendo en la velocidad de propagación de las algas. Para evitar las alteraciones en el crecimiento celular debido a variaciones en el  $pH$ , fuerza iónica y presión osmótica que se producirían en la fase acuosa, la fórmula original del medio de cultivo *BBMU* fue modificada utilizando una herramienta de diseño desarrollada en este mismo trabajo (Capítulo 3).

La fijación de  $CO_2$  en células de microalgas ocurre en estructuras proteicas llamadas pirenoides, ubicadas dentro de los cloroplastos. La enzima encargada de la fijación de  $CO_2$  es la ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa (RubisCO) (Heldt, H.W. 2004b). Esta enzima utiliza como única fuente de carbono inorgánico el  $CO_2$  disuelto (Aizawa, K., y col., 1986; Fridlyand, L. E., 1997). La enzima RubisCO posee además la capacidad de fijar oxígeno en una reacción denominada foto-respiración (Kliphuis, A.M. y col., 2011). La afinidad de la RubisCO por el  $O_2$  es mayor que para  $CO_2$  por lo cual, evolutivamente, las células de microalgas han adquirido diversos mecanismos de transporte y concentración de  $CO_2$  en el cloroplasto con el objetivo de mantener niveles de  $CO_2$  suficientemente altos dentro del compartimento donde se ubica la enzima, sobre todo cuando las condiciones ambientales corresponden a atmósferas con bajas presiones de  $CO_2$  (Giordano, M. y col. 2005; Bartlett, S.G. y col 2006). Estos sistemas son denominados mecanismos de concentración de carbono (MCC). Los MCC comprenden una serie de transportadores de  $HCO_3^-$  y  $CO_2$ , ubicados en diversas membranas, y un conjunto de enzimas, denominadas anhidrasas carbónicas, que catalizan las reacciones de interconversión entre las especies  $HCO_3^-$  y  $CO_2$ . Bajas concentraciones atmosféricas estimulan la activación de los MCC para mantener niveles de  $CO_2$  suficientemente altos de manera de evitar las reacciones de foto-respiración (Giordano, M. y col. 2005).

La presencia de estos mecanismos es la segunda razón para suponer que aun en ambientes en los cuales la presión de  $CO_2$  es baja, la concentración de dióxido de carbono en las inmediaciones de la enzima catalizadora de la reacción de fijación de  $CO_2$  permanecerá por encima de una concentración mínima y, en condiciones de baja iluminación, será la luz el reactivo limitante en la propagación de microalgas.

### **1.1- Modelos cinéticos actualmente utilizados.**

Respecto a las expresiones cinéticas para el modelado del crecimiento autotrófico de microalgas, existen en bibliografía numerosos antecedentes. Molina Grima (Molina Grima, E. y col., 1999)



publicó hacia fines de la década de los '90 un conjunto de expresiones cinéticas utilizadas para el modelado matemático del crecimiento de microalgas (Tabla 1.1) y que, hasta el día de hoy, son muy frecuentemente utilizadas.

<b>Tabla 1.1:</b> Expresiones cinéticas para el crecimiento autotrófico		
$\mu = \frac{\alpha \mu_{max} I}{\mu_{max} + \alpha I}$	Tamiya <i>et al.</i>	1953
$\mu = \mu_{max} \left( 1 - \exp \left( -\frac{I}{I_{max}} \right) \right)$	Van Oorschot	1955
$\mu = \frac{\mu_{max} I}{I_{max}} \exp \left( \frac{I - I_{max}}{I_{max}} \right)$	Steele	1977
$\mu = \frac{\mu_{max} I}{\left( K_I^m + I^m \right)^{\frac{1}{m}}}$	Bannister	1979
$\mu = \frac{\mu_{max} I}{\left( K_S + I + \frac{I^2}{K_I} \right)}$	Ariba	1982
$\mu = \frac{\mu_{max} I^n}{I_k^n + I^n}$	Molina Grima <i>et al.</i>	1994
$\mu = \frac{\mu_{max} I_{AV} \left( b + \frac{c}{I_0} \right)}{\left[ I_k \left( I + \left( \frac{I_0}{K_I} \right)^a \right) \right]^{\left( b + \frac{c}{I_0} \right)} + I_{AV}^{\left( b + \frac{c}{I_0} \right)}}$	Molina Grima <i>et al.</i>	1999

En todas ellas la propiedad del campo de energía radiante que se utiliza para vincular la velocidad de crecimiento con la disponibilidad de luz en el reactor es la *Irradiancia* [ $Joules\ s^{-1}\ m^{-2}$ ] sobre la superficie iluminada del cultivo. Excepto en el último caso, las expresiones cinéticas solo consideran la cantidad de luz que alcanza la superficie iluminada del reactor, desestimando la presencia de zonas más y menos iluminadas. A diferencia del resto, en la última expresión se hace uso de una intensidad promedio  $I_{AV}$ , considerando así la variación en la cantidad de luz que llega a las diferentes zonas del cultivo debido a la absorción de energía radiante y al crecimiento celular.

Posteriormente, Tao You (You y col., 2004) propone la siguiente expresión cinética:

$$\mu = \frac{\mu_{max} (I - I_c)}{k_I + (I - I_c)} - A e^{-\frac{K}{I}} \quad (1.1)$$

Esta expresión, según el autor es "fue basada en una combinación del modelo de Monod para el

crecimiento celular y el modelo de desactivación de Arrhenius". En todos los casos, la propiedad del campo de energía radiante vinculada a la cinética de crecimiento es la *Irradiancia* [ $Joules\ s^{-1}\ m^{-2}$ ].

La utilización de la *Irradiancia* como la propiedad del Campo de Energía Radiante incluida en la cinética de crecimiento contempla sólo la cantidad de energía, sin considerar ningún nexo entre la disponibilidad de luz y la presencia de microalgas en la suspensión. En este capítulo se propone utilizar la velocidad volumétrica local de absorción de fotones  $r_{VIS}^{abs}(\underline{r}, t)$  como la propiedad del campo de energía radiante a ser incluida de la expresión cinética.

$$r_{VIS}^{abs}(\underline{r}, t) = \int_{400}^{700} r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t) d\lambda = c \int_{400}^{700} \alpha_{\lambda}(t) n_{\lambda}(\underline{r}, t) d\lambda \quad (1.2)$$

Utilizando esta propiedad, se considera tanto a la cantidad de fotones en cada posición del reactor a través de  $n_{\lambda}(\underline{r}, t)$ , como a la concentración de microalgas y pigmentos fotosintéticos a través de  $\alpha_{\lambda}(t)$ .

## 2.2- Promedio de la velocidad de crecimiento.

En reactores con un régimen de mezclado ideal, el tiempo típico de mezclado es mucho menor que el tiempo de duplicación celular. En estas condiciones las células viajan muchas veces desde zonas muy iluminadas hacia zonas poco iluminadas (y viceversa) antes de multiplicarse. Por ello, en primera instancia, es válido suponer que el crecimiento celular dentro del reactor está impulsado por el valor promedio de alguna de las propiedades del campo de energía radiante. Así, la velocidad de crecimiento celular  $r_x(t)$  podría expresarse en función de  $r_{VIS}^{abs}(\underline{r}, t)$  como:

$$r_x(\bar{r}_{VIS,t}^{abs}) = \mu(\bar{r}_{VIS,t}^{abs}) x(t) \quad (1.3)$$

Donde  $\bar{r}_{VIS,t}^{abs}$  es el promedio en el reactor de  $r_{VIS}^{abs}(\underline{r}, t)$ , dependiente del tiempo  $t$ , calculado a través de la función de distribución  $g(r_{VIS}^{abs}, t)$  según:

$$\bar{r}_{VIS,t}^{abs} = \int_0^{\infty} r_{VIS}^{abs} g(r_{VIS}^{abs}, t) dr_{VIS}^{abs} \quad (1.4)$$

Sin embargo, esta afirmación no puede realizarse de forma generalizada. En los diferentes estratos de iluminación es posible que las algas se enfrenten a condiciones de iluminación extremas, atravesando situaciones en las cuales el crecimiento celular se aleje de aquel comportamiento promedio. Por ejemplo, en un reactor con alta densidad celular e iluminado con una alta intensidad de radiación

podrían existir zonas próximas a la fuente de iluminación en las cuales las algas se enfrenten a condiciones de estrés oxidativo por exceso de radiación. Por otro lado, en las zonas alejadas a la fuente de radiación el valor de  $r_{VIS}^{abs}(\underline{r}, t)$  podría no superar el umbral mínimo necesario para el crecimiento celular. En caso de utilizarse la Ecuación 3, estas dos situaciones serían ignoradas debido al empleo del promedio  $\bar{r}_\lambda^{abs}(t)$  de  $r_{VIS}^{abs}(\underline{r}, t)$ .

Para superar esto, es necesario promediar la velocidad de crecimiento celular  $r_x$  en el reactor. Así, la velocidad de crecimiento celular promedio  $\bar{r}_x$  quedaría expresada como:

$$\bar{r}_x = \int_0^\infty r_x(t) g(r_{VIS}^{abs}, t) dr_{VIS}^{abs} = x(t) \int_0^\infty \mu(r_{VIS}^{abs}) g(r_{VIS}^{abs}, t) dr_{VIS}^{abs} \quad (1.5)$$

Por otro lado, diversos autores proponen incluir en la cinética de crecimiento ciclos de luz-oscuridad para considerar la presencia de zonas con alta y baja iluminación dentro del reactor (Janssen, M. y col., 2000; Muller-Feuga, A. y col., 2003; Qingshan Huang y col., 2012). En estos modelos se considera que el crecimiento celular solamente se produce en aquellas zonas en que la cantidad de luz disponible para el crecimiento de las microalgas supera la cantidad mínima necesaria para tal fin y, de acuerdo a la cantidad de luz disponible, cada zona del reactor podría tener una expresión cinética propia. Al expresar la cinética de crecimiento celular como función de  $r_{VIS}^{abs}(\underline{r}, t)$ , la presencia de zonas oscuras queda inmediatamente incluida en la cinética de propagación.

## (2) MATERIALES Y MÉTODOS.

---

Preparación de inóculos: Erlenmeyers con 750mL de medio BGMU fueron esterilizados por 15 minutos a 121° C en autoclave e inoculados con la cepa de microalgas *Chlorella* sp. cedida gentilmente por la Dr. A. M. Gagneten (FHUC, UNL). Los inóculos fueron crecidos axénicamente a temperatura ambiente, iluminados con una lámpara fluorescente Philips (20Watts, daylight fluorescent lamp), burbujeando aire atmosférico esterilizado mediante filtración (0,45µm pore size filter) para agitar, proveer CO<sub>2</sub> y evitar la acumulación del O<sub>2</sub> producido por fotosíntesis, hasta alcanzar una densidad celular suficientemente alta (aproximadamente 0,5g L<sup>-1</sup>).

Cultivo en FBR: 500mL de inóculo fueron utilizados para inocular 10Lts de medio de cultivo BBMU previamente esterilizados por 15 minutos a 121° C (Capítulo 1). Los cultivos fueron crecidos axénicamente a 27°C, presión atmosférica, iluminándolos con la luz fluorescente provista por una lámpara Philips (15Watts, daylight fluorescent lamp), burbujeando aire esterilizado mediante filtración (0,45µm pore size filter) con un caudal de 3,0 lpm para agitar, proveer CO<sub>2</sub> y evitar la acumulación del O<sub>2</sub> producido por fotosíntesis. Se realizaron cultivos bajo tres concentraciones de CO<sub>2</sub> en la corriente de alimentación de gas: 0,034% (atmosférico); 0,34% y 3,4%. Para mantener constante las propiedades del medio de cultivo la formulación original del medio BBMU fue modificada para cada una de las presiones parciales de CO<sub>2</sub>, según se detalla en la Tabla 2.1.

**Tabla 2.1:** Modificaciones de la formula original del medio BBMU según la composición de la corriente de aire.

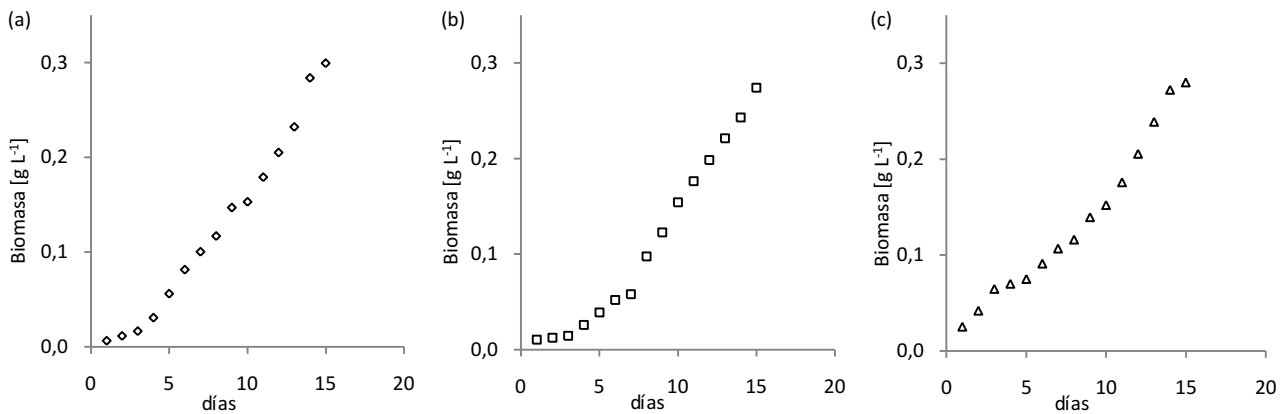
Compuesto/Propiedad	En <b>BBM</b>	En <b>BBMU</b> con según porcentaje de CO <sub>2</sub> en el aire.		
		<b>0.034%</b>	<b>0.34%</b>	<b>3.4%</b>
NaOH [mol L <sup>-1</sup> ]	0.0	1.98 10 <sup>-4</sup>	7.05 10 <sup>-4</sup>	5.88 10 <sup>-3</sup>
NaCl [mol L <sup>-1</sup> ]	4.28 10 <sup>-4</sup>	2.69 10 <sup>-3</sup>	2.12 10 <sup>-3</sup>	0.0
pH	6.39	7.0	7.0	7.0
Fuerza iónica [mol L <sup>-1</sup> ]	8.01 10 <sup>-3</sup>	8.00 10 <sup>-3</sup>	7.94 10 <sup>-3</sup>	1.10 10 <sup>-2</sup>
Presión osmótica [mmHg]	209.6	210.2	210.2	227.4

Determinación de Biomasa, Clorofilas y Urea: para la determinación del contenido de biomasa en la suspensión se utilizó el método Sólidos suspendidos totales (SST) (Eaton, A. D. y col., 2005) . Para cuantificar el contenido de clorofilas en el medio, se recurrió a la técnica descrita por Ritchie (Ritchie, R. J., 2008). Ambas técnicas fueron oportunamente detalladas en los capítulos precedentes. La determinación de urea se realizó mediante un kit enzimático comercial Urea Color2R, de la marca Wiener Lab.

### **(3) RESULTADOS EXPERIMENTALES.**

---

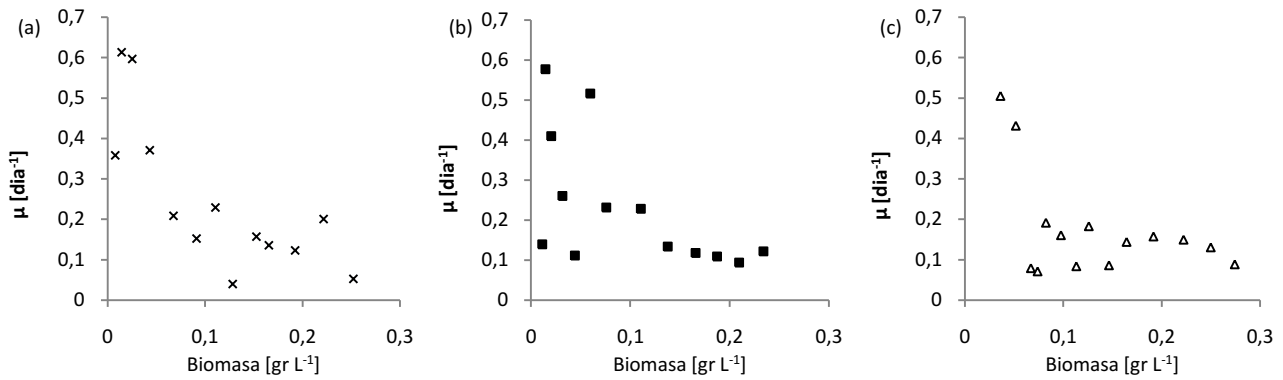
En la Figura 3.1 se muestra la evolución de la concentración de biomasa durante el tiempo de cultivo para cada una de las tres condiciones ensayadas. Como puede verse, una vez superada la fase *lag* del cultivo, la pendiente de la curva de biomasa en función de tiempo es muy similar en los tres casos, lo cual concuerda con la hipótesis propuesta anteriormente de que en estas condiciones la luz es el sustrato limitante que determina la velocidad de propagación celular sin importar la concentración de dióxido de carbono.



**Figura 3.1:** Concentración de Biomasa [ $\text{g L}^{-1}$ ] en función de los días de cultivo para diferentes concentraciones de  $\text{CO}_2$  en la corriente de aire de alimentación. **(a)**  $0,034\%$ . **(b)**  $0,34\%$ . **(c)**  $3,4\%$ .

En las Figuras 3.1(a) y 3.1(b) puede verse que en los primeros días de crecimiento el cultivo atraviesa una fase *lag* de baja velocidad de crecimiento celular [ $\text{gr día}^{-1}$ ], principalmente debido a la poca absorción de energía radiante dentro del reactor y a la baja cantidad de biomasa en suspensión. Esta fase *lag* no se observa en la Figura 3.1(c), lo cual puede ser atribuido a las diferencias en las concentraciones iniciales de biomasa, que es mayor en el tercer caso.

En las Figura 3.2 puede observarse el valor de la velocidad de crecimiento intrínseco  $\mu(t)$ , calculado como  $\Delta \ln x(t) / \Delta t$ , en función de la concentración de biomasa en el medio de cultivo, para las tres presiones parciales de  $\text{CO}_2$  ensayadas. Si bien el error numérico es alto (como es de esperar en toda derivación numérica de datos experimentales), permite observar la forma en que  $\mu(t)$  evoluciona a medida que la concentración de biomasa aumenta. Cuando la concentración de biomasa es baja, el valor de  $\Delta \ln x(t) / \Delta t$  es el mayor registrado durante el cultivo, a medida que la biomasa aumenta, el mismo tiende a un valor aproximado de  $0,1 \text{ día}^{-1}$  para los tres cultivos. El aspecto más relevante de esta gráfica es que, sin importar cuál sea la concentración de  $\text{CO}_2$  en la fase gaseosa,  $\Delta \ln x(t) / \Delta t$  se mantiene dentro del rango  $0,05$  a  $0,2 \text{ día}^{-1}$  una vez superada la concentración de biomasa igual a  $100 \text{ mg L}^{-1}$ .

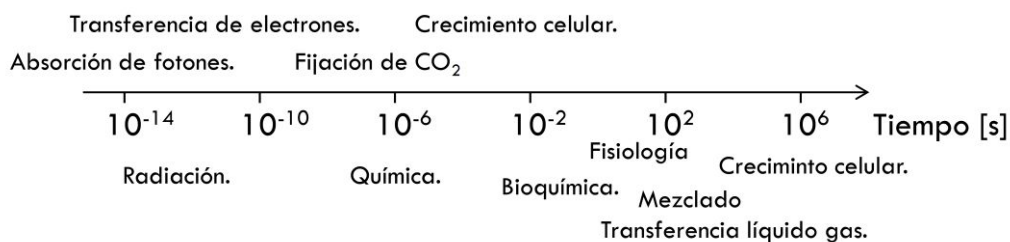


**Figura 3.2:** Velocidad de crecimiento intrínseca  $\mu(t) = \Delta \ln x(t) / \Delta t$  en función de la concentración de biomasa,  $x$ , para las experiencias con diferentes concentraciones de  $CO_2$  en la corriente de aire de alimentación. **(a)** 0,034%. **(b)** 0,34%. **(c)** 3,4%.

En el Capítulo 4 se estudió la transferencia de  $CO_2$  a través de la interfase líquido-gas. Comparando los resultados conseguidos previamente con los obtenidos a partir de los cultivos, es posible concluir que la velocidad transferencia de  $CO_2$  desde la fase gaseosa es siempre mayor a la velocidad de asimilación de  $CO_2$  durante el crecimiento celular. En la Figura 3.3 se muestra una representación gráfica de los rangos de tiempo en que ocurren las diferentes reacciones que intervienen en el crecimiento fotosintético.

Otro sustrato de importancia en la propagación de microalgas es el nitrógeno. La fuente de nitrógeno utilizada en este caso es urea. En la Figura 3.4(a) puede verse la concentración de urea en el medio de cultivo durante el crecimiento celular para los tres cultivos realizados. Como es posible ver, en todos los casos la concentración de urea en el reactor es prácticamente cero luego de diez días de iniciado el cultivo.

Las algas utilizan el nitrógeno para la síntesis de pigmentos fotosintéticos y otros materiales celulares (proteínas y ácidos nucleicos). Cuando la cantidad de nitrógeno en el medio es adecuada las algas sintetizan una cantidad elevada de pigmentos fotosintéticos aumentando su capacidad celular de absorción de luz. A medida que la fuente de nitrógeno se agota, las algas recurren a la degradación de pigmentos fotosintéticos, utilizándolos como fuentes intracelulares de nitrógeno en la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos necesarios para la replicación celular. Este mecanismo de crecimiento, habitualmente referido en bibliografía como crecimiento desacoplado, permite que la multiplicación celular continúe normalmente durante algunos días posteriores al agotamiento de este nutriente (Antoine Sciandra, 1991; Olivier Bernard, 2011).

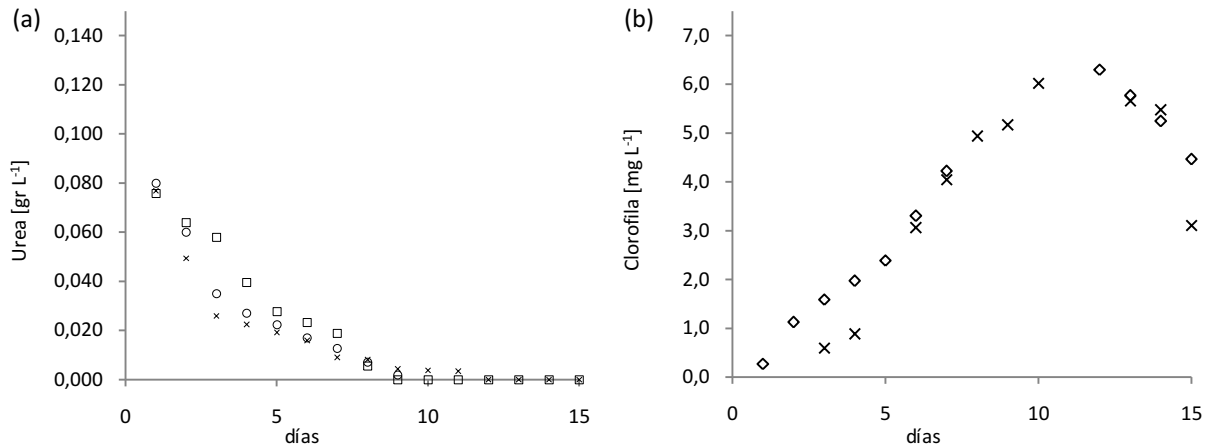


**Figura 3.3:** Escala de tiempo en que ocurren los diferentes fenómenos incluidos en el crecimiento de microalgas en el foto-bio-reactor (adaptado de Merchuk1, J.C. y col., 2003)

La Figura 3.4(b) muestra la variación de la concentración de clorofila en el medio de cultivo durante los 15 días de propagación celular. Como puede verse, la concentración de clorofila en el medio aumenta en forma casi lineal durante los primeros diez días de cultivo. A partir de este punto, en el cual la concentración de la fuente de nitrógeno en el medio se torna muy baja, la concentración de clorofila en la suspensión comienza a disminuir. Por su parte, la concentración de biomasa continúa creciendo en forma sostenida (Figura 3.1) sin observarse variación en la velocidad de crecimiento celular.

En los días posteriores al agotamiento de la urea, la concentración de biomasa aumenta mientras que la concentración de clorofila disminuye. Estos dos fenómenos sumados producen una disminución en el contenido celular de clorofila (*mg. de clorofila/gr. de biomasa*), lo cual reduce la capacidad celular de absorción de energía radiante. Es decir, disminuye la cantidad de energía radiante absorbida en forma individual por cada célula de microalga; sin embargo, la absorción de radiación en el reactor se mantiene casi constante. Este efecto que a primera vista parece perjudicial podría en realidad ser beneficio para el funcionamiento del reactor.

La presencia de altas concentraciones de biomasa en suspensión, con un contenido alto de clorofila produce una elevada absorción de energía radiante en las zonas próximas a la superficie iluminada del reactor, reduciendo la cantidad de luz que alcanza las zonas del cultivo en posiciones más alejadas de la fuente de emisión, dando lugar a zonas oscuras e improductivas (*self-shading*). En las zonas cercanas a la lámpara, la disponibilidad de luz es elevada produciéndose en consecuencia una alta tasa de absorción de energía radiante por parte de las microalgas. En estas condiciones el sistema fotosintético podría estar absorbiendo energía radiante a una velocidad superior a la velocidad con la cual los sistemas enzimáticos son capaces de utilizar la energía absorbida, resultando en una absorción de energía radiante elevada, pero que es usada ineficientemente por las células.



**Figura 3.4:** (a) Concentración de urea [ $gr L^{-1}$ ] en los diferentes días de cultivo. (b) Concentración de clorofila [ $mg L^{-1}$ ] en los diferentes días de cultivo; para las experiencias realizadas bajo diferentes concentraciones de  $CO_2$  en la corriente de aire (□) 0,034%. (◇) 0,34%. (×) 3,4%.

Por otro lado, al igual que para cepas mutantes descritas en el trabajo de Mautusi Mitra (Figura 1.2), un contenido reducido de pigmentos dentro de la célula disminuye la capacidad de absorción de energía radiante por parte de la misma, permitiendo la penetración de la luz hacia zonas más profundas del cultivo, situación que podría ser beneficiosa para la performance del reactor. Es posible comprender la magnitud de esta situación a partir del análisis detallado en la Sección 5 del Capítulo 5, y de los resultados expuestos en la Figura 5.13, de la misma sección.

#### (4) MECANISMO DE REACCIÓN.

En este trabajo, para modelar el crecimiento celular de microalgas en cultivos autótrofos y en condiciones de baja iluminación, propondremos el esquema de reacciones (Heldt H.W., 2004 a y c):

##### Fotosistema II







### Citocromo y Ciclo-Q



### Fotosistema I



La etapa dependiente de la luz comienza con la absorción de energía radiante en el fotosistema II (PSII). En el PSII, un complejo de antenas capta la energía radiante gracias a la presencia de pigmentos de clorofila. La velocidad con que ocurre este fenómeno es igual a la velocidad de absorción de fotones por el PSII, multiplicada por un rendimiento  $\Phi_{II}$ . Debido a que la absorción de fotones en las células se produce casi exclusivamente en PSII y PSI, la velocidad de absorción de fotones en el PSII puede escribirse como una fracción  $\theta_{II}$  de la velocidad celular  $R_{VIS}^{abs}$  de absorción de fotones.

Producida la absorción de energía radiante, ésta es direccionada hacia el centro de reacción. En el centro de reacción un par específico de clorofilas produce la separación de cargas, con la consecuente generación de un hueco  $h_{II}^+$  y un electrón  $e_{II}^-$  (Ecuación 4.1). Esta separación de cargas puede sufrir un proceso de recombinación y disipación térmica (Ecuación 4.2). Para evitar esto, el

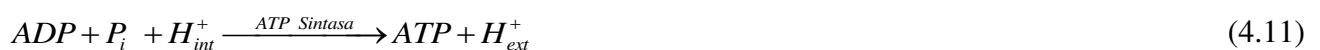
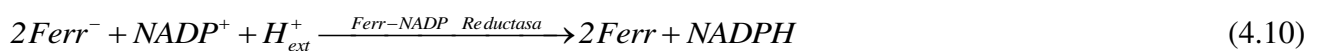
hueco positivo  $h_{II}^+$  es combinado con un electrón que es provisto por un complejo enzimático  $CE_{Mn}^{4+}$  asociado al *PSII*, el cual posee en su estructura un cluster de átomos de manganeso. Este complejo provee sucesivamente al *PSII* con cuatro electrones (Ecuaciones 4.3.1 a 4.3.4), catalizando posteriormente la oxidación de dos moléculas de agua para producir oxígeno y protones (Ecuación 4.3.5).

Por su parte, el electrón  $e_{II}^-$  es utilizado para reducir una quinona  $Q$ , transitoriamente unida al *PSII*. Esta quinona es capaz de aceptar dos electrones produciendo hidroquinona  $QH_2$  (Ecuaciones 4.4.1 y 4.4.2).

Posteriormente, la hidroquinona es oxidada en el Citocromo *b<sub>6</sub>f* (Ecuación 4.5.1). En el Citocromo *b<sub>6</sub>f* se produce secuencialmente la reducción de dos moléculas de plastocianina *PC* (Ecuaciones 4.5.2 y 4.5.3). Además, en el *Citocromo b<sub>6</sub>f*, se produce una reacción adicional conocida con el nombre de *ciclo-Q*. Esta reacción cataliza la transferencia de protones hacia el lumen del tilacoide (Ecuación 4.5.4). Cuando la reacción evoluciona por esta vía, la quinona  $Q$  producida a partir de la reacción 4.5.1 es nuevamente reducida recuperándose la hidroquinona  $QH_2$ ; el balance neto es el transporte de dos protones.

Luego, en el *PSI* se produce la absorción de energía de otro fotón. El proceso de absorción y separación de cargas se produce en forma análoga a lo ocurrido en el *PSII*, sólo que en este caso, una molécula de plastocianina  $PC^-$  es utilizada como dadora de electrones para neutralizar el hueco  $h_I^+$ ; y una ferredoxina *Ferr* es la aceptora final del electrón  $e_I^-$ .

A partir de este punto, se produce una serie de las reacciones enzimáticas que no involucran la utilización de energía radiante; pero tiene como sustrato los productos del mecanismo de absorción de energía radiante en los *PSII* y *PSI*. Uno de ellos utiliza dos moléculas de ferredoxina para producir *NADPH* a partir de  $NADP^+$  (Ecuación 4.10); y el otro implica la utilización de la energía potencial acumulada como un gradiente de protones para catalizar la formación de *ATP*, a partir de *ADP* y  $P_i$  (Ecuación 4.11).



Tanto *ATP* como *NADPH* son sustratos de numerosas reacciones enzimáticas, entre las cuales está la fijación de  $CO_2$  por parte de la enzima *RubisCO*, durante la fase de la fotosíntesis independiente de la luz (Heldt, H. W., 2004b).

Continuando con la hipótesis de que las condiciones de operación corresponden a un ambiente de baja iluminación y, por ello, la absorción de energía radiante es la etapa limitante del crecimiento celular, haremos las siguientes hipótesis:

- Todos los compuestos involucrados en las reacciones de transporte de electrones se encuentran en estado estacionario y no hay acumulación de los mismos dentro de las células, por lo que la velocidades con que se forman y consumen son iguales.
- La velocidad de crecimiento celular es proporcional a la velocidad de formación de *Ferr*<sup>-</sup> (Ecuación 4.9). En este punto se establece a la captación de energía como etapa limitante del crecimiento.
- Las concentraciones celulares totales de los compuestos y estructuras celulares involucradas en el transporte de electrones son constantes durante el crecimiento
- La relación entre las concentraciones de las versiones oxidadas y reducidas de cada compuesto se mantiene constante, condición necesaria para el mantenimiento de la homeostasis celular.

Considerando el primer punto:

$$r_{h_i^+} = 0 = r_6 - r_7 - r_8 \quad (4.12)$$

$$r_{h_i^+} = 0 = \Phi_I (1 - \theta_{II}) R_{VIS}^{abs} - k_7 [e_i^-] [h_i^+] - k_8 [h_i^+] [PC^-] \quad (4.13)$$

$$r_{e_i^-} = 0 = r_6 - r_7 - r_9 \quad (4.14)$$

$$r_{e_i^-} = 0 = \Phi_I (1 - \theta_{II}) R_{VIS}^{abs} - k_7 [e_i^-] [h_i^+] - k_9 [e_i^-] [Ferr] \quad (4.15)$$

A partir de las Ecuaciones 4.13 y 4.14 tenemos que:

$$[e_i^-] = \frac{k_9 [Ferr]}{2k_7} \left( \sqrt{I + \frac{4\Phi_I (1 - \theta_{II}) R_{VIS}^{abs} k_7}{k_8 k_9 [PC^-] [Ferr]} - 1} \right) \quad (4.15)$$

$$[h_i^+] = \frac{k_8 [PC^-]}{2k_7} \left( \sqrt{I + \frac{4\Phi_I (1 - \theta_{II}) R_{VIS}^{abs} k_7}{k_8 k_9 [PC^-] [Ferr]} - 1} \right) \quad (4.17)$$

Considerando el segundo punto podemos hacer la siguiente propuesta:

$$r_x = \eta_1 r_9 = \eta_1 k_9 [e_i^-] [Ferr] = \eta_1' [e_i^-] [Ferr] \quad (4.18)$$

donde  $\eta_1'$  es una constante de proporcionalidad. Combinando las Ecuaciones 4.15 y 4.18:

$$r_x = \eta'_I \frac{k_9 [Ferr]^2}{2k_7} \left( \sqrt{1 + \frac{4\Phi_I(1-\theta_{II})R_{VIS}^{abs}k_7}{k_8k_9[PC^-][Ferr]}} - 1 \right) \quad (4.19)$$

Por último, a partir de la tercera, cuarta y quinta hipótesis, llegamos a la siguiente expresión para la velocidad de crecimiento celular en condiciones en que la luz es el factor limitante:

$$r_x = K_I \left( \sqrt{1 + K_2 \frac{r_{VIS}^{abs}}{x}} - 1 \right) \quad (4.20)$$

en donde:

$$K_I = \eta'_I \frac{k_9 [Ferr]^2}{2k_7} \quad (4.21)$$

$$K_2 = \frac{4\Phi_I(1-\theta_{II})k_7}{k_8k_9[PC^-][Ferr]} \quad (4.22)$$

En la Ecuación 4.20, la velocidad volumétrica celular  $R_{VIS}^{abs}$  de absorción de fotones fue relacionada con la velocidad volumétrica local  $r_{VIS}^{abs}$  de absorción de fotones en el volumen de reactor a través de:

$$r_{VIS}^{abs} \left[ \frac{\text{nro de fotones}}{\text{tiempo} \times \text{Vol medio}} \right] = R_{VIS}^{abs} \left[ \frac{\text{nro de fotones}}{\text{tiempo} \times \text{Vol biomasa}} \right] \frac{x \left[ \frac{\text{gr biomasa}}{\text{Vol medio}} \right]}{\rho_{cel} \left[ \frac{\text{gr biomasa}}{\text{Vol biomasa}} \right]} \quad (4.23)$$

## (5) AJUSTE DE PARÁMETROS.

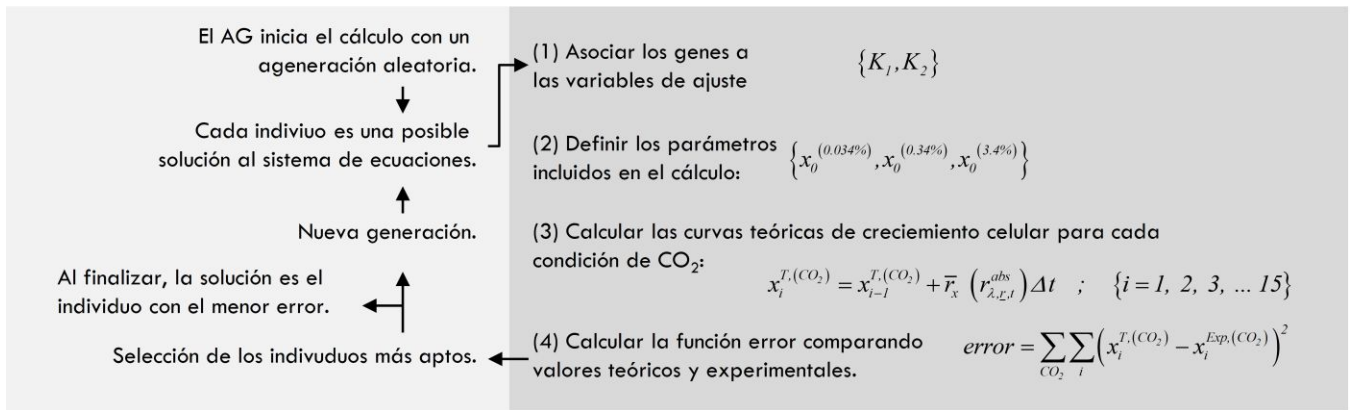
---

Tal como está expresada, la Ecuación 4.20 posee dos parámetros:  $K_I$  y  $K_2$ . Para la determinación de estos parámetros se recurrió al programa de optimización estocástico Algoritmo Genético (Deb, K., 2001; Rezende, M. C. y col., 2008). En la Figura 5.1 puede verse el esquema de cálculo utilizado.

Los resultados obtenidos del ajuste computacional para los parámetros incluidos en la expresión cinética fueron:

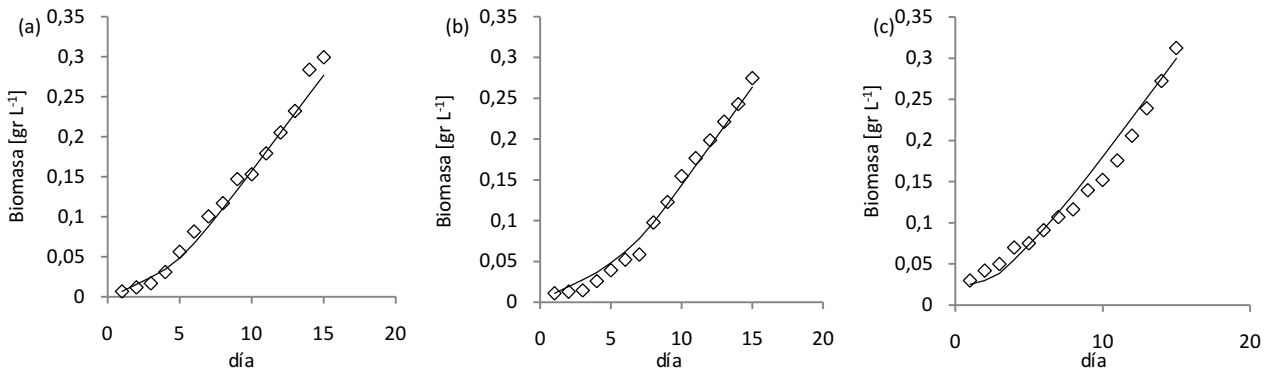
- $K_I = 4.982 \times 10^4 \text{ [gr L}^{-1} \text{ día}^{-1}]$
- $K_2 = 2.541 \times 10^{-6} \text{ [gr s } \mu\text{mol}^{-1}]$

En la Figura 5.2 se representan los valores de la concentración de biomasa en función del tiempo para cada una de las condiciones de  $CO_2$  ensayadas, junto con los valores teóricos predichos por el modelo de crecimiento obtenido, considerando la concentración inicial de biomasa en el medio de cultivo.

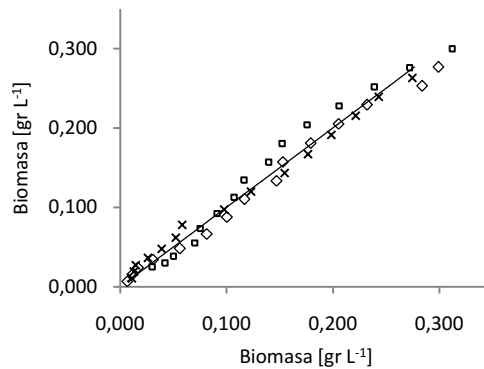


**Figura 5.1:** Esquema de cálculo utilizado para la determinación de los parámetros cinéticos incluidos en la expresión de la velocidad de crecimiento celular.

Como puede verse, la predicción del modelo es correcta y reproduce aceptablemente las curvas de crecimiento obtenidas experimentalmente. En la Figura 5.3 se grafican valores teóricos vs. experimentales para la concentración de biomasa.



**Figura 5.2:** valores experimentales ( $\diamond$ ) y teóricos (—) de la concentración de biomasa [ $gr L^{-1}$ ] en función de tiempo [días] para las tres condiciones de  $CO_2$  ensayadas . (a) 0,034%. (b) 0,34%. (c) 3,4%.



**Figura 5.3:** valores experimentales vs. teóricos de la concentración de biomasa [ $gr L^{-1}$ ] para las tres condiciones de  $CO_2$  ensayadas: ( $\diamond$ ) 0,034%; ( $\times$ ) 0,34% y ( $\square$ ) 3,4%. La línea continua es una recta que pasa por el origen con pendiente igual a uno.

## (6) CONCLUSIONES.

---

En este capítulo se realizaron cultivos de microalgas en condiciones de baja iluminación, para tres concentraciones de  $CO_2$  en la fase gaseosa; y se propuso además, un mecanismo de reacción con el vinculando la velocidad de absorción de fotones  $r_{VIS}^{abs}$  con la velocidad de propagación celular  $r_x$ .

A partir de los resultados obtenidos fue posible demostrar que la velocidad de crecimiento bajo estas condiciones es independiente de la presión parcial de  $CO_2$  en la fase gaseosa; y, además, hallar una expresión cinética y los parámetros incluidos en la misma, para modelar el crecimiento fotoautótrofo de microalgas en condiciones de baja iluminación.

Esta expresión cinética utiliza como variables la velocidad volumétrica local  $r_{VIS}^{abs}(r,t)$  de absorción de fotones y la función  $g(r_{VIS}^{abs},t)$  de distribución de probabilidades para  $r_{VIS}^{abs}$ . Ambas variables dependen de la fuente de radiación con que se ilumine al reactor, de la geometría y materiales con que se construya el FBR y de las concentraciones de microalgas y pigmentos celulares en la suspensión.

Es importante remarcar que ambas propiedades ( $r_{VIS}^{abs}(r,t)$  y  $g(r_{VIS}^{abs},t)$ ) pueden ser determinadas para cualquier reactor a partir de la metodología desarrollada en la presente tesis para la simulación del campo de energía radiante, la cual se basa en el método de Monte Carlo.

# CONCLUSIONES

---





## (1) CONCLUSIONES GENERALES.

---

Se construyó un foto-bio-reactor anular escala banco, de 10 litros de volumen de cultivo, agitado neumáticamente, y que puede ser conectado a una plataforma de control Infors3 de Labfors-HT para registrar y/o controlar pH; temperatura; oxígeno disuelto; caudal de alimentación de aire y concentración de CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> en la corriente en la aireación; además de permitir el cultivo en forma continua, discontinua o semi-continua.

Se analizó el régimen de mezclado en el reactor, desarrollándose un modelo que permite simular al reactor como una sucesión de *n*-reactores tanque agitados operados en serie. Asimismo, se desarrolló un modelo de distribución de las burbujas residentes en el medio líquido, a través del cual es posible calcular el volumen total de burbujas residentes en el medio de cultivo y el área total de intercambio líquido-gas en el reactor.

Se realizó un modeló fisicoquímico para a simulación del medio de cultivo. Este modelo permite determinar la composición final de cada una de las especies presentes en el medio de cultivo a partir de su formulación original. Además, permite analizar las variaciones en la composición frente a la modificación de su formulación o por adición de CO<sub>2</sub> en la corriente gaseosa. Asimismo, es posible incorporar las características propias de las fuentes de agua disponibles, de manera de adicionar únicamente los elementos del medio de cultivo que sean necesarios, evitando los pasos previos de acondicionamiento del agua.

Se modeló la transferencia líquido-gas para el O<sub>2</sub> y el CO<sub>2</sub>, adoptando para ello el modelo de la doble capa difusa. Además, se determinaron los parámetros incluidos en el modelo, considerando los intercambios entre la fase acuosa y las burbujas residentes en el medio de cultivo, y entre la fase acuosa y la cámara de aire ubicada sobre la fase acuosa.

Se desarrolló una metodología basada en el método de Monte Carlo para la simulación del campo de energía radiante dentro de suspensiones de microalgas. Esta metodología asume al campo de energía radiante como un conjunto de fotones moviéndose a la velocidad de la luz, y a la suspensión de microalgas como un medio homogéneo con centros de absorción y dispersión distribuidos a través de la suspensión.

Se diseñó un método para la determinación de las propiedades óptica de las suspensiones de microalgas. Este método comprende la realización de un conjunto de mediciones experimentales (denominadas transmitancia lineal, transmitancia difusa y reflectancia difusa), la simulación numérica del procedimiento experimental (a través del método desarrollado basado en el método Monte Carlo) y la utilización de un programa de optimización estocástico (Algoritmo Genético). Dichas propiedades ópticas son: los coeficiente espectrales de absorción y dispersión de energía radiante y la función de fase. Asimismo, se correlacionaron los coeficiente espectrales de absorción y dispersión con las concentraciones respectivas de clorofila y biomasa en la suspensión.

Se verificó la validez del método de simulación del campo de energía radiante y de los parámetros ópticos obtenidos mediante un experimento totalmente independiente, utilizándose para ello una fuente de emisión no ideal (isotrópica y policromática). Este experimento además se asemeja a un reactor abierto tipo *open pond*, pero iluminado desde abajo; permitiendo así comprender hasta qué punto es necesario considerar la dispersión de energía radiante en suspensiones de microalgas.

Se aplicó el método de simulación del campo de energía radiante utilizando los parámetros ópticos obtenidos para analizar la evolución de las propiedades del campo de energía radiante en el foto-bio-reactor diseñado y construido durante el cultivo de microalgas. Estas propiedades son: la densidad volumétrica local de fotones, la densidad superficial de flujo de fotones y la velocidad volumétrica local de absorción de fotones. Además, se desarrolló una metodología para evaluar el grado de estratificación del campo de energía radiante en el reactor. Esta metodología permite comparar las condiciones de iluminación existentes en reactores con distintas configuraciones y/o iluminados con diferentes fuentes de radiación, por lo que constituye una herramienta de valor tanto para el análisis de foto-bio-reactores como para su diseño y optimización.

Se derivó matemáticamente una expresión cinética para el crecimiento de microalgas en cultivos foto-autótrofos en condiciones correspondientes a ambientes con baja iluminación. Dicha expresión cinética considera a la luz como el sustrato limitante y tiene como variable independiente a la velocidad volumétrica celular de absorción de fotones. Asimismo, se calculó el valor de los parámetros incluidos en la expresión cinética y se realizaron cultivo de microalgas en diferentes condicione respecto al a disponibilidad de CO<sub>2</sub>, comprobándose la hipótesis de que la velocidad de crecimiento celular en tales condiciones es independiente de la concentración de CO<sub>2</sub>.

## **(2) PERSPECTIVAS A FUTURO.**

---

Este trabajo forma parte de un proyecto mayor envergadura llevado adelante en el Grupo de Innovación en Bioprocesos (GiiB). Este proyecto intenta abordar el desarrollo de una tecnología para la producción de biodiesel a partir de microalgas oleaginosas, involucrando el trabajo simultáneo de investigadores, docentes, tesis doctorales, tesinistas y pasantes.

Actualmente, en lo relativo al cultivo de microalgas, se están abordando aspectos vinculados principalmente con la propagación de las microalgas; como ser el análisis de la influencia de la calidad de luz, la temperatura, el pH y las concentraciones de macro- y micronutrientes sobre el crecimiento celular y la producción de lípidos u otros metabolitos. Asimismo se está trabajando en la determinación de una expresión cinética que permita predecir la velocidad de crecimiento celular en condiciones de alta iluminación y bajo diferentes concentraciones de CO<sub>2</sub>.

En el mediano plazo se espera realizar el cambio de escala desde el laboratorio hacia la planta piloto, a través de la puesta en funcionamiento de un foto-bio-reactor tubular iluminado con luz natural, de 200Lts de volumen de cultivo, el cual está en etapas de construcción. Las tareas desarrolladas en esta escala tendrán por finalidad la validación de los modelos desarrollados y la verificación de los resultados obtenidos en escala de laboratorio. Además, los volúmenes de cultivo involucrados y la cantidad de biomasa producida permitirá iniciar los trabajos de investigación y desarrollo vinculados con el la cosecha y disrupción de la biomasa; y la extracción, purificación y procesamiento de los aceites para la elaboración de biodiesel.

Cabe destacar que el día 10 de junio de 2013 se celebró en dependencias del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (CABA) una reunión bajo la temática "*Cultivo de microalgas y aprovechamiento de glicerina y residuos agropecuarios con fines energéticos. Primer encuentro*". Participaron de la misma el Dr. Miguel Laborde (FIUBA); la Dra. María Verónica Belligni (UN Mar del Plata); la Dra. Ester Chamorro (UTN Resistencia); el Dr. Horacio Antonio Irazoqui y el Lic. Heinrich J. Miguel (UNL); el Ing. Tomas Rearte (FAUBA); el Ing. Eduardo Hadad por parte de la Secretaría de Energía; la Ing. Mi Ra Kim y el Lic. Santiago Calvo (por parte Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva); y el Ing. Agr. Juan Manuel Alderete; el Lic. Miguel Almada, la Ing. Angela Gracia, el Ing. Agr. Andrés Leone, la Lic. Agustina Branzini, el Lic. Matías Ciani, el Ing. Agr. Mariano Borrás y Lic. Fernando Carlos Zelaschi por parte del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, entre otros. En dicha reunión se estableció como objetivo la conformación de un consorcio nacional de investigación de microalgas con fines energéticos, el cual será conformado

inicialmente por el Dr. Horacio Antonio Irazoqui (UNL), la Dra. Ester Chamorro (UTN Resistencia), la Dra. María Verónica Beligni (UN Mar del Plata) y el Ing. Diego Wassner (FAUBA). En este sentido, a través de las actividades grupales se pretende además contribuir a la formación un ámbito de trabajo colaborativo e interdisciplinario entre distintos grupos que se complementen y potencien mutuamente, generando una metodología de trabajo aplicable a otros proyectos tecnológicos que podrán ser encarados sobre la base de relaciones, procedimientos y acuerdos preexistentes.

# BIBLIOGRAFÍA

---



## INTRODUCCIÓN.

---

- Alberts B.; Johnson A.; Lewis J.; Raff M.; Roberts K.; Walter P. (2008) Energy Conversion: Mitochondria and Chloroplast. En: Molecular Biology of the cell. (Eds.: Marjorie Anderson y Sherry Granum). Taylor & Francis Group. New York, USA. p: 813-878.
- Alzate, M.E.; Muñoz, R.; Rogalla, F.; Fdz-Polanco, F.; Pérez-Elvira, S.I. (2012) Biochemical methane potential of microalgae: Influence of substrate to inoculum ratio, biomass concentration and pretreatment. *Bioresource Technology*. 123: 488-494
- Arad, S. M.; Yaron, A.. (1992) Natural pigments from red microalgae for use in foods and cosmetics. *Trends in Food Science & Technology*. 3: 92-97
- Balasubramanian, L.; Subramanian, G.; Nazeer, T.T.; Simpson, H.S.; Rahuman, S.T.; Raju, P. (2011). Cyanobacteria cultivation in industrial wastewaters and biodiesel production from their biomass: A review. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 58(4): 220-225
- Bartlett, S.G.; Mitra, M.; Moroney, J. V. (2006) CO<sub>2</sub> Concentrating Mechanisms. En: *Advances in Photosynthesis and Respiration*. Vol. 23 The Structure and Function of Plastids. (Eds.: Wise, R.R. y Hooper, J. K.). Springer. Illinois, U.S.A. p: 253–271.
- Behrens P.W. (2005) Photobioreactors and Fermentors: The Light and Dark Sides of Growing Algae En *Algal Culturing Techniques*. (Ed.: Andersen R. A). Elsevier Academic Press. San Diego, USA. p: 189-204.
- Benemann John R. (2000). Hydrogen production by microalgae. *Journal of Applied Phycology* 12: 291–300.
- Borowitzka M. A.. (1992) Algal biotechnology products and processes—matching science and economics, *J. Appl. Phycol.* 4: 267–279
- Borowitzka, M.A. (1999). Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *J. Biotechnol.* 70, 313–321.
- Cerón García M. C., Sánchez Mirón A., Fernández Sevilla J. M., Molina Grima E., García Camacho F.. (2005) Mixotrophic growth of the microalga *Phaeodactylum tricoratum*: Influence of different nitrogen and organic carbon sources on productivity and biomass composition. *Process Biochemistry*. 40(1): 297-305.
- Chae, S.R., Hwang, E.J., Shin, H.S. (2006). Single cell protein production of *Euglena gracilis* and carbon dioxide fixation in an innovative photobioreactor. *Bioresource Technol.* 97: 322–329.
- Chetsumon, A., Maeda, I., Umeda, F., Yagi, K., Miura, Y., Mizoguchi, T. (1994). Antibiotic production by the immobilized cyanobacterium, *Scytonema* sp. TISTR 8208, in a seaweed-type photobioreactor. *J. Appl. Phycol.* 6: 539–543.
- Chetsumon, A., Umeda, F., Maeda, I., Yagi, K., Mizoguchi, T., Miura, Y. (1998). Broad spectrum and mode of action of an antibiotic produced by *Scytonema* sp. TISTR 8208 in a seaweed-type bioreactor. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 70–72: 249–256.
- Chisti, Y. (2007) Research review paper Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances* 25:294–306
- Dallaire, V., Lessard, P., Vandenberg, G., de la Noüe, J. (2007). Effect of algal incorporation on growth, survival and carcass composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Bioresource Technol.* 98: 1433–1439.
- Ehimen, E.A.; Sun, Z.F.; Carrington, C.G.; Birch, E.J.; Eaton-Rye, J.J. (2011) Anaerobic digestion of microalgae residues resulting from the biodiesel production process. *Applied Energy*. 88(10): 3454-3463
- Giordano, M.; Beardall, J.; Raven, J.A. (2005) CO<sub>2</sub> Concentrating Mechanisms in Algae: Mechanisms, Environmental Modulation, and Evolution. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56:99–131
- Goldstein, Evelin; Gutman, Graciela E. (2010). Biocombustibles y Biotecnología. Contexto internacional, situación en la Argentina. Documento de Trabajo. CEUR - CONICET. Septiembre/2010
- Grönlund, E.; Klang, A.; Falk, S.; Hanæus, J. (2004) Sustainability of wastewater treatment with microalgae in cold climate, evaluated with energy and socio-ecological principles. *Ecological Engineering* 22:155–174
- Halim, R.; Danquah, M. K.; Webley, P. A. (2012). Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. *Biotechnology Advances* 30: 709–732
- Hammouda O., Gaber A. and Abdelraouf N. (1995) Microalgae and Wastewater Treatment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 31(3):205-210
- Harker, M., Tsavalos, A.J., Young, A.J. (1996). Autotrophic growth and carotenoid production of *Haematococcus pluvialis* in a 30 liter airlift photobioreactor. *J. Ferment. Bioeng.* 82, 113–118.
- Heldt H.W. (2005a) Photosynthesis is an electron transport process. En: *Plant Biochemistry*. (Eds.: Hans-Walter Heldt in cooperation with Fiona Heldt) Elsevier. San Diego, USA. p: 67-114

- Heldt H.W. (2005b) The use of energy from sunlight by photosynthesis is the basis of life on earth. En: *Plant Biochemistry*. (Eds.: Hans-Walter Heldt in cooperation with Fiona Heldt) Elsevier. San Diego, USA. p: 45-66
- Heldt H.W. (2005c) The Calvin cycle catalyzes photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation. En: *Plant Biochemistry*. (Eds.: Hans-Walter Heldt in cooperation with Fiona Heldt) Elsevier. San Diego, USA. p: 165-194
- Irazoqui, H.; Isla, M. (1996a) ¿Por qué una oleoquímica de base agrícola?. *Aceites y Grasas*. 23:156-166.
- Irazoqui, H.; Isla, M. (1996b) La oleoquímica. Usos alternativos de los aceites vegetales. Productos y aplicaciones de mayor valor comercial a partir de los ésteres y de la glicerina. *Aceites y Grasas*. 23: 171-188
- Lam, M.K. , Lee, K.T. (2013) . Effect of carbon source towards the growth of *Chlorella vulgaris* for CO<sub>2</sub> bio-mitigation and biodiesel production. *International Journal of Greenhouse Gas Control*. 14: 169-176.
- Lee R. E.. (2008) Basic characteristics of the algae. En: *Phycology*. (Ed.: Lee R. E.) Cambridge University Press. New York, USA. p: 1-27
- Lorenz, R.T., Cysewski, G.R. (2000). Commercial potential for *Haematococcus microalgae* as a natural source of astaxanthin. *TIBTECH* 18: 160–167.
- Madigan, M.T.; Martinko, J.M.; Parker, J. (2003). *Microorganismos y Microbiología*. En: Brock, *Biología de los microorganismos*. (Eds.: Michael T. Madigan, John N. Martinko, Jack Parker) Pearson, Prentice Hall. Madrid, Spain. p: 1-20.
- Mata, T. M.; Martins, A.A.; Caetano, N. S. (2010) Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14:217–232.
- Molina Grima E., Ación Fernández F. G., García Camacho F., Chisti Yusuf. (1999) Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. *Journal of Biotechnology*, Volume 70(1-3):231-247
- Muller-Feuga, A. (2000). The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. *J. Appl. Phycol*. 12: 527–534.
- Nelson D. L. y Cox M. M. (2004a) *The Foundations of Biochemistry*. En: *Lehninger Principles of Biochemistry*. (Eds.: Katherine Ahir) W.H. Freeman and Company. New York. USA. p: 1-44.
- Nelson D. L. y Cox M. M. (2004b) Oxidative Phosphorylation and Photophosphorylation. En: *Lehninger Principles of Biochemistry*. (Eds.: Katherine Ahir) W.H. Freeman and Company. New York. USA. p: 690-750.
- Nelson J. (2003). Electrons and Holes in Semiconductors. En: *The physics of solar cells*. (Eds.: Nelson J.) Imperial College Press. London, UK. p: 41-78.
- Ogbonna J.C., Tanaka H. (2000) Light requirement and photosynthetic cell cultivation – Development of processes for efficient light utilization in photobioreactors. *Journal of Applied Phycology*. 12: 207-218
- Olaizola M.. (2003) Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace. *Biomolecular Engineering*. 20: 459-466
- Olivieri, G.; Gargano, I.; Andreozzi, R.; Marotta, R.; Marzocchella, A.; Pinto, G.; Pollio, A.. (2013) Effects of photobioreactors design and operating conditions on *Stichococcus bacillaris* biomass and biodiesel production. *Biochemical Engineering Journal*. 74: 8-14
- Oswald, W.J. (1973). Productivity of algae in sewage disposal. *Solar Energy*. 15(1):107–117
- Oswald, W.J., Golueke, C.G. (1960). Biological transformation of solar energy. *Adv. Appl. Microbiol*. 2: 223–262.
- Prasanna Mohanty, Madhulika Srivastava y Kolli Bala Krishna. (2002). *The Photosynthetic Apparatus of Spirulina: Electron Transport and Energy Transfer*. En: *Spirulina platensis (Arthrospira) Physiology, cell-biology and biotechnology*. (Ed: Avigad Vonshak). Taylor & Francis. London, UK. p: 17-42.
- Qingfang He, (2004) Microalgae as Platforms for Recombinant Proteins. En: *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. (Ed.: Richmond, A.) Blackwell Publishing company. Oxfors, UK. p: 471-484.
- Richmond, A. (2004) Biological Principles of Mass Cultivation. En: *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. (Ed.: Richmond, A.) Blackwell Publishing company. Oxfors, UK. p: 125-177.
- Scragg, A. H.; Illman, A. M. ; Carden, A.; Shales, S. W. (2002). Growth of microalgae with increased calorific values in a tubular bioreactor. *Biomass and Bioenergy*, 23(1): 67-73
- Sierra E., Ación F.G., Fernández J.M., García J.L., González C. and Molina E. (2007) Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. *Chemical Engineering Journal*. 138(1-3): 136-147.
- Spolaore, P.; Joannis-Cassan, C.; Duran, E.; Isambert, A. (2005) Commercial applications of Microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 101(2): 87-96.
- Tredici M.R. (2004) Mass Production of Microalgae: Photobioreactors. En: *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. (Ed.: Richmond, A.) Blackwell Publishing company. Oxfors, UK. p: 178-214.
- Vonshak, A. (1986). Laboratory techniques for the cultivation of microalgae, En: *Handbook of microalgal mass cultura* (Ed.: A. Richmond). CRC Press, Florida, USA. p: 117–145.



- Wolfgang Becker (2004) *Microalgae in Human and Animal Nutrition* En: *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. (Ed.: Richmond, A.) Blackwell Publishing company. Oxford, UK. p: 312-351.
- Zeiler, K. G.; Heacox, D. A.; Toon, S. T.; Kadam, K. L.; Brown, L.M. (1995) The use of microalgae for assimilation and utilization of carbon dioxide from fossil fuel-fired power plant flue gas. *Energy Conversion and Management*. 36(6-9): 707-712

## CAPÍTULO 1.

---

- Aris, R. (1965) What is chemical reactor analysis? En: *Introduction to the analysis of chemical reactors*. (Ed.: Aris, R.) Pentice-Hall Inc. Englewoods Cliffs, USA. p: 1-6.
- Barbosa, M. J.; Albrech, M.; Wijffels, R. H.. (2003). Hydrodynamic Stress and lethal events in sparged microalgal cultures. *Biotechnol Bioeng* 83:112-120.
- Barbosa, M. J.; Hoogakker, J.; Wijffels, R. H. (2003) Optimisation of cultivation parameters in photobioreactors for microalgae cultivation using the A-stat technique. *Biomolecular Engineering* 20: 115-123.
- Camacho Rubio, F.; Ación Fernández F. G.; Sánchez Pérez, J. A.; García Camacho, F.; Molina Grima, E. (1999). Prediction of Dissolved Oxygen and Carbon Dioxide Concentration Profiles in Tubular Photobioreactors for Microalgal Culture. *Biotechnology And Bioengineering*, 62(1): 71-86
- Jiri Doucha, Frantisek Straka; Karel Livansk. (2005) Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella* sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor. *Journal of Applied Phycology*. 17: 403–412.
- Kanhaiya Kumar; Chitralekha Nag Dasgupta; Bikram Nayak; Peter Lindblad; Debabrata Das. (2011) Development of suitable photobioreactors for CO<sub>2</sub> sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. *Review. Bioresource Technology* 102: 4945–4953
- Michiel H. A. Michels Atze J. van der Goot, Niels-Henrik Norsker Rene H. Wijffels. (2010) Effects of shear stress on the microalgae *Chaetoceros muelleri*. *Bioprocess Biosyst Eng* 33:921–927.
- Pilon L.; Berberoglu H.; Kandilian R. (2011) Radiation transfer in photobiological carbon dioxide fixation and fuel production by microalgae. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*. 112(17):2639-2660.
- Ugwu, C.U.; Aoyagi, H. ; Uchiyama, H. (2008) Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Review. Bioresource Technology* 99: 4021–4028.
- Vandanjon, L.; Rossignol, N.; Jaouen, P.; Robert, J. M.; Quéméneur, F. (1999) Effects of shear on two microalgae species. Contribution of pumps and valves in tangential flow filtration systems. *Biotechnology and Bioengineering*. 63(1): 1-9
- Wei Wen Su, Jian Li, Ning-Shou Xu. (2003) State and parameter estimation of microalgal photobioreactor cultures based on local irradiance measurement. *Journal of Biotechnology* 105: 165-178.

## CAPÍTULO 2.

---

- Bitog, J.P.; Lee, I.B.; Lee, C.G. (2011). Application of computational fluid dynamics for modeling and designing photobioreactors for microalgae production: a review. *Comput. Electron. Agr.* 76:131–147.
- Botta, F.A. (2011). Caracterización general y condiciones de cultivo. En: *Estudio de los factores del cultivo de microalgas para mejorar el rendimiento productivo en fotobioreactores*. Tesina de carrera Licenciatura en Biotecnología. FBCB - UNL - Santa Fe, Argentina. p: 31-42
- Chisti, M.Y. (1989) Some fundamentals. En: *Airlift Biorreactors*. (Ed.: Yusuf Chisti). Elsevier Applied Science, London, UK. p: 12-32
- Deb, K. (2001). *Multi-Objective Optimization using Evolutionary Algorithms*. Wiley, Chichester, UK. p: 84–132
- Eaton, A. D.; Clesceri, L. S. ; Rice, E. W.; Greenberg, A. E. (2005) Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Part 10000: Biological Examination (Eds.: Eaton, A. D., L. S. Clesceri, E. W. Rice and A. E. Greenberg.). American Public Health Association, Washington, USA. p:10–26 - 10–27
- Gouveia, L.; Oliveira, A.C.. (2009). Microalgae as a raw material for biofuels production. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 36:269–274.
- Kawisra Sompech, Yusuf Chisti; Thongchai Srinophakun. (2012) Design of raceway ponds for producing microalgae. *Biofuels* 3(4): 387–397

- Kulkarni A.A.; Joshi, J. B. (2005) Bubble Formation and Bubble Rise Velocity in Gas-Liquid Systems: A Review. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 44: 5873-5931
- Levenspiel O. (1999a). Basics of Non-Ideal Flow. En: *Chemical Reaction Engineering*. Third Edition. (Ed.: Levenspiel O.) John Wiley & Sons. New York. USA. p: 257-282
- Levenspiel O. (1999b). The Tanks-in-Series Model. En: *Chemical Reaction Engineering*. Third Edition. (Ed.: Levenspiel O.) John Wiley & Sons. New York. USA. p: 321-338
- Levenspiel O. (1999c). Ideal Reactors for a Single Reaction. En: *Chemical Reaction Engineering*. Third Edition. (Ed.: Levenspiel O.) John Wiley & Sons. New York. USA. p: 90-119
- Mendelson, H. D. (1967) The prediction of bubble terminal velocities from wave theory. *AIChE J.* 13: 250-261.
- Mitchell M. (1998). Genetic Algorithms: An Overview. En: *An Introduction to Genetic Algorithms*. (Ed.: Mitchell Melanie) MIT Press. Massachusetts, USA. p: 2-26.
- Molina Grima E, Acien Fernández FG, García Camacho F. (2000). Scale-up of tubular photobioreactors. *J. Appl. Phycol.* 12: 355–368.
- Niizawa, I. (2010). Determinación de Biomasa. En: *Construcción y análisis exploratorio de un Foto-bio-reactor destinado al cultivo de microalgas para diferentes aplicaciones tecnológicas*. Tesina de Licenciatura en Biotecnología. FBCB - UNL - Santa Fe, Argentina. p: 69-71
- Oberhettinger F.; Badii L. (1973). *Tables of Laplace transform*. Springer. Verlag. New York. Heidelberg - Berlin.
- Rezende, M. C. A. F.; Costa, C. B. B. ; Costa, A. C.; Wolf Maciel M. R.; Maciel Filho, R. (2008) Optimization of a large scale industrial reactor by genetic algorithms. *Chem. Eng. Sci.* 63:330–341.
- Rocha J.M.S., García J.E.C., Henriques M.H.F. (2003) Growth aspects of the marine microalga *Nannochloropsis gaditana*. *Biomolecular Engineering* 20: 237-242.
- Spolaore, P.; Joannis-Cassan, C.; Duran, E.; Isambert, A. (2005) Commercial applications of Microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 101(2): 87-96.
- Weissman JC, Goebel RP. (1987). Analysis Overview and Implications for System Design. En: *Design and Analysis of Microalgal Open Pond Systems for the Purpose of Producing Fuels*. (Weissman JC, Goebel RP.) Solar Energy Research Institute. A Subcontract Report. Golden, USA. p: 37-44

### CAPÍTULO 3.

---

- Alberty R.A. (2003) Chemical equilibrium in aqueous solutions. En: *Thermodynamics of Biochemical Reactions*. Wiley-Interscience. New Jersey, USA. p: 35-56.
- Alexandrova, A. N.; Jorgensen, W. L. (2007) Why Urea Eliminates Ammonia Rather than Hydrolyzes in Aqueous Solution *J. Phys. Chem.* 111: 720-730
- Allen V. Barker and Gretchen M. Bryson. (2007). Nitrogen. En: *Handbook of Plant Nutrition*. (Eds.: Barker, A. V.; Pilbeam, D. J.) Taylor & Francis. Boca Ratón, USA. p: 21-50
- Atlas, R. M. (2005). En: *Handbook of Media for Environmental Microbiology*. Second Edition. Taylor & Francis. Boca Ratón, USA. p: 67-68
- Benemann, J.R.; Van Olst, J.C.; Massingill, M.J.; Carlberg, J.A.; Weissman, J.C.; Brune, D.E.. The Controlled Eutrophication Process: Using Microalgae for CO<sub>2</sub> Utilization and Agricultural Fertilizer Recycling. *Proc. Conf. Greenhouse Gas Technologies*. Kyoto, Japan, 2003. p: 63
- Bertoldi, F.C.; Santanna, E.; Barcelos-Oliveira, J.L. (2009) *Chlorella vulgaris* cultivated in hydroponic wastewater (Conference Paper ). *Acta Horticulturae*. 843: 203-210
- Borchardt, M. A. (1996). Nutrients. En: *Algal Ecology, Fresh water Benthic Ecosystems*. (Eds.: R. Jan Stevenson, Max L. Bothwell, Rex L. Lowe). Elsevier Academic Press. San Diego, USA. p:184-228.
- Botta, F.A. (2011). Caracterización general y condiciones de cultivo. En: *Estudio de los factores del cultivo de microalgas para mejorar el rendimiento productivo en fotobioreactores*. Tesina de carrera Licenciatura en Biotecnología. FBCB - UNL - Santa Fe, Argentina. p: 31-42
- Camacho Rubio, F.; Acien Fernandez, F. G.; Sanchez Perez, J. A.; Garcia Camacho, F.; Molina Grima, E. (1999) Prediction of Dissolved Oxygen and Carbon Dioxide Concentration Profiles in Tubular Photobioreactors for Microalgal Culture. *Biotechnology and Bioengineering*. 62(1): 71-86
- Chisti Y. (2007). Research review paper Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances* 25: 294–306.

- Cho, S., Lee, D., Luong, T.T., Park, S., Oh, Y.K., Lee, T. (2011). Effects Of carbon and nitrogen sources on fatty acid contents and composition in the green microalga, *Chlorella* sp. 227. *Journal Of Microbiology And Biotechnology* 21, 1073–1080.
- Dean, J. A. (1999). Section 5. Tables 5.1 and 5.6. En: *Lange's Handbook of Chemistry*. Fifteen edition. Mc Graw-Hill, Inc. New York. USA.
- Deb, K. (2001). *Multi-Objective Optimization using Evolutionary Algorithms*. Wiley, Chichester, UK. p: 84–132
- Devogswami, C.R., Kalita, M.C., Talukdar, J., Bora, R., Sharma, P. (2011). Studies On the growth behavior of *Chlorella*, *Haematococcus* and *Scenedesmus* sp. in culture media with different concentrations of sodium bicarbonate and carbon dioxide gas. *African Journal Of Biotechnology* 10: 13128–13138.
- Fujii, M.; Rose, A.L.; Omura, T.; Waite, T.D. (2010) Effect of Fe(II) and Fe(III) transformation kinetics on iron acquisition by a toxic strain of *Microcystis aeruginosa*. *Environmental Science and Technology* 44(6): 1980-1986
- Han, F.; Huang, J.; Li, Y.; Wang, W.; Wan, M.; Shen, G.; Wang, J. (2013) Enhanced lipid productivity of *Chlorella pyrenoidosa* through the culture strategy of semi-continuous cultivation with nitrogen limitation and pH control by CO<sub>2</sub>. *Bioresource Technology*. 136: 418-424
- Harned, H. S.; Owen, B. B. (1943). Table (15-3-1), Equation (15-3-7a). En: *The Physical Chemistry of Electrolytic Solutions*. American Chemical Society Monographs Series. Reinhold Publishing Corporation. New York, USA. p: 492.
- Hart, J. (2005). Ethylenediaminetetraacetic Acid and Related Chelating Agents. En: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Wiley VCH. Weinheim, Alemania.
- Helt H.W. (2005). Nitrate assimilation is essential for the synthesis of organic matter. En: *Plant Biochemistry*. (Eds.: Hans-Walter Heldt in cooperation with Fiona Heldt) Elsevier. San Diego, USA. p: 275-378
- Irazoqui, H. A.; Isla, M. A. (1993). Simulation of a Urea Synthesis Reactor. 2. Reactor Model. *Ind. Eng. Chem. Res.* 32: 2671-2680
- Isla, M. A.; Irazoqui, H.A. (1993) Simulation of a Urea Synthesis Reactor 1. Thermodynamic Framework. *Ind. Eng. Chem. Res.* 32: 2662-2670
- Kondepudi, D.; Prigogine, I. (1998). Phase Change. En: *Modern thermodynamics from heat engines to dissipative structures*. (Ed.: Kondepudi, D.; Prigogine, I.) Chichester, England. p: 175-198
- Lam, M.K. , Lee, K.T. (2013) . Effect of carbon source towards the growth of *Chlorella vulgaris* for CO<sub>2</sub> bio-mitigation and biodiesel production. *International Journal of Greenhouse Gas Control*. 14: 169-176.
- Lea, P. J. (1997) Primary Nitrogen Metabolism. En: *Plant Biochemistry*. (Eds.: P.M. Dey and J.B. Harborne) Academic Press. San Diego, USA. p: 273-314.
- Lee, Y.K.; Hing, H. K. (1989). Supplying CO<sub>2</sub> to photosynthetic algal cultures by diffusion through gas-permeable membranes. *Appl Microbiol Biotechnol* 31:298–301.
- Lin, Q.; Gu, N.; Lin, J.. Effect of ferric ion on nitrogen consumption, biomass and oil accumulation of a *Scenedesmus rubescens*-like microalga. (2012) *Bioresource Technology* 112: 242-247
- Lopez-Ruiz, A.; Verbelen, J. P.; Bocanegra J. A.; Diez, J., 1991, Immunocytochemical Localization of Nitrite Reductase in Green Algae. *Plant Physiol.* 96, 699-704.
- Lynn, K. R. (1966). Kinetics of Base-Catalyzed Hydrolysis of Urea. *The Journal of Physical Chemistry*. 69(2): 687-689
- Mitchell M. (1998). Genetic Algorithms: An Overview. En: *An Introduction to Genetic Algorithms*. (Ed.: Mitchell Melanie) MIT Press. Massachusetts, USA. p: 2-26.
- Neehan, B.; Feinberg, D.; Hill, A.; McIntosh, R.; Terry, K. (1986). Evaluation of Important Technology Issues. En: *Fuels from microalgae: Technology status, potential, and research requirements*. Golden, CO. Solar Energy Research Institute. Colorado, USA. p: 95-139.
- Niizawa, I. (2010). Determinación de Biomasa. En: *Construcción y análisis exploratorio de un Foto-bio-reactor destinado al cultivo de microalgas para diferentes aplicaciones tecnológicas*. Tesina de Licenciatura en Biotecnología. FBCB - UNL - Santa Fe, Argentina. p: 69-71
- Olivieri, G.; Gargano, I.; Androzzzi, R.; Marotta, R.; Marzocchella, A.; Pinto, G.; Pollio, A.. (2013) Effects of photobioreactors design and operating conditions on *Stichococcus bacillaris* biomass and biodiesel production. *Biochemical Engineering Journal*. 74: 8-14
- Oncel, S.S.; Imamoglu, E.; Gunerken, E.; Sukan, F.V. (2011). Comparison of different cultivation modes and light intensities using mono-cultures and co-cultures of *Haematococcus pluvialis* and *Chlorella zofingiensis* *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 86(3):414-420
- Perez-Garcia, O.; Escalantea, F.M.E.; Bashana, L. E.; Bashan, Yoav (2011) Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. *Water Research* Volume 45(1): 11–36

- Pitzer K. S.; Brewer L. (1961). Chemical Potentials and Fugacity. En: Thermodynamics. Second Edition. (Eds.: Pitzer K. S.; Brewer L.) McGraw-Hill Book Company. Tokyo, Japan p: 145-157
- Pulz, O. (2001) Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Appl Microbiol Biotechnol* 57:287–293.
- Rahimpour, M. R. (2004) A non-ideal rate-based model for industrial urea thermal hydrolyser. *Chemical Engineering and Processing* 43: 1299–1307
- Rezende, M. C. A. F.; Costa, C. B. B. ; Costa, A. C.; Wolf Maciel M. R.; Maciel Filho, R. (2008) Optimization of a large scale industrial reactor by genetic algorithms. *Chem. Eng. Sci.* 63:330–341.
- Robinson R. A., Stokes R. H. (1950). Appendix 12.1. En: *Electrolyte Solutions*. Second Edition. Butterworths & Co., London, UK., p. 518
- Salama, E.S.; Kim, H.C.; Abou-Shanab, R.A.I.; Ji, M. K.; Oh, Y. K.; Kim, S. H.; Jeon, B.H.. (2013) Biomass, lipid content, and fatty acid composition of freshwater *Chlamydomonas mexicana* and *Scenedesmus obliquus* grown under salt stress. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. (Article in press)
- Sanchez, C.A. (2007). Phosphorus. En: *Handbook of Plant Nutrition*. (Eds.: Barker, A. V.; Pilbeam, D. J.) Taylor & Francis. Boca Ratón, USA. p: 21-50
- Shah, S.M.U.; Che Radziah, C.; Ibrahim, S.; Latiff, F.; Othman, M.F.; Abdullah, M.A. (2013) Effects of photoperiod, salinity and pH on cell growth and lipid content of *Pavlova lutheri*. *Annals of Microbiology*. (Article in Press)
- Shaw, W. H. R.; Bordeaux, J. J. (1955) The Decomposition of Urea in Aqueous Media. *J. Am. Chem. Soc.* 77 (18): 4729–4733
- Sunda, W. G.; Price, N. M.; Morel, F. M. M.. (2005). Trace Metal Ion Buffers and Their Use in Culture Studies. En: *Algal Culturing Techniques*. (Ed.: Robert A. Andersen). Elsevier Academic Press. San Diego, USA. p: 35-64.
- Syrett, P. J. (1981). Nitrogen metabolism of microalgae. In *Physiological Bases of Phytoplankton Ecology*, (Ed. by T. Platt), pp. 182-210. *Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Science*, 210.
- Syrett, P. J.; Peplin, A. M. (1988). Effects of Nitrogen-Deprivation, and Recovery from it, on the Metabolism of Microalgae. *New Phytologist*, 109: 289-296.
- Watanabe, M. M.. (2005) Freshwater Culture Media. En: *Algal Culturing Techniques*. (Ed.: Robert A. Andersen). Elsevier Academic Press. London, UK. p: 13-20

## CAPÍTULO 4.

---

- Aizawa, K.; Miyachi, S..(1986). Carbonic anhydrase and CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms in microalgae and cyanobacteria. *FEMS Microbiol.Rev.* 39: 215–233.
- Alberts B.; Johnson A.; Lewis J.; Raff M.; Roberts K.; Walter P. (2008) *Energy Conversion: Mitochondria and Chloroplast*. En: *Molecular Biology of the cell*. (Eds.: Marjorie Anderson y Sherry Granum). Taylor & Francis Group. New York, USA. p: 813-878.
- Balasubramanian, L.; Subramanian, G.; Nazeer, T.T.; Simpson, H.S.; Rahuman, S.T.; Raju, P. (2011). Cyanobacteria cultivation in industrial wastewaters and biodiesel production from their biomass: A review. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 58(4): 220-225
- Borowitzka, M.A. (1996). Closed algal photobioreactors: Design considerations for large-scale systems. *Journal of Marine Biotechnology* 4(4):185-191.
- Cho, S.; Lee, D.; Luong, T.T.; Park, S.; Oh, Y.K.; Lee, T. (2011). Effects of carbon and nitrogen sources on fatty acid contents and composition in the green microalga, *Chlorella* sp. 227. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 21: 1073–1080.
- Cirulis, J.T.; Scott, J.A.; Ross, G.M. (2013). Management of oxidative stress by microalgae. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 91(1): 15-21.
- Deb, K. (2001). *Multi-Objective Optimization using Evolutionary Algorithms*. Wiley, Chichester, UK. p: 84–132
- Fridlyand, L. E. (1997). Models of CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms in microalgae taking into account cell and chloroplast structure. *BioSystems* 44: 41–57
- Giordano, M.; Beardall, J.; Raven, J. A. (2005) CO<sub>2</sub> Concentrating Mechanisms in Algae: Mechanisms, Environmental Modulation, and Evolution. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56:99–131
- Helt H.W. (2005a) The Calvin cycle catalyzes photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation. En: *Plant Biochemistry*. (Eds.: Hans-Walter Heldt in cooperation with Fiona Heldt) Elsevier. San Diego, USA. p: 165-194

- Helt H.W. (2005b) Photosynthesis is an electron transport process. En: Plant Biochemistry. (Eds.: Hans-Walter Heldt in cooperation with Fiona Heldt) Elsevier. San Diego, USA. p: 67-114
- Hill, G. A. (2006) Measurement of Overall Volumetric Mass Transfer Coefficients for Carbon Dioxide in a Well-Mixed Reactor Using a pH Probe. *Ind. Eng. Chem. Res.* 45: 5796-5800
- Kondepudi, D.; Prigogine, I.(1998). Phase Change. En: Modern thermodynamics. From heat engines to dissipative structures.(Ed.: Kondepudi, D.; Prigogine, I.) Chichester, England. p: 175-198
- Livansky, K. (1990) Losses of CO<sub>2</sub> in outdoor mass algal cultures: determination of the mass transfer coefficient *KL* by means of measured pH course in NaHCO<sub>3</sub> solution. *Archiv.Hydrobiol.* 85: 87-98.
- Nielsen J., Villadsen J. and Lidén G. (2003a).Modeling of growth kinetics. En: Bioreaction Engineering Principles. Second Edition. (Eds.: Nielsen J., Villadsen J. and Lidén G.) Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York, USA. p: 235-314
- Nielsen J., Villadsen J. and Lidén G. (2003b).Design of fermentation process. En: Bioreaction Engineering Principles. Second Edition. (Eds.: Nielsen J., Villadsen J. and Lidén G.) Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York, USA. p: 339-422
- Nielsen J., Villadsen J. and Lidén G. (2003c).Mass transfer. En: Bioreaction Engineering Principles. Second Edition. (Eds.: Nielsen J., Villadsen J. and Lidén G.) Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York, USA. p: 423-476
- Pilon L.; Berberoglu H.; Kandilian R. (2011) Radiation transfer in photobiological carbon dioxide fixation and fuel production by microalgae. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer.* 112(17):2639-2660.
- Rezende, M. C. A. F.; Costa, C. B. B. ; Costa, A. C.; Wolf Maciel M. R.; MacielFilho, R. (2008) Optimization of a large scale industrial reactor by genetic algorithms. *Chem. Eng. Sci.* 63:330–341.
- Ruchti, G.; Dunn, I. J.; Bourne, J. R.. (1985) Practical Guidelines for the Determination of Oxygen Transfer Coefficients (*K<sub>a</sub>*) with the Sulfite Oxidation Method. *The Chemical Engineering Journal*, 30: 29 - 38
- Ryu, H.J.; Oh, K.K.; Kim, Y.S. (2009) Optimization of the influential factors for the improvement of CO<sub>2</sub> utilization efficiency and CO<sub>2</sub> mass transfer rate. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 15: 471–475.
- Singh, N.K.; Dhar, D.W.(2011).Microalgae as second generation biofuel.A review.*Agronomy for Sustainable Development* 31(4):605-629
- Yoo, C.; Jun, S.Y.; Lee, J.Y.; Ahn, C.Y.; Oh, H.M. (2010). Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide. *Bioresource Technology* 101:571–574.

## CAPÍTULO 5.

---

- Alberts B.; Johnson A.; Lewis J.; Raff M.; Roberts K.; Walter P. (2008) PartI: Introduction to the Cell. En: *Molecular Biology of the cell.* (Eds.: Marjorie Anderson y Sherry Granum). Taylor & Francis Group. New York, USA. p: 1-194.
- Forgan, D. (2009). The Monte Carlo Method. En: *An Introduction to Monte Carlo Radiative Transfer.* Pedagogical Seminar - Institute for Astronomy Royal Observatory. Edinburgh, Scotland. p: 6-7
- Frenkel, D. (2004) Introduction to Monte Carlo Methods. En: *Computational Soft Matter: From Synthetic Polymers to Proteins, Lecture Notes.* (Eds.: Norbert Attig, Kurt Binder, Helmut Grubmuller, Kurt Kremer), John von Neumann Institute for Computing. Julich, Alemania. p: 29-60
- Hammersley, J.M.; Handscomb, D.C.; Weiss, G. (1965). Monte Carlo Methods. *Physics Today.* 18(2): 55-67
- Heinrich, J.M.; Niizawa, I.; Botta, F.A.; Trombert, A.R.; Irazoqui, H.A. (2012). Analysis and design of photobioreactors for microalgae production I: Method and parameters for radiation field simulation. *Photochemistry and Photobiology* 88 (4) : 938-951
- Heinrich, J.M.; Niizawa, I.; Botta, F.A.; Trombert, A.R.; Irazoqui, H.A. (2012) Analysis and design of photobioreactors for microalgae production II: Experimental Validation of a radiation field simulator based on a Monte Carlo algorithm. *Photochemistry and Photobiology* 88 (4): 952-960
- Heinrich, J.M.; Niizawa, I.; Botta, F.A.; Trombert, A.R.; Irazoqui, H.A. (2013) Stratification of the Radiation Field Inside a Photobioreactor During Microalgae Growth. *Photochemistry and Photobiology.* Article in Press
- Huang; Lishan Yao; Tianzhong Liu; Jing Yang. (2012) Simulation of the light evolution in an annular photobioreactor for the cultivation of *Porphyridium cruentum*. *Chemical Engineering Science* 84: 718–726
- Mautusi Mitra; Anastasios Melis. (2008) Optical properties of microalgae for enhanced biofuels production. *Optics Express.* 16(26): 21807-21820
- Molina Grima, E.; Ación Fernández, F.G.; García Camacho, F.; Yusuf Chisti. (1999) Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. *Journal of Biotechnology* 70: 231–247

- Nelson J. (2003). Introduction. En: *The physics of solar cells*. (Eds.: Nelson J.) Imperial College Press. London, UK. p: 1-16.
- Özsisik, M. N. (1973) Basics Relations. In *Radiative Transfer and Interactions with Conduction and Convection* (Edited by M. N. Özsisik). John Wiley & Sons. New York, USA. p: 1–54
- Perner-Nochta, I.; Posten, C. (2007). Simulations of light intensity variation in photobioreactors. *Journal of Biotechnology* 131: 276–285
- Pilon L.; Berberoglu H.; Kandilian R. (2011) Radiation transfer in photobiological carbon dioxide fixation and fuel production by microalgae. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*. 112(17):2639-2660.
- Pruvost, J.; Legrand, J.; Legentilhomme, P.; Muller-Feuga, A.. (2002). Simulation of microalgae growth in limiting light conditions: flow effect. *AIChE J.* 48 (5): 1109–1120.
- Sontag, R.E.; Van Wylen, G.J. (1968) *Fundamentals of Statistical Thermodynamics*. En: *Series in thermal and transport sciences*. John Wiley & Sons, Inc. Library of Congress Catalog Card Number 65-27654. p: 177-183.
- Wei Wen Su; Jian Li; Ning-Shou Xu.(2003) State and parameter estimation of microalgal photobioreactor cultures based on local irradiance measurement. *Journal of Biotechnology* 105:165-178

## CAPÍTULO 6.

---

- Alberts B.; Johnson A.; Lewis J.; Raff M.; Roberts K.; Walter P. (2008) *Cells and genomes*. En: *Molecular Biology of the cell*. (Eds.: Marjorie Anderson y Sherry Granum). Taylor & Francis Group. New York, USA. p: 1-44.
- Atlas, R. M. (2005). En: *Handbook of Media for Environmental Microbiology*. Second Edition. Taylor & Francis. Boca Raton, USA. p: 67-68
- Berberoglu, H.; Melis, A.; Pilon, L. (2008) Radiation characteristics of *Chlamydomonas reinhardtii* CC125 and its truncated chlorophyll antenna transformants *tla1*, and *tla1-CWp*. *International Journal of Hydrogen Energy*. 33(22):6467–83.
- Berberoglu, H.; Pilon, L. (2007a) Experimental measurement of the radiation characteristics of *Anabaena variabilis* ATCC 29413-U and *Rhodobacter sphaeroides* ATCC 49419. *International Journal of Hydrogen Energy*. 32(18):4772–85.
- Berberoglu, H.; Yin, J.; Pilon, L. (2007). Simulating light transfer in a bubble sparged photobioreactor for simultaneous hydrogen fuel production and CO<sub>2</sub> mitigation. *International Journal of Hydrogen Energy*. 32(13):2273–85.
- Bohren CF, Huffman DR. (1998). *Extinction*. En: *Absorption and scattering of light by small particles*. (Eds.: Bohren CF, Huffman DR.). John Wiley & Sons. New York, USA. p: 286-324.
- Bohren, C.F. (1986). Multiple scattering of light and some of its observable consequences. *American Journal of Physics*. 55:524–33.
- Chisti, Y. (2007) Biodiesel from microalgae. *Biotechnol. Adv.* 25: 294–306.
- Chu, C. M. and S. W. Churchill (1955) Representation of the angular distribution of radiation scattered by a spherical particle. *J. Opt. Soc. Am.* 45: 958–962.
- Davies-Colley R.J.; Pridmore ,R.D.; Hewitt, J.E. (1983). Optical properties and reflectance spectra of 3 shallow lakes obtained from a spectro- photometric study. *New Zealand Journal of Marine and Fresh- water Research*. 17:445–59
- Davies-Colley, R.J.; Pridmore, R.D.; Hewitt, J.E.. (1986) Optical properties of some freshwater phytoplanktonic algae. *Hydrobiologia*. 133: 165–78.
- Deb, K. (2001). *Multi-Objective Optimization using Evolutionary Algorithms*., Wiley, Chichester, UK. p: 84–132
- Eaton, A. D.; Clesceri, L. S. ; Rice, E. W.; Greenberg, A. E. (2005) *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 21st ed. Part 10000: *Biological Examination* (Eds.: Eaton, A. D., L. S. Clesceri, E. W. Rice and A. E. Greenberg.). American Public Health Association, Washington, USA. p:10–26 - 10–27
- Halim, R.; Danquah, M. K.; Webley, P. A. (2012). Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. *Biotechnology Advances* 30: 709–732
- Heinrich, J.M.; Niizawa, I.; Botta, F.A.; Trombert, A.R.; Irazoqui, H.A. (2012). Analysis and design of photobioreactors for microalgae production I: Method and parameters for radiation field simulation. *Photochemistry and Photobiology* 88 (4) : 938-951
- Heinrich, J.M.; Niizawa, I.; Botta, F.A.; Trombert, A.R.; Irazoqui, H.A. (2012) Analysis and design of photobioreactors for microalgae production II: Experimental Validation of a radiation field simulator based on a Monte Carlo algorithm. *Photochemistry and Photobiology* 88 (4): 952-960

- Heinrich, J.M.; Niizawa, I.; Botta, F.A.; Trombert, A.R.; Irazoqui, H.A. (2013) Stratification of the Radiation Field Inside a Photobioreactor During Microalgae Growth. *Photochemistry and Photobiology*. Article in Press
- Heldt, H. W. (2004a) The use of energy from sunlight by photosynthesis is the basis of life on earth. In *Plant Biochemistry* (Ed.: H. W. Heldt). Elsevier, San Diego, USA. p: 45-66.
- Heldt, H. W. (2004b) Photosynthesis is an electron transport process. In *Plant Biochemistry* (Ed.: H. W. Heldt). Elsevier, San Diego, USA. p: 67-114.
- Jonasz, M.; Fournier, G.R. (2007). Measurements of light scattering by particles in water. En: *Light scattering by particles in water: theoretical and experimental foundations*. (Eds.: Jonasz, M.; Fournier, G.R.) Academic Press. San Diego, USA. p: 145-265
- Masojidek, J.; Koblizek, M.; Torzillo, G. (2005) Photosynthesis in microalgae. En: *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology* (Ed.: A. Richmond). Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK. p: 23–26.
- Merzlyak, M.N.; Naqvi, K.R. (2000) On recording the true absorption spectrum and scattering spectrum of a turbid sample: application to cell suspensions of cyanobacterium *Anabaena variabilis*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*. 58: 123–9.
- Mie G. (1908) Beiträge zur Optik trüber Medien speziell kolloidaler Metallösungen. *Annalender Physik*. 25(3): 377–445.
- Özisik, M. N. (1973a) Radiative properties of materials. En: *Radiative Transfer and Interactions with Conduction and Convection* (Ed.: M. N. Özisik), John Wiley & Sons. New York, USA. p: 55–120.
- Özisik, M. N. (1973b) Basics Relations. In *Radiative Transfer and Interactions with Conduction and Convection* (Edited by M. N. Özisik). John Wiley & Sons. New York, USA. p: 1–54
- Pilon, L., H. Berberoglu and R. Kandilian (2011) Radiation transfer in photobiological carbon dioxide fixation and fuel production by microalgae. *J. Quant. Spectrosc. Ra*. 112(17), 2639–2660
- Pottier, L.; Pruvost, J.; Deremetz, J.; Cornet, J. F.; Legrand, J.; Dussap, C. G. (2005) A fully predictive model for one-dimensional light attenuation by *Chlamydomonas reinhardtii* in a torous photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*. 91: 569–82.
- Rezende, M. C. A. F.; Costa, C. B. B. ; Costa, A. C.; Wolf Maciel M. R.; Maciel Filho, R. (2008) Optimization of a large scale industrial reactor by genetic algorithms. *Chem. Eng. Sci*. 63:330–341.
- Ritchie, R. J. (2008) Universal chlorophyll equations for estimating chlorophylls a, b, c and d and total chlorophylls in natural assemblages of photosynthetic organisms using acetone, methanol or ethanol solvents. *Photosynthetica*, 46(1), 115–126.
- Rodolfi, L.; Zittelli, G. C.; Bassi, N.; Padovani, G.; Biondi, N.; Bonini, G.; Tredici, M. R. (2008) Microalgae for Oil: Strain Selection, Induction of Lipid Synthesis and Outdoor Mass Cultivation in a Low-Cost Photobioreactor.. *Biotechnology and Bioengineering*. 102(1):100-112.
- Stramski, D.; Piskozub, J. (2003) Estimation of scattering error in spectro- photometric measurements of light absorption by aquatic parti- cles from three-dimensional radiative transfer simulations. *Applied Optics*. 42:3634–46

## CAPÍTULO 7.

- 
- Atlas, R. M. (2005). En: *Handbook of Media for Environmental Microbiology*. Second Edition. Taylor & Francis. Boca Ratón, USA. p: 67-68
- Eaton, A. D.; Clesceri, L. S. ; Rice, E. W.; Greenberg, A. E. (2005) Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Part 10000: Biological Examination (Eds.: Eaton, A. D., L. S. Clesceri, E. W. Rice and A. E. Greenberg.). American Public Health Association, Washington, USA. p:10–26 - 10–27
- Heinrich, J.M.; Niizawa, I.; Botta, F.A.; Trombert, A.R.; Irazoqui, H.A. (2012). Analysis and design of photobioreactors for microalgae production I: Method and parameters for radiation field simulation. *Photochemistry and Photobiology* 88 (4) : 938-951
- Heinrich, J.M.; Niizawa, I.; Botta, F.A.; Trombert, A.R.; Irazoqui, H.A. (2012) Analysis and design of photobioreactors for microalgae production II: Experimental Validation of a radiation field simulator based on a Monte Carlo algorithm. *Photochemistry and Photobiology* 88 (4): 952-960
- Imoberdorf, G.E., Alfano, O.M., Cassano, A.E., Irazoqui, H.A. (2007) Monte Carlo model of UV-radiation interaction with TiO<sub>2</sub>-coated spheres. *53(10): 2688–2703*.
- Ritchie, R. J. (2008) Universal chlorophyll equations for estimating chlorophylls a, b, c and d and total chlorophylls in natural assemblages of photosynthetic organisms using acetone, methanol or ethanol solvents. *Photosynthetica*, 46(1), 115–126.

## CAPÍTULO 8.

---

- Eaton, A. D.; Clesceri, L. S. ; Rice, E. W.; Greenberg, A. E. (2005) Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Part 10000: Biological Examination (Eds.: Eaton, A. D., L. S. Clesceri, E. W. Rice and A. E. Greenberg.). American Public Health Association, Washington, USA. p:10–26 - 10–27
- Heinrich, J.M.; Niizawa, I.; Botta, F.A.; Trombert, A.R.; Irazoqui, H.A. (2012a). Analysis and Design of Photobioreactors for Microalgae Production I: Method and Parameters for Radiation Field Simulation. *Photochem Photobiol* 88 (4): 938–951.
- Heinrich, J.M.; Niizawa, I.; Botta, F.A.; Trombert, A.R.; Irazoqui, H.A. (2012b). Analysis and Design of Photobioreactors for Microalgae Production II: Experimental Validation of a Radiation Field Simulator Based on a Monte Carlo Algorithm. *Photochemistry and Photobiology*. 88(4):952-60.
- Heinrich, J.M.; Niizawa, I.; Botta, F.A.; Trombert, A.R.; Irazoqui, H.A. (2013) Stratification of the Radiation Field Inside a Photobioreactor During Microalgae Growth. *Photochemistry and Photobiology*. Article in Press
- Kulkarni A.A.; Joshi, J. B. (2005) Bubble Formation and Bubble Rise Velocity in Gas-Liquid Systems: A Review. *Ind. Eng. Chem. Res*, 44: 5873-5931
- Melis, A.; Neidhardt, J.; Benemann, J. R. (1999) *Dunaliella salina* (Chlorophyta) with small chlorophyll antenna sizes exhibit higher photosynthetic productivities and photon use efficiencies than normally pigmented cells. *Journal of Applied Phycology*. 10(6): 515–25.
- Mendelson, H. D. (1967) The prediction of bubble terminal velocities from wave theory. *AIChE J*. 13: 250-261.
- Ritchie, R. J. (2008) Universal chlorophyll equations for estimating chlorophylls a, b, c and d and total chlorophylls in natural assemblages of photosynthetic organisms using acetone, methanol or ethanol solvents. *Photosynthetica*, 46(1), 115–126.
- Yoon, J. H.; Sim, S.J.; Kim, M.S.; Park, T.H. (2002) High cell density culture of *Anabaena variabilis* using repeated injections of carbon dioxide for the production of hydrogen. *International Journal of Hydrogen Energy*. 27(11–12): 1265–70

## CAPÍTULO 9.

---

- Aizawa, K.; Miyachi, S. (1986). Carbonic anhydrase and CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms in microalgae and cyanobacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 39, 215–233.
- Antoine Sciandra (1991). Coupling and uncoupling between nitrate uptake and growth rate in *Prorocentrum minimum* (Dinophyceae) under different frequencies of pulsed nitrate supply. *Marine Ecology Progress Series*. 72: 261-269.
- Bartlett, S.G.; Mitra, M.; Moroney, J. V. (2006) CO<sub>2</sub> Concentrating Mechanisms. En: *Advances in Photosynthesis and Respiration*. Vol. 23 *The Structure and Function of Plastids*. (Eds.: Wise, R.R.y Hooper, J. K.). Springer. Illinois, U.S.A. p: 253–271.
- Chen, S.; Chi, Z.; O'Fallon, J.V.; Zheng, Y.; Chakraborty, M.; Laskar, D.D. (2010) System integration for producing microalgae as biofuel feedstock. *Biofuels* 1 (6): 889-910
- Deb, K. (2001). *Multi-Objective Optimization using Evolutionary Algorithms*. Wiley, Chichester, UK. p: 84–132
- Eaton, A. D.; Clesceri, L. S. ; Rice, E. W.; Greenberg, A. E. (2005) Standard methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Part 10000: Biological Examination (Eds.: Eaton, A. D., L. S. Clesceri, E. W. Rice and A. E. Greenberg.). American Public Health Association, Washington, USA. p:10–26 - 10–27
- Fridlyand, L. E. (1997) Models of CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms in microalgae taking into account cell and chloroplast structure. *BioSystems* 44: 41–57
- Giordano, M.; Beardall, J.; Raven, J.A. (2005) CO<sub>2</sub> Concentrating Mechanisms in Algae: Mechanisms, Environmental Modulation, and Evolution. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56:99–131
- Heinrich, J.M.; Niizawa, I.; Botta, F.A.; Trombert, A.R.; Irazoqui, H.A. (2013) Stratification of the Radiation Field Inside a Photobioreactor During Microalgae Growth. *Photochemistry and Photobiology*. Article in Press
- Heldt H.W. (2004b) The Calvin cycle catalyzes photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation. En: *Plant Biochemistry*. (Eds.: Hans-Walter Heldt in cooperation with Fiona Heldt) Elsevier. San Diego, USA. p: 165-194
- Heldt H.W. (2004c) The use of energy from sunlight by photosynthesis is the basis of life on earth. En: *Plant Biochemistry*. (Eds.: Hans-Walter Heldt in cooperation with Fiona Heldt) Elsevier. San Diego, USA. p: 45-66
- Heldt, H. W. (2004a) Photosynthesis is an electron transport process. In *Plant Biochemistry* (Ed.: H. W. Heldt). Elsevier, San Diego, USA. p: 67-114.



- Janssen, M.; Janssen, M.; de Winter, M.; Tramper, J.; Mur, L. R. ; Snel, J.; Wijffels, R. H. (2000). Efficiency of light utilization of *Chlamydomonas reinhardtii* under medium-duration light/dark cycles. *J. Biotechnol.* 78(2): 123–137.
- Jeon You-Chul; Chul-Woong Cho; Yeoung-Sang Yun. (2005) Measurement of microalgal photosynthetic activity depending on light intensity and quality. *Biochemical Engineering Journal* 27: 127–131.
- Kliphuis, A.M., Martens, D.E., Janssen, M., Wijffels, R.H.(2011). Effect of O<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub> ratio on the primary metabolism of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biotechnology and Bioengineering* 108 (10): 2390-2402
- Martínez, L.; Otero, M.; Morán, A.; García, A.I. (2013) Selection of native freshwater microalgae and cyanobacteria for CO<sub>2</sub> biofixation. *Environmental Technology*. Article in Press
- Mautusi Mitra; Anastasios Melis. (2008) Optical properties of microalgae for enhanced biofuels production. *Optics Express* 16(26): 21807-218020.
- Merchuk<sup>1</sup>, J.C.; Wu, X. (2003). Modeling of photobioreactors: Application to bubble column simulation. *Journal of Applied Phycology* 15: 163–169.
- Molina Grima, E.; Ación Fernández, F.G.; García Camacho, F; Yusuf Chisti. (1999) Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. *Journal of Biotechnology* 70: 231–247
- Muller-Feuga, A.; LeGuedes, R.; Pruvost, J.. (2003) Benefits and limitations of modeling for optimization of *Porphyridium cruentum* cultures in an annular photobioreactor. *J. Biotechnol.* 103(2): 153–163.
- Olivier Bernard. (2011) Hurdles and challenges for modelling and control of microalgae for CO<sub>2</sub> mitigation and biofuel production. *Journal of Process Control* 21: 1378– 1389
- Pilon, L.; Berberoglu, H.; Kandilian, R. (2011). Radiation transfer in photobiological carbon dioxide fixation and fuel production by microalgae. *112(17): 2639–2660*
- Qingshan Huang; Lishan Yao; Tianzhong Liu; Jing Yang (2012). Simulation of the light evolution in an annular photobioreactor for the cultivation of *Porphyridium cruentum*. *Chemical Engineering Science* 84: 718–726
- Rezende, M. C. A. F.; Costa, C. B. B. ; Costa, A. C.; Wolf Maciel M. R.; Maciel Filho, R. (2008) Optimization of a large scale industrial reactor by genetic algorithms. *Chem. Eng. Sci.* 63:330–341.
- Ritchie, R. J. (2008) Universal chlorophyll equations for estimating chlorophylls a, b, c and d and total chlorophylls in natural assemblages of photosynthetic organisms using acetone, methanol or ethanol solvents. *Photosynthetica*, 46(1), 115–126.
- Ryer A. D. (1997) Measurement Geometries. En: *Lighting international light handbook*. International Light, Inc. Newburyport, USA. p: 29-38
- You Tao; Barnett S. M. (2004). Effect of light quality on production of extracellular polysaccharides and growth rate of *Porphyridium cruentum*. *Biochemical Engineering Journal* 19: 251–258

# ANEXOS

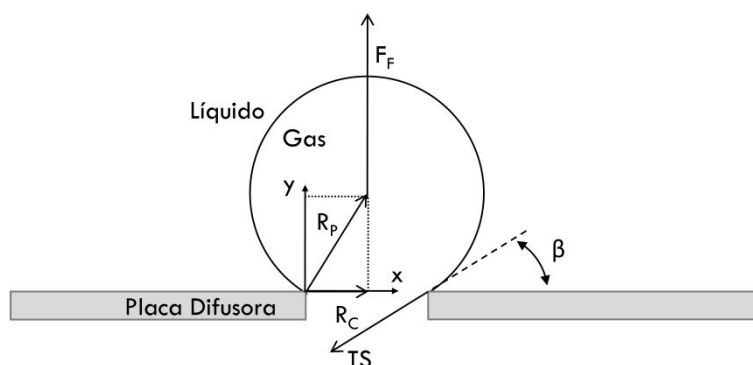




## ANEXO CAPÍTULO 2: CÁLCULO DEL RADIO MEDIO DE BURBUJA A PARTIR DEL RADIO MEDIO DE PORO EN LA PLACA DIFUSORA.

---

La hipótesis propuesta es que las burbujas se forman en el instante inmediatamente posterior en el cuál la fuerza de flotación de la burbuja supera la tensión superficial.



**Figura 1:** Esquema de la formación de burbujas sobre la placa difusora de aire. TS: Tensión superficial.  $R_B$ : Radio de burbuja.  $R_P$ : Radio del poro.  $F_F$ : Fuerza de flotación.

Las fuerzas de flotación y tensión superficial puede expresarse de la siguiente manera:

$$F_F = V_B g (\rho_L - \rho_G) = \frac{4}{3} \pi R_B^3 g (\rho_L - \rho_G) \quad (1)$$

$$F_{TS} = \pi D \gamma \sin \beta = 2\pi R_P \gamma \sin \beta \quad (2)$$

La burbuja se desprende cuando la fuerza de flotación iguala a la fuerza de tensión superficial

$$V_B g (\rho_L - \rho_G) = 2\pi R_P \gamma \sin \beta \quad (3)$$

El volumen de la burbuja  $V_B$  será igual al de la esfera  $V_E$  menos el volumen del casquete  $V_C$

$$V_B = V_E - V_C \quad (4)$$

Por lo tanto:

$$(V_E - V_C) g (\rho_L - \rho_G) = 2\pi R_P \gamma \sin \beta \quad (5)$$

El volumen de la esfera y el casquete son, respectivamente:

$$V_E = \frac{4}{3} \pi R_E^3 \quad (6)$$

$$V_C = \frac{1}{3} \pi R_E^3 (2 - 3 \sin \alpha + \sin^3 \alpha) \quad (7)$$

Con lo cual, la Ecuación 5 puede ser reescrita de este modo:

$$\left[ \frac{4}{3} \pi R_E^3 - \frac{1}{3} \pi R_E^3 (2 - 3 \sin \alpha + \sin^3 \alpha) \right] g (\rho_L - \rho_G) = 2 \pi R_p \gamma \sin \beta \quad (8)$$

A partir de la Figura 1 es posible asegurar que

$$R_p = R_E \cos \alpha \quad (9)$$

Luego:

$$\left[ \frac{4}{3} \pi \frac{R_p^3}{\cos^3 \alpha} - \frac{1}{3} \pi \frac{R_p^3}{\cos^3 \alpha} (2 - 3 \sin \alpha + \sin^3 \alpha) \right] g (\rho_L - \rho_G) = 2 \pi R_p \gamma \sin \beta \quad (10)$$

Por otro lado, el vector  $\underline{E}$  que determina la posición del centro de la esfera según el sistema de coordenadas descrito en la figura es:

$$\underline{E} = R_E \cos \alpha \hat{x} + R_E \sin \alpha \hat{y} + 0 \hat{z} \quad (11)$$

La función para la círculo que describe la esfera en el plano  $XY$  cuando  $z = 0$  es

$$R_E^2 = (x - R_E \cos \alpha)^2 + (y - R_E \sin \alpha)^2 \quad (12)$$

$$y = \sqrt{R_E^2 - (x - R_E \cos \alpha)^2} + R_E \sin \alpha \quad (13)$$

La derivada de  $y(x)$  en función de  $x$  es:

$$\frac{dy}{dx} = \frac{(R_E \cos \alpha - x)}{\sqrt{R_E^2 - (x - R_E \cos \alpha)^2}} \quad (14)$$

El valor de la derivada  $dy/dx$  evaluada en  $x = 0$  es:

$$\left[ \frac{dy}{dx} \right]_{x=0} = \frac{(R_E \cos \alpha)}{\sqrt{R_E^2 - (R_E \cos \alpha)^2}} \quad (15)$$

$$\left[ \frac{dy}{dx} \right]_{x=0} = \frac{\cos \alpha}{\sqrt{(1 - \cos \alpha)^2}} = \frac{1}{\tan \alpha} = \tan \beta \quad (16)$$

$$\frac{\cos \alpha}{\sin \alpha} = \frac{\sin \beta}{\sqrt{1 - \sin^2 \beta}} \quad (17)$$

Para un radio de poro  $R_p$  conocido, a partir de las Ecuaciones 10 y 17 obtenemos un sistema de dos ecuaciones con dos incógnitas:

$$\frac{\pi}{3} \frac{R_p^3}{\cos^3 \alpha} \left[ 2 + 3(1 - \cos^2 \alpha)^{1/2} - (1 - \cos^2 \alpha)^{3/2} \right] g(\rho_L - \rho_G) - 2\pi R_p \gamma \sin \beta = 0 \quad (10')$$

$$\frac{\cos \alpha}{\sqrt{1 - \cos^2 \alpha}} - \frac{\sin \beta}{\sqrt{1 - \sin^2 \beta}} = 0 \quad (17')$$

Luego, a partir de  $\sin \beta$ , considerando la Ecuación 3, el valor de  $R_b$  puede calcularse según:

$$R_b = \left( \frac{3R_p \gamma \sin \beta}{2g(\rho_L - \rho_G)} \right)^{1/3} \quad (18)$$



## ANEXO CAPÍTULO 3: CÁLCULO DE $m_{H^+}$ A PARTIR DE LA RESOLUCIÓN DEL SISTEMA DE UNA ECUACIÓN CON UNA INCÓGNITA.

Despejando  $m_{H^+}$  para resolver como un polinomio mediante el Mathematica®.

$$m_{H^+} = \frac{K_w}{m_{H^+} \gamma_{H^+} \gamma_{OH^-}} + \frac{K_{a1} \frac{m_{CT} \cancel{p_{CO_2}}}{m_{H^+} \gamma_{H^+} \gamma_{HCO_3^-}}}{\left( \cancel{p_{CO_2}} + K_{a1} \frac{\cancel{p_{CO_2}}}{m_{H^+} \gamma_{H^+} \gamma_{HCO_3^-}} + K_{a2} K_{a1} \frac{\cancel{p_{CO_2}}}{m_{H^+}^2 \gamma_{H^+}^2 \gamma_{CO_3^{2-}}} \right)} + \frac{2K_{a2} K_{a1} \frac{m_{CT} \cancel{p_{CO_2}}}{m_{H^+}^2 \gamma_{H^+}^2 \gamma_{CO_3^{2-}}}}{\left( \cancel{p_{CO_2}} + K_{a1} \frac{\cancel{p_{CO_2}}}{m_{H^+} \gamma_{H^+} \gamma_{HCO_3^-}} + K_{a2} K_{a1} \frac{\cancel{p_{CO_2}}}{m_{H^+}^2 \gamma_{H^+}^2 \gamma_{CO_3^{2-}}} \right)}$$

Reordenando

$$\left( m_{H^+} - \frac{K_w}{m_{H^+} \gamma_{H^+} \gamma_{OH^-}} \right) \left( 1 + K_{a1} \frac{1}{m_{H^+} \gamma_{H^+} \gamma_{HCO_3^-}} + K_{a2} K_{a1} \frac{1}{m_{H^+}^2 \gamma_{H^+}^2 \gamma_{CO_3^{2-}}} \right) = K_{a1} \frac{m_{CT}}{m_{H^+} \gamma_{H^+} \gamma_{HCO_3^-}} + 2K_{a2} K_{a1} \frac{m_{CT}}{m_{H^+}^2 \gamma_{H^+}^2 \gamma_{CO_3^{2-}}}$$

Por propiedad distributiva

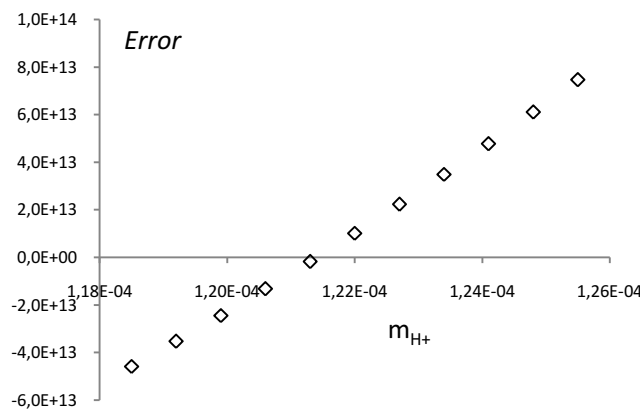
$$m_{H^+} - \frac{K_w}{m_{H^+} \gamma_{H^+} \gamma_{OH^-}} + \frac{K_{a1}}{\gamma_{H^+} \gamma_{HCO_3^-}} - \frac{K_{a1} K_w}{m_{H^+}^2 \gamma_{H^+}^2 \gamma_{HCO_3^-} \gamma_{OH^-}} + \frac{K_{a2} K_{a1}}{m_{H^+}^2 \gamma_{H^+}^2 \gamma_{CO_3^{2-}}} - \frac{K_{a2} K_{a1} K_w}{m_{H^+}^3 \gamma_{H^+}^3 \gamma_{CO_3^{2-}} \gamma_{OH^-}} = K_{a1} \frac{m_{CT}}{m_{H^+} \gamma_{H^+} \gamma_{HCO_3^-}} + 2K_{a2} K_{a1} \frac{m_{CT}}{m_{H^+}^2 \gamma_{H^+}^2 \gamma_{CO_3^{2-}}}$$

Luego de reordenar:

$$m_{H^+}^4 \left( \frac{\gamma_{H^+}^3 \gamma_{CO_3^{2-}} \gamma_{OH^-}}{K_{a2} K_{a1} K_w} \right) + m_{H^+}^3 \left( \frac{\gamma_{H^+}^2 \gamma_{CO_3^{2-}} \gamma_{OH^-}}{K_{a2} K_w \gamma_{HCO_3^-}} \right) + m_{H^+}^2 \left( -\frac{\gamma_{H^+}^2 \gamma_{CO_3^{2-}}}{K_{a2} K_{a1}} + \frac{\gamma_{H^+} \gamma_{OH^-}}{K_w} - \frac{m_{CT} \gamma_{H^+}^2 \gamma_{CO_3^{2-}} \gamma_{OH^-}}{K_{a2} K_w \gamma_{HCO_3^-}} \right) + m_{H^+} \left( -\frac{\gamma_{H^+} \gamma_{CO_3^{2-}}}{K_{a2} \gamma_{HCO_3^-}} - \frac{2m_{CT} \gamma_{H^+} \gamma_{OH^-}}{K_w} \right) - 1 = 0$$

Definiendo la función error según:

$$Error = m_{H^+}^4 \left( \frac{\gamma_{H^+}^3 \gamma_{CO_3^{2-}} \gamma_{OH^-}}{K_{a2} K_{a1} K_w} \right) + m_{H^+}^3 \left( \frac{\gamma_{H^+}^2 \gamma_{CO_3^{2-}} \gamma_{OH^-}}{K_{a2} K_w \gamma_{HCO_3^-}} \right) + m_{H^+}^2 \left( -\frac{\gamma_{H^+}^2 \gamma_{CO_3^{2-}}}{K_{a2} K_{a1}} + \frac{\gamma_{H^+} \gamma_{OH^-}}{K_w} - \frac{m_{CT} \gamma_{H^+}^2 \gamma_{CO_3^{2-}} \gamma_{OH^-}}{K_{a2} K_w \gamma_{HCO_3^-}} \right) + m_{H^+} \left( -\frac{\gamma_{H^+} \gamma_{CO_3^{2-}}}{K_{a2} \gamma_{HCO_3^-}} - \frac{2m_{CT} \gamma_{H^+} \gamma_{OH^-}}{K_w} \right) - 1$$



**Figura 1:** Valores para la función *Error* en función de la única variable  $m_{H^+}$





## ANEXO CAPÍTULO 5: EL CAMPO DE ENERGÍA RADIANTE COMO CONTINUO.

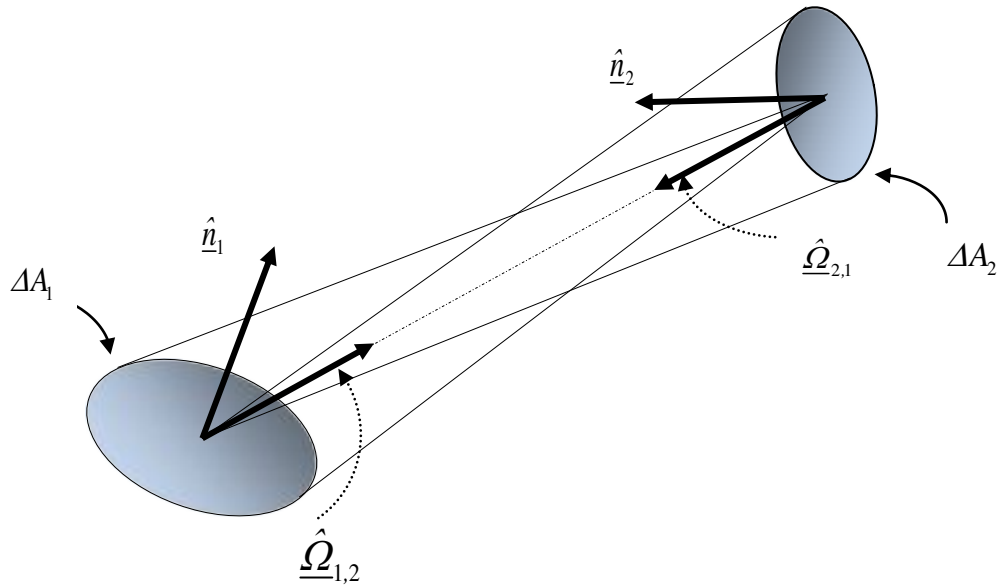
---

En este Anexo se describen los sistemas de ecuaciones que permiten resolver la transferencia de energía radiante como un conjunto de ecuaciones continuas. El objetivo es definir con claridad cada una de las propiedades incluidas en los fenómenos de transferencia de energía radiante, mediante las cuales es posible describir y caracterizar al campo de energía radiante dentro de las suspensiones de microalgas. El principal propósito de este Anexo es establecer un vínculo entre ambos tratamientos: como un conjunto de fotones moviéndose a una velocidad constante  $c$  o como ondas electromagnéticas propagándose en un medio participativo. El análisis que se realiza aquí y los resultados que se obtienen resultan imprescindibles para la interpretación de los antecedentes bibliográficos y la comparación de los resultados obtenidos en la presente tesis con aquellos reportados por otros grupos de investigación, en los cuales se utilizan y describen otras propiedades del campo de energía radiante, empleando diferentes enfoques para el análisis de la radiación.

### 1- La Transferencia de Energía Radiante.

La Transferencia Radiativa es el fenómeno físico de transferencia de energía en la forma de radiación electromagnética. La potencia procedente de la superficie elemental, real o virtual  $\Delta A_1$ , que incide sobre la superficie, también real o virtual  $\Delta A_2$ , (Figura 1), ambas en un *medio transparente a la radiación de longitud de onda  $\lambda$*  (esto es, medio no participativo para dicha longitud de onda), puede representarse por la siguiente expresión

$$\Delta E_{\lambda}^{(1,2)} = L_{\lambda}^{(1,2)}(r_1, \hat{\Omega}_{1,2}, t) \Delta \lambda \Delta t \frac{(\hat{n}_1 \cdot \hat{\Omega}_{1,2}) \Delta A_1 (\hat{n}_2 \cdot \hat{\Omega}_{2,1}) \Delta A_2}{r_{1,2}^2} \quad (1)$$



**Figura 1.**

En la Ecuación 1,  $\Delta E_\lambda^{(1,2)}$  es la energía monocromática procedente de la superficie elemental  $\Delta A_1$  que incide sobre la superficie elemental  $\Delta A_2$  durante el lapso  $\Delta t$ ;  $L_\lambda^{(1,2)}(r_1, \hat{\Omega}_{1,2}, t)$  es la intensidad (propiedad escalar) de radiación monocromática con longitud de onda  $\lambda$ , asociada al haz de energía radiante emergente (procedente) de la superficie elemental  $\Delta A_1$ , que se propaga en la dirección  $\hat{\Omega}_{1,2}$  en el instante  $t$ ;  $\Delta A_1$  es una superficie elemental (real o virtual) ubicada en la posición  $r_1$ ;  $\Delta A_2$  es una superficie elemental (real o virtual) ubicada en la posición  $r_2$ ;  $\hat{n}_1$  es un vector unidad normal a la cara expuesta al intercambio radiante de la superficie elemental  $\Delta A_1$  con la superficie elemental  $\Delta A_2$ ;  $\hat{n}_2$  es un vector unidad normal a la cara expuesta al intercambio radiante de la superficie elemental  $\Delta A_2$  con la superficie elemental  $\Delta A_1$ ;  $\hat{\Omega}_{1,2}$  es un vector unidad según la dirección que une los “centros” de las superficies elementales en situación de intercambio, orientado desde la superficie  $\Delta A_1$  hacia la superficie  $\Delta A_2$ ;  $\hat{\Omega}_{2,1}$  es un vector unidad según la dirección que une los “centros” de las superficies elementales en situación de intercambio, orientado desde la superficie  $\Delta A_2$  hacia la superficie  $\Delta A_1$ ; y  $r_{1,2} = r_{2,1}$  es la distancia entre los “centros” de las superficies elementales en situación de intercambio.

El miembro de la derecha de la Ecuación 1 puede separarse en un factor “energético” y un “factor geométrico”:

$$\Delta E_{\lambda}^{(1,2)} = \underbrace{L_{\lambda}^{(1,2)}(\underline{r}_1, \hat{\underline{\Omega}}_{1,2}, t) \Delta \lambda \Delta t}_{\text{factor "energético"}} \underbrace{\frac{(\hat{\underline{n}}_1 \cdot \hat{\underline{\Omega}}_{1,2}) \Delta A_1 (\hat{\underline{n}}_2 \cdot \hat{\underline{\Omega}}_{2,1}) \Delta A_2}{r_{1,2}^2}}_{\text{factor "geométrico"}} \quad (2)$$

Definimos un elemento de ángulo sólido alrededor de la dirección  $\hat{\underline{\Omega}}_{1,2}$  de la siguiente manera

$$\Delta \hat{\underline{\Omega}}_{1,2} \equiv \frac{(\hat{\underline{n}}_2 \cdot \hat{\underline{\Omega}}_{2,1}) \Delta A_2}{r_{1,2}^2} \quad (3)$$

donde el numerador  $(\hat{\underline{n}}_2 \cdot \hat{\underline{\Omega}}_{2,1}) \Delta A_2$  representa la proyección de la superficie elemental  $\Delta A_2$ , cuya normal sobre la cara expuesta al intercambio es  $\hat{\underline{n}}_2$ , sobre el plano perpendicular a la dirección  $\hat{\underline{\Omega}}_{2,1} = -\hat{\underline{\Omega}}_{1,2}$ . Con esta definición, la expresión de la energía monocromática procedente de la superficie elemental  $\Delta A_1$  que incide sobre la superficie elemental  $\Delta A_2$ , puede ser escrita de la siguiente manera:

$$\Delta E_{\lambda}^{(1,2)} = L_{\lambda}^{(1,2)}(\underline{r}_1, \hat{\underline{\Omega}}_{1,2}, t) \Delta \hat{\underline{\Omega}}_{1,2} \underbrace{(\hat{\underline{n}}_1 \cdot \hat{\underline{\Omega}}_{1,2})}_{\cos \theta_1} \Delta A_1 \Delta \lambda \Delta t = L_{\lambda}^{(1,2)}(\underline{r}_1, \hat{\underline{\Omega}}_{1,2}, t) \Delta \hat{\underline{\Omega}}_{1,2} \cos \theta_1 \Delta A_1 \Delta \lambda \Delta t \quad (4)$$

La cantidad de energía monocromática procedente de la superficie elemental  $\Delta A_1$ , por unidad de tiempo, **por unidad de área transversal**  $(\hat{\underline{n}}_1 \cdot \hat{\underline{\Omega}}_{1,2}) \Delta A_1$ , y por unidad de ángulo sólido, que se encuentra contenida en el haz incluido en el ángulo sólido elemental  $\Delta \hat{\underline{\Omega}}_{1,2}$ , alrededor de la dirección de propagación  $\hat{\underline{\Omega}}_{1,2}$  es

$$\frac{\Delta E_{\lambda}^{(1,2)}}{(\hat{\underline{n}}_1 \cdot \hat{\underline{\Omega}}_{1,2}) \Delta A_1 \Delta \hat{\underline{\Omega}}_{1,2} \Delta \lambda \Delta t} = L_{\lambda}^{(1,2)}(\underline{r}_1, \hat{\underline{\Omega}}_{1,2}, t) \quad ; \quad \Delta \hat{\underline{\Omega}}_{1,2} = \sin \theta_1 \Delta \theta_1 \Delta \phi_1 \quad (5)$$

En la Ecuación 5,  $L_{\lambda}^{(1,2)}(\underline{r}_1, \hat{\underline{\Omega}}_{1,2}, t)$  es el **valor medio** de la intensidad del haz energía radiante que procede de la superficie elemental (pero finita)  $\Delta A_1$ , y está contenida en el ángulo sólido elemental (pero también finito)  $\Delta \hat{\underline{\Omega}}_{1,2}$  con vértice en  $\Delta A_1$ .

Por otro lado, la cantidad de energía monocromática procedente de la superficie elemental  $\Delta A_1$ , por unidad de tiempo y **por unidad de área**, que se encuentra contenida en el haz incluido en el ángulo sólido elemental  $\Delta \hat{\underline{\Omega}}_{1,2}$ , alrededor de la dirección de propagación  $\hat{\underline{\Omega}}_{1,2}$  es

$$\frac{\Delta E_{\lambda}^{(1,2)}}{\Delta A_1 \Delta \lambda \Delta t} = L_{\lambda}^{(1,2)}(r_1, \hat{\underline{\Omega}}_{1,2}, t) \Delta \hat{\underline{\Omega}}_{1,2} \underbrace{(\hat{n}_1 \cdot \hat{\underline{\Omega}}_{1,2})}_{\cos \theta_1} = L_{\lambda}^{(1,2)}(r_1, \hat{\underline{\Omega}}_{1,2}, t) \Delta \hat{\underline{\Omega}}_{1,2} \cos \theta_1 \quad (6)$$

## 2- Intensidad de Radiación Monocromática

El análisis precedente está centrado en la superficie elemental  $\Delta A_1$  y en la dirección y divergencia del haz (ésta última expresada por el ángulo sólido elemental que contiene su energía radiante). Las expresiones 5 y 6 serían formalmente las mismas para cualquier superficie elemental receptora  $\Delta A_2$ , con cualquier orientación, y que se encuentre a cualquier distancia de la superficie elemental  $\Delta A_1$ , con tal que esté delimitada por el cono que define el ángulo sólido  $\Delta \hat{\underline{\Omega}}_{1,2}$ . En otras palabras, con tal que su proyección sobre el plano transversal a la dirección  $\hat{\underline{\Omega}}_{1,2}$  sea proporcional al cuadrado de la distancia  $r_{1,2}$  entre ambas superficies.

Con estas consideraciones, la superficie elemental  $\Delta A_2$  se torna un auxiliar innecesario. Los subíndices 1 y 2 pierden significado, con la condición de que la dirección  $\hat{\underline{\Omega}} = \hat{\underline{\Omega}}_{1,2}$  parta de la superficie de procedencia de la radiación (anteriormente  $\Delta A_1$ ). La Ecuación 5 representa entonces la cantidad de energía monocromática emergente (procedente) de la superficie elemental  $\Delta A$ , por unidad de tiempo, por unidad de área transversal  $(\hat{n} \cdot \hat{\underline{\Omega}}) \Delta A$ , y por unidad de ángulo sólido  $\Delta \hat{\underline{\Omega}}$ , que se encuentra contenida en el haz incluido en el ángulo sólido elemental  $\Delta \hat{\underline{\Omega}}$ , alrededor de la dirección de propagación  $\hat{\underline{\Omega}}$ .

En el límite  $(\Delta A, \Delta \hat{\underline{\Omega}}, \Delta \lambda, \Delta t) \rightarrow 0$ , la Ecuación 5 representa la **Intensidad de Radiación Monocromática** (esto es, de una dada longitud de onda  $\lambda$ )  $L_{\lambda}(r, \hat{\underline{\Omega}}, t)$ , asociada a un haz de energía radiante procedente de una superficie  $dA$  ubicada en la posición  $r$ , que se propaga en dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$  (para mejor visualizar los detalles geométricos implicados en esta definición, referirse a la Figura 2):

$$L_{\lambda}(r, \hat{\underline{\Omega}}, t) = \lim_{(\Delta A, \Delta \hat{\underline{\Omega}}, \Delta \lambda, \Delta t) \rightarrow 0} \left[ \frac{\Delta E_{\lambda}}{(\hat{n} \cdot \hat{\underline{\Omega}}) \Delta A \Delta \hat{\underline{\Omega}} \Delta \lambda \Delta t} \right] = \frac{d^{(6)} E_{\lambda}}{(\hat{n} \cdot \hat{\underline{\Omega}}) d^{(2)} A d^{(2)} \hat{\underline{\Omega}} d \lambda dt} \quad (7)$$

La **Intensidad de Radiación Monocromática**  $L_{\lambda}(r, \hat{\underline{\Omega}}, t)$  es la cantidad de energía radiante que

fluye en la dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$  por unidad de área a través de la proyección,  $(\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{\Omega}}) d^{(2)}A$ , de dicha superficie diferencial sobre el plano normal a  $\hat{\underline{\Omega}}$ ; por unidad de ángulo sólido elemental  $d^{(2)}\hat{\underline{\Omega}}$  alrededor de la misma dirección; por unidad de longitud de onda alrededor de  $\lambda$ , y por unidad de tiempo alrededor del instante  $t$ .

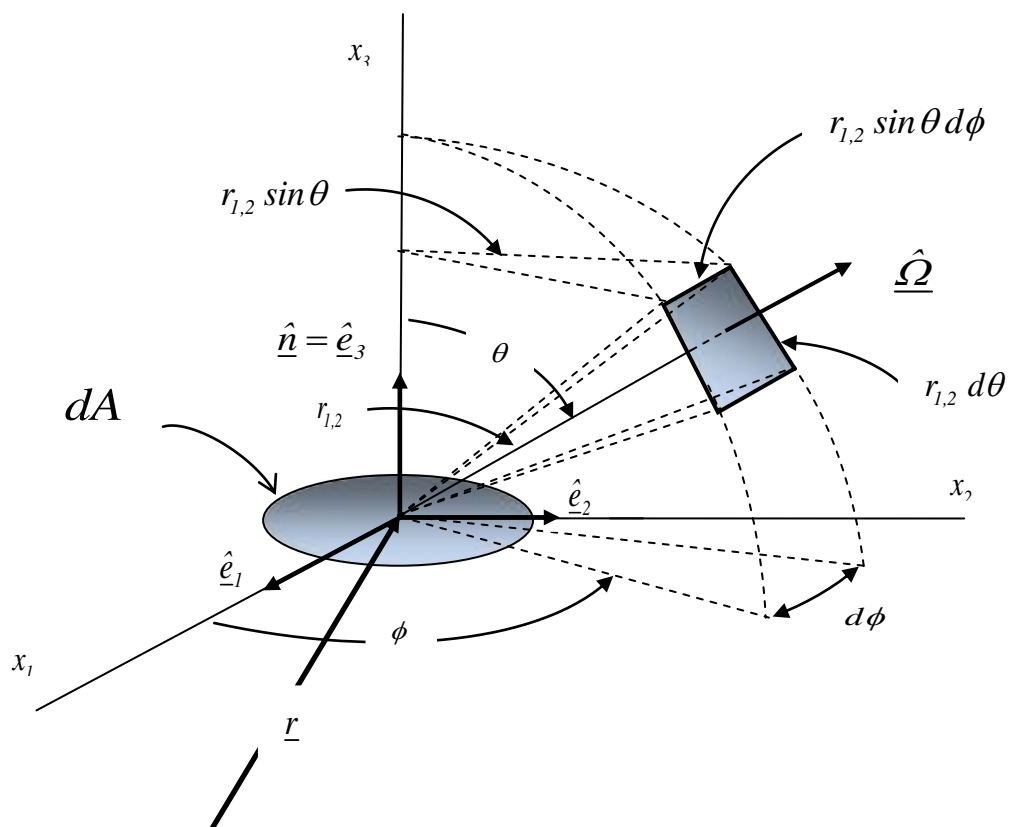


Figura 2.

En términos de la Intensidad de Radiación Monocromática, el límite diferencial de la Ecuación 4 es:

$$dE_{\lambda}^{(6)} = L_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) d^{(2)}\hat{\underline{\Omega}} \underbrace{(\hat{\underline{n}} \cdot \hat{\underline{\Omega}})}_{\cos \theta} d^{(2)}A d\lambda dt = L_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) d^{(2)}\hat{\underline{\Omega}} \cos \theta d^{(2)}A d\lambda dt \quad (8)$$

donde  $d^{(2)}\hat{\underline{\Omega}} = \sin \theta d\theta d\phi$

Teniendo en cuenta que  $\sin \theta d\theta = -d(\cos \theta)$ , y definiendo la variable  $\mu = \cos \theta$ :

$$dE_{\lambda}^{(6)} = -L_{\lambda}(\underline{r}, \mu, \phi, t) \mu d\mu d\phi d^{(2)}A d\lambda dt \quad (9)$$

### 3- Vector Densidad de Flujo Radiativo Espectral Neto

Consideremos una superficie diferencial virtual  $dA$ , ubicada en una posición  $\underline{r}$  dentro de un campo radiante, tal como se muestra en la Figura 3. La energía radiante que atraviesa dicha superficie debido al haz de intensidad  $L_{\lambda}(\underline{r}, \mu, \phi, t)$  y dirección  $\underline{\hat{\Omega}}(\theta, \phi)$ , durante un lapso  $dt$ , está dada por la Ecuación 9. La contribución a la *magnitud* de la Densidad de Flujo Radiativo Espectral Local debida al haz de intensidad  $L_{\lambda}(\underline{r}, \mu, \phi, t)$  y dirección  $\underline{\hat{\Omega}}(\theta, \phi)$ , entendida como la energía radiante que porta el haz considerado, por unidad de área transversal ( $\mu d^{(2)}A$ ); por unidad de tiempo, y por unidad de longitud de onda es, de acuerdo a la Ecuación 9:

$$d^{(2)}q_{\lambda}(\underline{r}, \mu, \phi, t) = \frac{dE_{\lambda}^{(6)}}{(\mu d^{(2)}A) d\lambda dt} = -L_{\lambda}(\underline{r}, \mu, \phi, t) d\mu d\phi \quad (10)$$

La contribución de carácter vectorial,  $d^{(2)}\underline{q}_{\lambda}(\underline{r}, \mu, \phi, t)$ , se obtiene multiplicando la magnitud, dada por la Ecuación 10, por el vector unidad  $\underline{\hat{\Omega}}(\theta, \phi)$  que representa la dirección de propagación del haz:

$$d^{(2)}\underline{q}_{\lambda}(\underline{r}, \mu, \phi, t) = -\underline{\hat{\Omega}}(\mu, \phi) L_{\lambda}(\underline{r}, \mu, \phi, t) d\mu d\phi \quad (11)$$

donde

$$\underline{\hat{\Omega}}(\mu, \phi) = (1 - \mu^2)^{1/2} (\cos \phi \hat{e}_1 + \sin \phi \hat{e}_2) + \mu \hat{e}_3 = \sin \theta (\cos \phi \hat{e}_1 + \sin \phi \hat{e}_2) + \cos \theta \hat{e}_3 = \underline{\hat{\Omega}}(\theta, \phi) \quad (12)$$

Definiremos el *Vector Densidad de Flujo Radiativo Espectral Neto*  $\underline{q}_{\lambda}(\underline{r}, t)$ , al resultante de componer vectorialmente las contribuciones  $d^{(2)}\underline{q}_{\lambda}(\underline{r}, \mu, \phi, t)$  de los haces que pasan por la posición  $\underline{r}$  en el mismo instante  $t$ , pero con distintas direcciones  $\underline{\hat{\Omega}}(\mu, \phi)$ :

$$\underline{q}_{\lambda}(\underline{r}, t) = \int_{\underline{\hat{\Omega}}} d\underline{\hat{\Omega}} \underline{\hat{\Omega}} L_{\lambda}(\underline{r}, \underline{\hat{\Omega}}, t) = \int_0^{2\pi} d\phi \int_{-1}^1 d\mu \underline{\hat{\Omega}}(\mu, \phi) L_{\lambda}(\underline{r}, \phi, \mu, t) \quad (13)$$

donde  $\underline{\hat{\Omega}}(\mu, \phi)$  está dado por la Ecuación 12.

La Ecuación 13 ha sido obtenida considerando que la suma vectorial de las contribuciones  $d^{(2)}q_{\lambda}(\underline{r}, \mu, \phi, t)$  de los haces que pasan por la posición  $\underline{r}$  en el mismo instante  $t$ , pero con distintas direcciones  $\hat{\underline{\Omega}}(\mu, \phi)$ , equivale a la integración sobre todas las direcciones posibles.

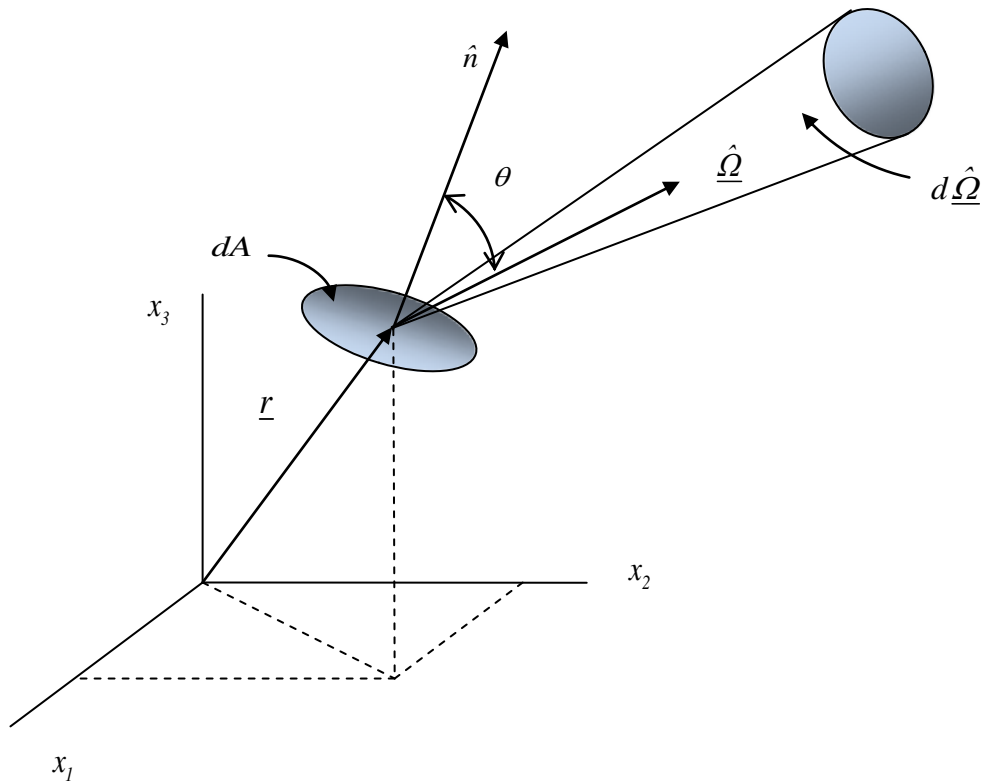


Figura 3.

#### 4- La Densidad de Energía Radiante.

Consideremos un elemento de volumen inmerso en el campo radiante en una posición  $\underline{r}$ , que recibe radiación debido a los haces que lo atraviesan en todas las direcciones posibles. Este volumen contiene en cualquier instante  $t$  cierta cantidad de energía radiante residente en el mismo.

Consideremos uno de esos haces monocromáticos, como el que se muestra en la Figura 3. Debido al mismo, la cantidad de radiación monocromática por unidad de área y por unidad de tiempo, que atraviesa la **proyección transversal** a la dirección de propagación del haz de una superficie elemental, virtual, ubicada posición  $\underline{r}$ , es



$$d^{(2)}q_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) = \frac{d^{(6)}E_{\lambda}}{d^{(2)}A \cos\theta d\lambda dt} = L_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) d^{(2)}\hat{\underline{\Omega}} \quad (14)$$

La Ecuación 14 representa la contribución a la densidad de flujo local de energía radiante monocromática, debida al haz de radiación monocromática considerado.

Ahora bien, el haz se propaga en la dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$  con la velocidad de la luz  $c$  en el medio macroscópico, portando una densidad de energía radiante monocromática  $d^{(2)}e_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t)$ . Por lo tanto,  $d^{(2)}q_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t)$  puede también ser escrita del siguiente modo:

$$d^{(2)}q_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) = c d^{(2)}e_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) \quad (15)$$

De las Ecuaciones 14 y 15, inmediatamente surge que el aporte del haz considerado a la densidad de energía radiante alrededor de la posición  $\underline{r}$ , es

$$d^{(2)}e_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) = \frac{1}{c} d^{(2)}q_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) = \frac{1}{c} L_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) d^{(2)}\hat{\underline{\Omega}} \quad (16)$$

Sumando las contribuciones de todos los haces cuyas trayectorias pasan por la posición  $\underline{r}$  en todas las direcciones posibles, tenemos que la densidad local de energía radiante es:

$$e_{\lambda}(\underline{r}, t) = \frac{1}{c} \int d\hat{\underline{\Omega}} L_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t) = \frac{1}{c} \int_0^{2\pi} d\phi \int_{-1}^1 d\mu L_{\lambda}(\underline{r}, \mu, \phi, t) \quad (17)$$

Además, si consideramos que mientras no cambie la composición del medio el campo radiante permanece inalterado:

$$e_{\lambda}(\underline{r}) = \frac{1}{c} \int d\hat{\underline{\Omega}} L_{\lambda}(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}) = \frac{1}{c} \int_0^{2\pi} d\phi \int_{-1}^1 d\mu L_{\lambda}(\underline{r}, \mu, \phi) \quad (18)$$

## 5- La Ecuación de Transferencia de Energía Radiante (RTE). Fenómenos Intervinientes

Consideremos la coordenada  $S$  en el sentido  $\hat{\underline{\Omega}}$  de propagación de un haz de energía radiante monocromática en un medio participativo (absorbente y dispersante). Consideremos además un cilindro recto elemental de sección transversal  $\Delta A$  y altura  $\Delta S$ , cuyo eje coincide con la dirección  $\Delta S$  en la dirección arbitraria  $\hat{\underline{\Omega}}$  de propagación del haz de radiación monocromática de intensidad  $L_{\lambda}(S, \hat{\underline{\Omega}}, t)$ , tal como se muestra en la Figura 4.

La intensidad de radiación monocromática en el punto de ingreso y en el de salida del elemento de volumen son  $L_\lambda(S, \hat{\underline{\Omega}}, t)$  y  $L_\lambda(S + \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, t)$ , respectivamente. En las secciones que siguen, se analizarán los fenómenos que contribuyen al cambio de la intensidad de radiación monocromática del haz a lo largo de la distancia

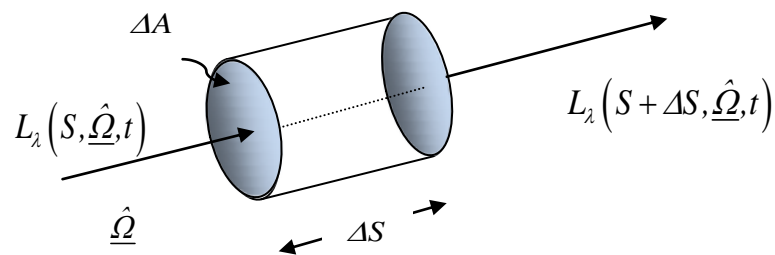


Figura 4.

## 6- Absorción de radiación

Consideremos la coordenada  $s$  en la dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$  de propagación del haz en un medio absorbente. Consideremos además un cilindro recto elemental de sección transversal  $\Delta A$  y altura  $\Delta S$ , cuyo eje coincide con la dirección de propagación del haz de radiación monocromática, tal como se muestra en la Figura 5. La intensidad de radiación monocromática en el punto de ingreso y en el de salida del elemento de volumen son  $L_\lambda(S, \hat{\underline{\Omega}}, t)$  y  $L_\lambda(S + \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, t)$ , respectivamente.

La expresión de la energía monocromática que ingresa al elemento de volumen a través de la superficie virtual ubicada en  $S$ , es:

$$\Delta E_{\lambda, \hat{\Omega}}(S) = L_{\lambda}(S, \hat{\Omega}, t) \Delta \hat{\Omega} \Delta A \Delta \lambda \Delta t \quad (19)$$

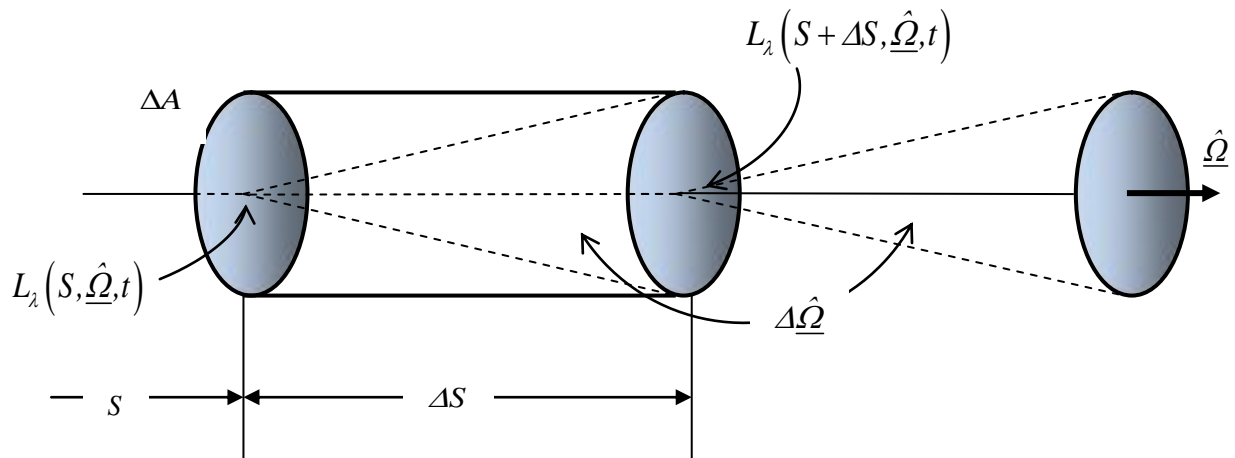


Figura 5.

Por otro lado, la energía monocromática que egresa del elemento de volumen a través de la superficie virtual ubicada en  $S + \Delta S$ , es:

$$\Delta E_{\lambda, \hat{\Omega}}(S + \Delta S, t) = L_{\lambda}(S + \Delta S, \hat{\Omega}, t) \Delta \hat{\Omega} \Delta A \Delta \lambda \Delta t \quad (20)$$

Designemos  $\Delta E_{\lambda, \hat{\Omega}}^{(abs)}(S)$  a la radiación que es localmente absorbida por el material cuando el haz avanza una distancia  $\Delta S$  en el medio.

Para la radiación que es localmente absorbida por el material, se propone la siguiente **expresión constitutiva**

$$\Delta E_{\lambda, \hat{\Omega}}^{(abs)}(S, t) \equiv \alpha_{\lambda}(S, t) L_{\lambda}(S, \hat{\Omega}, t) \Delta \hat{\Omega} \Delta S \Delta A \Delta t \Delta \lambda = \alpha_{\lambda}(S, t) L_{\lambda}(S, \mu, \phi, t) \Delta \mu \Delta \phi \Delta S \Delta A \Delta t \Delta \lambda \quad (21)$$

donde  $\alpha_{\lambda}(S, t)$  es el **Coefficiente Volumétrico Espectral de Absorción** local.

**7- “Out-scattering”:** Pérdida de energía radiante del haz con dirección de propagación  $\hat{\Omega}$  por dispersión de los rayos en nuevas direcciones de propagación  $\hat{\Omega}'$ .

Nos referiremos a la Figura 6, pero para considerar, otra causa de pérdida de radiación por parte del haz que se propaga según la dirección  $\hat{\Omega}$ . Ésta es la pérdida de energía radiante por deflexión a causa

del medio participativo, de una fracción de los rayos incluidos originalmente en el haz que se propaga según la dirección  $\hat{\underline{Q}}$ .

Consideremos, como lo hicimos anteriormente, la coordenada  $S$  en el sentido  $\hat{\underline{Q}}$  de propagación del haz en un medio dispersante. Consideremos además un cilindro recto elemental de sección transversal  $\Delta A$  y altura  $\Delta S$ , cuyo eje coincide con la dirección de propagación del haz de radiación monocromática de intensidad, tal como se muestra en la Figura 6. La intensidad de radiación monocromática en el punto de ingreso y en el de salida del elemento de volumen son  $L_\lambda(S, \hat{\underline{Q}}, t)$  y  $L_\lambda(S + \Delta S, \hat{\underline{Q}}, t)$ , respectivamente.

La expresión de la energía monocromática que ingresa al elemento de volumen a través de la superficie virtual ubicada en  $S$ , está dada por la ecuación 19, mientras que la energía monocromática que egresa del elemento de volumen a través de la superficie virtual ubicada en  $S + \Delta S$ , está dada por la Ecuación 20.

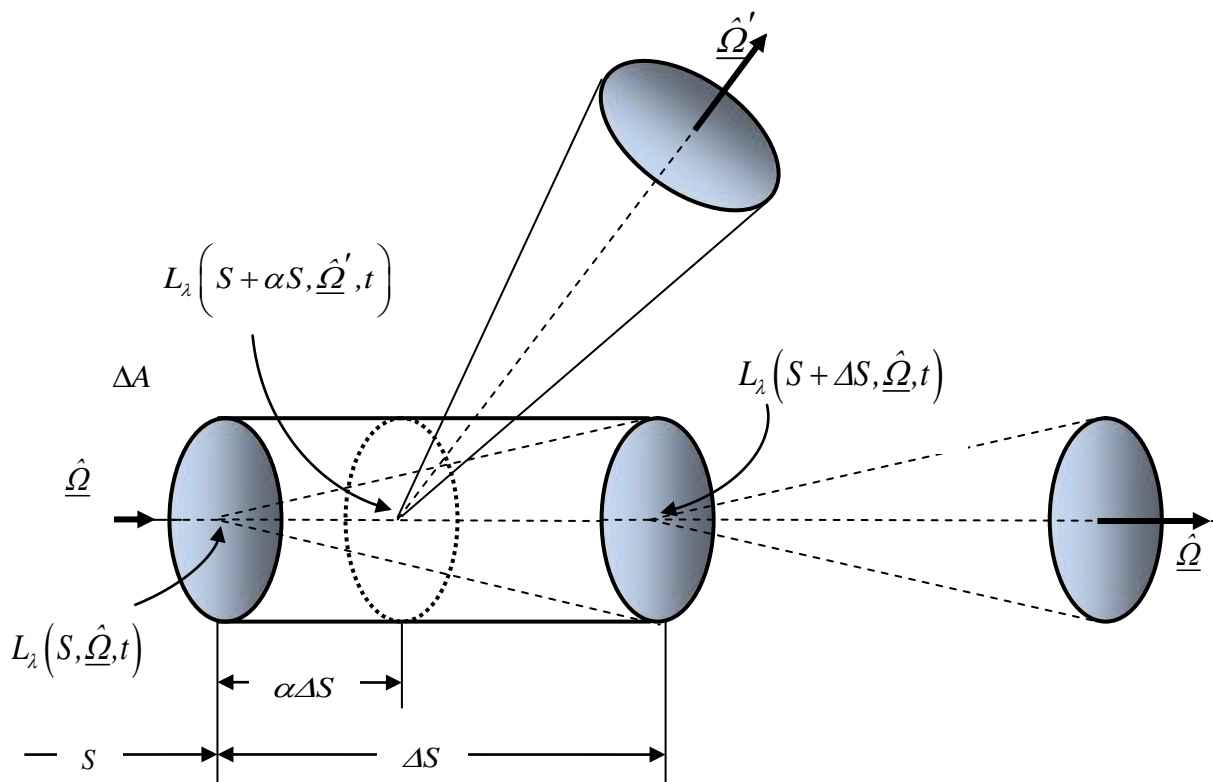


Figura 6

Designemos  $\Delta E_{\lambda, \hat{\Omega}}^{(outsc)}(S, t)$  a la radiación que pierde el haz localmente, por dispersión hacia afuera (“out-scattering”) a causa del medio dispersante, a lo largo de la distancia  $\Delta S$ . Para la radiación que es localmente dispersada por el material, se propone la siguiente **expresión constitutiva**

$$\Delta E_{\lambda, \hat{\Omega}}^{(outsc)}(S, t) \equiv \xi_{\lambda}(S, t) L_{\lambda}(r, \hat{\Omega}, t) \Delta \hat{\Omega} \Delta S \Delta A \Delta t \Delta \lambda = \xi_{\lambda}(S, t) L_{\lambda}(S, \mu, \phi, t) \Delta \mu \Delta \phi \Delta S \Delta A \Delta t \Delta \lambda \quad (22)$$

donde  $\xi_{\lambda}(S)$  es el **Coefficiente de Dispersión (Scattering) Volumétrico Espectral** local.

## 8- “Out-scattering”. La función de fase:

Una **fracción elemental** de la **energía perdida** por el haz de dirección  $\hat{\Omega}$  debido al “scattering” por el medio dispersante, es ganada por otro haz de dirección  $\hat{\Omega}'$ , que pasa por la posición  $r = (S + \alpha \Delta S) \hat{\Omega}$ , con  $(0 < \alpha < 1)$ . La fracción diferencial de la energía perdida por dispersión por el haz de dirección  $\hat{\Omega}$  que es captada por un haz de dirección  $\hat{\Omega}'$ , dependerá de la probabilidad de que la energía incidente con la dirección  $\hat{\Omega}$  sea deflectada en la nueva dirección  $\hat{\Omega}'$  por el medio. Representaremos esta probabilidad condicional o de transición de la siguiente manera

$$\frac{1}{4\pi} B(\hat{\Omega} \cdot \hat{\Omega}') d\hat{\Omega}' \quad (23)$$

En la ecuación 23,  $B(\hat{\Omega} \cdot \hat{\Omega}')$  es la **función distribución de probabilidad de transición** o “**función de fase**” asociada al suceso consistente en que la energía perdida por el haz de dirección  $\hat{\Omega}$  alrededor de la posición  $r = (S + \alpha \Delta S) \hat{\Omega}$ , debido al proceso de dispersión, sea capitalizada por un haz de dirección  $\hat{\Omega}'$  que pasa por la misma posición  $r$ .

En las expresiones anteriores

$$\hat{\Omega} = \sin \theta \cos \phi \hat{e}_1 + \sin \theta \sin \phi \hat{e}_2 + \cos \theta \hat{e}_3 = (1 - \mu^2)^{1/2} (\cos \phi \hat{e}_1 + \sin \phi \hat{e}_2) + \mu \hat{e}_3 \quad (24-a)$$

$$\hat{\Omega}' = \sin \theta' \cos \phi' \hat{e}_1 + \sin \theta' \sin \phi' \hat{e}_2 + \cos \theta' \hat{e}_3 = (1 - \mu'^2)^{1/2} (\cos \phi' \hat{e}_1 + \sin \phi' \hat{e}_2) + \mu' \hat{e}_3 \quad (24-b)$$

$$\hat{\Omega} \cdot \hat{\Omega}'(\phi, \mu; \phi', \mu') = (1 - \mu^2)^{1/2} (1 - \mu'^2)^{1/2} \cos(\phi - \phi') + \mu \mu' \quad (24-c)$$

$$d\underline{\hat{\Omega}}' = \sin\theta' d\theta' d\phi' = -d\mu' d\phi' \quad (24-d)$$

La energía total perdida por haz de dirección  $\underline{\hat{\Omega}}$  alrededor de la posición  $\underline{r}$ , debido a la dispersión por el medio, se distribuirá en todos los haces que parten de dicha posición  $\underline{r}$  en forma divergente con todas las posibles direcciones  $\underline{\hat{\Omega}}'$ . De la definición de  $B\left(\underline{\hat{\Omega}} \cdot \underline{\hat{\Omega}}'\right)$ , se sigue la condición de normalización

$$1 = \frac{1}{4\pi} \int_{\underline{\hat{\Omega}}} d\underline{\hat{\Omega}}' B\left(\underline{\hat{\Omega}} \cdot \underline{\hat{\Omega}}'\right) = -\frac{1}{4\pi} \int_0^{2\pi} d\phi' \int_1^{-1} d\mu' B(\phi, \mu; \phi', \mu') = \frac{1}{4\pi} \int_0^{2\pi} d\phi' \int_{-1}^1 d\mu' B(\phi, \mu; \phi', \mu') \quad (25)$$

Estamos en condiciones de establecer que la fracción de la energía perdida debido al fenómeno de “out-scattering” por un haz con dirección  $\underline{\hat{\Omega}}$  a lo largo de la distancia elemental  $\Delta S$ , que es captada por un haz de dirección  $\underline{\hat{\Omega}}'$  que atraviesa la posición  $\underline{r} = (S + \alpha\Delta S)\underline{\hat{\Omega}}$ , es

$$\begin{aligned} \Delta E_{\lambda, \underline{\hat{\Omega}}}^{(outsc)}(S, \underline{\hat{\Omega}}', t) &= \xi_{\lambda}(S, t) L_{\lambda}(r, \underline{\hat{\Omega}}, t) \Delta \underline{\hat{\Omega}} \Delta S \Delta A \Delta t \Delta \lambda \frac{1}{4\pi} B\left(\underline{\hat{\Omega}} \cdot \underline{\hat{\Omega}}'\right) \\ &= \frac{\xi_{\lambda}(S, t)}{4\pi} L_{\lambda}(r, \underline{\hat{\Omega}}, t) B\left(\underline{\hat{\Omega}} \cdot \underline{\hat{\Omega}}'\right) \Delta \underline{\hat{\Omega}} \Delta S \Delta A \Delta t \Delta \lambda \end{aligned} \quad (26)$$

Ahora, sumando para todas las posibles direcciones divergentes  $\underline{\hat{\Omega}}'$

$$\begin{aligned} \Delta E_{\lambda, \underline{\hat{\Omega}}}^{(outsc)}(S, t) &= \int_{\underline{\hat{\Omega}}'} d\underline{\hat{\Omega}}' \Delta E_{\lambda, \underline{\hat{\Omega}}}^{(outsc)}(S, \underline{\hat{\Omega}}', t) \\ &= \xi_{\lambda}(S, t) L_{\lambda}(r, \underline{\hat{\Omega}}, t) \underbrace{\frac{1}{4\pi} \int_{\underline{\hat{\Omega}}'} d\underline{\hat{\Omega}}' B\left(\underline{\hat{\Omega}} \cdot \underline{\hat{\Omega}}'\right)}_1 \Delta \underline{\hat{\Omega}} \Delta S \Delta A \Delta t \Delta \lambda \end{aligned} \quad (27)$$

recuperándose así la ecuación constitutiva 22.

El ejercicio desarrollado entre las Ecuaciones 23 y 27, podría parecer fútil a primera vista, porque al final del mismo se recupera un resultado conocido desde su comienzo, en la sección previa. Sin embargo, a partir del concepto de “out-scattering” y con el desarrollo de las ecuaciones que lo gobiernan, se echan las bases para simular la deflexión de fotones de sus respectivas trayectorias al encontrar un centro de scattering en el medio, asignándoles mediante técnicas de Monte Carlo, nuevas direcciones en forma aleatoria, como se vió en el capítulo correspondiente.

**9- “In-scattering” de radiación (Ganancia de energía radiante por dispersión) debido a la deflexión de rayos con dirección genérica  $\underline{\hat{\Omega}}'$  para sumarse a la dirección de propagación  $\underline{\hat{\Omega}}$ .**

Nos referiremos a la Figura 7, pero como anteriormente, para considerar de manera separada de los otros fenómenos que ocurren simultáneamente alterando la cantidad de energía del haz, sólo el aporte a la radiación del haz que se propaga según la dirección  $\underline{\hat{\Omega}}$ , debido a la deflexión por parte del medio participativo de una fracción de la energía radiante de los haces que se propagan según la dirección genérica  $\left(-\underline{\hat{\Omega}}'\right)$ , para ser sumadas localmente al haz que se propaga según  $\underline{\hat{\Omega}}$ .

Consideremos, como lo hicimos anteriormente, la coordenada  $S$  en el sentido  $\underline{\hat{\Omega}}$  de propagación del haz en un medio dispersante. Consideremos además un cilindro recto elemental de sección transversal  $\Delta A$  y altura  $\Delta S$ , cuyo eje coincide con la dirección de propagación del haz de radiación monocromática de intensidad  $L_\lambda(S, \underline{\hat{\Omega}}, t)$ , tal como se muestra en la Figura 7. La intensidad de radiación monocromática en el punto de ingreso y en el de salida del elemento de volumen son  $L_\lambda(S, \underline{\hat{\Omega}}, t)$  y  $L_\lambda(S + \Delta S, \underline{\hat{\Omega}}, t)$ , respectivamente, debiéndose la diferencia, en este caso, **a la contribución señalada del “in-scattering”**.

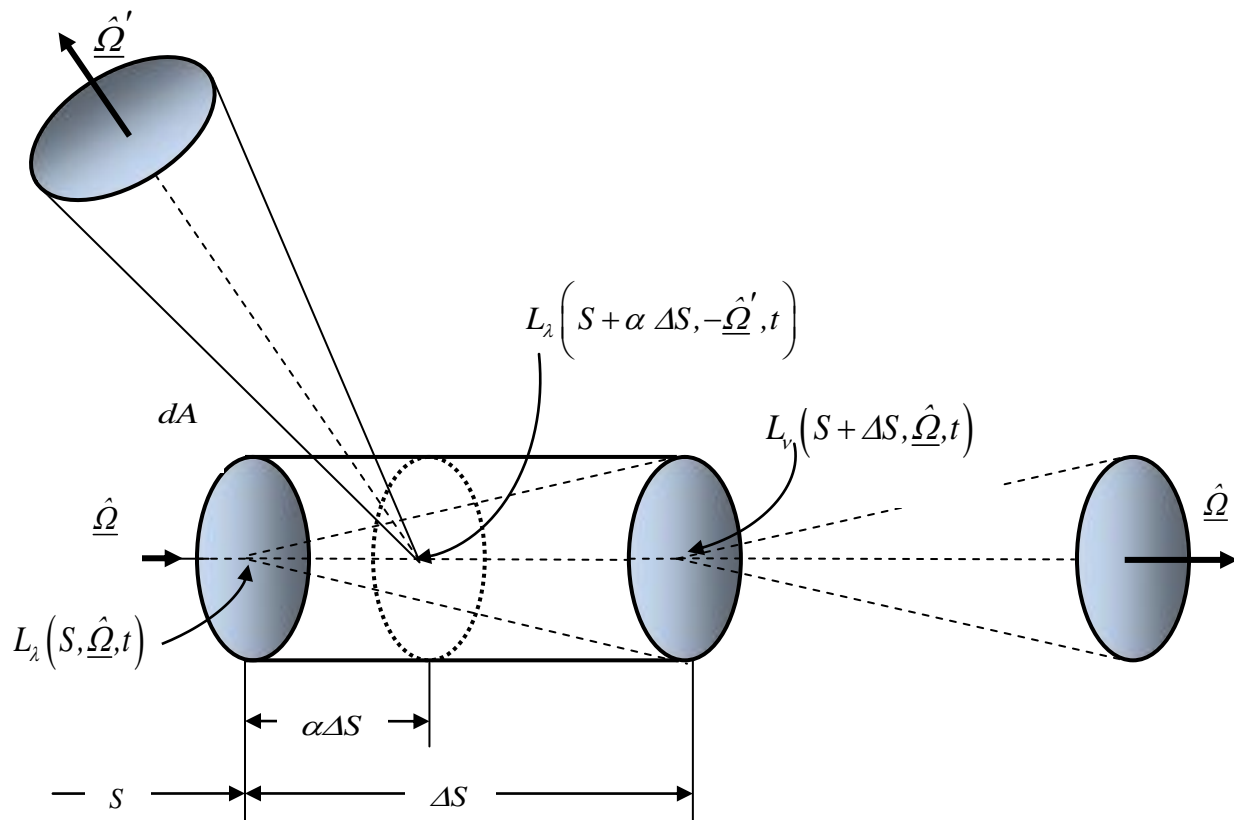


Figura 7.

Designemos  $\Delta E_{\lambda, \hat{\Omega}}^{(in-sc)}(S, t)$  a la radiación que gana el localmente haz de dirección  $\hat{\Omega}$  por la contribución dispersiva de otros haces con distintas direcciones genéricamente designadas  $(-\hat{\Omega}')$  (“in-scattering”) cuando el haz avanza una distancia  $\Delta S$ .

Supongamos que una **fracción diferencial** de la energía radiante de un haz de dirección de propagación  $(-\hat{\Omega}')$  es perdida por dicho haz al incidir sobre la posición  $\underline{r} = (S + \alpha\Delta S)\hat{\Omega}$ , con  $(0 < \alpha < 1)$ , debido a “scattering” por el medio dispersante, y que dicha fracción adquiere la dirección  $\hat{\Omega}$ . La fracción elemental de la energía perdida por dispersión por un haz de dirección  $(-\hat{\Omega}')$  que incide sobre la posición  $\underline{r}$ , y que es captada por el haz de dirección  $\hat{\Omega}$ , dependerá de la probabilidad de que los rayos de energía incidente con la dirección  $(-\hat{\Omega}')$  sea deflectada en la



dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$  por el medio. En forma similar a lo hecho en la sección anterior, designaremos esta probabilidad condicional o de transición de la siguiente manera

$$\frac{1}{4\pi} B\left(-\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}\right) d\hat{\underline{\Omega}} \quad (28)$$

En la Ecuación 28,  $B\left(-\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}\right)$  es la *función distribución de probabilidad de transición* o *“función de fase”* asociada al suceso de que la energía perdida por un haz de dirección  $\left(-\hat{\underline{\Omega}}'\right)$  en el punto de incidencia  $\underline{r} = (S + \alpha\Delta S)\hat{\underline{\Omega}}$ , debido al proceso de dispersión, sea capitalizada por el haz de dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$ .

La energía total ganada por “in-scattering” por el haz de dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$  alrededor de la posición  $\underline{r}$ , debido a la dispersión por el medio, provendrá de las contribuciones de todos los haces que inciden dicha posición  $\underline{r}$  en forma convergente, con todas las posibles direcciones  $\left(-\hat{\underline{\Omega}}'\right)$ . Debido a la definición que hemos hecho de  $B\left(-\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}\right)$ , de lo anterior se sigue la condición de normalización

$$1 = \frac{1}{4\pi} \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d\hat{\underline{\Omega}}' B\left(-\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}\right) \quad (29)$$

La condición de normalización 29, debe ser compatible con la condición de normalización de la Ecuación 25. Esta compatibilidad se demuestra en el Apéndice 1, de cuya Ecuación 4 se concluye:

$$\frac{1}{4\pi} \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d\hat{\underline{\Omega}}' B\left(-\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}\right) = \frac{1}{4\pi} \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d\hat{\underline{\Omega}}' B\left(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}\right) = 1 \quad (30)$$

Estamos en condiciones de establecer que la energía ganada por el haz de dirección  $\hat{\underline{\Omega}}$  proveniente del haz incidente en la posición  $\underline{r} = (S + \alpha\Delta S)\hat{\underline{\Omega}}$  con dirección  $\left(-\hat{\underline{\Omega}}'\right)$  será entonces igual a

$$\Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{(inse)}\left(S, \hat{\underline{\Omega}}', t\right) = \frac{\xi_{\lambda}(S, t)}{4\pi} B\left(-\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}\right) L_{\lambda}\left(\underline{r}, -\hat{\underline{\Omega}}', t\right) \Delta\hat{\underline{\Omega}} \Delta S \Delta A \Delta t \Delta \lambda \quad (31)$$

Ahora, sumando para todas las posibles direcciones incidentes

$$\begin{aligned}\Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{(inse)}(S, t) &= \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d^{(2)} \hat{\underline{\Omega}}' \Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{(inse)}(S, \hat{\underline{\Omega}}', t) \\ &= \frac{\xi_{\lambda}(S, t)}{4\pi} \left[ \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d^{(2)} \hat{\underline{\Omega}}' L_{\lambda}(r, -\hat{\underline{\Omega}}', t) B(-\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}) \right] \Delta \hat{\underline{\Omega}} \Delta S \Delta A \Delta t \Delta \lambda\end{aligned}\quad (32)$$

De acuerdo a la Ecuación 3 del Apéndice 2,

$$\int_{\hat{\underline{\Omega}}} d \hat{\underline{\Omega}}' B(-\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}) L_{\lambda}(r, -\hat{\underline{\Omega}}', t) = \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d \hat{\underline{\Omega}}' B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}) L_{\lambda}(r, \hat{\underline{\Omega}}', t) \quad (33)$$

Por lo tanto, la Ecuación 32 puede escribirse de la siguiente manera

$$\Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{(inse)}(S, t) = \frac{\xi_{\lambda}(S, t)}{4\pi} \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d \hat{\underline{\Omega}}' B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}) L_{\lambda}(r, \hat{\underline{\Omega}}', t) \Delta \hat{\underline{\Omega}} \Delta S \Delta A \Delta t \Delta \lambda \quad (34)$$

## 10- Construcción de la Ecuación de Transferencia de Energía Radiante (RTE)

Recurriendo a la Ecuación 16, y refiriéndonos a la Figura 4, la cantidad de energía radiante monocromática en el elemento de volumen  $\Delta V = \Delta A \Delta S$  en los instantes  $t$  y  $t + \Delta t$ , puede ser expresada de las siguientes maneras

$$\begin{aligned}\Delta e_{\lambda}(S + \alpha \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, t) \Delta A \Delta S \Delta \lambda &= \frac{1}{c} \Delta q_{\lambda}(S + \alpha \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, t) \Delta A \Delta S \Delta \lambda \\ &= \frac{1}{c} L_{\lambda}(S + \alpha \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, t) \Delta \hat{\underline{\Omega}} \Delta A \Delta S \Delta \lambda\end{aligned}\quad (35)$$

Del mismo modo, la cantidad de energía radiante monocromática en el elemento de volumen  $\Delta V$  en el instante  $t + \Delta t$ , es

$$\begin{aligned}\Delta e_{\lambda}(S + \alpha \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, t + \Delta t) \Delta A \Delta S \Delta \lambda &= \frac{1}{c} \Delta q_{\lambda}(S + \alpha \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, t + \Delta t) \Delta A \Delta S \Delta \lambda \\ &= \frac{1}{c} L_{\lambda}(S + \alpha \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, t + \Delta t) \Delta \hat{\underline{\Omega}} \Delta A \Delta S \Delta \lambda\end{aligned}\quad (36)$$

La expresión de la energía radiante monocromática “acumulada” en el elemento de volumen  $\Delta V$  durante el lapso  $\Delta t$ , debida al haz de energía radiante monocromático de longitud de onda  $\lambda$  que se propaga con sentido  $\hat{\underline{\Omega}}$  en un medio participativo, es

$$\Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{accum}(S, t) = \frac{1}{c} \left[ L_{\lambda}(S, \hat{\underline{\Omega}}, t + \Delta t) - L_{\lambda}(S, \hat{\underline{\Omega}}, t) \right] \Delta \hat{\underline{\Omega}} \Delta A \Delta S \quad (37)$$

La expresión de la energía monocromática que ingresa al elemento de volumen a través de la superficie virtual ubicada en  $S$ , es

$$\Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{entr}(S, t) = L_{\lambda}(S, \hat{\underline{\Omega}}, t) \Delta \hat{\underline{\Omega}} \Delta A \Delta \lambda \Delta t \quad (38)$$

Por otro lado, la energía monocromática que egresa del elemento de volumen a través de la superficie virtual ubicada en  $S + \Delta S$ , es:

$$\Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{sal.}(S + \Delta S, t) = L_{\lambda}(S + \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, t) \Delta \hat{\underline{\Omega}} \Delta A \Delta \lambda \Delta t \quad (39)$$

Un balance de energía radiante conduce a la siguiente expresión

$$\Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{accum}(S, t) = \Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{entr}(S, t) + \Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{(inse)}(S, t) - \Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{sal.}(S + \Delta S, t) - \Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{(abs)}(S, t) - \Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{(outsc)}(S, t) \quad (40)$$

Dividiendo ambos miembros de la Ecuación 40 por el producto  $\Delta \hat{\underline{\Omega}} \Delta A \Delta \nu \Delta t$ , tenemos

$$\frac{\Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{accum}(S, t)}{\Delta \hat{\underline{\Omega}} \Delta A \Delta \lambda \Delta t} = \frac{\Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{entr}(S, t)}{\Delta \hat{\underline{\Omega}} \Delta A \Delta \lambda \Delta t} + \frac{\Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{(inse)}(S, t)}{\Delta \hat{\underline{\Omega}} \Delta A \Delta \lambda \Delta t} - \frac{\Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{sal.}(S + \Delta S, t)}{\Delta \hat{\underline{\Omega}} \Delta A \Delta \lambda \Delta t} - \frac{\Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{(abs)}(S, t)}{\Delta \hat{\underline{\Omega}} \Delta A \Delta \lambda \Delta t} - \frac{\Delta E_{\lambda, \hat{\underline{\Omega}}}^{(outsc)}(S, t)}{\Delta \hat{\underline{\Omega}} \Delta A \Delta \lambda \Delta t} \quad (41)$$

Sustituyendo las expresiones de las Ecuaciones 21, 22, 34, 37, 38 y 39, en la Ecuación 41, se obtiene

$$\frac{1}{c} \frac{\left[ L_{\nu}(S, \hat{\underline{\Omega}}, t + \Delta t) - L_{\nu}(S, \hat{\underline{\Omega}}, t) \right]}{\Delta t} \Delta S = L_{\nu}(S, \hat{\underline{\Omega}}, t) + \frac{\xi_{\lambda}(S, t)}{4\pi} \left[ \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d\hat{\underline{\Omega}}' B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}) L_{\nu}(S, \hat{\underline{\Omega}}', t) \right] \Delta S \quad (42)$$

$$- L_{\nu}(S + \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, t) - \alpha_{\lambda}(S, t) L_{\nu}(S, \hat{\underline{\Omega}}, t) \Delta S - \xi_{\lambda}(S, t) L_{\nu}(S, \hat{\underline{\Omega}}, t) \Delta S$$

Reordenando la ecuación 42, obtenemos

$$\frac{1}{c} \frac{\left[ L_{\lambda}(S, \hat{\underline{\Omega}}, t + \Delta t) - L_{\lambda}(S, \hat{\underline{\Omega}}, t) \right]}{\Delta t} + \frac{L_{\lambda}(S + \Delta S, \hat{\underline{\Omega}}, t) - L_{\lambda}(S, \hat{\underline{\Omega}}, t)}{\Delta S} = \quad (43)$$

$$- [\alpha_{\lambda}(S, t) + \xi_{\lambda}(S, t)] L_{\nu}(S, \hat{\underline{\Omega}}, t) + \frac{\xi_{\lambda}(S, t)}{4\pi} \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d\hat{\underline{\Omega}}' B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}) L_{\lambda}(S, \hat{\underline{\Omega}}', t)$$

Finalmente, en el límite  $(\Delta t, \Delta S) \rightarrow 0$

$$\frac{1}{c} \frac{\partial L_{\lambda}(S, \hat{\underline{\Omega}}, t)}{\partial t} + \frac{\partial L_{\lambda}(S, \hat{\underline{\Omega}}, t)}{\partial S} + [\alpha_{\lambda}(S, t) + \xi_{\lambda}(S, t)] L_{\lambda}(S, \hat{\underline{\Omega}}, t) = \frac{\xi_{\lambda}(S, t)}{4\pi} \int_{\hat{\underline{\Omega}}} d\hat{\underline{\Omega}}' B(\hat{\underline{\Omega}}' \cdot \hat{\underline{\Omega}}) L_{\lambda}(S, \hat{\underline{\Omega}}', t) \quad (44)$$

En coordenadas esféricas (Figura 8):

$$\underline{\hat{\Omega}} = \sin \theta \cos \phi \hat{e}_1 + \sin \theta \sin \phi \hat{e}_2 + \cos \theta \hat{e}_3 = (1 - \mu^2)^{1/2} (\cos \phi \hat{e}_1 + \sin \phi \hat{e}_2) + \mu \hat{e}_3 \quad (45-a)$$

$$\underline{\hat{\Omega}}'(\mu', \phi') = (1 - \mu'^2)^{1/2} (\cos \phi' \hat{e}_1 + \sin \phi' \hat{e}_2) + \mu' \hat{e}_3 \quad (45-b)$$

$$d\underline{\hat{\Omega}}' = \sin \theta' d\theta' d\phi' = -d\mu' d\phi' \quad (45-c)$$

Por lo tanto, la Ecuación 44 puede ser escrita de la siguiente manera

$$\begin{aligned} \frac{1}{c} \frac{\partial L_\lambda(S, \mu, \phi, t)}{\partial t} + \frac{\partial L_\lambda(S, \mu, \phi, t)}{\partial S} + [\alpha_\lambda(S, t) + \xi_\lambda(S, t)] L_\lambda(S, \mu, \phi, t) \\ = \frac{\xi_\lambda(S, t)}{4\pi} \int_0^{2\pi} d\phi' \int_{-1}^1 d\mu' B(\mu', \phi'; \mu, \phi) L_\lambda(S, \mu', \phi', t) \end{aligned} \quad (46)$$

Según la “regla de la cadena” de la derivación de una función de otra función, tenemos

$$\frac{\partial L_\lambda(S, \underline{\hat{\Omega}}, t)}{\partial S} = \frac{\partial L_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{\Omega}}, t)}{\partial x_1} \frac{dx_1}{dS} + \frac{\partial L_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{\Omega}}, t)}{\partial x_2} \frac{dx_2}{dS} + \frac{\partial L_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{\Omega}}, t)}{\partial x_3} \frac{dx_3}{dS} \quad (47)$$

donde  $L_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{\Omega}}, t) = L_\lambda(x_1, x_2, x_3, \underline{\hat{\Omega}}, t)$ .

Si nos referimos a la Figura 8, vemos que tanto el vector posición  $\underline{r}$  como el vector unidad  $\underline{\hat{\Omega}}$  (este último representa la dirección de propagación del haz), pueden ser expresados de la siguiente manera

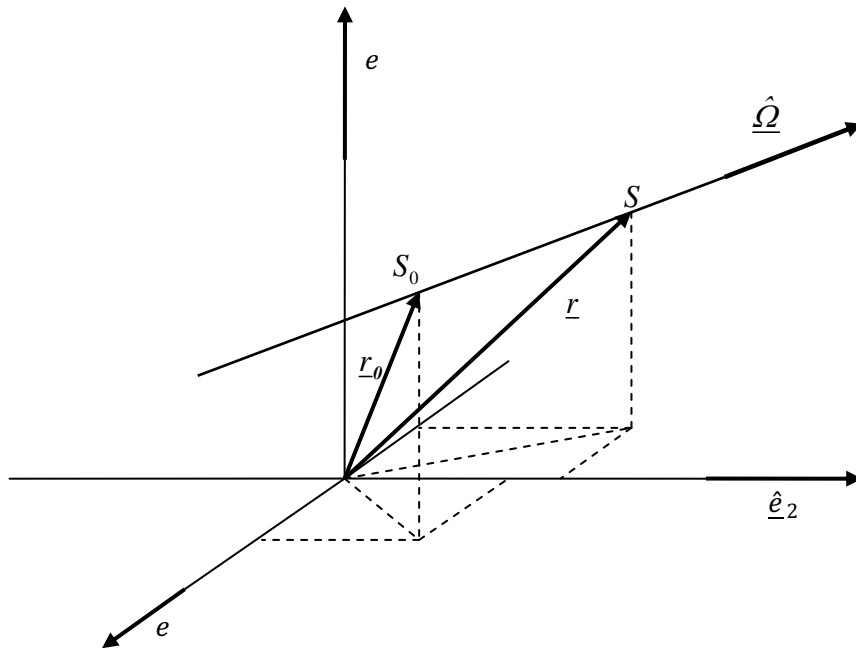


Figura 8.

$$\underline{r} = x_1 \hat{e}_1 + x_2 \hat{e}_2 + x_3 \hat{e}_3 \quad (48.a)$$

$$\underline{r}_0 = x_{1,0} \hat{e}_1 + x_{2,0} \hat{e}_2 + x_{3,0} \hat{e}_3 \quad (48.b)$$

$$\underline{\hat{Q}} = \hat{Q}_1 \hat{e}_1 + \hat{Q}_2 \hat{e}_2 + \hat{Q}_3 \hat{e}_3 \quad (48.c)$$

El vector posición  $\underline{r}$  que describe la trayectoria rectilínea del haz puede expresarse del siguiente modo

$$\underline{r} = \underline{r}_0 + \underline{\hat{Q}}(S - S_0) \quad (49)$$

También, en términos de sus componentes

$$x_i = x_{i,0} + \hat{Q}_i (S - S_0) \quad ; \quad i = 1, 2, 3 \quad (50)$$

de donde

$$\frac{dx_i}{dS} = \hat{Q}_i \quad ; \quad i = 1, 2, 3 \quad (51)$$

Sustituyendo las Ecuaciones 51 en la 47

$$\begin{aligned} \frac{\partial L_\lambda(S, \underline{\hat{Q}}, t)}{\partial S} &= \hat{Q}_1 \frac{\partial L_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{Q}}, t)}{\partial x_1} + \hat{Q}_2 \frac{\partial L_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{Q}}, t)}{\partial x_2} + \hat{Q}_3 \frac{\partial L_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{Q}}, t)}{\partial x_3} = \\ & \left[ \hat{Q}_1 \frac{\partial}{\partial x_1} + \hat{Q}_2 \frac{\partial}{\partial x_2} + \hat{Q}_3 \frac{\partial}{\partial x_3} \right] L_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{Q}}, t) = \underline{\hat{Q}} \cdot \nabla L_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{Q}}, t) \end{aligned} \quad (52)$$

Luego, de las ecuaciones 44 y 52, tenemos

$$\begin{aligned} \frac{1}{c} \frac{\partial L_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{Q}}, t)}{\partial t} + \underline{\hat{Q}} \cdot \nabla L_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{Q}}, t) + [\alpha_\lambda(\underline{r}, t) + \xi_\lambda(\underline{r}, t)] L_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{Q}}, t) = \\ \frac{\xi_\lambda(\underline{r}, t)}{4\pi} \int_{\underline{\hat{Q}'}} d\underline{\hat{Q}'} B(\underline{\hat{Q}'} \cdot \underline{\hat{Q}}) L_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{Q}'}, t) \end{aligned} \quad (53)$$

En nuestras aplicaciones,  $c \gg \frac{\partial L_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{Q}}, t)}{\partial t}$ , por lo que la **Ecuación de Transferencia de Energía**

**Radiante**, se reduce a la expresión siguiente:

$$\underline{\hat{Q}} \cdot \nabla L_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{Q}}, t) + [\alpha_\lambda(\underline{r}, t) + \xi_\lambda(\underline{r}, t)] L_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{Q}}, t) = \frac{\xi_\lambda(\underline{r}, t)}{4\pi} \int_{\underline{\hat{Q}'}} d\underline{\hat{Q}'} B(\underline{\hat{Q}'} \cdot \underline{\hat{Q}}) L_\lambda(\underline{r}, \underline{\hat{Q}'}, t) \quad (54)$$

Donde, en coordenadas rectangulares

$$\underline{\nabla} = \left[ \hat{e}_1 \frac{\partial}{\partial x_1} + \hat{e}_2 \frac{\partial}{\partial x_2} + \hat{e}_3 \frac{\partial}{\partial x_3} \right] \quad (55)$$

Esta ecuación, tal como está presentada, es la Ecuación de Transferencia de Energía Radiativa, **válida para medios que no emiten energía**. El hecho de que no figure en ella un término que contenga una derivada parcial de la intensidad  $L_\lambda(\underline{r}, \hat{\underline{\Omega}}, t)$  con respecto al tiempo, manteniendo el resto de las variables constantes, implica que tanto la intensidad, como las propiedades del campo radiante que de ella se derivan, no dependen explícitamente del tiempo, sino que lo hacen a través de los parámetros ópticos del medio (por ejemplo, a través de  $\alpha_\lambda(\underline{r}, t)$  y  $\xi_\lambda(\underline{r}, t)$ ) y de las condiciones de contorno (por ejemplo, estrategia de irradiación). La resolución de esta ecuación integro-diferencial, permite conocer la intensidad local de energía radiante y las propiedades derivadas de la misma.

### 11- El Balance Diferencial de Energía Radiante Monocromática.

Recordemos primero el caso de un componente  $i$  en una solución, con una concentración másica instantánea local  $\rho_i(\underline{r}, t)$ , y que se produce con una velocidad de reacción neta instantánea local  $r_i(\underline{r}, t)$ , la que será positiva si el componente es un producto, o negativa si es un reactivo. Además, designemos  $\underline{q}_i(\underline{r}, t)$  a la densidad de flujo másico vectorial del componente  $i$ , también instantáneo y local. De la teoría de los fenómenos de transporte de materia, sabemos que el balance diferencial de componente  $i$  es:

$$\frac{\partial}{\partial t} \rho_i(\underline{r}, t) + \underline{\nabla} \cdot \underline{q}_i(\underline{r}, t) = r_i(\underline{r}, t) \quad (56)$$

En esta sección, estableceremos un balance diferencial análogo para la energía radiativa monocromática de longitud de onda  $\lambda$ . Con este propósito, integraremos la Ecuación 53, término a término, sobre todas las direcciones de propagación  $\hat{\underline{\Omega}}$ :

$$\begin{aligned}
\frac{\partial}{\partial t} \left[ \underbrace{\frac{1}{c} \int_{\underline{\hat{\Omega}}} d\underline{\hat{\Omega}} L_{\lambda}(\underline{r}, \underline{\hat{\Omega}}, t)}_{e_{\lambda}(\underline{r}, t)} \right] + \nabla \cdot \left[ \underbrace{\int_{\underline{\hat{\Omega}}} d\underline{\hat{\Omega}} \underline{\hat{\Omega}} L_{\lambda}(\underline{r}, \underline{\hat{\Omega}}, t)}_{\underline{q}_{\lambda}(\underline{r}, t)} \right] + [\alpha_{\lambda}(\underline{r}, t) + \xi_{\lambda}(\underline{r}, t)] \left[ \underbrace{\int_{\underline{\hat{\Omega}}} d\underline{\hat{\Omega}} L_{\lambda}(\underline{r}, \underline{\hat{\Omega}}, t)}_{ce_{\lambda}(\underline{r}, t)} \right] = \\
\frac{\xi_{\lambda}(\underline{r}, t)}{4\pi} \left\{ \underbrace{\int_{\underline{\hat{\Omega}}} d\underline{\hat{\Omega}} \left[ \int_{\underline{\hat{\Omega}'}} d\underline{\hat{\Omega}'} B(\underline{\hat{\Omega}}' \cdot \underline{\hat{\Omega}}) \right] L_{\lambda}(\underline{r}, \underline{\hat{\Omega}'}, t)}_{4\pi ce_{\lambda}(\underline{r}, t)} \right\} \quad (57)
\end{aligned}$$

Teniendo en cuenta la definición del **Vector Densidad de Flujo Radiativo Espectral Neto**  $\underline{q}_{\lambda}(\underline{r}, t)$  (Ecuación 13); la definición de la **Densidad Local de Energía Radiante Espectral** (Ecuación 17), y la **condición de normalización que satisface la Función de Fase** (Ecuación 25), mediante este procedimiento obtenemos para el medio en el que reside el campo radiante:

$$\frac{\partial}{\partial t} e_{\lambda}(\underline{r}, t) + \nabla \cdot \underline{q}_{\lambda}(\underline{r}, t) = -c \alpha_{\lambda}(\underline{r}, t) e_{\lambda}(\underline{r}, t) \quad (58)$$

Siguiendo con la analogía con los fenómenos de transporte, comparando las Ecuaciones 56 y 58, podemos concluir que el término de la derecha de la Ecuación 58, es la velocidad local específica de producción de energía de longitud de onda  $\lambda$ . Como este término es siempre negativo, se trata en realidad de la **velocidad específica de remoción (pérdida) de energía monocromática del campo radiante por absorción**:

$$r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t) = c \alpha_{\lambda}(\underline{r}, t) e_{\lambda}(\underline{r}, t) > 0 \quad (59)$$

Con esta definición, la Ecuación 58 puede escribirse

$$\frac{\partial}{\partial t} e_{\lambda}(\underline{r}, t) + \nabla \cdot \underline{q}_{\lambda}(\underline{r}, t) = -r_{\lambda}^{abs}(\underline{r}, t) \quad (60)$$

A partir de las Ecuaciones 59 y 60, se puede concluir que la pérdida **local** de energía por parte del campo radiante se debe exclusivamente al fenómeno de absorción. El fenómeno de dispersión (“scattering elástico”) sólo modifica la trayectoria de los fotones, pero no los sustrae del campo radiante ni los agrega.

Es importante notar que la definición de la **Densidad Local de Energía Radiante Espectral** (Ecuación 17), implica la división por la magnitud de la velocidad de la luz, de propiedades que también aparecen en los otros términos de la Ecuación 60, particularmente la Intensidad de Energía Radiativa Monocromática  $L_{\lambda}$ . Esto trae como consecuencia que  $e_{\lambda}(\underline{r}, t)$ , si bien es siempre positiva,

será por muy pequeña, y también lo será su derivada con respecto al tiempo. La Ecuación 60 se reduce entonces a la expresión

$$\underline{\nabla} \cdot \underline{q}_\lambda(\underline{r}, t) = -r_\lambda^{abs}(\underline{r}, t) \quad (61)$$

También hubiésemos llegado a la expresión 61 integrando la Ecuación 54, término a término, sobre todas las direcciones de propagación  $\hat{\underline{Q}}$ , aunque de esta manera no nos hubiese sido tan simple hacer la analogía con el balance diferencial de componente  $i$  de la teoría de los fenómenos de transporte de materia, y la identificación del término de velocidad específica de remoción (pérdida) de energía monocromática del campo radiante por absorción no hubiese sido tan directa.

## 12- El Balance Macroscópico de Energía Radiante Monocromática. El Teorema de Green en el Espacio (Teorema de la Divergencia) y el Vector Densidad de Flujo Radiativo Espectral Neto

Consideremos la superficie virtual cerrada  $S$  inmersa en un campo radiante, que envuelve el volumen  $V$ , tal como se muestra esquemáticamente en la Figura 9, y sobre ella, un área diferencial  $dA$  en la posición  $\underline{r}$ , cuya normal hacia afuera es  $\hat{\underline{n}}$ . De acuerdo al teorema de la divergencia aplicado al vector *Densidad de Flujo Radiativo Espectral Neto*  $\underline{q}_\lambda(\underline{r}, t)$ :

$$\int_S dA (\hat{\underline{n}} \cdot \underline{q}_\lambda) = \int_V dV (\underline{\nabla} \cdot \underline{q}_\lambda) \quad (62)$$

Pero, sustituyendo las Ecuaciones 59 y 61 en la 62, tenemos

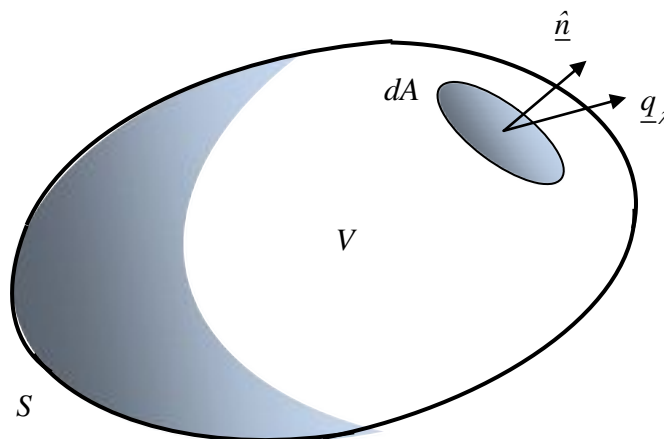


Figura 9



$$\int_S dA \hat{n} \cdot \underline{q}_\lambda(\underline{r}, t) = - \int_V dV r_\lambda^{abs}(\underline{r}, t) = -c \int_V dV \alpha_\lambda(\underline{r}, t) e_\lambda(\underline{r}, t) \quad (63)$$

En el caso de un medio participativo homogéneo, el balance macroscópico de energía radiante es:

$$\int_S dA \hat{n} \cdot \underline{q}_\lambda(\underline{r}, t) = - \int_V dV r_\lambda^{abs}(\underline{r}, t) = -c \alpha_\lambda(t) \int_V dV e_\lambda(\underline{r}, t) \quad (64)$$

## APÉNDICE 1.

---

En coordenadas esféricas

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

$$\begin{aligned} -\underline{\hat{\Omega}}'(\mu', \phi') &= -(1 - \mu'^2)^{1/2} (\cos \phi' \hat{e}_1 + \sin \phi' \hat{e}_2) - \mu' \hat{e}_3 = \\ &(1 - (-\mu')^2)^{1/2} (\cos(\phi' \pm \pi) \hat{e}_1 + \sin(\phi' \pm \pi) \hat{e}_2) + (-\mu') \hat{e}_3 \end{aligned} \quad (1-b)$$

$$-\underline{\hat{\Omega}} \cdot \underline{\hat{\Omega}}'(\phi, \mu; \phi', \mu') = (1 - \mu^2)^{1/2} (1 - \mu'^2)^{1/2} \cos(\phi - (\phi' \pm \pi)) + \mu(-\mu') \quad (1-c)$$

$$d\underline{\hat{\Omega}}' = \sin \theta' d\theta' d\phi' = -d\mu' d\phi' \quad (1-d)$$

Consideremos la integral

$$\begin{aligned} \frac{1}{4\pi} \int_{\underline{\hat{\Omega}}'} d\underline{\hat{\Omega}}' B(-\underline{\hat{\Omega}}' \cdot \underline{\hat{\Omega}}) &= \\ \frac{1}{4\pi} \int_0^{2\pi} d\phi' \int_{\mu'=-1}^{\mu'=1} d(-\mu') B\left((1 - \mu^2)^{1/2} (1 - \mu'^2)^{1/2} \cos(\phi - (\phi' - \pi)) + \mu(-\mu')\right) \end{aligned} \quad (2)$$

Cambiando la variable de integración  $\mu' \rightarrow -\mu'$ , luego  $d\mu' \rightarrow -d\mu'$ , y  $(\phi' - \pi) \rightarrow \phi'$

$$\begin{aligned} \frac{1}{4\pi} \int_{\underline{\hat{\Omega}}'} d\underline{\hat{\Omega}}' B(-\underline{\hat{\Omega}}' \cdot \underline{\hat{\Omega}}) &= \\ \frac{1}{4\pi} \int_{-\pi}^{\pi} d\phi' \int_{\mu'=-1}^{\mu'=1} d\mu' B\left((1 - \mu^2)^{1/2} (1 - \mu'^2)^{1/2} \cos(\phi - \phi') + \mu \mu'\right) \end{aligned} \quad (3)$$

Pero la integración a lo largo de  $\phi'$  en el intervalo  $(-\pi, \pi)$  incluye los mismos valores del integrando que cuando se extiende a lo largo del intervalo  $(0, 2\pi)$ . Por lo tanto, tenemos

$$\begin{aligned}
& \frac{1}{4\pi} \int_{\underline{\hat{\Omega}}'} d\underline{\hat{\Omega}}' B\left(-\underline{\hat{\Omega}}' \cdot \underline{\hat{\Omega}}'\right) = \\
& \frac{1}{4\pi} \int_0^{2\pi} d\phi' \int_{\mu'=-1}^{\mu'=1} d\mu' B\left(\left(1-\mu^2\right)^{1/2} \left(1-\mu'^2\right)^{1/2} \cos(\phi-\phi') + \mu \mu'\right) = \\
& \frac{1}{4\pi} \int_{\underline{\hat{\Omega}}'} d\underline{\hat{\Omega}}' B\left(\underline{\hat{\Omega}}' \cdot \underline{\hat{\Omega}}'\right)
\end{aligned} \tag{4}$$

## APÉNDICE 2.

---

Considerando las relaciones (41-a, b, c, d), podemos escribir

$$\begin{aligned}
& \int_{\underline{\hat{\Omega}}'} d\underline{\hat{\Omega}}' B\left(-\underline{\hat{\Omega}}' \cdot \underline{\hat{\Omega}}'\right) L_\lambda\left(\underline{r}, -\underline{\hat{\Omega}}', t\right) = \\
& \int_0^{2\pi} d\phi' \int_{\mu'=-1}^{\mu'=1} d(-\mu') B\left(\left(1-\mu^2\right)^{1/2} \left(1-\mu'^2\right)^{1/2} \cos(\phi-(\phi'-\pi)) + \mu(-\mu')\right) \times \\
& L_\lambda\left(\underline{r}, \left(1-\mu'^2\right)^{1/2} (\cos(\phi'-\pi) \hat{e}_1 + \sin(\phi'-\pi) \hat{e}_2) + (-\mu') \hat{e}_2, t\right)
\end{aligned} \tag{1}$$

Cambiando la variable de integración  $\mu' \rightarrow -\mu'$ , luego  $d\mu' \rightarrow -d\mu'$ , y  $(\phi'-\pi) \rightarrow \phi'$

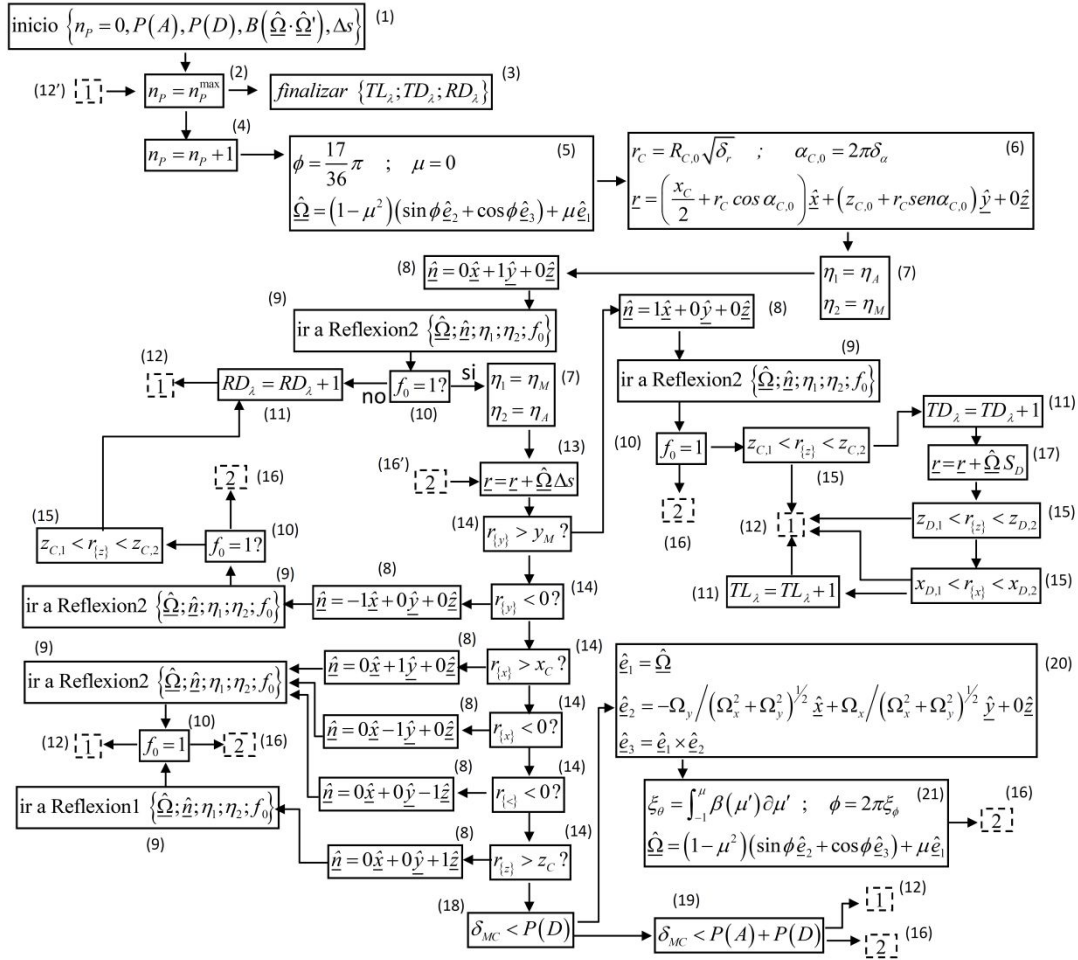
$$\begin{aligned}
& \int_{\underline{\hat{\Omega}}'} d\underline{\hat{\Omega}}' B\left(-\underline{\hat{\Omega}}' \cdot \underline{\hat{\Omega}}'\right) L_\lambda\left(\underline{r}, -\underline{\hat{\Omega}}', t\right) = \\
& \int_{-\pi}^{\pi} d\phi' \int_{\mu'=1}^{\mu'=-1} d\mu' B\left(\left(1-\mu^2\right)^{1/2} \left(1-\mu'^2\right)^{1/2} \cos(\phi-\phi') + \mu \mu'\right) \times \\
& L_\lambda\left(\underline{r}, \left(1-\mu'^2\right)^{1/2} (\cos \phi' \hat{e}_1 + \sin \phi' \hat{e}_2) + \mu' \hat{e}_2, t\right)
\end{aligned} \tag{2}$$

Pero la integración a lo largo de  $\phi'$  en el intervalo  $(-\pi, \pi)$  incluye los mismos valores del integrando que cuando se extiende a lo largo del intervalo  $(0, 2\pi)$ . Por lo tanto

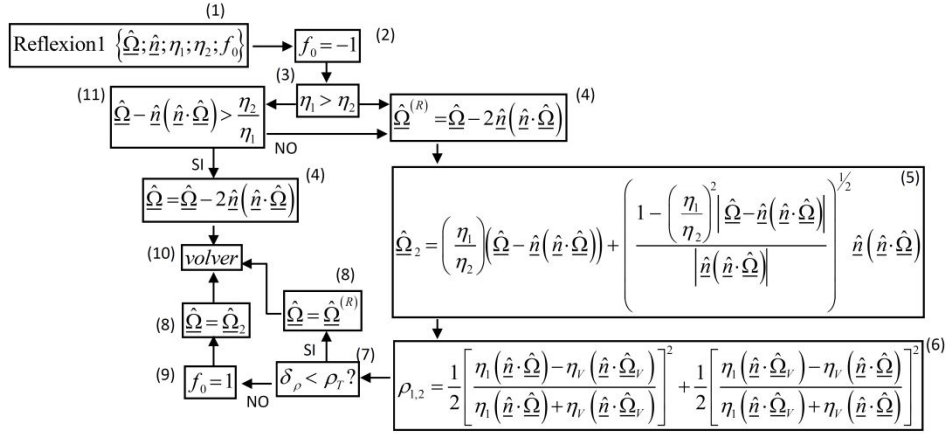
$$\begin{aligned}
& \int_{\underline{\hat{\Omega}}'} d\underline{\hat{\Omega}}' B\left(-\underline{\hat{\Omega}}' \cdot \underline{\hat{\Omega}}'\right) L_\lambda\left(\underline{r}, -\underline{\hat{\Omega}}', t\right) = \\
& - \int_0^{2\pi} d\phi' \int_{\mu'=-1}^{\mu'=1} d\mu' B\left(\left(1-\mu^2\right)^{1/2} \left(1-\mu'^2\right)^{1/2} \cos(\phi-\phi') + \mu \mu'\right) \times \\
& L_\lambda\left(\underline{r}, \left(1-\mu'^2\right)^{1/2} (\cos \phi' \hat{e}_1 + \sin \phi' \hat{e}_2) + \mu' \hat{e}_2, t\right) = \\
& \int_{\underline{\hat{\Omega}}'} d\underline{\hat{\Omega}}' B\left(\underline{\hat{\Omega}}' \cdot \underline{\hat{\Omega}}'\right) L_\lambda\left(\underline{r}, \underline{\hat{\Omega}}', t\right)
\end{aligned} \tag{3}$$



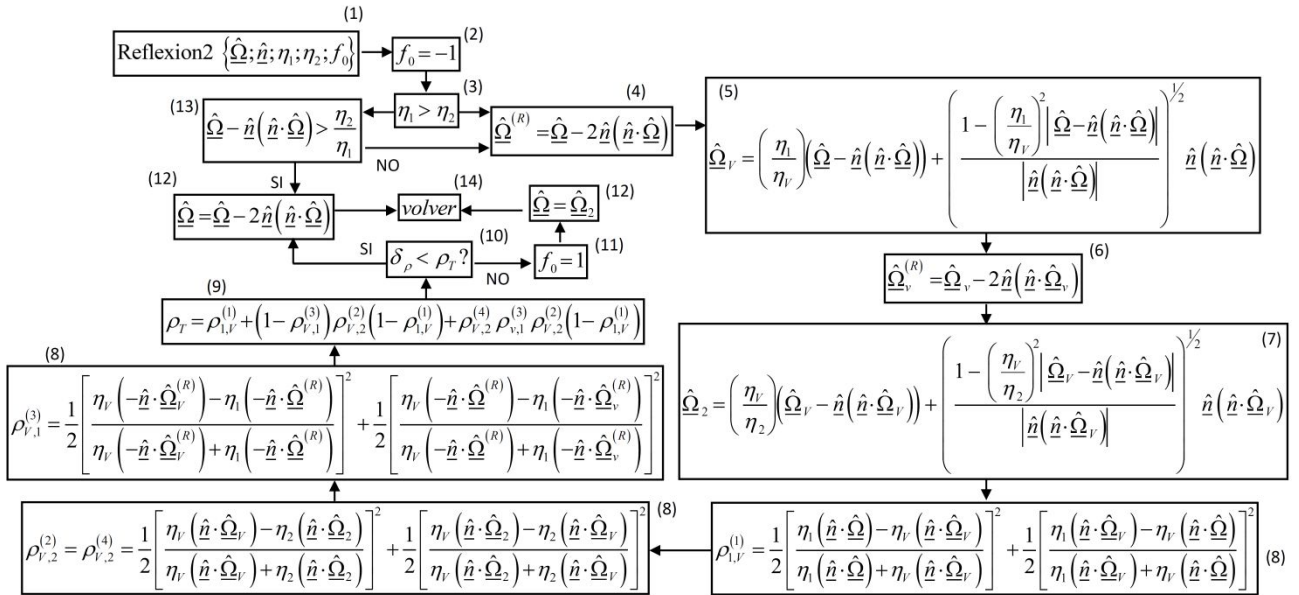
## ANEXO CAPÍTULO 6: Pseudocódigo de simulación del procedimiento experimental mediante el método de Monte Carlo.



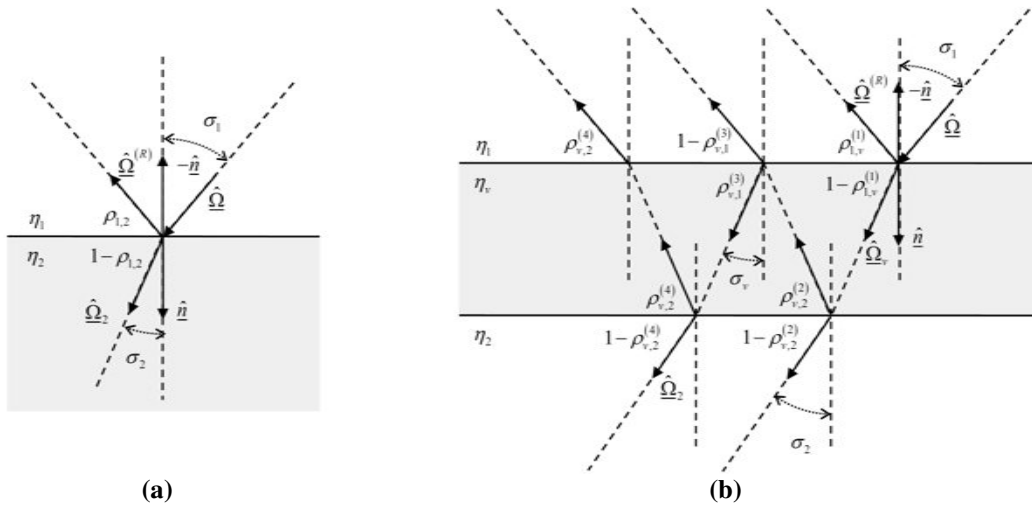
**Figura 1:** Módulo de simulación por Monte Carlo del sistema cubeta con la suspensión de microalgas, para cada longitud de onda  $\lambda$  en el rango 400 a 700nm. El programa de optimización Algoritmo Genético provee a la subrutina con los valores de los coeficientes de absorción y dispersión; y los parámetros de la función de fase (1)- Inicio del programa. Se calculan la probabilidades  $P(A)$  y  $P(D)$  de Absorción y Dispersión en función de  $\alpha_i$  y  $\xi_\lambda$  (2)- Se chequea si ya se emitieron una cantidad de fotones igual al número total  $n_{MAX}$  de fotones a emitir. (3)- Si el número de fotones emitidos es igual al número total de fotones a emitir, el programa entrega los resultados para  $TL$ ,  $TD$  y  $RD$ . (4)- Se adiciona una unidad al número  $n_p$  de fotones emitidos hasta el momento. (5)- Se asigna al fotón la dirección inicial  $\hat{\Omega}$ , con la cual llegan a la cubeta desde la fuente de emisión. (6)- Se asigna al fotón una posición inicial  $r$  dentro de la sección del haz de luz. (7)- Se establecen los valores de los índices de refracción para modelar la reflexión sobre los límites de la cubeta. (8)- Se establece el vector normal  $\hat{n}$  a la superficie. (9)- Se modela la reflexión sobre los límites de la cubeta según las Subrutinas *Reflexión1* (para la interfase suspensión/aire; Figura 2) o *Reflexión2* (para las caras de la cubeta; Figura 3). (10)- En función del valor  $f_0$ , provisto por la Subrutinas *Reflexión1* o *Reflexión2*, se continúa la simulación de la trayectoria del fotón dependiendo si fue reflejado o no. (11)- Se suma un fotón a la fracción de fotones correspondiente  $TL$ ,  $TD$  o  $RD$ . (12)- se continua el cómputo desde la posición 12'. (13)- El fotón avanza un paso  $\Delta s$  en la dirección  $\hat{\Omega}$ . (14)- Se chequea si el fotón ha alcanzado alguno de los límites de la cubeta. (15)- Se cheque que la componente  $r_i$  del vector  $r$  este entre los límites superior e inferior. (16)- se continua el cómputo desde la posición 16'. (17)- El fotón avanza un paso  $S$  en la dirección  $\hat{\Omega}$  hasta alcanzar el plano del detector para la determinación experimental TL. (18)- Se compara la probabilidad  $P(D)$  de dispersión con un número  $\delta_{MC}$  generado aleatoriamente. (19)- El número  $\delta_{MC}$  generado en el paso anterior se compara con la suma de las probabilidades  $P(A)$  y  $P(D)$ . (20)- Se establece el sistema de vectores  $\hat{e}_1$ ,  $\hat{e}_2$  y  $\hat{e}_3$  utilizado para la asignación de una nueva dirección en el evento de dispersión. (21)- Se genera la nueva dirección de dispersión  $\hat{\Omega}'$ .



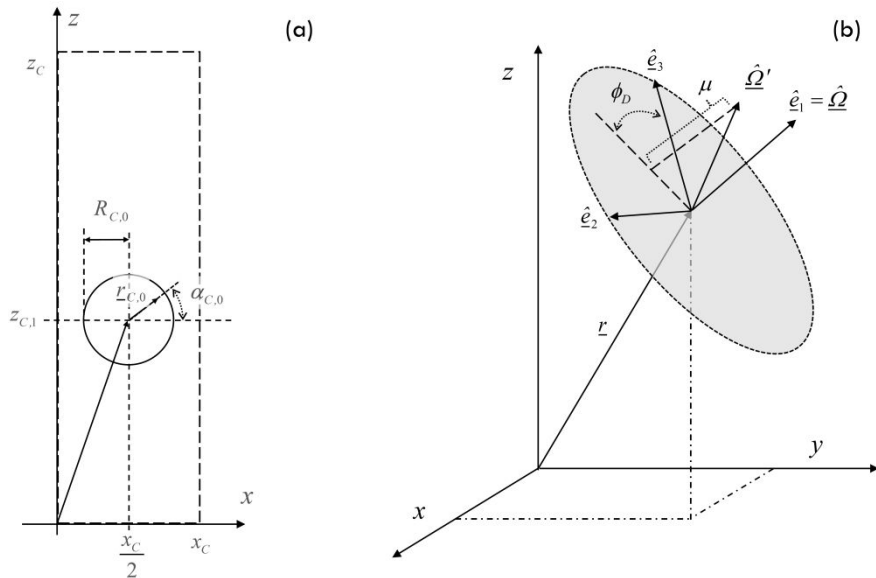
**Figura 2:** Módulo de simulación de reflexión/refracción sobre la interfase de los medios 1 y 2. (1)- inicio de la subrutina. (2)- Se asigna a  $f_0$  el valor inicial  $-1$ ;  $f_0$  conservará este valor en caso de ser reflejado (3)- Se cheque si el índice de refracción del medio inicial  $1$  es mayor a del medio  $2$ . (4)- Se computa la dirección de reflexión. (5) Se calcula la dirección de refracción en el medio  $2$ . (6)- Se calcula la reflectividad  $\rho_{1,2}$  sobre la interfase. (7)- Se compara el valor de  $\rho_{1,2}$  con un número  $\delta_\rho$  generado aleatoriamente. (8)- Se reemplaza la dirección  $\hat{Q}$  por la correspondiente dirección  $\hat{Q}^{(R)}$  o  $\hat{Q}_2$  final. (9)- Se asigna a  $f_0$  el valor  $1$  correspondiente al evento de refracción. (10)- Se retorna a la subrutina con el valor de  $f_0$  y la nueva dirección  $\hat{Q}$ . (11)- Se cheque que el ángulo de incidencia sea menor que el ángulo máximo, a partir del cual la reflectividad es total.



**Figura 3:** módulo de simulación de la reflexión/refracción sobre una pared transparente de espesor reducido que separa los medios  $1$  y  $2$ . (1)- Inicio de la subrutina. (2)- Se asigna a  $f_0$  el valor inicial  $-1$ ;  $f_0$  conservará este valor en caso de ser reflejado (3)- Se cheque si el índice de refracción del medio inicial  $1$  es mayor a del medio  $2$ . (4)- Se computa la dirección de reflexión en el medio  $1$ . (5)- Se calcula la dirección de refracción en el material transparente. (6)- Se computa la dirección de reflexión en el material transparente. (7)- Se calcula la dirección de refracción en el medio  $2$ . (8)- Se calcula la reflectividad  $\rho_{i,j}$  en la interfase que separa los medios  $i$  y  $j$ . (9)- Se calcula la reflectividad total  $\rho_T$  a través de la pared de material transparente. (10)- Se compara el valor de  $\rho_T$  con un número generado aleatoriamente  $\delta_\rho$ . (11)- Se asigna a  $f_0$  el valor  $1$  correspondiente al evento de refracción en el medio  $2$ . (12)- Se reemplaza la dirección  $\hat{Q}$  inicial por la correspondiente dirección  $\hat{Q}^{(R)}$  o  $\hat{Q}_2$  final. (13)- Se retorna a la subrutina con el valor de  $f_0$  y la nueva dirección  $\hat{Q}$ . (14)- Se cheque que el ángulo de incidencia sea menor que el ángulo máximo, a partir del cual la reflectividad es total.



**Figura 4:** Representación del evento de reflexión o refracción sobre (a) una interfase entre los medios 1 y 2 y (b) sobre una lamina o pared de material transparente de espesor reducido que separa los medios 1 y 2

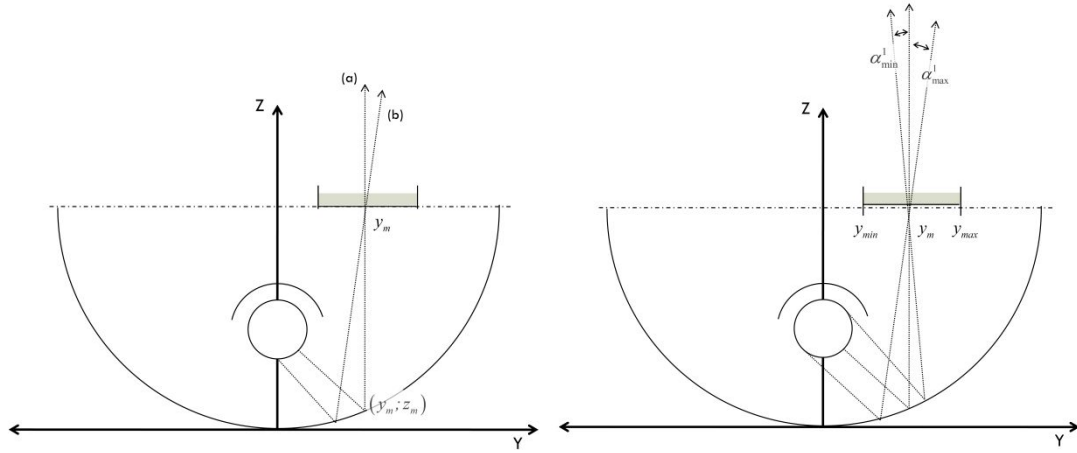


**Figura 5:** Sección transversa del haz de luz que incide sobre la cara anterior de la cubeta. (b) Esquema del sistema de vectores establecidos para la asignación de la dirección de dispersión.



## ANEXO I CAPÍTULO 7: DESVIACIÓN DEBIDO AL DIÁMETRO DE LA LÁMPARA.

Si nos ubicamos sobre un punto  $y_m$  cualquiera sobre la base de la Caja de Petri (Figura 1(a)), el único rayo que pasa por ese punto con dirección vertical es aquel que es emitido desde la lámpara con dirección radial (rayo (a)), y que impacta en el punto  $z_m = \left(\frac{I}{4p}\right)y_m^2$  sobre el espejo. Además de ese rayo, existen otros que pasan por ese punto  $y_m$  (rayo (b)) que parten de la lámpara en dirección no radial. Para calcular la desviación del sistema emisor de luz en esta dirección debemos calcular entre que ángulos  $\alpha_{\min}^1 \leq \alpha^1 \leq \alpha_{\max}^1$  (Figura 2(b)) están incluidos los rayos que pasan por el punto  $y_m$ , para cada uno de los puntos  $y_{\min} \leq y_m \leq y_{\max}$  incluidos en la base de la Caja de Petri.



**Figura 1:** Vista transversal del espejo parabólico del sistema emisor de energía radiante.

La ecuación que describe la parábola que forma el espejo es:

$$z_m = \left(\frac{I}{4p}\right)y_m^2 \quad (1)$$

Para cualquier  $y_m > 0$ , tenemos:

$$\frac{dz_m}{dy_m} = \left(\frac{I}{2p}\right)y_{t,m} = \operatorname{tg}(\alpha_{t,m}) = \frac{[1 - \cos^2(\alpha_{t,m})]^{1/2}}{\cos(\alpha_{t,m})} \quad (2)$$

A partir de ello podemos inferir (ver Figura 2):

$$\cos(\alpha_{t,m}) = \frac{I}{\left[1 + \left(\frac{y_m}{2p}\right)^2\right]^{1/2}} \quad \text{y} \quad \sin(\alpha_{t,m}) = \left(\frac{y_m}{2p}\right) \frac{I}{\left[1 + \left(\frac{y_m}{2p}\right)^2\right]^{1/2}} \quad (3)$$

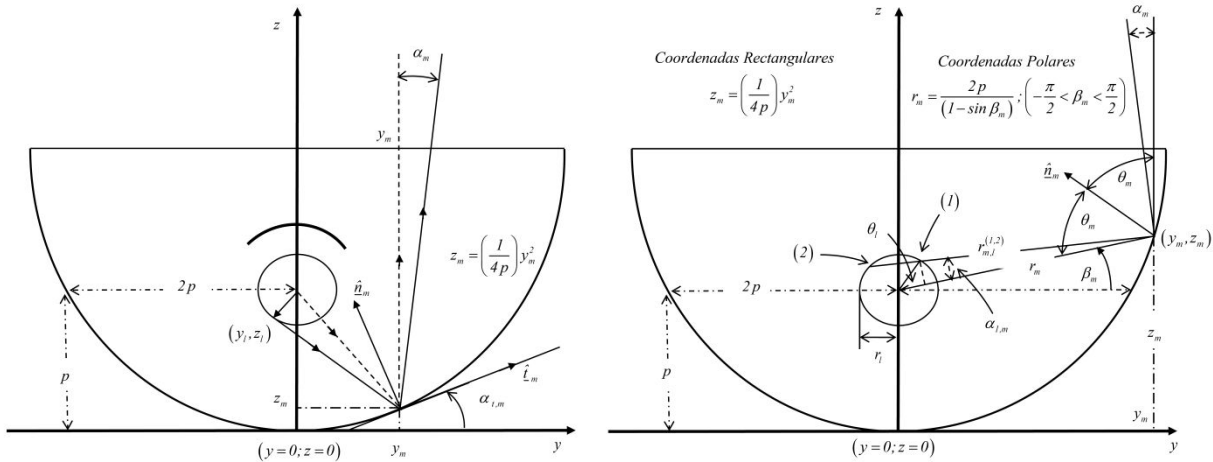
El vector unidad tangente a la parábola en ese punto es:

$$\hat{t}_m = \cos(\alpha_{t,m})\hat{e}_y + \sin(\alpha_{t,m})\hat{e}_z \quad (4)$$

Y el vector normal a la superficie:



$$\hat{n}_m = \cos\left(\frac{\pi}{2} + \alpha_{t,m}\right)\hat{e}_y + \sin\left(\frac{\pi}{2} + \alpha_{t,m}\right)\hat{e}_z = -\sin(\alpha_{t,m})\hat{e}_y + \cos(\alpha_{t,m})\hat{e}_z \quad (5)$$



**Figura 2:** Corte transversal del sistema lámpara-espejo. La lámpara cilíndrica se ubica sobre la línea focal del espejo parabólica. **(a)**- Se muestra la geometría de la reflexión sobre el espejo de los rayos emitidos por la lámpara. **(b)**- En la parte derecha se muestra con línea sólida un rayo tangente a la lámpara reflejado sobre un punto en el espejo parabólico; en línea punteada un rayo con dirección radial. En la parte izquierda la desviación de la vertical de los rayos provenientes del sistema emisor que pasan por un mismo punto sobre la Placa de Petri.

La línea punteada sobre la parte derecha de la Figura 2(a) representa la proyección sobre la sección transversal del sistema espejo-lámpara, de la trayectoria del rayo ideal, emitido por una lámpara lineal ideal desde  $(y=0, z=p)$  y es reflejado en el punto  $(y_m, z_m)$  sobre el espejo parabólico. El vector unidad en esa dirección desde  $(y=0, z=p)$  a  $(y_m, z_m)$  es:

$$\hat{r}_m = \frac{1}{\left(\frac{1}{4p}y_m^2 + p\right)} \left[ y_m \hat{e}_y + \left( p - \frac{1}{4p}y_m^2 \right) \hat{e}_z \right] \quad (6)$$

La distancia entre  $(y=0, z=p)$  y  $(y_m, z_m)$  es:

$$r_m = |\underline{r}_m| = \left( \frac{1}{4p}y_m^2 + p \right) \quad (7)$$

Y el vector desde  $(y=0, z=p)$  a  $(y_m, z_m)$  es:

$$\underline{r}_m = \left[ y_m \hat{e}_y + \left( p - \frac{1}{4p}y_m^2 \right) \hat{e}_z \right] \quad (8)$$

De la Figura 2(b) y según la Ecuación (8):

$$r_{m,l}^{(1)} = r_m \cos(\alpha_m) - \sqrt{r_l^2 - r_m^2 [1 - \cos^2(\alpha_m)]} = r_m \cos(\alpha_m) - \sqrt{r_l^2 - r_m^2 \sin^2(\alpha_m)} \quad (9-a)$$

$$r_{m,l}^{(2)} = r_m \cos(\alpha_m) + \sqrt{r_l^2 - r_m^2 [1 - \cos^2(\alpha_m)]} = r_m \cos(\alpha_m) + \sqrt{r_l^2 - r_m^2 \sin^2(\alpha_m)} \quad (9-b)$$

En coordenadas polares, la Ecuación (7) toma la forma:

$$r_m = \frac{2p}{(1 - \sin \beta_m)} \quad ; \quad \left( -\frac{\pi}{2} < \beta_m < \frac{\pi}{2} \right) \quad (10)$$

Con:

$$\tan(\beta_m) = \frac{(z_m - p)}{y_m} = \frac{(y_m^2 - 4p^2)}{4p y_m} \quad (11-a)$$

y

$$\sin \beta_m = \frac{\tan \beta_m}{\sqrt{1 + \tan^2 \beta_m}} \quad ; \quad \left( -\frac{\pi}{2} < \beta_m < \frac{\pi}{2} \right) \quad (11-b)$$

Para cada rayo tangente a la lámpara reflejado en el punto  $(x_m, z_m)$  del espejo, se debe cumplir la condición:

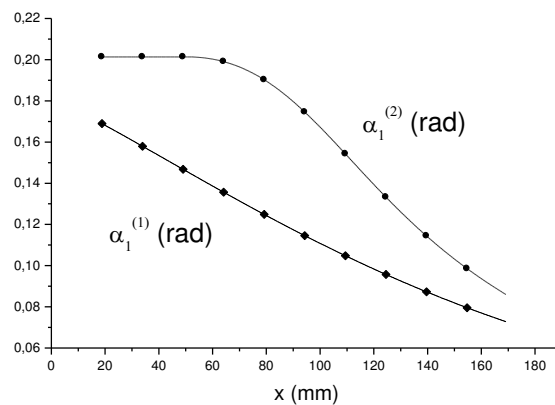
$$r_{m,l}^{(1)} = r_{m,l}^{(2)} \quad (12)$$

Esta condición se satisface para aquellos  $\alpha_m$  tales que:

$$r_l^2 - r_m^2 + r_m^2 \cos^2(\alpha_m^*) = 0 \quad (13)$$

De la Ecuación (13) concluimos que la aberración del sistema emisor de luz debido a una lámpara de radio no igual a cero es en el rango:

$$0 < \cos(\alpha_m) < \cos(\alpha_m^*) = \frac{(r_m^2 - r_l^2)^{1/2}}{r_m} \quad ; \quad 0 < \alpha_m^* < \frac{\pi}{2} \quad (14)$$



**Figura 3:** Límites del ángulo  $\alpha_1$  en función de la distancia  $y$  desde el eje de simetría de la parábola. Si la lámpara fuese una línea ideal sin espesor, entonces  $\alpha_1^{(1)} = \alpha_1^{(2)} = 0$ .



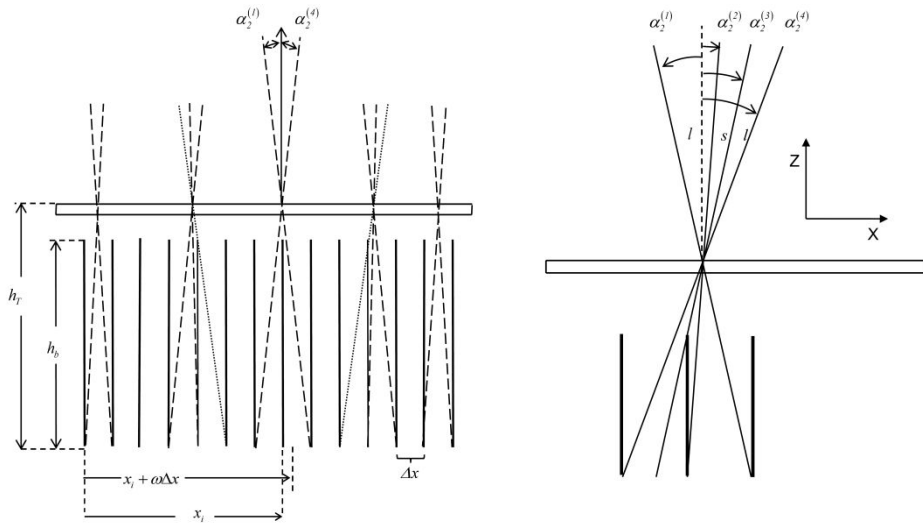
## ANEXO II CAPÍTULO 7: DESVIACIÓN DEBIDA A LA EMISIÓN SUPERFICIAL ISOTRÓPICA

Debido a que la longitud de la lámpara es suficientemente grande en comparación con la separación entre las planchas de metal, es posible asumir una condición de simetría. De esta manera podemos modelar solo una y repetir el diseño tantas veces como rendijas haya.

Cualquier posición entre  $x_i$  y  $x_i + \frac{\Delta x}{2}$  puede ser representada de la siguiente manera:

$$x = x_i + \omega \Delta x \quad ; \quad 0 < \omega < \frac{1}{2} \quad (1)$$

Cuando  $\omega = 0$  la posición  $x = x_i$  es exactamente sobre la plancha negra de metal ubicada en el punto  $x_i$ . Si consideramos despreciable el espesor de la plancha de metal, los rayos que inciden en esta posición están incluidos en el intervalo  $\alpha_2^{(1)} < \alpha_2 < \alpha_2^{(4)}$  (Figura 1(a)).



**Figura 1:** Esquema del sistema de láminas de metal para eliminar los rayos no verticales.

$$\alpha_2^{(1)} = \tan^{-1} \left[ \frac{(1-\omega)\Delta y}{h_T} \right] \quad ; \quad \alpha_2^{(4)} = \tan^{-1} \left[ \frac{(1+\omega)\Delta y}{h_T} \right] \quad (2)$$

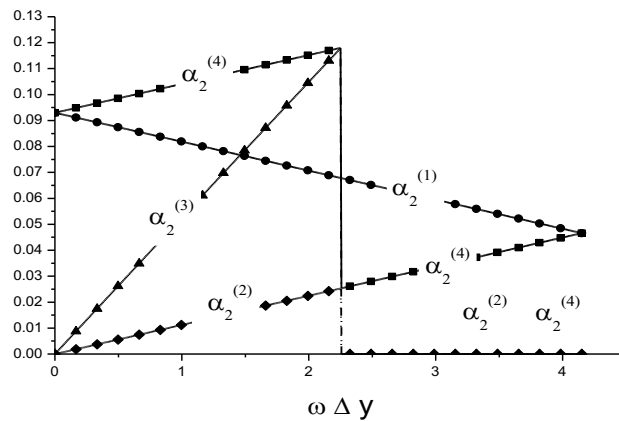
Cuando  $\omega$  está en el intervalo  $0 < \omega < \left( \frac{h_r - h_b}{h_b} \right)$ , la plancha de metal en  $x_i$  puede ser vista desde cualquier posición sobre la base de la Caja de Petri. La plancha proyecta su sombra sobre la posición  $x$ . Los rayos incidentes en  $x = x_i + \omega \Delta x$  están incluidos en los intervalos  $\alpha_2^{(1)} < \alpha_2 < \alpha_2^{(2)}$  y  $\alpha_2^{(3)} < \alpha_2 < \alpha_2^{(4)}$ , mientras que la sombra está en el intervalo  $\alpha_2^{(2)} < \alpha_2 < \alpha_2^{(3)}$ . (Figura 1(b))

$$\left. \begin{aligned} \alpha_2^{(1)} &= \tan^{-1} \left[ \frac{(1-\omega)\Delta x}{h_T} \right] \\ \alpha_2^{(2)} &= \tan^{-1} \left( \frac{\omega\Delta x}{h_T} \right) \\ \alpha_2^{(3)} &= \tan^{-1} \left( \frac{\omega\Delta x}{h_T - h_b} \right) \\ \alpha_2^{(4)} &= \tan^{-1} \left[ \frac{(1+\omega)\Delta x}{h_T} \right] \end{aligned} \right\} ; 0 < \omega < \left( \frac{h_T - h_b}{h_b} \right) \quad (3)$$

Finalmente, cuando  $\omega$  es en el intervalo  $\left( \frac{h_T - h_b}{h_b} \right) < \omega < \frac{1}{2}$ , la plancha de metal en  $x_i$  negro puede ser vista desde cualquier posición sobre la basa de la caja de Petri. Los rayos incidentes en la posición  $x = x_i$  están incluidos en los intervalos  $\alpha_2^{(1)} < \alpha_2 < \alpha_2^{(2)}$  y  $\alpha_2^{(3)} < \alpha_2 < \alpha_2^{(4)}$ , mientras que la sombra está entre  $\alpha_2^{(2)} < \alpha_2 < \alpha_2^{(3)}$ .

$$\left. \begin{aligned} \alpha_2^{(1)} &= \tan^{-1} \left[ \frac{(1-\omega)\Delta x}{h_T} \right] \\ \alpha_2^{(4)} &= \tan^{-1} \left( \frac{\omega\Delta x}{h_T} \right) \end{aligned} \right\} ; \left( \frac{h_T - h_b}{h_b} \right) < \omega < \frac{1}{2} \quad (4)$$

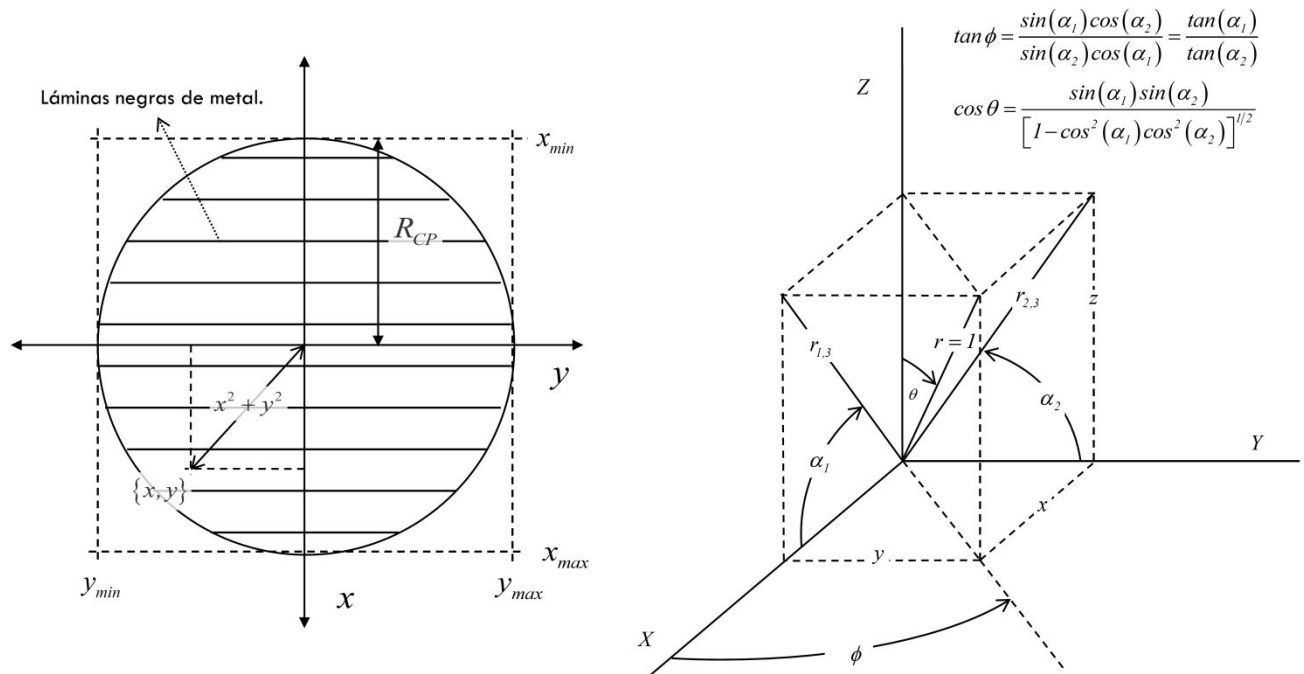
Los límites de  $\alpha_2$  para cada  $x$  en el intervalo  $\left( x_i + \frac{\Delta x}{2} \right) < x < (x_i + \Delta x)$  son simétricos respecto al posición  $x = \left( x_i + \frac{\Delta x}{2} \right)$ . Además, los límites de  $\alpha_2$  para  $x$  que distan un múltiplo entero de  $\Delta x$  son los mismos.



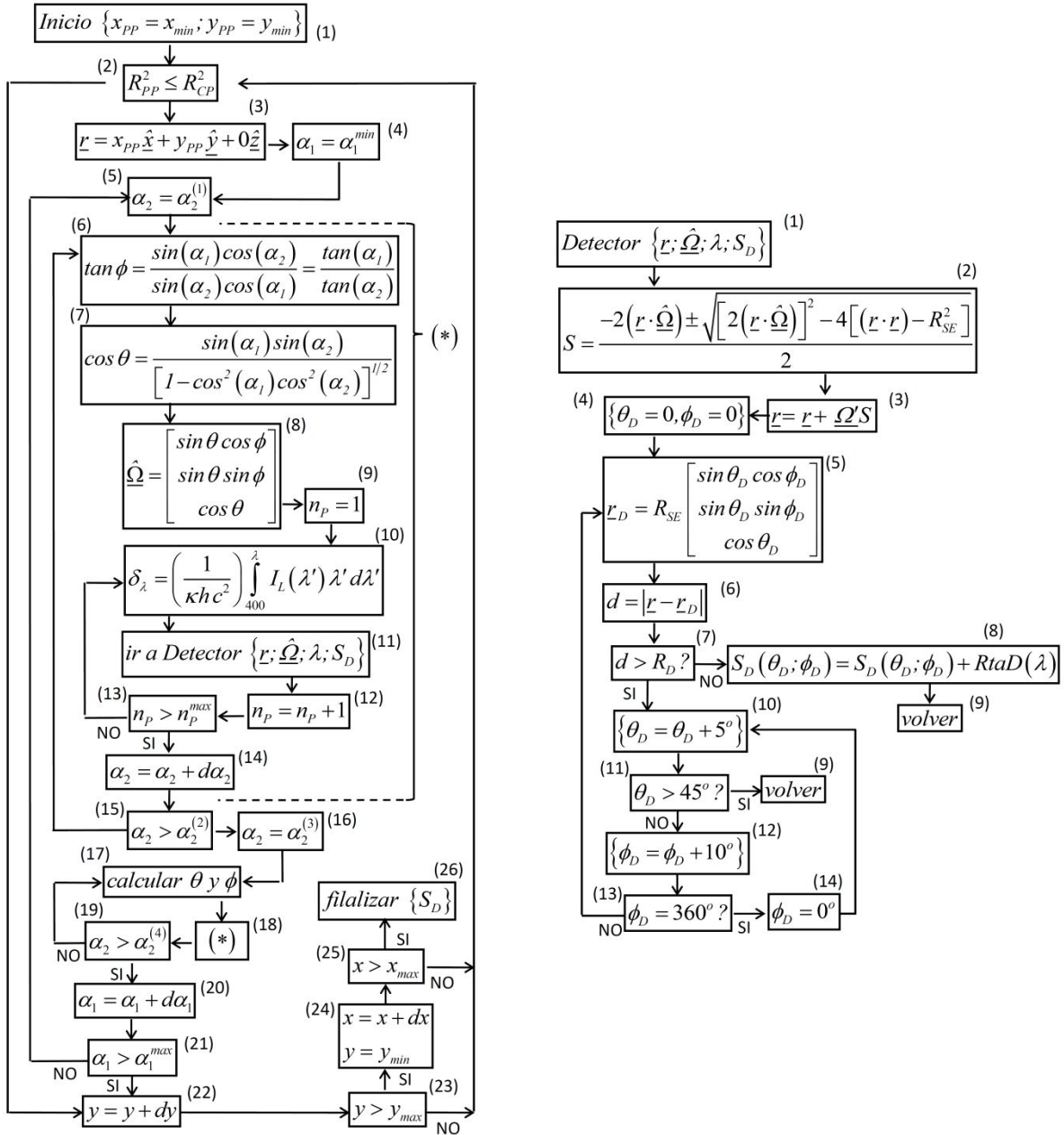
**Figura 2:** Límites de los ángulos  $\alpha_2$  en función de la distancia a la plancha de metal más cercana.

Hasta acá hemos hallado los ángulos de desviación de la fuente de emisión. El valor de los ángulos máximos y mínimos dependen de la posición sobre la placa de Petri;  $\alpha_1^{min}$  y  $\alpha_1^{max}$  varían con  $y$ ; mientras que  $\alpha_2^{(1)}$ ,  $\alpha_2^{(2)}$ ,  $\alpha_2^{(3)}$  y  $\alpha_2^{(4)}$  con la distancia a la lámina más cercana, en la dirección del eje  $x$ .

# ANEXO III CAPÍTULO 7: PSEUDOCÓDIGO DE SIMULACIÓN DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL MEDIANTE EL MÉTODO DE MONTE CARLO.

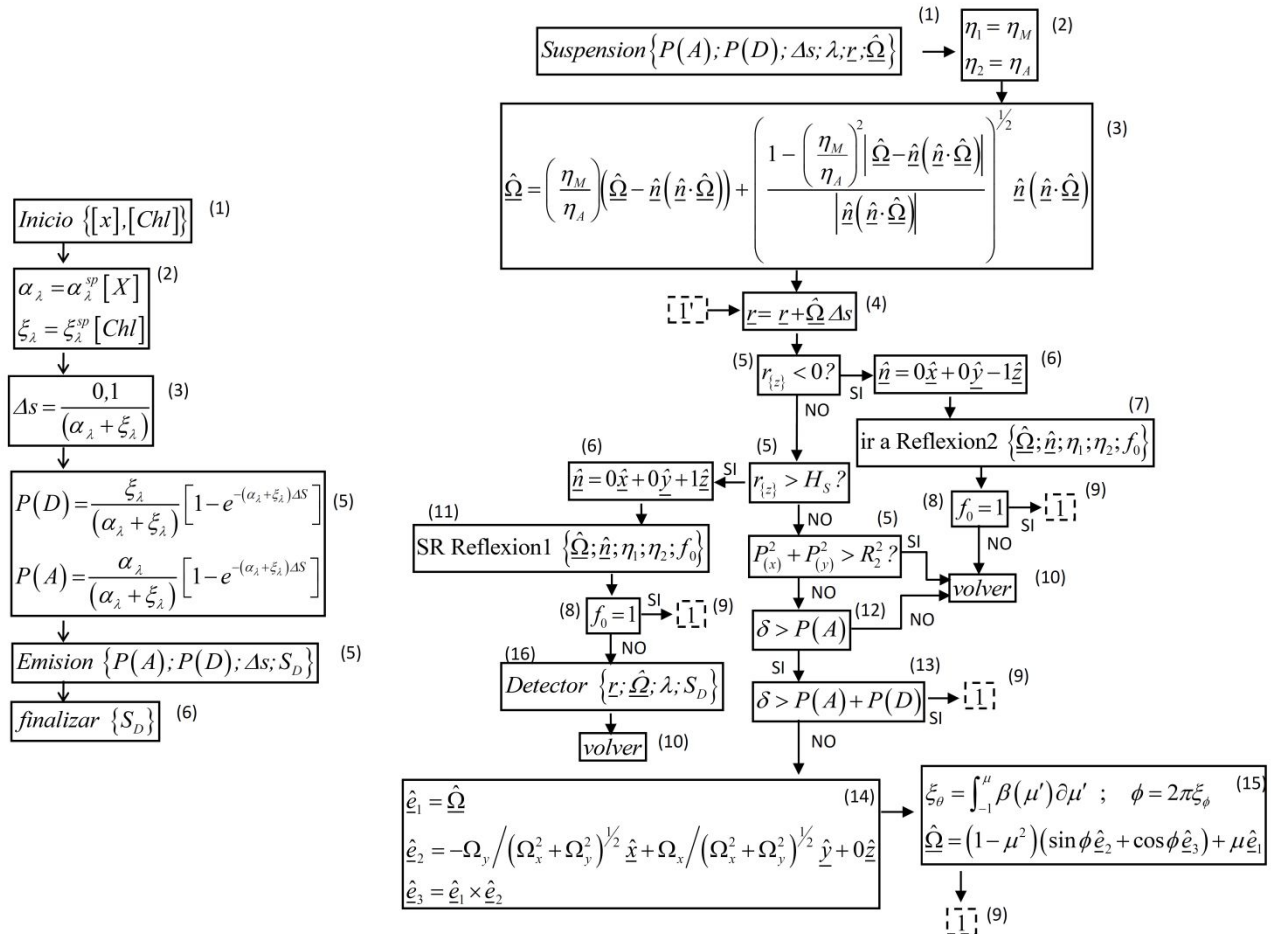


**Figura 1:** (a) Vista superior de la base de a placa de Petri. (b) Determinación de la dirección inicial del fotón en función de los ángulos de emisión del detector.



**Figura 2:** (a) Algoritmo de simulación de la fuente de emisión. (1) Inicio de la subrutina desde la posición  $\{x_{min}; y_{min}\}$ . (2) Verifica si la posición  $\{x, y\}$  actual está dentro del círculo transparente en el fondo de la caja de Petri. (3) Se calcula la posición actual del fotón. (4) Se establece el valor inicial del ángulo  $\alpha_1$ , el cual depende de la posición  $Y$ . (5) Se establece el valor inicial del ángulo  $\alpha_2$ ,  $\alpha_2^1$ , el cual depende de la posición  $X$ . (6) A partir de los ángulos  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  se calculan los ángulos  $\phi$ . (7) A partir de los ángulos  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  se calculan los ángulos  $\theta$ . (8) A partir de los ángulos  $\theta$  y  $\phi$  se calcula la dirección del fotón. (9) Se inicia el conteo  $n_p$  de fotones que se emitirán en cada posición  $\{x, y\}$ . (10) Se le asigna a cada fotón una longitud de onda a través del número aleatorio  $d$ . (11) Con la posición, dirección y longitud de onda del fotón el programa principal llama a la subrutina *Detector* para determinar el valor de  $S_D$ . (12) Se suma un fotón al conteo de fotones  $n_p$ . (13) Se chequea si se emitió un número de fotones  $n_p$  igual al número máximo  $n_p^{max}$  de fotones a emitir. (14) Se suma una cantidad  $da_2$  al ángulo  $\alpha_2$ . (15) Se chequea si el ángulo  $\alpha_2$  alcanzó el valor del ángulo  $\alpha_2^2$ , que depende de la posición sobre el eje  $X$ . (16) Se asigna al ángulo  $\alpha_2$  el valor de  $\alpha_2^3$ , que depende de la posición sobre el eje  $X$ . (17) Se calculan los ángulos  $\theta$  y  $\phi$ , a partir de los ángulos  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  de la misma manera que en los puntos 6 y 7. (18) Se repite el bloque de cálculo marcado con \*. (19) Se chequea si el ángulo  $\alpha_2$  alcanzó el valor del ángulo  $\alpha_2^4$ , que depende de la posición sobre el eje  $X$ . (20) Se suma una cantidad  $da_1$  al ángulo  $\alpha_1$ . (21) Se chequea si el ángulo  $\alpha_1$  alcanzó el valor del ángulo  $\alpha_1^{max}$ , que depende de la posición sobre el eje  $Y$ . (22) Se avanza una distancia  $dy$  sobre el eje  $Y$ . (23) Se chequea si se alcanzó la posición  $y_{max}$  sobre el eje  $Y$ . (24) Se avanza una distancia  $dx$  sobre el eje  $X$  y se restablece el valor de  $y_{min}$ . (25) Se chequea si se alcanzó la posición  $x_{max}$  sobre el eje  $X$ . (26) Se finaliza el programa y se obtiene el valor simulado de  $S_D$ . (b) Subrutina del sistema detector. (1) inicia la subrutina con

una posición, dirección y longitud de onda para generar el valor  $S_D(tita, fi)$ . (2) Calcula la distancia  $S$  que debe avanzar el fotón hasta impactar la semiesfera de radio  $R_{SE}$  centrada sobre el centro de la placa de Petri. (3) Se determina la posición de impacto sobre la semiesfera. (4) Se establecen los ángulos  $tita_D$  y  $fi_D$  que caracterizan la posición inicial del Detector. (5) Se calcula la posición inicial del detector en coordenadas cartesianas. (6) Se calcula la distancia  $d$  entre la posición del detector  $r_D$  y el lugar de impacto del fotón  $r$ . (7) Se compara la distancia  $d$  con el radio  $R_D$  del detector. (8) Se suma a la respuesta  $S_D$  en la posición  $\{tita_D, fi_D\}$  el valor de la señal que el fotón produce sobre el detector según la función *Responsivity* ( $Rta_D$ ). (9) Se retorna al punto desde donde se llamó a la subrutina. (10) Se mueve el detector a la próximo ángulo  $tita$ . (11) Se chequea que  $tita$  no haya superado el valor máximo de  $45^\circ$ . (12) Se mueve el detector a la próximo ángulo  $fi$ . (13) Se chequea que  $fi$  no haya alcanzado el valor máximo de  $360^\circ$ . (14) Se reinicia el valor de  $fi$  en  $0^\circ$ .

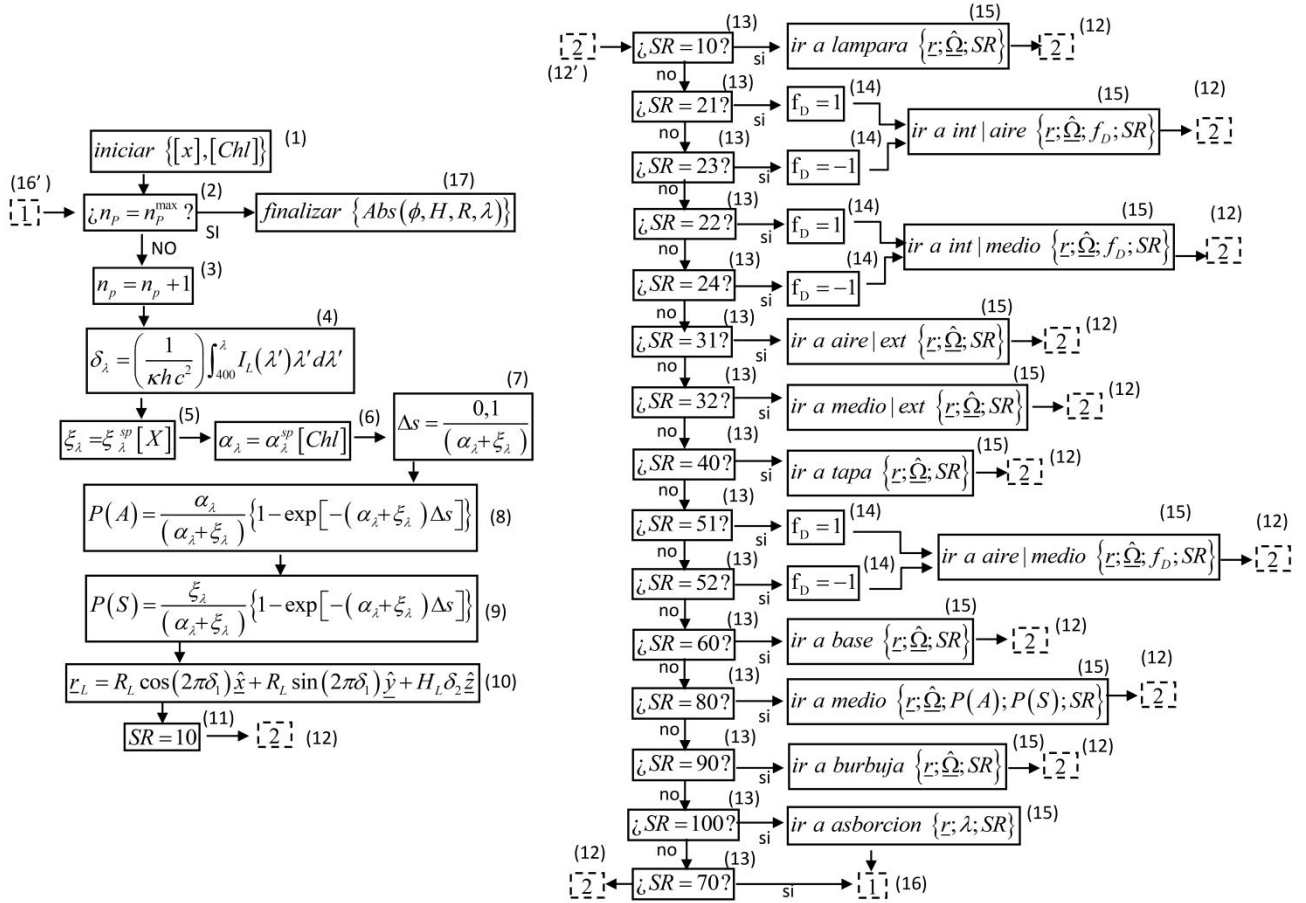


**Figura 3: (a)** Programa de simulación del experimento con la caja de Petri. (1) El programa se inicia con los valores de las concentraciones de biomasa  $[x]$  y clorofila  $[chl]$ . (2) A partir de  $[x]$  y  $[chl]$ , utilizando los coeficientes específicos valor  $e^{sp}$  y  $a^{sp}$ , se determinan los valores de los coeficientes de absorción  $\alpha$  y dispersión  $\epsilon$  para cada longitud de onda. (3) Se determina la distancia que cada fotón avanza según su longitud de onda  $ds$ , como un décimo del Camino libre medio  $S_{LM}$ . (5) Se computan los valores de las probabilidades de absorción  $P(A)$  y dispersión  $P(D)$  para cada longitud de onda. (6) Se llama la subrutina *Emisión*; esta subrutina es el programa del sistema de emisión (figura 11a), salvo que en el cuadro 11 llama a la subrutina *Suspensión* en lugar de llamar a la subrutina *Detector*. **(b)** Subrutina de la suspensión. (1) El paso del fotón a través de la suspensión se modela utilizando los valores de  $P(A)$ ,  $P(D)$  y  $ds$  calculados en el programa principal y los de  $r$  y  $\omega$  calculados en la subrutina *Emisión*. (2) Se fijan los valores de los índices de refracción. (3) Se calcula la dirección de refracción del fotón en el medio. (4) El fotón avanza un paso  $ds$  en la dirección  $r$ . (5) Se cheque si el fotón alcanzó un límite de la suspensión. (6) Se establece el vector normal a la superficie. (7) Se llama a la subrutina que modela la reflexión entre dos fases separadas por una lamina sin espesor [Figura 8, Cap. 4]. (8) Se chequea el valor de  $f_0$  para determinar si hubo reflexión o no. (9) El programa continua desde la posición 1'. (10) Se retorna a la subrutina de *Emisión* modificada, Figura 11a. (11) Se llama a la subrutina que modela la reflexión entre dos fases [Figura 7, Cap. 4]. (12) Se compara el valor de  $P(A)$  con el de un número aleatorio  $d$ . (13) Se compara el valor de  $P(A) + P(B)$  con el del número aleatorio  $d$ . (14) Se establece el sistema de vectores  $\hat{e}_1$ ,  $\hat{e}_2$  y  $\hat{e}_3$  para la generación de la nueva dirección  $\omega'$ . (15) Se genera la nueva dirección de dispersión  $\omega'$ . (16) Se llama a la subrutina *Detector* que modela la señal sobre el detector, descrita en la Figura 11b.

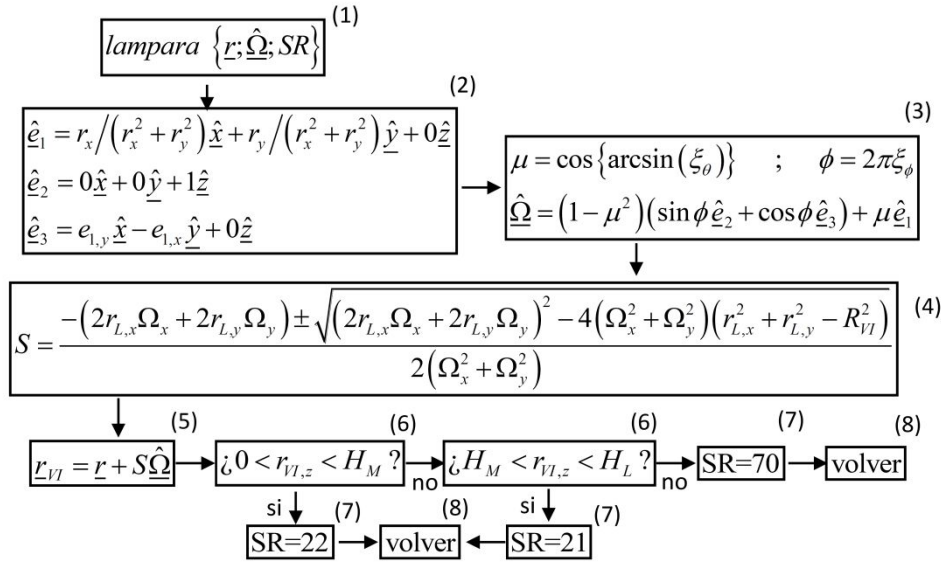




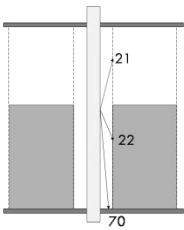
# ANEXO I CPÍTULO 8: PSEUDOCÓDIGO DE SIMULACIÓN DEL CAMPO DE ENERGÍA RADIANTE DENTRO DEL FBR MEDIANTE EL MÉTODO DE MONTE CARLO.



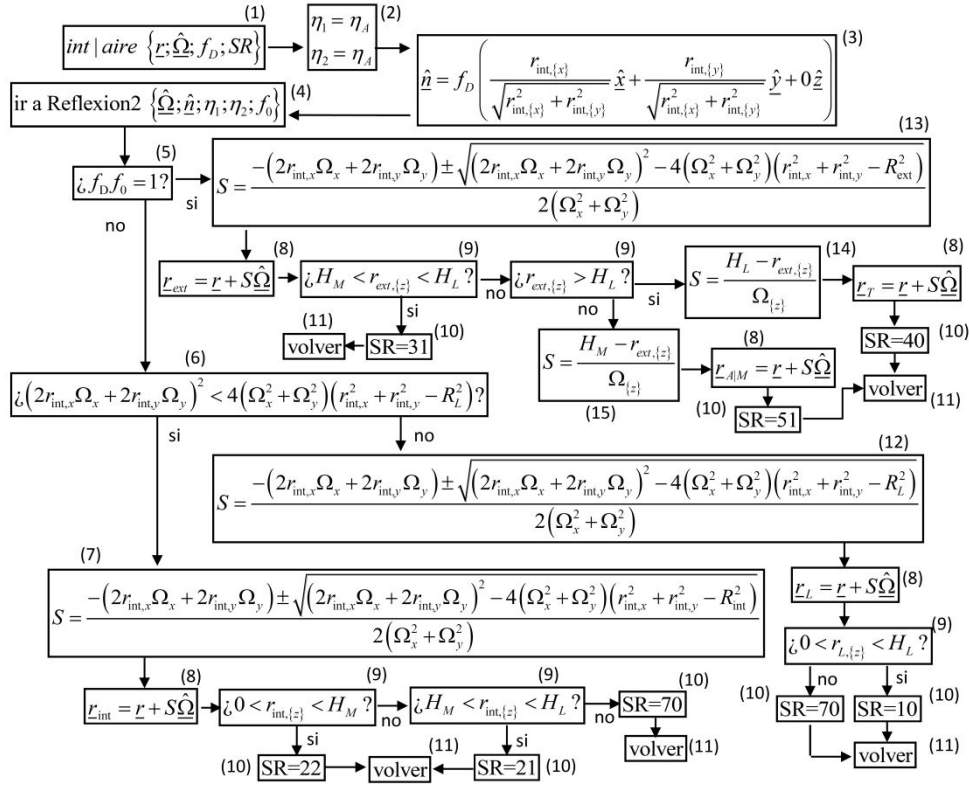
**Figura 1:** Programa principal de simulación del camino de los fotones dentro del reactor para el cultivo de microalgas (1) El programa se inicia fijando los valores de la concentración de biomasa  $[x]$  y clorofila  $[Chl]$ . (2) Se cheque si ya fueron emitidos un número  $n_p$  de fotones igual al número  $n_p^{max}$  de fotones a emitir. (3) Si no se alcanzó el valor de  $n_p^{max}$  se suma una unidad al contador  $n_p$ . (4) Se escoge una longitud de onda para el fotón a través de la función de distribución de emisión de energía radiante  $I(\lambda)$  en el espectro electromagnético. (5) Se calcula el coeficiente de dispersión, de acuerdo al coeficiente específico de dispersión  $\xi_{\lambda}^{sp}$  y la concentración de biomasa  $[x]$ . (6) Se calcula el coeficiente de absorción  $\alpha_{\lambda}^{sp}$ , de acuerdo al coeficiente específico de absorción y la concentración de clorofila  $[Chl]$ . (7) Se calcula la longitud  $\Delta s$  de cada paso un decimo del camino libre medio. (8) Se calcula la probabilidad  $P(A)$  de absorción. (9) Se calcula la probabilidad  $P(S)$  de dispersión. (10) Se determina una posición inicial  $r_L$  al azar sobre la superficie de la lámpara para comenzar la simulación del camino del fotón a través de la generación de dos números aleatorios  $\delta_1$  y  $\delta_2$ . (11) Se determina la posición  $SR$  del fotón para continuar la simulación desde la subrutina correspondiente. (12) El algoritmo de cálculo continua desde la posición 12'. (13) Se chequea la posición  $SR$  sobre la cual se encuentra el fotón para continuar la simulación desde la subrutina correspondiente. (14) Se fija el valor de  $f_D$ , este factor solo puede tomar los valores  $1$  y  $-1$  y se utiliza para establecer el sentido en que se produce el encuentro del fotón con alguna de las superficies. (15) El programa principal utiliza la subrutina correspondiente, las cuales se describirán a continuación, para continuar con la simulación del camino recorrido por el fotón en su paso por el reactor (16) Al alcanzar esta posición significa que el fotón fue absorbido, alcanzó una superficie negra opaca o salió del reactor hacia el exterior y el algoritmo continua desde la posición 16'. (17) El programa finaliza arrojando como resultado la velocidad volumétrica local de absorción de fotones, dependiente de la longitud de onda, en coordenadas cilíndricas de acuerdo el ángulo acimutal  $\phi$ , la altura  $H$  respecto a la base del reactor y la distancia radial  $R$  al eje de la lámpara.



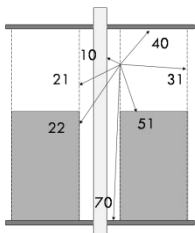
**Figura 2:** Subrutina para la simulación de los posible destinos de los fotones desde la lámpara fluorescente. (1) Se inicia la subrutina *lámpara*, desde el programa principal el fotón llega con una posición  $\underline{r}_L$  sobre la superficie de la lámpara y una longitud de onda dirección de propagación  $\lambda$ . (2) Se establece un sistema de coordenadas a través de los vectores  $\hat{e}_1$ ,  $\hat{e}_2$  y  $\hat{e}_3$  según la posición  $\underline{r}_L$  del fotón para asignarle a este una dirección aleatoria  $\underline{\Omega}$ . (3) Mediante la utilización de números aleatorios  $\delta_\mu$  y  $\delta_\phi$  se asigna al fotón una dirección aleatoria  $\underline{\Omega}$ . (4) Se calcula la distancia  $S$  que recorre el fotón desde la posición actual  $\underline{r}_L$  hasta la próxima posición  $\underline{r}_{VI}$ , sobre la superficie del vidrio interno, cuyo radio es  $R_{VI}$ . Existen dos soluciones posibles para la ecuación dentro del recuadro 4, el valor correcto es la solución positiva, la solución negativa corresponde al la distancia que recorrería en la dirección  $-\underline{\Omega}$ . (5) Se continua la simulación del camino del fotón a través del reactor avanzado la distancia  $S$  en la dirección  $\underline{\Omega}$  hasta la nueva posición sobre el vidrio interno. (6) Se cheque si la altura sobre el eje  $z$  en que el fotón alcanza la posición sobre el vidrio interno se encuentra por encima de la tapa del reactor ( $r_z > H_L$ ) o por debajo de la base del mismo ( $r_z < 0$ ) o si se encuentra por encima ( $H_M < r_z < H_L$ ) a por debajo de la altura del medio de cultivo ( $0 < r_z < H_M$ ). (7) Se establece la nueva ubicación  $SR$  del fotón para continuar con la simulación de su camino. (8) La subrutina *lámpara* retorna al programa principal.



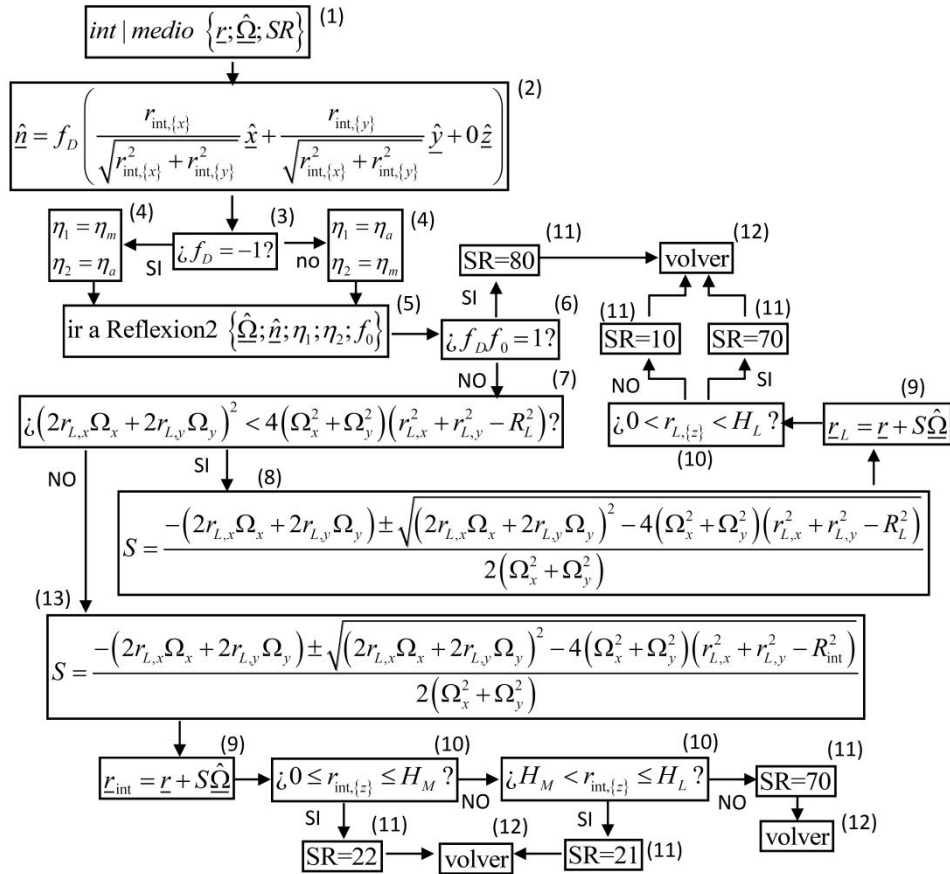
**Figura 2':** Desde la lámpara hay tres posibles destinos del fotón emitido: (21) vidrio interno sobre el nivel de medio de cultivo. (22) Vidrio interno por debajo del nivel de medio de cultivo. (70) los soportes negros opacos superior o inferior para la lámpara fluorescente.



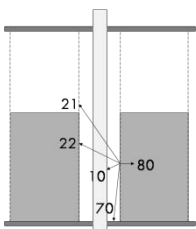
**Figura 3:** Subrutina para la simulación de los posibles destinos de los fotones luego de alcanzar el vidrio interno, a una altura ubicada sobre el nivel de medio de cultivo. (1) Se inicia la subrutina. (2) Se fijan los valores de los índices de refracción  $\eta_i$  de los medios ubicado en ambos lados del vidrio, en este es caso  $\eta_1 = \eta_1 = \eta_{aire}$ . (3) Se determina el determina el vector  $\underline{n}$  normal a la superficie del vidrio en el lugar de impacto del fotón considerando el factor  $f_D$  que fija el sentido del vector  $\underline{n}$  (hacia el interior o exterior del vidrio interno). (4) Se llama a la subrutina *Reflexion2* para determinar si el fotón será reflejado o no sobre la superficie del vidrio. (5) A partir del producto  $f_0 f_D$ , se determinar si en qué sentido continua el fotón (hacia el interior o exterior del vidrio interno). (6) Si el producto  $f_0 f_D$  es negativo, la dirección del fotón ubicado sobre la superficie del vidrio interno es hacia el interior del mismo y, por ello, se chequea si en su recorrido el fotón impactará sobre la superficie de la lámpara. (7) En caso de pasar a través de la lámpara, se calcula la distancia  $S$  que el fotón avanza hasta impactar sobre la superficie de la lámpara. La ecuación en el recuadro 7 tiene dos soluciones, la menor es la correcta. (8) Se mueve el fotón una distancia  $S$  en la dirección  $\underline{Q}$  desde la posición actual hasta la nueva posición. (9) Se compara la altura sobre el eje  $z$  en que el fotón alcanza la nueva posición con la altura de la tapa del reactor ( $z = H_L$ ), la altura de la superficie del medio de cultivo ( $z = H_M$ ) o la base del reactor ( $z = 0$ ) según corresponda. (10) Se determina cuál es la nueva ubicación  $SR$  del fotón para continuar con la simulación de su camino a través del reactor. (11) La subrutina retorna al programa principal para continuar con la simulación del recorrido del fotón. (12) En este caso, el fotón tienen una dirección con sentido hacia el interior del vidrio interno que en su recorrido no pasa a través de la lámpara y se calcula la distancia  $S$  que el fotón debe avanzar hasta impactar sobre la superficie del vidrio interno. En el recuadro 12 hay dos posibles soluciones para  $S$ , la solución diferente de cero es la correcta. (13) Si el producto  $f_0 f_D$  es positivo, el fotón tienen una dirección con sentido hacia el exterior del vidrio interno y se calcula la distancia  $S$  que el fotón avanza hasta impactar sobre la superficie del vidrio externo. Hay dos soluciones para  $S$ , la correcta es la que posee valor positivo. (14) En este caso el fotón impactara sobre la superficie de la tapa del reactor antes de alcanzar al vidrio externo y por ello se calcula la distancia  $S$  que el fotón avanza hasta impactar sobre la tapa del reactor. (15) En este caso el fotón impactará sobre la interfase aire-medio de cultivo antes de alcanzar al vidrio externo y por ello se calcula la distancia  $S$  que el fotón recorre hasta impactar sobre la superficie del medio de cultivo.



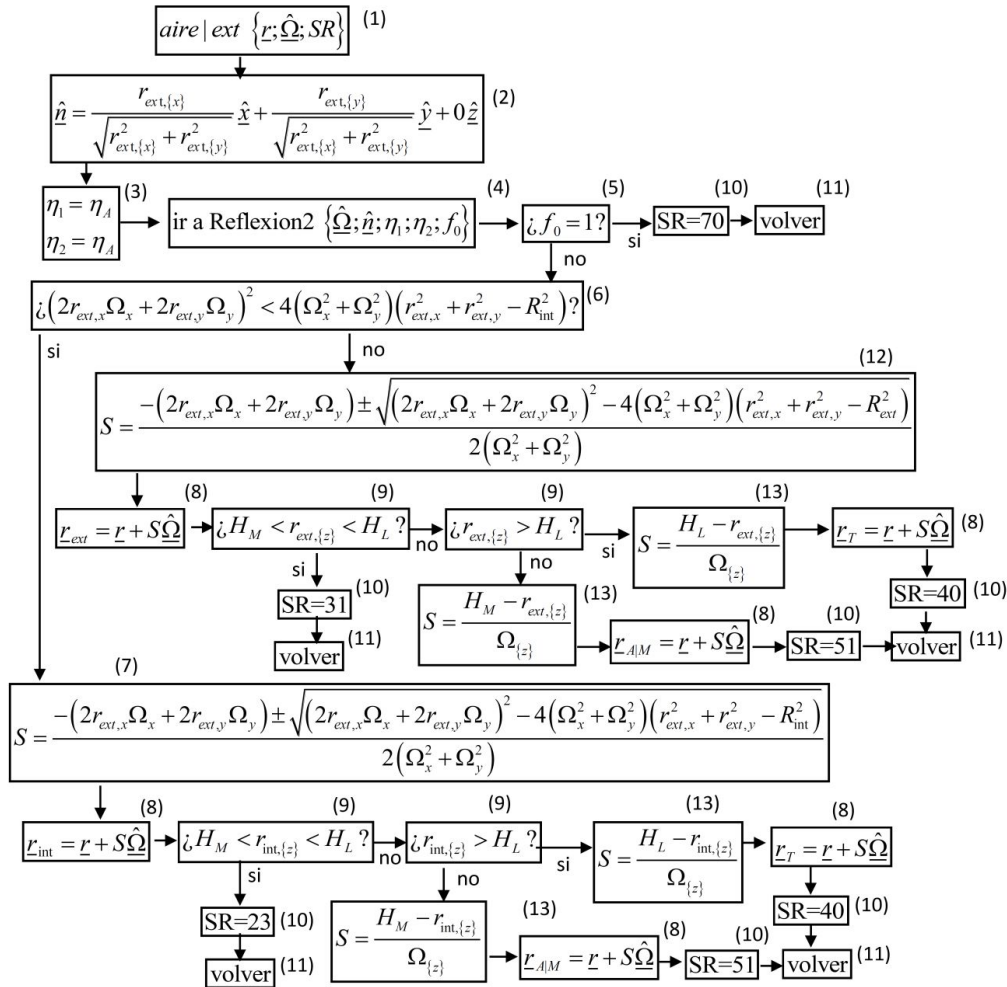
**Figura 8':** Posibles destinos del fotón luego de llegar al vidrio interno. En caso de que el producto  $f_D f_0$  sea negativo, los posibles destinos son: (21) sobre vidrio interno por encima del nivel de medio de cultivo; (22) sobre el vidrio interno por debajo del nivel de medio de cultivo; (10) sobre la superficie de la lámpara fluorescente o (70) sobre una de los soportes negros opacos superior o inferior de la lámpara. Si el producto  $f_D f_0$  es positivo, los posibles destinos son (40) la tapa del reactor, (51) la interface aire-medio de cultivo o (31) el vidrio externo del reactor.



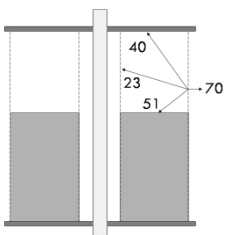
**Figura 9:** Subrutina para la simulación de los posibles destinos de los fotones luego de alcanzar el vidrio interno, a una altura ubicada por debajo del nivel de medio de cultivo. (1) Se inicia la subrutina. (2) Se calcula el vector normal  $\underline{n}$  a la superficie del vidrio interno en la posición  $\underline{r}$ , el sentido del vector  $\underline{n}$  (hacia el interior o el exterior del vidrio interno) se determina a través del factor  $f_D$ . (3) Se cheque al valor de  $f_D$ , para determinar si el fotón llega a la superficie del vidrio interno desde el interior del mismo o desde el medio de cultivo. (4) Se fijan los valores  $\eta_i$  de los índices de refracción correspondientes. (5) Se llama a la subrutina *Reflexion2* para seleccionar si el fotón será reflejado sobre la superficie del vidrio o no. (6) Se verifica el valor de producto  $f_0 f_D$ , para determinar si el fotón seguirá su camino en sentido hacia el interior del vidrio interno o hacia el exterior del mismo. (7) Si el producto  $f_0 f_D$  es negativo, la dirección del fotón es hacia el interior del vidrio interno y se verifica si en su camino pasa por la superficie de la lámpara (8) Si en su recorrido el fotón pasa por la lámpara, se calcula la distancia  $S$  que el fotón debe avanzar hasta impactar sobre la superficie de la lámpara. En el recuadro 9, hay dos posibles soluciones para  $S$ , la solución correcta es la menor. (9) Se calcula la nueva posición  $\underline{r}$  del fotón avanzando una distancia  $S$  en la dirección  $\underline{\Omega}$  hacia la nueva posición del fotón. (10) Se verifica la altura en el eje  $z$  de la nueva posición  $\underline{r}$  y se compara con la altura de a base del reactor ( $z = 0$ ), la altura del medio de cultivo ( $z = H_M$ ) y/o la altura de la tapa del reactor ( $z = H_L$ ). (11) Se determina la nueva ubicación  $SR$  del fotón para seleccionar la subrutina correspondiente. (12) La subrutina retorna al programa principal. (13) Si en su recorrido el fotón no pasa por la lámpara, se calcula la distancia  $S$  que el fotón debe avanzar hasta impactar sobre la superficie del vidrio interno. En el recuadro 13, hay dos posibles soluciones para  $S$ , la solución correcta es la diferente de cero.



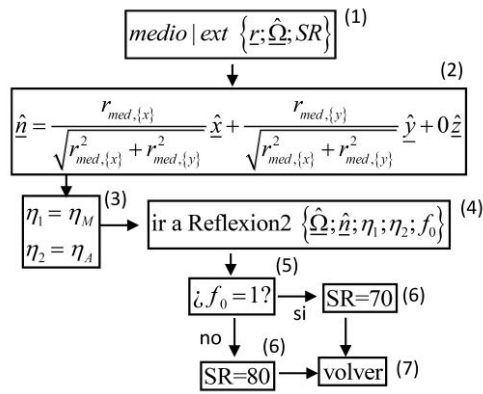
**Figura 9':** Posibles destinos del fotón luego de llegar al vidrio interno. Para valores negativos del producto  $f_0 f_D$  los posibles destinos son: (21) el vidrio interno sobre el nivel de medio de cultivo. (22) el vidrio interno por debajo del nivel de medio de cultivo, (70) uno de los soportes negro opacos superior o inferior de la lámpara o (10) la superficie de la lámpara. Cuando el producto  $f_0 f_D$  es positivo el fotón pasa hacia (80) el medio de cultivo.



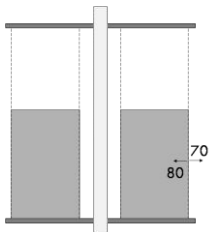
**Figura 10:** Subrutina para la simulación de los posibles destinos de los fotones luego de alcanzar la superficie del vidrio externo a una altura ubicada por encima del nivel de medio de cultivo. (1) Se inicia la subrutina. (2) Se calcula en vector  $\underline{n}$  normal a la superficie del vidrio externo con el mismo sentido que posee el fotón. (3) Se fijan los valores de los índices de refracción  $\eta_i$  de los medios ubicado en ambos lados del vidrio, en este es caso  $\eta_1 = \eta_2 = \eta_{\text{aire}}$ . (4) Se llama a la subrutina *Reflexión2* para determinar si el fotón será reflejado sobre la superficie del vidrio o no. (5) Se verifica el valor de  $f_0$  para determinar si el fotón fue reflejado o no sobre el vidrio externo. (6) Si el factor  $f_0$  es negativo, la dirección del fotón es hacia el interior del vidrio externo y se verifica si en su camino el fotón pasa por la superficie del vidrio interno. (7) Si en su recorrido el fotón pasa por el vidrio interno, se calcula la distancia  $S$  que el fotón debe avanzar hasta impactar sobre la superficie del vidrio interno. En el recuadro 7, hay dos posibles soluciones para  $S$ , la solución correcta es la menor. (8) Se calcula la nueva posición  $\underline{r}$  del fotón avanzando una distancia  $S$  en la dirección  $\underline{\hat{\Omega}}$  hacia la nueva posición del fotón. (9) Se verifica la altura en el eje  $z$  de la nueva posición  $\underline{r}$  y se compara con la altura de a base del reactor ( $z = 0$ ), la altura del medio de cultivo ( $z = H_M$ ) y la altura de la tapa del reactor ( $z = H_L$ ). (10) Se determina la nueva ubicación  $SR$  del fotón para seleccionar la subrutina correspondiente. (11) La subrutina retorna al programa principal. (12) Si en su recorrido el fotón no pasa por el vidrio interno, se calcula la distancia  $S$  que el fotón debe avanzar hasta impactar sobre la superficie del vidrio externo. En el recuadro 12, hay dos posibles soluciones para  $S$ , la solución correcta es aquella diferente de cero. (13) En este caso el fotón impactará sobre la interfase aire-medio de cultivo o sobre la tapa del reactor antes de alcanzar al vidrio externo o interno y por ello se calcula la distancia  $S$  que el fotón recorre hasta impactar sobre la superficie del medio de cultivo.



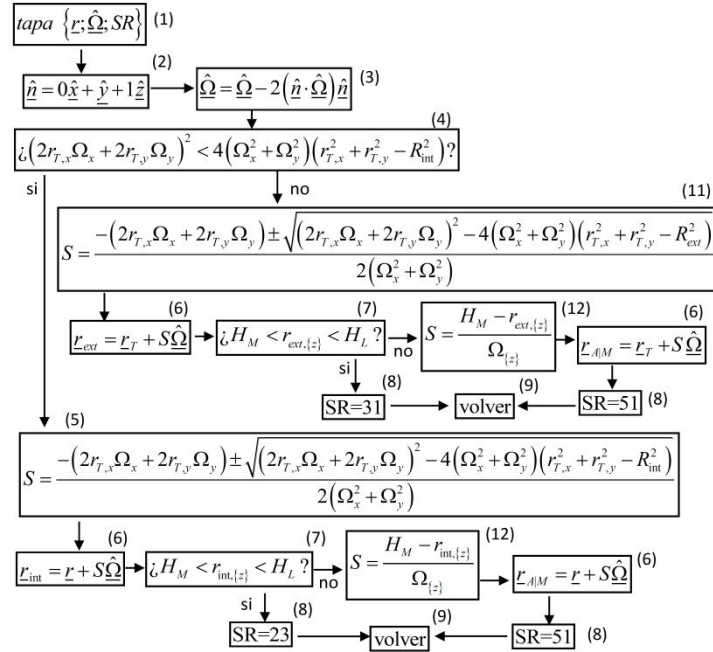
**Figura 10':** Posibles destinos del fotón luego de llegar al vidrio externo en una posición por encima de la altura del medio de cultivo. Para valores negativos del factor  $f_0$  los posibles destinos son: (23) el vidrio interno sobre el nivel de medio de cultivo, (40) la tapa del reactor o (51) la interface Aire-medio de cultivo. Si  $f_0$  es positivo, el fotón (70) sale al exterior del reactor y se pierde.



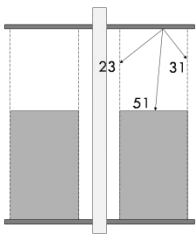
**Figura 11:** Subrutina para la simulación de los posible destinos de los fotones luego de alcanzar la superficie del vidrio interno desde el medio de cultivo. (1) Se inicia la subrutina. (2) Se calcula en vector  $\underline{n}$  normal a la superficie del vidrio externo con el mismo sentido que posee el fotón.. (3) Se fijan los valores de los índices de refracción  $\eta_i$  de los medios ubicado en ambos lados del vidrio, en este es caso  $\eta_1 = \eta_{agua}$  y  $\eta_2 = \eta_{aire}$ . (4) Se llama a la subrutina *Reflexión2* para determinar si el fotón será reflejado sobre la superficie del vidrio o no. (5) Se verifica el valor de  $f_0$  para determinar si el fotón fue reflejado o no sobre el vidrio externo. (6) Se determina la nueva ubicación  $SR$  del fotón de acuerdo al valor de factor  $f_0$  para seleccionar la subrutina correspondiente. (7) La subrutina retorna al programa principal.



**Figura 11':** Posibles destinos del fotón luego de llegar al vidrio externo desde el medio de cultivo. Si valor del factor  $f_0$  es negativo el fotón vuelve a (80) el medio de cultivo; si  $f_0$  es positivo el fotón se pierde en (70) el exterior del reactor.

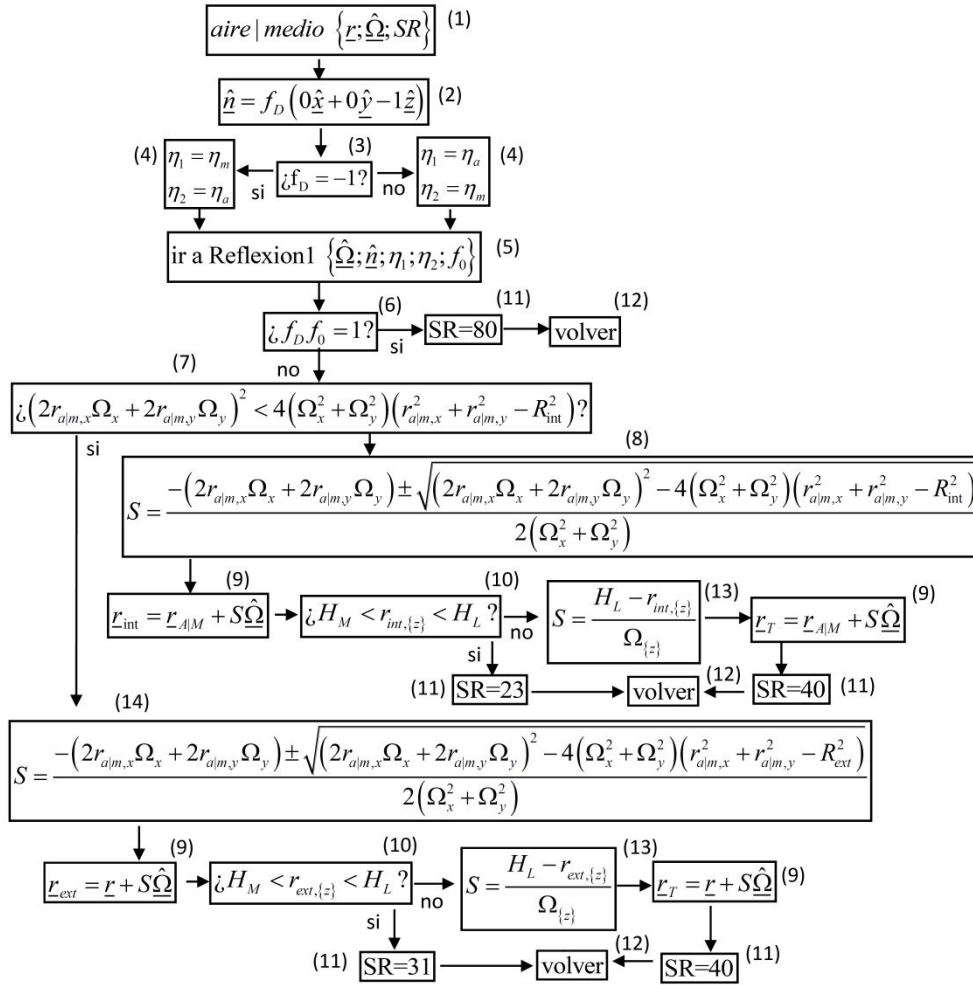


**Figura 12:** Subrutina para la simulación de los posible destinos de los fotones luego de alcanzar la tapa del reactor. (1) Se inicia la subrutina. (2) Se calcula en vector  $\underline{n}$  normal a la superficie de la tapa del reactor, con el mismo sentido que el fotón. (3) Se calcula la dirección  $\underline{\Omega}$  que tendrá el fotón luego de la reflexión. (4) Se determina si el fotón reflejado en su camino pasa por el vidrio interno. (5) Si la dirección del fotón pasa a través del vidrio interno se calcula la distancia  $S$  que el fotón recorre hasta llegar a la superficie del vidrio interno. En el recuadro 5 hay dos soluciones para  $S$ , la solución correcta es la menor. (6) Se avanza hasta la nueva posición. (7) Se verifica la altura en el eje  $z$  de la nueva posición  $r$  y se compara con la altura de a base del reactor ( $z = 0$ ), la altura del medio de cultivo ( $z = H_M$ ) y la altura de la tapa del reactor ( $z = H_L$ ). (8) Se determina la nueva ubicación  $SR$  del fotón para seleccionar la subrutina correspondiente. (9) La subrutina retorna al programa principal. (10) Si en su recorrido el fotón no pasa por el vidrio interno, se calcula la distancia  $S$  que el fotón debe avanzar hasta impactar sobre la superficie del vidrio externo. En el recuadro 13, hay dos posibles soluciones para  $S$ , la solución correcta es aquella diferente de cero. (11) (5) Si la dirección del fotón no pasa a través del vidrio interno se calcula la distancia  $S$  que el fotón recorre hasta llegar a la superficie del vidrio externo. En el recuadro 11 hay dos soluciones para  $S$ , la solución correcta es la diferente de cero. (12) En este caso el fotón impactará sobre la interfase aire-medio de cultivo antes de alcanzar al vidrio externo o interno y por ello se calcula la distancia  $S$  que el fotón recorre hasta impactar sobre la superficie del medio de cultivo.

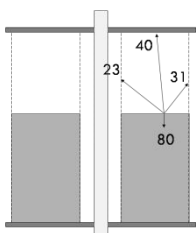


**Figura 12':** Posibles destinos del fotón luego de llegar a la tapa del reactor. La tapa es de acero espejado y por la tanto se considera que todos los fotones son reflejados. Los destinos posibles son: (23) el vidrio interno sobre el nivel de medio de cultivo, (31) el vidrio interno por encima del nivel de medio de cultivo o (51) la interface aire-medio de cultivo.

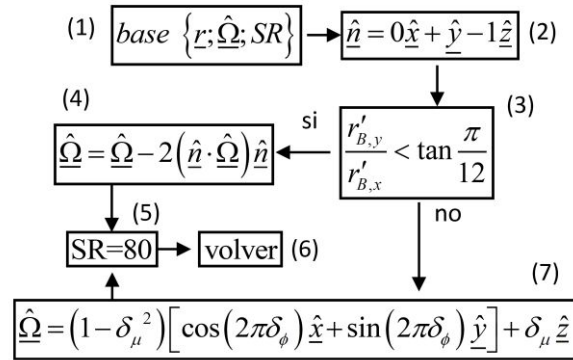




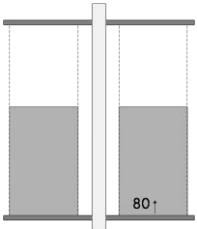
**Figura 13:** Subrutina para la simulación de los posibles destinos de los fotones luego de alcanzar la interfase aire-medio de cultivo. (1) Se inicia la subrutina. (2) Se calcula el vector  $\underline{n}$  normal a la superficie de la interfase, con el mismo sentido que la dirección del fotón. (3) Se chequea el valor de  $f_D$ , para determinar si el fotón llega a la interfase desde arriba o desde debajo de la superficie del medio de cultivo. (4) Se fijan los valores  $\eta_i$  de los índices de refracción correspondientes. (5) Se llama a la subrutina *Reflexion1* para seleccionar si el fotón será reflejado sobre la superficie del vidrio o no. (6) Se verifica el valor de producto  $f_0 f_D$ , para determinar cuáles son los posibles destinos del fotón. (7) Si el producto  $f_0 f_D$  es negativo, la dirección del fotón es hacia arriba de la interfase aire-medio de cultivo y se verifica si en su camino el fotón pasa a través del vidrio interno. (8) Si en su recorrido el fotón pasa por el vidrio interno, se calcula la distancia  $S$  que el fotón debe avanzar hasta impactar sobre la superficie del vidrio. En el recuadro 8, hay dos posibles soluciones para  $S$ , la solución correcta es la menor. (9) Se calcula la nueva posición  $\underline{r}$  del fotón avanzando una distancia  $S$  en la dirección  $\underline{\Omega}$  hacia la nueva posición del fotón. (10) Se verifica la altura en el eje  $z$  de la nueva posición  $\underline{r}$  y se compara con la altura de la base del reactor ( $z = 0$ ), la altura del medio de cultivo ( $z = H_M$ ) y la altura de la tapa del reactor ( $z = H_L$ ). (11) Se determina la nueva ubicación  $SR$  del fotón para seleccionar la subrutina correspondiente. (12) La subrutina retorna al programa principal. (13) En este caso el fotón impactará sobre la tapa de reactor antes de alcanzar al vidrio externo o interno y por ello se calcula la distancia  $S$  que el fotón recorre hasta impactar sobre la superficie del medio de cultivo. (14) Si en su recorrido el fotón no pasa por el vidrio interno, se calcula la distancia  $S$  que el fotón debe avanzar hasta impactar sobre la superficie del vidrio interno. En el recuadro 13, hay dos posibles soluciones para  $S$ , la solución correcta es la mayor que cero.



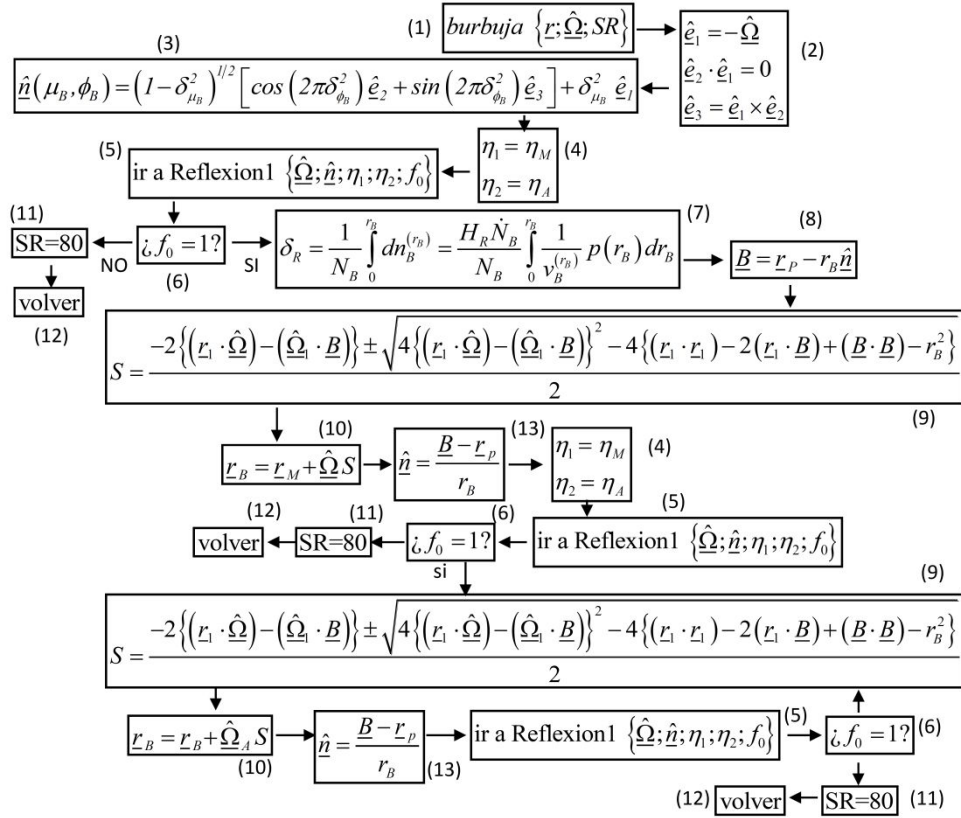
**Figura 13':** Posibles destinos del fotón luego de llegar a la interfase aire-medio. (23) vidrio interno sobre el nivel de medio de cultivo. (31) vidrio interno por debajo del nivel de medio de cultivo. (40) Tapa del reactor. (80) Medio de cultivo.



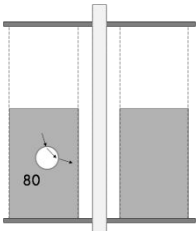
**Figura 14:** Subrutina para la simulación de los posible destinos de los fotones luego de alcanzar la base del reactor. (1) Se inicia la subrutina. (2) Se calcula en vector  $\underline{n}$  normal a la superficie de la base del reactor, con el mismo sentido que la dirección del fotón. (3) Se verifica si la posición de impacto corresponde a una posición sobre la base espejada o sobre los difusores de aire de vidrio sinterizado. (4) Si la posición de impacto es sobre la base espejada se calcula la dirección  $\underline{Q}$  de reflexión. (5) Se determina la nueva ubicación  $SR$  del fotón para seleccionar la subrutina correspondiente. (6) La subrutina retorna al programa principal. (7) Si la posición corresponde a una posición sobre los difusores de aire de vidrio sinterizado se escoge una dirección de reflexión  $\underline{Q}$  al azar mediante la utilización de números aleatorios  $\delta_\mu$  y  $\delta_\phi$ .



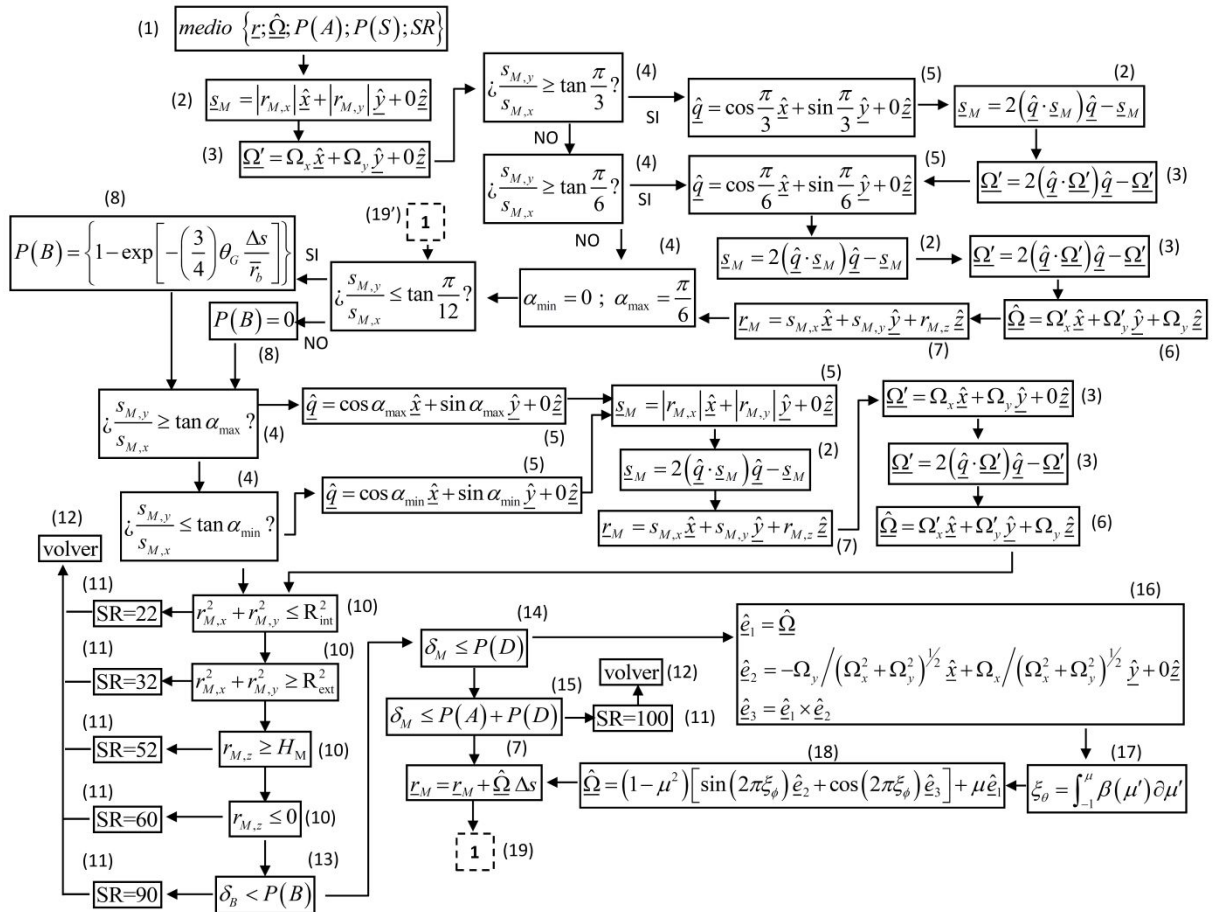
**Figura 14':** El único destino posible al llegar a la base del reactor es retornar (80) al medio por reflexión especular sobre el base de acero inoxidable espejado o difusa sobre el difusor de aire construido en vidrio sinterizado.



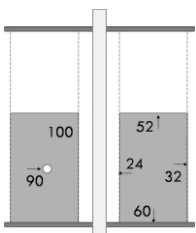
**Figura 15:** Subrutina para la simulación de los posible destinos de los fotones luego de alcanzar la base del reactor. (1) Se inicia la subrutina. (2) Se establece un sistema de coordenadas a través de los vectores  $\hat{e}_1$ ;  $\hat{e}_2$  y  $\hat{e}_3$ . (3) Se calcula en vector  $\hat{n}$  normal a la superficie de la burbuja en la posición de encuentro fotón-burbuja, a través de dos números aleatorios  $\delta_\mu$  y  $\delta_\phi$ . (4) Se fijan los valores  $\eta_i$  de los índices de refracción correspondientes. (5) Se llama a la subrutina *Reflexion1* para seleccionar si el fotón será reflejado sobre la superficie del vidrio o no. (6) Se verifica el valor del factor  $f_0$ , para determinar si el fotón fue reflejado o no. (7) Se escoge al azar una radio  $r_B$  para la burbuja a partir de la un número aleatorio  $\delta_B$  y de la función de distribución de burbujas residentes en el medio de cultivo con radio  $r_B$ . (8) Se calcula la posición  $\underline{B}$  del centro de la burbuja a partir de la posición de encuentro fotón-burbuja, el radio  $r_B$  de la burbuja y el vector  $\hat{n}$  normal a la superficie de la burbuja en el lugar de impacto. (9) Si el fotón pasa al interior de la burbuja, se calcula la distancia  $S$  que el fotón debe avanzar hasta impactar sobre la superficie de la burbuja desde el interior de la misma. En el recuadro 9, hay dos posibles soluciones para  $S$ , la solución correcta es la diferente de cero. (10) Se avanza el fotón una distancia  $S$  en la dirección  $\hat{\Omega}$  desde la posición  $\underline{r}$  inicial hasta la posición  $\underline{r}$  final. (13) Se calcula el vector normal a la superficie de impacto considerando la posición de sobre la superficie de la burbuja  $\underline{r}_p$ , la posición de la burbuja  $\underline{B}$  y el radio de la burbuja  $r_B$ . (11) Se determina la nueva ubicación  $SR$  del fotón para seleccionar la subrutina correspondiente. (12) La subrutina retorna al programa principal.



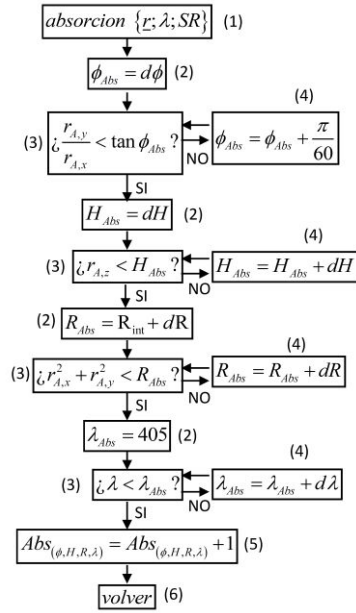
**Figura 15':** El único destino final posible al llegar a una burbuja (80) es retornar a medio, ya sea por simple o múltiple reflexión.



**Figura 16:** Subrutina para la simulación de los posible caminos a través del medio de cultivo. (1) Se inicia la subrutina. (2) Se calcula el vector  $\underline{s}_M$  para incorporar la condición de simetría.  $\underline{s}_M$  es la proyección del vector posición  $\underline{r}_P$  sobre el plano  $\{XY\}$ . (3) Se calcula el vector  $\underline{Q}'$  para incorporar la condición de simetría.  $\underline{Q}'$  es la proyección del vector dirección  $\underline{Q}$  sobre el plano  $\{XY\}$ . (4) se compara la posición del fotón respecto a los ángulos que determinan los límites de cada región y las condiciones de simetría. (5) Se establece el vector  $\underline{q}$  correspondiente al plano de simetría (6) Se re-calcula el vector dirección  $\underline{Q}$  considerando la condición de simetría. (7) Se calcula la nueva posición  $\underline{r}_P$  del fotón. (8) Se fija la probabilidad  $P(B)$  dependiente de la fracción de volumen  $\theta_G$  de que en su camino  $\Delta S$  el fotón encuentre una burbuja. (9) Se fijan los valores  $\alpha_{min}$  y  $\alpha_{max}$  para determinar los límites de la región en la cual se encuentra el fotón. (10) Se verifica si el fotón en su recorrido alcanzó alguno de los límites de la región: un tabique, el vidrio externo, el vidrio interno, la interfase líquido-gas o la base del reactor. (11) Se determina la nueva ubicación  $SR$  del fotón para seleccionar la subrutina correspondiente. (12) La subrutina retorna al programa principal. (13) Comparando la probabilidad  $P(B)$  de que ocurra el evento de que un fotón encuentre en su camino una burbuja un número  $\delta_B$  generado al azar se decide si en la posición  $\underline{r}_P$  actual del fotón, se producirá el encuentro de un fotón con una burbuja. (14) Comparando la probabilidad  $P(S)$  de que ocurra el evento de dispersión con un número  $\delta_M$  generado al azar se decide si en la posición  $\underline{r}_P$  actual del fotón, se producirá la dispersión del fotón. (15) Comparando la probabilidad  $P(A)$  de que ocurra el evento de absorción del fotón en el medio de cultivo con un número  $\delta_M$  generado al azar se decide si en la posición  $\underline{r}_P$  actual del fotón, se producirá la absorción del fotón. (16) Producido el evento de dispersión se establece un sistema de coordenadas a través de los vectores  $\hat{e}_1$ ;  $\hat{e}_2$  y  $\hat{e}_3$  para generar una nueva dirección para el fotón. (17) S escoge la desviación respecto al a dirección original a través de un número aleatorio  $\delta_\mu$  y la función de fase  $B(\underline{Q}, \underline{Q}')$ . (18) Se establece la nueva dirección  $\underline{Q}$  del fotón considerando el sistema de coordenadas  $\hat{e}_1$ ;  $\hat{e}_2$  y  $\hat{e}_3$  y un nuevo número  $\delta_\phi$  generado al azar.



**Figura 16':** Posibles destinos del fotón durante su camino a través del medio de cultivo: (24) el vidrio interno por debajo del nivel del medio de cultivo, (60) la base del reactor, (32) el vidrio externo por debajo del nivel del medio de cultivo, (52) la interface medio de cultivo- aire, (90) encontrarse con una burbuja o (100) ser absorbido por las microalgas en suspensión.



**Figura 17:** Subrutina para registrar la posición en la cual se absorben los fotones. (1) Se inicia la subrutina. (2) Se establece el valor inicial de una de la variable a través de la cuales depende  $Abs(\varphi, H, R, \lambda)$ . (3) Se compara el valor de la variable  $\varphi_p$ ,  $H_p$ ,  $R_p$  o  $\lambda_p$  en la cual se produjo la absorción del fotón en el rector con la variable  $\varphi_A$ ,  $H_A$ ,  $R_A$  o  $\lambda_A$  utilizada para la construcción de  $Abs(\varphi, H, R, \lambda)$ . (4) Si el valor de la variable  $\varphi_p$ ,  $H_p$ ,  $R_p$  o  $\lambda_p$  que caracteriza el lugar en el cual se produjo la absorción del fotón en el rector es mayor al valor de la variable de registro  $\varphi_p$ ,  $H_p$ ,  $R_p$  o  $\lambda_p$  se adiciona a la variable de registro correspondiente la cantidad  $d\varphi$ ,  $dH$ ,  $dR$  o  $d\lambda$ . (5) Se adiciona un fotón a la cuenta  $Abs(\varphi, H, R, \lambda)$  de fotones absorbidos en la posición caracterizada a través de las variables  $\varphi_A$ ,  $H_A$ ,  $R_A$  y  $\lambda_A$ . (6) La subrutina retorna al programa principal.

## CPÍTULO 8, ANEXO II: PROBABILIDAD DE OCURRENCIA DEL EVENTO ENCUENTRO FOTÓN CON BURBUJA.

---

Por sustitución, la expresión para el numero de fotones que luego de recorrer una distancia libre  $s$  se encuentran con una burbuja, es:

$$n(s) = \frac{n}{\bar{s}_b} \exp\left(-\frac{s}{\bar{s}_b}\right) \quad (1)$$

El número de fotones con recorridos libres incluidos en el intervalo  $(0,s)$  (), puede calcularse como:

$$n(s) = \frac{n}{\bar{s}_b} \int_0^s ds' \exp\left(-\frac{s'}{\bar{s}_b}\right) = n \left[ 1 - \exp\left(-\frac{s}{\bar{s}_b}\right) \right] \quad (2)$$

En términos de probabilidades

$$P(s) = \frac{n(s)}{n} = \left[ 1 - \exp\left(-\frac{s}{\bar{s}_b}\right) \right] \quad (3)$$

Considerando el medio heterogéneo por encima de los difusores, el cual consiste en burbujas de aire distribuidas uniformemente en el volumen de medio contenido en la correspondiente sección anular. Considerando además un fotón en una determinada posición en ese sector. Como el fotón se mueve en una determinada dirección con la velocidad de la luz, la cual es infinitamente mayor a la velocidad con que se mueven las burbujas, es posible asumir que las burbujas permanecen estáticas mientras el fotón recorre cualquier distancia en el medio.

Es posible pensar en un número enorme de situaciones macroscópicamente similares, con el fotón en la misma posición en la suspensión, rodeado por el mismo número de burbujas esféricas, con la misma distribución de radios, pero con sus centros distribuidos aleatoriamente alrededor de la posición del fotón. Como un todo, este conjunto de réplicas representa lo que sucede en cada uno de los sectores anulares heterogéneos durante un período de tiempo en el que los cambios en el reactor son detectables.

En cada una de estas réplicas el fotón recorrerá una distancia diferente antes de interceptar una burbuja. El camino libre medio  $\bar{s}_b$  que recorren los fotones, es el promedio de las distancias de los caminos libres recorridos por cada fotón, considerando el conjunto de arreglos de burbujas.

Luego de recorrer una distancia  $s$  en una misma dirección, en cada uno de los arreglos de burbujas, el fotón se encontrara con todas las burbujas que posean sus centros incluidos dentro del volumen

cilíndrico  $\pi \bar{r}_b^2 s$ , donde  $\bar{r}_b$  es el radio medio de las burbujas en el medio heterogéneo, el cual es el mismo para cada uno de los arreglos de burbujas

Si  $n_b$  representa el número de burbujas por unidad de volumen, el número de burbujas en el volumen cilíndrico es  $\pi \bar{r}_b^2 s n_b$ . El camino libre medio,  $\bar{s}_b$ , puede establecerse como la distancia recorrida por un fotón entre dos sucesivos encuentros.

$$\bar{s}_b = \frac{s}{\pi \bar{r}_b^2 s n_b} = \frac{1}{\pi \bar{r}_b^2 n_b} = \left(\frac{4}{3}\right) \frac{\bar{r}_b}{\left(\frac{4}{3} \pi \bar{r}_b^3 n_b\right)} = \left(\frac{4}{3}\right) \frac{\bar{r}_b}{\theta_G} \quad (4)$$

En la Ecuación 4:

$$\theta_G = \frac{2V_G}{(V_L + V_G)} \quad (5)$$

donde  $\theta_G$  es la fracción de volumen de gas en el medio no homogéneo por encima de los difusores;

$V_G$  es el volumen de gas total residente en el reactor y  $(V_L + V_G)$  es el volumen total del reactor

$$P(s) = \frac{n(s)}{n} = \left[1 - \exp\left(-\frac{s}{\bar{s}_b}\right)\right] = \left\{1 - \exp\left[-\left(\frac{3}{4}\right) \theta_G \frac{s}{\bar{r}_b}\right]\right\} \quad (6)$$