

## Determinación de los parámetros adecuados para la simulación del proceso de crecimiento de la microalga

## Determination of suitable parameters for simulation of the *Chlorella vulgaris* growing in a bubble column fotobiorreactor

Yusleidys Núñez Valdés<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ingeniería Mecánica. Universidad Tecnológica de La Habana “José Antonio Echeverría” (CUJAE). Calle 114 No 11901 entre 119 y 127, Marianao. La Habana, Cuba.

\*Correspondencia: [renia@tesla.cujae.edu.cu](mailto:renia@tesla.cujae.edu.cu)

Este documento posee una [licencia Creative Commons Reconocimiento/No Comercial 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)



### Resumen

A partir de la actual crisis energética desarrollada en el mundo y de la necesidad de disminuir los niveles de contaminación, se despertó el interés por la implementación de fuentes alternativas de energía. Una de las fuentes más investigadas ha sido la utilización de microalgas para la generación de biocombustibles dada su facilidad de crecer en diferentes medios y su variedad. Para un crecimiento adecuado de estos microorganismos es necesario el control de algunas variables como son el pH, concentración de nutrientes, flujo de CO<sub>2</sub> e intensidad de luz. En este trabajo se desarrolló una búsqueda bibliográfica sobre los principales parámetros que influyen sobre el crecimiento microalgal con el objetivo de obtener una alta productividad de biomasa. Fueron estudiadas las principales ecuaciones que responden a cada una de estos parámetros, así como también se identificaron los programas biológicos que existen para su simulación. El programa seleccionado para el proceso de simulación fue el Dessas. La especie de microalga seleccionada para el proceso de simulación fue *Chlorella vulgaris* debido a su fácil adaptación y disponibilidad en Cuba, y como sistema de cultivo un fotobiorreactor de columna de burbujas dada sus ventajas y factibilidad económica.

**Palabras clave:** microalga, *Chlorella vulgaris*, fotobiorreactor, simulación

### Abstract

Starting from the current energy crisis developed in the world and the necessity of diminishing the levels of contamination, it woke up the interest for the implementation of alternative sources of energy. One of the investigated sources has been the microalgae use for the generation of biofuels because of their easiness of growing in different means and their variety. For an appropriate growth of these microorganisms it is necessary the control of some variables as they are the pH, concentration of nutritious, flow of CO<sub>2</sub> and intensity of light. The bibliographical research of this work was developed on the main parameters that influence about the growth microalgae with the goal of obtaining a high productivity of biomass. The main equations that respond to each one of these parameters were studied, as well as the biological programs were identified that exist for their simulation. The program selected for the simulation process was the Dessas. The microalgae species selected for the simulation process was *Chlorella vulgaris* due to its easy adaptation and readiness in Cuba, and as a cultivation system a photobioreactor of given column of bubbles its advantages and economic feasibility.

**Keywords:** microalgae, *Chlorella vulgaris*, photobioreactor, simulation

## 1. Introducción

La crisis energética que afronta el mundo actualmente, está relacionada con la reducción de combustibles fósiles, así como la acumulación de gases de efecto invernadero en la atmósfera, los cuales son los responsables del calentamiento del planeta. Investigadores como Demirbas [1] plantean que los combustibles fósiles representan más del 80 % del suministro total de energía a nivel mundial. Sin embargo, el origen no renovable de estos recursos fósiles, los efectos negativos sobre el medio ambiente que provoca su uso y las vías para mantener e incrementar el desarrollo tecnológico utilizando fuentes alternativas de energía, son de los mayores retos que tiene el hombre en este siglo XXI.

Las fuentes alternativas de energía son las únicas que podrán variar el escenario energético internacional, siempre que sean manejadas con una visión ambientalista y de oportunidades para todos [2]. Entre las fuentes renovables de energía se encuentran la energía hidroeléctrica, la energía solar, fotovoltaica, la energía eólica, los biocombustibles [3, 4] y la biomasa, especialmente la lignocelulósica [5, 6]. Los biocombustibles pueden ser obtenidos de diversas materias primas entre las que se encuentran la palma, la colza y la soya, el girasol, el coco, el cacahuete, la oliva, la mostaza, las microalgas entre otros [8-12].

La utilización de las microalgas como materia prima para la producción de biocombustibles no es una idea moderna. Según investigadores como Tabernero [11] esta práctica comenzó alrededor de los años 70. Aunque durante la segunda guerra mundial, algunos científicos alemanes intentaron extraer lípidos de diatomeas en un intento por resolver la crisis energética [13,14]. En este contexto destacan que el departamento de Energía de los Estados Unidos [15], que organizó un programa para investigar la factibilidad de obtener biocombustibles a partir de estas especies acuáticas, además de igual forma el gobierno de Corea del Sur aunó importantes esfuerzos sobre la producción de biodiesel a partir de microalgas.

Según investigadores como Jagadish [16] las microalgas son denominadas la tercera generación para la producción de biocombustibles. Estos microorganismos presentan una elevada eficiencia fotosintética, lo que las convierten en excelentes secuestradoras de CO<sub>2</sub>. Además tienen la capacidad de crecer en diferentes medios ambientales tales como agua salada, dulce, residual y salobre. También poseen un elevado valor nutricional, rápido período de crecimiento [17] y son capaces de acumular elevadas cantidades de material lipídico y contenido de aceite.

Para la obtención de biocombustibles a partir de microalgas es necesario realizar una serie de etapas. Las mismas van desde su cultivo, centrifugación, secado, extracción de aceite y conversión. Una de las etapas más importantes es el proceso de cultivo, debido a la necesidad de mantener controlados diversos parámetros (pH, intensidad de luz, concentración de nutrientes), los cuales definen una mayor productividad del producto final. El cultivo de microalgas puede ser implementado fundamentalmente en sistemas abiertos o cerrados (conocidos como fotobiorreactores), siendo este último el más utilizado por la comunidad científica dado sus beneficios y ventajas sobre el proceso de cultivo [18-21] .

Actualmente el cultivo de microalgas es un proceso costoso y necesita de diversos requerimientos. Los mismos son usualmente realizados en fotobiorreactores recreando el proceso natural de crecimiento bajo un ambiente controlado. Por esta razón es necesario obtener parámetros de cultivo adecuado que

garanticen una elevada velocidad de crecimiento y productividad de la microalga en estudio. Por los motivos antes mencionados el objetivo del presente trabajo es análisis el estado del arte en la temática de producción de biocombustibles a partir de microalgas y la simulación del proceso de crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* en un fotobiorreactor de columna de burbujas para alcanzar el crecimiento máximo de la biomasa.

## 2. Revisión del estado del arte

### *Breve historia evolutiva de la microalgas*

Los primeros reportes acerca de la utilización de microalgas como alimento por el hombre se remontan al siglo XVI, cuando los cronistas del descubrimiento de América describen la elaboración de unos panecillos a partir de masas de algas que se recolectaban en el lago Texcoco y que utilizaba el pueblo azteca como alimento; sin lugar a dudas se trataba de materia seca de la cianobacteria *Spirulina* máxima. La primera microalga aislada y mantenida en condiciones axénicas fue la *Chlorella vulgaris*, en 1890, aunque hasta la década de 1940, no se iniciaron estudios sobre la fisiología y bioquímica de estos microorganismos [22].

La idea de producir microalgas a gran escala tuvo su origen en Alemania en el año 1942, donde investigadores como Harder y Witsch propusieron que algunas especies de microalgas podrían ser usadas como fuentes de lípidos, como suplemento de comida o para la producción de aceite [23-25]. En 1951 el Instituto Carnegie de Washington financió la construcción en Massachusetts de la primera planta piloto para la producción de microalgas. A principios del año 1960, se tenía conocimientos sobre la biología y fisiología de las microalgas [26]. Sin embargo, un notado interés sobre estos microorganismo comenzó en el año 1970 con la crisis del aceite, fue entonces donde por primera vez las microalgas comenzaron a ser consideradas como una alternativa potencial para la producción de energía [26]. Luego el Departamento de Energía de Estados Unidos en 1980 tuvo como propósito principal promover el uso de algas como materia prima para la obtención de biocombustibles, los cuales podrían competir con combustibles fósiles [27]. Otro centro importante durante esos años fue el Instituto Tokugawa de Tokio donde se llevaron a cabo estudios al aire libre en una planta piloto para el cultivo de microalgas [28].

Actualmente, las microalgas son consideradas como una alternativa viable para la producción de bioenergía sobre la base de una tecnología eficaz y barata [29]. Investigaciones recientes sobre la obtención de biocombustibles (biodiesel, bio-etanol, bio-hidrógeno, bio-aceite y bio-gas) a partir de microalgas han sido desarrolladas mostrando resultados positivos [30-35].

### *Las microalgas. Generalidades*

Las microalgas son organismos microscópicos unicelulares de tamaño variable entre 1  $\mu m$  y 200  $\mu m$ . En general son organismos fotoautótrofos pero también pueden adoptar un metabolismo fotoheterotrófico, mixotrófico y heterotrófico [36]. Usualmente crecen en medios acuáticos, el cual las provee de muchos nutrientes en forma disuelta. Además, implementan energía solar rápida y eficazmente a través de la fotosíntesis [3, 37, 38].

Más de 100,000 especies diferentes de microalgas existen alrededor del mundo, pero solamente más de 30,000 se han investigado y han sido clasificadas, según su color, tamaño, pigmentos, estructura de la

pared celular o su metabolismo. Las microalgas también incluyen los organismos unicelulares (el phytoplankton) existiendo en agua natural que es una fuente esencial de carbono para la fauna acuática [39-41]. Las microalgas *Chlorella sp.* Y *Chlorococcum sp.*, son las mejores para la producción de biodiesel, bioetanol e hidrógeno [37]. En la Tabla 1 se muestran las principales microalgas reportadas en la literatura para la producción de biodiesel.

**Tabla 1.** Contenido lipídico de diferentes especies de microalgas [42, 43]

Microalgas	Contenido de lípidos (%)
<i>Monalanthus salina</i>	72
<i>Botryococcusbraunil</i>	53-75
<i>Dunliellaprimolecta</i>	54
<i>Dunliellabardawil (salina)</i>	16-47
<i>Naviculapelliculsa</i>	45
<i>Radipsphaeranegevensis</i>	43
<i>Biddulphiaaurtia</i>	40
<i>Chlorella vulgaris</i>	5,0-58
<i>Nitzschia palea</i>	40
<i>Ochromonasdannica</i>	39-71
<i>Chlorellapyrenoidosa</i>	36
<i>Peridiniumcinctum</i>	36
<i>Neochlorisoleabundans</i>	29-65
<i>Oocystispolymorpha</i>	35
<i>Chrysochromulina sp.</i>	33-48
<i>Phaeodactylumtricornutum</i>	31
<i>Stichococcusbacillaris</i>	32

Las microalgas pueden agruparse en categorías diferentes basadas en la pigmentación de su estructura biológica: a) las algas verdes (*Chlorophyta*), b) las algas rojas (*Rhodophyta*) y c) las algas diatomeas (*Bacillariophyta*) [33] (ver Tabla2). Ellas también pueden ser clasificadas en dos grupos: autótrofas que sólo exigen a los compuestos inorgánicos para crecer como CO<sub>2</sub>, sales (el nitrato, fosfato) y luz. Esta subcategoría puede ser dividida en fotoautótrofas que usan la luz solar como una fuente de energía y quimioautótrofos que requieren una fuente externa de compuestos orgánicos como la fuente de energía. Se encuentra también el grupo heterótrofo que se agrupó en fotoeterótrofas que usan la luz solar como la fuente de energía y quimioheterótrofo que oxidan los compuestos orgánicos para conseguir la energía. Hay algunos tipos de microalgas que puede usar fuentes diferentes de energía y carbono que se llaman mixotrófico [32, 33, 44, 45].

De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla 1 sobre la microalga *Chlorella vulgaris*, y conociendo que es una de las especies más investigadas por la comunidad científica con fines energéticos [46-51], se puede afirmar que esta microalga podría representar una alternativa al combustible diésel. Es importante señalar que esta especie de microalga puede adaptarse a diferentes medios de cultivo, no se contamina fácilmente y además duplica su peso en solo 2 días. Otras características sobre esta especie serán tratadas a continuación.

**Tabla 2.** Categorías de microalgas basado en su pigmentación [46]

Categorías de microalgas	Información	Imagen
<b>Algas verdes</b>	Existen aproximadamente 8000 especies diferentes de esta categoría disponibles. La razón para el colorido de éstas es debido a Xanthophylls y $\beta$ -carotenos Está disponible en las áreas dónde la luz está abundantemente aprovechable y exista agua fresca o ambientes marinos.	
<b>Algas rojas</b>	Las algas rojas son especies que crecen en el fondo del mar. Su rasgo más llamativo es su tonalidad, producto de un pigmento llamado ficoeritina que se activa con la luz natural. Su nombre científico es <i>Rhodophyta</i> , y se dice que hay unas siete u ocho mil clases con distintas formas y tamaños. Se mantienen y reproducen debajo del agua, a unos 40-250 metros de profundidad.	
<b>Diatomeas</b>	Las diatomeas son el mayor grupo de algas que están entre el tipo más común de plancton del phyto Tiene rango amplio de pH y salinidad dónde crecerán. Se	

---

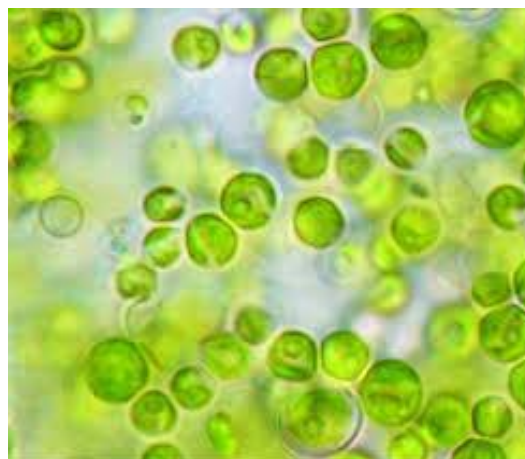
implementan extensivamente como un bio-indicador en la valoración medioambiental y la supervisión. Las diatomeas pueden rendir un total de aproximadamente 100-200 de aceite cuando se compara con el aceite de frijol de soja, y de 7 a 31 de aceite del aceite de la palma.

---

#### *La microalga Chlorella vulgaris y sus potencialidades como materia prima para la producción de biocombustible*

Las microalgas están presentes en todos los ecosistemas existentes de la tierra, no sólo acuático sino también terrestre, lo que representa una gran variedad de especies que viven en una amplia gama de condiciones ambientales. Dependiendo de las especie de microalga a cultivar, éstas sintetizan diversos compuestos como lípidos, proteínas, carbohidratos, azúcares, antioxidantes e hidrocarburos [50], convirtiéndolas en cultivos potenciales en la obtención de materia prima para diversos tipos de combustibles renovables como el biodiesel, metano, hidrógeno, etanol, entre otros.

La microalga *Chlorella vulgaris* es un alga unicelular de color verde (ver Figura 1), de forma esférica, con un diámetro que es entre 100 y 1.000 veces menor a 1 *mm*. El color verde lo obtiene de los cloroplastos, que son las estructuras encargadas de realizar la fotosíntesis. Esta característica le da el nombre *Chlorella* al género, que significa pequeña verde. Esta especie puede crecer en ambientes fototróficos, heterotróficos y mixotróficos. Presenta una elevada cantidad de contenido lipídico en su estructura, razón por la cual ha sido extensamente estudiada [47-49].



**Fig.1** Microalga *Chlorella vulgaris*



Para su adecuado y óptimo crecimiento es necesario establecer ciertas condiciones en el medio en que se encuentra, ya que las mismas tienen un efecto importante en el rendimiento de biomasa y en el contenido de lípidos [51]. Según estudios realizados, la temperatura óptima para su cultivo se comprende entre 25 y 26°C y el rango adecuado de pH es de 7 a 9 [52-59]. Respecto al suministro de dióxido de carbono, las microalgas reducen el nivel de CO<sub>2</sub> atmosférico, disminuyendo así los gases de efecto invernadero contenidos en la atmósfera [60]. Se ha identificado que el género *Chlorella* tolera concentraciones de CO<sub>2</sub> de hasta 40%, sin embargo, las concentraciones óptimas se encuentran entre 5 y 10% [43, 48, 57].

En cuanto a la iluminación del cultivo, Tobío [52], obtuvo interesantes resultados con una iluminación continua de 2000 lux, mediante la utilización de una fuente de luz artificial, con lámparas fluorescentes de 36 W colocadas a una distancia de 10 cm del cultivo. Sin embargo, hay que considerar que cuando la iluminación es continua para las microalgas, produce crecimientos rápidos y acelerados; mientras que, con fotoperíodos intermitentes, el crecimiento es normal y saludable [48]. Otras investigaciones describieron los genes y la vía de producción de lípidos para la generación de biocombustible [58]. Mientras Lara Méndez y otros colaboradores [59] reforzaron la biodegradabilidad anaeróbica de la *Chlorella vulgaris*. Además estos autores probaron que a un temple moderado la descarga del hidrato de carbono prevaleció encima de la proteína durante la hidrólisis. De hecho, la solubilidad de los hidratos de carbono proporcionó una estimación bastante íntima para la producción del metano. Por otra parte la composición ácida grasa del aceite de *Chlorella vulgaris* se determinó vía Cromatografía de Gases (CG) para proporcionar información en la concentración de los componentes los ácidos grasos y ayudar en la estimación de la masa molecular de la muestra de aceite. Los datos resultantes se analizaron usando el software Chemstation.

#### *Influencia de las condiciones de cultivo sobre el crecimiento de las microalgas*

El cultivo de microalga es una etapa muy importante para la producción de biodiesel [64]. Para el crecimiento de biomasa del algal, se requiere un suministro adecuado de luz y carbono que son la fuente para el proceso de la fotosíntesis [65, 66]. La luz juega el papel significativo en la fijación de carbono, y la proporción de crecimiento de mandos [67]. El carbono, el nitrógeno, el fosforo son los elementos requerido para el crecimiento algal y junto con estos micronutrientes, algunos elementos como el manganeso, el cobalto, el azufre, hierro, el magnesio, el calcio, el potasio, etc. [68, 69]. El suministro de nutrientes afecta la calidad de lípidos producida durante el cultivo de la biomasa.

Chiu y otros colaboradores [70] han observado que para las especies de *Nanochloropsis oculata*, la concentración de CO<sub>2</sub> aumento, la concentración de lípidos, también aumento con la producción de la biomasa. El CO<sub>2</sub> era responsable para la mejora de lípidos de un 6% aumentando su suministro a un intervalo de 10–15% [71]. El nitrógeno también juega el papel vital en la síntesis de la proteína y la regulación del crecimiento [72]. Illman [73] observó cinco de las siguientes especies *Chlorella vulgaris*, *Chlorella minutissima* y *Chlorella bmeesonii* las muestras suben en los lípidos reduciendo la concentración de nitrógeno. Macedo y Alegre [74] ilustraron eso con la disminución en la concentración de nitrógeno y temperatura, los lípidos en la *Spirulina* se reforzaron. El fósforo es inherente en la transformación de energía. Liu [78] informó eso en caso de las especies marinas, *Chlorella vulgaris*, la concentración de hierro afecta la acumulación del lípidos. La temperatura es uno de los factores más esenciales para el cultivo de microalgas. Influye en la disociación de las moléculas de carbono, haciéndolo disponible para la fotosíntesis y es proporcional a la producción de microalgas, alcanzando valores óptimos para cada especie, pero en general se estima que el rango apropiado para el desarrollo se

encuentra entre 28 y 35°C [75]. La salobridad también afectará la composición y crecimiento de biomasa [76, 77].

Otros de los factores que afectan el crecimiento del cultivo de las microalgas son el medio acuoso, el agua y el pH, presentando diferentes requerimientos dependiendo de la especie. El agua es un factor determinante para el cultivo de microalgas ya que representa el medio de transporte para los nutrientes (carbono, nitrógeno y fósforo) necesarios para su metabolismo y reproducción [78]. En relación al pH, cada especie requiere un rango determinado que permita un crecimiento óptimo [79]. Durante la fotosíntesis las microalgas producen oxígeno, el cual es utilizado por las bacterias para metabolizar en forma aeróbica los compuestos orgánicos. En este proceso se liberan nutrientes solubles como nitratos, fosfatos y dióxido de carbono en grandes cantidades, estos productos son utilizados por las microalgas para su crecimiento [80]. Lo antes mencionado demuestra que mientras mayor control se tenga de estos parámetros (iluminación, temperatura, CO<sub>2</sub>, agua, y otros nutrientes), las microalgas pueden crecer óptimamente brindando el rendimiento requerido [81].

### *Tipos de cultivo*

Atendiendo a la forma en que adquieren la energía, es decir su modo de nutrición, hay cuatro tipos de metabolismo principalmente: autotrófico, heterotrófico, mixotrófico y fotoheterotrófico. Entre todos ellos, el cultivo fototrófico es regularmente el más usado [82, 83] y debido al cambio en las condiciones medio ambientales, puede observarse cambios en el metabolismo [84]. Los cultivos fototróficos abarcan las modalidades nutricionales fotoautotróficos y mixotróficos ya que en ambos se suministra luz como fuente de energía.

- Cultivo autotrófico

Los organismos autótrofos son organismos que obtienen todos los elementos que necesitan para crecer de compuestos inorgánicos, y, en dependencia de donde extraigan la energía, se dividen en fotótrofos, cuando extraen su energía a partir de la luz, y quimiótrofos, cuando la energía es obtenida a través de la oxidación de compuestos inorgánicos o iones [85].

Por lo general las microalgas son organismos fotótrofos, debido a que emplean la fotosíntesis para obtener energía [86].

- Cultivo heterotrófico

El metabolismo heterotrófico pone en limpio los compuestos orgánicos como una fuente de energía [87-89]. Las microalgas pueden crecer en la ausencia de luz con una concentración alta de lípidos. Existen varios tipos de heterotrofia, la quimoheterotrofia: la energía es obtenida por oxidación de compuestos orgánicos que también sirven como fuente de carbono; fotoheterotrofia: se requiere indispensablemente de la luz para asimilar los compuestos orgánicos [85, 90]. Este método es caro y tiene la proporción de crecimiento más lenta.

- Cultivo mixotrófico

El metabolismo mixotrófico utiliza como fuente de energía tanto la luz como la materia orgánica e inorgánica [85, 90, 91]. Este cultivo se realiza en sistemas cerrados generalmente [36].



### *Comparación de las diferentes condiciones de cultivo*

Según los estudios de Chen [90], la condición de cultivo más investigada e implementada es la fototrófica. Sin embargo, es importante destacar que el empleo de otra condición podría resultar provechoso atendiendo al objetivo perseguido en la investigación. Por ende se hace necesario analizar las características, desventajas de estos métodos con el objetivo de obtener una visión más detallada al respecto, así como realizar una comparación adecuadamente. En la Tabla 3, se reflejarán todos los datos.

**Tabla 3.** Características de las diferentes condiciones de cultivo [86,90]

Cultivo	Fuente de energía	Fuente de carbono	Densidad celular	Costo	Desventajas
<b>Fototrófico</b>	Luz	Inorgánica	Baja	Bajo	Baja densidad Celular
<b>Heterotrófico</b>	Orgánica	Orgánica	Alta	Medio	Contaminación Alto costo de Substrato
<b>Mixotrófico</b>	Luz y orgánica	Inorgánica y orgánica	Media	Alto	Contaminación Alto costo de substrato Alto costo del Equipo
<b>Fotoheterotrófico</b>	Luz	Orgánica	Media	Alto	Contaminación Alto costo de substrato Alto costo del Equipo

### *Factores que influyen el crecimiento de las microalgas o parámetros que afectan el crecimiento de las microalgas*

Las microalgas para crecer necesitan fundamentalmente luz solar, CO<sub>2</sub>, oxígeno, nutrientes y agua [92]. Aunque los requerimientos de estos factores dependen en gran medida de la cepa objeto de análisis y del medio en el cual se realice el cultivo es de suma importancia el estudio de estos parámetros para obtener una calidad óptima de la biomasa.

- Intensidad luminosa

Uno de los factores más determinantes para el crecimiento óptimo de una microalga es la disponibilidad de luz, a la que debe considerarse como un nutriente más ya que va a convertirse en biomasa [92]. La eficiencia de la fotosíntesis depende directamente de la cantidad de luz disponible para la célula [45]. Los organismos fotosintéticos sólo emplean la fracción del espectro de la luz solar que es fotosintéticamente activa, es decir, longitudes de onda entre 350 y 700 nm. Esta fracción

fotosintéticamente activa supone un 40% de la radiación total del sol. En el caso de las microalgas, se han registrado eficiencias de conversión luz-biomasa entre 1 y 4% en sistemas abiertos y aún mayores en fotobiorreactores cerrados [93]. Mantener el nivel de luz requerido es un factor crítico pues esto depende de otros elementos tanto internos como externos. La irradiancia promedio recibida por cada célula está determinada por la irradiancia incidente, la geometría del reactor y el sistema de mezclado, que asegura el continuo movimiento de las células desde zonas oscuras a iluminadas y viceversa para que la exposición sea óptima [94, 95], evitando la fotoinhibición y daños por estrés fotooxidativo que repercutiría en el crecimiento celular [96, 97]. Las algas adaptadas a bajos niveles de luminosidad tienen una respuesta más rápida a cambios en la intensidad luminosa que las que se encuentran adaptadas a intensidades altas de luz [98]. Las algas se adaptan a los cambios de luz variando el contenido [99]. Por ello se debe asegurar que la intensidad y penetración de la luz adquieran niveles óptimos, para así lograr un crecimiento y eficiencia de cultivo lo suficientemente elevado [45, 100, 101].

- Temperatura

Al igual que ocurría con la luz, las microalgas son capaces de desarrollarse en un amplio rango de temperaturas, fuera del cual el crecimiento se ve inhibido y observándose una temperatura óptima en la cual el crecimiento es máximo [99]. La mayor influencia de la temperatura no es sobre crecimiento, aunque puede modificar la concentración lipídica [45]. No obstante, a cada especie de microalga le corresponde un intervalo específico de temperatura para su crecimiento. Otro elemento importante es que dada la naturaleza de este factor ambiental (fundamentalmente generado por la radiación recibida), su efecto se encuentra muy relacionado con el régimen de luz solar recibida [99]. Para altos valores de temperatura generalmente aceleran el metabolismo de las microalgas para evitar esto se hace imprescindible el control de la temperatura garantizando el crecimiento óptimo.

- pH

Este factor tiene influencia directa sobre la forma química de los nutrientes en disolución. El pH debe ser controlado para asegurar el buen funcionamiento de las rutas metabólicas. En la mayoría de cultivos de microalgas su valor se encuentra entre 7 y 9, con un óptimo entre 8,2 y 8,7. Además, en el proceso de fijación del CO<sub>2</sub> el pH del medio aumenta debido a la acumulación de grupos hidroxilo, este aumento puede ocasionar la eliminación de parte del nitrógeno en forma de amoníaco a la atmósfera y del fósforo disponible por precipitación del mismo [101]. Es por lo tanto imprescindible el control de dicho parámetro, realizándose el mismo mediante aireación o inyección controlada de dióxido de carbono o corrección del valor mediante incorporación de ácidos y bases.

- Oxígeno disuelto y concentración de CO<sub>2</sub>

El nivel de oxígeno disuelto en el medio de cultivo debe ser controlado ya que a elevadas concentraciones dicho oxígeno puede inhibir la acción de la enzima (RuBisCo) que participa en el proceso de fijación de CO<sub>2</sub>. Esta inhibición se ve favorecida por alta radiación y temperatura, así como en el caso de déficit de CO<sub>2</sub>. Además, la producción fotosintética de oxígeno en cultivos de alta densidad puede alcanzar hasta 40 mg O<sub>2</sub> · L<sup>-1</sup>, de modo que mediante la radiación adecuada pueden llegar a desarrollarse radicales de oxígeno. Estos radicales libres serían tóxicos para las células y causarían daños en sus membranas. La presión parcial del oxígeno en el cultivo puede disminuirse mediante aumento de la turbulencia y remoción con aire [92, 99, 101].

- Aireación

El flujo de  $\text{CO}_2$  es importante para mantener una alta productividad, además de eso, la aireación es esencial para mantener los niveles de  $\text{O}_2$  por debajo de la saturación, que puede alcanzar valores mayores de hasta cinco veces la concentración de saturación. La alta concentración de  $\text{O}_2$  en el medio inhibe el proceso de la fotosíntesis y la célula pasa a realizar la fotorespiración, lo cual limita su crecimiento. La acumulación de  $\text{CO}_2$  en la célula por la aireación constante y en altas tasas puede eliminar este problema. El límite de cada especie y el aumento de la concentración de  $\text{CO}_2$  deben ser observados. Una aireación eficiente también contribuye al aumento de la tasa de transferencia de masa entre el gas y el líquido, disminuyendo y manteniendo el tamaño de las burbujas de gas. Otra contribución importante de la aireación es la cuestión de los cultivos densos, una buena mezcla evita la concentración de células por mucho tiempo en lugares de baja iluminación en el sistema de cultivo. [103]

- Agitación

La agitación en el medio en un rango adecuado permite impedir la sedimentación y acumulación de las algas, homogeneiza el pH y la distribución de nutrientes y luz en todo el cultivo. El flujo turbulento es propio para cultivos de moderada densidad, aunque si bien es cierto que debe considerarse que en ocasiones la agitación fuerte supone daños sobre las algas que son sensibles al estrés hidrodinámico. En cambio una correcta agitación es capaz de someter a las algas a ciclos rápidos de mezclado, en los que en cuestión de milisegundos pasan de una zona oscura a una zona iluminada [101].

Como norma general, los fotobiorreactores con alta densidad de cultivo han de ser en general delgados y disponer de mezclado rápido, para que la eficiencia de conversión de la luz solar se vea incrementada. Sin embargo, tanto la construcción como la operación de reactores delgados no hacen fácil su escalabilidad de modo rentable, debido a las necesidades de terreno. Sin embargo, no todas las especies toleran una agitación fuerte que provea al reactor de un buen mezclado, ya que son sensibles al estrés hidrodinámico. De hecho, para Gudin & Chaumont [103] la fragilidad de las células de las microalgas frente al estrés hidrodinámico es uno de los factores clave a estudiar en la producción masiva de microalgas en fotobiorreactores cerrados.

- Nutrientes (Efectos del carbono, nitrógeno y el fósforo)

Los principales nutrientes que las microalgas toman del medio para su desarrollo son:

- Carbono

Las microalgas emplean el  $\text{CO}_2$  presente en la atmósfera (fijación de carbono), así como los iones bicarbonato ( $\text{HCO}_3$ ) con la ayuda de una enzima llamada anhidrasa carbónica, como fuente de alimentación. En promedio, son capaces de tolerar hasta unas 150000 ppmv de  $\text{CO}_2$  en aire, aunque hay especies, como *Chlorella*, que han mostrado que toleran hasta 400000 ppmv.

El consumo normal de las microalgas se sitúa entre 200 y 600  $mg\ CO_2 \cdot L^{-1} \cdot d^{-1}$ , aunque se han recogido datos de consumo de 800 y 1000  $mg\ CO_2 \cdot L^{-1} \cdot d^{-1}$  en cultivos de *Chlorella sp.*, interesantes sobre todo en aplicaciones de mitigación del efecto invernadero de los gases de escape de diversas industrias [99, 101].

#### ➤ Nitrógeno

El nitrógeno es el principal nutriente que requieren las microalgas para su crecimiento. Como se recoge en Barsanti & Gualtieri [104]. Estas pueden tomar nitrógeno del medio generalmente en forma de urea, nitrato, nitrito, amonio, nitrógeno gas y óxidos de nitrógeno. La asimilación del nitrógeno, que es desarrollada por todas las algas eucariotas, sólo puede llevarse a cabo a partir de amonio, nitrito o nitrato. El amonio es la forma de nitrógeno preferida por las microalgas ya que no necesita ninguna reacción de reducción para ser asimilado, lo que supone menos gasto de energía para éstas, seguido en orden de preferencia por el nitrito y luego el nitrato. Algunos estudios han mostrado que el consumo de nitrato no sucede mientras existe algo de amonio en el medio [105]. Por tanto, aguas residuales con alto contenido de amonio suponen un sustrato idóneo para los cultivos de microalgas. Sin embargo, se ha podido comprobar en varias especies de microalgas que contenidos muy altos de amonio también pueden limitar el proceso decrecimiento, estando el intervalo de tolerancia de amonio entre los 0,35 y 14  $mg\ N-NH_4 \cdot L^{-1}$  [106].

#### ➤ Fósforo

Este compuesto, también esencial para el desarrollo de las microalgas aunque en cantidades menores que los anteriores, se toma del medio en forma de ortofosfatos, la concentración de las formas protonadas depende del pH del medio. Factores como un pH excesivamente alto o bajo, o la ausencia de iones como potasio, sodio o magnesio, ralentizan la toma de fosfatos. Con relación a la concentración de fósforo, cobra importancia la relación N: P en el medio de cultivo. Dicha relación debe ser próxima a la propia de la especie, tratándose en el caso de *Chlorella* de 8:1. Aunque el carbono, nitrógeno y fósforo son los componentes esenciales, el medio de cultivo debe contener también macronutrientes/micronutrientes. Estos últimos elementos traza resultan importantes en el desarrollo de reacciones enzimáticas y en la biosíntesis de compuestos necesarios para el metabolismo. Al igual que el fósforo, estos micronutrientes tienen tendencia a la unión con otros componentes del medio y en consecuencia la precipitación es habitual. Para evitarlo se añade al medio metales como el EDTA (Na-EDTA más concretamente al ser fácil de disolver).

#### *Tipos de sistemas para el cultivo de microalgas. Ventajas y desventajas*

El interés a nivel mundial que está viviendo la tecnología del cultivo de microalgas hace que cada vez sea más importante el estudio de los sistemas de producción a gran escala de forma que se pueda optimizar el tamaño o volumen de los fotobiorreactores, los costos de construcción y explotación (energía demandada), así como el mantenimiento y la vida útil para lograr mejores resultados en los cultivos. De manera general para el cultivo de microalgas existen dos sistemas principalmente: los sistemas abiertos y los sistemas cerrados también conocidos como fotobiorreactores [107]. Los sistemas de crecimiento más extendidos son los abiertos, estos son menos costosos y más sencillos de construir. También tienen inmensamente mayor capacidad y operan con la luz solar, el  $CO_2$  del aire y los nutrientes que puedan existir en el agua [108, 109].

### *Sistemas abiertos*

Debido a que las algas necesitan de luz solar, CO<sub>2</sub> y agua para crecer, pueden ser cultivadas en estanques y lagos. A estos tipos de cultivos se los llaman sistemas abiertos [37]. Los sistemas abiertos son estanques poco profundos que consisten en un circuito de paralelo y cauces donde la microalga, el agua y los nutrientes circulan propulsados por una rueda del remo para prevenir la sedimentación [110]. Ellos deben ser expuestos a la luz del sol y tener una profundidad de entre 0,2 y 0,5 m para mejorar difusión de la luz [37]. Este tipo de sistema es de los más abundantes y más antiguos, son menos costosos y más sencillos de construir. También tienen inmensamente mayor capacidad y operan con la luz solar, el CO<sub>2</sub> del aire y los nutrientes que puedan existir en el agua [108, 109]. El riesgo a que están expuestos estos sistemas principalmente se debe a la posibilidad de que la cepa sea contaminada por otras especies, poniendo en riesgo la efectividad del cultivo. También son dependientes a las condiciones ambientales, de manera que no se tiene control sobre la temperatura del agua, la evaporación y la cantidad de luz suministrada por el sol [44].

### *Sistemas cerrados*

El cerrado o fotobiorreactores presenta protección del medioambiente con objetivo de proteger al cultivo de la contaminación de otros organismos no deseados (algas competidores, parásitos, epifitos, etc.) o sustancias químicas que pueden resultar tóxicas para las algas en cuestión [111]. Se caracterizan por su facilidad de control, su bajo riesgo de contaminación y su flexibilidad de diseño [108]. Se construyen de materiales transparentes como vidrio y policarbonato con el fin de permitir el paso de la radiación lumínica necesaria para los procesos fotosintéticos [48]. Pueden ser diseñados para que su iluminación sea por métodos artificiales, por luz solar, o por ambas, según el requerimiento del microorganismo. Dependiendo del tipo de cultivo y su objetivo se pueden emplear distintas configuraciones de fotobiorreactores, siendo las más utilizadas los sistemas tubulares, los tipos plato plano y los de columna de burbujas [44, 48, 112].

**Tabla 4.** Comparación entre los sistemas abiertos y los sistemas cerrados

<b>Tipos de sistemas</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
<b>Abiertos</b>	La simplicidad en la construcción, la operación y los costos de la producción son los más bajos. Pueden trabajar con cantidades altas de CO <sub>2</sub> . Bueno para cultivos en masa de microalgas.	Las microalgas pueden ser contaminadas por las especies externas. El control de los parámetros durante el proceso es difícil. Bajas productividades y ocupan grandes espacios.
<b>Cerrados</b>	Mejor control de variables, alcanzan concentraciones de biomasa superiores. Evitan la evaporación de agua. Minimizan la contaminación del cultivo y permiten trabajar con monocultivos.	Costo de instalación y mantenimiento más altos.

Los aspectos que más se ha tenido en cuenta para el diseño de fotobiorreactores es la posibilidad de escalar estos sistemas, pues muchos se enfrentan a inconvenientes en el control de los parámetros biotecnológicamente más importantes, cuando se agrandan sus dimensiones, como por ejemplo: la acumulación de oxígeno disuelto [48].

### *Simulación del proceso de crecimiento de microalgas*

La simulación constituye un factor importante en el desempeño de un ingeniero. Debido a que este no debe solamente basarse en la teoría para la ejecución de sus dos tareas más importantes: la operación de las instalaciones existentes y el diseño de nuevas plantas o modificaciones importantes a las existentes; sino que para ser efectiva su labor debe conducir un análisis de carácter complejo el cuál se manifiesta por la multiplicidad y diversidad de las variables y sus relaciones y a la vez realizarlo de forma tal, que esa complejidad no impida llegar a conclusiones claras [113]. En la actualidad estos análisis se desarrollan a través del uso conjunto de modelos matemáticos y herramientas de simulación las cuales le permiten dar solución a los problemas de manera más integra.

### *Modelación matemática de los procesos biológicos*

La ingeniería de procesos moderna se basa en el uso de modelos matemáticos rigurosos para realizar tareas de análisis, diseño, optimización y control. El desarrollo de un modelo matemático puede considerarse como un ciclo en el que la estimación de parámetros y el diseño óptimo de experimentos dinámicos juegan un papel fundamental. La estimación de parámetros se plantea como la minimización de una función de coste que mide la calidad del ajuste del modelo con respecto a un conjunto de datos experimentales, sujeto a la dinámica del sistema y a otras posibles restricciones algebraicas. Esta formulación corresponde a la de un problema de optimización no lineal con ecuaciones diferenciales ordinarias y algebraicas como restricciones.

Se puede considerar un modelo matemático como el que representa el objeto real mediante el lenguaje matemático, permite llegar a resultados en términos cuantitativos y cualitativos, tomar decisiones y seleccionar alternativas más adecuadas. Estos modelos reflejan de forma aproximada el objeto real. Para su construcción es necesario el conocimiento del problema correspondiente [114].

La modelación matemática de procesos biológicos es un instrumento para describir y verificar los procesos cinéticos que intervienen en el cultivo intensivo de microalgas en fotobiorreactores, y una herramienta para predecir el comportamiento de estos procesos, aplicable al diseño, evaluación y control de procesos. Los modelos de los procesos de cultivo intensivo de microalgas varían en su complejidad, según el número de componentes y procesos biológicos considerados, según se trate de modelos de estado estacionario o dinámico; y según que el reactor biológico se considere un dominio con concentraciones homogéneas o distribuidas en el espacio. En estos últimos modelos se describe el proceso biológico a través de un número de componentes del medio de cultivo, que siguen unos procesos biológicos de transformación, y cuya concentración se expresa a través de un sistema de ecuaciones diferenciales, que se obtienen mediante balances de materia de los diferentes componentes. En algunos casos hay que aplicar balances de energía y de cantidad de movimiento [115]. El grado de detalle con el que se describen los procesos determina la complejidad final del modelo, pero también el grado de variabilidad de sus parámetros. A continuación se describen las expresiones matemáticas y la forma general que poseen los modelos matemáticos utilizados para la simulación de las EDAR [99].



### *Modelación matemática de la cinética del crecimiento microbiano*

La modelación matemática de procesos biológicos es un instrumento para describir y verificar los procesos cinéticos que intervienen en el cultivo intensivo de microalgas en fotobiorreactores, y una herramienta para predecir el comportamiento de estos procesos, aplicable al diseño, evaluación y control de procesos. Los modelos de los procesos de cultivo intensivo de microalgas varían en su complejidad, según el número de componentes y procesos biológicos considerados, según se trate de modelos de estado estacionario o dinámico; y según que el reactor biológico se considere un dominio con concentraciones homogéneas o distribuidas en el espacio. En estos últimos modelos se describe el proceso biológico a través de un número de componentes del medio de cultivo, que siguen unos procesos biológicos de transformación, y cuya concentración se expresa a través de un sistema de ecuaciones diferenciales, que se obtienen mediante balances de materia de los diferentes componentes. En algunos casos hay que aplicar balances de energía y de cantidad de movimiento [45, 115].

En la literatura se reportan varios modelos matemáticos empleados en el cultivo intensivo de microalgas en fotobiorreactores, obtenidos de resultados experimentales de un grupo de muestras. A continuación se ejemplifican algunos de estos y su desarrollo matemático.

#### *Formato y notación de los modelos*

El modelo de Monod fue sugerido por Nobel Laureate J. Monod en 1942 y por más de 60 años ha sido uno de los modelos más usados en microbiología [116]. El modelo cinético de Monod es largamente utilizado en tratamientos de efluentes, biorremediaciones y varias otras aplicaciones ambientales envolviendo el crecimiento de microorganismos. Este modelo describe el efecto de crecimiento limitante en función de tasa específica de crecimiento donde la producción de biomasa es dependiente de la disponibilidad de nutrientes.

- Velocidad específica de crecimiento ( $\mu$ ):

$$\mu = \frac{\ln x_2 - \ln x_1}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

Donde:

$x_1$  y  $x_2$  representan la densidad celular a tiempos  $t_1$  y  $t_2$ .

Modelo de estimación de la producción de biomasa microalgal en fotobiorreactores basado en el Carbono Inorgánico Total (CIT) en el medio.

Este modelo fue propuesto por Baquerisse [117] el cual se divide en dos sub-modelos: (i) cinética de crecimiento, y (ii) transferencia de masa gas-líquido en el fotobiorreactor. Así, el modelo dinámico del proceso considera dos ecuaciones a saber: biomasa y balances de Carbono Inorgánico Total (CIT). La concentración del carbono inorgánico está asociada con el incremento de la densidad celular.

- La evolución del número de células puede ser expresada por:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{F_{ent}}{V} \times X_{ent} + \mu \times X - \frac{F_{sal}}{V} \times X_{sal} \quad (2)$$

Donde:

$\mu$  es la velocidad específica de crecimiento, X concentración de biomasa por unidad de volumen de cultivo, F velocidad de flujo del medio y V volumen de cultivo.

- El balance de la concentración del Carbono Inorgánico Total (CIT) en la solución acuosa, puede ser calculada como:

$$\frac{d[CIT]}{dt} = \frac{F_{ent.}}{V} \times [CIT]_{ent.} - \frac{F_{sal.}}{V} \times [CIT]_{sal.} - \mu \times \frac{X}{Y_{X/S}} - m \times \frac{X}{Y_{X/S}} + kla([CO_2^*] - [CO_2]) \quad (3)$$

Donde:

$Y_{X/S}$  es una relación de conversión másica, m es el coeficiente de mantenimiento, y kla es el coeficiente de transferencia de masa gas-líquido.

- Por definición, la concentración de  $CO_2$  en el medio fresco  $[CO_2^*]$  es expresado por:

$$[CO_2^*] = \frac{[CIT]}{\left[1 + \frac{K_1}{[H^+]} + \frac{K_1 \times K_2}{[H^+]^2}\right]} \quad (4)$$

Donde:

$k_1$  y  $k_2$  son las constantes cinéticas, y  $[H^+]$  es la concentración de iones hidrógeno en el medio de cultivo, definido por:

$$[H^+] = 10^{-pH} \quad (5)$$

Integrando el modelo de transferencia de luz [118] que describe la evolución de la intensidad de luz incidente y saliente, la cantidad de luz accesible por la célula (E) y la intensidad de luz saliente ( $I_{sal.}$ ), pueden ser calculadas usando las siguientes ecuaciones:

$$E = \frac{(I_{ent.} - I_{sal.}) \times A_r}{V \times X} \quad (6)$$

$$I_{sal.} = C_1 \times I_{ent} \times X^{C_2} \quad (7)$$

Donde:

$A_r$  es el área iluminada del fotobiorreactor y,  $C_1$  y  $C_2$  son constantes que dependen de la geometría del fotobiorreactor.

- La productividad biomasa ( $g\ l^{-1}\ d^{-1}$ ) en cultivos en régimen continuo se determinó:

$$Productividad\ biomasa(g\ l^{-1}\ d^{-1}) = C_b(g\ l^{-1} \times D(d^{-1})) \quad (8)$$

Donde:

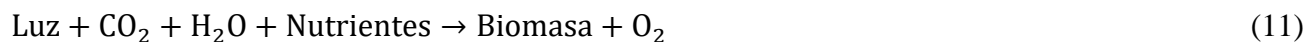
$C_b$  es la densidad celular; D es la tasa de dilución impuesta al cultivo ( $d^{-1}$ ).

- La tasa de fijación fotosintética por parte de los cultivos se determinó:

$$Tasa\ de\ fijación\ de\ CO_2(g\ l^{-1}\ d^{-1}) = 3.66 \times [C_{orgánico}](g\ l^{-1}) \times D(d^{-1}) \quad (9)$$

- La eficiencia fotosintética (R) medida en  $g\ MJ^{-1}$ , es una medida de la capacidad de conversión de la energía solar en energía química, esto es, biomasa. Para su determinación se utilizó la siguiente ecuación:

$$R(\%) = \frac{\text{Productividad biomasa}(\text{gm}^{-2}\text{d}^{-1}) \times \text{calor combustión}(\text{KJg}^{-1})}{\text{Irradiancia}(\text{MJm}^{-2}\text{d}^{-1})} \quad (10)$$



$$L = \frac{U_L([O_2]_{\text{out}} - [O_2]_{\text{in}})}{R_{O_2}} \quad (13)$$

Donde:

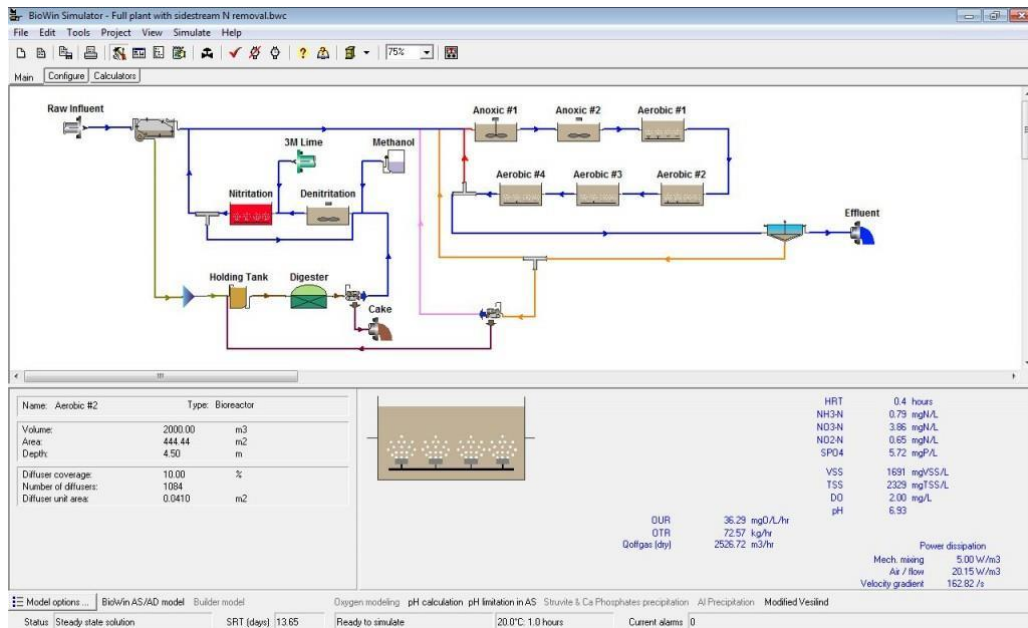
L es la longitud del tubo en (m),  $U_L$  velocidad superficial del líquido en el tubo en ( $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ ),  $R_{O_2}$  es la proporción volumétrica de la generación de oxígeno en ( $\text{mol O}_2 \text{ m}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$ ),  $[O_2]_{\text{in}}$  la concentración de oxígeno disuelto a la entrada del tubo solar ( $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) y  $[O_2]_{\text{out}}$  la concentración de oxígeno disuelto a la toma de corriente del tubo solar ( $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ).

### 3. Softwares para la simulación del proceso de crecimiento de microalgas

En la actualidad existen diversos programas comerciales que permiten simular cambios que se deseen introducir a un proceso ya existente, sin necesidad de realizar corridas de prueba en la planta industrial real. Esto ahorra tiempo de productividad y los ensayos en el simulador son de menor costo, pudiendo realizarse un gran número de pruebas [119]. Estos programas incluyen algunos de los modelos matemáticos que se han mencionado anteriormente. A continuación se describen los programas para simulación de tratamientos de aguas residuales más utilizados actualmente, ninguno de los cuales permite simular la recuperación de nutrientes a partir de cultivos de microalgas.

#### *BioWin*

BioWin es uno de los simuladores de tratamiento de aguas residuales que más éxito ha cosechado en los últimos tiempos. Este fue uno de los primeros programas comerciales. Es capaz de simular de forma conjunta los procesos biológicos, físicos y químicos que se dan en una EDAR con un modelo determinístico global. Para ello, BioWin utiliza un modelo biológico principal que supone el núcleo del cálculo, y está respaldado por modelos de procesos secundarios que se encargan de modelar el pH, equilibrio de las especies químicas, interacciones gas-líquido, etc. La interfaz de usuario de BioWin (Figura 2) proporciona alta facilidad de uso y la posibilidad de salidas gráficas y análisis de datos.



**Fig.2** Interfaz de BioWin

*West*

Al igual que BioWin, West permite modelar de forma conjunta procesos biológicos, físicos y químicos. Cuenta con una biblioteca de modelos la cual incluye el modelo ASM1, ASM2, ASM2d, ASM3, ASM3 Bio-P y ADM1; así como una aplicación que permite generar modelos propios. La cantidad de iconos e imágenes que forman la interfaz de West de usuario (Figura 3) es completamente personalizable, y cuenta con una salida de información y tratamiento de datos muy completa.

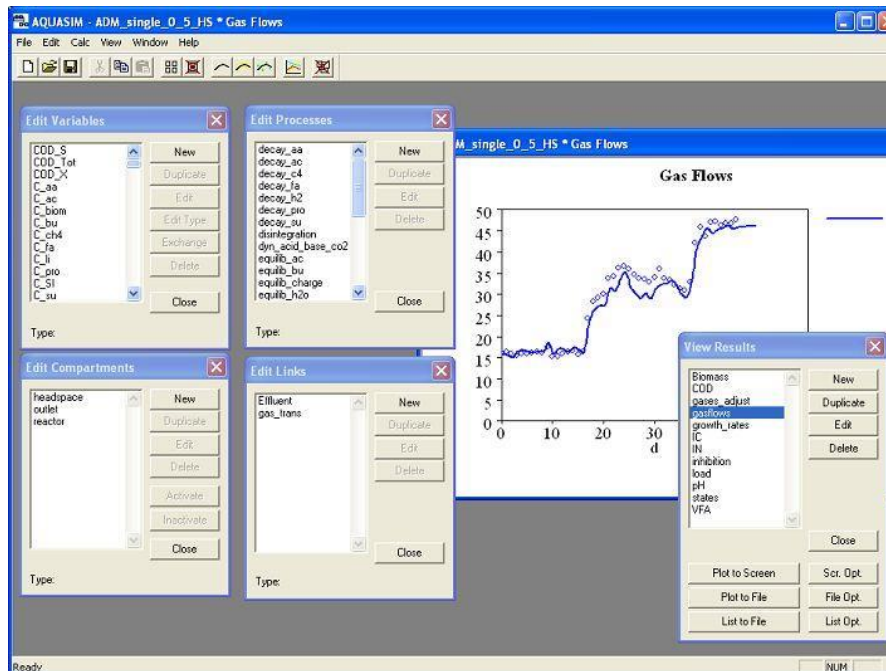


**Fig.3** Interfaz de West

A primera vista, no existen diferencias en el propósito y funcionamiento general entre el software BioWin y West, sin embargo el tratamiento de los datos es muy diferente entre ellos.

### AquaSim

A diferencia de los anteriores, AquaSim no tiene una interfaz de usuario tan centrada en la simulación y diseño de EDAR (ver Figura 4). En este caso se presenta un enfoque más general de simulación de los sistemas de aguas, lo que permite simular procesos, tanto en sistemas industriales como en sistemas naturales (ríos, lagos, etc.).



**Fig.4** Interfaz de AquaSim

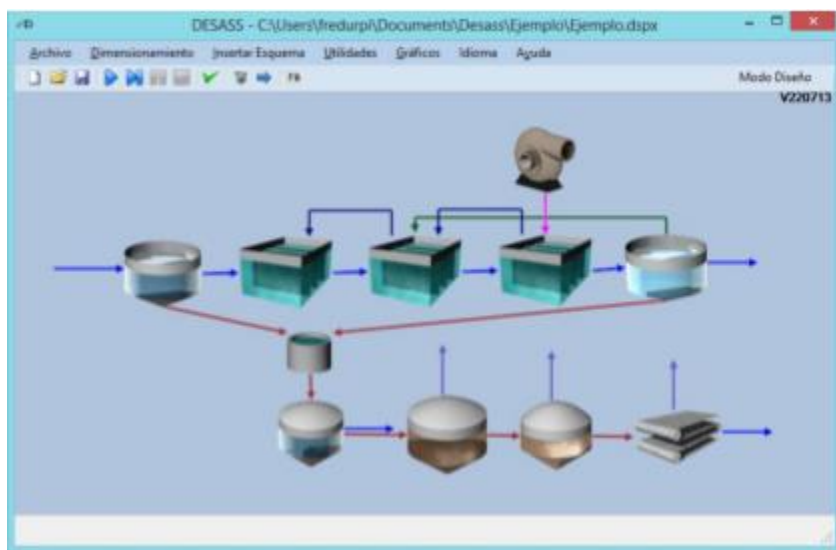
Con AquaSim es posible simular un sistema aislado de proporciones definidas, pero también unirlos a otros y simular el conjunto. Además, este software permite tratar sistemas de muy diferente naturaleza: reactores agitados, reactores con un sistema de biofilm o advectivo- difusivo; columnas de sustrato, secciones de un río, lagos estratificados, etc. Los enlaces advectivos se utilizan para flujos directos entre dos sistemas, mientras que los difusivos se utilizan para simular procesos de membrana. El programa permite crear o ampliar un modelo propio con el que definir una serie de variables, componentes y procesos que actúen en cada compartimento. La salida de datos permite, en cierta medida, exportar gráficos o archivos de texto con los datos.

En términos generales puede decirse que AquaSim no resulta tan intuitivo como los dos anteriores para simular una EDAR, por lo que su uso puede verse limitado por el conocimiento del usuario, lo que no impide que sea igualmente eficiente para simular a manos de un investigador experimentado

### DESASS

DESASS es un simulador de Tratamiento de aguas residuales (EDARs) y no residuales diseñado y optimizado con múltiples aplicaciones como son la investigación de los procesos de eliminación de

materia orgánica y nutrientes presentes en aguas residuales, la evaluación de, la operación de entrenamiento de personal, propósitos educativos (con un particular énfasis en la velocidad de cálculo, presentación gráfica y fácil manejo), entre otras. Dicho software tiene implementado un algoritmo de modelación matemática basado en el modelo biológico general BNRM2 ampliado [120], y permite diseñar y evaluar esquemas completos de tratamiento, incluyendo tanto la línea de agua como la de fangos, pudiéndose representar desde sistemas tan sencillos como la eliminación de materia orgánica, hasta procesos más complejos en los que se incorporan los esquemas de eliminación biológica de nitrógeno y fósforo, fermentación de fango primario y digestión de fangos (aerobia y anaerobia). Este simulador permite experimentar con diferentes unidades de tratamiento y controlar las consecuencias de la modificación de las condiciones de operación sobre el proceso. En la Figura 4 se muestra la pantalla de diseño del software de simulación DESASS, con un ejemplo ilustrativo.



**Fig.5** Pantalla de diseño del simulador DESASS (versión 7.1)

Las principales características de DESASS son:

- Permite representar gráficamente tanto en régimen estacionario como en régimen transitorio, la evolución de las variables de los procesos. Entre éstas se incluyen las concentraciones en los reactores y en el efluente de las variables del modelo BNRM2a.
- Simula una gran variedad de configuraciones de plantas permitiendo fijar los volúmenes, caudales y concentraciones que van desde plantas de experimentación (escala piloto), hasta plantas de gran tamaño.
- Permite la simulación dinámica de variaciones de cargas (variación de carga diaria, eliminación de fangos en exceso, relaciones de recirculación), así como la introducción de condiciones iniciales en los reactores en régimen transitorio.
- Rapidez en el cálculo numérico, tanto para régimen transitorio como estacionario.
- Comparación inmediata de resultados para condiciones de verano e invierno, en régimen estacionario.
- Consideración simultánea de esquemas, en serie o en paralelo, obteniéndose una mayor flexibilización en las configuraciones de sistemas de tratamiento.
- Posibilidad de simular los procesos de sedimentación en los decantadores y espesadores, además de los procesos biológicos que se pueden producir en ellos.



- Diseño de los sistemas de aireación, mediante tres tipos de maquinarias (difusores, turbinas y Venturi).
- Incluye un programa auxiliar para la actualización de la base de datos de la maquinaria.
- Permite exportar los resultados obtenidos a una hoja de cálculo Excel para facilitar su uso en la elaboración de informes.

El programa DESASS permite el cálculo tanto del estado estacionario (Diseño) como del estado transitorio (Simulación) de una EDAR. Así mismo, es una herramienta muy útil para el diseño de estrategias de control. En modo diseño, permite el cálculo del estado estacionario para las condiciones de invierno y de verano simultáneamente, ofreciendo así una fácil comparación entre cada una de las estaciones. En régimen estacionario el programa desarrolla una solución basándose en las condiciones medias establecidas en planta, tales como el caudal y la calidad del agua afluente, caudales de recirculación, etc. En modo simulación, permite simular la evolución de la planta teniendo en cuenta la variación temporal del afluente y de los parámetros de operación. También se puede realizar una simulación con entrada constante para ver cómo evoluciona el sistema frente a alguna modificación en las condiciones de operación.

#### 4. Conclusiones

En este trabajo se desarrolló una búsqueda bibliográfica sobre los principales parámetros que influyen sobre el crecimiento microalgal con el objetivo de obtener una alta productividad de biomasa. Fueron estudiadas las principales ecuaciones que responden a cada una de estos parámetros, así como también se identificaron los programas biológicos que existen para su simulación. El programa seleccionado para el proceso de simulación fue el Dessas. La especie de microalga seleccionada para el proceso de simulación fue *Chlorella vulgaris* debido a su fácil adaptación y disponibilidad en Cuba, y como sistema de cultivo un fotobiorreactor de columna de burbujas dada sus ventajas y factibilidad económica.

#### Referencias

1. Demirbas, A. "Biodiesel from algae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: A solution to pollution problems.," Applied Energy., vol. vol. 88, pp. 3541-3547, 2011.
2. X. Y. X. Meng, X. Xu, L. Zhang, and Q. N. M. Xian, "Biodiesel production from oleaginous micro-organisms," Renewable Energy. pp. 1-5, 2009.
3. Colectivo de Autores, Biodiesel. Producción y Uso. Editorial Pastos y Forrajes ISBN: 978-959-7138-48-8, 2021.
4. R. Piloto-Rodríguez, I. Tobío, M. Ortiz-Alvarez, Y. Díaz, S. Konradi, S. Pohl. An approach to the use of *Jatropha curcas* byproducts as energy source in agroindustry. Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects, 2020. <https://doi.org/10.1080/15567036.2020.1749192>.
5. Y. Sánchez-Borroto, M. Lapuerta, E. A. Melo-Espinosa, D. Bolonio, I. Tobío-Pérez, R. Piloto-Rodríguez. Green-filamentous macroalgae *Chaetomorpha cf. gracilis* from Cuban wetlands as a feedstock to produce alternative fuel: A physicochemical characterization. Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects, 2018. <https://doi.org/10.1080/15567036.2018.1476931>.

6. M. Pfeil, R. Piloto-Rodríguez, Y. Díaz, Y. Sanchez-Borroto, E. A., Melo-Espinosa, D. Denfeld, S. Pohl. Data on the thermochemical potential of six Cuban biomasses as bioenergy sources. Data in Brief, 2020. 29: pp 105207.
7. O. F. Maria, Pérez. Yanet, and H. Juan, "Enfoques para el cultivo intensivo de microalgas, como fuente de materia prima para la obtención de productos de alto valor agregado y secuestrador de CO<sub>2</sub> " Revista Centro Azucar vol. 40, p. 7, 2013.
8. J. F. D. S. D. Song, "Exploitation of oil-bearing microalgae for biodiesel," Chin. J. Biotech, pp. 341-348, 2008.
9. M. M. A. Hanna, "Biodiesel production: a review, Bioresour Technol," pp. 1-15, 1999.
10. S. Al-Zuhair, "Production of biodiesel: possibilities and challenges," Biofuels Bioprod. Bioref, pp. 57-66, 2007.
11. "Biodiesel: combustible del futuro, Claridades Agropecuarias.," pp. 3-12, 2007.
12. W. D. Li, "Perspectives of microbial oils for biodiesel production," Appl. Microbiol. Biotechnol, pp. 749-756, 2008.
13. A. Tabernero, Martín del Valle E.M., Galán M.A., "Evaluating the industrial potential of biodiesel from a microalgae heterotrophic culture: Scale-up and economics," Biochemical Engineering Journal, pp. 104- 115, 2012.
14. Z. Cohen, H. A. Norman, and e. al., "Microalgae as a source of x-3 fatty acids.," Worl Rev Nutr Diet, vol. 77, pp. 1-31, 1995.
15. S. E. Manoj. Kumar, Murthy Chavali, Jagadish. Donepudi, B. K. Rajasri. Yadavalli, Tirumala. Vasu Aradhyula, Jeevitha. Velpuri, and C. K. "Production of biofuels from microalgae- A review on cultivation, harvesting, lipid extraction, and numerous applications of microalgae," Renewable and Sustainable Energy Reviews., pp. 49-68, 2018.
16. A. Demirbas, "Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: A solution to pollution problems," Applied Energy, vol. 88, pp. 3541-3547, 2011.
17. X. L, "Microalgal bioreactors: Challenges and opportunities," Inter Science., pp. 178-189, 2009.
18. E. S. R. Galván Rincón. I., D. Venegas Camelo, " Diseño conceptual de un biorreactor para producir biocombustible a partir de microalgas," 2014.
19. M. S. E. Camacho Rubio. F., Sánchez Villasclaras. S., "Crecimiento heterotrófico de la *Chlorella pyrenoidosa*., " pp. 395-399., 1986.
20. P. L. V.M, "Novedoso fotobiorreactor para el cultivo masivo de microalgas.," pp. 1-10, 2014.
21. B. L. Abdulqader. G., Tredici.M., "Harvest of Arthrospira platensis from Lake Kossorom (Chad) and its household usage among the Kanembu.," " Journal of Applied Phycology, pp. 493-498, 2000.
22. J.-C. C. Spolaore. P., Duran. E. ,Isambert. A., "Commercial applications of microalgae," Biosci. Bioeng, pp. 87-96, 2006.
23. W. H. Harder.R., "Die Massenkultur von Diatomeen, Ber. , " Deut. Bot. Ges. , pp. 146-152, 1942.
24. B. M.A., "Algae for biofuels and energy, Dev " Appl. Phycol., pp. 1-15, 2012.
25. L. R. A. Barkley. W.C.W., Cheng. L., "Development of Microalgal Systems for the Production of Liquid Fuels," Villeneuve d'Ascq, France, Elsevier Applied Science, 1987.

26. D. T. Sheehan.J., Benemann.J., Roessler.P., "A Look Back at the U.S Department of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel From Algae, National Renewable Energy Laboratory, USA,," 1998.
27. M. J. García. M., Cañavate.J., Anguis.V., Prieto.A., Manzano.J., Florencio. F., Guerrero. M., "Conditions for open-air outdoor culture of *Dunaliella salina* in southern Spain," *Journal of Applied Phycology*. pp. 177-184, 2003.
28. M. A. A. Mata. T.M., Caetano. N.S. , "Microalgae for biodiesel production and other applications: a review, *Renew," Sust. Energ. Rev*, pp. 217-232, 2010.
29. G. J. Hannon. M., Tran.M., Rasala. B., Mayfield. S., "Biofuels from algae: challenges and potential," *Biofuels*, pp. 763-784, 2010.
30. A. H. Ugwu.C.U., Uchiyama. H., "Photobioreactors for mass cultivation of algae" *Bioresource Technol.*, pp. 4021-4028, 2008.
31. L. R, *Phycology*, Cambridge University Press., Cambridge, 2008.
32. O. P. Brennan. L., "Biofuels from microalgae a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and coproducts, *Renew.," Sust. Energ. Rev.*, pp. 557-577, 2010.
33. W. B. Li.Y., Wu.N. , Lan. C.Q., "Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid production of *Neochloris oleoabundans*, *Appl.," Microbiol. Biotechnol.*, pp. 629-636, 2008.
34. T. D. M. Benemann. J.R., Weissman. J.C., "Microalgae biotechnology, *Trends," Biotechnol.*, pp. 47-53, 1987.
35. G. P. V. "Relación entre las variables fisicoquímicas y la concentración de microalgas en la laguna de Monte Redondo,," *Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras.*, 2015.
36. M. Baicha. Z., Ortiz.V., Hernández.F., de los Ríos. A., Labjar.N., Lotfi. E., Elmahi. M., "A critical review on microalgae as an alternative source for bioenergy production: A promising low cost substrate for microbial fuel cells," *Fuel Processing Technology.*, p. 13, 2016.
37. M. A. Mata. T., Caetano. N., "Microalgae for biodiesel production and other applications: a review, *Renew.," Energ. Rev.*, pp. 217-232, 2010.
38. *Biocombustibles para su uso en motores diesel*. ISBN 978-959-234-095-4. Editorial IDICT, 2014.
39. S. P. Singh.S., "Effect of CO<sub>2</sub> concentration on algal growth: a review, *Renew.," Energ. Rev.*, pp. 172-179, 2014.
40. P. M. Enzing. C., Barbosa. M., Sijtsma.L., "Microalgae-based products for the food and feed sector: an outlook for Europe, *JRC Scientific and Policy Reports, European commission.*," 2014.
41. P. Maity, "Microalgae for third generation biofuel production, mitigation of greenhouse gas emissions and wastewater treatment: Present and future perspectives e A mini review,," *Energy*, pp. 1-10, 2014.
42. Q. L. Ramirez. L., Jacob. E., "Fotobiorreactor: herramienta para cultivo de cianobacterias,," *Ciencia y tecnología.*, pp. 9-19, 2013.

43. F. B. Dragone. G., Vicente. A.A.,Teixeira. J.A., "Third generation biofuels from microalgae, in: A. Mendez-Vilas (Ed.)," Current Research, Technology and Education Topics in: Applied Microbiology and Microbial Biotechnology., pp. 1355-1366, 2010.
44. Calderón.Yoel, "Modelación matemática del cultivo intensivo de la microalga *Isochrysis galbana* en un fotobiorreactor," Universidad de Santa Clara, 2012.
45. E. Manoj Kumar, D. J., and R. B. Kumar, "A note on algae as potential source for alternate fuels- Biodiesel," International Journal of PharmTech Research, vol. 6, pp. 1783-1793, 2014.
46. Y. T. Al-Iwayzy. S., Al-Juboori.R, "Biofuels from the Fresh Water Microalgae *Chlorella vulgaris* (FWM-CV) for Diesel Engines.," Energies, pp. 1829-1851, 2014.
47. U. S. Piedrahita. J., "Diseño del sistema de alimentación y control de temperatura en un fotobiorreactor para la producción de biomasa y ácidos grasos a partir del cultivo de la microalga *Chlorella Vulgaris*," Departamento de energética y mecánica, Universidad Autónoma de Occidente., 2012.
48. O. G. Vives. Alfaro., " Escalado del cultivo de residuales de la microalga *Chlorella vulgaris* en fotobiorreactores de capa fina.," Tecnología Química., pp. 1-11, 2009.
49. N. A. Villareal. Jaimes., Kafarov. V., "Desarrollo preliminar de una metodología de suministro de dióxido de carbono a cultivos de *Botryococcus braunii* para la producción de biocombustibles.," Ion, pp. 33-50, 2015.
50. S. B. Y, "Microalgas como materia prima para la producción de biocombustibles en Cuba.," pp. 1-10, 2015.
51. Tobío, I., "Combustible emulsificado a partir del medio de cultivo residual de *Chlorella vulgaris*," Centro de Estudios de Tecnologías Energéticas Renovables (CETER), Instituto Superior Politécnico José Antonio Echeverría (CUJAE), 2016.
52. B. J. S, "Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant," vol. 366, 1953
53. V. M. A. Valdés. A., "La producción de biocombustibles y su impacto alimentario, energético y medio ambiental."
54. J. A. Hernández. Piedrahita, Urbano Montes. S., "Diseño del sistema de alimentación y control de temperatura en un fotobiorreactor para la producción de biomasa y ácidos grasos a partir del cultivo de la microalga *Chlorella Vulgaris*," Departamento de Energética y Mecánica, Universidad Autónoma de Occidente, 2012.
55. Y. Sanchez-Borroto, I. Tobio-Perez, T.J. Romero, Y. Doaz-Dominguez, E.A. Melo-Espinosa, R. Piloto-Rodriguez. Evaluación de las condiciones experimentales básicas para la producción de biomasa a partir de *Chlorella vulgaris*. Afinidad. Revista de Química Teórica y Aplicada 585: 63-69, 2019.
56. I. Tobío. Combustible emulsificado a partir del medio de cultivo residual de *Chlorella vulgaris*. Tesis de Diploma, 2016.
57. R. Piloto Rodríguez, E. A. Melo Espinosa, L. Zumalacárregui de Cárdenas, O. Pérez. S. Verhelst, L. Goyos Pérez, P. Rodríguez Ramos, Y. Sanchez Borroto, D. Carrillo Nieves. Y. Díaz Domínguez. Combustibles alternativos de segunda y tercera generación para motores de combustión interna. Anales de la Academia de Ciencias de Cuba 8(1), 2018.

58. R. Piloto Rodríguez, Y. Díaz Domínguez, E. Fernández Santana, I. Tobío Pérez, Y. Sánchez Borroto, E. A. Melo Espinosa, M. Pfeil, S. Pohl, J. Suárez Hernández, P. Rodríguez Ramos. Generación de bioenergía por vía termoquímica para su integración a sistemas energéticos locales. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba* 11(3), 2021.
59. S. V. Chandra Sharma. Y., "Microalgal biodiesel: A possible solution for India's energy security," *Science Direct.*, pp. 72-88, 2017.
60. C. J. L. Ono. E., "Selection of optimal species for CO<sub>2</sub> sequestration," Alexandria, Virginia Second Annual Conference on Carbon Sequestration, 2003.
61. C. Z. Khozin. I., "Unraveling algal lipid metabolism: Recent advances in gene identification," *Biochimie* pp. 91-100, 2011.
62. M. A. Mendez.Lara, Demuez.Marie, Ballesteros. Mercedes, González-Fernández. Cristina, "Effect of high pressure thermal pretreatment on *Chlorella vulgaris* biomass: Organic matter solubilisation and biochemical methane potential," *Fuel*, pp. 674-679, 2014.
63. P. O, "Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms," *Appl Microbiol Biotechnol.*, pp. 287-293, 2001.
64. N.Moheimani., "The culture of Coccolithophorid Algae for carbon dioxide bioremediation," Murdoch University, 2005.
65. K. K., "Cultivation of *Haematococcus pluvialis* in Airlift Bioreactor," Department of Chemical Engineering, Chulalongkorn University, 2004.
66. W. Y. Morita. M., Saiki. H., "Instruction of microalgal biomass production for practically higher photosynthetic performance using a photobioreactor," *Food Bioprod Process* . pp. 176-183, 2001.
67. W. G. Liu. Z., Zhou. B., "Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*," *Bioresour Technol* . pp. 4717-4722, 2008.
68. C. B. Yeesang. C, "Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from fresh water sources in Thailand.," *Bioresour Technol* . pp. 3034-3040, 2011.
69. K. C. Chiu. S., Tsai. M., Ong. S., Chen. C., Lin. C., "Lipid accumulation and CO<sub>2</sub> utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO<sub>2</sub> aeration," *Bioresour Technol.*, 2009.
70. C. W.-M. Ho. S-H, Chang. J-S. , "*Scenedesmus obliquus* CNW-N as a potential candidate for CO<sub>2</sub> mitigation and biodiesel production," *Bioresour Technol* . pp. 8725-8730, 2010.
71. R. N. Song.W., Choi. W., Lee. K., "Biohydrogen production by immobilized *Chlorella* sp. using cyclesofoxygenic photosynthesis and anaerobiosis. ," *Bioresour Technol* . pp. 8676-8781, 2011.
72. S. A. Illman. A., Shales. S., "Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium," *Enzym Microb Technol* . pp. 631-635, 2000.
73. A. R. Macedo. R., "Influencia do Teor de Nitrogenio no Cultivo de *Spirulina Maxima* em Dois Níveis de Temperatura. Parte II," *Prod Lipídios Ciênc Tecnol Aliment Camp*. pp. 183-186, 2001.
74. L. J. Hernández. A., "Microalgas, cultivo y beneficios," *Revista de biología marina y oceanografía*, pp. 157-173, 2014.

75. M. N.R, "The culture of Coccolithophorid Algae for carbon dioxidebioremediation," Murdoch University, 2005.
76. Y. Chandra and V. Singh, "Microalgal biodiesel: A possible solution for India's energy security," Renewable and Sustainable Energy Reviews vol. 67, pp. 72-88, 2017.
77. T. N. Lau.P., Wong. Y.S., "Effect of algal density on nutrient removal from primary settled wastewater," Environmental pollution, pp. 59-66, 1995.
78. R. A., "Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente.," Universidad Politécnica de Valencia., Valencia, España. , 2011.
79. M. D., "Design Manual for waste stabilization ponds in India," British Library, England, 1997.
80. S. R. Christenson.L., "Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuel, and bioproducts," Biotechnology Advances., pp. 686-702, 2011.
81. A. A. Singh. U., "Microalgae: a promising tool for carbon sequestration," Mitig Adapt Strateg Glob Change pp. 73-95, 2013.
82. N. A. Chojnacka. K., "Evaluation of *Spirulina sp.* growth in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures" Enzym Microb Technol . pp. 461-465, 2004.
83. M. F. Chojnacka. K., "Kinetic. Stoichiometric relationships of the energy and carbon metabolism in the culture of microalgae" Biotechnology., pp. 21-34, 2004.
84. P. R., "Eliminación de nutrientes para el tratamiento biológico de agua residual usando un sistema inmovilizado microalga-bacteria en crecimiento autotrófico, heterotrófico y mixotrófico" Centro de Investigaciones Biológicas del Nordeste, S., 2009.
85. Rivera. R., "Diseño y simulación de un fotobiorreactor de columna de burbujas para el cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris*," CETER., Instituto Superior Politécnico "José Antonio Echeverría" CUJAE, La Habana, Cuba, 2017.
86. C. F. Wen. Z., "Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae," Biotechnol Adv., pp. 273-2994, 2003.
87. D. M., "The nutrient status of algal cells in continuous culture," J Mar Biol Assoc UK pp. 825-855, 1974.
88. W. M. Schmidt. R., Eriksen. N., "Heterotrophic high cell-density fedbatch culture of the phycocyanin-producing red alga *Galdieria sulphuraria*," Biotechnol Bioeng . pp. 77-84, 2005.
89. C. C., "Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review," Bioresource Technology., pp. 71-81, 2011.
90. G. L., "Glosario de Conceptos y Términos más importantes de Biología.," 2004.
91. G. R, "Producción de biomasa de microalgas rica en carbohidratos acoplada a la eliminación fotosintética de CO<sub>2</sub>", Universidad de Sevilla.
92. R. I. Stephens. E., Mussgnug. J., Wagner. L., Borowitzka. M., Posten. C., Kruse. O., Hankamer. B., "Future prospects of microalgal biofuels production systems," Trends in plant science., pp. 554-564, 2010.
93. V. d. S. N. Ergas. S., "Preface." Rev Environ Sci Biotechnol. pp. 115-117, 2013.



94. K. M. Masojídek. J., Torzillo.G., "Photosynthesis in microalgae." Handbook of Microalgal Culture (Biotechnology and Applied Phycology). , pp. 20-39, 2004.
95. C. P. Torzillo. G., Pushparaj.B., Montaini.E., Materassi.R., "A two plane tubular photobiorreactor for outdoor culture of *Spirulina*," Biotechnology and Bioengineering, pp. 491-498, 1993.
96. T. G. Vonshak. A., "Environmental stress physiology." Handbook of Microalgal Culture," Biotechnology and Applied Phycology, pp. 57-82, 2004.
97. T. J. Janssen. M., Mur. L., Wijffels. R., "Enclosed outdoor photobioreactors: light regime, photosynthetic efficiency, scale-up, and future prospects," Biotechnol Bioeng., pp. 193-210, 2003.
98. Viruela. Alexander, "Modificación del software DESASS para la simulación del proceso de crecimiento de microalgas en el tratamiento de aguas residuales," Departamento de Ingeniería Hidráulica y Medio Ambiente., Universitat Politècnica de València Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Caminos, Canales y Puertos, Valencia, España, 2014.
99. G. D., "Evaluación de la utilización de CO<sub>2</sub> en el cultivo intensivo de la microalga marina *Isochrysis galbana*, para la obtención de biomasa," Universidad Central de las Villas, 2011.
100. P. López, "Diseño de un fotobiorreactor tubular para la producción de *Chlorella vulgaris*," Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Industrial de Barcelona. Barcelona, España, 2016.
101. F. Queiroz. O., Borchiver. S., "O Potencial de microalgas como materia prima renovável,," 2008.
102. A. D. Gudin. C., "Cell fragility-The key problem of microalgae mass production in closed photobioreactors,," Bioresource Technology., pp. 145-151, 1991.
103. G. Barsanti. L., P., "Algae: Anatomy," Biochemistry and Biotechnology, 2006.
104. R. J. Maestrini. S., Leftley. J., Collos. Y., "MaAmmonium thresholds for simultaneous uptake of ammonium and nitrate by oyster-pond algae," Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, vol. 102, pp. 75-98, 1986.
105. B. J. Collos. Y., "Nitrogen metabolism in phytoplankton," Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS). 2004.
106. D. M. Demirbas. A., Algae Energy. Green Energy and Technology, 2010.
107. F. L., "Producción de biocombustibles a partir de Microalgas,," Ra Ximhai., pp. 101-115, 2012.
108. P. N. de la Noue. J., "The potential of microalgal biotechnology," Biotech., pp. 725-770, 1988.
109. V. A., "Crecimiento mixotrófico de *Chlorella* sp. cultivada en medios enriquecidos con el exudado gomoso de *Acacia tortuosa*," CENIC., pp. 19-23, 2002.
110. C. A., "Una revisión sobre la biotecnología de las algas," 1989.
111. T.-H. S. Schenk. P., "Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production" Bioenerg., pp. 20-43, 2008.

112. V. Y., "Aplicación del Aspen Plus en el análisis de la integración energética en la papelera Damují," Trabajo de Diploma., Departamento de Ingeniería Química, Universidad Central de las Villas, Santa Clara, 2008.
113. A. Díaz. R., Marín N., Fleites, R., "La Modelación Matemática: su importancia en la formación integral del ingeniero agrónomo," 2001.
114. E. A., "Modelación matemática de procesos biológicos de tratamiento," 2006.
115. K. E. T. Kovarová, "Growth kinetics of suspended microbial cells: from single- substrate-controlled growth to mixed-substrate kinetics," Microbiology and Molecular Biology Reviews, pp. 646-665, 1998.
116. N. S. Baquerisse. D., Isambert. A., "Modelling of a continuous pilot photobioreactor for microalgae production," Journal of Biotechnology, pp. 335-342, 1999.
117. K. A., "Application du génie des procédés aux biotechnologies marines: Etude de faisabilité, modélisation et simulation dynamique d'un procédé de culture de microalgues," Ecole Centrale Paris, France, 1994.
118. L., "Simulación y Análisis de un sistema para la producción de H<sub>2</sub> y electricidad empleando Bioetanol," Trabajo de Diploma, Departamento de Ingeniería Química, UCLV., Santa Clara, 2006.
119. D. F., "Modelación matemática del tratamiento anaerobio de aguas residuales urbanas incluyendo las bacterias sulfatorreductoras. Aplicación a un biorreactor anaerobio de membranas," Departamento de Ingeniería Hidráulica y Medio Ambiente., Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, 2013.