

Determinación experimental de características radiativas de microalgas productoras de carotenoides

Luis Ángel Castillo-Cruz ¹, Eduardo Martínez-Niño ¹, Neri Jocelyn Carmona-Ascencio ¹, Hugo Joaquín Ávila-Paredes ¹ y Patricio Javier Valadés-Pelayo ^{2,*}.

¹ Departamento de Ingeniería de Procesos e Hidráulica, Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa, Ciudad de México, México.

² Instituto de Energías Renovables, Universidad Nacional Autónoma de México, Temixco, Morelos, México.

* Autor de correspondencia: pjvp@ier.unam.mx, iq.angelcastillo@gmail.com.

Recibido: 13 de abril de 2021 Aceptado: 27 de mayo de 2021

Resumen: En la actualidad la demanda de pigmentos carotenoides de origen natural, ha incrementado debido a su aplicación diversa en la industria. Una de las fuentes naturales de dichos compuestos, son las microalgas, microorganismos fotosintéticos de elevado valor biotecnológico. La producción de pigmentos carotenoides a partir de cultivos microalgales se encuentra en el ámbito de la sustentabilidad, pero afronta el reto de la optimización del diseño y operación de nuevas tecnologías; primero se maximiza la producción de biomasa y posteriormente se somete a estrés para inducir la síntesis y acumulación de este tipo de pigmentos. En este contexto, el diseño y escalamiento de fotobiorreactores (FBRs) para el cultivo de microalgas es crucial para este tipo de procesos. El objetivo principal del presente trabajo de investigación se centra en la aplicación de una nueva metodología experimental para estimar de forma rápida e independiente las características radiativas de microalgas en suspensión. Se utilizó como microalga de estudio la cepa *Chlorella vulgaris* UTEX 2714 (presenta altas tasas de crecimiento y acumula carotenoides como la cantaxantina y astaxantina). Se estimó el coeficiente de extinción (β), el albedo (ω) y el parámetro de asimetría (g) de la función fase (Φ). Estos parámetros definen la solución de la ecuación de transferencia radiativa (ETR) y son fundamentales para caracterizar el efecto de las microalgas en el transporte radiativo dentro de cualquier FBR. Tanto β como ω fueron estimados a diferentes concentraciones de biomasa y mostraron ser independientes de la concentración de biomasa bajo las condiciones experimentales. Además, el estudio sugiere que Φ de *Chlorella vulgaris* UTEX 2714 puede ser descrita utilizando el modelo de Henyey-Greenstein. Se logró la caracterización radiativa de la microalga, lo cual es indispensable para la descripción del transporte radiativo dentro de un FBR y el desarrollo de mejores modelos cinéticos para el escalamiento de este tipo de bioprocesos.

Palabras clave: *Chlorella vulgaris*, carotenoides, transporte radiativo

Experimental determination of radiative characteristics of carotenoid-producing microalgae

Abstract: Currently, the demand for carotenoid pigments of natural origin has increased due to their diverse application in the industry. One of the natural sources of these compounds are microalgae, which are photosynthetic organisms of high biotechnological value. The production of carotenoid pigments from microalgal cultures are in the scope of sustainability but faces the challenge of optimizing the design and operation of new technologies; biomass production is first maximized and subsequently subjected to stress to induce the synthesis and accumulation of this type of pigments. In this context, the design and scaling of photobioreactors (FBRs) for the cultivation of microalgae is crucial for this type of process. The main objective of the present research work is focused on the application of a new experimental methodology to estimate the radiative characteristics of a microalgae quickly and independently in suspension. Strain *Chlorella vulgaris* UTEX 2714 (shows high growth rates and accumulate carotenoids such as canthaxanthin and astaxanthin) was used as sample. Extinction coefficient (β), albedo (ω) and asymmetry parameter (g) of the phase function (Φ) were estimated. These parameters define the solution of the radiative transfer equation (RTE) and they are fundamental to characterize the effect of microalgae on radiative transport within any FBR. Both β , and ω were estimated at different concentrations of microalgae in suspension and were independent of the biomass concentration under the experimental conditions. This study suggests that Φ of *Chlorella vulgaris* UTEX 2714 can be described using the Henyey-Greenstein model. The radiative characterization of the microalgae was achieved, which is essential for the description of the radiative transport within a FBR and the development of better kinetic models for the scaling of this type of bioprocess.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, carotenoids, radiative transport

Introducción

El desarrollo y la optimización de tecnologías para el cultivo de microalgas han recibido gran atención debido a su capacidad de generar productos de alto valor agregado, entre los cuales destacan los pigmentos carotenoides (Ambati

et al., 2018), y por su potencial para mitigar el dióxido de carbono en la atmósfera (Pilon et al., 2011). Además, algunos de estos microorganismos, como la microalga *Chlorella vulgaris*, son capaces de tener altas tasas de crecimiento, así como de remover nutrientes de aguas contaminadas, acumular lípidos útiles para la producción de biocombustibles y sintetizar pigmentos carotenoides (Safi et al., 2014). Estos microorganismos son cultivados en FBRs que son sistemas trifásicos que incluyen el medio de cultivo como la fase líquida, las células como la fase sólida y el aire enriquecido con CO₂ como la fase gaseosa (Huang et al., 2017).

Por otra parte, la iluminación es crucial en el proceso de fotosíntesis. El campo de radiación en un FBR es descrito por la ETR como se muestra en la Ecuación 1, la cual contiene tres características radiativas (coeficiente de extinción (β), albedo (ω) y la función fase (Φ)) (Modest, 2013), los cuales son únicos para cada cepa de microalga (Pilon et al., 2011).

$$\frac{dI_{\lambda}(\vec{x}, \hat{s})}{ds} = -\beta_{\lambda}I_{\lambda}(\vec{x}, \hat{s}) + \frac{\sigma_{\lambda}}{4\pi} \int_0^{4\pi} I_{\lambda}(\vec{x}, \hat{s}_i)\Phi_{\lambda}(\hat{s}_i, \hat{s})d\Omega_i \quad (1)$$

En el presente trabajo, se emplea una nueva metodología teórico-experimental (Castillo et al., 2020) diseñada para la estimación independiente y rápida de las características radiativas de *Chlorella vulgaris* UTEX 2714, a partir del método estocástico Monte Carlo basado en la función de Green de la ETR. Cabe resaltar que las características radiativas de las microalgas no han sido determinadas de una forma robusta que permita mostrar independencia de la concentración de biomasa o de la geometría de los sistemas donde son estimadas. Además, debido a que las características radiativas pueden cambiar por las condiciones de cultivo, es necesario tener una metodología que permita estimarlas de manera independiente, rápida y eficiente para la descripción del transporte radiativo dentro de los FBRs y, de esta manera, contribuir al desarrollo de metodologías de escalamiento, más precisas y eficientes, de los sistemas de cultivo.

Materiales y Métodos

A continuación, se detallan los aspectos más relevantes de la metodología que se siguió para la realización del presente proyecto de investigación:

Microalga de estudio

Se utilizó *Chlorella vulgaris* UTEX 2714, una microalga unicelular con forma esférica de 1-6 μm de diámetro (Safi et al., 2014). Esta especie particular de microalga verde tiene una gran productividad de biomasa y su tiempo de duplicación celular relativamente corto (24 h). Además, es una fuente importante para la producción comercial de carotenoides, diversos biofarmacéuticos y lípidos para la producción de biodiésel (Ambati et al., 2019). La cepa del género *Chlorella*, utilizada en el presente proyecto de investigación, proviene de la colección de Cultivos de Algas de la Universidad de Texas, campus Austin (Culture Collection of Algae at the University of Texas at Austin). Esta cepa fue cultivada en una botella de 2 L con medio de cultivo Bayfolan Forte Bayer (1.05 g/L), a una temperatura de 26 ± 1 °C, a un pH alrededor de 7, aireación constante y con una iluminación de luz de 1000-1500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ s proveniente de una lámpara LED de luz blanca de 10 W marca MEGAMEX modelo MLED10, con ciclos de luz - oscuridad de 12:12 h.

Sistema experimental

El sistema experimental desarrollado para la estimación de las características radiativas: coeficiente de extinción específico, albedo y función de fase del cultivo de microalgas en suspensión, está constituido por una fuente de luz artificial tipo LED de luz blanca pura de potencia 1 W dotada con un disipador de calor para evitar un calentamiento excesivo del LED. Cuenta con un agitador magnético, un contenedor esférico de vidrio Pyrex de 250 mL y 2 colimadores de 15 cm de longitud, situados tal como se ilustra en la Figura 1. El sistema cuenta con sensor óptico con cable de fibra óptica de 2 m de longitud conectado a un espectroradiómetro (marca: StellarNet Inc, modelo: Black-Comet C-50). El sistema experimental se colocó dentro de un gabinete para asegurar tener una sola fuente de luz sin interferencias de los alrededores. Los detalles del sistema experimental para la estimación de propiedades ópticas se reportan en la referencia (Castillo et al., 2020).

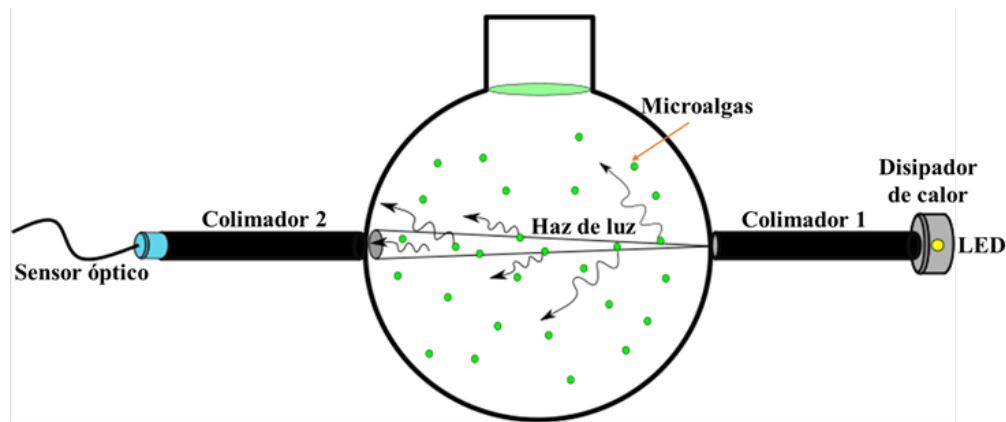


Figura 1. Sistema experimental para determinación de características radiativas.

Estimación de características radiativas

Coeficiente de extinción específico. La estimación de β^* se realizó empleando medidas de transmitancia a través del sistema esférico (Figura 1) a diferentes concentraciones de microalgas en suspensión. Primeramente, se midió la cantidad de energía a través del sistema sin concentración de biomasa (I_0), y después se realizaron medidas de transmitancia (I) a diferentes concentraciones de biomasa (5.19, 10.10, 16.70, 22.17 y 22.50 g/m³). Las mediciones de (I_0) e (I) a diferentes concentraciones fueron realizadas dentro del gabinete a puertas cerradas, con el fin de evitar cualquier perturbación de intensidad de radiación incidente por alguna otra fuente. Los experimentos se realizaron por duplicado para asegurar reproducibilidad y buen funcionamiento del sistema de determinación de características radiativas.

Una vez realizadas las mediciones experimentales de la intensidad de radiación transmitida a través del contenedor esférico con y sin microalgas en suspensión definidas como (I_0) e (I) respectivamente, se aplicó la Ley de Beer-Lambert (Ecuación 2) para estimar β^* .

$$\frac{I}{I_0} = e^{-\beta^* \cdot C_b \cdot l} \quad (2)$$

Donde (l) es la distancia que recorren los fotones desde la superficie externa del sistema a la posición bajo consideración (en este caso en específico al final de colimador 2), β^* es el coeficiente de extinción específico, y C_b es la concentración de microalgas en suspensión.

Albedo. Para la estimación del albedo (reflectancia de la partícula) del cultivo de microalgas en suspensión es necesario realizar un análisis en relación con la densidad óptica del medio (microorganismos en suspensión) y al posible número de interacciones de los fotones con las microalgas dentro del cultivo, lo que lleva a obtener una idea general de qué porcentaje de energía sale sin interactuar del sistema y qué porcentaje de energía interactúa más de una vez. De esa manera obtener una variable experimental (ω) en función de cantidades de energía que sean fáciles y rápidas de medir. Por otra parte, también es necesario realizar un análisis de las cantidades de energía que interactúan en el sistema experimental mostrado en la Figura 1, tales como: energía de entrada, de salida, dispersada lateral y dispersada frontal. Se asume que, para concentraciones suficientemente bajas, el fenómeno de dispersión es gobernado por un solo evento de dispersión, es decir, una vez que un fotón es desviado de su trayectoria original, un segundo cambio de trayectoria es mucho menos probable (dada la geometría y rangos de densidad óptica en que se trabaja dentro del sistema). Por lo tanto, para una sola interacción es válido asumir que:

$$\omega = \frac{\sigma}{\sigma + \kappa} \approx \frac{E_D^T}{E_D^T + E_A} \quad (3)$$

Donde de la Ecuación 3, E_D^T es la energía dispersada total, es decir, la suma de la energía dispersada lateral y frontal; E_A es la energía absorbida, que se obtiene indirectamente partir de un balance de energía.

Factor de asimetría de la función fase. Debido a que las microalgas tienden a dispersar hacia enfrente parte de la radiación que incide sobre ellas, emplear la función de fase de Henyey-Greenstein resulta de gran utilidad debido a que solo depende de un solo parámetro forma conocido como parámetro de asimetría (g) que describe el comportamiento de la radiación que incide sobre las partículas (microalgas).

El parámetro de asimetría de *Chlorella vulgaris* UTEX 2714, se estimó a una concentración de 6.6 g/m^3 de biomasa, a temperatura ambiente de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ aproximadamente. El sistema experimental utilizado para estimar esta característica radiativa fue el sistema de geometría esférica, mostrado en la Figura 1, usado en la determinación de β^* y ω , pero con un solo colimador. En el cual la fuente de luz artificial emitida por un LED fue colimada a través del colimador 1 de 15 cm de longitud situado inmediatamente después del LED. El haz de luz emitido por la fuente de luz se propagó a través del colimador e incidió normal a la superficie del recipiente esférico de capacidad de 250 mL que contenía microalgas en suspensión las cuales se encontraban bien mezcladas. Se realizaron 11 mediciones a diferentes ángulos sobre la superficie de la esfera, en puntos equidistantes sobre el ecuador de la esfera. Las mediciones se registraron con un sensor óptico con cable de fibra óptica (marca: StellarNet Inc, modelo: F600-UVVIS-SR) conectado a un espectroradiómetro (marca: StellarNet Inc, modelo: Black-Comet C-50).

De manera general, para observar el efecto de la variación del parámetro de asimetría (g) en los perfiles de energía dispersada (φ) sobre el sistema esférico se requiere medir la cantidad de energía dispersada por los microorganismos a diferentes posiciones angulares y comparar los resultados experimentales con simulaciones computacionales usando el método estocástico Monte Carlo.

Resultados y Discusión

El propósito principal de esta sección es presentar el comportamiento de los principales fenómenos radiativos presentes en los sistemas experimentales empleados para la estimación de las características radiativas y con ello evaluar la contribución de cada fenómeno radiativo en el cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* UTEX 2714.

Coeficiente de extinción específico

La Figura 2 muestra los resultados experimentales obtenidos del coeficiente de extinción específico (β^*). En ella, se observa que los valores obtenidos del β^* en el sistema esférico son constantes e independientes de la concentración de biomasa, lo que indica que el tamaño del aglomerado no cambia a pesar del cambio de concentración. Es importante señalar que las microalgas, al ser partículas con diámetros que rondan los $4\text{-}10 \text{ }\mu\text{m}$, desde la perspectiva del espectro solar (longitud de onda $0.4\text{-}0.7 \text{ }\mu\text{m}$) se pueden considerar como partículas grandes. Bajo estas condiciones la teoría radiativa aplicable (óptica geométrica) predice que el coeficiente de extinción específico debe ser independiente de la longitud de onda, algo que debe ser congruente al realizar estudios espectrales para *Chlorella vulgaris*.

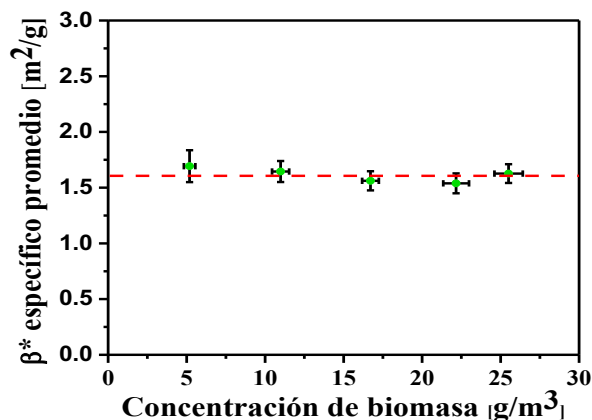


Figura 2. Coeficiente de extinción específico promedio β^* de la microalga *Chlorella vulgaris* UTEX 2714 a diferentes concentraciones de biomasa.

Albedo (reflectancia de la partícula)

La Figura 3 muestra valores del albedo promedio de la microalga *Chlorella vulgaris* UTEX 2714, en función de la concentración de biomasa (6.2, 7 y 7.4 g/m³). En este gráfico se observa que los valores de albedo promedio obtenidos experimentalmente son constantes e independientes de la concentración, lo que es señal de que la reflectancia de los microorganismos en suspensión es insensible al cambio de concentración caso similar al del coeficiente de extinción específico promedio, en el que la probabilidad de interacción no cambia debido a la concentración. Además, las concentraciones empleadas para determinar esta propiedad radiativa son considerablemente bajas, por lo que el cultivo de estudio es considerablemente homogéneo y es posible asumir que la densidad óptica tiene un valor $\tau \leq 1$ en la cual la mayoría de los fotones se ven afectados por un solo evento de dispersión.

Parámetro de asimetría de la función de fase

La Figura 4 muestra el porcentaje de energía dispersada en función de la posición angular, a diferentes valores de $\langle g \rangle$ (-0.9 a 0.9 en incrementos de 0.45). La posición angular es de 0° a 180°, donde 180° representa la posición en la cual el haz de luz incide en el sistema y 0° representa la posición donde se proyecta el haz de luz (sale del sistema). Comenzando por el análisis del valor de $\langle g \rangle = -0.45$ y -0.9 (línea color roja y negra respectivamente) se observa que el porcentaje de energía dispersada en el sistema esférico incrementa conforme la posición angular se aproxima a los 180° por lo que se considera que la dispersión de energía es hacia atrás. Por otro parte, cuando $\langle g \rangle$ toma valores de 0.45 y 0.9 positivos, el porcentaje de energía dispersada tiene un comportamiento opuesto a lo descrito anteriormente, debido a que conforme la posición angular se aproxima a los 180° el valor del porcentaje de energía dispersada decrece, esto indica que la energía se está dispersando hacia enfrente. En el caso cuando $\langle g \rangle = 0$ se observa que la energía dispersada se mantiene prácticamente constante desde que entra al sistema (posición angular de 180°) hasta la mitad del sistema (90°) en donde comienza a decrecer aproximadamente a la mitad de su valor. Finalmente, en la Figura 4 se observa que los datos experimentales (círculos azules) se ajustan a un comportamiento donde predomina la dispersión de energía hacia adelante $\langle g \rangle = 0.9$.

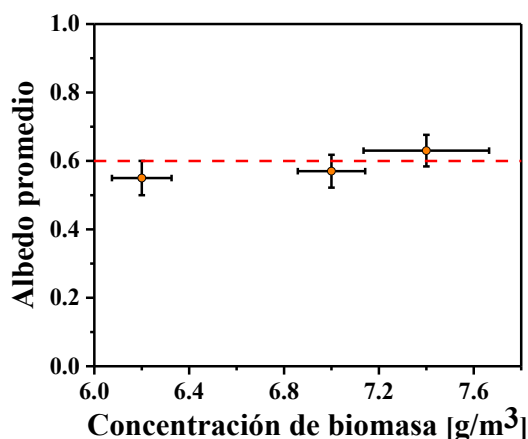


Figura 3. Albedo promedio del cultivo de la microalga en suspensión *Chlorella vulgaris* UTEX 2714 a 3 diferentes concentraciones de biomasa.

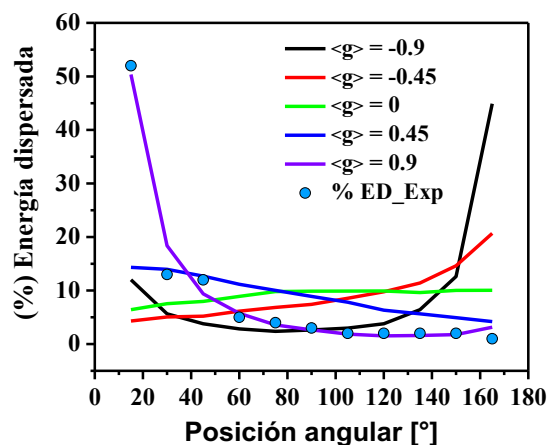


Figura 4. Porcentaje de energía dispersada vs posición angular a diferentes valores de $\langle g \rangle$ promedio en el sistema para determinación de características radiativas.

Conclusiones

De forma general, se presentó y utilizó una metodología experimental para la determinación de las características radiativas promedio de la microalga *Chlorella vulgaris* UTEX 2714. Se empleó un enfoque teórico basado en la ETR para describir el efecto de estos microorganismos en el transporte radiativo.

El diseño y uso del sistema experimental propuesto permitió obtener las estimaciones independientes y rápidas del coeficiente de extinción, albedo y parámetro de asimetría de manera exitosa. Los resultados experimentales y teóricos

fueron integrados mediante el método estocástico Monte Carlo y a partir de esto, se pueden obtener perfiles radiativos más detallados, para el desarrollo de metodologías de escalamiento más precisas a nivel planta piloto e industrial.

Los resultados del coeficiente de extinción específico promedio mostraron la independencia respecto a la concentración de biomasa, lo que indica que el tamaño del aglomerado de las microalgas no está cambiando bajo las condiciones experimentales. Por otra parte, el albedo promedio muestra independencia de la concentración de biomasa a valores de densidad óptica ≤ 1 , cuando la interacción de los fotones con las partículas en el recipiente se da principalmente por un solo evento de dispersión. El valor promedio de albedo obtenido fue de 0.6 aproximadamente, lo que indica que el 60% de la energía que incide sobre los microorganismos es reflejada. Finalmente, comparando los resultados experimentales de dispersión a diferentes posiciones angulares con la simulación se demostró que el fenómeno de dispersión provocado por la microalga *Chlorella vulgaris* UTEX 2714 es hacia enfrente tal como se reporta en la literatura (Pilón *et al.*, 2011), con un valor de g alrededor de 0.93.

Bibliografía

- Ambarti, R. R., Gogisetty, D., Aswathanarayana, R. G., Bikkina, P. N., Bo, L. & Yuepeng, S. (2018). Industrial potential of carotenoid pigments from microalgae: Current trends and future prospects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(12), 1880-1902.
- Castillo Cruz, L. A. (2020). Desarrollo de una metodología para la caracterización de los fenómenos de transporte radiativo en un cultivo de microalgas. Tesis de maestría. México: Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. Pp. 39-50.
- Huang, Q., Jiang, F., Wang, L. & Yang, C. (2017). Design of Photobioreactors for Mass Cultivation of Photosynthetic Organisms. *Engineering*, 3(3), 318-329.
- Modest, M. F. (2013). Radiative Heat Transfer. Third edit. London: Elsevier, Pp. 279-285.
- Pilon, L., Berberoğlu, H. & Kandilian, R. (2011). Radiation transfer in photobiological carbon dioxide fixation and fuel production by microalgae. *Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer*, 112(17), 2639-2660.
- Safi, C., Zabib, B., Merah, O., Pontalier, P. Y. & Vaca-García, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265-278.