

UNIVERSIDAD DE ALMERIA

ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA

“Diseño y puesta a punto de un
fotobiorreactor tubular con iluminación LED
para cultivo de microalgas”

Curso 2017/2018

Alumno/a:

Elena Guerrero Cazorla

Director/es:

Francisco García Camacho
Lorenzo López Rosales



Diseño y puesta a punto de un fotobiorreactor tubular con iluminación LED para cultivo de microalgas



TRABAJO FIN DE GRADO
Grado en Ingeniería Química Industrial
Universidad de Almería

Autor:
Elena Guerrero Cazorla

Directores:
Francisco García Camacho
Lorenzo López Rosales

Resumen

Este trabajo consistió en el diseño, instalación y puesta a punto de un fotobiorreactor (FBR) tubular a escala piloto provisto de iluminación artificial mediante diodos de emisión de luz (LED). El FBR se construyó con un tipo de vidrio borosilicatado recomendado específicamente por el fabricante para su uso en fotobiorreactores (FBR). El principal objetivo perseguido con la construcción de este dispositivo era posibilitar estudios futuros sobre la formación del *biofouling* en FBR y establecer metodologías para mitigar su efecto negativo sobre el funcionamiento en este tipo de FBR.

El FBR, con una capacidad máxima de unos 70 L, está provisto de control de pH, temperatura e irradiancia, así como medida del oxígeno disuelto (OD) y caudal de circulación del cultivo. Su principal novedad radica en la implementación de LED multicolor en este tipo de FBR. Irradiancia, pH, OD y temperatura fueron registrados y/o controlados mediante un sistema SCADA. El perfil de irradiancia emulaba el ciclo solar. En el estudio realizado, se describen las diferentes fases por las que transitó la construcción del FBR, incluyendo aspectos relacionados con las modificaciones introducidas respecto del diseño original; se estudió la fluidodinámica del PBR a diferentes velocidades de circulación del fluido y se determinaron coeficientes volumétricos globales de transferencia de materia a distintos caudales de aireación en el desgasificador. Para testear el funcionamiento del FBR, se realizó un simple ensayo de cultivo discontinuo con la microalga *Nanochloropsis gaditana*. Los resultados cinéticos observados fueron coherentes con los reportados por otros autores para la misma especie en condiciones externas. Finalmente se realizó una valoración fotográfica de la formación de biofouling en las diferentes partes del FBR.

Abstract

The project consists of the design, set up and testing of a tubular photobioreactor (PBR) sized as pilot scale and provided with artificial lighting by light emitting diodes (LEDs). The PBR was made of glass with borosilicates, which was specially recommended by the manufacturer as appropriate for PBRs. The aim for the construction of the PBR was to make possible in the near future several studies involving biofouling development in PBRs and establish methodologies to alleviate its negative impact in this that concern the functioning of this kind of PBRs.

This PBR, holding 70 L, is provided with pH controller as well as temperature and irradiance in addition to the dissolved oxygen (OD) measurement and flowrate for the crop. What is new in this PBR is the multicolour LED lighting in this kind of PBRs. Irradiance, pH, OD and temperature were registered and controlled by a SCADA. The irradiance profile emulated the solar cycle. In the study performed the different construction phases are described, adding the modifications made during the set-up process; the fluidodynamic was studied by setting different flowrates and determining the mass transfer global volumetric coefficients for the different air flow rate in the degasification column. To test the PBR functioning a simple trial was performed cultivating *Nannochloropsis gaditana* in bath mode. The kinetics results were according to these reported by other authors for the same species and the same external conditions. Finally, a qualitative valuation for the biofouling development was made.

Agradecimientos

En primer lugar, agradecer a mis tutores Francisco García Camacho y Lorenzo López Rosales por darme la oportunidad de realizar este proyecto tan ilusionante, por su inestimable ayuda, por su infinita sabiduría, por su infinita paciencia, por su infinita entrega.

A mis padres y hermano por todo lo que siguen haciendo por mí, por darme la oportunidad de realizarme en todos los aspectos. A ti, Dani, por todo, siempre. A ellas, a las que siempre están, las que nunca fallan y siempre apoyan. A los compañeros de clase que han hecho el camino sea mucho más llevadero.

A todos vosotros gracias, infinitas gracias.

A ellas por empezar el camino:

*Hipatia de Alejandría,
Sophie Germain,
Margarita Salas,
Barbara McClintock,
Jane Goodall,
Emmy Noether,
Marie Curie,
Lise Meitner,
Rosalind Franklin,
Jocelyn Bell...*

Índice

Capítulo 1. Interés y objetivos.....	15
1.1 Introducción.....	15
1.1.1. Sistema de cultivo: FBR tubular.....	16
1.1.2. Parámetros para el cultivo de microalgas.....	18
1.1.3. Biofouling [8].....	20
1.2 Objetivos.....	21
1.2.1. Plan experimental y cronograma asociado.....	21
Capítulo 2. Revisión Bibliográfica.....	23
2.1 Biofouling.....	23
2.1.1. Importancia del biofouling e impacto actual.....	23
2.1.2. Factores que influyen en la aparición del biofouling.....	24
2.2 Iluminación.....	25
2.3 Temperatura.....	27
2.4 pH.....	28
2.5 Caudal.....	28
Capítulo 3. Materiales y métodos.....	31
3.1 Fase de diseño.....	31
3.1.1. Dimensionamiento de equipamiento auxiliar.....	32
3.1.2. Diseño del sistema de control.....	36
3.2 Fase de ensamblado.....	36
3.2.1. Montaje del conjunto.....	37
3.2.2. Caracterización fluidodinámica.....	37
3.2.3. Cálculo del coeficiente global de transferencia de materia (K_{La}).....	38
3.2.4. Calibración dispositivos.....	38
3.3 Fase de cultivo modo batch.....	39
3.3.1. Microalga.....	39
3.3.2. Modo de operación en el FBR.....	40
3.3.3. Seguimiento del crecimiento.....	40
3.3.4. Constatación fotográfica del biofouling.....	43
3.3.5. Cinética de Crecimiento.....	43
Capítulo 4. Resultados y discusión.....	45
4.1 Fase de diseño.....	45
4.1.1. Dimensionamiento de equipamiento auxiliar.....	46

4.1.2.	Diseño del sistema de control	48
4.2	Fase de ensamblado	50
4.2.1.	Montaje del conjunto	50
4.2.2.	Caracterización fluidodinámica	52
4.2.3.	Cálculo del coeficiente global de transferencia de materia (K_{La})	53
4.3	Fase de cultivo modo batch	55
4.3.1.	Constatación del correcto funcionamiento de las variables controladas.....	55
4.3.2.	Constatación fotográfica del biofouling	57
4.3.3.	Seguimiento del crecimiento celular	59
Capítulo 5.	Conclusiones y recomendaciones	61
Capítulo 6.	Bibliografía	63

Índice de imágenes

Figura 1. Principales áreas de utilización de las microalgas.....	16
Figura 2. FBR tubular de metacrilato en la planta piloto de la.....	18
Figura 3. Tasa de fotosíntesis (F) frente a intensidad luminosa (I) a una Tª dada.	19
Figura 4. Respuesta del crecimiento celular frente a temperatura.	19
Figura 5. Presencia de biofouling en diferentes superficies en medios acuosos.....	20
Figura 6. Secuencia esquemática de las etapas de formación de biofouling [8].	20
Figura 7. Diagrama de Gantt basado en el plan experimental del proyecto.	21
Figura 8. Espectro de la tira LED empleada [26].	35
Figura 9. Cuadro de control del FBR.	36
Figura 10. Couplings y codos, previo a la fase de ensamblado del FBR.	37
Figura 11. Diseño final del FBR tubular realizado en el software AutoCAD.	46
Figura 12. Características de la bomba extraídas del catálogo del fabricante, KRIPSOL	47
Figura 13. Recorte del catálogo de SCM.	47
Figura 14. Diseño del intercambiador de calor calculado	48
Figura 15. Captura de pantalla del software SCADA desarrollado.....	48
Figura 16. Acceso del software a la configuración de los parámetros de control.	49
Figura 17. Código de programación empleado para el control on/off de inyección de pH. 49	
Figura 18. Pilares más la base de la estructura ensamblados.....	50
Figura 19. Despiece abrazadera isofónica	50
Figura 20. Estructura columna desgasificación.	51
Figura 21. Fotografía tomada al FBR en funcionamiento.	51
Figura 22. Experimentos para el cálculo del tiempo medio de residencia.	52
Figura 23. Recta de calibrado de la velocidad y la frecuencia.....	53
Figura 24. Método dinámico para la obtención del kLa.....	54
Figura 25. Resultados del kLa obtenido en los ensayos con y sin cascada.	55
Figura 26. Cultivo batch en FBR tubular.	56
Figura 27. Datos registrados cada hora por el software SCADA..	57
Figura 28. Estudio fotográfico del estado del biofouling.	59

Capítulo 1

Interés y objetivos

1.1 Introducción

Una creciente población cada vez más longeva y los deseos de mejora constante de la calidad de vida suponen un reto energético, alimenticio y de infraestructuras químicas, lo que se ve reflejado en el aumento del consumo de combustibles fósiles y en la conversión de terrenos para uso agrícola. Este hecho unido al cambio climático y los retos en cuanto a contaminación, fuentes de energía y alimentación, ponen en tela de juicio la capacidad real de conseguir un desarrollo sostenible. Como alternativa, aunque aún en desarrollo, la producción de biomasa a partir del cultivo de microalgas está siendo de gran interés para el sector alimentario y nutricional, farmacéutico, químico y energético [1].

Las microalgas constituyen un amplio grupo de microorganismos fotosintéticos empleados para la producción de un gran número de productos de alto valor añadido (ingredientes alimenticios, piensos en alimentación animal y acuicultura, antioxidantes, sustancias bioactivas, etc.) [2]–[4] y procesos (tratamiento de aguas residuales, captura de CO₂, etc.). La viabilidad económica de un bioproceso basado en el uso de microalgas fotosintéticas se encuentra fuertemente influenciado por el sistema de cultivo o fotobiorreactor (*FBR*). Éstas se encuentran resumidas en la **Figura 1**.

A pesar de que el cultivo a gran escala de microalgas convencionales en *FBR* son un hito ampliamente logrado [5], [6], no está exento de parámetros a optimizar para hacer de éstos un verdadero recurso con enorme impacto industrial. Entre los problemas vinculados al mismo, el que presenta un mayor reto en la actualidad es el ensuciamiento de las paredes de los *FBR*, lo que se conoce con el término anglosajón *biofouling* (i.e. adhesión de material biológico en una superficie).

El principal efecto negativo del *biofouling* radica en la disminución de la luz disponible en el interior del *FBR* por la formación de una costra en las paredes de éste. La reducción de la irradiancia disponible acarrea una disminución en la productividad de biomasa en cultivos fotosintéticos. Además, tiene como problemas asociados la degradación de la pigmentación del cultivo, contaminación del cultivo por microorganismos invasivos, así como incrustaciones en el *FBR*. Para eliminar las incrustaciones en *FBR* es necesario la parada del ciclo productivo del cultivo originando acortamientos de vida de producción y de vida útil del material del *FBR* [7], que finalmente conducen a una notable disminución de la rentabilidad industrial del proceso.

Con el propósito de combatir este fenómeno, las propiedades superficiales de los materiales y revestimientos de construcción de los FBR son clave en el desarrollo del biofouling [8]. Dado todo lo anterior se justifica la construcción de un FBR tubular orientado a estudiar el biofouling y metodologías para minimizar su impacto. El material seleccionado es vidrio borosilicatado, ampliamente utilizado en todo el mundo tanto para propósitos de investigación como de explotación. Por otro lado, la iluminación artificial de FBR es necesaria no solo para recrear condiciones de cultivo externo sino también para obtener consistencia en la producción de ciertos productos de alto valor añadido. En este sentido, el FBR incorpora un sistema de iluminación con LED, que es particularmente atractivo ya que consume menos energía, generan menos calor, se adaptan fácilmente a cualquier geometría y permiten modular el espectro de luz, en comparación con las fuentes de luz convencionales. Además se añade un sistema de iluminación artificial mediante luces LED (Diodos Emisores de Luz) que tiene como ventajas más destacables un menor consumo y menor generación de calor [9].

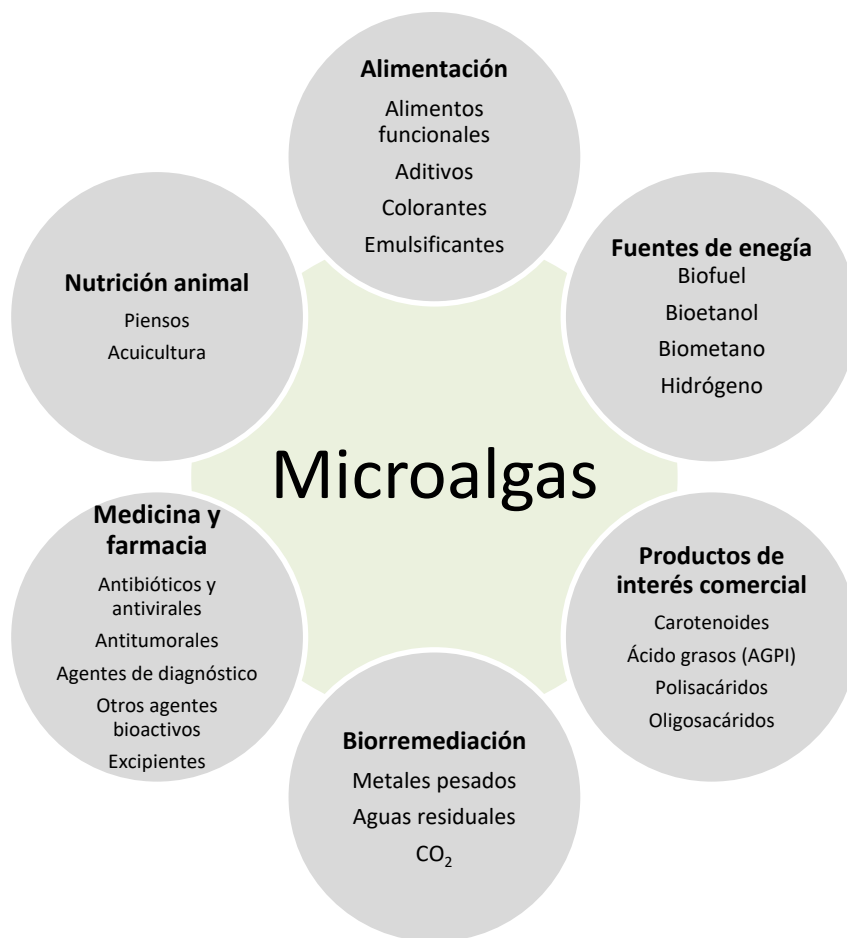


Figura 1. Principales áreas de utilización de las microalgas.

1.1.1. Sistema de cultivo: FBR tubular

Las propias características de las microalgas permiten que puedan cultivarse de diversas formas para obtener grandes cantidades de biomasa. Existen dos diseños básicos de fotobiorreactores para la producción de microorganismos fotoautotróficos, los sistemas abiertos y los cerrados. En los abiertos el cultivo está directamente expuesto a la atmósfera y a la luz solar.

Por el contrario, en los FBR cerrados el cultivo solo tiene contacto con la atmósfera a través del sistema de aireación; pueden ser externos o estar iluminados artificialmente. Las ventajas y desventajas de este tipo de FBR se presentan resumidas en la **Tabla 1**.

En este caso el sistema en cuestión es un fotobiorreactor tubular cerrado como el mostrado en la **Figura 2**. Los sistemas de cultivo cerrados se consideran más efectivos debido a su menor riesgo de contaminación y la mayor productividad de biomasa. La mayoría están contruidos con plástico transparente o vidrio y los cultivos son recirculados con una bomba o bien mediante inyección de aire, que permite el intercambio entre el CO₂ y O₂ entre el líquido del medio y el gas de aireación. Este tipo de reactores poseen diferentes orientaciones: forma horizontal/serpentin, vertical, horizontal, cónico o inclinado [10]. La aireación y la agitación suele realizarse mediante inyección de aire o mediante bombas de aire. El diámetro del tubo suele estar por debajo de 0,1 m [11].

Ciertos investigadores han probado que un aumento en el diámetro del tubo provoca una reducción de la relación Superficie/Volumen con una gran influencia en el cultivo [10]. La longitud del tubo influye principalmente en el tiempo medio de residencia del alga dentro del fotobiorreactor.

Tabla 1. Comparativa de fotobiorreactores abiertos y cerrados [12]

	Sistemas Abiertos	Sistemas Cerrados
Riesgo de contaminación	Alto	Bajo
Pérdida de CO ₂	Alta	Baja
Pérdidas por evaporación	Alta	Baja
Uso eficaz de la luz	Malo	Excelente
Relación Área/Volumen	Baja	Alta
Área Requerida	Alta	Baja
Control del proceso	Difícil	Fácil
Productividad de biomasa	Baja	Alta
Costes de inversión	Bajo	Alto
Costes de operación	Bajo	Alto
Escalabilidad	Fácil	Difícil
Limpieza	No necesario	Necesaria
Concentración de biomasa	Baja	Alta

Sus principales inconvenientes son que se obtienen un bajo coeficiente de transferencia de materia, y que resulta complicado escalar el FBR para grandes volúmenes de cultivo. Para escalar este tipo de reactor bastaría con aumentar el diámetro o la longitud del tubo, aunque hay una serie de limitaciones, además de las ya explicadas, que dificultan este proceso. Por ejemplo, un aumento desproporcionado de la longitud del lazo, y por tanto del tiempo de residencia de las algas dentro del FBR, produce gradientes de CO₂ y una sobre-acumulación del O₂ fotosintético que puede provocar fotoinhibición y fotooxidación de las células. Estos fenómenos pueden originar inhibición del crecimiento, e incluso la muerte del cultivo. Como resultado, el aumento de escala se realiza por multiplicación de unidades de FBR previamente optimizadas.



Figura 2. FBR tubular de metacrilato en la planta piloto de la Universidad de Almería.

1.1.2. Parámetros para el cultivo de microalgas

Es importante conocer las condiciones óptimas y los límites de tolerancia para los parámetros que influyen en el crecimiento de la microalga de interés. Los factores mayoritarios que influyen decisivamente en el correcto desarrollo de un cultivo exitoso son: el uso de un inóculo viable de tamaño suficiente, el uso de un medio de cultivo que maximice el crecimiento, fijar las condiciones abióticas (temperatura, pH, etc.) que maximicen el crecimiento y minimicen posibles daños celulares. Sin embargo, de todas estas variables, la iluminación del cultivo, así como la temperatura parecen tener un peso mayor en el crecimiento celular.

Iluminación

En la **Figura 3** se representa el patrón típico del efecto de la irradiancia sobre la velocidad de fotosíntesis. El uso efectivo de la luz tiene como consecuencia un aumento en la productividad fotosintética. Esta a su vez se ve influenciada por la densidad celular del cultivo. Es decir, dada una fuente de luz, existe una cierta densidad celular óptima a la que el aprovechamiento de la radiación recibida es máximo. Por el contrario, cuando la densidad celular es muy baja tiene lugar el fenómeno de la fotoinhibición. Esto se define como el descenso de la capacidad fotosintética a elevadas intensidades de luz, y baja concentración celular, ya que a cada célula le llega más luz de la que es capaz de metabolizar.

Un parámetro básico para describir la disponibilidad de energía bajo una iluminación intermitente es la relación de los periodos luz y oscuridad (L/O) y la frecuencia de estos ciclos. Estos, junto con la intensidad de la luz y la trayectoria de la luz en el FBR, establecen el régimen de iluminación, el cual permite establecer la cantidad de luz que percibe el cultivo.

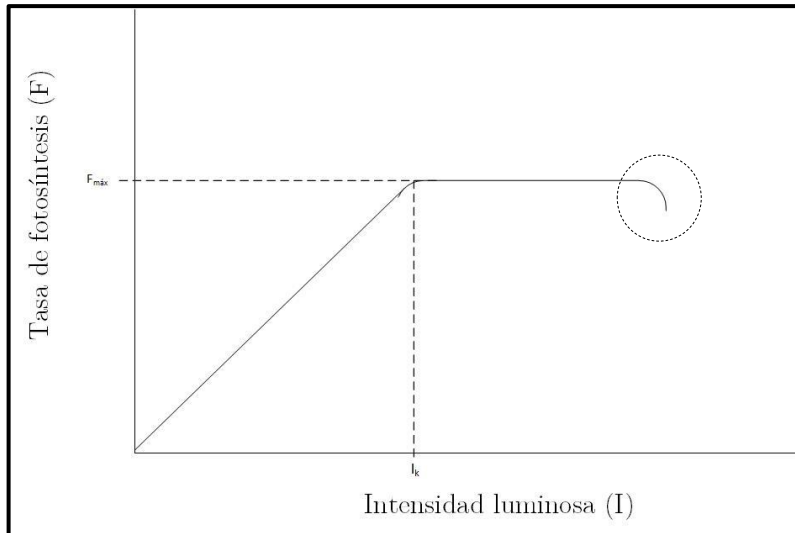


Figura 3. Tasa de fotosíntesis (F) frente a intensidad luminosa (I) a una T^a dada. $F_{máx}$ corresponde con la tasa de fotosíntesis máxima.

Temperatura

En las microalgas existe una notable relación entre temperatura y la actividad biológica, aumentando la tasa de crecimiento cuando aumenta la temperatura, dentro de un rango óptimo, por encima del cual el crecimiento disminuye, a veces bruscamente, hasta llegar a cero si continúa el aumento de la temperatura, tal y como se ilustra en la **Figura 4**.

El efecto más marcado de la temperatura en el metabolismo celular se refleja en la influencia de ésta en el proceso de respiración en la fase oscura, que aumenta exponencialmente con la temperatura. Este hecho es de gran importancia en la producción de biomasa de microalgas, ya que, si la temperatura es alta, sobre todo en la fase de oscuridad, es considerable la pérdida de biomasa debida a la respiración intensiva. Dentro del rango óptimo de temperaturas, un incremento de esta aumenta los problemas de desarrollo bacteriano.

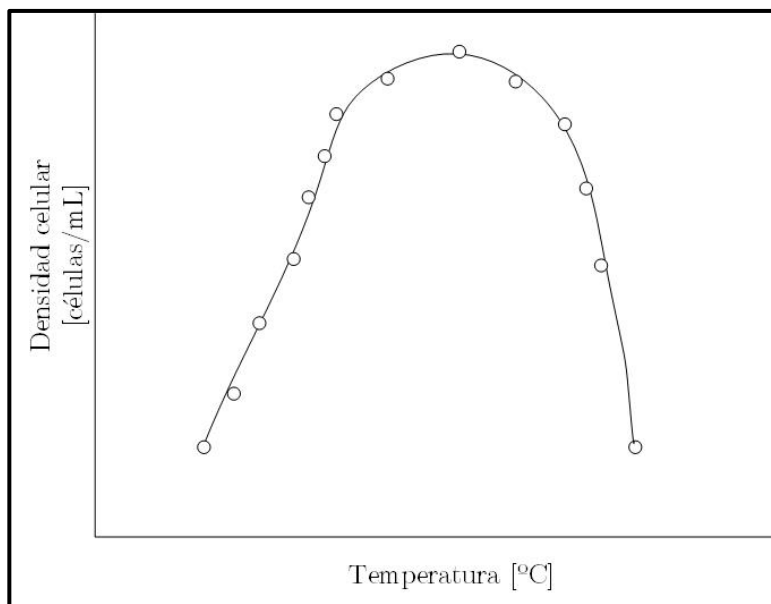


Figura 4. Respuesta del crecimiento celular frente a temperatura.

1.1.3. Biofouling

El biofouling se caracteriza en los FBR por el ensuciamiento de las paredes de los mismos en contacto con el cultivo. Su aparición es común en la mayoría de las superficies expuestas a ambientes acuosos, tales como los cascos de los barcos, materiales que han sido implantados en el cuerpo humano, en las tuberías de las conducciones de agua, las rocas de los ríos, fuentes, etc. (ver **Figura 5**). Podría considerarse este fenómeno como el gran hándicap asociado al desarrollo de la industria de las microalgas por reducir la productividad e incrementar los costes de producción.



Figura 5. Presencia de biofouling en diferentes superficies en medios acuosos.

La aparición de biofouling es un proceso complejo que tiene lugar por etapas tal y como se describe en la **Figura 6**. Se observa el inicio del proceso en la Fig.6B, donde ciertas partículas comienzan a formar una fina capa. La Fig.6 (C) representa la adhesión inicial de algunas microalgas a esta fina capa adherente. Posteriormente, tiene lugar una aglomeración causada por la excreción de sustancias exopoliméricas (*EPS*) (ver Fig. 6D). En la figura 6E se observa un crecimiento de este “bio-film”, esta etapa se denomina etapa de crecimiento. Por último, tiene lugar, tal y como se observa en la figura F, el desprendimiento de algunas células procedentes del “bio-film”, lo que da lugar a una repetición del ciclo descrito pero con distinta distribución. En general, se considera que la formación de biofouling en FBR está fuertemente influenciada por el efecto sinérgico de la irradiancia y la temperatura [8]

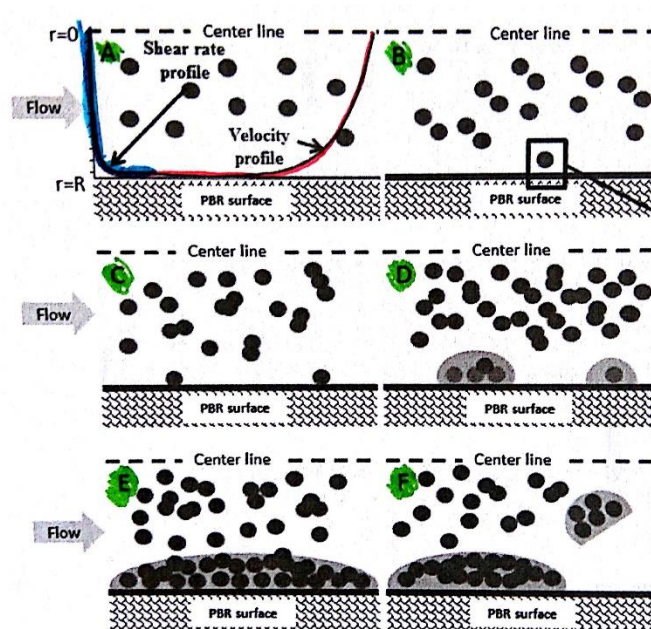


Figura 6. Secuencia esquemática de las etapas de formación de biofouling dentro del tubo de radio R de un FBR tubular [8].

1.2 Objetivos

El objetivo que subyace a este proyecto es el completo desarrollo de un fotobiorreactor tubular iluminado artificialmente, más concretamente iluminación LED para el cultivo de microalgas fotosintéticas en general. Además de una puesta a punto mediante un cultivo de *Nannochloropsis gaditana*.

Este FBR tubular escala piloto posee algunas novedades respecto al resto de FBR tubulares que ha desarrollado el Grupo de Biotecnología de Microalgas Marinas de la Universidad de Almería. El material de construcción del mismo es vidrio borosilicatado (VB) en lugar de polimetilmetacrilato (PMMA). Según el fabricante el VB podría presentar mejores prestaciones antiadherentes que el PMMA. Es la primera vez que se ilumina un FBR tubular con tiras LED. Se usó un sistema desarrollado por el grupo de investigación que permite programar cualquier régimen luz usando luces LED. La estructura que soporta todo el FBR es compacta y fácilmente transportable.

El diseño de este FBR está pensado para el desarrollo de estudios sobre efecto de factores clave del biofouling como son el material del mismo, sus características superficiales, el modo de operación (flujo en el interior del FBR, estrategia de cultivo, etc.) y factores medioambientales (viz. elevadas irradiancias y temperaturas elevadas parecen promover la formación de biofouling).

1.2.1. Plan experimental y cronograma asociado

Este proyecto se desarrollará en tres etapas diferenciadas con diferentes hitos que conseguir en cada una de ellas. En la **Figura 7** se muestra el diagrama de Gantt se muestran las diferentes tareas realizadas de acuerdo con el plan experimental mostrado tras este.

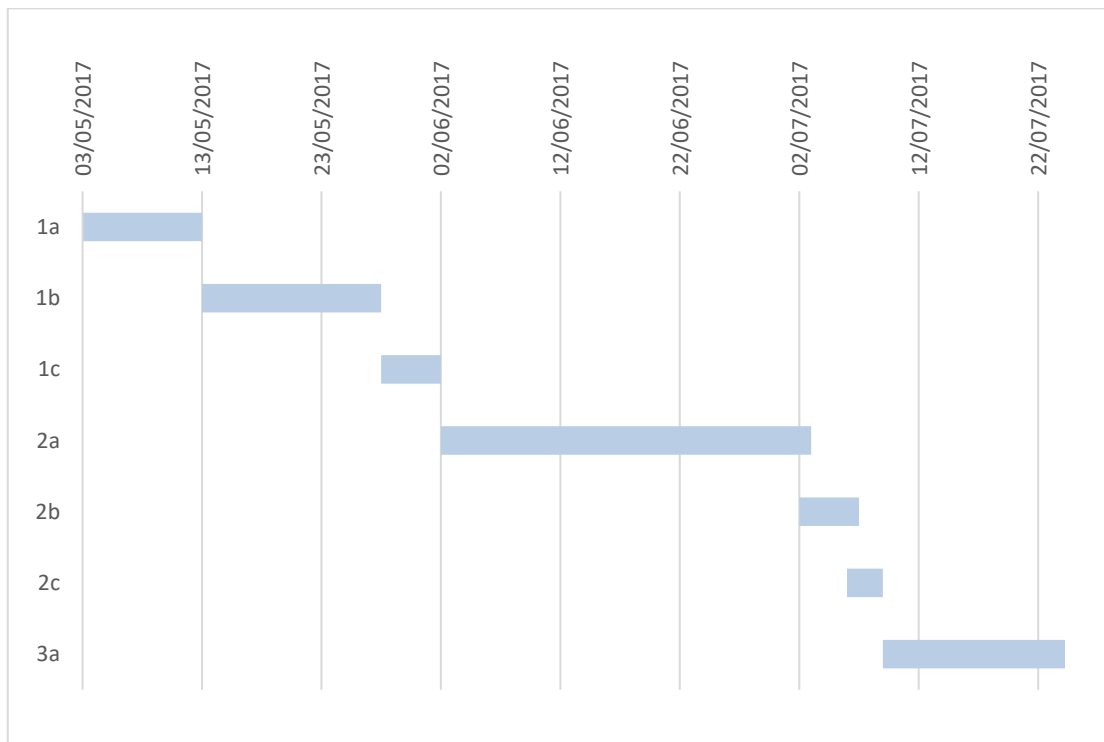


Figura 7. Diagrama de Gantt basado en el plan experimental del proyecto.

Etapa 1. Diseño

- a. Diseño estructural y pormenorizado del FBR. Realización del conjunto de bocetos necesarios para la construcción del prototipo empleando el software *AutoCAD*.
- b. Diseño de controladores. Se realizó un programa *SCADA* (Supervisión, Control y Adquisición de Datos) basado en el software *DAQFactory*. Se usó una tarjeta de control *LabJack U12* para la comunicación entre sensores/actuadores y el usuario mediante un ordenador. Los parámetros por controlados y/o medidos fueron:
 - Se midió el pH que se controló por medio de inyección de CO_2 a demanda.
 - Medida de oxígeno disuelto
 - Medida y control de temperatura, por medio de un intercambiador de calor alojado en la columna de desgasificación.
 - Velocidad del fluido en el interior de los tubos del reactor.

Etapa 2. Ensamblado

- a. Ensamblado del FBR. Se procedió al ensamblado de todos los elementos que constituyen el dispositivo, realizando además tratamientos anticorrosivos en las superficies metálicas para alargar su vida útil.
- b. Colocación de la iluminación artificial. Se usaron tiras de diodos de emisión de luz compuestas por diversos colores (LED) por su versatilidad, capacidad para establecer espectros luminosos y bajo consumo eléctrico.
- c. Caracterización del FBR.
 - Calibración. Se llevó a cabo la calibración de la bomba encargada de impulsar el cultivo por el interior del “loop” de tubos.
 - Caracterización fluidodinámica. Se determinó el tiempo medio de residencia en el interior del FBR
 - Balance energético del sistema teniendo en cuenta el sistema de refrigeración y la iluminación LED, así como demás pérdidas convencionales.

Etapa 3. Prueba de concepto.

- a. Cultivo en modo “batch” de la microalga *Nannochloropsis gaditana*, realizando un seguimiento de la evolución temporal de la concentración celular, la salud fotosintética como es la eficiencia fotosintética máxima del fotosistema II (F_v/F_m), el consumo de macronutrientes como nitratos y fosfatos. Además, se realizó un análisis cualitativo del desarrollo del biofouling.

Capítulo 2

Revisión Bibliográfica

2.1 Biofouling

Dada la finalidad de este FBR, resulta fundamental analizar con algo más de exactitud tanto la importancia que tiene el biofouling en la industria biotecnológica de las microalgas, así como los factores que propician la aparición del mismo.

2.1.1. Importancia del biofouling e impacto actual

En los FBR, la adhesión de las microalgas a la pared transparente del mismo provoca la disminución de la luz disponible en el interior del FBR por la formación de una costra en las paredes de éste. La reducción de la irradiancia disponible acarrea una disminución en la productividad de biomasa en cultivos fotosintéticos. Además, tiene como problemas asociados la degradación de la pigmentación del cultivo, contaminación del cultivo por microorganismos invasivos, así como incrustaciones en el FBR. Para eliminar las incrustaciones en FBR es necesario la parada del ciclo productivo del cultivo acarreando acortamientos de vida de producción y de vida útil del material del FBR [7], lo cual disminuye notablemente la rentabilidad industrial del proceso.

El fenómeno de adhesión es por tanto un factor limitante para el desarrollo, no sólo de la biotecnología de microalgas, sino de las tecnologías que, en general, requieran un contacto con agua, especialmente agua marina. A pesar de que han sido propuestas numerosas soluciones para combatir este fenómeno ninguna de ellas parece ser aplicable universalmente.

Aunque los productos derivados de las microalgas poseen un enorme potencial, la implementación de los cultivos a escala industrial se encuentra limitada por el elevado coste de producción de biomasa. Actualmente, el mercado de los productos de microalgas está valorado en torno a los cinco mil millones y la producción global anual estimada en torno a las 15.000 toneladas anuales. La viabilidad económica de los procesos basados en la producción de microalgas requiere, entre otros parámetros, un sistema de cultivo eficiente a largo plazo.

En los FBR actuales ya construidos, tales como, tubulares, tipo bolsa y *raceway*, el fenómeno de biofouling puede causar importantes problemas en aquellos que son completamente cerrados, especialmente tubulares, seguidos por los FBR tipo bolsa, y un menor impacto en los *raceway*. Esto se debe al desarrollo de equipos de limpieza que poseen, dependiendo de la superficie de limpieza.

2.1.2. Factores que influyen en la aparición del biofouling

El desarrollo del biofouling en la superficie del FBR es el resultado de diversos procesos físicos, químicos y biológicos y podrían clasificarse en dos grandes bloques:

Factores ambientales

a. Localización geográfica.

Dado que el comportamiento de crecimiento es diferente en las zonas tropicales, en las subtropicales y las templadas, podría afirmarse que la aparición de biofouling posee cierta relación con la localización geográfica. La aparición de biofouling es más intensa en las zonas tropicales, debido probablemente a la cálida temperatura del agua de mar [13], lo que nos lleva al siguiente punto.

Cabría mencionar otros factores de interés tales como la distancia a la costa y la profundidad. Respecto a la profundidad podría decirse que la influencia de este parámetro es debido a la salinidad, el contenido en materia orgánica, la temperatura, y sobre todo la penetración de luz lo cual es crucial para la formación de biofouling.

b. Temperatura

La temperatura parece ser un parámetro muy influyente. La tasa de crecimiento de todas las partículas que causan el biofouling incrementa a la par que lo hace la temperatura [14], por lo que los meses de mayor crecimiento tienen lugar desde Abril hasta Septiembre exceptuando las zonas más tropicales donde se mantiene constante y elevado como consecuencia de las temperaturas elevadas y constantes durante todo el año.

c. pH

A elevados valores de pH tiene lugar la precipitación de carbonato de calcio que favorecen la adhesión de partículas en las paredes del FBR [15].

d. Iluminación

Debido al fenómeno de fotoinhibición, las microalgas evitan la luz muy intensa, ya que reciben más luz de la que es capaz de metabolizar. Esto tiende a un descenso de la concentración celular y a la sedimentación de los restos orgánicos que propician la formación de biofouling [16].

e. Calidad del agua

Tanto la disponibilidad de nutrientes como la salinidad del agua son dos parámetros que influyen en la formación de biofouling.

Con respecto a la disponibilidad de nutrientes, cabe citar que a su vez se ve influenciado por un elevado caudal, ya que a mayor caudal debido a las fuerzas transversales que se producen con respecto a la superficie del FBR, se reduce la adhesión bacteriana, pero permitirá un rápido crecimiento del bioflim debido a importante aportación de los micronutrientes [13].

Naturaleza del sustrato

Son varios los factores relacionados con la superficie del material que afectan a la aparición de biofouling:

a. Rugosidad de la superficie celular

Las cepas con superficie rugosa colonizan más rápido que las superficies lisas debido a la mayor área superficial disponible para la adhesión [17].

b. Carga de la superficie

Las microalgas suelen presentar una carga superficial negativa por lo que frente a elevadas densidades celulares que promuevan las repulsiones entre ellas o bien que la superficie del reactor que las contiene posea carga positiva, el biofouling se verá incrementado [18].

c. Propiedades de la superficie del FBR

Existen diversos pre-tratamientos que minimizan de forma significativa la adhesión en las paredes del FBR [19].

2.2 Iluminación

La luz, ya sea natural o artificial, es un parámetro fundamental para el desarrollo de los organismos fotosintéticos. La energía recibida por estos microorganismos fotoautotróficos es una función de la densidad del flujo fotónico (PFD) alcanzado en la superficie del cultivo. En el caso de las microalgas, las células absorben sólo una fracción del total del flujo, dependiendo de la densidad celular del cultivo, de las propiedades ópticas de las células, de la longitud del paso óptico del reactor, en su caso, y de la eficiencia del mezclado.

Las microalgas, como organismos fotosintéticos, asimilan carbono inorgánico para convertirlo en materia orgánica, empleando la luz como fuente energética para el proceso. Numerosos estudios realizados con microalgas, han demostrado que la intensidad de la luz afecta al patrón de síntesis macromolecular a partir de CO₂ fijado en la fotosíntesis [20]. Cuando las células se desarrollan en presencia de ciclos de luz-oscuridad, la síntesis de proteínas y otras macromoléculas continúa durante el periodo de oscuridad, a expensas de carbono y de la energía almacenada en los carbohidratos.

En cultivos de microalgas, la concentración celular juega un papel muy importante en la cantidad de luz recibida por las células. A altas densidades celulares se ha de aumentar la intensidad de luz, con objeto de aumentar su penetración a través del cultivo para que pueda ser utilizada de forma eficiente y tratar de evitar, en lo posible, el autosombreado producido por las propias células y la producción de una clorofila antena menos eficiente en la captación de luz [21]. No obstante, intensidades de luz demasiado altas pueden provocar fotoinhibición del crecimiento y aumentar la temperatura del cultivo, es por esto que se debe obtener una solución de compromiso entre densidad celular e intensidad luminosa.

Es decir, la respuesta cinética de un cultivo de microalgas en función de la intensidad luminosa se puede explicar de la siguiente manera: a una intensidad de luz muy baja, la baja tasa de crecimiento resultante se equilibra con la disminución de la densidad celular y el crecimiento neto es cero (punto de compensación).

A intensidades de luz mayores, el crecimiento se acelera de forma que la pendiente inicial de la curva representa la máxima eficiencia del crecimiento en respuesta a la luz. Si seguimos aumentando

la intensidad de luz se alcanza un punto que representa el nivel de saturación, en el que la tasa de crecimiento es ya la máxima alcanzable.

Un incremento de la intensidad de luz por encima de ese punto no da lugar a un incremento en la tasa de crecimiento. En esta situación, la intensidad de luz puede llegar a ser perjudicial para el cultivo y producir el fenómeno de fotoinhibición, algo que se manifiesta inicialmente por una disminución en la tasa de crecimiento y que, en casos extremos, provoca la muerte celular.

Esto se debe a que frente a intensidades de luz muy bajas, las microalgas incrementan su contenido celular de clorofila *a* y otros pigmentos especializados en la recolección de luz como clorofila *b*, clorofila *c*, ficobiliproteínas y carotenoides. Esta situación ocurre en gran parte en la zona fótica, donde la intensidad luminosa disminuye exponencialmente con la profundidad del cultivo y hace que pigmentos accesorios como carotenoides, ficobiliproteínas y clorofilas asuman funciones importantes en la absorción de energía luminosa. Por el contrario, en respuesta a una alta intensidad de luz las microalgas disminuyen su contenido celular de clorofila *a* y otros pigmentos directamente implicados en la fotosíntesis, mientras que se incrementa el contenido en determinados carotenoides que ejercen funciones fotoprotectoras ante intensidades luminosas que pudieran perjudicar el aparato fotosintético celular [22] [23].

Todo lo anterior justifica la importancia de poseer un control sobre la iluminación situandola en el rango óptimo. Es esta una de las numerosas ventajas que ofrece la iluminación artificial mediante luces LED. Referente a iluminación de FBR se han realizado numerosos estudios. En ellos, se muestran desde códigos de programación para su control mediante arduino [24], la viabilidad de la tecnología LED como fuente de iluminación para FBR [25]. Se exponen a continuación algunas de estas ventajas recogidas en numerosos artículos [22] [26]:

- a. Eficiencia energética.
De forma genérica consumen menos energía y generan menos calor que las fuentes tradicionales de iluminación artificial, tales como lámparas incandescentes y luces fluorescentes.
- b. Capacidad de selección de la longitud de onda o un estrecho rango de longitudes de onda.
El ancho de banda de emisión se encuentra entre 10 y 30 nm. Los fotones de la luz azul tienen la longitud de onda más corta pero poseen más energía, éstos por tanto elevan los electrones de los pigmentos fotocaptadores a su segundo estado de excitación, donde los electrones vuelven a su estado original tras traspasar la energía a los fotosistemas I y II. Por lo tanto, la luz azul tiene un papel regulador en el crecimiento y metabolismo de las células [27].
- c. Capacidad de control.
Frente a la iluminación natural, presenta como ventaja la falta de dependencia a las condiciones meteorológicas, pudiendo rendir siempre en su punto óptimo. Además poseen la capacidad de emular el ciclo solar emitiendo una radiación proporcional en cada momento del día, lo cual es una ventaja añadida frente a operaciones continuas.
- d. Regulación electrónica.
Lo que permite que las luces LED emulen el ciclo solar es su capacidad de ser reguladas electrónicamente.

Estas se regulan empleando la modulación de anchos de pulso (*PWM*) o bien mediante la reducción constante de corriente (*CCR*), aunque esta última es la que le confieren la capacidad de ser programadas.

La modulación por anchos de pulso se basa en ciclos rápidos de apagado y encendido de los diodos resultando una intensidad de flujo fotónico más baja. Empleando el segundo método se produce un flujo fotónico continuo permitiendo diversas intensidades de luz [28].

e. Vida útil.

A pesar del mayor coste de instalación que presentan las luces LED frente a los métodos de iluminación artificial convencionales (aunque en continuo decrecimiento este coste), la larga durabilidad las hacen enormemente rentables.

f. Menor impacto ecológico.

Además de un menor consumo, lo cual ya supone un gran ahorro energético, una vez terminada su vida útil son reciclables en mayor proporción. Frente al 10% que es reciclable en las lámparas incandescentes, las luces LED son reciclables en un 20% [29].

g. Unidireccionalidad de la radiación emitida

La radiación que emiten es direccional lo que las hace mucho más eficientes con respecto a otras formas de iluminación artificial como por ejemplo los tubos fluorescentes.

En resumen, el desarrollo de la tecnología de control de las luces LED debido a su gran demanda ha derivado en enormes ventajas de las luces LED, frente a otras iluminaciones artificiales e incluso frente a la iluminación natural en aquellas ocasiones en el que los productos obtenidos son de alto valor añadido. Esta elevada demanda ha tenido como consecuencia un impulso en el desarrollo de esta tecnología mediante la eficiencia, la disponibilidad de diversas longitudes de onda, su tamaño reducido y el bajo calor disipado. Es todo ésto lo que las hacen una fuente de luz idónea para el cultivo de microalgas [30].

2.3 Temperatura

La temperatura es otro de los parámetros más importantes que afectan al crecimiento y a la composición bioquímica de las microalgas, debido a su repercusión sobre todas las reacciones bioquímicas. La ausencia de crecimiento a temperaturas muy bajas se debe a la reducción de la velocidad de las reacciones enzimáticas y al cambio de estado de los lípidos de membrana, ya que a bajas temperaturas se rigidiza la membrana, que pasan a tener una consistencia fluida a otra más sólida, impidiendo el normal funcionamiento de la membrana celular.

El incremento de la velocidad de crecimiento con la temperatura se debe al incremento generalizado de la velocidad de las reacciones enzimáticas, aunque temperaturas muy altas pueden provocar la desnaturalización de las proteínas, alteraciones irreversibles en las membranas lipídicas y, en otro término, la muerte celular.

Con relación a lo anterior, el efecto de la temperatura sobre la composición de las membranas lipídicas y su contenido en ácidos grasos ha sido ampliamente estudiado. Generalmente, una disminución en la temperatura por debajo de su valor óptimo incrementa el grado de instauración de los sistemas lipídicos.

Esta respuesta mejora la estabilidad y fluidez de las membranas celulares, en particular las membranas tilacoidales, con objeto de proteger la maquinaria fotosintética de la vulnerabilidad provocada por las bajas temperaturas [31].

Cada microorganismo tiene una temperatura óptima de crecimiento diferente [32]. A temperaturas óptimas para el crecimiento, las microalgas tienen el mínimo tamaño celular y el mínimo contenido en carbono y nitrógeno, mientras que provocar incrementos en el volumen celular y modificaciones en la composición química [33]. En otras palabras, se requiere más carbono y más nutrientes para producir una célula a la misma tasa de crecimiento a una temperatura no óptima.

En determinadas condiciones de cultivo puede ser necesario disminuir la temperatura de los cultivos utilizando un flujo de agua fría o controlar la temperatura del aire de la cámara de cultivo con sistemas de refrigeración.

Normalmente se requiere estabilidad en la temperatura del cultivo, lo cual puede suponer un problema tanto en interior como en exterior. En interior debido al calor aportado por la iluminación artificial y en el exterior debido a la escasa capacidad de control de la temperatura y las enormes variaciones que sufre esta.

2.4 pH

El pH es otro de los factores que puede afectar de forma importante al crecimiento de las microalgas. Cada microorganismo solo puede crecer en un rango estrecho de pH, fuera del cual mueren rápidamente. En ocasiones, el pH intracelular de las microalgas, situado en torno a 7, es distinto al del medio de cultivo, lo que posibilita la obtención de energía metabólica dependiente de la existencia de una diferencia en la concentración de protones a ambos lados de la membrana plasmática.

Aunque el rango de pH necesario para el cultivo de la mayoría de las especies de microalgas se encuentra entre 7 y 9, puede alcanzar un valor de hasta 10 unidades en ecosistemas de agua dulce, mientras que en el agua de mar permanece constante (alrededor de 8.2), debido a la concentración de carbono inorgánico existente que actúa como tampón [34]. La inyección de CO₂ en el medio de cultivo permite corregir los altos valores de pH que pueden alcanzarse durante el periodo de crecimiento de las microalgas, a la vez que provoca una disminución muy acusada del pH del medio puede llegar a tener un efecto adverso sobre la fisiología celular.

Si bien es cierto, existen ciertas microalgas que pueden alcanzar niveles de 10 u 11. Esto presentaría la ventaja de la inactivación de patógenos, aunque puede llegar a inhibir el crecimiento de las microalgas, dado que a estos valores tan altos de pH la disponibilidad de CO₂ es limitante para la fotosíntesis.

2.5 Caudal

Es necesario fijar el nivel de agitación del medio e incide directamente en el cultivo de microalgas. Cuando los requerimientos, en cuanto a nutrientes se refiere, están satisfechos y las condiciones ambientales son satisfactorias, la agitación constituye el requisito más importante para la obtención de altos rendimientos de biomasa, ya que proporciona las ventajas mencionadas a continuación.

1. Asegurar una distribución homogénea de las células y los nutrientes dentro del cultivo, con los nutrientes rápidamente disponibles para las células.
2. Mejorar la distribución de la luz a las células asegurando que permanezcan fotosintéticamente activas.

3. Evitar que las células sedimenten en el fondo del FBR, lo que tendría nefastas consecuencias en lo relativo no solo al metabolismo celular pero además al fenómeno de biofouling.
4. Evitar la formación de gradientes gaseosos que se forman alrededor de las microalgas, lo que supondría una restricción en la tasa de crecimiento del cultivo.
5. Prevenir de igual modo la estratificación térmica.

Como se menciona anteriormente, se requiere una velocidad de mezclado suficiente para asegurar una mezcla homogénea. Si la velocidad de mezclado (caudal) es demasiado lenta, la velocidad de deposición de células y otro material particulado sobre la superficie del FBR se incrementa. Consecuentemente, la selección del caudal debe ser cuidadosa teniendo en cuenta no únicamente la geometría del sistema de cultivo, sino además su fluidodinámica y la tolerancia al estrés hidrodinámico de las células.

Capítulo 3

Materiales y Métodos








En esta sección se analizarán los materiales empleados y los procedimientos que han sido necesarios para la satisfactoria finalización del proyecto. Dada la extensión y estructura del proyecto se procede a una revisión por fases.

3.1 Fase de diseño

En lo relativo al diseño de este FBR, muchas de las características fundamentales como es la longitud de los tubos, codos y los *coupling* quedan definidos por el fabricante (Duran, Schott, Alemania). Otros parámetros como el número de loops o tamaño del desgasificador, se definen en función de la escala deseada. Esta será intermedia entre laboratorio e industria, de menos envergadura de los existentes en la Planta Piloto Externa de la Universidad de Almería ya que su fin último es el estudio de fenómenos de adhesión. Para facilitar el vaciado de los tubos que conforman el loop se fijaron los mismos con una inclinación de un centímetro.

El diseño del prototipo se realizó mediante el uso del software *AutoCAD 2016*. La **Tabla 2** muestra las dimensiones tanto de los tubos como los codos usados en el diseño y construcción del *FBR* tubular:

Tabla 2. Características geométricas de los elementos de vidrio con borosilicato cedidos por SCHOTT.

TUBOS			CODOS			
Diametro externo	Espesor de la pared	Longitud del tubo	Diámetro externo	Espesor de la pared	Ancho	Altura
						
mm	mm	m	mm	mm	mm	mm
54	1,8	2,5	54	2,5	234	200

3.1.1. Dimensionamiento de equipamiento auxiliar

Bomba

El cultivo fue impulsado por el interior del FBR por medio de una bomba centrífuga. Por medio del uso de la ecuación de Bernoulli (**Ec.1**) se llevó a cabo el dimensionado de la bomba para conseguir una velocidad de 21 cm/s [7]. A continuación, se presenta la secuencia de cálculo seguida para el dimensionado de la bomba.

1. Cálculo de la pérdida de carga que debe vencer la bomba, calculada con la ecuación de Bernoulli [35]:

$$\frac{(P_1 - P_2)}{\rho \cdot g} + \frac{(V_1^2 - V_2^2)}{2 \cdot g} + (z_1 - z_2) + h_{total} = h_w \quad [\text{Ec. 1}]$$

Siendo P la presión de entrada y salida del fluido (Pa), V la velocidad de circulación del fluido a la entrada ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$), g el valor de la aceleración de la gravedad ($\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$), ρ la densidad del fluido ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$), z es la altura manométrica (m) y h_{total} la pérdida de carga debido a la geometría del dispositivo (m).

2. A partir del número de Reynolds determinamos el tipo de flujo que lleva el fluido:

$$Re = \frac{L \cdot V \cdot \rho}{\mu} \quad [\text{Ec. 2}]$$

Siendo L la longitud total del tubo (m), V la velocidad del fluido ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$), ρ la densidad del fluido ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$) y μ la viscosidad dinámica ($\text{Pa}\cdot\text{s}$).

Dependiendo del valor del número de Reynolds obtenido hay tres posibles regímenes:

$Re < 2100 \rightarrow$	Régimen laminar
$2100 \leq Re \leq 4000 \rightarrow$	Régimen de transición
$Re \geq 4000 \rightarrow$	Régimen turbulento

3. Se procede al cálculo de las pérdidas de cargas en tramos rectos y accesorios, como en este caso se trata de régimen turbulento [36]:

$$h_f = f \cdot \frac{L}{\emptyset} \cdot \frac{V^2}{2g} \quad [\text{Ec. 3}]$$

Dónde \emptyset es el diámetro interno del tubo (m).

Siendo f , el factor de fricción que debe ser calculado secuencialmente:

$$\frac{1}{\sqrt{f}} = -2 \log \left(\frac{\varepsilon/\phi}{3,7} + \frac{2,51}{Re \cdot \sqrt{f}} \right) \quad [\text{Ec. 4}]$$

Además, se deben considerar las pérdidas de carga en codos y válvulas:

$$h_{\text{accesorios}} = K \cdot \frac{V^2}{2g} \quad [\text{Ec. 5}]$$

Donde K es una constante característica de cada accesorio.

Una vez obtenidos los valores para todos los accesorios que integran el dispositivo se calculan las pérdidas de carga totales, h_{total} .

4. El caudal (Q) se calcula en función de la velocidad de circulación del fluido por el interior de los tubos y de la sección de paso de los mismos:

$$Q = V \cdot \frac{\pi \cdot \phi^2}{4} \quad [\text{Ec. 6}]$$

5. La potencia requerida por la bomba (P):

$$P = \rho \cdot g \cdot Q \cdot h_{\text{total}} \quad [\text{Ec. 7}]$$

Sistema de refrigeración

Debe diseñarse un sistema de refrigeración capaz de mantener constante la temperatura del cultivo en torno a unos 25°C. El sistema de refrigeración se compone de un equipo de refrigeración de agua conectado a un intercambiador de calor fabricado en acero inoxidable introducido en la columna de desgasificación.

La principal consideración para el cálculo de este sistema de refrigeración es que el principal aporte de calor es el debido a la iluminación LED, por tanto, las frigorías aportadas por el dispositivo de refrigeración deben ser las necesarias para contrarrestar este calor aportado. El calor que suministra la iluminación LED se determina mediante la siguiente ecuación empírica [37]:

$$P = 0,75 \cdot I \cdot V \quad [\text{Ec. 8}]$$

Siendo P la potencia aportada en vatios (W), I la intensidad en amperios (A), V el voltaje en voltios (V). El voltaje y la potencia por metro (W/m) de la iluminación está definida por la selección del tipo tira LED de iluminación y las necesidades lumínicas, en este caso 19,2 W/m.

El proceso de cálculo del intercambiador de calor se basa en suponer un intercambiador cuyas dimensiones sean aptas para ser introducido en el interior de la columna de desgasificación. Tras esto se ha de fijar un incremento de temperatura máximo, en este caso se asume como válido un aumento de 2,0 °C. Con esto se establecen los límites admisibles tanto en dimensionamiento como la variación térmica. Se considera además una temperatura de entrada en el intercambiador, desde el dispositivo de refrigeración de agua, de 7,0 °C.

La comprobación de las suposiciones realizadas se realiza mediante un balance de energía al intercambiador de calor.

$$Q = U \cdot A \cdot \Delta T_{lm} \cdot \varepsilon \quad [\text{Ec. 9}]$$

Siendo U el coeficiente global de transmisión de calor, característico de cada material, A el área de intercambio, ΔT_{lm} la temperatura media logarítmica y ε la eficiencia del intercambio.

$$\frac{1}{U} = \frac{1}{h_i} + \frac{e_w}{k_w} + \frac{1}{h_o} \quad [\text{Ec. 10}]$$

$$\Delta T_{lm} = \frac{(T_R - T_i) - (T_R - T_0)}{\ln\left(\frac{T_R - T_i}{T_R - T_0}\right)} \quad [\text{Ec. 11}]$$

Siendo h_o, h_i es el coeficiente de transferencia de calor por convección a ambos lados del tubo ($\text{kg}\cdot\text{s}^3\cdot\text{K}^{-1}$), e_w el espesor del intercambiador (m), T_R la temperatura del cultivo, T_i la temperatura de salida del intercambiador y T_0 la temperatura de entrada al mismo.

El cálculo de los coeficientes de transferencia de calor por convección requiere conocer el régimen fluidodinámico en el que se encuentra el fluido mediante la ecuación 2.

$\text{Re} < 2100 \rightarrow$ Régimen laminar
 $2100 \leq \text{Re} \leq 4000 \rightarrow$ Régimen de transición
 $\text{Re} \geq 4000 \rightarrow$ Régimen turbulento

Dado que nos encontramos en régimen turbulento, las ecuaciones para el cálculo quedan recogidas a continuación.

$$h = \frac{2 \cdot k_L}{r_i} \cdot Nu \quad [\text{Ec. 12}]$$

Siendo Nu , el número adimensional de Nusselt.

$$Nu = 0,23 \cdot Re^{0,8} \cdot Pr^{0,33} \quad [\text{Ec. 13}]$$

Siendo Pr el número adimensional de Prunt.

$$Pr = \frac{c_{pL} \cdot \mu}{k_L} \quad [\text{Ec. 14}]$$

Dónde c_{pL} es el calor específico del agua ($\text{J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{gr}^{-1}$), μ es la viscosidad dinámica del fluido ($\text{Pa}\cdot\text{s}$) y k_L la conductividad térmica del agua ($\text{W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$)

Iluminación

Se han empleado tiras LED compuestas por 4 colores, blanco, azul, rojo y blanco cálido. La selección de este tipo de tira LED se justifica por los resultados obtenidos anteriormente en el grupo [26] para el cultivo de dinoflagelados en FBR a escala piloto iluminados artificialmente. Las tiras multicolor LED usadas para la construcción de FBR tubular posee el espectro mostrado en la **Figura 8**.

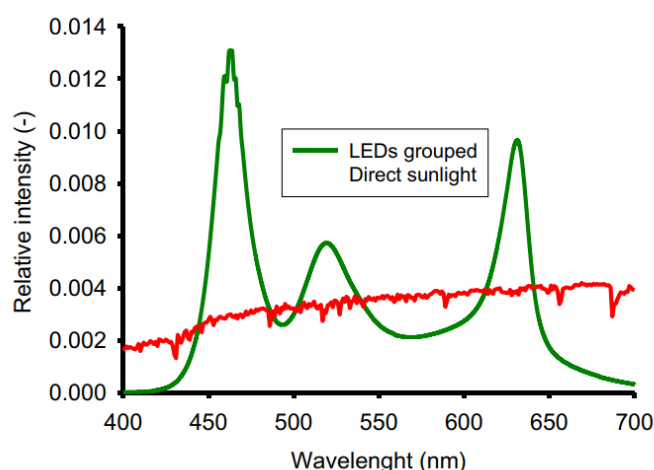


Figura 8. Espectro de la tira LED empleada. Imagen obtenida del artículo de López Rosales y col. [26].

Las tiras LED fueron colocadas en el FBR fue de forma helicoidal sobre cada tubo del colector solar y alrededor de la columna de desgasificación. Este tipo distribución de las tiras LED permite variar el “paso de tuerca”, es decir, la separación entre tiras con el objeto de aumentar de manera sencilla el valor de irradiancia incidente. Por otro lado, variando el paso de tuerca de las tiras en los tubos se puede llegar a conseguir una distribución homogénea de la luz pudiéndose considerar que la distribución de la luz en el interior del FBR sigue un modelo totalmente difuso.

Para optimizar el paso de tuerca y calibrar la luz que se disponía en el reactor se usó un medidor de irradiancia (*Biospherical QSL 100; Biospherical Instruments Inc., San Diego, CA, USA*).

3.1.2. Diseño del sistema de control

Por medio del uso del software *DAQFactory* se realizó un *SCADA* (Supervisión, Control y Adquisición de Datos) capaz de registrar y controlar distintas variables operacionales del FBR. Los parámetros que se estimaron importantes para llevar a cabo su registro fueron pH, oxígeno disuelto (*OD*) y temperatura. *DAQFactory* es un programa que presenta la ventaja de aunar un entorno de programación basado en *C++* y la posibilidad de desarrollar interfaces gráficas que sean intuitivas para el usuario.

El registro y control del proceso se realizó mediante una tarjeta de adquisición de datos *LabJack U12* a la que conectaron los distintos sensores y actuadores que mantienen bajo control el dispositivo. Para el registro de pH se usó un pHmetro marca *Hanna* modelo *HI-8711*, mientras para el *OD* se usó un medidor de oxígeno de la misma marca modelo *HI-8410*.

La temperatura fue registrada por una sonda tipo *PT-100* sumergible y el caudal de la bomba de recirculación fue modulado por medio de un variador de frecuencia (*Rich electric, EI-8001-S1L*).

El control del pH se realizó por una estrategia de control del tipo *on-off* adaptativo que consistió en la inyección bajo demanda de CO_2 por medio de la conexión y desconexión de una electroválvula de solenoide accionada por un relé.

El conjunto de dispositivos mencionados anteriormente está integrado en el cuadro de control mostrado en la **Figura 9**.

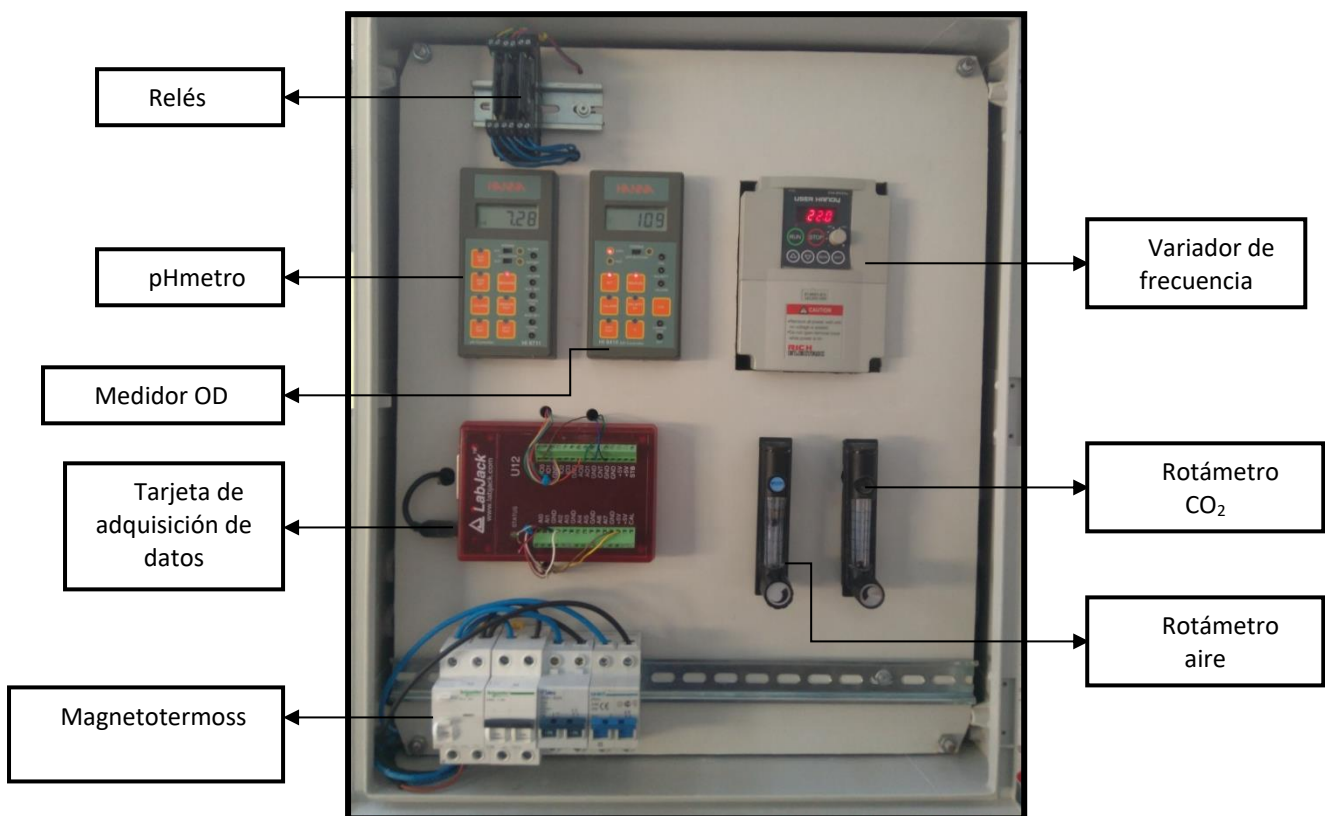


Figura 9. Cuadro de control del FBR. La tarjeta de adquisición de datos se encuentra conectada a un ordenador con el software *SCADA* realizado. A ella están conectados la electroválvula del rotámetro de CO_2 , el pHmetro y el medidor de *OD*, así como una sonda de temperatura.

3.2 Fase de ensamblado

Se procede al ensamblado del sistema de cultivo, listo para la posterior prueba de concepto que se llevará a cabo.

3.2.1. Montaje del conjunto

En la **Figura 10** se muestran los codos y couplings que se usaron el FBR. Toda la estructura metálica fue tratada con pintura anticorrosiva. Esta actividad consumió muchos más recursos horarios que los previsto para el TFG ya que hubo retrasos debido tanto a averías como a pequeñas modificaciones que se realizaron para mejorar el funcionamiento y el aspecto final del FBR.



Figura 10. Couplings y codos, previo a la fase de ensamblado del FBR.

3.2.2. Caracterización fluidodinámica

La caracterización fluidodinámica se basó en la determinación del tiempo medio de residencia del fluido en el interior del sistema tubular del FBR, es decir, en los tubos que conforman el colector solar, sin tener en cuenta la columna de desgasificación.

La velocidad de paso del líquido (v_L) por el interior del tubo fue determinada para distintas frecuencias de bombeo por medio de ensayos de estímulo-respuesta. El reactor inicialmente se llenó con agua de mar. En cada ensayo se realizó una inyección instantánea a la entrada del FBR de una solución de NaOH de 40 mL de 120 g/L y se registró la variación temporal del pH en la salida del último tubo del colector solar.

Se calculó el tiempo medio (t_{mr}) de residencia por medio de la siguiente expresión [38] :

$$t_{mr} = \frac{\int_0^{\infty} t \cdot [OH]^- \cdot dt}{\int_0^{\infty} [OH]^- \cdot dt} \quad [\text{Ec. 15}]$$

Donde $[OH]^-$ es la concentración de iones OH calculada por medio de la siguiente secuencia de ecuaciones:

$$14 = pH + pOH \quad [\text{Ec. 16}]$$

$$[OH]^- = 10^{-pOH} \quad [\text{Ec. 17}]$$

El cálculo de la velocidad de circulación consistió en dividir la longitud total del colector solar (23,655 m) entre t_{mr} :

$$v_L = \frac{\text{longitud colector solar}}{t_{mr}} \quad [\text{Ec. 18}]$$

3.2.3. Cálculo del coeficiente global de transferencia de materia (K_{La})

La determinación del coeficiente volumétrico global de transferencia de materia (K_{La}) se realizó según el método dinámico con y sin células. El FBR se llenó con agua de mar hasta diferentes alturas del desgasificador. Se fijó la velocidad de circulación del líquido a $40 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ [8] por medio de la bomba centrífuga que impulsa éste a través de todo el FBR. De igual forma se fijó el caudal de aire en la columna de desgasificación en un valor de $20 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$.

Una vez alcanzado un estado estacionario en cuanto al OD en la columna de desgasificación, se empezó a burbujear nitrógeno en lugar de aire con el fin de desorber el O_2 del sistema. Tras este proceso se vuelve a burbujear aire y se sigue la evolución temporal del O_2 en la columna de desgasificación.

Para obtener los valores de K_{La} para los distintos ensayos, asumiendo mezcla perfecta, se realizó un balance de materia al sistema obteniendo las siguientes expresiones:

$$\frac{dC_L}{dt} = K_L a [C_L^* - C_L] - r_{O_2} = OTR - OPR \quad [\text{Ec. 19}]$$

Dónde C_L representa la concentración de oxígeno disuelto en la fase líquida en un instante de tiempo, C_L^* la concentración de oxígeno disuelto en equilibrio con la fase gaseosa, calculada a partir de la Ley de Henry, r_{O_2} tasa de oxígeno fotosintético, es decir, el oxígeno producido por el microorganismo, OTR (oxygen transfer rate) el nivel de oxígeno transferido desde el líquido al gas o viceversa y OPR (oxygen production rate) la tasa de oxígeno a la cual la biomasa produce oxígeno en la fase líquida.

Todo esto es simplificable cuando la transferencia de oxígeno es la etapa limitante (p.ej. debido a una baja solubilidad de oxígeno en agua) y existe una producción insignificante de oxígeno por el microorganismo:

$$\frac{dC_L}{dt} = K_L a [C_L^* - C_L] = OTR \quad [\text{Ec. 20}]$$

Dónde de forma análoga C_L representa la concentración de oxígeno disuelto en la fase líquida en un instante de tiempo, C_L^* la concentración de oxígeno disuelto en equilibrio con la fase gaseosa, calculada a partir de la Ley de Henry, r_{O_2} tasa de oxígeno fotosintético, es decir, el oxígeno producido por el microorganismo y OTR (oxygen transfer rate) el nivel de oxígeno transferido desde el líquido al gas o viceversa.

3.2.4. Calibración dispositivos

Medidor de Oxígeno Disuelto

En este caso se trata simplemente de obtener la relación entre el voltaje proporcionado por el medidor de salida con la registrada por el programa desarrollado en *DaqFactory*. Debido a que el medidor de *OD* se encuentra provisto de una salida analógica de intensidad (4-20 mA) por medio de la ley de Ohm se calcula la resistencia necesaria que ha de colocarse en esta salida para transformar los valores a voltajes comprendidos entre 0-5V ya que *Labjack U12* solo tolera este rango de voltajes.

$$V = I \cdot R \quad [\text{Ec. 21}]$$

Siendo V el voltaje (V), I la intensidad(A) y R la resistencia (Ω).

Para llevar a cabo la calibración de este dispositivo se llenó el FBR con agua de mar y se conectó el control de temperatura, fijando ésta al valor de operación (25°C). Una vez lleno el FBR se conectó la aireación y se esperó a que el valor suministrado por el medidor de *OD* fuera estable para fijar este en el 100% de saturación.

pHmetro

De igual forma, se realizó una conversión entre intensidad y voltaje de la salida analógica del dispositivo. En este caso se estableció la relación entre voltaje y pH. Se usaron 3 disoluciones patrón (pH conocido) las cuales fueron correlacionadas con el voltaje de salida del pHmetro.

Sensor de Temperatura

Nuevamente, se relaciona voltaje con temperatura. Para obtener 3 puntos se preparan 3 recipientes con agua fría, a temperatura ambiente y caliente. Con un termómetro se determina la temperatura que indican éstos y se relaciona con la señal de voltaje que transfiere la sonda.

3.3 Fase de cultivo modo batch

El objetivo de esta fase es la comprobación tanto que este FBR es una herramienta interesante en el estudio de biofouling como verificar el correcto funcionamiento los dispositivos y secuencias de control integrados en el FBR. Luego con este fin se llevó a cabo un cultivo en modo discontinuo.

3.3.1. Microalga

Se utilizó la microalga marina *Nannochloropsis gaditana* para el cultivo en el *FBR*. El inóculo fue preparado en un reactor de vidrio a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ iluminado con lámparas fluorescentes de 58 W que aportaban $300 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ en superficie en ciclos luz-oscuridad de 12-12 horas. El medio de cultivo usado fue Algal optimizado [39] preparado con agua de mar del mediterráneo esterilizada y filtrada (0,22 μm filtro *Millipore*; *Millipore Corporation*, Billerica, MA, USA).

3.3.2. Modo de operación en el FBR

La microalga *Nannochloropsis gaditana* fue usada como especie modelo en el cultivo este FBR. El valor de *OD* registrado se usó como indicador de la actividad fotosintética. La temperatura del cultivo fue controlada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por medio un intercambiador de calor de acero inoxidable que fue introducido en la columna de desgasificación y por el que circulaba agua termostatzada procedente de un chiller. El pH fue controlado a 8,05 por inyección automática de CO_2 .

Antes del uso, el FBR y el agua fueron esterilizadas químicamente con NaClO . Para ello se llenó el FBR con agua de mar filtrada a $0,22\mu\text{m}$ y se añadió 4 mL de disolución de NaClO al 10% v/v por litro de agua a esterilizar. Una vez mezclada la disolución de NaClO con el agua a esterilizar se detienen cualquier dispositivo que genere turbulencia y se evita que al *FBR* le incida de manera directa cualquier fuente de luz. El proceso de esterilización se da por concluido tras 12 horas. Una vez realizada la esterilización se ha de neutralizar el agente esterilizante (NaClO) por medio del uso de una disolución de tiosulfato sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) de 250 g/L. Para la total neutralización se añaden 1mL de disolución de tiosulfato sódico por cada 4mL de NaClO usados y se burbujea airosamente. Para verificar que el proceso de neutralización fue exitoso se tomó una muestra de agua esterilizada-neutralizada y se puso en contacto con cultivo durante varias horas, constatando la viabilidad de las células tras este tiempo.

Se usó el medio Algal optimizado [39] para el cultivo de la microalga. El reactor fue inoculado con 21 L de inóculo con una concentración de $1,68 \cdot 10^8 \text{ cel} \cdot \text{mL}^{-1}$ en fase exponencial de crecimiento. El *FBR* fue operado en modo discontinuo. Se programó un patrón de iluminación basado en el ciclo solar usando la ecuación publicada previamente por el grupo[26].

$$I_0 = \begin{cases} I_{0max} \cdot \sin \left[\pi \frac{t - t_{sr}}{t_{ss} - t_{sr}} \right] & \text{if } t_{sr} \leq t \leq t_{ss} \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad [\text{Ec. 22}]$$

Siendo $I_0(t)$ el valor de incidente de irradiancia temporal, I_{0max} el valor de máximo de irradiancia en la parte central del ciclo de iluminación en el centro de un tubo cuando el reactor se encuentra lleno con medio de cultivo sin células y t_{ss} y t_{sr} representan el amanecer y el anochecer respectivamente.

Para evitar una posible fotoinhibición en los 3 días iniciales del cultivo se fijó una irradiancia de $200 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ para evitar efectos de fotoinhibición, pasados estos primeros días se incrementó $660 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ que es el máximo nivel de irradiancia que aportaba el equipo. El caudal de aire fue fijado a un valor de $20 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ siendo este suficiente para llevar a cabo una eliminación de oxígeno fotosintético suficiente en la columna de desgasificación.

3.3.3. Seguimiento del crecimiento

El seguimiento del cultivo se realizó mediante medidas diarias de densidad celular usando un citómetro de flujo, absorbancia mediante un lector de placas, macronutrientes (nitratos y fosfatos) espectrofotométricamente, eficiencia fotosintética con un fluorímetro, así como el peso seco tras un proceso de liofilización de muestras.

Citometría de flujo

Por medio de esta técnica se determinó la concentración celular. Las medidas citométricas se realizaron con el citómetro de flujo tipo CellLabQuanta SC (Beckman Coulter Inc., Brea, CA, USA) el cual está equipado con un láser de excitación iónica de argón (luz azul, 488 nm) y 3 fotomultiplicadores: FL1 (525 nm), FL2 (575nm), FL3 (670 nm en adelante). Fueron analizadas al menos 12000 células por muestra muy diluida. El caudal se mantuvo en un nivel moderado para evitar una interferencia entre las células.

Eficiencia Fotosintética

La relación entre la fluorescencia máxima variable (F_v) y la fluorescencia máxima (F_m) de la clorofila (F_v/F_m) representa el máximo rendimiento en la producción fotoquímica del fotosistema II. Esta proporción es generalmente aceptada como un indicador del estrés celular. Los valores de F_v/F_m fueron determinados usando un fluorímetro de clorofila (*Mini-PAM-2500*; Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Alemania) la luz pulsada (*PAM*).

Las muestras se mantienen en la oscuridad durante 35 minutos antes de realizar las mediciones para poder determinar los parámetros fotosintéticos. La fluorescencia inicial (F_0) fue medida mediante la exposición de las células a la luz roja bajo pulso ($<1 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). La fluorescencia máxima (F_m) se cuantifica aplicando un pulso de luz saturante ($8000 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; 800 ms ancho de impulso) La fluorescencia máxima variable fue calculada como $F_v = F_m - F_0$.

Medida de nutrientes

Se llevó a cabo un seguimiento de los macronutrientes presentes en el sobrenadante, Nitratos y Fosfatos.

Las muestras de 100 mL cosechadas diariamente se centrifugaron durante 15 min a 4500 rpm, para separar el sobrenadante del pellet celular. Una vez obtenido el sobrenadante se determinaron ambos nutrientes por técnicas espectrofotométricas.

1. Determinación Nitratos

Medidas de absorción UV a 220 nm permite la determinación rápida de NO_3^- . Debido a que la materia orgánica absorbe en 220 nm, sin embargo, no absorbe a 275 nm, una segunda medida realizada a 275 nm puede usarse para la corrección del valor de NO_3^- . El grado de corrección empírica está relacionado con la naturaleza y la concentración de materia orgánica y puede variar.

Procedimiento:

1. Tratamiento de la muestra. Las medidas son realizadas al sobrenadante, por lo que la muestra tomada debe ser centrifugada durante 15 min y a una velocidad de 4500 rpm para separar el pellet del sobrenadante.
2. Preparación de la recta de calibrado. Se preparan estándares de calibración de NO_3^- de un rango de 0 a 7 mg N/L. Se realizan las mismas medidas a los patrones de NO_3^- que a las muestras.
3. Medida en el espectrofotómetro. Lectura de absorbancia o transmitancia de agua destilada fijando en cero la absorbancia y 100% la transmitancia. Se usa una longitud de onda de 220 nm para obtener una lectura de NO_3^- y una longitud de onda de 275 nm para determinar interferencias debido a la materia orgánica.

4. Tratamiento de datos. Tanto para las muestras como para los patrones de la recta de calibrado, se resta dos veces la absorbancia obtenida a 275 nm de la absorbancia obtenida a 220 nm para obtener la absorbancia de NO_3^- . Para la recta de calibrado se representa la absorbancia de NO_3^- en función de la concentración conocida del patrón. A partir de esta recta se obtiene el valor de la concentración de las muestras.

$$[\text{NO}_3^-] = \text{absorbancia } 220 - 2 \cdot \text{absorbancia } 275 \cdot 17,90$$

2. Determinación Fosfatos

Las especies de fósforo disueltas en el sobrenadante fueron determinadas y cuantificadas como PO_4^{3-} , de acuerdo al método publicado por la *American Public Health Association* [40].

Procedimiento:

1. Tratamiento de la muestra. Las medidas son realizadas al sobrenadante, por lo que la muestra tomada debe ser centrifugada durante 15 min y a una velocidad de 4500 rpm para separar el pellet del sobrenadante.
2. Preparación de la recta de calibrado. Se preparan estándares de calibración de PO_4^{3-} de un rango de 0 a 7 mg N/L. Se realizan las mismas medidas a los patrones de PO_4^{3-} a las muestras.
3. Dado que el ácido molíbdico y el tartrato de antimonio y potasio reaccionan en un medio ácido con soluciones diluidas de ortofosfato para formar ácido fosfomolíbdico que es reducido por el ácido ascórbico desarrollándose una coloración azul que es medida en espectrofotómetro.

Se realizan las siguientes disoluciones:

Ácido molíbdico: $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Ácido sulfúrico: $1,35 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Ácido ascórbico: $38 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Tartrato de antimonio y potasio: $1,36 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

4. Se preparan las muestras a medir añadiendo las proporciones volumétricas mostradas en la siguiente tabla:

Tabla 3. Proporción del volumen de cada reactivo.

Ácido molíbdico	22,20%
Ácido sulfúrico	44,40%
Ácido ascórbico	22,20%
Tartrato	11,10%

5. El producto de reacción se cuantificó espectrofotométricamente a una longitud de onda de 885 nm.
6. Tratamiento de datos. Tanto para las muestras como para los patrones de la recta de calibrado, se resta dos veces la absorbancia obtenida a 885 nm para obtener la absorbancia de PO_4^{3-} . Para la recta de calibrado se representa la absorbancia de PO_4^{3-} en función de la concentración conocida del patrón. A partir de esta recta se obtiene el valor de la concentración de las muestras.

$$[\text{PO}_4^{3-}] = 60,727 \cdot \text{absorbancia } 885$$

Peso seco

Para determinar el contenido en biomasa se centrifugan las muestras, en tubos falcón de 50 mL de los cuales previamente se ha determinado su masa, separando a su fin el sobrenadante del pellet celular. Esta biomasa debe ser lavada en tres ocasiones con un 20% de agente de limpieza con respecto al volumen de muestra inicial (con bicarbonato amónico de 0,5M), con el objetivo de retirar todas las sales procedentes del agua.

A la finalización de cada lavado debe ser separado el pellet del sobrenadante y centrifugado nuevamente a las mismas condiciones. Tras esto se liofilizan (*Cryodos 50*, Telstar) los tubos durante 48 horas. Por último, se determina el peso seco de la biomasa.

3.3.4. Constatación fotográfica del biofouling

Tras detener el cultivo una vez demostrado el correcto funcionamiento del FBR se procede a evaluar el desarrollo del fenómeno de adhesión en este periodo de tiempo mediante registro fotográfico. La cámara *Canon EOS 1200D + Objetivo 18-55 mm IS II* fue la empleada para captar el desarrollo del biofouling en la superficie interna del FBR.

3.3.5. Cinética de Crecimiento

Los cultivos en modo *batch* y semicontinuo muestran curvas de crecimiento asimétricas. Se recurrió a la siguiente ecuación logística asimétrica para representar la concentración celular ($N(t)$) en función de los datos del tiempo (t) para determinar con exactitud la tasa de crecimiento específica:

$$N(t) = y_0 + \frac{a}{1 + \frac{x^b}{x_0}} \quad [\text{Ec. 23}]$$

Donde a , b , c y d son constantes. La tasa específica de crecimiento celular μ (día⁻¹) se calculó usando la curva que mejor se ajustaba a la ecuación. Por tanto:

$$\mu(t) = \frac{1}{N(t)} \left(\frac{dN(t)}{dt} \right) \quad [\text{Ec. 24}]$$

Capítulo 4

Resultados y discusión

En esta sección se expondrán, siguiendo el esquema del capítulo precedente, los resultados obtenidos en lo referente a cada una de las fases.

4.1 Fase de diseño

Con el conocimiento acumulado por el grupo en el cultivo de FBR tubulares, se han implementado una serie de soluciones que mejora el cultivo de microalgas en estos dispositivos. Estas innovaciones son las siguientes:

- Pendiente de un centímetro entre ambos extremos del colector solar. Medida para facilitar el vaciado.
- Dispositivo compacto. Se deseaba una única estructura que albergue todo el dispositivo.
- Duradero en cuanto a corrosión. Es por ello que se optó por acero galvanizado tratado con imprimación y pintura, ambos anticorrosivos.
- Gran estabilidad en el registro de datos y el control.

En la **Figura 11** se muestra boceto final en modo realista del diseño realizado en *Autocad 2016*. En este diseño se han tenido en cuenta todas las mejoras expuestas anteriormente.

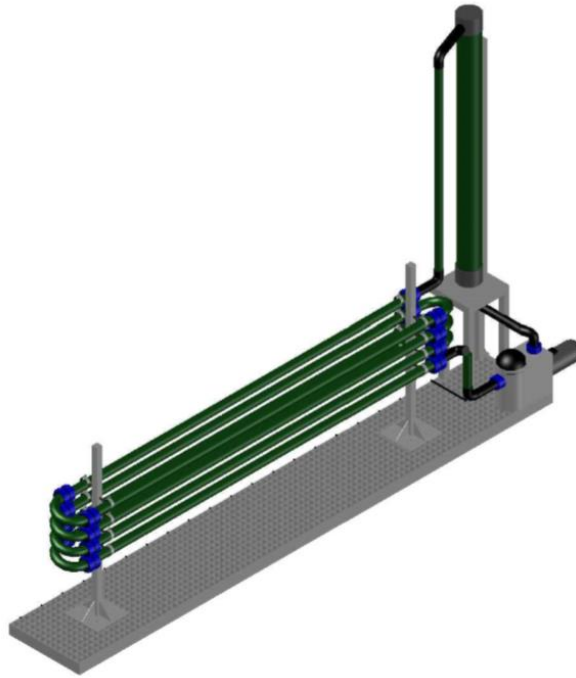


Figura 11. Diseño final del FBR tubular realizado en el software AutoCAD.

4.1.1. Dimensionamiento de equipamiento auxiliar

Bomba

Siguiendo el procedimiento descrito en el capítulo anterior en la sección 3.1.1, se obtuvo la potencia mínima ($P_{mínima}$) que debería tener la bomba para un caudal mínimo ($Q_{mínimo}$) de $28 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ para obtener una velocidad de $40 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$. Este valor de velocidad es el necesario para realizar los ensayos de adhesión y poder compararlo con lo publicados por Zeriuoh y col[8].

$$P_{mínima} = 46,321 \text{ W} = 0,062 \text{ HP}$$

$$Q_{mínimo} = 4,309 \frac{\text{m}^3}{\text{h}}$$

En base a estos valores se comprueban en el catálogo del fabricante (Kripsol), **Figura 12**, las características y El sobredimensionamiento de la misma se debe a la posibilidad de que el FBR sea ampliado con más *loops*, asegurando su idoneidad también en este caso.

Características y dimensiones • Characteristics and dimensions Caracteristiques et dimensions • Kennzeichen und maßen

Tipo Type	HP P2	KW P1	Monofase • Single-phase		Trifase • Three-phase		dB (*)	Altura en m. / Head in m.								A (mm)		Peso • Weight • Poids • Gewicht (kg.)			
			V	A	COND.	V		A	Caudal en m³/h / Flow in m³/h								MONOFASE	TRIFASE	MONOFASE	TRIFASE	
									5	6	8	10	11	12	14	16					18
KSE33B	0,33	0,45	230	2,45	12/12,5	-	-	54,6	11	8,9	7	4,8	3	-	-	-	-	503	-	11,2	-
KSE50B	0,50	0,58	230	3,2	14	230/400	2,40/1	59,6	14,5	12	10	7,5	6,5	5	1	-	-	550	550	12,5	12,0
KSE75B	0,75	0,75	230	4	14/16	230/400	4	59,6	16	14,5	13,5	11,5	10,2	8,9	5,2	1	-	550	550	13,5	13,0
KSE100B	1,00	1,00	230	5	20	230/400	3,4/2,0	60,8	21,5	19,5	17,5	15,4	14,2	13	10	5,8	1	550	550	14,0	13,5
KSE150B	1,50	1,60	230	7,5	25	230/400	5	65,6	27,5	25,5	23	21,9	20,8	19,7	16,4	11,8	6,2	580	580	16,5	16,0
KSE200B	2,00	1,92	230	9	30	230/400	3,6/2,2	66	32	29,4	27,8	25,7	24,6	23,5	20,5	17	12	580	580	17,5	17,0
KSE300B	3,00	2,60	230	12,5	40	230/400	5/2,9	66,7	36,5	34,5	32	29,5	28,2	26,9	23,9	20	16,2	620	620	22,5	22,0

P1: Potencia absorbida / Power input / Puissance absorbée / Leistungsaufnahme.
P2: Potencia nominal / Power output / Puissance du moteur / Wirkleistung.
(*) : dB=10 m.c.a./height/hauteur/Höhe

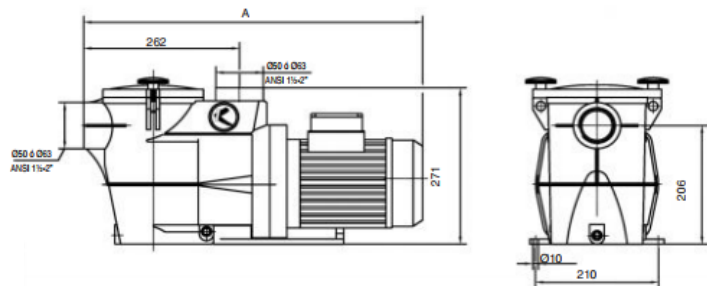
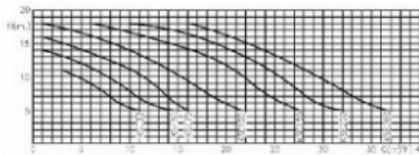


Figura 12. Características de la bomba extraídas del catálogo del fabricante, KRIPSOL

Sistema de refrigeración

1. Dispositivo refrigerador de agua

Con el cálculo descrito anteriormente 3.1.1, se obtiene el calor que aportado por la iluminación LED ($Q_{aportadoLED}$):

$$Q_{aportadoLED} = 972 W$$

En base a esto el sistema de refrigeración seleccionado para el proceso se muestra en la **Figura 13**.

Model	Cooling capacity (W)	Cooling method	Power supply	International standards
HRS012	1100/1300 (50/60 Hz)	Air-cooled refrigeration Water-cooled refrigeration	Single-phase 100 VAC (50/60 Hz), 115 VAC (60 Hz)	CE/UL *
HRS018	1700/1900 (50/60 Hz)		Single-phase 200 to 230 VAC (50/60 Hz)	
HRS024	2100/2400 (50/60 Hz)		Single-phase 200 to 230 VAC (50/60 Hz)	
New HRS050	4700/5100 (50/60 Hz)	Air-cooled refrigeration	Single-phase 200 to 230 VAC (50/60 Hz)	Scheduled for 2011

Figura 13. Recorte del catálogo de SCM, donde se selecciona el modelo más adecuado en base a los cálculos realizados.

El modelo elegido será de 60Hz con una capacidad de enfriamiento de 4700 W. Este sobredimensionamiento se considera para asegurar el correcto funcionamiento conectando incluso tres FBR al dispositivo.

2. Intercambiador

Realizando la secuencia de cálculo mostrada en el capítulo anterior en la sección 3.1.1, se ha obtenido un intercambiador con una altura de 1,15 m, conformado por 4 tubos con un diámetro externo de 2,13 cm y un espesor de 5,3 mm como se observa en la **Figura 14**.

El calor que es capaz de retirar el intercambiador con el área dado se calcula con la ecuación 10.

$$Q_{retirado} = 1,021 \text{ kW}$$

Por tanto, el intercambiador está dimensionado para retirar todo el calor aportado por las luces LED sobradamente. Esto se debe a que la temperatura de entrada del dispositivo de refrigeración de agua cuando se conecten varios dispositivos muy probablemente será superior a los 7°C empleados para el cálculo.

4.1.2. Diseño del sistema de control

El sistema SCADA implementado permitió al usuario fijar los valores de set-point para el pH, caudal de la bomba así parámetros de iluminación tales como intensidad de la iluminación, hora de inicio del ciclo luminoso y patrón de iluminación. Por otro lado, en el software desarrollado se realiza el registro y monitoreo de pH, oxígeno disuelto y temperatura del cultivo. En la **Figura 15** se puede observar una captura de pantalla de la interfaz del usuario. A partir de esta pantalla principal, se puede acceder a la configuración manual del pH y la iluminación, **Figura 16**, así como la calibración.



Figura 14. Diseño del intercambiador de calor calculado

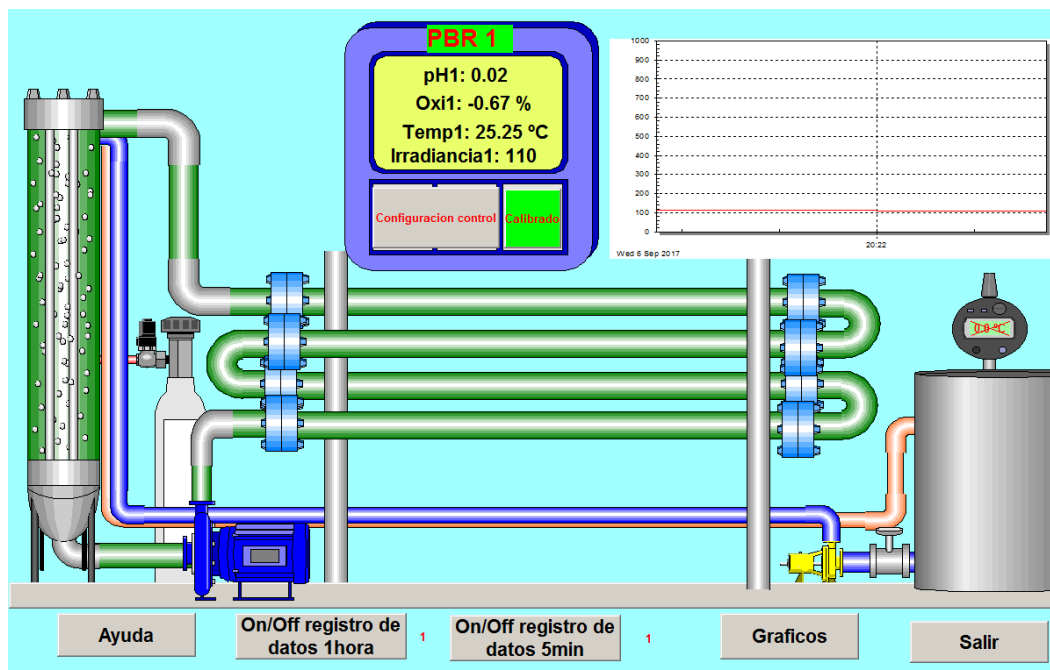


Figura 15. Captura de pantalla del software SCADA desarrollado.



Figura 16. Acceso del software a la configuración de los parámetros de control a partir del radiobotón "Configuración control".

Por otro lado, en la **Figura 17** se presenta el código que regula el control de pH a modo de ejemplo. Se optó por una estrategia de control del tipo *on-off* para el control del pH. Para conseguir este propósito se realizaban inyecciones de CO₂ a demanda por medio de la conexión y desconexión de una electroválvula de solenoide por medio de un relé.

```

File Edit View Quick Analysis Debug Layout Tools Window Help
[Icons]
Sequence: ControlpH Apply & Compile Apply Discard
Thread Priority: 5 - Acquisition Auto-Start: [ ]
1 while(1)
2   if (Mean(pH[0,9])>Var.SetpointpH1) // Condición de entrada
3     ValvCO21=5 //Conexión del relé(conectado a electroválvula de gases)
4   else
5     ValvCO21=0 //Desconexión del relé(conectado a electroválvula de gases)
6   endif
7   delay(1)
8   endwhile
9

```

Figura 17. Captura del código de programación empleado para el control on/off de inyección de pH

Con objeto de mantener los valores de oxígeno disuelto dentro de un rango que no sea inhibitorio para el crecimiento y mantener una mezcla homogénea en el interior de la columna de desgasificación se burbujea continuamente aire en la misma. Por último, se consigue el control de temperatura por medio del dispositivo de refrigeración conectado a un intercambiador situado en la columna de desgasificación.

4.2 Fase de ensamblado

Se procede al ensamblado del sistema de cultivo, listo para la posterior prueba de concepto que se llevará a cabo.

4.2.1. Montaje del conjunto

Todos los elementos del conjunto fueron tratados con tratamientos anticorrosivos. Aunque los distintos elementos del sistema estaban fabricados en acero galvanizado este tratamiento a base de Zinc no es suficiente para prevenir posibles efectos de oxidación por la exposición al agua de mar

Tras el proceso anticorrosivo se marcaron los puntos de anclaje de los pilares a la base de la estructura. El diseño inicial de los pilares fue modificado en este punto ya que se constató que la pletina de la base de los pilares tenía un área demasiado pequeña. El área de la base de la nueva pletina tenía un 20% más de área y además disponía de 4 escuadras que unían el pilar a su estructura y suponían unos elementos de refuerzo estructural (**Figura 18**). Esta modificación es muy importante ya que el reactor es compacto y posee rudas por lo que se trata de un sistema móvil y una mala fijación de estos con la estructura base podría comprometer la estabilidad de todos los elementos del FBR.

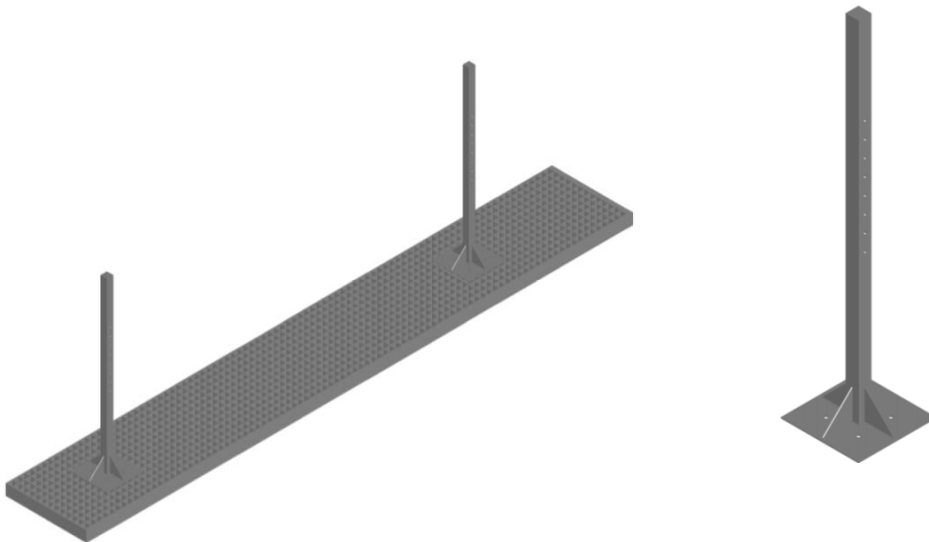


Figura 18. Pilares más la base de la estructura ensamblados

La construcción de los *loops* comienza marcando los puntos donde se desea colocar la abrazadera isofónica (**Figura 19**) que sujetará el tubo a los pilares. En este proceso se tiene en cuenta que para facilitar el posterior vaciado del FBR es conveniente que exista una cierta inclinación entre los extremos de los tubos por lo que se fijaron estos con 1 cm de diferencia entre ambos extremos. Una vez colocadas las abrazaderas isofónicas se procede a la colocación del tubo en el interior de las mismas.



Figura 19. Despiece abrazadera isofónica

Posteriormente se realiza el anclaje de la estructura que sostendrá tanto la columna de desgasificación como los cuadros de control, mostrado en la **Figura 20**. Ante la falta de un elemento de sujeción en la base que asegure su unión a la base se opta por soldar dos perfiles de tubo de acero galvanizado para anclar en estos la estructura.



Figura 20. Estructura columna desgasificación.

La sujeción de la columna a su estructura se realiza nuevamente mediante abrazaderas isofónicas.

Tras esto se procede a la conexión de la bomba. Teniendo en cuenta las mejoras propuestas en materiales y métodos se fijó la bomba asegurando que la misma estuviera lejos de la columna de desgasificación. Por otro lado, debido a que no existía compatibilidad entre los diámetros externos de los tubos de vidrio y los elementos de PVC que conectaban los tubos de vidrio con la bomba se realizó un “abocinado” de un manguito de PVC y así lograr conectar ambos materiales.

Seguidamente se procede al montaje e instalación del cuadro de control, así como el cuadro que alberga el sistema de iluminación LED. Para evitar posibles cortocircuitos, se protege el cableado de todo el sistema.

Debido al reducido tamaño del sistema, la columna de desgasificación tenía una altura que imposibilitaba el burbujeo en su base, ya que la velocidad de aspiración de la bomba era muy superior a la de subida de la burbuja. Este hecho provocaba que se introdujeran burbujas en el sistema. Para solucionar este problema el burbujeador se dispuso a 40 cm respecto de la base de la columna de desgasificación.

La **Figura 21** muestra el resultado final del proceso de ensamblado del FBR.

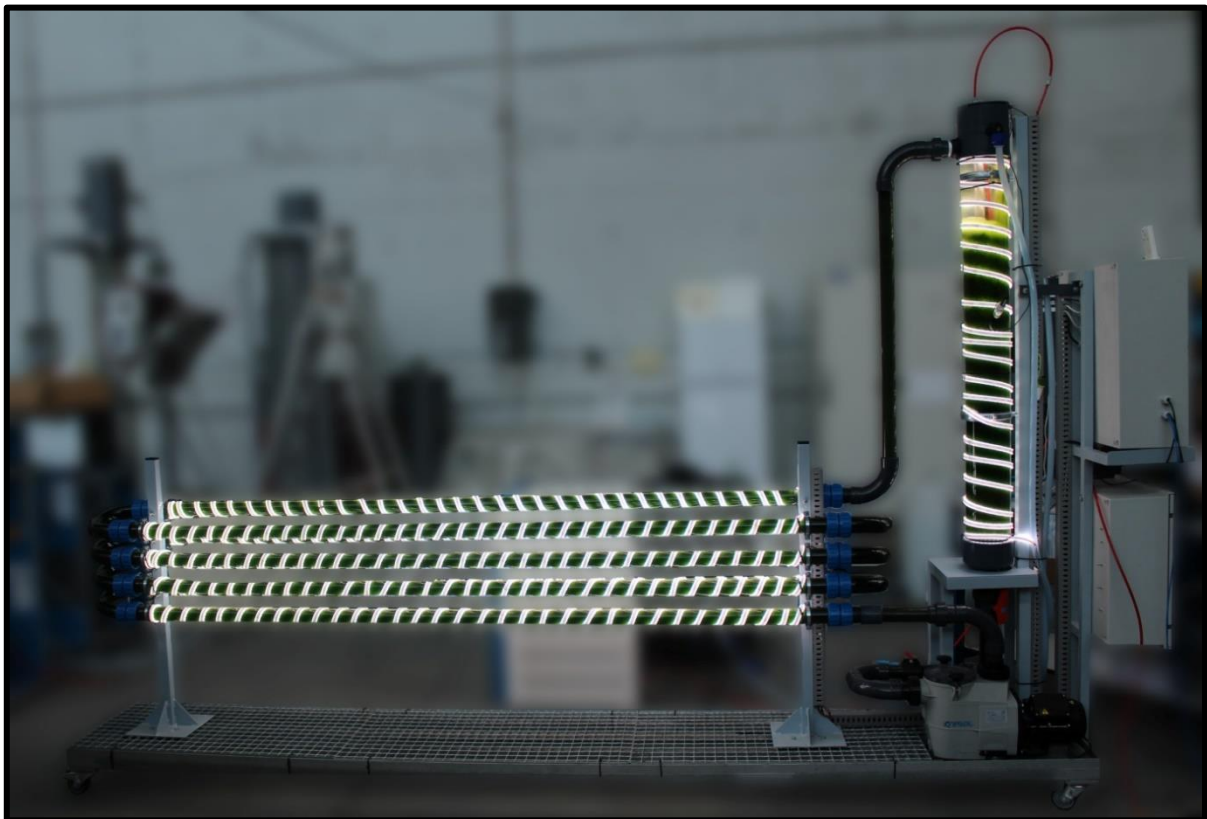


Figura 21. Fotografía tomada al FBR en funcionamiento.

4.2.2. Caracterización fluidodinámica

En la **Figura 22** se muestran los ensayos de estímulo-respuesta realizados para varios caudales de bombeo obtenidas cambiando la consigna en el variador de frecuencia. En esta figura se puede apreciar como el ancho de la zona de respuesta (el pico) va disminuyendo conforme aumenta el caudal ya que la dispersión del trazador se minimiza al aumentar el caudal.

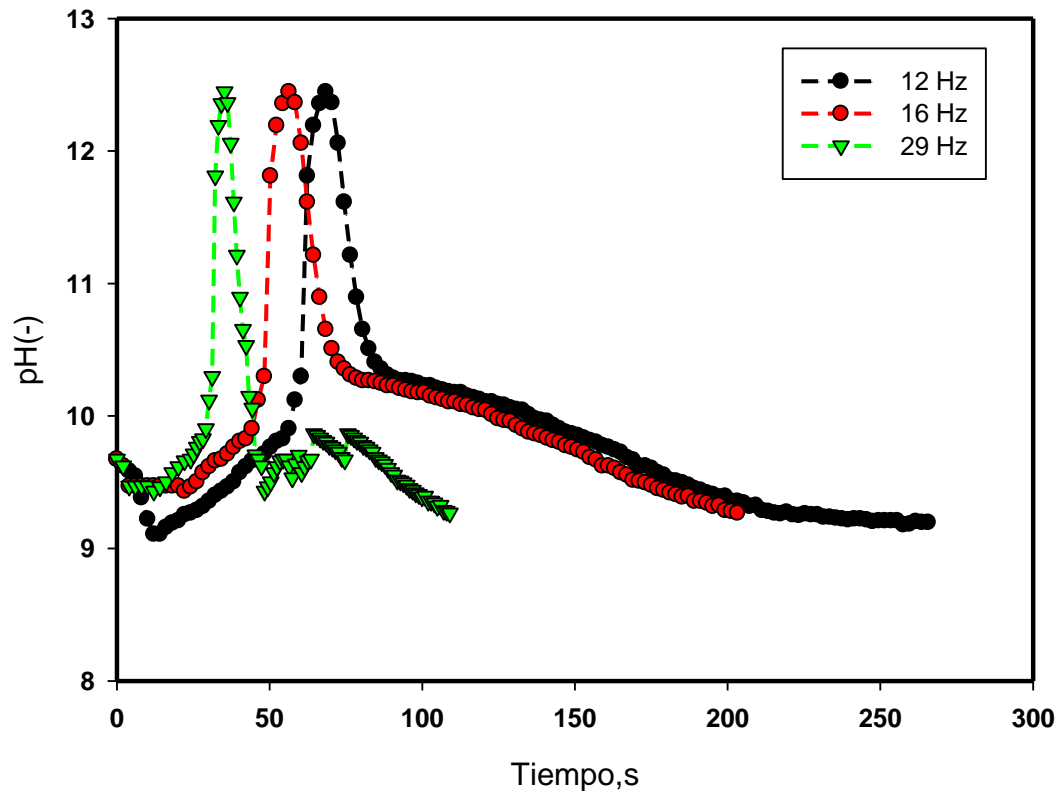


Figura 22. Resultados a los experimentos para el cálculo del tiempo medio de residencia.

Con los tiempos medios de residencia calculados y teniendo en cuenta la longitud total del conjunto de *loops* de tubos se calculan las distintas velocidades de circulación del fluido en el interior de los tubos. En la **Figura 23** se muestra la correlación existente entre frecuencia fijada en el variador y velocidad de circulación del fluido.

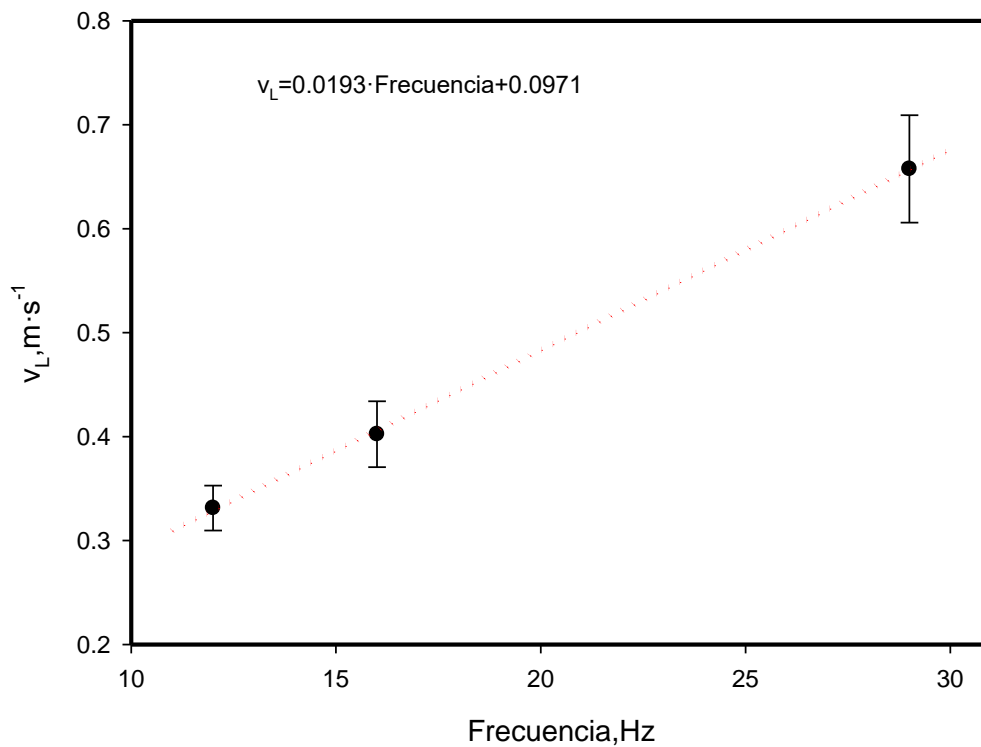


Figura 23. Recta de calibrado que relaciona la velocidad en el interior del colector solar con la frecuencia ajustable en el variador de frecuencia.

4.2.3. Cálculo del coeficiente global de transferencia de materia (K_{La})

A modo de ejemplo en la **Figura 24** se muestra uno de los ensayos del método dinámico de determinación del K_{La} . En esta figura el primer tramo corresponde al proceso de desorción del O_2 del sistema por medio de inyección de nitrógeno (N_2). Tras llegar a un valor bajo de OD se desconectó/apagó el burbujeo de N_2 y comenzó el burbujeo de aire en el sistema incrementándose el valor de OD en el mismo.

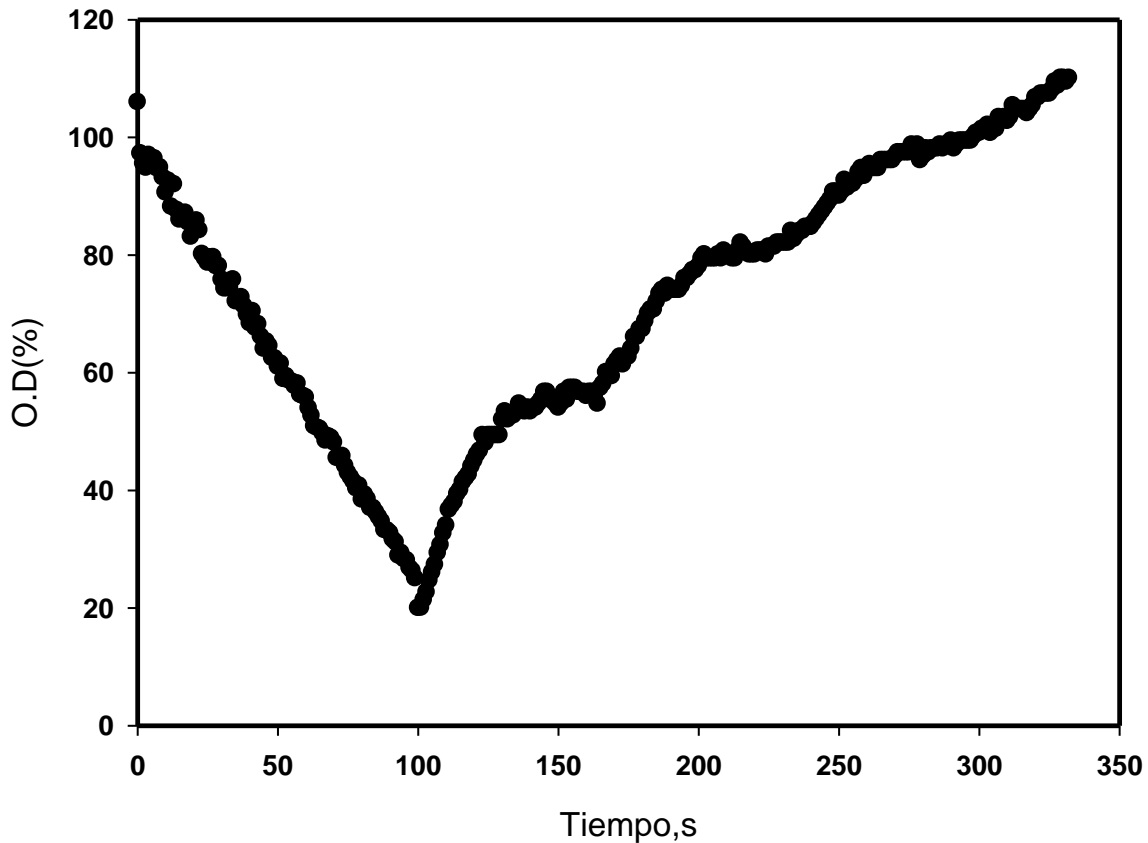


Figura 24. Resultados obtenidos empleando el método dinámico para la obtención del kLa

Los experimentos realizados para distintos caudales de aire (Q_{aire}) y dos alturas de líquido en la columna de desgasificación se presentan en la **Figura 25**. En este punto se debe puntualizar que la entrada del líquido a la columna de desgasificación a partir del colector solar se encuentra a 1,57 m respecto el fondo de esta, por lo que trabajando a alturas inferiores a 1,57 cm se forma una caída de agua desde la entrada del desgasificador hasta el nivel de líquido. En esta figura se puede apreciar como conforme aumenta el valor de Q_{aire} aumenta el valor de K_{La} de forma lineal en el tramo de caudales ensayado. Por otro lado, al trabajar a una altura inferior a 1,57 m debido a la caída de líquido se obtienen valores mayores K_{La} , ya que analizando la gráfica la “cascada” formada contribuye positivamente en el aumento de la transferencia de materia.

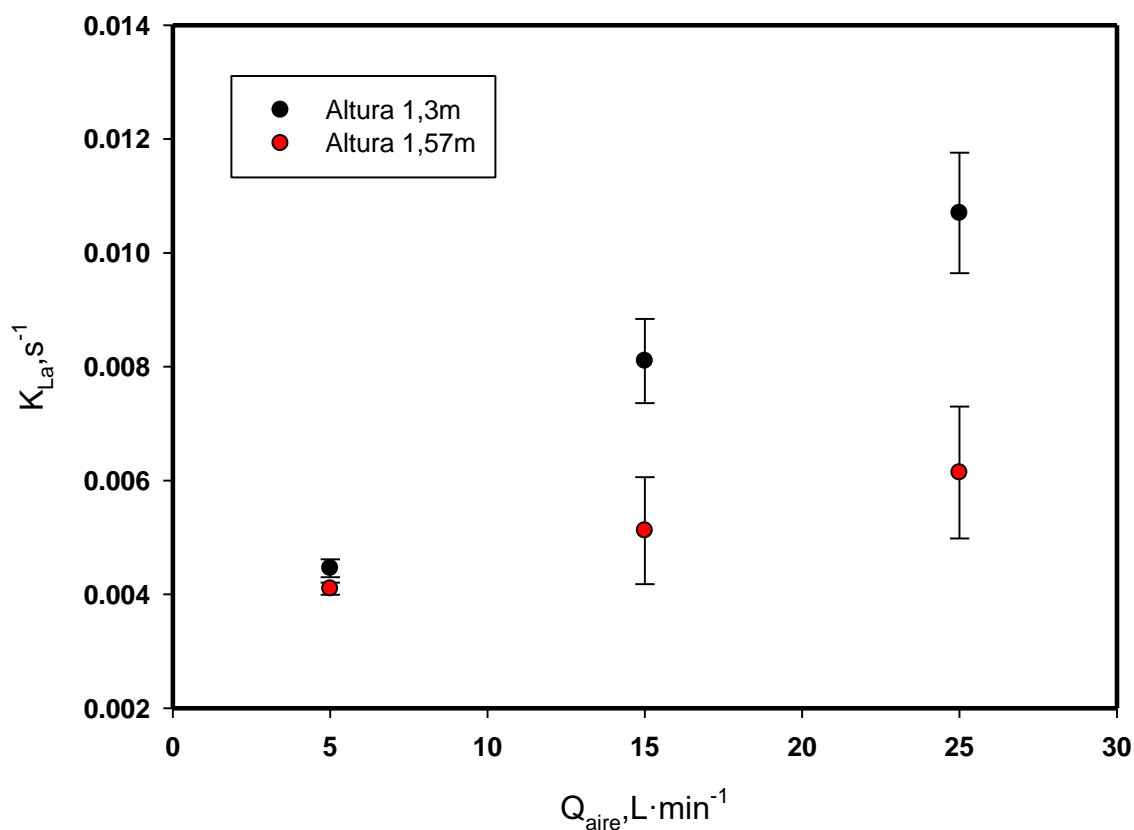


Figura 25. resultados del kLa obtenido en los ensayos con y sin cascada en la columna de desgasificación.

4.3 Fase de cultivo modo batch

El alga se cultivó en el FBR con iluminación LED. En la **Figura 26** se muestra la evolución de la concentración celular (N) para de cultivo de prueba. En los días iniciales del con el fin de evitar posibles efectos de fotoinhibición y facilitar la fotoadaptación del cultivo, se fijó el valor máximo de irradiancia que llegaba al medio de un tubo del colector solar en la hora central del ciclo iluminado (I_{0max}) a un valor de $220 \mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$. Tras 3 días, en los que se alcanzó una N de $1,17 \times 10^8 \text{ cel} \cdot \text{mL}^{-1}$ y C_b de $0,23 \text{ g/L}$ se incrementó el valor de I_{0max} a $660 \mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ (valor máximo que aportaba el dispositivo). El valor de medio de Fv/Fm durante el cultivo fue de $0,676 \pm 0,017$, este valor es sintomático de células fotosintéticamente saludables [26].

En los primeros días de cultivo se alcanzó un valor de velocidad máxima específica de crecimiento (μ_{max}) $0,8 \text{ d}^{-1}$. Este resultado de μ_{max} está en concordancia con los publicados por San Pedro y col. [41] El alcanzar el mayor valor de la velocidad específica de crecimiento (μ) en las etapas iniciales del cultivo es coherente, puesto que estos primeros días la densidad celular es baja por lo que no se producen efectos de autosombreado que minimicen la disponibilidad de luz y las concentraciones de nutrientes no son limitantes.

Analizando la tendencia de PO_4^{-3} y NO_3^{-1} , en la figura 27 se aprecia como en los primeros días se produce un rápido descenso de ambos nutrientes debido a que el cultivo se encontraba claramente en la etapa de crecimiento exponencial, si embargo a partir del día 4 la disponibilidad de PO_4^{-3} es prácticamente nula. En la segunda etapa de cultivo, en la que el valor de I_{omax} fue incrementado, se aprecia un crecimiento lineal. Este comportamiento es atribuible mayoritariamente a una limitación por de uno o varios nutrientes. En esta segunda etapa de cultivo analizando la concentración de fosfatos se observa claramente una limitación por PO_4^{-3} y por luz. Tras 8 días de cultivo nuevamente alcanzó una fase de cultivo estacionaria que es atribuible al deficit nutricional. Finalmente se obtuvo un valor de C_b $1,2g\cdot L^{-1}$ el cual es similar al obtenido por Camacho y col. [39] para el cultivo de *N. Gaditana* en cultivos *batch* llevados a cabo en columnas de burbujeo.

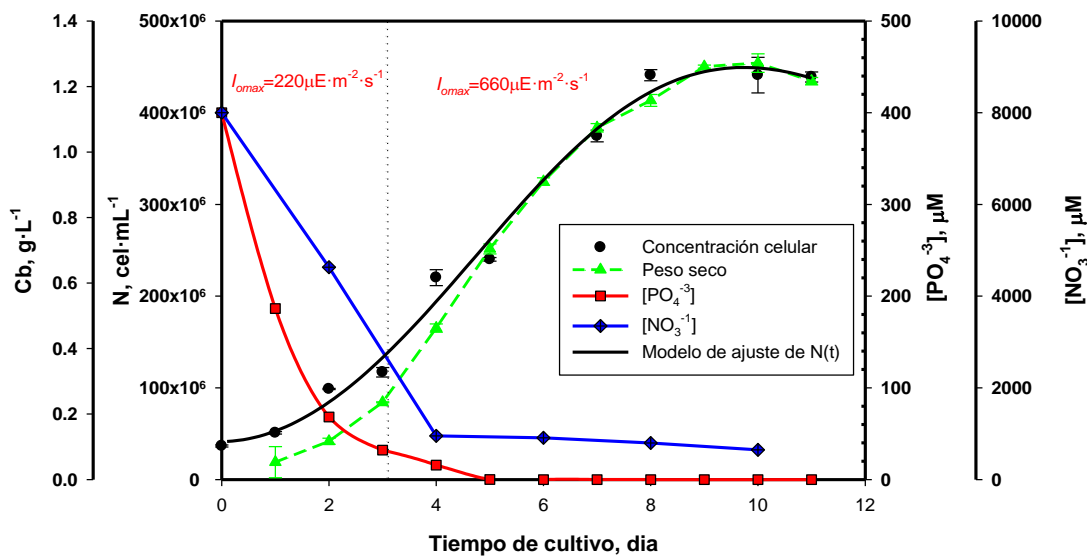


Figura 26. Cultivo batch en FBR tubular. Se representa el peso seco (C_b), la concentración celular (N), la concentración de nitratos (NO_3^{-1}) y fosfatos (PO_4^{3-})

4.3.1. Constatación del correcto funcionamiento de las variables controladas

En la **Figura 27** se muestra la evolución temporal de los parámetros registradas y controlados en el FBR. En cuanto al OD (Figura 28 a), presenta un patrón sigmoideo de variación diario. Este patrón que es similar al de variación de la irradiancia (Figura 28 c) y manifiesta la producción de O_2 fotosintético la fotosíntesis a lo largo del día ya que conforme aumenta la irradiancia aumenta la tasa fotosintética. Analizando la respuesta exhibida por el OD durante todo el cultivo se puede concluir que la función desgasificadora de la columna de desgasificación es satisfactoria ya que en ningún momento el valor de OD en el interior de la misma sobrepasó el valor de 160%.

En cuanto a la evolución temporal de la temperatura (Figura 28 d) puede apreciarse como el valor de esta se mantiene constante entorno a los $25^{\circ}C$ que es el *set point* fijado en el *chiller*, confirmando la idoneidad del equipo para este fin.

La Figura 26 b muestra el comportamiento del pH durante todo el proceso de cultivo. Como puede observarse el valor se mantiene constante entorno a su *set point* de 8. No obstante se observa entorno al 3 día una pendiente decreciente. Esto se debe a un fallo que sufrió el sistema por una sobrecarga externa, el cual fue solucionado tan pronto como fue identificado. Es por esto que tras esto el valor de pH recupera su tendencia previa.

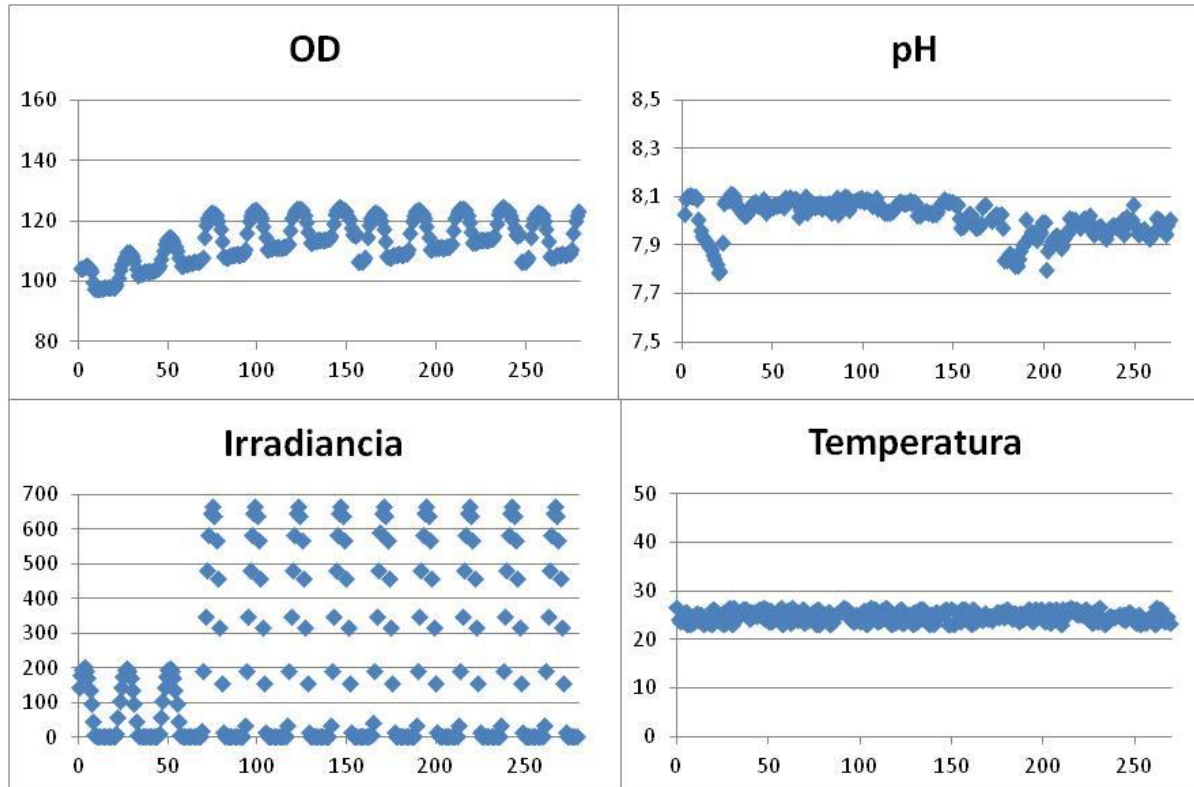


Figura 27. Datos registrados cada hora por el software SCADA. A) Representación del oxígeno disuelto (%) frente al número de horas. B) Representación del pH frente al número de horas. C) Representación de los valores de la irradiancia frente al número de horas. D) Representación de los datos valores de temperatura frente al número de horas.

4.3.2. Constatación fotográfica del biofouling

Se realizó un estudio cualitativo de la información gráfica de la figura siguiente en lo referente a la adhesión de partículas a la superficie del FBR.

Como primera impresión podría admitirse un alto grado de ensuciamiento para un periodo de cultivo tan breve. Un cultivo en modo continuo a escala industrial llega a tener incluso un año de duración, en este caso, en tan solo 12 días ya se aprecia el biofouling y en algunas zonas de formas bastante considerable.

Comenzando este análisis por la **Figura 28 E**, en la columna de desgasificación que aparece en esta se pueden apreciar dos zonas perfectamente diferenciadas. En la mitad superior (E.1) se observa que la adhesión de partículas es muy escasa o nula. Lo contrario ocurre en la parte baja de la columna, observable en E.2, donde la formación de biofouling es notable.

Esto parece ser razonable dado que el burbujeador se encuentra situado en la línea central por lo que se podría admitir que el burbujeo tiene un efecto positivo contra la formación de biofouling.

Además, también es observable en E.3 una fina pero tupida capa blanquecina adherida a la superficie del tubo de metacrilato que conecta los colectores solares con la columna de desgasificación. Esta puede tener diversos orígenes, entre los más plausibles se encuentra un estado inicial de formación de fouling mediante la excreción de sustancias exopoliméricas (*EPS*).

En lo que concierne a los codos, en estos la formación de biofouling es notable permitiendo observar la trayectoria del fluido en el interior del mismo como se observa en la figura C.

En lo relativo al tubo llaman la atención las aglomeraciones un poco más pronunciadas en la parte inferior del tubo. Observando la figura A con cierta atención, así como la figura D puede reconocerse la forma helicoidal que siguen las luces *LED* sobre el tubo. Esto puede ser explicado debido al fenómeno de fotoinhibición, las microalgas evitan la luz muy intensa, ya que reciben más luz de la que es capaz de metabolizar. Esto tiende a un descenso de la concentración celular y a la sedimentación de los restos orgánicos que propician la formación de biofouling. Es por esto que en las zonas dónde se encontraban las luces *LED* aparece una mayor aglomeración celular sedimentada.

Contrario a lo expuesto anteriormente, en la parte superior del tubo, observable en la figura B, se observan círculos que coinciden de forma exacta con los puntos de irradiancia de la tira *LED*, al tratarse de la parte superior del tubo estas células que sufren el fenómeno de fotoinhibición no sedimentan.

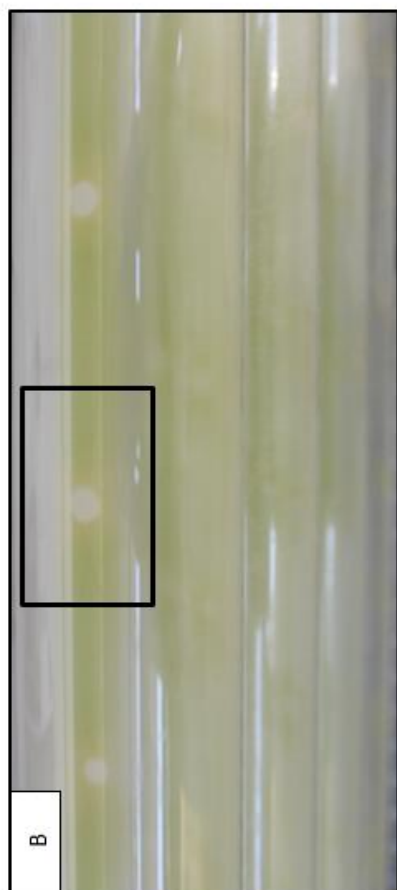
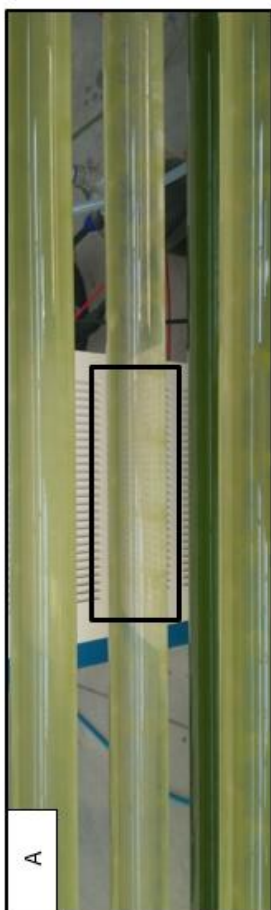
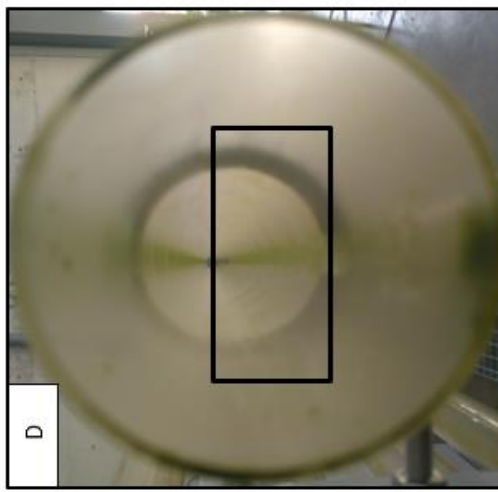
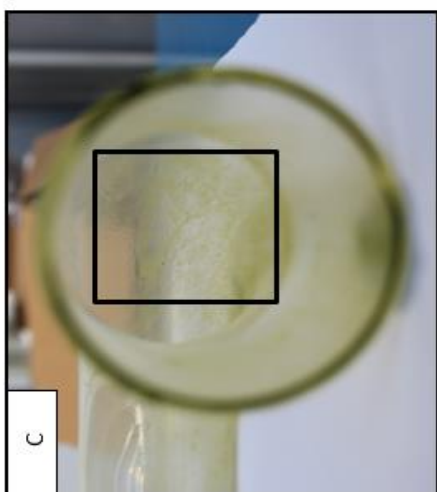
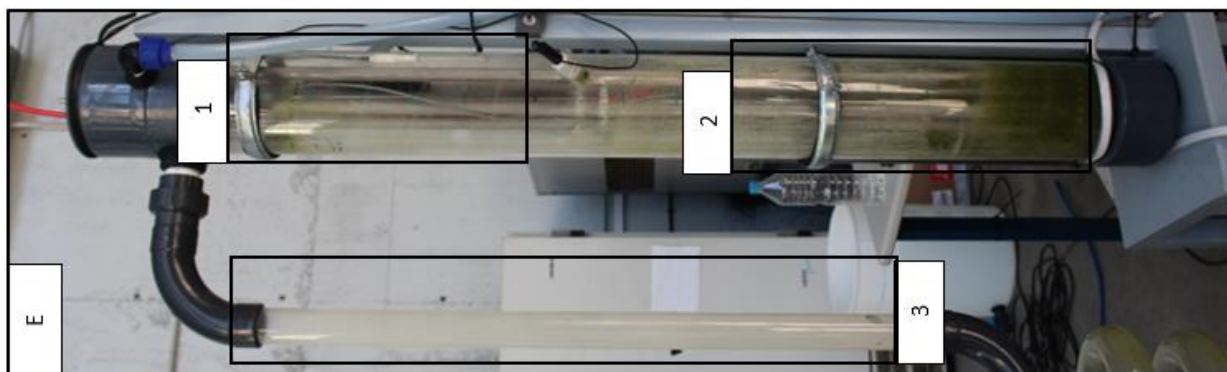


Figura 28. Estudio fotográfico del estado del biofouling. A) Parte baja del tubo. B) Parte superior del tubo. C) Interior del tubo. D) Interior del tubo. E) Columna de desgasificación.

Capítulo 5

Conclusiones y recomendaciones

A la vista de los resultados obtenidos, el FBR, a pesar de los inconvenientes que surgieron durante su construcción, fue finalizado con éxito y el control de todas sus variables es excelente. El cultivo en *batch* realizado a modo test para comprobar todos estos parámetros fue muy satisfactorio consiguiéndose la curva típica de crecimiento en modo *batch* y con una cinética inicial que coincide a la perfección con las referencias previas. Si bien es cierto se observa una segunda etapa con crecimiento lineal, lo que denota, como se ha expuesto anteriormente, una carencia en irradiancia.

Como recomendación, cabe aún posibilidad de mejora en la irradiancia máxima que aportan las luces mediante la instalación de una superficie reflectante alrededor de los tubos que conforman el colector solar, lo cual podría aumentar la irradiancia muy notablemente.

Capítulo 6

Bibliografía

- [1] A. Chemodanov, A. Robin, and A. Golberg, "Design of marine macroalgae photobioreactor integrated into building to support seagrass culture for biorefinery and bioeconomy," *Bioresour. Technol.*, vol. 241, pp. 1084–1093, 2017.
- [2] J. Gallardo-Rodríguez, A. Sánchez-Mirón, F. García-Camacho, L. López-Rosales, Y. Chisti, and E. Molina-Grima, "Bioactives from microalgal dinoflagellates.," *Biotechnol. Adv.*, vol. 30, no. 6, pp. 1673–1684, 2012.
- [3] C. Bergeron, D. J. Carrier, and S. Ramaswamy, *Biorefinery Co-Products: Phytochemicals, Primary Metabolites and Value-Added Biomass Processing*. 2012.
- [4] O. Pignolet, S. Jubeau, C. Vaca-García, and P. Michaud, "Highly valuable microalgae: biochemical and topological aspects.," *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 40, no. 8, pp. 781–96, Aug. 2013.
- [5] F. G. Ación Fernández, J. M. Fernández Sevilla, J. A. Sánchez Pérez, E. Molina Grima, and Y. Chisti, "Airlift-driven external-loop tubular photobioreactors for outdoor production of microalgae: assessment of design and performance," *Chem. Eng. Sci.*, vol. 56, no. 8, pp. 2721–2732, 2001.
- [6] J. M. Fernández-Sevilla, F. G. Ación Fernández, and E. Molina Grima, "Biotechnological production of lutein and its applications.," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 86, no. 1, pp. 27–40, Mar. 2010.
- [7] O. Zerrouh, J.V. Reinoso-Moreno, L. López-Rosales, M.C. Cerón-García, A. Sánchez-Mirón, F. García-Camacho, E. Molina-Grima, "A methodological study of adhesion dynamics in a batch culture of the marine microalga *Nannochloropsis gaditana*," *Algal Res.*, vol. 23, pp. 240–254, 2017.
- [8] O. Zerrouh, J.V. Reinoso-Moreno, L. López-Rosales, M.C. Cerón-García, A. Sánchez-Mirón, F. García-Camacho, E. Molina-Grima, "Biofouling in photobioreactors for marine microalgae," *Crit. Rev. Biotechnol.*, pp. 1–18, 2017.
- [9] L. López-Rosales, F. García-Camacho, A. Sánchez-Mirón, E. Martín Beato, Y. Chisti, and E. Molina Grima, "Pilot-scale bubble column photobioreactor culture of a marine dinoflagellate microalga illuminated with light emission diodes," *Bioresour. Technol.*, vol. 216, pp. 845–855, 2016.
- [10] E. Molina, J. Fernández, F. G. Ación, and Y. Chisti, "Tubular photobioreactor design for algal cultures," *J. Biotechnol.*, vol. 92, no. 2, pp. 113–131, 2001.
- [11] A. Converti, A. Lodi, A. Del Borghi, and C. Solisio, "Cultivation of *Spirulina platensis* in a combined airlift-tubular reactor system," *Biochem. Eng. J.*, vol. 32, no. 1, pp. 13–18, 2006.
- [12] L. Xu, P. J. Weathers, X. R. Xiong, and C. Z. Liu, "Microalgal bioreactors: Challenges and opportunities," *Eng. Life Sci.*, vol. 9, no. 3, pp. 178–189, 2009.

- [13] M. Lehaitre, "BIOFOULING and UNDERWATER MEASUREMENTS M. Lehaitre, C. Compère 18.1.," *Biofilms*.
- [14] N. M. Farhat, J. S. Vrouwenvelder, M. C. M. Van Loosdrecht, S. S. Bucs, and M. Staal, "Effect of water temperature on biofouling development in reverse osmosis membrane systems," *Water Res.*, vol. 103, pp. 149–159, 2016.
- [15] L. Deng, G. Wenshan, N. Huu Hao, Z. Hongwei, W. Jie, L. Jianxin, X. Siqing, W. Yun, "Biofouling and control approaches in membrane bioreactors," *Bioresour. Technol.*, vol. 221, pp. 656–665, 2016.
- [16] L. Deng, G. Wenshan, N. Huu Hao, Z. Hongwei, W. Jie, L. Jianxin, X. Siqing, W. Yun, "Biofouling and control approaches in membrane bioreactors," *Bioresour. Technol.*, vol. 221, pp. 656–665, 2016.
- [17] T. Scheuerman, A. Camper, and M. Hamilton, "Effects of substratum topography on bacterial adhesion," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 208, pp. 23–33, 1998.
- [18] A. Kerr *et al.*, "The early stages of marine biofouling and its effect on two types of optical sensors," *Environ. Int.*, vol. 24, no. 3, pp. 331–343, 1998.
- [19] A. Kerr, M. . Smith, M. . Cowling, and T. Hodgkiess, "The biofouling resistant properties of six transparent polymers with and without pre-treatment by two antimicrobial solutions," *Mater. Des.*, vol. 22, no. 5, pp. 383–392, 2001.
- [20] M. Ecology, "Effect of Light Intensity on Macromolecular Synthesis in Cyanobacteria Author (s): Allan Konopka and Marilyn Schnur Published by : Springer Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/4250630> Effect of Light Intensity on Macromolecular Synthesis," vol. 6, no. 4, pp. 291–301, 2017.
- [21] A. M. Tatsuru Masuda, Ayumi Tanaka and C. A. 94720-3102 Department of Plant and Microbial Biology, 111 Koshland Hall, University of California, Berkeley, "Chlorophyll antenna size adjustments by irradiance in *Dunaliella salina* involve coordinate regulation of chlorophyll a oxygenase (CAO) and Lhcb gene expression," *CEUR Workshop Proc.*, vol. 1225, no. May, pp. 41–42, 2014.
- [22] P. S. C. Schulze, L. A. Barreira, H. G. C. Pereira, J. A. Perales, and J. C. S. Varela, "Light emitting diodes (LEDs) applied to microalgal production," *Trends Biotechnol.*, vol. 32, no. 8, pp. 422–430, 2014.
- [23] C. H. Ra, C. H. Kang, J. H. Jung, G. T. Jeong, and S. K. Kim, "Effects of light-emitting diodes (LEDs) on the accumulation of lipid content using a two-phase culture process with three microalgae," *Bioresour. Technol.*, vol. 212, pp. 254–261, 2016.
- [24] A. Wishkerman and E. Wishkerman, "Application note: A novel low-cost open-source LED system for microalgae cultivation," *Comput. Electron. Agric.*, vol. 132, pp. 56–62, 2017.
- [25] M. Glemser *et al.*, "Application of light-emitting diodes (LEDs) in cultivation of phototrophic microalgae: current state and perspectives," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 100, no. 3, pp. 1077–1088, 2016.
- [26] L. López-Rosales, F. García-Camacho, A. Sánchez-Mirón, E. Martín-Beato, Y. Chisti, and E. Molina-Grima, "Pilot-scale bubble column photobioreactor culture of a marine dinoflagellate microalga illuminated with light emission diodes," *Bioresour. Technol.*, 2016.
- [27] H. C. P. Matthijs, H. Balke, U. M. Van Hes, B. M. A. Kroon, L. R. Mur, and R. A. Binot, "Application of light-emitting diodes in bioreactors: Flashing light effects and energy economy in algal culture (*Chlorella pyrenoidosa*)," *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 50, no. 1, pp. 98–107, 1996.
- [28] L. Nedbal, M. Trtílek, and D. Kaftan, "Flash fluorescence induction: A novel method to study regulation of Photosystem II," *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol. 48, no. 2–3, pp. 154–157, 1999.
- [29] H. Zhang, J. Burr, and F. Zhao, "A comparative life cycle assessment (LCA) of lighting technologies for greenhouse crop production," *J. Clean. Prod.*, vol. 140, pp. 705–713, 2017.
- [30] S. Baer, M. Heining, P. Schwerna, R. Buchholz, and H. Hübner, "Optimization of spectral light quality for growth and product formation in different microalgae using a continuous photobioreactor," *Algal Res.*, vol. 14, pp. 109–115, 2016.

- [31] I. Nishida and N. Murata, "Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: The crucial contribution of membrane lipids.," *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, vol. 47, no. August 2015, pp. 541–568, 1996.
- [32] C. & Graham P, Harris and Hall, "Phytoplankton Ecology: Structure, Function and Fluctuation," vol. 2, no. 12, p. 48109, 1986.
- [33] G. Rhee and I. Gothan, "The effect of environmental factors on phytoplankton growth: temperature and the interactions of temperature with nutrient limitation.," *Limnol. Oceanogr.*, vol. 26, no. 4, pp. 635–648, 1981.
- [34] R. Zeebe and D. Wolf-Gladrow, "CO₂ in Seawater-Equilibrium, Kinetics, Isotopes," *Elsevier*, p. 100, 2001.
- [35] J. A. Soriano, *Mecánica De Fluidos Incompresibles y turbomáquinas Hidráulicas*. 2002.
- [36] V. Karman, "Fórmulas para el cálculo de pérdidas de carga en tuberías," pp. 1–3.
- [37] I. Cree, "www.cree.com/Xlamp." .
- [38] Octave Levenspiel, *Ingeniería de las reacciones químicas*. 2004.
- [39] J. Camacho-Rodríguez, M. C. Cerón-García, C. V. González-López, J. M. Fernandez-Sevilla, A. Contreras-Gómez, and E. Molina-Grima, "A low-cost culture medium for the production of *Nannochloropsis gaditana* biomass optimized for aquaculture," *Bioresour. Technol.*, vol. 144, pp. 57–66, 2013.
- [40] T. Method, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater," *Public Health*, no. 1, pp. 1–7, 1999.
- [41] A. San Pedro, C. V. González-López, F. G. Ación, and E. Molina-Grima, "Marine microalgae selection and culture conditions optimization for biodiesel production," *Bioresour. Technol.*, vol. 134, pp. 353–361, 2013.

Este trabajo consistió en el diseño, instalación y puesta a punto de un fotobiorreactor (FBR) tubular a escala piloto provisto de iluminación artificial mediante diodos de emisión de luz (LED). El FBR se construyó con un tipo de vidrio borosilicatado recomendado específicamente por el fabricante para su uso en fotobiorreactores (FBR). El principal objetivo perseguido con la construcción de este dispositivo era posibilitar estudios futuros sobre la formación del *biofouling* en FBR y establecer metodologías para mitigar su efecto negativo sobre el funcionamiento en este tipo de FBR.

El FBR, con una capacidad máxima de unos 70 L, está provisto de control de pH, temperatura e irradiancia, así como medida del oxígeno disuelto (OD) y caudal de circulación del cultivo. Su principal novedad radica en la implementación de LED multicolor en este tipo de FBR. Irradiancia, pH, OD y temperatura fueron registrados y/o controlados mediante un sistema SCADA. El perfil de irradiancia emulaba el ciclo solar. En el estudio realizado, se describen las diferentes fases por las que transitó la construcción del FBR, incluyendo aspectos relacionados con las modificaciones introducidas respecto del diseño original; se estudió la fluidodinámica del PBR a diferentes velocidades de circulación del fluido y se determinaron coeficientes volumétricos globales de transferencia de materia a distintos caudales de aireación en el desgasificador. Para testear el funcionamiento del FBR, se realizó un simple ensayo de cultivo discontinuo con la microalga *Nanochloropsis gaditana*. Los resultados cinéticos observados fueron coherentes con los reportados por otros autores para la misma especie en condiciones externas. Finalmente se realizó una valoración fotográfica de la formación de biofouling en las diferentes partes del FBR.

