



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CIUDAD MADERO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA



TESIS

ANÁLISIS DE LA DINÁMICA DE PRODUCCIÓN DE CARBOHIDRATOS DE
SISTEMAS DE CULTIVO DE MICROALGAS A TRAVÉS DE SIMULACIÓN
MATEMÁTICA

Que para obtener el Grado de

Doctor en ciencias de la Ingeniería

Presenta

M.I.A. Abraham Guzmán Palomino

D18073012

No. CVU 415369

Director de tesis

Dr. Luciano Aguilera Vázquez

Co-director de Tesis

Dr. Héctor Hernández Escoto

Cd. Madero, Tamaulipas

abril 2023

Ciudad Madero, Tamaulipas, 24/abril/2023

OFICIO No. : U.042/22
ASUNTO: Autorización de
impresión de tesis

C. ABRAHAM GUZMÁN PALOMINO
No. DE CONTROL D18073012
P R E S E N T E

Me es grato comunicarle que después de la revisión realizada por el Jurado designado para su Examen de Grado de Doctorado en Ciencias de la Ingeniería, se acordó autorizar la impresión de su tesis titulada:

“ANÁLISIS DE LA DINÁMICA DE PRODUCCIÓN DE CARBOHIDRATOS DE SISTEMAS DE CULTIVO DE MICROALGAS A TRAVÉS DE SIMULACIÓN MATEMÁTICA”

El Jurado está integrado por los siguientes catedráticos:

PRESIDENTE:	DR.	PEDRO MARTÍN GARCÍA VITE
SECRETARIO:	DR.	NELSON RANGEL VALDEZ
PRIMER VOCAL:	DR.	LUCIANO AGUILERA VÁZQUEZ
SEGUNDO VOCAL:	DRA.	ANA LIDIA MARTÍNEZ SALAZAR
TERCER VOCAL:	DRA.	ANA MARÍA MENDOZA MARTÍNEZ
DIRECTOR DE TESIS:	DR.	LUCIANO AGUILERA VÁZQUEZ
CO-DIRECTOR:	DR.	HÉCTOR HERNÁNDEZ ESCOTO

Es muy satisfactorio para la División de Estudios de Posgrado e Investigación compartir con usted el logro de esta meta. Espero que continúe con éxito su desarrollo profesional y dedique su experiencia e inteligencia en beneficio de México.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica

"Por mi patria y por mi bien"



MARCO ANTONIO CORONEL GARCÍA
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN



c.c.p.- Archivo
MACG 'NRV'



**DECLARACIONES DE ORIGINALIDAD, PROPIEDAD
INTELLECTUAL, CESIÓN DE DERECHOS Y/O
CONFIDENCIALIDAD**

Yo, C.M.I.A. Abraham Guzmán Palomino, declaro que soy el autor original de este trabajo de tesis titulado Análisis de la dinámica de producción de carbohidratos de sistemas de cultivo de microalgas a través de simulación matemática presentado en el Instituto Tecnológico de Ciudad Madero del Tecnológico Nacional de México y que el mismo no infringe ningún derecho de autor o propiedad intelectual.

Asimismo, declaro que cedo los derechos de uso del trabajo al Instituto Tecnológico de Ciudad Madero del Tecnológico Nacional de México para fines académicos y/o de divulgación, y autorizo su reproducción en cualquier medio o formato que se considere necesario, siempre y cuando se respeten los derechos de autor y la propiedad intelectual.

En caso de que se infrinjan los derechos de terceros derivados de este documento de tesis, acepto la responsabilidad de dicha infracción y exonero a mi director, codirector de tesis, miembros del jurado asignado para el examen de grado del DCI, al Tecnológico Nacional de México campus Ciudad Madero y a sus autoridades de cualquier responsabilidad relacionada.

En relación con la confidencialidad, manifiesto que el presente trabajo puede contener información confidencial y/o protegida por ley, por lo que autorizo al Instituto Tecnológico de Ciudad Madero del Tecnológico Nacional de México a tomar las medidas necesarias para preservar su confidencialidad y protección.

A 24 de abril de 2023, Ciudad Madero, Tamaulipas.



C.M.I.A. Abraham Guzmán Palomino

Dedicatoria

A Dios.

A mi Familia:

A mis Padres Carlos Guzmán Blanco y Mirna Elizabeth Palomino Guerrero, a mis hermanos Rolando, Carlos y Mirna.

Agradecimientos

A mis directores del proyecto por los conocimientos compartidos:

Dr. Luciano Aguilera Vázquez y Dr. Héctor Hernández Escoto.

A los miembros del comité tutorial de este proyecto: Dr. Pedro Martin Garcia Vite, Dra. Ana María Mendoza Martínez, Dra. Ana Lidia Martínez Salazar y el Dr. Nelson Rangel Valdez

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo brindado a través de la beca 724370.

Al Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Ciudad Madero.

Al Mexican Institute of Complex Systems.

Análisis de la dinámica de producción de carbohidratos de sistemas de cultivo de microalgas a través de simulación matemática.

Abraham Guzmán Palomino

Resumen

Se ha estudiado extensamente la biomasa basada en microalgas debido a su potencial para producir varios bioquímicos importantes, como lípidos, proteínas, carbohidratos y pigmentos, así como precursores en la fabricación de productos de valor agregado, como vitaminas, compuestos bioactivos y antioxidantes. Además, el secuestro de CO₂ como un efecto secundario contribuye a la mitigación del calentamiento global, y hay un interés creciente en las microalgas como materia prima renovable para la producción de biocombustibles. Los modelos dinámicos son herramientas importantes para optimizar y controlar sistemas de biomasa basados en microalgas a escala de laboratorio y gran escala. El enfoque de este trabajo es el análisis matemático de un modelo de crecimiento de microalgas desarrollado por M.R. Droop en 1974 para el cultivo por lotes con nutrientes limitados. Se estudia la estabilidad, los equilibrios y la sensibilidad del modelo, así como la incorporación matemática del efecto de la intensidad de la luz, la dinámica de flujo de carbono como carbohidratos y la fotoaclimatación en un sistema de cultivo continuo. Este análisis se basa en desarrollos recientes en la literatura y utiliza parámetros experimentales de la misma para varias simulaciones matemáticas. El objetivo es obtener información útil para la optimización de la producción de carbohidratos en sistemas de cultivo de microalgas. En el modelo de Droop operado por lotes, se encontraron dos puntos de equilibrio: uno estable que representa la producción de biomasa a largo plazo y otro inestable que indica la ausencia de biomasa. Además, se realizaron simulaciones utilizando datos de la literatura para contextualizar los resultados encontrados

en el análisis de estabilidad. Adicionalmente, después de analizar el sistema de ecuaciones de Droop operado por lotes, se encontró que el sistema de ecuaciones no tiene puntos fijos aislados, sino que más bien exhibe una cantidad infinita de equilibrios, influenciados por la cuota mínima celular y las condiciones iniciales de las variables de estado del modelo. Por otro lado, se encontró que el modelo es más sensible a variaciones en los parámetros de la constante de saturación media y la cuota celular mínima que a cambios en la tasa máxima de absorción de nutrientes inorgánicos y la tasa máxima de crecimiento. Después de realizar un análisis de sensibilidad del modelo de Droop en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana* con respecto a los efectos de la luz, se encontró que las soluciones del modelo son más sensibles, en orden de importancia, a la cuota mínima celular de nitrógeno, la velocidad máxima de absorción de nutrientes, la tasa de dilución y la cuota máxima celular de nitrógeno. En el análisis del equilibrio en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*, se examinó el efecto de la variación del parámetro de la intensidad de la luz y la velocidad de dilución en la concentración de biomasa y carbohidratos. Los resultados indicaron que una intensidad de luz de $350 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ fue óptima para lograr la máxima producción de biomasa y carbohidratos, alcanzando valores de $56.214 \text{ gCL}^{-1}\text{d}^{-1}$ y $30.352 \text{ gCL}^{-1}\text{d}^{-1}$, respectivamente. También se encontró que para lograr la máxima productividad de biomasa y carbohidratos, los valores óptimos de velocidad de dilución son 0.325 d^{-1} y 0.2625 d^{-1} , respectivamente, correspondientes a $126.91 \text{ gCL}^{-1}\text{d}^{-1}$ y $48.113 \text{ gC}^{-1}\text{d}^{-1}$. Después de realizar simulaciones matemáticas y analizar la dinámica de producción de carbohidratos del modelo, se observó que las altas intensidades de luz pueden afectar la velocidad de absorción de nitrógeno en el medio de cultivo. Esto conduce a un retraso en la inanición nutritiva y, como resultado, en la producción de carbohidratos.

(Palabras clave: Microalgas, Simulación, Fotoaclimatación, Carbohidratos, Sensibilidad, Productividad, Estabilidad de Lyapunov, Parámetros cinéticos, Biomasa, Metabolismo, Modelos matemáticos, Análisis del equilibrio, Optimización de procesos, Dinámica celular)

Analysis of carbohydrate production dynamics in microalgae cultivation systems through mathematical simulation.

Abraham Guzmán Palomino

Abstract

Extensive research has been conducted on microalgae-based biomass due to its potential to produce several important biochemicals, such as lipids, proteins, carbohydrates, and pigments, as well as precursors in the manufacture of value-added products, such as vitamins, bioactive compounds, and antioxidants. Furthermore, CO₂ sequestration as a side effect contributes to mitigating global warming, and there is a growing interest in microalgae as a renewable feedstock for biofuel production. Dynamic models are important tools for optimizing and controlling microalgae-based biomass systems at lab-scale and large-scale. The focus of this work is the mathematical analysis of a microalgae growth model developed by M.R. Droop in 1974 for batch culture with limited nutrients. The stability, equilibria, and sensitivity of the model are studied, as well as the mathematical incorporation of the effect of light intensity, carbon flow dynamics such as carbohydrates, and photoacclimation in a continuous culture system. This analysis is based on recent developments in the literature and uses experimental parameters from it for various mathematical simulations. The objective is to obtain useful information for optimizing carbohydrate production in microalgae cultivation systems. In the Droop batch operated model, two equilibrium points were found: one stable representing long-term biomass production and one unstable indicating the absence of biomass. Furthermore, simulations were performed using literature data to contextualize the results found in the stability analysis. Additionally, after analyzing the Droop batch-operated system of equations, it was found that the system of equations does not have

isolated fixed points, but rather exhibits an infinite number of equilibria, influenced by the minimum cell quota and initial conditions of the model state variables. On the other hand, it was found that the model is more sensitive to variations in the parameters of the mean saturation constant and the minimum cell quota than to changes in the maximum rate of inorganic nutrient uptake and maximum growth rate. After performing a sensitivity analysis of the Droop model in a continuous culture system of *Isochrysis galbana* with respect to the effects of light, it was found that the model solutions are more sensitive, in order of importance, to the minimum cellular nitrogen quota, maximum nutrient uptake rate, dilution rate, and maximum cellular nitrogen quota. In the equilibrium analysis of a continuous culture system of *Isochrysis galbana*, the effect of varying the light intensity parameter and dilution rate on biomass and carbohydrate concentrations was examined. The results indicated that a light intensity of $350 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ was optimal for achieving maximum biomass and carbohydrate production, reaching values of $56.214 \text{ gCL}^{-1}\text{d}^{-1}$ and $30.352 \text{ gCL}^{-1}\text{d}^{-1}$, respectively. It was also found that to achieve maximum biomass and carbohydrate productivity, the optimal dilution rate values are 0.325 d^{-1} and 0.2625 d^{-1} , respectively, corresponding to $126.91 \text{ gCL}^{-1}\text{d}^{-1}$ and $48.113 \text{ gC}^{-1}\text{d}^{-1}$. After performing mathematical simulations and analyzing the dynamics of carbohydrate production in the model, it was observed that high light intensities can affect nitrogen uptake rate in the culture medium. This leads to a delay in nutrient starvation and, as a result, in carbohydrate production.

(**Keywords:** Microalgae, Simulation, Photoacclimation, Carbohydrates, Sensitivity, Productivity, Lyapunov Stability, Kinetic Parameters, Biomass, Metabolism, Mathematical Models, Equilibrium Analysis, Process Optimization, Cellular Dynamics.)

Índice general

Resumen	VI
Abstract	VIII
Índice de Tablas	XV
Índice de Figuras	XVIII
1 Introducción	1
1.1 Planteamiento del problema	5
1.2 Objetivos.	7
2 Antecedentes	8
2.1 Especies de Microalgas	8
2.1.1 Carbohidratos de microalgas	9
2.2 Optimización de las condiciones de cultivo	11
2.2.1 Influencia de las condiciones de asimilación nutritiva en la producción de microalgas cultivadas en sistemas controlados.	11
2.2.2 Efecto del carbono	12
2.2.3 Optimización de la producción de carbohidratos en microalgas mediante el control de la concentración de CO ₂ en el medio de cultivo.	12
2.2.4 Relación entre el metabolismo del carbono y la acumulación de carbohidratos en microalgas	14
2.2.5 Efecto del nitrógeno en el metabolismo de las microalgas	14
2.2.6 Efecto del fósforo	16
2.2.7 Efecto del azufre	17

2.2.8	Efecto del hierro	18
2.3	Requerimientos de los organismos fotosintéticos	19
2.3.1	Efecto del potencial de iones hidrógeno	19
2.3.2	Efectos de la intensidad de la luz en los sistemas de cultivo de microalgas	21
2.3.3	Relación entre la irradiancia promedio y la velocidad de crecimiento en microalgas	23
2.3.4	Transferencia de masa del dióxido de carbono	25
2.3.5	Aireación del medio de cultivo	26
2.3.6	Transferencia de calor en el medio de cultivo de microalgas	27
2.3.7	Costos de operación	28
2.4	Avances en el diseño de FBRs	28
2.5	Tipos de Fotobiorreactores	30
2.5.1	Fotobiorreactores de estanque abierto	30
2.6	Fotobiorreactores cerrados	31
2.6.1	Fotobiorreactor Tubular	31
2.6.2	Fotobiorreactores de membrana Porosa	33
2.6.3	Fotobiorreactores de columna de burbujas	34
2.6.4	Fotobiorreactores de puente aéreo	35
2.6.5	Fotobiorreactor de bolsa	37
2.6.6	Fotobiorreactores híbridos	38
2.6.7	Fotobiorreactores de bio-película	38
2.6.8	Fotobiorreactores de paneles delgados	40
2.7	Modelado matemático de sistemas de cultivo de microalgas	41
2.7.1	Breve descripción de las fases de crecimiento de microalgas para el modelado matemático	43
2.7.2	Modelos cinéticos de factor único	44
2.7.3	El modelo matemático de Droop	56
2.7.4	Flujos de carbono a nivel intracelular	59
2.7.5	Deducción de la ecuación dinámica de la cuota de carbohidratos	69
2.8	Análisis de estabilidad	73

2.8.1	Sobre el análisis del comportamiento de los modelos matemáticos	73
3	Metodología	79
3.1	Organización metodológica	79
3.2	Selección del modelo	80
3.3	Solución numérica	80
3.4	Parámetros de entrada	86
3.5	Escenarios de simulación	87
3.6	Condiciones iniciales	89
3.7	Análisis de sensibilidad	90
3.8	Equilibrio y productividad	90
4	Análisis y discusión de Resultados	91
4.1	Análisis matemático del modelo de Droop	91
4.1.1	Análisis de estabilidad y del equilibrio del modelo de Droop en operación por lotes.	92
4.1.2	Análisis de estabilidad del equilibrio de producción de biomasa a largo plazo.	96
4.1.3	Análisis de estabilidad del equilibrio de extinción de biomasa	99
4.1.4	Prueba de estabilidad de \bar{v}_1 por reducción a un sistema bidimensional	99
4.1.5	Análisis de las simulaciones del modelo de Droop operado por lotes	104
4.2	Análisis de sensibilidad para el modelo de Droop operado por lotes	108
4.3	Análisis y discusión de las simulaciones dinámicas	116
4.3.1	Análisis y discusión de resultados de la dinámica de fotoaclimatación (I^*)	116
4.3.2	Análisis y discusión de resultados de la dinámica de síntesis de clorofila (Chl)	117
4.3.3	Análisis y discusión de resultados de la dinámica de producción de biomasa (x)	118
4.3.4	Análisis y discusión de resultados de la dinámica de la concentración de nutrientes externos (y) y la cuota interna de nutrientes (z)	120
4.3.5	Análisis y discusión de resultados de la dinámica de la cuota de carbohidratos (q_g).	122
4.4	Análisis y resultados del equilibrio	124

4.4.1	Análisis y resultados del equilibrio de la concentración de biomasa y la cuota de carbohidratos con respecto a la intensidad de luz incidente (I_0)	124
4.4.2	Análisis y resultados del equilibrio de la concentración de biomasa y la cuota de carbohidratos con respecto a la velocidad de dilución (D).	126
4.5	Análisis y resultados de la productividad	129
4.5.1	Análisis y resultados de la productividad de la biomasa y carbohidratos con respecto a la intensidad de luz	129
4.5.2	Análisis y resultados de la productividad de la concentración de biomasa y carbohidratos con respecto a la velocidad de dilución (D)	132
4.6	Análisis de sensibilidad para el modelo de Droop operado en modo continuo	135
5	Conclusión	152
5.1	Trabajos Futuros	156
5.2	Publicaciones	156
	Glosario	157
	Anexos	159
A	Código 1. Análisis de estabilidad	160
B	Código 2. Análisis de sensibilidad	162
C	Código 3. Integración numérica del sistema de ecuaciones diferenciales	165
D	Código 4. Análisis de productividad y solución gráfica	167
E	Funciones de sensibilidad del modelo considerando la intensidad de la luz.	170
	Bibliografía	193

Índice de Tablas

Tabla 2.1	Grupo A-1. Algunos modelos en función de la concentración del nutriente externo.	46
Tabla 2.2	Grupo A-2. Algunos modelos cinéticos de crecimiento de microalgas que consideran la concentración del nutriente interno almacenado.	48
Tabla 2.3	Grupo B-1. Algunos modelos cinéticos de crecimiento de microalgas que consideran la luz.	50
Tabla 2.4	Grupo B-2. Algunos modelos cinéticos de crecimiento de microalgas que consideran la luz y la atenuación de la luz por las células.	51
Tabla 2.5	Grupo B-3. Algunos modelos cinéticos de crecimiento de microalgas que consideran la luz y la fotoinhibición	53
Tabla 2.6	Algunos modelos cinéticos de crecimiento de microalgas que consideran múltiples factores	55
Tabla 2.7	Descripción de las variables y parámetros del modelo de Droop [7, 127]. . . .	58
Tabla 3.1	Parámetros de la simulación del modelo de Droop de un sistema de cultivo operado por lotes de la cepa <i>D. tertiolecta</i> , datos obtenidos de la literatura en [124]	86
Tabla 3.2	Parámetros de la simulación del modelo de Droop de un sistema de cultivo continuo de la cepa <i>Isochrysis galbana</i> . Datos obtenidos de la literatura en [199]	87
Tabla 3.3	Escenarios de simulación con diferentes condiciones de intensidad de luz usados en las simulaciones de un sistema de cultivo continuo de microalgas de la cepa <i>Isochrysis galbana</i>	88
Tabla 3.4	Condiciones iniciales de la simulación del modelo de Droop de un sistema de cultivo por lotes de la cepa <i>D. tertiolecta</i>	89

Tabla 3.5	Condiciones iniciales de la simulación de las funciones de sensibilidad obtenidas para el modelo de Droop de un sistema de cultivo continuo de la cepa <i>Isochrysis galbana</i>	89
-----------	--	----

Índice de Figuras

Figura 2.1	FBR Tubular	32
Figura 2.2	FBR Membrana Porosa	34
Figura 2.3	FBR de Columna de Burbujas	35
Figura 2.4	FBR de Puente aéreo	36
Figura 2.5	FBR Híbrido	39
Figura 2.6	FBR paneles planos	41
Figura 2.7	Fases de crecimiento microalgal para el modelado matemático	43
Figura 2.8	Representación de los flujos de carbono.	62
Figura 3.1	Metodología del análisis de estabilidad	81
Figura 3.2	Metodología del análisis de sensibilidad	82
Figura 3.3	Metodología del análisis dinámico	83
Figura 3.4	Metodología del análisis de incorporación de q_g	84
Figura 3.5	Metodología del análisis de equilibrio	85
Figura 3.6	Esquema de distribución de luz	88
Figura 4.1	Diagrama de la cuota intracelular z en el tiempo.	96
Figura 4.2	Diagrama de bifurcaciones de x vs. z_{C_0}	97
Figura 4.3	Diagrama de bifurcaciones de z vs. z_{C_0}	98
Figura 4.4	Simulación del modelo de Droop en un cultivo por lotes de la cepa <i>Dunaliella tertiolecta</i> (C_1)	105
Figura 4.5	Simulación del modelo de Droop en un cultivo por lotes de la cepa <i>Dunaliella tertiolecta</i> (C_2)	106
Figura 4.6	Diagrama de espacio fase	107

Figura 4.7	Funciones de sensibilidad de x	113
Figura 4.8	Funciones de sensibilidad de y	114
Figura 4.9	Funciones de sensibilidad de z	115
Figura 4.10	Simulación dinámica de I^*	116
Figura 4.11	Simulación dinámica de Chl	117
Figura 4.12	Simulación dinámica de x	118
Figura 4.13	Simulación dinámica de y y z	120
Figura 4.14	Simulación dinámica de q_g	122
Figura 4.15	Diagrama de equilibrio de x vs I_0	124
Figura 4.16	Diagrama de equilibrio de q_g vs I_0	125
Figura 4.17	Diagrama de equilibrio de x vs D	126
Figura 4.18	Diagrama de equilibrio de la q_g vs D	127
Figura 4.19	Mapa de productividad de x vs I_0	130
Figura 4.20	Mapa de productividad de q_g vs I_0	131
Figura 4.21	Mapa de productividad de x vs D	132
Figura 4.22	Mapa de productividad de q_g vs D	133
Figura 4.23	Simulación numérica de la cuota interna de nutrientes en diferentes condiciones iniciales.	142
Figura 4.24	Simulación numérica de las funciones de sensibilidad de la biomasa	143
Figura 4.25	Simulación numérica del nutriente externo en diferentes condiciones iniciales.	144
Figura 4.26	Simulación numérica de las funciones de sensibilidad del nutriente externo . .	145
Figura 4.27	Simulación numérica de la cuota interna de nutrientes en diferentes condiciones iniciales.	146
Figura 4.28	Simulación numérica de las funciones de sensibilidad de la cuota interna de nutriente	147
Figura 4.29	Simulación numérica de la fotoaclimatación en diferentes condiciones iniciales.	148
Figura 4.30	Simulación numérica de las funciones de sensibilidad de la cuota interna de nutriente	149
Figura 4.31	Simulación numérica de la cuota de carbohidratos.	150

Figura 4.32 Simulación numérica de las funciones de sensibilidad de la cuota interna de
carbohidratos 151

Introducción

El rápido crecimiento de la población humana a nivel global, junto con el auge de los países en desarrollo, tales como China e India, han llevado a un incremento en la demanda de energía, que se proyecta en aproximadamente un 50% o más en el 2030 [1]. Concerniente a lo anterior, cerca del 90% de las necesidades energéticas son cubiertas por la quema de carbón, gas natural y petróleo. La producción de petróleo natural no puede compensar la velocidad actual de consumo reportada en ser 105 veces más rápida de lo que la producción de hidrocarburo que se tiene [2]. Hay que mencionar además que con las tendencias de consumo actuales las reservas mundiales de petróleo podrían agotarse en 2050 [1, 2]. Se debe agregar que los problemas de contaminación ambiental y cambio climático son atribuidos principalmente al consumo de combustibles fósiles [3]. Por esta razón, un gran número de países han expresado su interés en desarrollar fuentes alternativas de energía que sean renovables, económicamente competitiva y ambientalmente amigables [4]. En otras palabras, la búsqueda de energía limpia se ha convertido en uno de los retos más importantes a nivel nacional e internacional. A largo plazo podría ser posible la transición a fuentes de energía renovable como la energía solar, eólica,

hidroeléctrica, geotérmica y mareomotriz es esencial para reducir la dependencia de los combustibles fósiles y mitigar los efectos del cambio climático, sin embargo, a corto y mediano plazo, el uso de biocombustibles para reemplazar los combustibles tradicionales es podría resultar en una estrategia más viable para aprovechar el parque vehicular existente y permitir el desarrollo de tecnologías emergentes para emplear otras fuentes de energía para la movilidad a nivel mundial. Los biocombustibles contienen energía de la fijación de carbono geológicamente reciente, es decir, de organismos vivos por lo que se puede decir que la quema de biocombustibles agrega menos carbono al medio ambiente que la quema de combustibles fósiles, ya que el carbono liberado de la quema de biocombustibles ya existía como parte del ciclo del carbono moderno. Por otro lado, los biocombustibles se pueden reproducir del almidón, aceites vegetales, grasas animales, biomasa residual o biomasa de algas: Por lo que sus usos conducen a la disminución de las emisiones nocivas de CO_2 , SO_x con la subsecuente reducción de los gases de efecto invernadero. Desafortunadamente las proyecciones de producción de biocombustibles están basadas en materias primas que también son productos alimenticios y en el uso de tierras arables útiles para cultivo de alimentos de consumo humano [5]. Las microalgas han atraído mucha atención mundial en los últimos años debido a su valor como productos naturales, su capacidad para remediar efluentes y su potencial como cultivos energéticos. Especialmente, la biomasa de las algas es biodegradable, renovable y no tóxica. Debe mencionarse que el biocombustible algal es una alternativa que puede servir para desplazar poco a poco los combustibles para transporte derivados del petróleo sin el polémico argumento de alimento por combustible. Por lo que se refiere a la composición química de la biomasa, cabe señalar que puede ser manipulada por varias técnicas de cultivo. Las técnicas de cultivo que pueden afectar el crecimiento y la composición de biomasa se relacionan principalmente con algunos factores ambientales y de cultivo, tal como los nutrientes, la luz y la temperatura principalmente. Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente, para aumentar la producción de biomasa derivada de microalgas con fines industriales, se han ideado varios diseños de fotobiorreactores que utilizan diversas geometrías para mejorar la eficiencia en la captación de luz a través de los cultivos en suspensión.

Por otra parte, conviene señalar que el modelado matemático es cada vez más importante para evaluar, diseñar, operar y controlar los sistemas de cultivo microalgal a escala industrial, hay que mencionar además que la simulación matemática es de utilidad para probar los diseños antes de su puesta en

marcha y operación. Cuando se trata de microalgas se han propuesto muy pocos modelos que implican el acoplamiento de las propiedades biológicas intrínsecas que incluyen el crecimiento, asimilación nutritiva intracelular y biosíntesis de metabolitos de interés. Comúnmente, los modelos incorporan únicamente las propiedades físicas como el efecto de la luz, temperatura en el medio de cultivo, hidrodinámica entre otras condiciones de cultivo. Lo anterior no quiere decir que dichos modelos no funcionen si no que es necesario capturar con más detalle los procesos que intervienen en la producción de biomasa microalgal.

Otra ventaja es que los modelos matemáticos computarizados pueden ser empleados para probar estos diseños previos a su construcción, evitando pérdidas económicas. El desarrollo del monitoreo y control con el objetivo de mejorar la productividad de los sistemas de cultivo de algas ha motivado el desarrollo de modelos dinámicos que puedan predecir la evolución dinámica de la concentración de diversos metabolitos de interés a partir de los cultivos de microalgas. En dichos procesos los modelos cinéticos de crecimiento son un elemento crucial. Estos modelos pueden ser categorizados en dos tipos de modelos: los modelos descriptivos y los modelos explicativos. Los modelos explicativos son desarrollados primordialmente para explicar el comportamiento de los sistemas que utilizan estructuras matemáticas complejas, como los son los modelos mecanicistas. Sin embargo estos modelos son poco utilizados debido a la dificultad de medir la numerosa cantidad de parámetros complejos en laboratorio. Por otro lado, los modelos descriptivos son desarrollados para predecir el rendimiento de los sistemas de cultivo más que para encontrar una explicación a los mecanismos detrás del metabolismo y las interrelaciones con las condiciones de cultivo imperantes. Por lo anterior, los modelos descriptivos, desarrollados a partir de trabajos empíricos pueden ser útiles para estudiar los efectos de diversos factores en el rendimiento de los cultivos, como por ejemplo la intensidad de la luz [6].

Una adecuada revisión de los desarrollos recientes en el campo del modelado cinético es necesaria para poder emprender cualquier estudio. El modelo de Droop [7] se comprende de un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias no lineales que describen el crecimiento de un microorganismo en un fotobiorreactor. La velocidad de crecimiento del organismo está limitada por la disponibilidad de nutrientes [8]. En contraste con las ecuaciones del conocido modelo de Monod, el almacenamiento de

nutrientes está dividido en nutrientes externos disueltos en medios de cultivo y un almacenamiento en reservorios intracelulares [9]. Este modelo se ha convertido en la piedra angular para la elaboración de nuevos modelos, en los cuales se han incluido los efectos de la fotoaclimatación con respuesta a la intensidad de la luz y la fotoinhibición, la incorporación dinámica de las cuotas internas de lípidos, grupos funcionales y carbohidratos [10–12]. El objetivo del presente trabajo de investigación es analizar la dinámica de producción de carbohidratos de sistemas de cultivo de microalgas a través de simulación matemática.

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las microalgas han despertado un gran interés a nivel mundial en los últimos tiempos, debido a su amplio potencial de aplicación en las industrias de energías renovables, biotecnología farmacéutica, nutracéutica, así como en otras áreas industriales, como la alimentaria y cosmética. A pesar de sus múltiples aplicaciones, la producción sostenible y a gran escala de biomasa de microalgas sigue siendo un reto tecnológico de gran importancia. A pesar de que se han llevado a cabo numerosas investigaciones para desarrollar tecnologías que permitan producir biocombustibles a partir de microalgas, todavía existen dificultades técnicas y económicas que obstaculizan su aplicación a gran escala. En la actualidad, existe un desafío científico relacionado con el control riguroso de las condiciones de cultivo de microalgas a escala industrial. Este desafío es un obstáculo importante que debe ser superado para lograr la producción sostenible de biomasa de microalgas a gran escala, lo que puede tener un impacto significativo en diversas áreas, como la biotecnología, la producción de alimentos y la producción de energía renovable. Por lo tanto, se requiere un enfoque riguroso e integral que permita mejorar la comprensión de los procesos biológicos y físico-químicos involucrados en la producción de biomasa de microalgas y desarrollar estrategias de cultivo más efectivas y eficientes.

El cultivo de microalgas a gran escala enfrenta problemas como la contaminación del cultivo por las condiciones ambientales y la baja eficiencia en la producción de biomasa como carbohidratos. La cantidad de carbohidratos presentes en la biomasa de microalgas está influenciada tanto por las especies de microalgas como por las condiciones ambientales en las que se cultivan. Para su crecimiento, las microalgas requieren no solo energía lumínica y dióxido de carbono, sino también nutrientes que actúen como fuentes de nitrógeno o fósforo. Se ha observado que factores tales como la escasez o limitación de nitrógeno en el medio de cultivo, la intensidad de la luz y la temperatura pueden afectar el contenido de carbohidratos en la biomasa de microalgas. En particular, la ausencia o insuficiencia de nitrógeno puede alterar las estrategias metabólicas de las microalgas, lo que a su vez puede afectar la composición de su biomasa. Se han desarrollado diversas estrategias para mejorar la producción de los sistemas de cultivo, como la limitación de nitrógeno del medio, sin embargo, estas estrategias

pueden llegar a tener repercusiones complejas, ya que si bien la inanición de nitrógeno aumenta el contenido de los metabolitos energéticos de la célula, reduce fuertemente la velocidad de crecimiento, impactando en la productividad. Los cultivos continuos limitados por nitrógeno permiten controlar el crecimiento celular manteniendo un nivel subóptimo de nitrógeno que previene la inanición de las células y evita que dejen de crecer. Es importante encontrar una compensación entre la acumulación de los metabolitos energéticos, como los carbohidratos, y la velocidad de crecimiento, lo que es clave para establecer nuevas estrategias de cultivo de microalgas que permitan un control eficiente y sostenible en la carbohidratos.

Para abordar esta problemática, es importante aprovechar el uso de modelos matemáticos que idealicen el comportamiento de los procesos del mundo real. Se han desarrollado numerosos modelos matemáticos que capturan las características cinéticas del crecimiento de los sistemas de cultivo de microalgas, con capacidad para simular el comportamiento del sistema y proporcionar información útil sobre el rendimiento del cultivo. En esta investigación se aborda el uso del modelo de Droop para simular la influencia de la asimilación de nitrógeno en la producción de carbohidratos, considerando tanto la intensidad de luz como la fotoaclimatación. A pesar de la amplia validación de este modelo en la literatura científica, su aplicación para analizar la dinámica del efecto de la intensidad de luz en la producción de carbohidratos y estimaciones de primer orden del efecto de las variaciones de los parámetros en las soluciones del sistema ha sido limitada. Esta información es crucial para el desarrollo de estrategias eficientes de escalamiento productivo de sistemas de cultivo de microalgas, como una fuente sostenible de energía.

1.2. OBJETIVOS.

El objetivo general de esta tesis doctoral es realizar un análisis minucioso de la dinámica de producción de carbohidratos de sistemas de cultivo de microalgas a través de simulación matemática de un modelo de crecimiento de microalgas para determinar las interacciones entre la intensidad de la luz, la fotoaclimatación y la asimilación nutritiva que permitan plantear estrategias de optimización y control.

Objetivos específicos.

1. Seleccionar el modelo cinético de crecimiento de microalgas más adecuado para la simulación matemática de la producción de carbohidratos, considerando la interacción entre la intensidad de la luz, la fotoaclimatación y la asimilación de nutrientes.
2. Realizar un análisis matemático riguroso del comportamiento del equilibrio, la estabilidad según Lyapunov y la sensibilidad del modelo cinético de crecimiento de microalgas seleccionado, con el fin de identificar las relaciones entre las variables y los efectos de las variaciones de los parámetros en las soluciones del sistema en el largo plazo.
3. Incorporar dinámicamente la concentración de carbohidratos y sus relaciones con la intensidad de la luz, la fotoaclimatación y la asimilación nutritiva en el modelo cinético de crecimiento de microalgas seleccionado.
4. Realizar simulaciones del modelo cinético de crecimiento de microalgas seleccionado, utilizando parámetros experimentales de crecimiento de microalgas identificados en la literatura, con el fin de analizar la dinámica de producción de carbohidratos en sistemas de cultivo de microalgas.

Antecedentes

2.1. ESPECIES DE MICROALGAS

Algunos de los grupos más significativos de algas son las algas verdes (*Chlorophyceae*), algas rojas (*Rhodophyceae*), las diatomeas (*Bacillariophyceae*) y algas marrones (*Phaeophyceae*). Aunque las cianobacterias (algas verde-azuladas) son clasificadas como *bacterias*, siendo organismos fotosintéticos procariontes, a menudo se consideran como algas verde azules debido a los colorantes que poseen en sus organelos fotosintéticos. Las algas se dividen en dos categorías principales basadas en sus tamaños, macro- y microalgas. Las macroalgas son organismos multicelulares, cuyas estructuras desarrolladas como plantas superiores y sus tamaños pueden ser de algunos centímetros hasta varios metros. En contraste, las microalgas son de pequeños organismos en un rango de 0.2 a 2 μm (picoplancton) hasta formas filamentosas con tamaños de 100 μm o superiores [2].

2.1.1. Carbohidratos de microalgas

Las células fotosintéticas, tales como las microalgas (células eucariotas) y las cianobacterias (células procariotas), tienen la capacidad de aprovechar la energía solar y transformarla en materia orgánica mediante complejas reacciones, clasificadas como reacciones de luz y reacciones oscuras. Durante las reacciones de luz, los pigmentos de las antenas fotosintéticas absorben la energía solar y la utilizan para la división del agua en protones, electrones y oxígeno. Estos electrones y protones generan portadores de energía, como el Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato (NADPH) y la Adenosín Trifosfato de Adenosina (ATP), que satisfacen las necesidades metabólicas de la célula. En las reacciones oscuras, el dióxido de carbono se reduce a carbohidratos por el ciclo de Calvin, utilizando la energía obtenida del NADPH y ATP. El primer paso en este ciclo es la asimilación del dióxido de carbono, que es catalizada por la Ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa. Este compuesto se utiliza para la carboxilación de la ribulosa-1,5-bifosfato, que se divide en dos compuestos de tres carbonos conocidos como 3-fosfoglicerato. Uno de ellos se utiliza para la formación de carbohidratos, mientras que el otro completa el siguiente ciclo [2]. Los carbohidratos se sintetizan en los cloroplastos, y en las células procariotas se producen en el citosol. La formación de carbohidratos tiene dos propósitos principales en las microalgas: como componentes estructurales en las paredes celulares y como almacenamiento de compuestos dentro de la célula. Los carbohidratos proporcionan la energía necesaria para el metabolismo y, en caso necesario, para la supervivencia temporal en condiciones de oscuridad [21]. Además, los carbohidratos almacenados abarcan una amplia categoría de azúcares y sus polímeros (di-, oligo- y polisacáridos), dependiendo de cada especie. Las cianobacterias sintetizan glucógeno, las algas rojas sintetizan almidón florideano (híbrido del almidón y el glucógeno) y las algas verdes sintetizan amilopectina como polisacáridos [23]. La biomasa de las microalgas carece de hemicelulosa y lignina, y algunas especies carecen de celulosa o no tienen paredes celulares. Estos polisacáridos son fácilmente digeribles, lo que los convierte en una buena opción para las tecnologías de conversión de biomasa biológica que eliminan o restringen la necesidad de tratamiento previo en comparación con la materia prima lignocelulósica convencional [2]. La pared celular de las microalgas se compone principalmente de una capa de pared celular interna y una capa de pared celular externa,

que se pueden clasificar en tres tipos: (1) con una capa externa trilaminar, (2) con una monocapa externa delgada y (3) sin una capa externa. La composición de la pared celular externa varía de una especie a otra, pero generalmente contiene polisacáridos específicos, como pectina, agar y alginato. La capa interna de la pared celular de las microalgas se compone principalmente de celulosa y otros materiales [24]. En algunas especies de microalgas, como las cianofitas, clorofitas, dinofíceas y criptofitas, se ha encontrado almidón como producto de almacenamiento, cuya composición de la pared celular va desde lipopolisacáridos, celulosa y hemicelulosa y periplastos respectivamente. Algunas microalgas pueden acumular altos contenidos de almidón (alrededor del 44 % en peso seco) fotosintéticamente [25]. Por ejemplo, la especie *Chlorella vulgaris* CCAP 211 y *Chlamydomonas reinhardtii* UTEX 90 pueden acumular carbohidratos de un 37 a 55 % y de un 45 a 60 % de su biomasa seca respectivamente [26]. Tras ser cultivada a bajas concentraciones de nitrógeno durante 14 días, se encontró que la concentración de biomasa y el porcentaje de carbohidratos en la *Chlorella vulgaris* CCAP 211 alcanzaron 0.52 g/L y 55 % respectivamente [26]. Asimismo, tras 3 días en un cultivo por lotes de *Chlamydomonas reinhardtii* UTEX 90 se encontró de 1.45 g/L y 53 % [27]. Además, tras 3 días de inanición de nitrógeno, se observó que la concentración y porcentaje de carbohidratos en la *S. obliquus* pudo alcanzar hasta 4.96 g/L y 51.8 %, respectivamente [28]. Se puede observar que el metabolismo de los carbohidratos difiere y depende significativamente de cada especie de microalga y del suministro de nutrientes al que las células son expuestas. Para algunas microalgas, los polímeros de glucosa producidos a través de celulosa/almidón son el componente predominante en las paredes celulares y los productos almacenados de las microalgas. El almidón acumulado de las microalgas puede ser utilizado para producir diversos biocombustibles como etanol, butanol e hidrógeno. En particular, se ha reportado que las tecnologías de digestión anaerobia, fermentación anaerobia y producción biológica de biohidrógeno pueden emplear estos carbohidratos como sustrato [2]. Sin embargo, para maximizar la producción de biocombustibles, el contenido de carbohidratos debe combinarse con la capacidad de las especies de algas.

2.2. OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE CULTIVO

Esta sección de la tesis trata sobre la posibilidad de optimizar la composición de la biomasa microalgal a través del control de las condiciones ambientales de cultivo. Se mencionan diferentes estrategias que pueden ser empleadas para manipular la producción de moléculas de interés, especialmente los carbohidratos, en las microalgas.

2.2.1. Influencia de las condiciones de asimilación nutritiva en la producción de microalgas cultivadas en sistemas controlados.

Las microalgas, además de la energía solar y el dióxido de carbono, necesitan nutrientes, como nitrógeno, fósforo, potasio, entre otros, para su crecimiento. Si un nutriente es limitado o se encuentra ausente en la composición del medio de cultivo, las microalgas cambian sus estrategias metabólicas resultando en alteraciones de composición en la biomasa. En la mayoría de los casos, la alteración de composición en la biomasa se relaciona con la acumulación de carbohidratos o lípidos [2, 26, 31].

La estrategia de limitación de nutrientes se considera una opción viable para la producción de microalgas ricas en carbohidratos [32]. Esta técnica permite el control de nutrientes en el medio de cultivo. Sin embargo, es más difícil de aplicar cuando se utilizan aguas residuales como medio de cultivo debido a las variaciones en su composición en diferentes estaciones del año [33, 34].

Un problema importante con estos estudios es la falta de suministro de nutrientes necesarios desde el inicio del cultivo de microalgas, lo que se traduce en bajas tasas de crecimiento y baja producción de biomasa. Por lo tanto, es esencial optimizar la concentración de nutrientes en el medio de cultivo [34, 35]. Encontrar la concentración óptima de nutrientes puede tener un doble alcance: por un lado, apoyar la producción adecuada de biomasa, y por otro, actuar como factor limitante para controlar la composición de la biomasa. Es esencial estudiar las mínimas cantidades de un nutriente que deben proporcionarse

en los cultivos. Además, se ha encontrado que los medios de cultivo con concentraciones limitadas de nutrientes son superiores a aquellos que emplean la privación absoluta de nutrientes porque pueden favorecer algunos procesos de conversión [36].

2.2.2. Efecto del carbono

Dado que algunas microalgas son capaces de utilizar tanto compuestos orgánicos como inorgánicos de carbono, como dióxido de carbono o acetato de glucosa, el metabolismo del carbono se puede dividir en cuatro tipos: (1) fotoautótrofo, (2) heterotrófico, (3) fotoheterotrófico y (4) mixotrófico. En el metabolismo fotoautótrofo, la luz es la única fuente de energía utilizada para producir biomasa, mientras que el carbono proviene únicamente de compuestos inorgánicos. En contraste, en el metabolismo heterotrófico, las células utilizan compuestos orgánicos como fuente de energía y carbono. En el metabolismo fotoheterotrófico, la fuente de energía es la luz, que se requiere para que las microalgas puedan utilizar compuestos orgánicos como fuente de carbono. Finalmente, en el metabolismo mixotrófico, tanto la luz como los compuestos orgánicos y la suministración de CO_2 son esenciales para el crecimiento y la producción de biomasa [37].

2.2.3. Optimización de la producción de carbohidratos en microalgas mediante el control de la concentración de CO_2 en el medio de cultivo.

La reducción de la concentración de dióxido de carbono conlleva un incremento en el contenido de carbohidratos presente en la biomasa de las microalgas. Este fenómeno se atribuye a la presencia de los mecanismos de concentración de dióxido de carbono (MCC), los cuales posibilitan que las microalgas adquieran y concentren el carbono inorgánico presente en el medio extracelular. Los MCC son inducidos en situaciones de bajas concentraciones de dióxido de carbono y se caracterizan por una eficiente utilización de este gas durante el proceso de fotosíntesis. De hecho, estudios previos han

reportado un aumento de hasta 2.5 veces en la acumulación de carbohidratos en las microalgas cuando se redujo la concentración de dióxido de carbono del 3 al 0.04

La adición de dióxido de carbono (CO₂) es esencial para el crecimiento autótrofo de las microalgas, y está directamente relacionado con la eficiencia de la fotosíntesis para la producción de carbohidratos. Por lo tanto, un suministro adecuado de CO₂ es un factor clave que influye en la acumulación de carbohidratos en las microalgas. Varios estudios han demostrado que el aumento en la concentración de CO₂ disuelto mejora la producción de carbohidratos. En un cultivo de *C. pyrenoidosa* y *C. reinhardtii*, por ejemplo, el aumento de la concentración de CO₂ disuelto de 3 a 186 μ mol/L resultó en un aumento en el contenido de carbohidratos del 9.30 al 21.0% y del 3.19 al 7.40% (p/p), respectivamente [39].

Sin embargo, numerosos estudios apuntan a que incrementar la concentración de CO₂ no solo proporciona más fuente de carbono para la fotosíntesis, promoviendo así el crecimiento de las microalgas, sino que también induce la síntesis de proteínas relevantes que pueden influir en la fisiología celular. En algunas especies de microalgas, el aumento en la concentración de CO₂ produce un incremento en el contenido de proteínas, pero una disminución o incluso ningún cambio evidente en el contenido de carbohidratos [40]. Sin embargo, bajo condiciones de ausencia de nitrógeno y con un adecuado suministro de CO₂ y energía luminosa, el contenido de proteínas en las microalgas se puede consumir como fuente de nitrógeno, lo que a su vez puede llevar a un aumento significativo en el contenido de carbohidratos. En consecuencia, la adición adecuada de CO₂ es un factor clave para mejorar el crecimiento autótrofo de las células de microalgas, lo que a su vez puede mejorar la productividad de la biomasa y el contenido de proteínas. Es importante señalar, sin embargo, que la adición de CO₂ no puede aumentar directamente la acumulación de carbohidratos en las microalgas a menos que se empleen condiciones de estrés apropiadas [26].

La asimilación de sustancias orgánicas se lleva a cabo mediante diversos mecanismos, que incluyen la fosforilación para azúcares, la difusión simple dentro de las células para el glicerol y el uso de proteínas transportadoras de membrana para ácidos orgánicos.

2.2.4. Relación entre el metabolismo del carbono y la acumulación de carbohidratos en microalgas

El método utilizado para suministrar las fuentes de carbono tiene un impacto significativo en las tasas de crecimiento de las microalgas, y se ha encontrado que las tasas son mayores en el modo mixotrófico o heterótrofo [37]. Además, se ha demostrado que el modo metabólico del carbono afecta la composición de la biomasa de las microalgas. Por ejemplo, *Chlorella* ha mostrado una mayor acumulación de carbohidratos en los modos mixotrófico o heterotrófico en comparación con los cultivos fotoautotróficos [41], y el uso de la glucosa resulta en una mayor acumulación de carbohidratos en comparación con el uso de acetato o glicerol [42]. Sin embargo, la mayoría de los estudios que investigan los modos mixotróficos o heterotróficos del metabolismo de las microalgas se centran en la producción de lípidos, por lo que se sabe poco sobre el efecto de estos modos en la acumulación de carbohidratos [43].

2.2.5. Efecto del nitrógeno en el metabolismo de las microalgas

El nitrógeno es un nutriente esencial para el crecimiento de las microalgas, ya que participa en la síntesis de componentes importantes como el ácido desoxirribonucleico (ADN), proteínas, pigmentos, cloroplastos, aminoácidos, enzimas y coenzimas, entre otros [26]. Las microalgas tienen la capacidad de utilizar diversas fuentes de nitrógeno, como nitratos, nitritos, amonio y urea, lo que puede influir en su composición bioquímica. Una estrategia comúnmente utilizada en los cultivos de microalgas es la inanición de nitrógeno, lo que puede guiar la ruta metabólica hacia la producción de macromoléculas de interés para el cultivador. La inanición de nitrógeno afecta principalmente los procesos fotosintéticos conocidos como fotosistemas I y II, y disminuye la síntesis de pigmentos fotosintéticos como la clorofila y los carotenoides. Además, la inanición de nitrógeno modifica el flujo del carbono fijado fotosintéticamente, lo que conduce a una ruta metabólica hacia la síntesis de carbohidratos y lípidos, y resulta en una acumulación de estos compuestos en los cultivos de microalgas. En las algas verdes,

la inanición de nitrógeno generalmente causa una acumulación de lípidos, aunque en algunos casos también se ha observado una acumulación de carbohidratos. Esto sugiere que la respuesta a la inanición de nitrógeno puede depender de la especie de microalga en cuestión. Sin embargo, se ha observado que la inanición de nitrógeno en las microalgas puede ser más compleja y estar influenciada por otros factores además del nitrógeno. Por ejemplo, se ha reportado una acumulación de lípidos en la mayoría de los estudios, pero también se han observado acumulaciones de carbohidratos en algunas especies como *Chlorella vulgaris*, *Tetraselmis subcordiformis*, *Spirulina maxima* y *Spirulina platensis* [2,32,35]. Se ha informado de la presencia de carbohidratos en porcentajes de hasta el 55% en *C.vulgaris* cultivadas en medios con baja concentración de nitrógeno, y en *Tetraselmis suecica* cultivada en bajas concentraciones de nitrógeno con alimentación de CO_2 , se ha demostrado una mejora significativa en el contenido de carbohidratos, del 10 al 57%. Sin embargo, varios estudios han demostrado que existe cierta competencia entre la síntesis de carbohidratos y lípidos en condiciones de estrés, como la inanición de nitrógeno, debido a la estrecha relación entre las rutas metabólicas para la síntesis y degradación de compuestos ricos en energía, como lípidos y carbohidratos. La síntesis de almidón en microalgas puede provenir de la síntesis de lípidos, mientras que la degradación del almidón proporciona metabolitos para la producción de acetil coenzima A, una molécula clave en la biosíntesis de ácidos grasos [26]. La *Chlamydomona* y *Dunaliella* han informado de la acumulación de carbohidratos en forma de almidón bajo condiciones de inanición de nitrógeno [20]. Además, la fuente de nitrógeno utilizada en los cultivos de microalgas afecta el perfil de carbohidratos. En la *Dunaliella salina*, por ejemplo, se encontró que diferentes fuentes de nitrógeno mejoran la actividad de enzimas específicas, ya que la fotosíntesis se ve afectada cuando se utiliza el amonio en lugar de nitrato como fuente de nitrógeno. El carbono tiende a ubicarse en las proteínas y pigmentos con amonio, mientras que el almidón se acumula con nitratos. El nitrato gobierna el destino metabólico del dióxido de carbono fijado por la fotosíntesis. El consumo de nitrato por las microalgas requiere una alta demanda de energía, lo cual resulta en un bajo contenido de carbohidratos [13,44]. Además, la fuente de carbono también influye en la composición de la pared celular y los exo-polisacáridos liberados. La composición de la pared celular de la *Chlorella*, por ejemplo, difiere en azúcares neutros, ácido urónico y contenido de amino azúcares cuando se utilizan diferentes fuentes de nitrógeno. En la *Botryococcus braunii*, se ha encontrado que el tipo de fuente de nitrógeno no afecta la composición de los exopolisacáridos,

pero más cantidad se excreta cuando se utiliza nitrato en lugar de carbonato de amonio como fuente de nitrógeno [13,44].

La privación de nitrógeno en las microalgas puede resultar en la acumulación de carbohidratos y lípidos [13]. Por lo general, las algas ricas en lípidos tienden a almacenar carbono y energía en forma de lípidos, mientras que otras algas producen almidón. Por ejemplo, se ha observado que la *Chlamydomonas* acumula almidón en condiciones de limitación de nitrógeno [20].

En la inanición de nitrógeno (N), las microalgas se desarrollan en un ambiente privado de fuentes de N, mientras que en la limitación de N, hay un suministro constante pero insuficiente de N. La inanición de nitrógeno tiene un impacto inicial en los sistemas fotosintéticos, particularmente en el Fotosistema II (FSII), lo que resulta en una disminución en la síntesis de proteínas que participan en ambos fotosistemas (FSI y FSII) [26]. Además, la carencia de nitrógeno también disminuye la producción de pigmentos fotosintéticos, tales como la clorofila y los carotenoides [20].

Dado que la clorofila es un compuesto rico en nitrógeno y fácilmente accesible, suele utilizarse como una reserva intracelular para respaldar el crecimiento celular y la producción de biomasa cuando se agota el suministro externo de nitrógeno. Por ejemplo, tanto la *Chlamydomonas reinhardtii* como la *Scenedesmus subspicatus* sólo alcanzaron la fase estacionaria de crecimiento cuando los niveles de nitrógeno en el medio descendieron por debajo de 0.05 mg/L [2].

2.2.6. Efecto del fósforo

El fósforo también es un nutriente esencial que tiene un lugar vital en la producción de moléculas orgánicas en los cultivos de microalgas. El ARN es considerado como la fracción macro-molecular más abundante de nitrógeno en la célula. Además del anterior, el fósforo también es asociado con los ácidos nucleicos, fosfolípidos, ADN y ATP. El fósforo a bajas concentraciones se consume con mayores

velocidades y es almacenado como polifosfatos. Los polifosfatos funcionan como un regulador del orto-fosfato intracelular y son agotados cuando existe una inanición de fósforo. Los carbohidratos se sintetizan en el cloroplasto y/o en el citosol, dependiendo del tipo de célula. Para el caso de las células eucariotas, cuando la concentración de fósforo en el citosol es baja, el Gliceraldehído 3-fosfato se conserva dentro del cloroplasto con la subsecuente síntesis de carbohidratos. El efecto de la inanición de fósforo en la composición de la biomasa de las microalgas lleva a una acumulación simultánea de carbohidratos y lípidos contra el decrecimiento de la síntesis de proteínas aunque se ve un mayor efecto en la acumulación de carbohidratos. Aunque en algunos estudios se ha observado que la inanición de fósforo solo se acumulan lípidos, por ejemplo se observó que en cultivos de *Scenedesmus sp* LX1 se acumuló hasta un 53 %. En otros estudios en el que se utilizaron bajas cantidades de fósforo se encontró la *Chlorella* y la *arthrospira platensis* acumularon 55 % y 63 % respectivamente [2].

2.2.7. Efecto del azufre

El azufre es un elemento que participa en sulfolípidos, polisacáridos, proteínas y transportadores de electrones. La inanición de azufre resulta en la inhibición de la división celular. Esto puede ser una respuesta a la deficiencia de azufre para la síntesis de aminoácidos y proteínas u otros componentes celulares requeridos para el crecimiento, resultando en la acumulación de compuestos de almacenamiento de energía, como los carbohidratos. Las microalgas tienen una baja capacidad de almacenamiento de azufre y, por lo tanto, su inanición afecta a las microalgas muy rápidamente. La recuperación celular del azufre también es muy rápida. La inanición por azufre en la mayoría de los estudios está relacionada con la producción de biohidrógeno porque después de la inanición por azufre se produce una disminución en la tasa de fotosíntesis debido a la caída en la actividad del sistema fotosintético, que resulta en el desarrollo de condiciones anóxicas. En consecuencia, la anoxia desencadena la actividad de la hidrogenasa, por la cual se produce el hidrógeno. En cultivos de *Chlamydomonas reinhardtii*, se informó un aumento de 10 veces en el contenido de carbohidratos, mientras que también se encontró un aumento de aproximadamente 10, 15,5 y 4,5 veces en carbohidratos en cultivos autótrofos, mixotróficos y heterótrofos, respectivamente. Además de la producción de

biohidrógeno a través de la inanición de azufre, se sugiere que la falta de azufre es la estrategia de limitación de nutrientes más adecuada para utilizarse en los cultivos a gran escala para producir biomasa rica en carbohidratos para la producción de bioetanol debido a que el intervalo entre el logro del contenido máximo de carbohidratos y la muerte celular fue mayor en comparación con otros nutrientes estudiados (N y P). En otros estudios obtuvieron que *Chlorella vulgaris* bajo inanición de azufre acumulaba carbohidratos hasta un 60% [2].

2.2.8. Efecto del hierro

El hierro es un elemento esencial de los componentes fotosintéticos y participa en las reacciones de transferencia de electrones. Su deficiencia provoca una inhibición de la fotosíntesis [45], pero hay una sugerencia de que la falta de hierro también está relacionada con el mecanismo de captación de nitrógeno y resulta en la deficiencia de nitrógeno [46,47]. Sin embargo, el efecto de la falta de nitrógeno, que conduce a la acumulación de carbohidratos o lípidos, no se observa, lo que indica que la falta de hierro afecta principalmente a la fotosíntesis y, por lo tanto, reduce la síntesis de carbohidratos [45]. Además, los cultivos *Scenedesmus* bajo inanición de hierro mostraron una duplicación de la fijación de carbono en proteínas [48], lo que indica quizás que la falta de hierro cambia la estrategia metabólica de la microalga, lo que lo lleva a sintetizar proteínas. En un estudio cuyo objetivo era aumentar el contenido de carbohidratos en cultivos de *Chlorella vulgaris* P12, se informó que la falta de hierro no tuvo un efecto significativo en la acumulación de carbohidratos [2, 49]. A diferencia de la falta de hierro, el exceso de hierro en combinación con la falta de nitrógeno y la alta intensidad de luz resultaron en la acumulación de carbohidratos [2].

2.3. REQUERIMIENTOS DE LOS ORGANISMOS FOTOSINTÉTICOS

La disponibilidad de nutrientes minerales inorgánicos, como el nitrato y el fosfato, es esencial para los microorganismos autótrofos y se pueden proporcionar fácilmente como sales disueltas en el medio de cultivo. Sin embargo, en el caso de microorganismos fotoautótrofos, como las microalgas, la luz también es un nutriente crítico que debe ser considerado cuidadosamente. El suministro de luz, o energía radiante, requiere una evaluación exhaustiva debido a su naturaleza diferente en comparación con los nutrientes minerales inorgánicos. De manera similar, aunque el carbono se puede suministrar como bicarbonato disuelto, se prefiere el dióxido de carbono debido a su capacidad para controlar el pH y suministrar carbono. Al mismo tiempo, el consumo de dióxido de carbono produce oxígeno, que debe eliminarse del medio. Por lo tanto, el suministro de dióxido de carbono y la eliminación de oxígeno son aspectos diferenciales que también deben considerarse en los cultivos de microalgas y están determinados por la capacidad de transferencia de masa en los fotobiorreactores (FBRs). Además, se debe tener en cuenta la fuente de alimentación necesaria para mantener las células en suspensión y reducir el gradiente de luz y nutrientes, teniendo en cuenta los problemas de fragilidad celular que pueden surgir con altas fuerzas de corte. Finalmente, el control de la temperatura también es esencial para garantizar la estabilidad del cultivo y prevenir la muerte celular causada por el sobrecalentamiento [4].

2.3.1. Efecto del potencial de iones hidrógeno

La mayoría de las especies de microalgas crecen en un rango de pH de 8.2 a 8.7, aunque también pueden cultivarse en un rango más amplio, entre 7 y 9. No obstante, algunas especies pueden tolerar condiciones adversas en rangos más ácidos o básicos. Es crucial mantener el pH del cultivo dentro de los valores óptimos para evitar la descomposición del cultivo debido a la destrucción de los procesos celulares provocada por un pH perjudicial [50]. En los cultivos de microalgas altamente densos que se airean con gases de combustión que contienen un alto contenido de CO₂, o que se cultivan a partir de CO₂ puro, este gas es consumido por las microalgas durante la fotosíntesis, lo que aumenta el pH

en el medio de cultivo [51]. Por lo tanto, la concentración de CO₂ disuelto es un factor vital que se ve influenciado por el pH. El dióxido de carbono disuelto se produce a partir del equilibrio entre el consumo de CO₂ por las células de las microalgas y la transferencia de masa del CO₂ desde la fase gaseosa a la fase líquida. La solubilidad del CO₂ en agua es generalmente baja, siendo de 1650 ppm a 25 °C [52].

La adición de CO₂ ayuda a amortiguar el cultivo contra las variaciones de pH, como resultado del balance CO₂/HCO₃⁻/CO₃²⁻ [52, 53]. La influencia del pH en el coeficiente de distribución de los componentes en el equilibrio de disolución del CO₂ es significativa. En el equilibrio de disolución del CO₂, la mayoría del carbono está en forma de CO₂ cuando el pH es inferior a 4.5, mientras que en agua dulce, las proporciones en forma de CO₂ y bicarbonato HCO₃⁻ son iguales cuando el pH es aproximadamente 6.5 a 25 °C [50]. Casi todo el carbono está en forma de bicarbonato cuando el pH es igual a 8.3. En ese punto, la proporción de la forma de bicarbonato disminuye y se vuelve igual a la del carbonato CO₃²⁻ cuando el pH alcanza unos 10.4. La mayor parte del carbono inorgánico está en forma de carbonato cuando el pH está por encima de 12.

En los fotobiorreactores, las microalgas pueden aprovechar rápidamente los iones de bicarbonato y algunas especies incluso pueden utilizar los iones de carbonato [54]. Por lo tanto, la disponibilidad de CO₂ se convierte en un problema para el crecimiento de microalgas a altos niveles de pH [55]. En tal escenario, el pH debe ser controlado durante el cultivo para intensificar el consumo de CO₂ por las microalgas [51]. Por esta razón, sustancias como el bicarbonato de sodio se utilizan ampliamente para controlar el pH del cultivo y evitar que aumente demasiado rápido.

La regulación del pH en el cultivo de microorganismos es fundamental ya que influye no solo en la tasa de crecimiento celular, sino también en la composición bioquímica. Cabe destacar que el pH óptimo para la acumulación de carbohidratos varía según la especie de microalga empleada. En estudios realizados con *D. bardawil* y *C. ellipsoidea*, se ha demostrado que el valor del pH tiene un impacto significativo en la acumulación de carbohidratos totales, alcanzando su máximo valor a pH 7.5 y 9.0 respectivamente [26].

2.3.2. Efectos de la intensidad de la luz en los sistemas de cultivo de microalgas

La luz natural es ampliamente utilizada en el cultivo en masa de microalgas debido a su abundancia y gratuidad, lo que se traduce en una notable reducción de los costos. Sin embargo, la radiación solar incidente varía inevitablemente en función de las condiciones climáticas, el ciclo diurno y las estaciones del año. Los organismos fotosintéticos tienen una eficiencia máxima teórica de conversión de energía solar en biomasa del 8-10% [56–58]. Además, la calidad espectral de la luz es un factor crucial en el cultivo de microalgas. Aunque la luz solar abarca un amplio rango espectral, solo la radiación dentro del rango de 400-700 nm, aproximadamente equivalente al espectro de luz visible, es fotosintéticamente activa. Esta radiación fotosintéticamente activa (RFA) representa aproximadamente el 50% de la luz solar total; la irradiación fuera de la RFA es la principal causa del aumento de temperatura durante el cultivo. Además, la luz que no pertenece a la RFA en ciertas frecuencias, como la ultravioleta, es letal para las células [59].

La distribución no uniforme de la intensidad de luz en un fotobiorreactor (FBR) es crucial debido a la absorción y dispersión en el cultivo, lo que conduce a la atenuación de la radiación [26]. La atenuación depende de la longitud de onda de la luz, la concentración celular, la geometría del FBR y la distancia de penetración de la luz. En general, la intensidad de la luz disminuye exponencialmente a medida que se aleja del lado irradiado del FBR, lo que resulta en una disminución significativa de la tasa de crecimiento celular de microalgas a medida que aumenta la profundidad del FBR [56–58]. Si la intensidad de la luz supera un valor crítico y alcanza el nivel de saturación, la fotoinhibición de la luz inhibirá el crecimiento celular, y la luz se disipará primero como fluorescencia y luego como calor. Por otro lado, si la intensidad de la luz no es suficiente para satisfacer las necesidades de mantenimiento, el crecimiento estará limitado por la fotolimitación de la luz, lo que eventualmente conducirá al colapso del cultivo [59].

Basándonos en la tasa de crecimiento celular, los FBR pueden ser clasificados en tres zonas distintas. En primer lugar, la zona de fuerte iluminación, que tiene un efecto inhibitorio y se extiende desde la

pared iluminada hasta el punto en el que la energía luminosa que llega equilibra solamente el nivel de energía lumínica necesario para el crecimiento celular a la velocidad máxima. A continuación, la zona de iluminación débil, que termina en el punto en el que la ingesta de energía lumínica cumple con los requisitos de energía para el mantenimiento. Finalmente, la zona oscura, donde la tasa de crecimiento celular es negativa debido a la limitada disponibilidad de luz [61, 62]. Esta división se complica aún más si se considera la fotoinhibición, ya que puede provocar una disminución en la velocidad de crecimiento cerca de la fuente de luz [62]. Por lo tanto, la actividad fotosintética es más alta que la respiración cuando la fotoinhibición no es demasiado fuerte en la zona de iluminación fuerte, lo que resulta en un crecimiento neto de células. La velocidad fotosintética disminuye con un aumento de la irradiancia. Sin embargo, si la intensidad de la luz supera un valor crítico, la velocidad de crecimiento se ve afectada. Por lo tanto, se debe evitar la situación de inhibición de la luz tanto como sea posible. La fotoinhibición, que depende del estrés y del tiempo que las microalgas están expuestas al estrés, puede ser reversible o irreversible [59]. En la zona de iluminación débil, la actividad fotosintética es más alta que la respiración y se observa una tasa de crecimiento celular positiva, que aumenta con el aumento de la absorción de luz [63]. El punto de mantenimiento de la luz, es decir, la irradiancia por debajo de la cual se produce foto-limitación para las microalgas de *Chlorella vulgaris* esta entre un flujo de fotones de $5\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $10\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, y la irradiancia por encima de la cual se produce la fotoinhibición es de aproximadamente $250\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ [20]. Para lograr altas densidades celulares, el espesor del FBR debería ser lo más pequeño posible [63]; por lo tanto, un espesor óptico delgado se aplica ampliamente en FBR comerciales. Por ejemplo, se ha encontrado que una reducción en la trayectoria de la luz de 30 mm a 15 mm incrementó la productividad de la biomasa en 2.5 veces en un FBR de puente aéreo (airlift) [64].

En general, las microalgas alcanzan la saturación lumínica con un flujo de luz de 200-400 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, aunque la penetración de la luz dentro del fotobiorreactor disminuye a medida que aumenta la densidad celular debido al efecto de autosombreado y la absorción de luz por las antenas fotosintéticas [2]. Además, altas intensidades de luz han demostrado aumentar el contenido de carbohidratos en algunas especies de microalgas. Por ejemplo, los cultivos de *Porphydrium* han mostrado un aumento de 3 veces

en los carbohidratos bajo altas intensidades de luz, mientras que los cultivos de *Spirulina Arthrospira máxima* aumentaron de 7-10% hasta un 34% en carbohidratos con un aumento de la luz [2].

Sin embargo, el efecto de la temperatura en la acumulación de carbohidratos en microalgas aún no se ha concluido. Mientras que algunos investigadores no observaron diferencias significativas en la composición bioquímica de algunas especies de microalgas bajo estrés térmico, otros informaron que la temperatura puede afectar la composición bioquímica de las microalgas. Por lo tanto, el efecto de la temperatura en la acumulación de carbohidratos en microalgas parece ser altamente dependiente de las cepas de microalgas utilizadas [26].

2.3.3. Relación entre la irradiancia promedio y la velocidad de crecimiento en microalgas

En reactores de gran escala, la irradiancia dentro del cultivo varía en función no solo de la radiación incidente en la superficie del cultivo, sino también de la posición de la fuente luminosa y de la atenuación de la luz por la biomasa. Por lo tanto, las células están expuestas a diferentes niveles de irradiancia en cada posición, lo que puede generar diferentes tasas de fotosíntesis. Además, las células se desplazan de una posición a otra según la dinámica del fluido en el reactor, por lo que la velocidad de fotosíntesis global dependerá de la irradiancia a la que se expongan las células. Para modelar la velocidad de fotosíntesis, se pueden utilizar modelos locales o se pueden incluir velocidades de crecimiento en diferentes zonas y luego integrar estos valores según la mezcla en el reactor para determinar la productividad del sistema [68].

Alternativamente, se puede definir una irradiancia promedio como el promedio de los valores de irradiancia local dentro del cultivo. La irradiancia promedio, I_{av} , representa la cantidad de luz que reciben las células que se desplazan aleatoriamente dentro del cultivo y refleja la disponibilidad de luz dentro del cultivo, en lugar de considerar la radiación incidente. Cabe mencionar que la irradiancia promedio no considera la duración de los períodos de luz/oscuridad debido al régimen de

luz intermitente al que las células están expuestas dentro del reactor. Sin embargo, es una variable representativa que se correlaciona con la velocidad de fotosíntesis y la velocidad de crecimiento, incluso en condiciones al aire libre, bajo las mismas condiciones de fluidez dinámica [4].

La determinación rigurosa de la irradiancia media dentro del cultivo implica la determinación de tres factores: (1) la radiación incidente total en la superficie del fotobiorreactor, (2) la radiación a cualquier profundidad dentro del cultivo en función de la concentración celular y las propiedades ópticas, y (3) la integración de valores locales sobre el volumen total de cultivo. Si bien existen soluciones rigurosas para geometrías y fotobiorreactores específicos, también se ha propuesto un modelo simplificado que se explica en la ecuación 2.1, donde k_a es el coeficiente de extinción de biomasa, p es la trayectoria de la luz óptica y c_b es la concentración de biomasa [4].

$$I_{av} = \frac{I}{k_a \cdot p \cdot c_b} (1 - \exp(-k_a \cdot p \cdot c_b)) \quad (2.1)$$

El concepto de la irradiancia promedio permite obtener un promedio de la disponibilidad de luz dentro de cultivos densos, lo que permite estimar la velocidad de fotosíntesis promedio del cultivo entero. La velocidad de fotosíntesis a su vez determina la velocidad de crecimiento, μ , por lo que la velocidad neta de crecimiento del cultivo se correlaciona con la irradiancia promedio dentro del cultivo. La dependencia de μ sobre la irradiancia promedio ha sido expresada mediante las ecuaciones 2.2 y 2.3. Estudios previos sugieren que los modelos de crecimiento que expresan μ en términos de la irradiancia promedio elevada a una potencia mayor que uno, se ajustan mejor a las observaciones experimentales. No obstante, este modelo puede ser mejorado al incluir otros fenómenos, como la fotoinhibición, que se han reportado anteriormente en la relación entre la tasa de fotosíntesis y la luz en cultivos diluidos [50].

$$\mu = \frac{\mu_{max} I_{av}^n}{I_{av}^n + I_{av}^n} \quad (2.2)$$

$$\mu = \frac{\mu_{max} I_{av}^{(b+\frac{c}{I_0})}}{I_k \left(1 + \left(\frac{I_0}{I_i}\right)^a\right)^{(b+\frac{c}{I_0})}} \quad (2.3)$$

El régimen de luz al que las células se encuentran expuestas determina la velocidad de la fotosíntesis, pero en reactores grandes operados bajo condiciones de dinámica de fluidos similares la velocidad de fotosíntesis puede ser modelada como función de la irradiancia promedio, ya que esta resume la disponibilidad de luz al que están expuestas las células dentro de los reactores. Existen nuevas metodologías como la simulación de la dinámica de fluidos computacional (CFD, por sus siglas en inglés) y mediciones de fotosíntesis por técnicas de fluorescencia de clorofila pueden permitir en un futuro cercano el diseño de nuevos reactores y mejorar la eficiencia de los actuales a través de incrementar el potencial del uso de la luz por las microalgas [4].

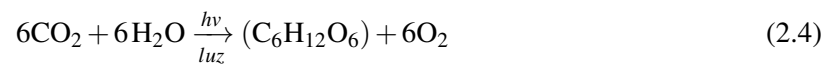
En adición al concepto de irradiancia promedio, la productividad en fotobiorreactores grandes se puede modelar en base a intensidades locales de luz, lo que permite predecir resultados experimentales en diferentes geometrías de reactor o combinar uso de irradiancia media y diferentes geometrías locales [68].

2.3.4. Transferencia de masa del dióxido de carbono

El suministro de CO₂ puede ser un factor limitante si la fuente de carbono como CO₂ disuelto es demasiado baja (por ejemplo, cuando se usan sistemas de aireación como gas de alimentación o cuando la longitud de un FBR tubular es demasiado larga) o si la mezcla en el FBR es insuficiente. Se ha argumentado que el CO₂ debe ser suministrado en concentraciones lo suficientemente altas como para evitar limitar el crecimiento celular. Por lo tanto, se ha recomendado que la presión parcial de CO₂ debería ser mayor que 0.2 kPa 0.076 mol m⁻³ equivalentes a 3.3 mg CO₂ L⁻¹. Valores mayores podrían requerirse a mayor intensidad de luz [4, 63].

La presión parcial de CO₂ en la atmósfera es de 0.04 kPa, lo cual indica que el aire puro no es suficiente para el suministro de dióxido de carbono, es decir se requiere una mezcla de gas enriquecida con CO₂. Usualmente el CO₂ puro se adiciona en su fase gaseosa para suministrar el carbono y controlar el pH, aunque también se pueden utilizar gases de combustión. El suministro de CO₂ puro puede constituir hasta el 30 % del costo total de producción de las microalgas [4].

Se puede estimar la productividad de biomasa en cualquier diseño de fotobiorreactor según la disponibilidad de luz utilizando la ecuación básica de la fotosíntesis (ver Ecuación química 2.4) y con esta misma se puede estimar la producción esperada de O₂ y la absorción de CO₂. Por lo tanto se sabe que 1 g de biomasa produce aproximadamente 1.3 g de O₂ requiriendo 1.8 g de CO₂. A partir de estos valores, los requerimientos tanto de oxígeno como de dióxido de carbono pueden determinarse para el diseño del fotobiorreactor.



2.3.5. Aireación del medio de cultivo

Se ha investigado extensivamente la velocidad óptima de aireación en una mezcla de aire y CO₂ para la producción de microalgas en un FBR [51]. Se han comparado las condiciones necesarias para que los diferentes tipos de FBR alcancen la misma capacidad de transferencia de masa. Se encontró que la capacidad de transferencia de masa requerida fue de 2400-3200 Wm^{-3} para el FBR tubular, 40 Wm^{-3} en un FBR de columna de burbujas, y 53 Wm^{-3} para un FBR de placa plana. Para un FBR de puente aéreo de panel plano, se ha propuesto una velocidad óptima de aireación de 8 Wm^{-3} para mejorar la mezcla y la transferencia de masa [73].

2.3.6. Transferencia de calor en el medio de cultivo de microalgas

Para lograr un óptimo crecimiento de las microalgas, es importante mantener su temperatura en el rango de 20-30 °C. Si la temperatura es inferior a 20 °C, la velocidad de crecimiento disminuye, mientras que si es superior a este rango, puede causar daños graves e incluso la muerte [74]. Las microalgas marinas son menos tolerantes a las altas temperaturas, ya que su tasa de crecimiento se reduce por encima de 28 °C, y se produce la muerte por encima de 30 °C. Por otro lado, las microalgas de agua dulce tienen temperaturas óptimas en el rango de 25-35 °C y pueden soportar temperaturas de hasta 40 °C durante períodos cortos de tiempo.

El control de la temperatura puede tener un efecto significativo cuando la temperatura promedio del cultivo durante el período de luz del día no es óptima, especialmente a bajas temperaturas. En países con climas templados, el calentamiento puede aplicarse por la mañana para aumentar la productividad diaria del cultivo en un 60% simplemente calentando el cultivo a 28 °C durante 2 horas [75].

Es importante evitar las variaciones de temperatura en los sistemas de cultivo. Para lograrlo, se requieren sistemas que puedan suministrar o remover calor a la misma velocidad que se suministra por radiación, mediante convección y evaporación. Sin embargo, estos sistemas solo se pueden utilizar a nivel de laboratorio debido a su alto consumo de energía.

Los sistemas de cultivo al aire libre se diseñan para evitar que las temperaturas causen la muerte de los cultivos. Alternativamente, algunos tipos de sistemas de enfriamiento, como el uso de agua en spray sobre la superficie del reactor o el uso de intercambiadores de calor internos a través de los cuales se recircula el agua fría, pueden ayudar a reducir la temperatura en condiciones ambientales de verano. Estos sistemas son útiles solo para FBRs cerrados.

2.3.7. Costos de operación

En términos económicos, un FBR comercial eficiente debe poseer las siguientes características: una relación alta entre área de superficie iluminada y volumen para capturar la radiación solar, facilidad en el control de la temperatura, un buen desempeño en la mezcla y transferencia de masa, baja resistencia al corte de las células, bajo costo de capital y bajo costo de operación [63]. La primera consideración en el diseño de un FBR eficiente con una alta relación área/volumen está relacionada con el costo de capital, donde el área de superficie iluminada tiene una contribución sustancial [63]. En la actualidad, los materiales más utilizados para la construcción de FBR son vidrio, plexiglás, cloruro de polivinilo (PVC), PVC acrílico y polietileno, los cuales cumplen con los requisitos de transparencia y robustez mecánica [59]. Sin embargo, cada material tiene sus ventajas y desventajas específicas para la fabricación de tipos particulares de FBR. Por ejemplo, el vidrio es fuerte, transparente y tiene una larga vida útil, lo que lo hace ideal para la construcción de pequeños FBR. Sin embargo, cuando se usa para la fabricación de FBR a gran escala, el vidrio requiere muchas piezas de conexión costosas y generalmente ocurren fugas cuando hay orificios para la aireación. Además, la transparencia de materiales como el plexiglás, PVC, PVC acrílico y polietileno disminuye gradualmente a medida que se oxidan en el aire. Se recomienda que el costo de capital no supere los 40 euros para que la producción de bioenergía a partir de microalgas sea económicamente viable [63].

2.4. AVANCES EN EL DISEÑO DE FBRS

En la década de 1940 se diseñaron los primeros sistemas de FBR. En la actualidad, es posible controlar diversas variables como los nutrientes, el pH, la luz y la temperatura en el cultivo de organismos fotosintéticos a gran escala. En general, los FBR son sistemas cerrados que se presentan en forma de placas, tubos o bolsas hechas de vidrio, plástico u otros materiales transparentes. Debido a que los FBR son sistemas cerrados, permiten ahorrar una cantidad sustancial de agua. Los organismos fotosintéticos se cultivan en un medio de crecimiento o se adhieren a un soporte que suministra nutrientes. La

iluminación es un factor clave para el crecimiento de las microalgas y en los FBR a gran escala, representa un costo significativo. Por lo tanto, se han desarrollado diversas investigaciones en su diseño para aumentar su eficiencia, tales como sistemas de iluminación sumergibles, cables de fibra óptica, guías de luz y otras técnicas para mejorar el contacto con la luz.

La productividad de la biomasa de cualquier sistema de cultivo de microalgas depende de las condiciones ambientales. La ubicación geográfica y climática determina las condiciones generales durante todo el año, como la radiación solar y la temperatura. El diseño y la orientación del FBR deben seleccionarse para maximizar la cantidad de energía solar interceptada, mientras que la geometría del reactor determina la distribución de la radiación interceptada en la superficie del cultivo. La radiación solar en la superficie del reactor, junto con la concentración de biomasa, determina la irradiancia promedio dentro del cultivo y, en consecuencia, la velocidad de crecimiento y la productividad de la biomasa alcanzable. Para lograr una productividad óptima, la dinámica de fluidos y la transferencia de masa deben satisfacer los requisitos del cultivo [4, 78–80].

Desde el punto de vista de la clasificación de fotobiorreactores, esta se puede realizar según su diseño o la forma en que cumplen con los requisitos de crecimiento de las microalgas. En este sentido, los reactores abiertos presentan la ventaja de tener una alta disponibilidad de radiación solar, bajo consumo de energía y suficiente transferencia de masa a bajo costo, sin embargo, tienen desventajas relacionadas con la fácil contaminación y el control limitado de las condiciones de cultivo. Por otro lado, los FBR cerrados tienen la ventaja de un mejor control de las condiciones de cultivo y una alta disponibilidad de radiación solar, lo que evita los riesgos de contaminación por flora oportunista. Además, se pueden utilizar FBR híbridos, por ejemplo, se pueden utilizar FBR cerrados para producir el inóculo y para reactores abiertos a gran escala. En los fotobiorreactores abiertos, la productividad de biomasa está limitada por la cantidad de energía recibida del sol, independientemente de su configuración. Uno de los principales parámetros que representa diferentes tecnologías es el volumen por unidad de relación de superficie, V/S , y el consumo de energía o potencia, P [3].

2.5. TIPOS DE FOTOBIORREACTORES

2.5.1. Fotobiorreactores de estanque abierto

Las microalgas crecen de forma natural en lagos o cuerpos de agua, tanto naturales como artificiales, y pueden ser cosechadas por procesos de sedimentación-centrifugación en los sistemas de estanques abiertos. En estos sistemas, las condiciones de cultivo no son modificadas y ocurren de forma natural, y en algunos casos solo se realiza la fertilización. Por esta razón, a pesar de ser técnicamente considerados reactores, no se consideran FBRs para el control de condiciones específicas. Por otro lado, los reactores de estanque abierto son FBRs abiertos en los que, como mínimo, se controla la profundidad del cultivo y el movimiento del líquido, aunque también se puede realizar la fertilización y la carbonatación. Estos reactores tienen una configuración serpenteante con canales a través de los cuales se recircula el cultivo utilizando ruedas de paleta [4, 50, 77, 81].

Los reactores de estanque abierto se caracterizan por ser de bajo costo, tanto en su construcción como en la energía requerida para mezclar, en el orden de solo 4 Wm^{-3} [82]. Sin embargo, están limitados en cuanto al tipo de microalgas que pueden cultivarse, requieren un área relativamente grande, presentan poca eficiencia en la utilización de la luz, escasa transferencia de masa de gas/líquido, falta de control de la temperatura, alto riesgo de contaminación del cultivo y baja densidad de microalgas finales [63,69,81]. A pesar de estos problemas, debido a su flexibilidad y facilidad de ampliación, los reactores de estanque abierto son los dispositivos más utilizados para los cultivos de microalgas y representan más del 95 % de la producción de algas en todo el mundo. Estos sistemas se utilizan comúnmente a escala comercial para el cultivo de microalgas y cianobacterias, como *Arthrospira platensis* y *Dunaliella salina*, aunque también se ha reportado producción a baja escala de otras cepas [83–85]. Además, se han descrito como las configuraciones de reactor más factibles para la producción de energía a partir de microalgas [82]. La tecnología de los sistemas de estanque abierto presenta un desafío importante en cuanto al control de contaminantes. Además de la evaporación del agua, existen otros inconvenientes relacionados con el mantenimiento de la temperatura y la profundidad adecuadas del cultivo. Se han operado sistemas

a gran escala para el cultivo de microalgas con profundidades que oscilan entre 30 y 50 cm [96], manteniendo los cultivos de microalgas diluidos en concentraciones de menos de 0.6 g l^{-1} [97]. Sin embargo, la baja concentración de células en estos reactores aumenta el costo de la recolección y el mantenimiento del estanque, lo que aumenta el riesgo de contaminación por especies extrañas. Las instalaciones industriales han obtenido rendimientos que oscilan entre 10 y 30 $\text{tn ha}^{-1}\text{año}^{-1}$, aunque se han reportado productividades a escala de laboratorio o piloto equivalentes a $80 \text{ tnha}^{-1}\text{año}^{-1}$ [98]. La productividad varía según la ubicación del reactor, la especie y el modo de operación, pero los valores superiores a $30 \text{ g m}^{-2}\text{d}^{-1}$ solo se miden durante las fechas de máxima irradiación solar en el año. Los estanques comerciales pueden tener un tamaño de hasta $5,000 \text{ m}^2$, aunque los tamaños de $1,000 \text{ m}^2$ son más comunes.

2.6. FOTOBIORREACTORES CERRADOS

2.6.1. Fotobiorreactor Tubular

Los FBRs tubulares, como se muestra en la Figura 2.1, pueden adoptar diversas orientaciones, tales como verticales, horizontales o inclinadas. El diámetro de los tubos oscila generalmente entre 25 y 600 mm, siendo los de mayor diámetro montados en el suelo [99]. Los FBRs tubulares suelen utilizar un sistema de intercambio de gases para eliminar el oxígeno y agregar dióxido de carbono al medio de cultivo, tal como se ilustra en la Figura 2.3. No obstante, la eliminación de aire resulta compleja en un cilindro horizontal o inclinado [77]. En este caso, el gas rociado tiende a acumularse en la parte superior del cilindro, desplazando el volumen del medio de cultivo y dificultando el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono. Además, la sección transversal circular de los tubos dificulta el establecimiento de patrones de flujo perpendiculares a la longitud del tubo [77]. Con frecuencia, se emplean mezcladores estáticos en el tubo para inducir turbulencias en el medio de cultivo al obligarlo a fluir alrededor de las obstrucciones que constituyen el mezclador. Alternativamente, se pueden utilizar gas inyectado, bombas o turbinas para agitar el medio de cultivo. En el caso de los FBRs tubulares, se emplean bombas para

mover el medio de cultivo a través de los tubos [77]. Los tubos pueden estar dispuestos verticalmente, sostenidos por postes o columnas a lo largo de la longitud del FBR. Los FBRs tubulares han sido utilizados a escala industrial, como es el caso de un sistema de FBR tubular de 2600 L ubicado en un invernadero en España [99], y un sistema de FBR tubular interior de 14,840 L, iluminado mediante iluminación artificial, localizado en Turquía [100].

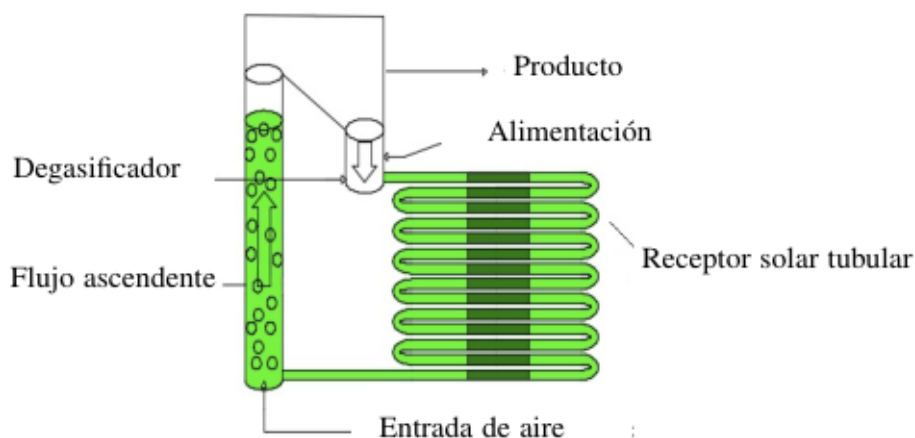


Figura 2.1: Esquema de un FBR Tubular basado en [77]

Los FBRs tubulares son los sistemas cerrados más utilizados para la producción de microalgas. Consisten en un tubo colector solar por el cual fluye el cultivo, que se re-circula por medio de aireación o bombas mecánicas. Para eliminar el oxígeno, el cultivo se pasa a través de una columna de burbujas o tanque en el que se suministra aire para evitar dañar los niveles de oxígeno disuelto. En esta columna de burbujas, se puede suministrar aire o inyectar CO_2 para la carbonatación, o incluir un intercambiador de calor para el control de la temperatura. El primer reactor tubular de 100 m^2 se construyó con tubos de polietileno para el cultivo de algas rojas *Porphyridium cruentum*. Además, se ha explorado el desarrollo de un FBR tubular para producción en masa al aire libre de *S. platensis* [72, 101]. En lugar de colocarse horizontalmente en el suelo, el sistema tubular helicoidal se eleva verticalmente como una disposición de tubos de polietileno transparentes y en espiral dispuestos alrededor de un marco circular abierto [102, 103].

La disposición geométrica de los tubos del colector solar determina la irradiancia de la superficie en los tubos, ya que la sombra mutua causada por los tubos en el interior se ve influenciada por la forma en que están dispuestos sobre un área de superficie determinada. Esta variable, además del diámetro del tubo, determina la disponibilidad de radiación solar para este tipo de FBR.

El diseño de un FBR tubular debe garantizar que el flujo en el tubo solar sea turbulento. El número mínimo de Reynolds debe ser superior a 3,000 para evitar que las células se estanquen en el interior oscuro del tubo. Al mismo tiempo, se debe evitar el daño por esfuerzo cortante, por lo que las dimensiones de los remolinos del fluido siempre deben ser mayores que las dimensiones de las células de las algas. De esta forma, se evita el daño asociado a la turbulencia.

Se ha analizado extensamente el diseño de FBRs tubulares, considerando la influencia de la dinámica de fluidos y la transferencia de masa en el crecimiento de cultivos de microalgas [56, 105, 106]. Se ha observado que no solo la acumulación de oxígeno es un problema en estos sistemas, sino también la limitación de carbono y las variaciones de pH a lo largo de grandes tubos. Es importante tener en cuenta que la concentración de dióxido de carbono en cualquier punto del tubo no debe caer por debajo de un valor crítico para evitar la limitación de la fotosíntesis. Por lo tanto, es fundamental comprender cómo el rendimiento se ve afectado por factores de diseño y operacionales, como la longitud y el diámetro del tubo, el caudal, los perfiles de concentración de oxígeno disuelto y dióxido de carbono, y la transferencia de masa gas-líquido.

2.6.2. Fotobiorreactores de membrana Porosa

Los FBRs de membrana porosa como se observa en la Figura 2.2 pueden apoyarse verticalmente o colocarse horizontalmente. El medio de crecimiento circula a través de una membrana y se filtra a través de los poros hacia la superficie exterior de la membrana [107]. Los organismos fotosintéticos son cultivados en la superficie exterior de la membrana donde la luz se puede encontrar fácilmente

accesible. El dióxido de carbono se proporciona típicamente al cultivo a través de gas atmosférico, que se puede enriquecer con el gas de combustión de las centrales eléctricas de carbón, las plantas de etanol u otro dióxido de carbono. Los FBRs de membrana tienen la ventajas como una notable de dispersión de gases debido a la gran área interfacial proporcionada por la membrana [108]. Una desventaja asociada con las estructuras porosas de estos sistemas de FBRs es la alta permeabilidad al vapor de agua que puede inducir a variaciones de volumen de la fase líquida [109].

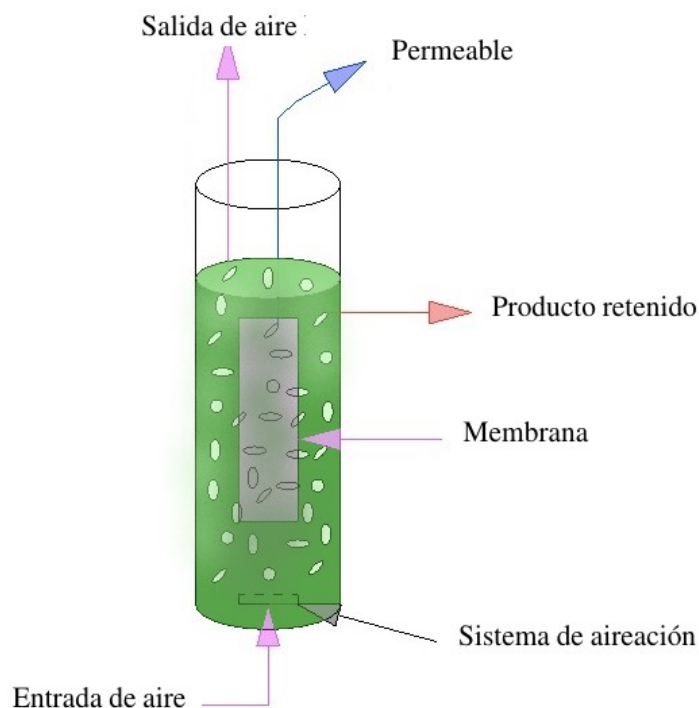


Figura 2.2: FBR de Membrana Porosa basado en [77]

2.6.3. Fotobiorreactores de columna de burbujas

Este tipo de FBRs consisten en tubos verticales de gran diámetro desarrollados Figura 2.3 para reacciones químicas de organismos fotosintéticos [110]. El gas se inyecta en el FBR por la parte inferior, el gas se esparce a través de la parte inferior del reactor de modo que las burbujas del gas inyectado suban relativamente uniformemente a través del área de la sección transversal del reactor y dejen el mismo por la parte superior. El reactor suele estar iluminado por la parte exterior. El tipo de flujo

inducido en el reactor por las burbujas hace que el medio de crecimiento se mezcle radialmente [109]. El CO_2 contenido en las burbujas tiende a decrementar y el contenido de oxígeno del medio de crecimiento aumenta a través del reactor, lo que limita la altura de FBR. Este cambio en el contenido de gas es causado por la fotosíntesis de las microalgas en el FBR. Además, la penetración de luz de la superficie exterior del reactor tiende a atenuarse, lo que limita el diámetro del reactor y anula el valor de mantener un medio de crecimiento radialmente uniforme [109]. Sin embargo, si la columna de burbujas está iluminada desde todos los lados, la luz se enfoca Hacia el centro de la columna cilíndrica. A medida que la distancia radial desde el centro de la columna disminuye, el área de la superficie en el radio disminuye. Esto aumenta la intensidad de la luz en relación con la superficie exterior de la columna, asumiendo que no hay atenuación lumínica. Como ya se ha mencionado anteriormente la intensidad de la luz puede ser atenuada por el medio de crecimiento, las células fotosintéticas y las burbujas.

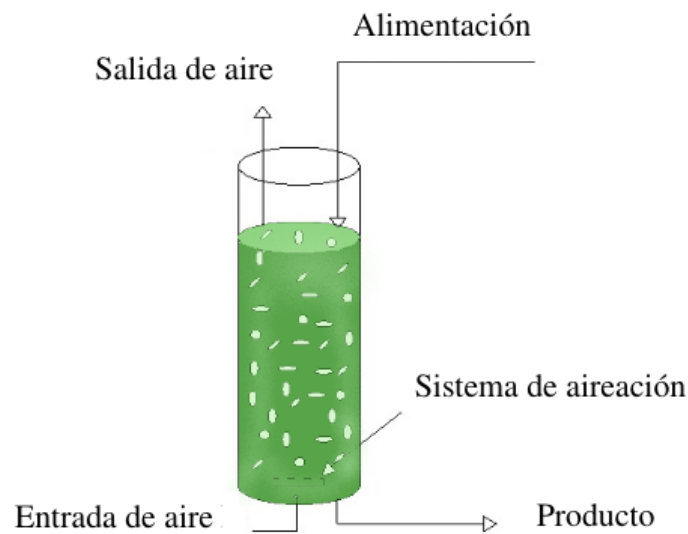


Figura 2.3: FBR de Columna de burbujas basado en [77]

2.6.4. Fotobiorreactores de puente aéreo

Los FBR del puente aéreo caen en la categoría de los FBRs verticales tubulares. Los FBRs de puente aéreo, típicamente con forma de cilindro, desarrollan flujos verticales distintos conocidos

como Ascendentes y descendentes. En la configuración del puente aéreo, el aire se inyecta solo en la sección del tubo ascendente, las burbujas de aire se rompen en la superficie del líquido. El Flujo de líquido generado por las burbujas de aire ascendente ahora se mueve hacia abajo a través de la sección descendente. Normalmente barreras físicas separan al flujo ascendente del descendente [111]. La barrera que separa el tubo descendente y el tubo ascendente no se extiende a la parte superior o inferior del reactor de puente aéreo Figura 2.4. El aire ingresa al tubo ascendente a través de un rociador que se encuentra en la sección del tubo vertical del FBR. El medio de crecimiento es arrastrado por la burbuja que fluye desde el inyector y viaja por el FBR a la superficie donde el aire sale del medio de crecimiento [77].

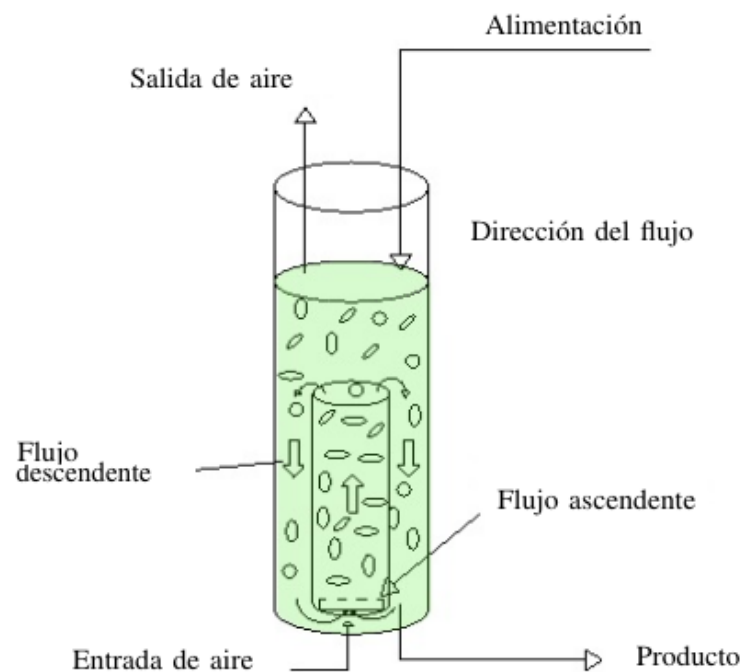


Figura 2.4: FBR de Puente aéreo basado en [77]

2.6.5. Fotobiorreactor de bolsa

Los sistemas de bolsa FBR son comúnmente utilizados a nivel mundial en la industria de la acuicultura, y un volumen típico para estos sistemas es 1000 L [112]. Estos sistemas también se han utilizado en aplicaciones de tratamiento de aguas residuales. Una desventaja de los FBRs de bolsas es la dificultad asociada con la esterilización de las bolsas.

El intercambio de gases se realiza en una unidad separada del área fotosintéticamente activa de la bolsa, similar a los FBRs tubulares. Las ventajas de los sistemas de estos FBRs son su adaptabilidad, simplicidad y rentabilidad [69]. Un estudio reciente investigó varios tipos de FBRs: bolsa, placa plana y columna de burbujas por su eficacia en el cultivo de diatomeas bentónicas marinas *Cylindrotheca closterium* y se encontró que las diatomeas cultivadas en FBRs en bolsa tuvieron un mayor recuento de células, produjeron más azúcares y tuvieron una tasa de crecimiento específica más alta. Además, las diatomeas tuvieron un tiempo de duplicación menor en los FBRs de bolsa en comparación con los otros sistemas de cultivo evaluados [113]. Actualmente se necesita más investigación para optimizar el aumento de tamaño de los FBRs de bolsa, y el problema de la cantidad considerable de residuos plásticos generados por los FBRs de bolsa debe prevenirse. Debido a esta desventaja, se considera que los sistemas FBRs en bolsa son los más adecuados para los procesos de cultivo que no requieren esterilidad, similar a la estrategia empleada con los sistemas de estanques abiertos. Si bien los FBRs de bolsas parecen ser una opción prometedora para el cultivo a gran escala de microalgas, se necesita una mayor optimización para que estos sistemas alcancen la viabilidad industrial.

La mayoría de los FBRs de bolsa son construidos de polietileno (PE) y es posible que no puedan soportar el proceso de autoclave para su esterilización. La esterilización UV o con gas son opciones, pero el alto costo asociado a este proceso aún se discute. Una opción para evitar la necesidad de esterilización entre cultivos es utilizar bolsas desechables que deben reemplazarse periódicamente. Sin embargo, la eliminación de grandes cantidades de bolsas de plástico asociadas con estos FBRs tiene un impacto negativo en el medio ambiente. Al igual que otros FBRs, las consideraciones de diseño para

los FBRs de bolsas incluyen: tamaño, técnicas y materiales de construcción y método de aireación. Son sistemas que a menudo están suspendidos verticalmente y el medio de crecimiento se bombea a la parte superior de la FBRs y fluye hacia la parte inferior de la FBRs [59, 80].

2.6.6. Fotobiorreactores híbridos

Los diseños de FBRs híbridos incorporan características de dos o más de los diseños FBRs discutidos anteriormente; por ejemplo, en la Figura 2.5, se observa un FBR de columna de burbujas y un FBR membrana FBRs combinados. El objetivo de los diseños híbridos es aumentar el área de la superficie iluminada, disminuir las zonas muertas, mejorar la mezcla y proporcionar una iluminación uniforme. Uno de los primeros diseños híbridos fue el de utilizar un FBR de puente aéreo con un sistema estanque abierto. El espacio de producción del sistema es una pista de rodadura como en los sistemas estanque abierto pero en lugar de utilizar una rueda o bomba de paletas, se utiliza un tubo de transporte aéreo con un tubo ascendente y descendente para crear una diferencia de nivel de líquido entre el canal ascendente y el descendente. La parte superior del sistema de elevación por aire se conecta con el líquido en la pista de rodadura, lo que permite que la diferencia en el nivel del líquido (cabezal) provoque un flujo en la pista de rodadura. Este sistema reduce la energía de bombeo [77, 114].

2.6.7. Fotobiorreactores de bio-película

Otro sistema híbrido consiste en un tipo de reactor de membrana porosa y se denomina FBR de bio-película . A diferencia del sistema que se analiza en la sección de FBRs de membrana porosa, este FBR gotea el medio de crecimiento sobre una bio-película con los organismos fotosintéticos. El FBR consiste en una placa de concreto ligeramente inclinado que soporta la bio-película y permite que el medio de crecimiento fluya a lo largo de la FBR junto con una fuente de luz y un sistema de re-circulación del medio de crecimiento. El FBR proporciona nutrientes al cultivo en conjunción con la

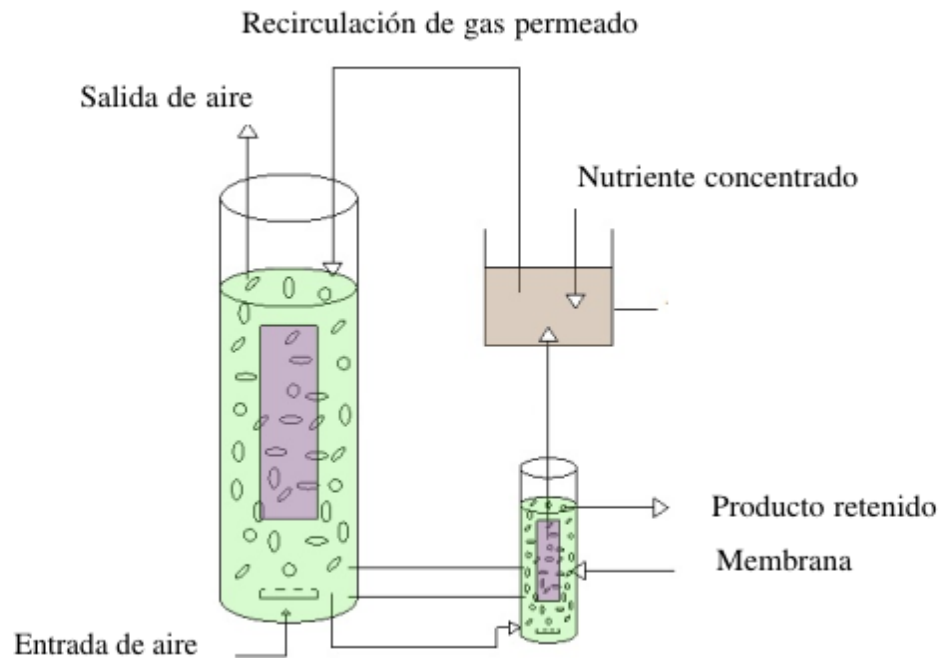


Figura 2.5: FBR Híbrido basado en [77]

luz y el dióxido de carbono aéreo en la misma superficie, aumentando así la producción. Un reactor de bio-películas de algas rotativo fue propuesto por primera vez en 2013. En este FBR, una bio-película continua se enrolla alrededor de varios rodillos que guían la película de cultivo dentro y fuera de un medio de crecimiento. La luz se suministra a la biopelícula cuando no está sumergida en el medio de crecimiento. Se descubrió que el sistema (RAB, por sus siglas en inglés) produce un 300 % más biomasa que un estanque abierto estándar y ahorra una cantidad sustancial de agua [114–116]

El reactor de bio-película delgada puede decirse que es una modificación del tipo de estanque abierto en la que el cultivo fluye a través de una superficie utilizando una bomba desde un tanque. La pendiente de la superficie varía de 1 a 3 % y la profundidad del cultivo varía de algunos milímetros a 2 cm. En estas condiciones, la relación V/S del reactor varió de 10 a 25 lm^{-2} y el consumo de energía se puede reducir hasta valores de 100 Wm^{-3} [117].

En este reactor, el CO₂ se suministra al tanque para evitar pérdidas de carbono a la atmósfera, midiendo eficiencias máximas del 33 %, removiendo el oxígeno disuelto al aire en la superficie del reactor, aunque no tan eficientemente para evitar la acumulación de oxígeno disuelto, se han encontrado valores de 22 mg de O₂ l⁻¹ dentro del cultivo [117]. La principal ventaja de este reactor, además de su bajo consumo de energía, es la alta disponibilidad de luz a la que están expuestas las células, por lo que se informan concentraciones de biomasa de hasta 30 g l⁻¹ [118]. La alta productividad de la biomasa previene la contaminación y evita la fotoinhibición, reportando eficiencias fotosintéticas máximas de hasta 6.88 % [117].

2.6.8. Fotobiorreactores de paneles delgados

Los paneles planos Figura 2.6 consisten en placas transparentes unidas para almacenar el cultivo, en la que se ilumina el cultivo desde uno o ambos lados y son agitados por aireación. Las dimensiones de los paneles planos varían, pero se prefieren alturas inferiores a 1.5 m y anchuras inferiores a 0.10 m, esto para evitar el uso de materiales de alta resistencia mecánica. Los paneles planos presentan ventajas importantes para la producción en masa de microorganismos fotoautótrofos y pueden convertirse en un tipo de reactor estándar para la producción en masa de varias especies de algas. La construcción de reactores de placa plana se remonta a principios de la década de 1950 [4].

Estos reactores diluyen la luz a través de la captura de luz en su superficie, reduciendo así la foto-saturación y fotoinhibición. Sin embargo lo que determina la eficiencia en gran medida es la posición óptima de los paneles planos con respecto al ángulo de inclinación, distancia entre paneles, etc. El sombreado siempre influye en los niveles de irradiación en la superficie de los reactores de panel plano que están muy juntos. Se ha propuesto el uso de compartimientos dentro del reactor de panel plano para iluminación interna mediante canalización de luz y elementos de distribución como una alternativa para resolver estos problemas [104, 119].

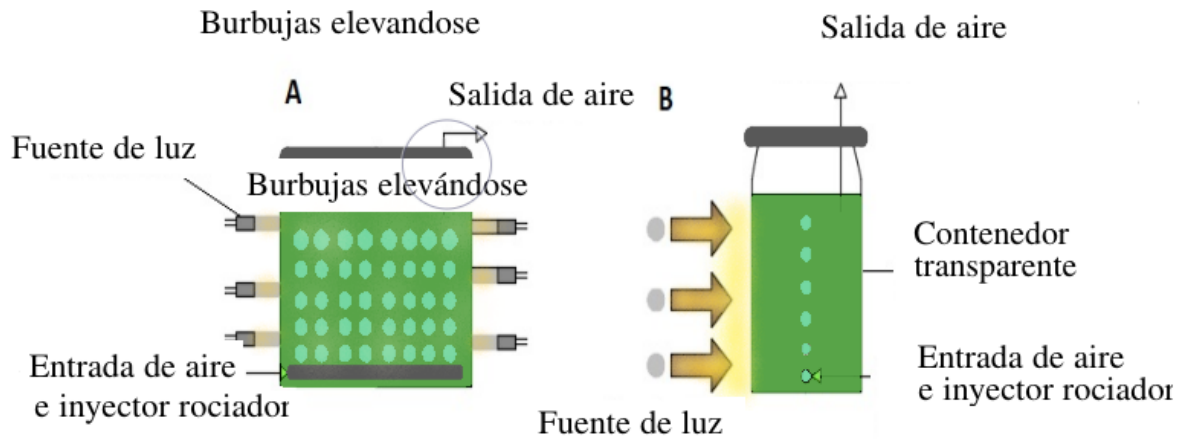


Figura 2.6: FBR de Panel Plano externamente iluminado mostrando modos de aireación de gas y suministro de luz basado en [120]

2.7. MODELADO MATEMÁTICO DE SISTEMAS DE CULTIVO DE MICROALGAS

En la actualidad existe una gran diversidad de modelos matemáticos que describen el crecimiento de las microalgas en fotobiorreactores abiertos o cerrados que pueden ser utilizados. Muchos estudios de investigación han sido realizados con el fin de desarrollar tecnologías para la producción de diversos productos de valor agregado derivados de las microalgas. Sin embargo, aún existen retos importantes en términos de la factibilidad técnica y la viabilidad económica durante la implementación de los procesos productivos a gran escala. Particularmente hablando, el tema del control de las condiciones óptimas del cultivo ha llamado fuertemente la atención a nivel mundial. Ahmad et al. [121], reportó que hoy en día el desarrollo de los biocombustibles derivados de microalgas implica un mayor costo de producción comparado con aquellos biocombustibles de primera y segunda generación, descritos anteriormente en este trabajo. Murphy and Allen [122] señalaron que en muchos procesos productivos la energía requerida para cultivar suele exceder incluso, la energía producida en dichos procesos. Es por lo anterior mencionado que utilizar herramientas que permitan adecuadamente simular matemáticamente el desarrollo de microalgas en los sistemas de cultivo, puede ser de gran utilidad para mejorar la productividad a través de la optimización de las condiciones de cultivo y además poder dilucidar

información valiosa sobre el desarrollo de sistemas de cultivo de diferentes especies de microalgas en diversas condiciones. Las simulaciones matemáticas, podrían a través de análisis de la evolución dinámica de las variables de estado dilucidar información del comportamiento en el largo plazo, sin la necesidad de llevar a cabo desarrollos experimentales de prueba y error. Los modelos cinéticos de crecimiento son elementos cruciales en el modelado de sistemas de cultivo de microalgas. Estos modelos pueden ser categorizados en dos tipos de modelos: Los modelos descriptivos y los modelos explicativos [6]. Los modelos Explicativos se desarrollan principalmente para explicar los puntos claves del comportamiento del crecimiento y se caracterizan por estar conformados de estructuras matemáticas complejas. Los modelos mecanicistas, pertenecen a la clasificación de los modelos explicativos, que se suelen estructurar a través de la explicación de los mecanismos complejos que intervienen en el crecimiento, como por ejemplo aquellos factores relacionados con los múltiples interacciones que contribuyen al crecimiento, el tamaño celular, la estequiometría elemental y el movimiento celular de manera detallada [123]. Por otra parte, los modelos descriptivos se desarrollan para predecir el comportamiento del sistema de crecimiento más que para explicar los mecanismos de manera detallada. La mayoría de los modelos que se han desarrollado de manera empírica pertenecen a esta categoría, es decir los modelos descriptivos se desarrollan con base en los resultados de análisis de datos experimentales [124–126]. Los modelos descriptivos se expresan como función de un único factor o múltiples factores que afectan el crecimiento de las microalgas. Dentro de los factores más comunes de estudio se encuentran, por ejemplo: intensidad de luz, disponibilidad de nutrientes, concentración disuelta de CO_2 , temperatura y la concentración de oxígeno [5, 127, 128]. Así mismo, los modelos descriptivos pueden considerar a menudo una combinación de factores que interactúan entre sí, resultando en más complejas ecuaciones, que aumente de acuerdo con el número de parámetros en evaluación.

2.7.1. Breve descripción de las fases de crecimiento de microalgas para el modelado matemático

El crecimiento de microalgas generalmente es representado con seis fases diferentes de crecimiento en un cultivo por lotes, que corresponde al mismo que descrito por la microbiología general. De manera resumida las fases de crecimiento de un cultivo de microalgas son: (1) fase de latencia, (2) exponencial, (3) lineal, (4) decaimiento, (5) estacionaria y (6) muerte [81, 120, 129], que corresponden de manera respectiva a la numeración mostrada en la Figura 2.7.

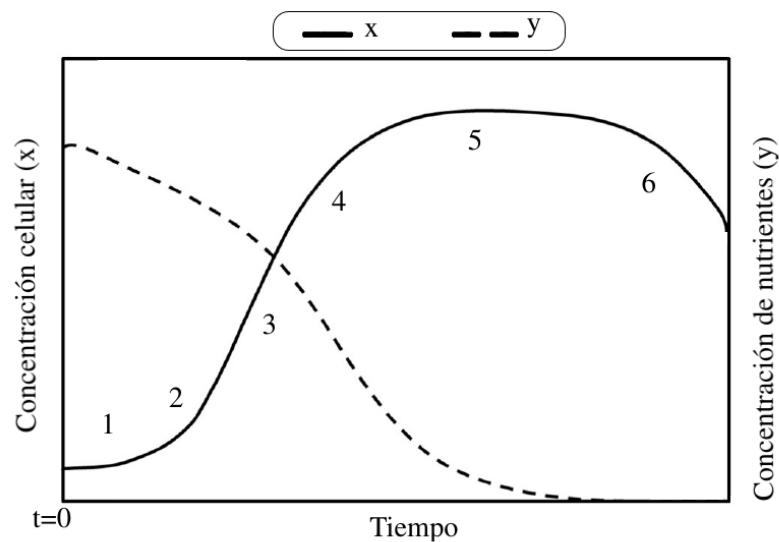


Figura 2.7: Fases de crecimiento microalgal para el modelado matemático. Ilustración basada en [6]

En la fase de latencia, el crecimiento es retardado debido a los ajustes fisiológicos del microorganismo al medio ambiente del cultivo, es decir corresponde a un periodo de transición para los microorganismos que es apreciable cuando son transferidos a una nueva condición de crecimiento, lo cual es seguido por una fase exponencial. La fase exponencial corresponde al crecimiento y división celular y se puede representar matemáticamente por medio de una función exponencial en el tiempo. Durante este periodo, la intensidad de la luz y la concentración de nutrientes no limitan el crecimiento de las microalgas. En la fase lineal de crecimiento, la división celular de las microalgas se hace más lento debido a que la luz comienza a limitarse en el cultivo, por lo que la biomasa se acumula a una velocidad constante hasta que el crecimiento empieza a verse limitado por la disminución de la concentración de nutrientes en el

medio debido al consumo. La fase de decaimiento se caracteriza por la reducción de la velocidad de la división celular debido al consumo de nutrientes, dióxido de carbono, entre otros factores que pueden limitar el consumo de acuerdo con las condiciones iniciales que se estén considerando [130]. En la fase estacionaria la velocidad de crecimiento es cero debido a que los nutrientes llegan a agotarse. Cabe señalar que, en la fase estacionaria, se acumulan los productos de carbono como lípidos y carbohidratos. En la fase de muerte o también llamada fase de choque, la concentración de células de microalgas declina rápidamente debido al agotamiento de nutrientes o alteraciones de las condiciones ambientales o fisicoquímicas del cultivo como pueden ser la contaminación o bien cambios bruscos en el pH, salinidad o temperatura [6].

2.7.2. Modelos cinéticos de factor único

A continuación, se describen los modelos cinéticos de factor único. En condiciones saturadas de luz, el crecimiento de microalgas depende de la disponibilidad de nutrientes tales como nitrógeno (N), (P) y carbono (C). La mayoría de los modelos cinéticos de crecimiento expresados como función de una sola concentración de nutriente. Estos se han clasificado en dos grupos (Grupo A-1) y (Grupo A-2) [6].

2.7.2.1. Modelos cinéticos de factor único (Grupo A-1)

Los modelos del Grupo A-1 asumen que la velocidad de crecimiento es controlada por una concentración de nutriente externo, es decir la concentración de nutriente en la solución del cultivo. Los modelos en este grupo son ampliamente aplicados debido a su fácil manipulación experimental para medir la concentración externa de nutrientes (S). El modelo de Monod [131] (Ecuación (2.5), Tabla 2.1) es un modelo representativo del (Grupo A-1), el cual considera el crecimiento en función de la concentración de nutrientes solamente. Así mismo una amplia variedad de trabajos pueden encontrarse para describir el crecimiento de microalgas con otros nutrientes como (N, P, o CO_2). Por ejemplo, Aslan y Kapdan [132],

llevaron a cabo experimentos por lotes para investigar el efecto de las concentraciones iniciales de nitrógeno y fósforo en el rendimiento de eliminación de nutrientes de la microalga *C. vulgaris* y para determinar coeficientes biocinéticos, con ello, determinaron los efectos de la concentración inicial de N y P sobre la absorción de nutriente de la microalga *Chlorella vulgaris* de aguas residuales sintéticas, encontraron que el crecimiento de *C. vulgaris* en un reactor por lotes se limita cuando las concentraciones de N y P estaban debajo de 31.5 mgNL^{-1} y 10.5 mgNL^{-1} , respectivamente. Xin et al., reportaron que el crecimiento de *Scenedesmus* sp. concordó adecuadamente con el modelo de Monod [131] al realizar experimentos bajo diferentes concentraciones de N y P ($2.5\text{-}25 \text{ mgNL}^{-1}$ con 1.3 mgPL^{-1} ; $0.1\text{-}2.0 \text{ mgPL}^{-1}$ con 10 mgNL^{-1}). De manera similar, Hsueh et al. [133] pudieron reportar la velocidad de crecimiento de *Thermosynechococcus* sp. y *Nannochloropsis oculata* bajo diferentes concentraciones de carbono inorgánico total ($4.7\text{-}94.3 \text{ mM}$) usando el modelo de Monod; reportaron además que el contenido de carbohidratos de la cepa *Thermosynechococcus* sp. aumentó de 2.1 % a 33 % a medida que el CO_2 aumentó. El modelo de Monod puede describir el crecimiento en condiciones bajas o medias de nutriente, sin embargo, el modelo está limitado cuando se trata de altas concentraciones, debido a la inhibición nutritiva, la cual se ha reportado que ocurre cuando las concentraciones de NH_3 están por encima de 300 mgL^{-1} en la solución del cultivo. En este contexto, el modelo de Andrews [134], (Ecuación (2.6), Tabla 2.1), incluye el término S^2/K_i , en el denominador para describir el efecto inhibitorio de los nutrientes sobre la velocidad de crecimiento a altas concentraciones en cultivos por lotes y continuos de microorganismos que utilizan sustratos inhibidores, tales como: fenoles, tiocianatos, nitratos, amoníaco, ácidos volátiles, etc., que se sabe que inhiben a muchos de los organismos que los metabolizan. Kurano y Miyachi et al. [135], aplicaron el modelo de Andrews para explicar la velocidad de crecimiento de *Chlorococcum littorale* bajo condiciones de 0-20 % de CO_2 enriquecida con aire para simular la relación entre la tasa de crecimiento específica y la respuesta de CO_2 . De manera similar, Wijanarko et al. [136] reportaron que es preferible utilizar el modelo de Andrews que el de Monod para describir el efecto de la concentración de CO_2 sobre el crecimiento de *C. vulgaris* bajo 0-30 % de CO_2 enriquecido con aire. Los resultados mostraron que el aumento de la iluminación durante el cultivo aumentó la producción de biomasa de *C. vulgaris* en aproximadamente un 60 %, así como también aumentó la capacidad de fijación del CO_2 en aproximadamente un 7.0 %. El modelo de Monod también está limitado para predecir el crecimiento de microalgas en ausencia de

algún nutriente en el medio. En realidad, ahora se sabe que cuando un nutriente se encuentra ausente en el medio, las microalgas pueden aún seguir creciendo debido al almacenamiento de nutrientes en la célula. Se ha reportado que el crecimiento de microalgas no responde directamente a la concentración de nutrientes externos únicamente. En orden de describir dicho fenómeno, Martínez Sancho et al. [137], (Ecuación (2.7), Tabla 2.1), modificó el modelo de Monod añadiendo una velocidad máxima específica de crecimiento μ_{m2} en ausencia de un nutriente externo, de tal manera que cuando no existe nutriente en el cultivo es decir ($S = 0$), la velocidad específica de crecimiento μ no es igual a cero si no más bien a μ_{m2} [6]. Otra modificación realizada por Martínez et al., (Ecuación (2.8), Tabla 2.1) incorpora tres conceptos en una sola ecuación: crecimiento en ausencia de nutrientes, crecimiento limitado por baja concentración de nutrientes y el crecimiento inhibido por alta concentración de nutrientes, añadiendo la constante de inhibición (K_i) y dos velocidades máximas específicas de crecimiento (μ_{m2} y μ_{m3}) [138]. Aunque las modificaciones de Martínez Sancho et al. proveen de una mejor descripción para explicar de mejor manera la velocidad de crecimiento de microalgas en ausencia de nutrientes, es rara vez utilizada dada la necesidad de estimar los parámetros extras como (K_i, μ_{m1} y μ_{m2}).

Tabla 2.1: Grupo A-1. Algunos modelos en función de la concentración del nutriente externo.

Fuente	Ecuación
Monod [131]	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_S + S} \quad (2.5)$
Andrews [134]	$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_i}} \quad (2.6)$
Martínez Sancho et al. [137]	$\mu = \frac{\mu_{m1}S + \mu_{m2}K_S}{K_S + S} \quad (2.7)$
Martínez et al. [138]	$\mu = \frac{\mu_{m1}S + \mu_{m2}K_S + \frac{\mu_{m3}S^2}{K_i}}{K_S + S + \frac{S^2}{K_i}} \quad (2.8)$

2.7.2.2. Modelos cinéticos de factor único (Grupo A-2)

Los modelos cinéticos del (Grupo A-2), suponen que la velocidad de crecimiento depende de la concentración de nutriente interno en la célula, medida por la cuota celular. La cuota celular es la cantidad de nutriente intracelular del nutriente limitante. Los modelos de esta subcategoría se pueden aplicar en condiciones de estado estable o inestable. En el contexto de estos modelos, el estado estable se refiere a al estado en donde la velocidad de transferencia de nutrientes desde el medio de cultivo a la célula es igual a la velocidad de consumo en la célula. Este grupo de modelos son capaces de predecir de manera más realista la velocidad de crecimiento ya que consideran la ausencia de nutrientes externos debido a los nutrientes acumulados dentro de la célula. El modelo de Droop [7] (Ecuación (2.9), Tabla 2.2) ha sido aplicado con exitosamente para describir el crecimiento de microalgas en ecosistemas naturales, como, por ejemplo: ríos, lagos y océanos, con N o P como nutriente limitante. Utilizando este modelo, Grover [139], concluyó que el modelo de Droop describe mejor la relación entre la cuota celular de P y la velocidad de crecimiento de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. en cultivos continuos que cuando se usa el modelo de Monod. Por otro lado, Caperon y Meyer [140], (Ecuación (2.10), Tabla 2.2), encontraron que la velocidad de crecimiento limitada por nitrato está relacionada con el reservorio de nitrógeno interno mediante una expresión hiperbólica y han sugerido una combinación de la función de Droop $(1 - Q_{min}/Q)$ y la ecuación de Michaelis Menten que introduce una constante K_C , que según lo reportado, podría mejorar la descripción del modelo de Droop, sin embargo requiere la determinación del parámetro adicional K_C , lo que incrementa el grado de dificultad para aplicar el modelo a nivel experimental y por lo tanto es muy poco utilizado. Adicionalmente Flynn [141], (Ecuación (2.11), Tabla 2.2), ha propuesto incorporar el factor $Q_{max} - Q_{min}$ del cual reportó buenos resultados para representar la relación entre los nutrientes (N, P) y la velocidad de nutrientes. Sin embargo la complejidad añadida al modelo de igual manera complica su aplicabilidad, siendo el modelo de Droop uno de los modelos de esta categoría más utilizado hasta ahora.

Tabla 2.2: Grupo A-2. Algunos modelos cinéticos de crecimiento de microalgas que consideran la concentración del nutriente interno almacenado.

Fuente	Ecuación
Droop [7]	$\mu = \mu'_{max} \left(1 - \frac{Q_{min}}{Q} \right) \quad (2.9)$
Caperon y Meyer [140]	$\mu = \mu'_{max} \frac{Q - Q_{min}}{Q - Q_{min} + K_C} \quad (2.10)$
Flynn [141]	$\mu = \mu'_{max} \frac{(1 + K_q)(Q - Q_{min})}{(Q - Q_{min}) + K_q(Q_{max} - Q_{min})} \quad (2.11)$

2.7.2.3. Modelos cinéticos que consideran la intensidad de la luz como factor único (Grupo B-1)

En el presente apartado se presentan algunos modelos cinéticos que consideran la intensidad de la luz como factor único. Dichos modelos se describen en el presente documento en tres grupos: (Grupo B-1, Grupo B-2 y Grupo B-3). En los cultivos fototróficos con condiciones saturadas de nutrientes, la intensidad de la luz es un factor crítico para la actividad fotosintética relacionada con el metabolismo debido a que la intensidad de luz insuficiente limita el crecimiento de las microalgas. Las microalgas requieren un nivel de intensidad de luz específico para alcanzar la máxima velocidad de crecimiento, el cual es referido como nivel saturado de luz. Es decir, si la intensidad de luz está por encima del nivel de saturación, el crecimiento será inhibido por la luz, el cual es un fenómeno conocido como fotoinhibición. Por otra parte, si la intensidad de luz se encuentra por debajo del nivel de saturación se considera que el cultivo se encuentra limitado por la intensidad de la luz. Estos modelos pueden ser útiles para el diseño de FBR a nivel de laboratorio (cerrados o abiertos) y a escala industrial.

Los modelos del (Grupo B-1), consideran la limitación de la intensidad de luz y asumen que las microalgas existen como células individuales. En particular este tipo de modelos ha sido aplicado en experimentos de escala de laboratorio. El modelo de Tamiya [142], (Ecuación (2.12), Tabla 2.3) es conocido como el modelo más ampliamente aplicado para estudiar el efecto de la intensidad de la luz en la velocidad de crecimiento de los cultivos de microalgas ya que relaciona la intensidad de luz incidente con la velocidad máxima específica de crecimiento μ_{max} y la constante de saturación con respecto a la intensidad de la luz K_I , la cual nos expresa que cuando la intensidad de luz incidente I es menor que K_I , el crecimiento se limita acorde a una cinética de primer orden y por el otro lado, cuando I se encuentra por encima de K_I el crecimiento es independiente de la intensidad de luz y μ se aproxima a μ_{max} . Por ejemplo, Chae et al. [143] reportó que el modelo de Tamiya pudo describir adecuadamente el crecimiento de *Euglena gracilis* en condiciones controladas de laboratorio utilizando lámparas fluorescentes ($0-550 \mu mol m^{-2}s^{-1}$) con parámetros cinéticos de μ_{max} como $0.06 h^{-1}$ y K_I como $178.7 mol m^{-2}s^{-1}$, encontrando que la velocidad de crecimiento de la cepa *Euglena gracilis* depende altamente de la intensidad de luz. En adición muchos otros modelos teóricos han sido desarrollados por Van Oorschot [144], Bannister [145] y Chalker [146]. Van Oorschot usó una función de Poisson (Ecuación (2.13), Tabla 2.3). Por otro lado, Bannister, (Ecuación (2.14), Tabla 2.3) describe la limitación de la intensidad de luz adoptando la misma estructura del modelo de Tamiya con la inclusión del parámetro de forma m que depende de la especie de microalga. En otro contexto, Kurano y Miyachi utilizaron la propuesta de Chalker (Ecuación (2.15), Tabla 2.3) para describir la relación entre la velocidad de fotosíntesis y la irradiación de la luz, asumiendo que solo la actividad fotosintética limita el crecimiento.

Tabla 2.3: Grupo B-1. Algunos modelos cinéticos de crecimiento de microalgas que consideran la luz.

Fuente	Ecuación
Tamiya et al. [142]	$\mu = \mu_{max} \frac{I}{K_I + I} \quad (2.12)$
Van Oorschot [144]	$\mu = \mu_{max} \left(1 - e^{-I/K_I}\right) \quad (2.13)$
Bannister [145]	$\mu = \mu_{max} \frac{I}{(K_I^m + I^m)^{1/m}} \quad (2.14)$
Chalker [146]	$\mu = \mu_{max} \tanh \frac{I}{K_I} \quad (2.15)$

2.7.2.4. Modelos cinéticos que consideran la intensidad de la luz asociada con la atenuación celular (Grupo B-2)

Los modelos del Grupo-I asumen que cada célula individual recibe igualmente la intensidad de luz incidente, es decir, consideran un mínimo de auto sombreado por las células de las microalgas, los siguientes modelos no lo consideran así del todo. El Grupo B-2 considera aquellos modelos que toman en cuenta la atenuación de la luz, una intensidad promedio o la intensidad de luz absorbida. En este contexto, la intensidad de luz promedio (o intensidad de luz absorbida) la cual es determinada por el camino que sigue la luz, la densidad del cultivo y la intensidad incidente de luz, y una vez determinada nos expresa la absorción promedio de luz de las células de las microalgas en el sistema de cultivo. No obstante, algunos investigadores como Béchet et al., señalaron que la intensidad de luz promedio no es un parámetro adecuado para representar la intensidad de luz debido a que esta no toma en cuenta la heterogeneidad de la intensidad de luz recibida por las células individualmente en el

sistema y su efecto sobre el crecimiento del cultivo entero. Sin embargo, algunos otros autores como Grima [147] y colaboradores han propuesto el modelo presentado en la (Ecuación (2.16), Tabla 2.4), el cuál es una modificación del modelo de Tamiya con la intensidad promedio de luz I_{av} y la inclusión del parámetro (n), que denota el tipo de forma de la célula y depende de la especie. Este modelo ha sido a menudo utilizado en la optimización de cultivos en interiores y exteriores. Por otro lado, el modelo de Ogonna [148], (Ecuación (2.17), Tabla 2.4), es un modelo con estructura lineal el cual incluye la concentración celular (x) y el volumen del reactor (V) para tomar en cuenta el impacto de la concentración celular con la atenuación de la luz dentro de la configuración del FBR. Adicionalmente toma en cuenta el efecto de las zonas oscuras a través del factor del volumen no iluminado ($1 - V_F$).

Tabla 2.4: Grupo B-2. Algunos modelos cinéticos de crecimiento de microalgas que consideran la luz y la atenuación de la luz por las células.

Fuente	Ecuación
Grima et al. [147]	$\mu = \mu_{max} \frac{I_{av}^n}{I_k^n + I_{av}^n} \quad (2.16)$ $I_{av} = \frac{I}{K_a p X} [1 - e^{-K_a p X}]$
Ogonna et al. [148]	$\mu = K \left[\frac{I_{abs}}{XV} - I_{max} (1 - V_F) \right] \quad (2.17)$

2.7.2.5. Modelos cinéticos que consideran la intensidad de la luz y la fotoinhibición (Grupo B-3).

Con el fin de reducir el costo energético debido al uso de luz artificial, muchos investigadores han optado por utilizar sistemas de cultivo en exterior. Una desventaja de utilizar tales sistemas es que ocurre el fenómeno de fotoinhibición en los periodos pico de luz durante el día, principalmente al medio día. El Grupo B-3, consiste en aquellos modelos que toman en cuenta la fotoinhibición. En este grupo los modelos tienen relativamente ecuaciones menos complejas, es decir, con dos o tres parámetros.

En particular, el modelo de Steele [149], (Ecuación (2.18), Tabla 2.4), es ampliamente utilizado para describir los efectos de la intensidad de luz y fotoinhibición usando I/I_{opt} y $(\exp(1 - I/I_{opt}))$, respectivamente. La estructura presentada en los modelos de Aiba [150], Lee, Talbot, Bernard y Rémond, (Ecuaciones (2.18-2.22), Tabla 2.4) es similar a la estructura del modelo de Andrews los cuales incorporan un término para la fotoinhibición en función de la intensidad de la luz. El modelo de Grima, (Ecuación (2.23), Tabla 2.4) incorpora un parámetro para considerar la afinidad de la luz (I_K) y (n) en función de la intensidad de luz incidente.

Tabla 2.5: Grupo B-3. Algunos modelos cinéticos de crecimiento de microalgas que consideran la luz y la fotoinhibición

Fuente	Ecuación
Steele [149]	$\mu = \mu_{max} \frac{I}{I_{opt}} \exp\left(1 - \frac{I}{I_{opt}}\right) \quad (2.18)$
Aiba [150]	$\mu = \mu_{max} \frac{I}{K_I + I + \frac{I^2}{K_{i,L}}} \quad (2.19)$
Lee et al. [151]	$\mu = \mu_{max} \frac{I_{av}}{K_I + K_{i,L} I_{av}} \quad (2.20)$ $I_{av} = \frac{I_{in} + I_{out} + 2I_C}{2}$
Talbot et al. [152]	$\mu = 2\mu_{max} (1 + \beta) \frac{I/I_{opt}}{(I/I_{opt})^2 + 2\beta(I/I_{opt}) + 1} \quad (2.21)$
Bernard y Rémond [153]	$\mu = \mu_{max} \frac{I}{I + \frac{\mu_{max}}{\alpha} \left(\frac{I}{I_{opt}} - 1\right)^2} \quad (2.22)$
Grima et al. [147]	$\mu = \mu_{max} \frac{I_{av} \left(b + \frac{C}{I}\right)}{\left[I_K + \left(\frac{I}{K_{i,L}}\right)^a \right] \left(b + \frac{C}{I}\right) + I_{av} \left(b + \frac{C}{I}\right)} \quad (2.23)$

2.7.2.6. Modelos cinéticos que consideran múltiples factores.

En el medio ambiente natural es común observar que las microalgas se encuentran limitadas tanto por nutrientes como por la luz, a lo cual se le conoce como co-limitación. Con el fin de mejorar la estimación

y la comprensión de la co-limitación, se han desarrollado diversos modelos cinéticos tomando como base fundamental que la interacción de múltiples factores nutritivos y la intensidad de luz controlan de manera general el crecimiento de las microalgas. Algunos análisis sugieren que, con respecto al concepto de colimitación, el N y P serían mejor considerados como nutrientes bioquímicamente dependientes en lugar de bioquímicamente independientes [154]. Los modelos basados en la co-limitación se pueden clasificar en dos categorías: del tipo umbral y multiplicativos [6]. Los modelos de umbral o de ley mínima se basa en la idea de que la velocidad de crecimiento es afectada por el nutriente más limitante de entre todos los recursos requeridos para el crecimiento celular, por lo que sus expresiones matemáticas se asemejan a aquellos modelos que consideran un solo factor [6]. Sin embargo, la teoría detrás de los modelos de umbral se basa en el concepto de co-limitación en el sentido de que todos los posibles recursos se consideran para construir los modelos cinéticos de crecimiento. En este contexto el marco de los modelos de umbral es denotado por la Ecuación (2.24):

$$\mu = \mu_{max,min}(f(x_1), f(x_2), f(x_3) \cdots f(x_i)) \quad (2.24)$$

En donde $\mu_{max,min}$ es la velocidad máxima de crecimiento con respecto al recurso más limitado y $f(x_i)$ es una función de múltiples recursos limitados tales como N,P,CO₂ y la intensidad de luz I [155]. En las Ecuaciones (2.25), (2.26) y (2.27) de la Tabla (2.6) se presentan algunos de los modelos de umbral más comúnmente utilizados en la literatura para describir los efectos de dos recursos en el crecimiento de microalgas, especialmente aquellos limitados por N, P, CO₂ e intensidad de luz, y que cabe señalar que el modelo de Droop ha sido frecuentemente adoptado para expresar la velocidad de crecimiento en los modelos señalados. En la Ecuación (2.29), se utiliza la estructura del modelo de Droop, la cual toma en cuenta la cuota interna de nutrientes y la intensidad de luz en la velocidad de crecimiento de las microalgas. La Ecuación (2.28), considera la temperatura expresada con la base en la ecuación de Arrhenius, los nutrientes externos como N y P y la intensidad de luz. Por otro lado, la ecuación (2.30) considera el CO₂ y la intensidad de luz por medio de una estructura basada en la estructura de Monod.

Tabla 2.6: Algunos modelos cinéticos de crecimiento de microalgas que consideran múltiples factores

Fuente	Ecuación
Klausmeier [129] et al.	$\mu = \mu'_{max,min} \left(1 - \frac{Q_{min,N}}{Q_N}, 1 - \frac{Q_{min,P}}{Q_P} \right) \quad (2.25)$
Spijkerman [155] et al.	$\mu = \mu_{max,min} \left(\frac{S_P}{K_{S,P} + S_P}, \frac{S_{CO_2}}{K_{S,CO_2} + S_{CO_2}} \right) \quad (2.26)$
Guest et al. [156]	$\mu = \mu'_{max,min} \left[1 - \left(\frac{Q_{N,min}}{Q_N} \right)^4, 1 - \left(\frac{Q_{P,min}}{Q_P} \right)^4 \right] \cdot f(I_{av}) \quad (2.27)$
Haario et al. [157]	$\mu = \mu_{max} \cdot \theta^{T-T_{ref}} \left(\frac{I}{K_I + I} \right) \left(\frac{S_P}{K_{S,P} + S_P} \right) \left(\frac{S_N}{K_{S,N} + S_N} \right) \quad (2.28)$
Bernard [12]	$\mu = \mu_{max} \left(\frac{I_{av}}{K_I + I_{av} + \frac{I_{av}^2}{K_{i,L}}} \right) \left(1 - \frac{Q_{min,N}}{Q_N} \right) \quad (2.29)$
Filali et al. [158]	$\mu = \mu_{max} \left(\frac{I_{av}}{K_I + I_{av}} \right) \left(\frac{S_{CO_2}}{K_{S,CO_2} + S_{CO_2}} \right) \quad (2.30)$

2.7.3. El modelo matemático de Droop

Un modelo clásico ampliamente utilizado en las últimas décadas para describir el fenómeno de crecimiento de las microalgas ha sido originalmente desarrollado por Droop [7]. Dicho modelo desacopla el suministro de nutrientes externo y la producción de biomasa y propone el concepto de la cuota interna de nutriente.

El modelo matemático de Droop es capaz de describir el crecimiento de microalgas cultivadas en fotobiorreactores, bajo condiciones controladas de temperatura e iluminación [7, 12, 153]. Una particularidad del modelo de Droop es que desacopla crecimiento de biomasa microalgal de la absorción del sustrato externo (p.ej. nitrato), y además aporta por primera vez el concepto de la cuota celular interna, que se refiere a la cantidad interna de nutrientes por unidad de biomasa), en otras palabras, la cantidad de nutriente absorbido dentro de la célula microalgal, y entonces describe la tasa de crecimiento de biomasa en función de esta cuota interna únicamente [7]. Es importante señalar que por debajo de la llamada cuota de interna a veces llamada cuota de subsistencia o cuota intracelular, las algas no pueden crecer. En otras palabras la cuota interna determina la cantidad mínima de sustrato requerida para que el proceso de producción de biomasa se lleve a cabo.

Por otro lado, aunque originalmente, el autor del modelo de Droop consideraba a la vitamina B12 como un factor limitante nutriente, sin embargo, con el posterior desarrollo de estudios utilizando dicho modelo, se ha demostrado que el modelo es aplicable a otros nutrientes limitantes como nitrato, fosfato y silicato, entre otros que puedan ser de interés científico [124].

2.7.3.1. Sistema de ecuaciones diferenciales del modelo de Droop

A continuación, se presenta el balance de masas dado por el sistema de ecuaciones diferenciales de Droop. El sistema de ecuaciones originalmente involucra tres variables de estado denotadas en este

trabajo de la siguiente manera: la concentración de biomasa x , la concentración de nutriente y , y la cuota intracelular z .

$$\begin{aligned}
 \dot{x} &= \mu(z)x - Dx \\
 \dot{y} &= -\rho(y)x + D(y_{in}-y) \\
 \dot{z} &= \rho(y) - \mu(z)z
 \end{aligned} \tag{2.31}$$

La tasa de dilución $D = F_{in}/V$ es el flujo del caudal de entrada al cultivo, para ser utilizado en un sistema de cultivo por lotes, entonces el modelo se puede reducir haciendo $D = 0$. Obteniendo el modelo de Droop por lotes como sigue [7]:

$$\begin{aligned}
 \dot{x} &= \mu(z)x \\
 \dot{y} &= -\rho(y)x \\
 \dot{z} &= \rho(y) - \mu(z)z
 \end{aligned} \tag{2.32}$$

La tasa de absorción $\rho(z)$ está definida por la ley de Michaelis-Menten:

$$\rho(y) = \rho_m \frac{y}{y+k_y} \tag{2.33}$$

En donde k_y es la constante de saturación media y ρ_m es la velocidad máxima de absorción de nutriente.

La tasa específica de crecimiento $\mu(z)$ se define como una función de la cuota intracelular z , μ_m es la tasa máxima de crecimiento, y z_{c0} es la cuota mínima celular o cuota mínima requerida por el organismo antes de que este pueda proceder a crecer, Ecuación (2.34).

$$\mu(z) = \mu_m \left(1 - \frac{z c_0}{z}\right) \quad (2.34)$$

Donde z_{c_0} es la cuota mínima celular, el parámetro identificado por Droop, debajo del cuál, las algas no pueden subsistir. Este parámetro permanece entre dos límites: $z_{c_0} \leq z \leq z_{c_m}$, en donde z_{c_m} , la cuota máxima intracelular puede ser obtenida en condiciones de nutrientes en exceso o no limitantes, por:

$$z_m = z_{c_0} + \frac{\rho_m}{\mu_m} \quad (2.35)$$

En la Tabla 2.7 se proporcionan las unidades físicas de las variables y parámetros anteriormente descritas del modelo.

VARIABLES	PARÁMETROS
x [gCL^{-1}], Biomasa	ρ_m [$gN(gC)^{-1}d^{-1}$], Velocidad máxima de absorción,
y [gNL^{-1}], Nutriente	k_y [gNL^{-1}], Constante de saturación media
z [$gN(gC)^{-1}$], cuota interna	μ_m (d^{-1}), Velocidad máxima de crecimiento
	z_{c_0} [$gN(gC)^{-1}$], Cuota mínima intracelular
	y_{in} [gNL^{-1}], Flujo de nutriente entrante al cultivo
	D [d^{-1}], Velocidad de dilución

Tabla 2.7: Descripción de las variables y parámetros del modelo de Droop [7, 127].

2.7.4. Flujos de carbono a nivel intracelular

Se han encontrado estudios sobre modelos dinámicos que incorporan la producción de lípidos y carbohidratos en sistemas de cultivos de microalgas bajo condiciones limitadas por nutriente como nitrógeno [159].

En dichos trabajos se ha propuesto que el carbono intracelular se divide entre un grupo funcional, y dos grupos de almacenamiento, correspondientes a lípidos y carbohidratos, y que ha sido validado experimentalmente, bajo varias condiciones diversas de estatus nutritivo [160].

En la presente sección se llevará a cabo la presentación de la estructura del modelo que incorpora la producción de carbohidratos al modelo de Droop, que para fines de este trabajo se propone como herramienta de estudio.

Como se ha mencionado anteriormente las microalgas están limitadas por una fuente de nutriente externo, el cuál puede ser por ejemplo nitrógeno inorgánico, denotado como (y). Siguiendo la propuesta de Ross y Geider [161], se considera que el carbono orgánico se puede dividir en reservas para la estructura funcional de la célula y reservorios de almacenamiento .

El compartimento funcional (f) toma en cuenta el aparato biosintético, es decir aquel encargado de la formación de proteínas y material genético, así como la síntesis de materia para conformar la parte estructural de la célula como las membranas celulares, que están compuestas principalmente de glucolípido y fosfolípidos [10].

Los reservorios de almacenamiento se dividen en un compartimento de reserva de carbohidratos, denotado en este trabajo como (g) y un compartimento de reserva de lípidos neutros, denotado como (l) [10, 153].

Así como mencionando en la sección anterior, se encontró que se tiene en cuenta que la absorción de nutrientes y el crecimiento de la biomasa son procesos desacoplados para las microalgas [162], lo que conduce a variaciones en la cantidad de la cuota interna de nutrientes.

Ahora bien, los nutrientes son absorbidos por las microalgas para producir nitrógeno celular, denotado como (n) a una velocidad ρ_y . Este flujo de nitrógeno se puede resumir en la siguiente reacción macroscópica que representa el flujo másico entre los compuestos orgánicos e inorgánicos [7].



En donde la velocidad de absorción es representada por medio de la ley de Michaelis-Menten [131], Ecuación(2.33).

La velocidad específica de crecimiento μ , es decir la incorporación de CO_2 se encuentra en función de la cuota interna de nutriente:

$$z = \frac{n}{x} \quad (2.37)$$

En línea con los trabajos encontrados en la literatura [7, 10, 12], en el presente trabajo, se asumo que el carbono inorgánico es incorporado primero al reservorio de azúcares g , Ecuación (2.38):



La Ecuación 2.38, puede interpretarse como una reacción macroscópica que resume un conjunto de reacciones que ocurren en la fase oscura del crecimiento, es decir, en aquella fase en donde la luz no interviene de manera directa en los procesos de cambio durante el crecimiento. Dicha fase se entiende mejor por el ciclo de Calvin, y en la cual se da lugar a la formación de los carbohidratos, tales como la glucosa 6-fosfato [163].

La estructura matemática que, reportada en la literatura para expresar la velocidad de crecimiento se encuentra en línea con la Ecuación (2.34). En donde μ_m , representa la velocidad máxima de crecimiento [164].

El compartimiento de carbohidratos (g), derivado de la Ecuación (2.38) es entonces usado en una segunda etapa de síntesis de elementos funcionales (f) [10, 165], de la biomasa, que se puede expresar de la siguiente manera:



La Ecuación (2.39), representa la reacción que corresponde principalmente a la síntesis de proteínas y material genético, como los ácidos nucleicos, material, que depende de la disponibilidad de la fuente de nitrógeno. Se considera a la vez, que la velocidad de síntesis es proporcional a la velocidad de asimilación de nitrógeno [161].

El compartimiento de carbohidratos (g), a su vez, es utilizado de forma paralela para sintetizar ácidos grasos libres (AGL) [10], de la siguiente manera:



Así mismo, se asume que la velocidad de síntesis de ácidos grasos depende de la velocidad de fotosíntesis μ_z , la cual, a su vez depende de la cuota de nitrógeno. Los AGL se movilizan para producir carbono funcional, principalmente para la formación de membranas, Ecuación (2.41), [165]:



La velocidad de la Ecuación (2.41) se asume ser proporcional a la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos de la Ecuación (2.39). No obstante, se considera que el reservorio de AGL es de un tamaño despreciable, por lo que no juega un papel representativo en las expresiones matemáticas del flujo de carbono intracelular [166].

La figura 2.8 muestra un diagrama que representa los flujos de carbono dentro de la célula microalgal, revisados previamente. Los reservorios de carbohidratos, lípidos y grupos funcionales son representados por g , l , f , respectivamente.

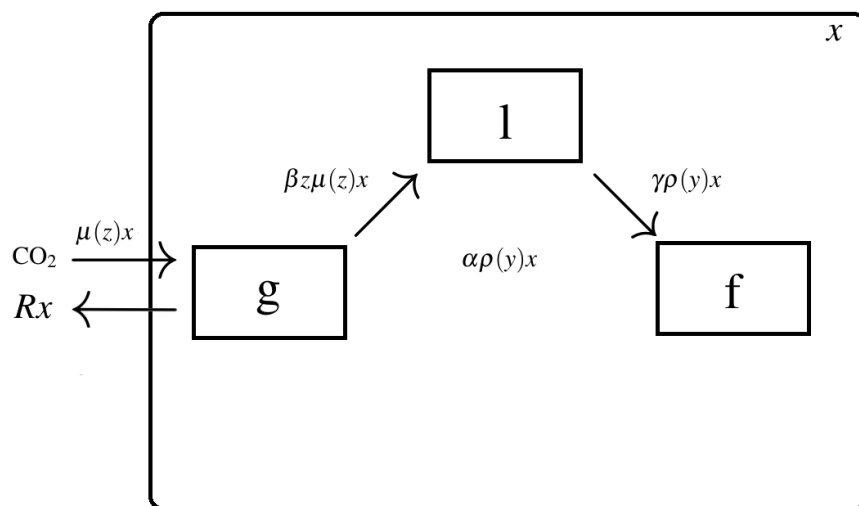


Figura 2.8: Representación de los flujos de carbono. Basada en [10]

Las ecuaciones de la evolución de las variables en el tiempo en un reactor homogéneo, resultantes a partir de las consideraciones de balances de masa y de las expresiones anteriormente descritas en las Ecuaciones (2.36-2.41), se presentan como sigue [7, 10, 12, 162, 167]:

$$\dot{y} = Dy_{in} - \rho(y)x - Dy \quad (2.42)$$

$$\dot{n} = \rho(y)x - Dn \quad (2.43)$$

$$\dot{g} = (1 - \beta z)\mu(z)x - \alpha\rho(y)x - Dg \quad (2.44)$$

$$\dot{l} = \beta z\mu(z)x - \gamma\rho(y)x - Dl \quad (2.45)$$

$$\dot{f} = (\alpha + \gamma)\rho(y)x - Df \quad (2.46)$$

2.7.4.1. Descripción del modelo considerando la luz y la fotoaclimatación

En la presente sección se describe la propuesta del modelo foto-aclimatado que se propone utilizar para el presente estudio. El modelo a continuación descrito ha sido ampliamente validado en la literatura. La estructura del modelo se compone de las ecuaciones clásicas de Droop, como base matemática para describir la dinámica de la biomasa x , el nutriente externo y , y la cuota interna de nutriente interna z , dicha estructura será utilizada para la incorporación de los carbohidratos en la sección de análisis y resultados.

2.7.4.2. Modelado de microalgas con inclusión de la luz

Recientemente se han sumado a la literatura propuestas de diferentes modelos que tienen en cuenta el factor de la luz en los sistemas de cultivos. Esto se ha desarrollado a partir de observar la respuesta de la densidad de pigmento de las microalgas tanto a la intensidad lumínica y nutrientes disponibles ya que el nitrógeno influye fuertemente en la síntesis de pigmentos, especialmente clorofila. Geider et al. [168], fue el primero en proponer un modelo simple que introduce la clorofila denotada como (Chl) como una variable dinámica en el modelado dinámico de microalgas, además de las ya documentadas variables de la biomasa y nutrientes. El modelo vincula la velocidad de fotosíntesis en condiciones saturadas de

luz con la cuota interna de nutrientes y describe la síntesis de clorofila que se acopla a la asimilación de nitrógeno. Otros modelos más complejos han sido propuestos [169, 170], pero han sido menos utilizados, debido a que el nivel de detalle de los mecanismos descritos, además de que toman en cuenta un mayor número de parámetros y variables de estado, lo cual, convierte a los procesos de calibración, validación y de control más difíciles de aplicar experimentalmente. No obstante, los resultados de la simulaciones obtenidas en [169] muestran que cuando la entrada de nutrientes varía periódicamente, la población muestra una respuesta aperiódica con frecuencias diferentes a las del forzamiento, lo que parece indicar que dichos modelos son capaces de predecir comportamientos complejos, que podrían aportar valiosa información del comportamiento dinámico que podrían ser utilizados para plantear estrategias de suministro nutritivo de forma variable.

El modelo de Droop, originalmente no toma en cuenta la luz en su estructura. En la literatura se ha desarrollado diversas propuestas para incluir la luz en los modelos matemáticos, particularmente para el desarrollo de este trabajo se aborda una propuesta, ampliamente aceptada por los investigadores, la cual consiste en modelar el efecto de la luz en los sistemas de cultivo de microalgas a través de incluir el parámetro de la luz en la velocidad de crecimiento, $\mu = \mu_m(I)$, [12]:

$$\mu(z, I) = \mu_m(I) \left(1 - \frac{zc_0}{z} \right) \quad (2.47)$$

En donde la velocidad de crecimiento en función de la luz $\mu_m(I)$ se describe por:

$$\mu_m(I) = \tilde{\mu} \frac{I}{I + K_{sI} + \frac{I^2}{K_{iI}}} \quad (2.48)$$

En donde K_{iI} , es el coeficiente de inhibición de la luz, K_{sI} es el coeficiente de saturación media de la luz. Utilizando los parámetros antes mencionados pueden llevarse a cabo cálculos para conocer la

intensidad optima, es decir, aquella en la que se obtiene la velocidad máxima de crecimiento [171], $\mu_m(I)$.

Con tal modelo se tiene entonces que la cuota máxima de crecimiento se determina de la siguiente manera [124]:

$$zc_m(I) = zc_0 + \frac{\rho_m}{\mu_m(I)} \quad (2.49)$$

Se puede observar que durante el periodo de oscuridad, $\mu_m(0) = 0$, el crecimiento se detiene, entonces la Ecuación(2.49), conlleva a una máxima cuota infinita, lo que indica que no ocurre crecimiento en durante periodos de oscuridad, de tal manera que el nutriente puede ser tomado indefinidamente por la célula sin ser consumido para el crecimiento, si bien el incremento de la cuota máxima en ausencia de luz es aceptable, de ninguna forma puede tomar valores infinitos [172], es por ello que el modelo ha sido adaptado para que la velocidad de absorción de nutriente se detenga a medida que las células se saturan de nutriente como sigue [7, 12]:

$$\rho(y, z) = \rho_m \frac{y}{y + k_y} \left(1 - \frac{z}{zc_m} \right) \quad (2.50)$$

2.7.4.3. Modelado del gradiente de luz en un fotobiorreactor

Una representación simple de la atenuación de la luz dentro de un fotobiorreactor de espesor L , se puede describir a través de un decremento exponencial expresado por la ley de Beer-Lambert [173], la cual se relaciona con la concentración de biomasa en el FBR de la siguiente manera:

$$I(w) = I_0 e^{-\xi w} \quad (2.51)$$

En donde ξ es la velocidad de atenuación de la luz, la cual principalmente depende de la concentración de clorofila y la biomasa, como se muestra a continuación [174]:

$$\xi = aChl + bx + c \quad (2.52)$$

En donde los coeficientes a, b y c son los coeficientes específicos de atenuación de la luz debidos a la concentración de clorofila, biomasa y turbidez respectivamente.

La Ecuación (2.52) es útil para poder estimar la profundidad óptica [12], parámetro que refleja que tan eficientemente la energía luminosa es absorbida en el proceso de cultivo de microalgas (PCM), de la siguiente forma:

$$\lambda = \xi L \quad (2.53)$$

La irradiancia promedio recibida por las células del cultivo entre 0 y L [12], resulta en:

$$\bar{I} \approx I_0 \frac{k_g}{\lambda + k_g} \quad (2.54)$$

En donde k_g es la constante de saturación media del flujo de fotones en el cultivo, dada una intensidad de luz I_0 en la superficie del FBR.

Sustituyendo la Ecuación (2.53) en la Ecuación (2.54), se tiene que:

$$\bar{I} \approx I_0 \frac{k_g}{(aChl + bx + c)L + k_g} \quad (2.55)$$

2.7.4.4. Inclusión matemática de la fotoaclimatación al modelado de microalgas.

La característica sobresaliente de estos modelos es en proceso conocido como foto-aclimatación o foto-adaptación. La foto-aclimatación es el mecanismo que permite a las microalgas adaptar la síntesis de pigmento (especialmente clorofila), a la intensidad de la luz [12, 175].

Los modelos clásicos de microalgas no representan la foto-aclimatación en su estructura. Sin embargo, es una característica importante que no debe soslayarse, debido a que en la práctica se pueden obtener productividades de biomasa reducidas a altas intensidades de luz [12, 175].

La foto-aclimatación es incluida dentro de la velocidad de crecimiento por medio de la Ecuación (2.56):

$$K_{sl} = \frac{K_{sl}^*}{\theta} \quad (2.56)$$

En donde $\theta = Chl/x$, relación está basada por el desarrollo de modelos cinéticos en donde la velocidad de crecimiento fue experimentada y calculada en función de la intensidad de luz y la concentración de clorofila.

2.7.4.5. Modelo de la dinámica del pigmento (Clorofila).

La concentración de clorofila debe ser representada en el modelo en orden de ser capaz de predecir el campo de luz a través del volumen de cultivo.

La concentración de clorofila es asumida en la literatura a ser proporcional a la concentración de proteínas celulares, es decir, se encuentra linealmente correlacionada con la composición de nitrógeno en la biomasa xz [176]. Dicho lo anterior, para un cultivo foto-aclimatado a una irradiancia I^* , resulta la Ecuación (2.57):

$$Chl = \gamma(I^*)xz \quad (2.57)$$

donde la ecuación (2.58):

$$\gamma(I^*) = \gamma_m \frac{K_{I^*}}{I^* + K_{I^*}} \quad (2.58)$$

Para representar la dinámica de adaptación de las microalgas a la luz, se usa la siguiente formulación:

$$\dot{I}^* = \delta\mu(z, I) (\bar{I} - I^*) \quad (2.59)$$

En donde \bar{I} es la irradiancia promedio distribuida en el cultivo y δ es la velocidad de foto-aclimatación.

2.7.4.6. Respiración

Una manera simple de incluir la respiración (R) en un modelo, consiste en asumir que el costo de la biosíntesis está incluido en la velocidad de crecimiento neta y la respiración basal es un término proporcional a la biomasa [168, 177]. Es importante notar que, en la mayoría de los modelos, se asume que el nitrógeno es liberado a la misma velocidad que el carbono, lo que significa que la respiración en el modelo también toma en cuenta la mortalidad celular [178]. El proceso de la respiración no

usualmente oculto en la velocidad neta de crecimiento del modelo de Droop [12]. La respiración es la suma de la respiración basal proporcional a la biomasa y términos proporcionales al costo de la biosíntesis [179].

Tomando en cuenta la descripción de la foto-aclimatación y usando las expresiones cinéticas apropiadas, se tiene el modelo de Droop que describe el crecimiento de microalgas en un fotobiorreactor bajo el efecto de la luz como sigue [7, 12]:

$$\begin{aligned}
 \dot{x} &= \mu(x, z, I_0)x - Dx - Rx \\
 \dot{y} &= Dy_{in} - \rho(y, z)x - Dy \\
 \dot{z} &= \rho(y, z) - \mu_m(x, z, I_0)(z - zc_0) \\
 \dot{I}^* &= \mu(x, z, I_0) [\bar{I}(I_0) - I^*]
 \end{aligned} \tag{2.60}$$

2.7.5. Deducción de la ecuación dinámica de la cuota de carbohidratos

Con el objetivo de analizar dinámicamente la producción de carbohidratos en sistemas de cultivo de microalgas, es necesario deducir la estructura de la ecuación dinámica correspondiente tomando en cuenta las consideraciones previamente revisadas en la literatura, tales como la inclusión de la intensidad de la luz en el modelo de Droop, el flujo de carbono y la descripción matemática de la fotoaclimatación.

Como punto de partida, la ecuación (2.61) muestra el balance de masa de la producción de carbohidratos en un sistema de cultivo de microalgas en un fotobiorreactor en modo de operación continua, donde D y R denotan, respectivamente, la velocidad de dilución y la velocidad de respiración. Utilizando las expresiones cinéticas apropiadas para la velocidad específica de crecimiento (μ) y la velocidad

específica de absorción de nutrientes (ρ), revisadas en las secciones previamente mencionadas, se puede obtener:

$$\dot{g} = (1 - \beta z) \mu(x, z, I_0) - \alpha \rho(y, z)x - Dg - Rx \quad (2.61)$$

La biomasa (x) se considera estar formada por tres almacenamientos internos, carbono funcional (f), carbohidratos(g) y lípidos (l) como se describe en la sección (2.7.4). La ecuación (2.62) representa la suma de los tres almacenamientos de carbono:

$$x = f + g + l \quad (2.62)$$

Considerando lo anterior se tiene que la proporción correspondiente a la cuota de carbohidratos del total de biomasa puede ser expresado por la ecuación (2.63)

$$q_g = \frac{g}{x} \quad (2.63)$$

Dividiendo ambos lados de la ecuación (2.61), resulta la ecuación (2.64):

$$\frac{\dot{g}}{x} = \frac{(1 - \beta z) \mu(x, z, I_0)x}{x} - \frac{\alpha \rho(y, z)x}{x} - D \frac{g}{x} - \frac{Rx}{x} \quad (2.64)$$

Despejando D de la ecuación dinámica de x en (2.60) en el estado estacionario, resulta la ecuación (2.65):

$$D = \mu(x, z, I_0) - R \quad (2.65)$$

Sustituyendo el valor de D en la ecuación (2.64), resulta la ecuación (2.66):

$$\frac{\dot{g}}{x} = (1 - \beta z) \mu(x, z, I_0) - \alpha \rho(y, z) - (\mu(x, z, I_0) - R) \frac{g}{x} - R \quad (2.66)$$

Sustituyendo $\frac{g}{x}$ por q_g y $\frac{\dot{g}}{x}$ por \dot{q}_g en la ecuación (2.66) se tiene la ecuación (2.67):

$$\dot{q}_g = (1 - \beta z) \mu(x, z, I_0) - \alpha \rho(y, z) - (\mu(x, z, I_0) - R) q_g - R \quad (2.67)$$

Simplificando la ecuación (2.67) se obtiene como resultado de esta deducción la ecuación (2.68) que describe la dinámica de la cuota de carbohidratos:

$$\dot{q}_g = (1 - \beta z - g_q) \mu(x, z, I_0) - \alpha \rho(y, z) + R(q_g - 1) \quad (2.68)$$

Finalmente el sistema de ecuaciones del modelo de Droop es completado con la incorporación de dinámica la cuota de carbohidratos g_q por la ecuación 2.68.

Utilizando las consideraciones y expresiones cinéticas apropiadas sobre la descripción del gradiente de la luz (I_0) dentro del fotobiorreactor a partir de la producción de clorofila (Chl) y la dinámica de fotoaclimatación (I^*) descrito en las secciones 2.7.4.1 y 2.7.4.4, se tiene que:

$$\begin{aligned}
 \dot{x} &= \mu(x, z, I_0)x - Dx - Rx \\
 \dot{y} &= Dy_{in} - \rho(y, z)x - Dy \\
 \dot{z} &= \rho(y, z) - \mu_m(x, z, I_0)(z - zc_0) + Rz \\
 \dot{I}^* &= \mu(x, z, I_0) [\bar{I}(I_0) - I^*] \\
 \dot{g}_q &= (1 - \beta z - g_q)\mu(x, z, I_0) - \alpha\rho(y, z) + R(q_g - 1)
 \end{aligned} \tag{2.69}$$

El sistema de ecuaciones 2.70, resume las ecuaciones que conforman a la velocidad específica de crecimiento en función de la intensidad de la luz, nutrientes y el proceso de fotoaclimatación. El detalle de dichas ecuaciones se denota de la ecuación (2.47 a la ecuación 2.59).

$$\begin{aligned}
 \mu(x, z, I_0) &= \bar{\mu}(I) \left(1 - \frac{z_0}{z}\right) \\
 \bar{\mu}(I) &= \tilde{\mu} \frac{I}{I + K_{SI} + \frac{I^2}{K_{II}}} \\
 K_{SI} &= \frac{K_{SI}^*}{\theta} \\
 \theta &= Chl/x \\
 \xi &= aChl + bx + c \\
 \lambda &= \xi L \\
 Chl &= \gamma(I^*)xz
 \end{aligned} \tag{2.70}$$

2.8. ANÁLISIS DE ESTABILIDAD

2.8.1. Sobre el análisis del comportamiento de los modelos matemáticos

Los modelos matemáticos nos sugieren como los procesos del mundo real se comportan en diversos escenarios. Cada modelo de un proceso físico no es más que una idealización, cuyo objetivo es capturar algunas características de los procesos físicos con los que interactuamos. La característica que queramos capturar son representados por el patrón del comportamiento de los puntos sobre una órbita determinada por el modelo matemático en cuestión [180]. A menudo es útil saber si el comportamiento que los modelos exhiben es debido a sus simplificaciones o si captura el comportamiento del sistema evaluado a pesar de sus simplificaciones matemáticas [181]. Modelar la realidad muy de cerca o a detalle puede resultar en modelos de poca utilidad práctica del cual muy poco podría ser aprendido [182]. Es por lo anterior importante abordar el estudio del comportamiento de los mapas considerando los más simples, y con ello ganar información relevante para posibles comportamientos en diversas otras condiciones.

2.8.1.1. Sobre el equilibrio y estabilidad de sistemas dinámicos

Un punto fijo tiene la propiedad de que los puntos cerca a él se mueven incluso más cerca al mismo durante la evolución dinámica del sistema. Para un punto fijo inestable, los puntos fijos cercanos se alejan a medida que el tiempo progresa [180]. El concepto de estabilidad es significativo porque los sistemas en el mundo real están constantemente sujetos a pequeñas perturbaciones. Así que, un estado estable observado en un sistema realista debe corresponder a un punto fijo estable del sistema dinámico que lo represente [183]. Por otro lado, si el punto fijo es inestable, pequeños errores o perturbaciones causan que la órbita se aleje del punto fijo, el cual podría no ser observado [180]. El modelo de ecuaciones de Droop, descrito anteriormente, es un sistema de tres ecuaciones diferenciales acopladas, no lineales, que describen el crecimiento de un microorganismo en un fotobiorreactor, en este caso,

microalgas . La velocidad de crecimiento de las microalgas está limitada por la disponibilidad de nutrientes y condiciones de iluminación [184]. En términos de análisis de estabilidad, se encontró en la literatura que un análisis reportado por Lange et al. [185], el comportamiento de las ecuaciones de Droop para modo de operación continuo es estable, con dos puntos fijos, en el que se muestra que basado en una combinación dada de parámetros, el organismo tiende a la extinción o a un punto fijo positivo.

Un mapa describe la evolución del tiempo de un sistema expresando sus estados como función del estado previo [186] . La iteración del mapa corresponde al sistema moviéndose a través del tiempo en actualizaciones discretas. En vez de expresar el estado actual como una función del estado previo, una ecuación diferencial expresa la velocidad de cambio del estado actual como función del estado actual del sistema [180].

Como es sabido existen sistemas que pueden ser descritos con una sola variable dependiente, sin embargo la mayoría de los sistemas de cultivo de microalgas son sistemas con más de una variable dependiente, es por ello importante entrar en contexto de ecuaciones lineales multidimensionales y posteriormente el tema de los sistemas no lineales [6].

Un punto de equilibrio \bar{v} es llamado estable o estable Lyapunov si cada punto inicial v_0 seleccionado muy cerca de \bar{v} tiene la propiedad de que $F(t, v_0)$ permanece cerca de \bar{v} para todo $t \geq 0$. Más formalmente, para cualquier vecindario N de \bar{v} existe un vecindario N_1 de \bar{v} , contenido en N , de tal forma que para cada punto inicial v_0 en N_1 , la solución $F(t, v_0)$ es un N para todo $t \geq 0$ [180, 186]. Un equilibrio es llamado inestable si no es estable, sencillamente dicho. Finalmente, un equilibrio es globalmente asintóticamente estable si este es asintóticamente estable y todos los valores iniciales convergen al equilibrio. Los dos conceptos de estabilidad mencionados son independientes, esto es, hay ejemplos de equilibrios que son atractores pero no estables y equilibrios que son estables pero no atractores [180, 187].

En orden de determinar la estabilidad de un equilibrio \bar{v} se puede utilizar la Matriz Jacobiana $Df(\bar{v})$ de las derivadas parciales evaluadas en \bar{v} [180, 188, 189]. Se puede esperar que la matriz Jacobiana aproxime f solo a un pequeño vecindario de \bar{v} [180, 187, 190].

Si se considera a \bar{v} ser un equilibrio de $\dot{v} = f(v)$ y se tiene que la parte real de cada eigenvalor de $Df(\bar{v})$ es estrictamente negativo, entonces \bar{v} es asintóticamente estable, si la parte real de al menos un eigenvalor es estrictamente positivo, entonces \bar{v} es inestable [15, 191–194].

2.8.1.2. Análisis de sensibilidad

El análisis de sensibilidad (AS) es una herramienta para medir el impacto de las fluctuaciones de los parámetros de un modelo matemático o sistema dinámico sobre los resultados de salida del modelo. Es utilizado en muchas áreas científicas como la biología, la ingeniería, la economía e incluso las ciencias sociales. El AS puede ser aplicado para explorar la robustez y precisión de los resultados del modelo bajo ciertas condiciones, y para comprender las relaciones entre los parámetros de entrada y las variables de estado [195]. Además, es útil para conocer de manera directa aquellas relaciones inesperadas entre algunos parámetros y su efecto en ciertas variables de estado específicamente [187].

Monitorear el impacto de las variaciones de los parámetros es útil en términos de identificaciones de las entradas que causan incertidumbre significativa en la evolución dinámica del sistema [196], de tal manera que permite enfocar especial atención en aquellos parámetros significantes para reducir la incertidumbre del proceso e incrementar la robustez y fiabilidad del sistema [197].

Un método de estimar la sensibilidad del sistema es a través de la diferenciabilidad de las soluciones del sistema y la obtención de las ecuaciones de sensibilidad específicas del modelo [198]. En el presente trabajo de investigación se aborda dicha metodología matemática para estudiar la sensibilidad del modelo a ser estudio, la cual se explica brevemente a continuación.

Suponga que $f(t, x, \lambda)$ es continuo en t, x, λ y tiene primeras derivadas parciales continuas con respecto a x y λ para todo $(t, x, \lambda) \in [t_0, t_1] \times \mathfrak{R}^n \times \mathfrak{R}^p$. Sea λ_0 un valor nominal de λ , suponga que la ecuación nominal de estado denotada por la ecuación (2.71), tiene una solución única $x(t, \lambda_0)$ sobre $[t_0, t_1]$. Ahora bien, toda λ suficientemente cerca de λ_0 , es decir, $|\lambda - \lambda_0|$, suficientemente pequeño, la ecuación de estado (2.71), tiene una única solución $x(t, \lambda)$ sobre $[t_0, t_1]$ que es cercana a la solución nominal $x(t, \lambda_0)$ [198].

$$\dot{x} = f(t, x, \lambda) \quad \text{con} \quad x(t_0) = x_0 \quad (2.71)$$

La continua diferenciabilidad de f con respecto a x y λ implica que la propiedad adicional que la solución $x(t, \lambda)$ es diferenciable con respecto a λ cerca de λ_0 , como se puede observar en la ecuación (2.73) [198].

$$x(t, \lambda) = x_0 + \int_{t_0}^t f(s, x(s, \lambda), \lambda) ds \quad (2.72)$$

Se toman las derivadas parciales con respecto a λ resulta que:

$$x_\lambda(t, \lambda) = \int_{t_0}^t \left[\frac{\partial f}{\partial x}(s, x(s, \lambda), \lambda) x_\lambda(s, \lambda) + \frac{\partial f}{\partial \lambda}(s, x(s, \lambda), \lambda) \right] ds \quad (2.73)$$

En donde $x_\lambda = \left[\frac{\partial x(t, \lambda)}{\partial \lambda} \right]$ y $\left[\frac{\partial x_0}{\partial \lambda} = 0 \right]$, desde que x_0 es independiente de λ . Diferenciando con respecto a t , se puede observar que $x_\lambda(t, \lambda)$ satisface la ecuación diferencial, con condición inicial $x_\lambda(t_0, \lambda) = 0$, [198].

$$\frac{\partial}{\partial t}x_\lambda(t, \lambda) = A(t, \lambda)x_\lambda(t, \lambda) + B(t, \lambda) \quad (2.74)$$

En donde:

$$A(t, \lambda) = \left. \frac{\partial f(t, x, \lambda)}{\partial x} \right|_{x=x(t, \lambda)} \quad (2.75)$$

y

$$B(t, \lambda) = \left. \frac{\partial f(t, x, \lambda)}{\partial \lambda} \right|_{x=x(t, \lambda)} \quad (2.76)$$

Para λ lo suficiente cerca de λ_0 , las matrices $A(t, \lambda)$ y $B(t, \lambda)$ están definidas sobre $[t_0, t_1]$. Entonces, $x_\lambda(t, \lambda)$ está definida sobre el mismo intervalo. en $\lambda = \lambda_0$, el lado derecho de la ecuación (2.74) depende solo de la solución nominal $x(t, \lambda_0)$ [198].

Las expresiones de las matrices Jacobianas correspondientes se pueden representar de la siguiente manera [180, 186]:

$$\mathbb{J}_{A_i, j} = \frac{\partial f_i(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial x_j} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial x_1} & \dots & \frac{\partial f_1(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial x_n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_m(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial x_1} & \dots & \frac{\partial f_m(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial x_n} \end{bmatrix}$$

$$\mathbb{J}_{B_i, j} = \frac{\partial f_i(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial \lambda_j} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial \lambda_1} & \dots & \frac{\partial f_1(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial \lambda_n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_m(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial \lambda_1} & \dots & \frac{\partial f_m(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial \lambda_n} \end{bmatrix}$$

Sea $S(t) = x_\lambda(t, \lambda_0)$; entonces $S(t)$ es la única solución de la ecuación (2.77), con condición inicial $S(t_0) = 0$.

$$\dot{S}(t) = A(t, \lambda_0)S(t) + B(t, \lambda_0) \quad (2.77)$$

La función $S(t)$ es conocida como la función de la sensibilidad y la ecuación (2.77) como la ecuación de sensibilidad . Las funciones de sensibilidad proveen estimaciones de primer orden de los efectos de variaciones de los parámetros en las soluciones.

Metodología

3.1. ORGANIZACIÓN METODOLÓGICA

En esta sección, se presenta la metodología utilizada en el presente trabajo de tesis. Los pasos secuenciales se basan en el planteamiento de un modelo de crecimiento de microalgas en sistemas de cultivos de microalgas. En particular, se utilizó el modelo de Droop [7] como modelo de crecimiento seleccionado. A continuación, se describen los diferentes análisis realizados en este trabajo. En la Figura 3.1, se muestra el diagrama de flujo de la metodología utilizada para llevar a cabo el análisis de estabilidad. Por otro lado, en la Figura 3.2, se describe la metodología empleada para realizar los análisis de sensibilidad. Asimismo, en la Figura 3.3, se presenta la metodología utilizada para llevar a cabo las simulaciones numéricas correspondientes al análisis dinámico. Además, en la Figura 3.4, se describe la metodología utilizada para extender consistentemente el efecto de la luz y la producción de

carbohidratos en el modelo de Droop. Por último, en la Figura 3.5, se muestra la metodología utilizada para llevar a cabo el análisis del equilibrio y la productividad.

3.2. SELECCIÓN DEL MODELO

Después de llevar a cabo una exhaustiva revisión del estado del arte, se seleccionó el modelo de Droop [7] para el presente estudio. Este modelo matemático describe de manera no lineal el comportamiento de sistemas de cultivo de microalgas en un fotobiorreactor en modo de operación continua o por lotes, mediante un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias. A pesar de su no linealidad, el modelo mantiene una estructura robusta y ha sido ampliamente validado experimentalmente debido a su accesible manipulación.

Una ventaja adicional del modelo de Droop es que divide el nutriente (N) en componentes internos y externos, lo que permite una descripción cinética más realista del consumo de nutrientes. El crecimiento de las microalgas depende significativamente del almacenamiento de nitrógeno intracelular y, a su vez, el modelo permite incorporar el efecto de la intensidad de la luz en sus ecuaciones. La literatura también ha estudiado la fotoaclimatación y la dinámica del flujo de carbono intracelular, incluyendo lípidos, carbono funcional y carbohidratos. Por lo tanto, el modelo de Droop se consideró adecuado para el análisis dinámico de la producción de carbohidratos en este estudio.

3.3. SOLUCIÓN NUMÉRICA

La herramienta wxMaxima 19.05.7 se utilizó para manipular expresiones simbólicas y numéricas con el fin de resolver el sistema de ecuaciones del modelo de Droop en su forma más sencilla, que consta de solo tres variables de estado, en su estado estacionario. Para resolver el sistema de ecuaciones del

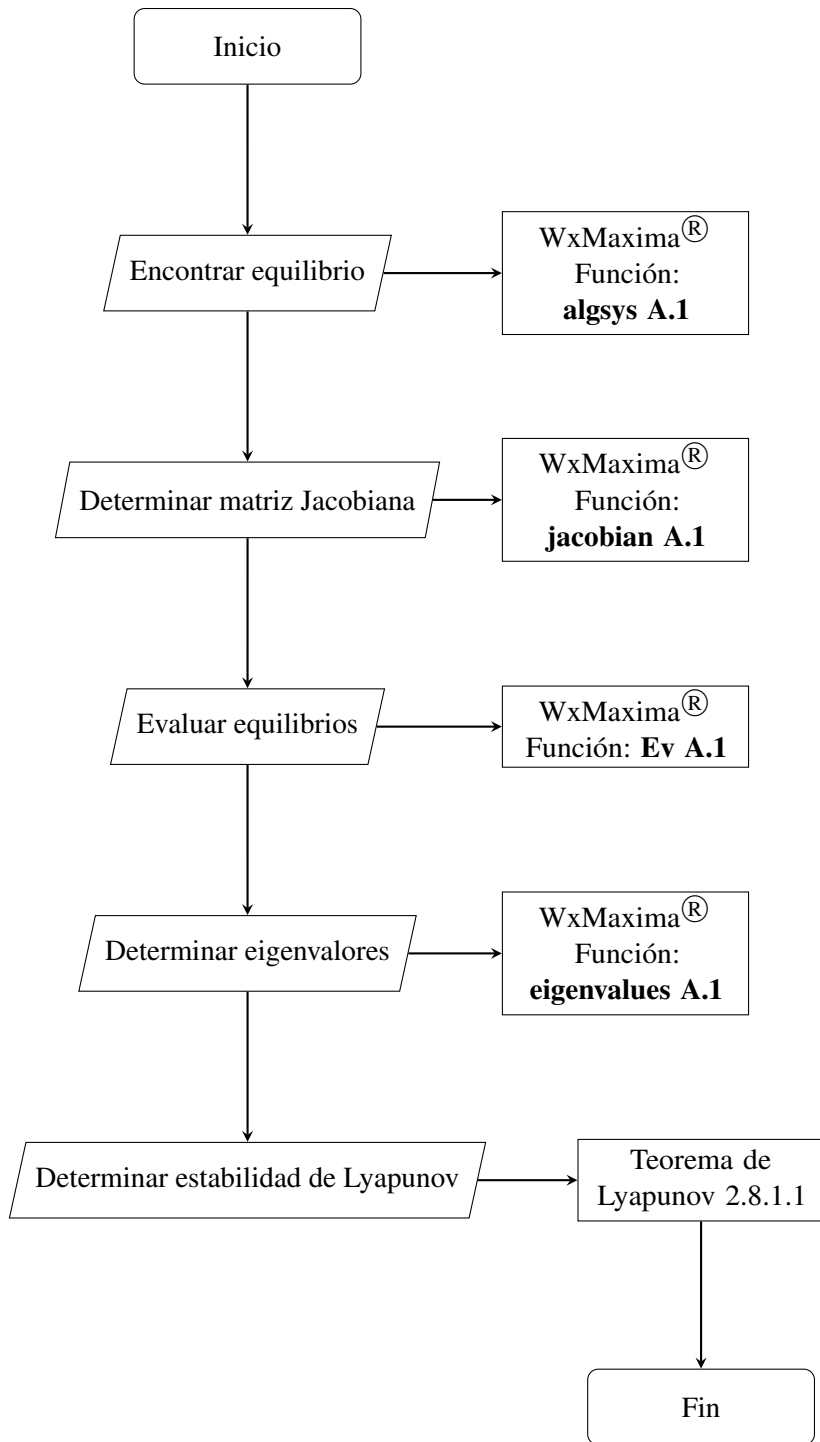


Figura 3.1: Diagrama de flujo de la metodología empleada para realizar el análisis de estabilidad del modelo de Droop para sistemas de cultivo de microalgas en modo de operación por lotes por el método de Lyapunov

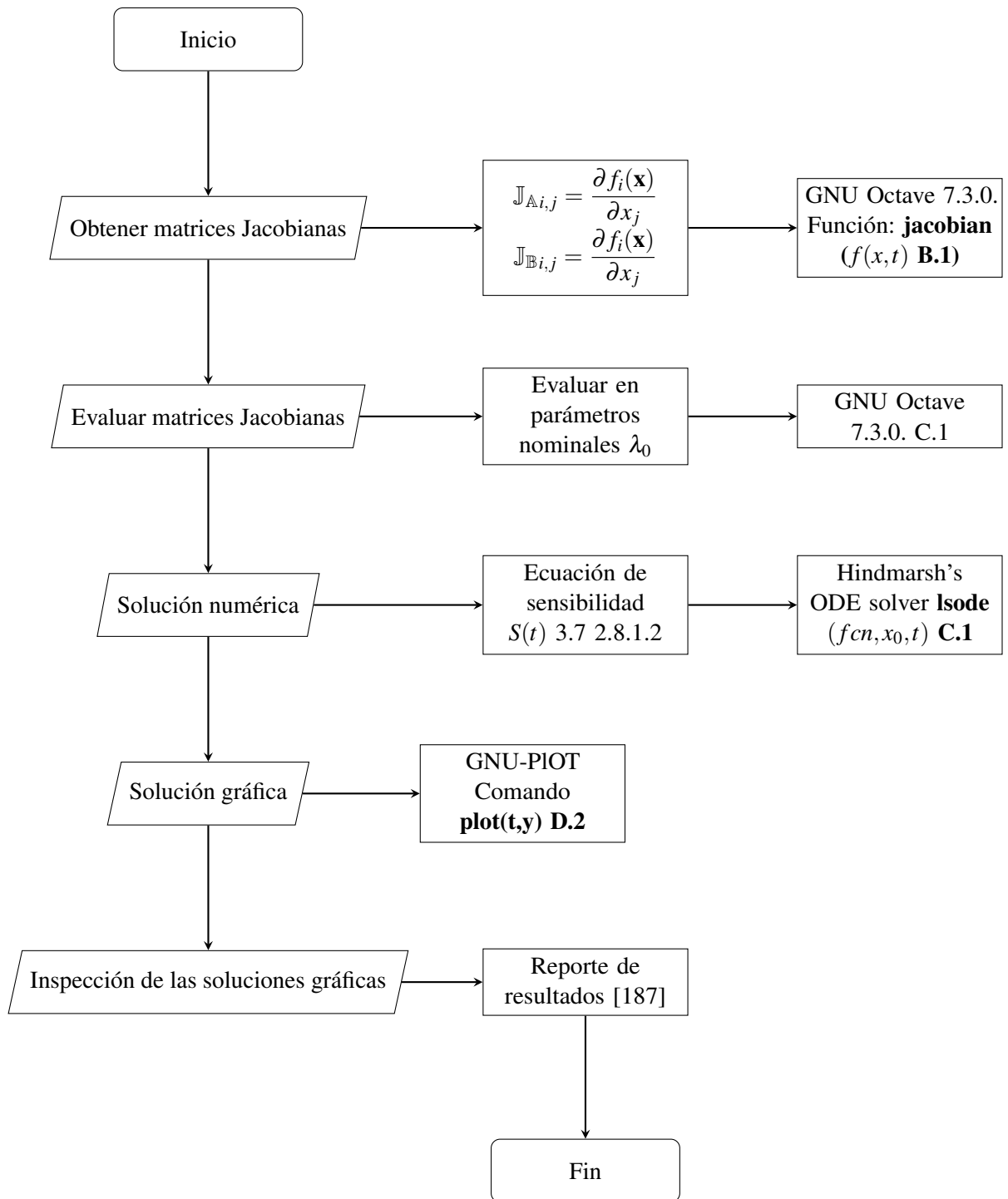


Figura 3.2: Diagrama de flujo de la metodología empleada para realizar el análisis de sensibilidad

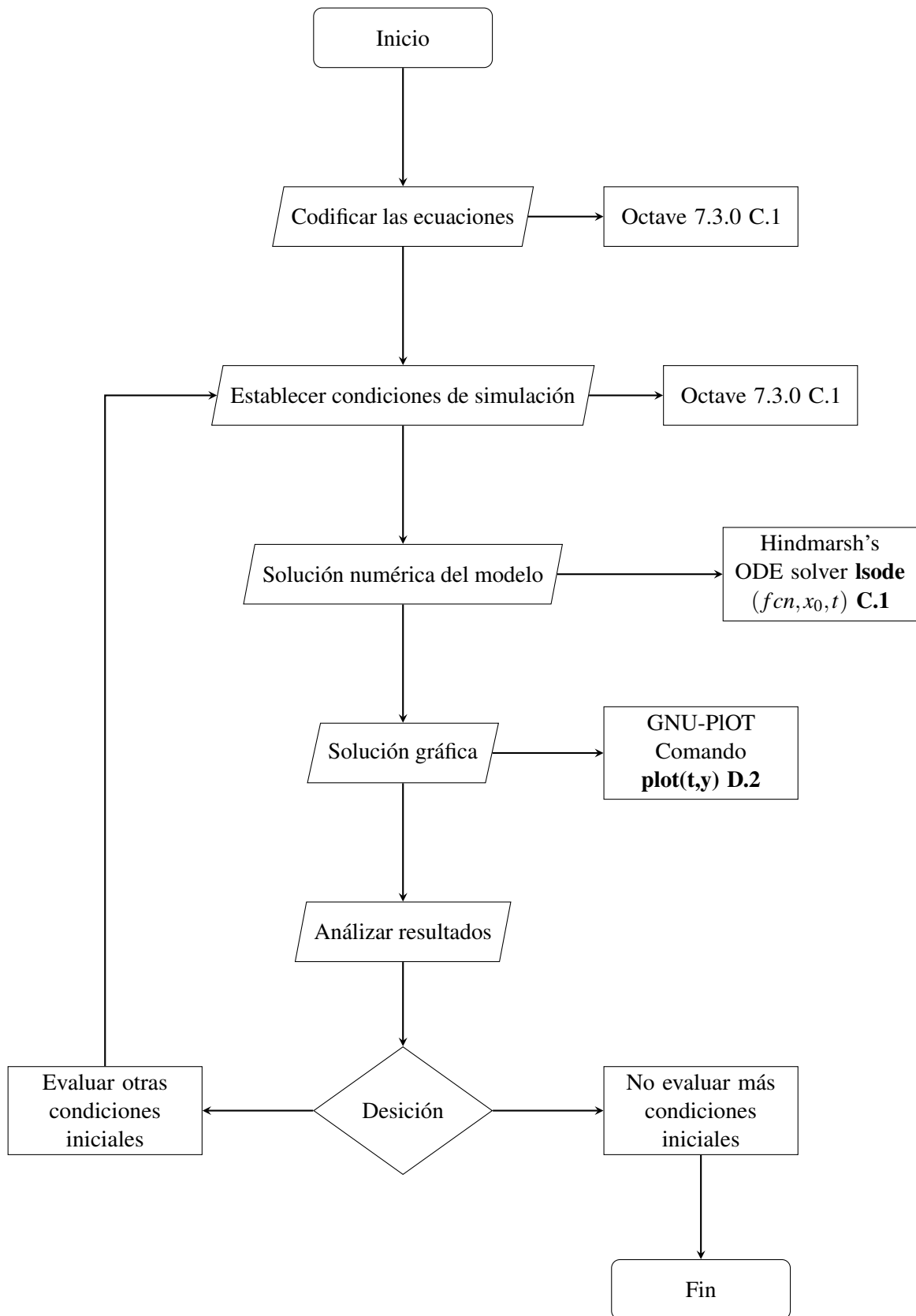


Figura 3.3: Diagrama de flujo de la metodología empleada para realizar las simulaciones y análisis dinámico del modelo de Droop en modo de operación por lotes y continuo.

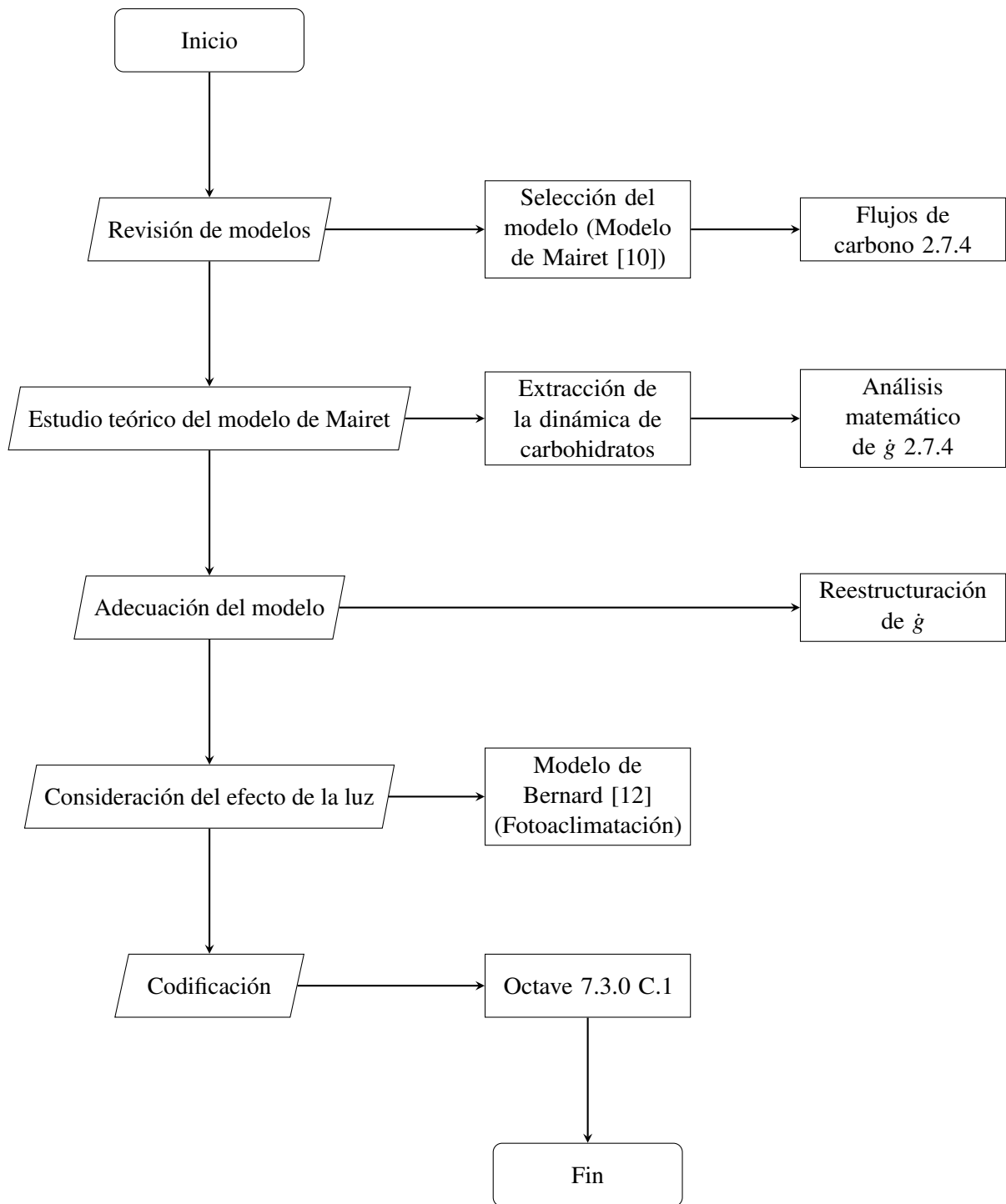


Figura 3.4: Diagrama de flujo de la metodología empleada para realizar la extensión consistente del modelo para considerar el efecto de la luz y la dinámica de producción de carbohidratos en el modelo de Droop

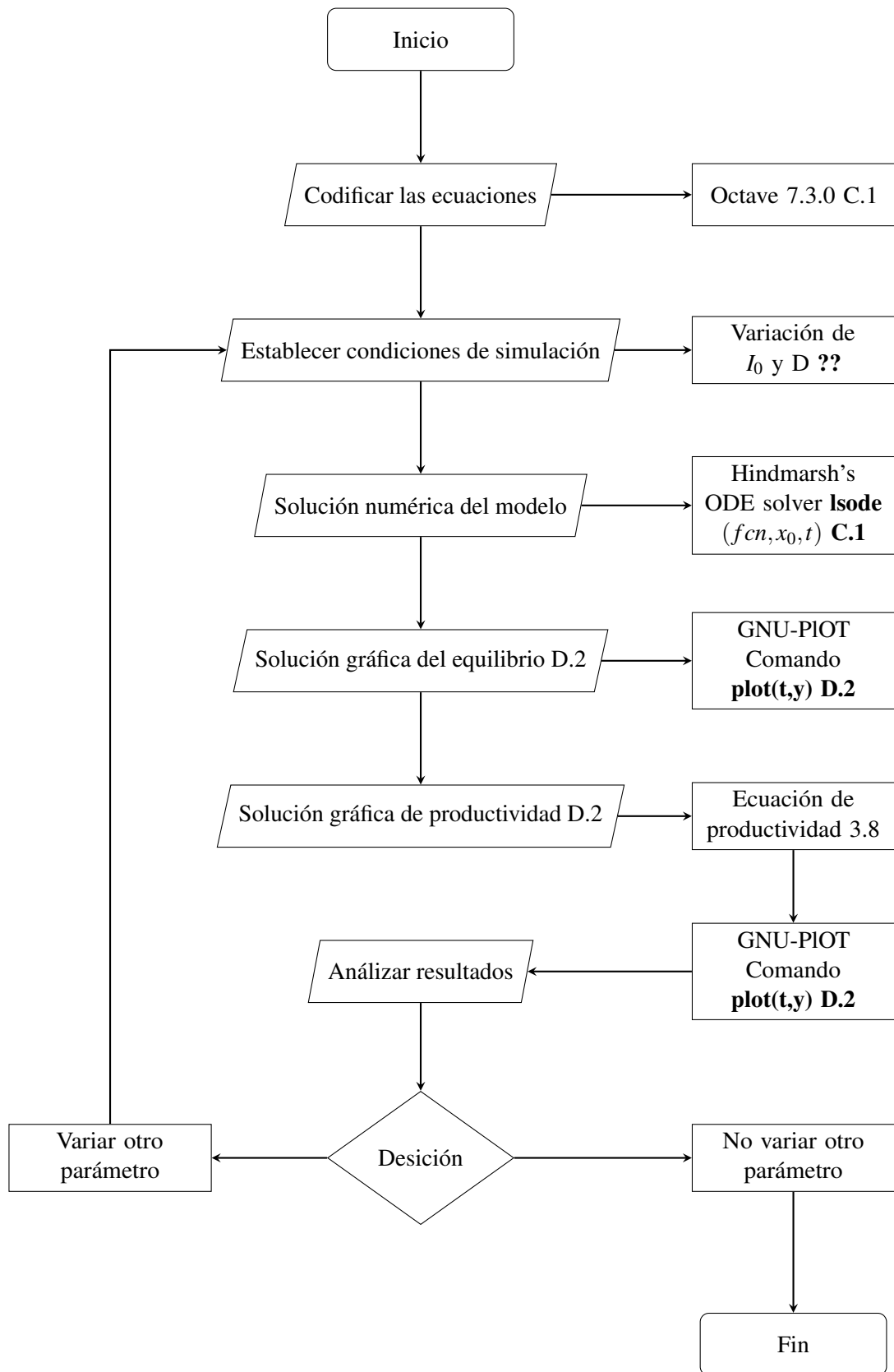


Figura 3.5: Diagrama de flujo de la metodología empleada para realizar el análisis del equilibrio y productividad de biomasa y carbohidratos con respecto a variaciones en el parámetro de la velocidad de dilución e intensidad de la luz por medio de simulaciones del modelo de Droop⁸⁵

modelo de Droop extendido con los efectos de la luz, fotoaclimatación y cuota de carbohidratos, se requirió el uso de la plataforma GNU Octave 7.3.0, un lenguaje de alto nivel diseñado principalmente para cálculos numéricos. Octave proporcionó una interfaz de línea de comandos conveniente para resolver numéricamente las ecuaciones diferenciales no lineales del modelo de Droop. Los listados A.1, B.1, C.1, D.1 y A.1 que se muestran en la sección de anexos, describen los códigos y paquetes utilizados en el desarrollo de este trabajo.

3.4. PARÁMETROS DE ENTRADA

Para llevar a cabo las simulaciones dinámicas del modelo de Droop en un sistema de cultivo por lotes de la cepa *D. tertiolecta* y corroborar los resultados del análisis de estabilidad, se utilizaron los valores de los parámetros obtenidos de la literatura, los cuales se muestran en la tabla 3.1.

Tabla 3.1: *Parámetros de la simulación del modelo de Droop de un sistema de cultivo operado por lotes de la cepa D. tertiolecta, datos obtenidos de la literatura en [124]*

Parámetro	Valor	Unidad
ρ_m	0.0901	$gN(gC)^{-1}d^{-1}$
μ_m	1.9054	d^{-1}
z_{C0}	0.0350	$gN(gC)^{-1}$
k_y	1.7499	$gN(m)^3$

La tabla 3.2 presenta los valores de los parámetros utilizados en las simulaciones dinámicas del modelo de Droop, para estudiar la evolución de las variables de estado x , y , z , I^* y q_g en respuesta a la variación del parámetro de intensidad de luz (I_0), en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*. Los parámetros cinéticos empleados en la simulación se obtuvieron de identificaciones experimentales para la cepa *Isochrysis galbana* en la literatura [12, 199]. Todos los parámetros se mantuvieron constantes, excepto los parámetros de intensidad de luz I_0 y velocidad de dilución D , los cuales se variaron, como se describe en la sección que aborda el análisis del equilibrio 3.8, para obtener información acerca del comportamiento en equilibrio de la producción de biomasa y carbohidratos.

Tabla 3.2: Parámetros de la simulación del modelo de Droop de un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*. Datos obtenidos de la literatura en [199]

Parámetro	Valor	Unidad
$\tilde{\mu}$	1.7	d^{-1}
k_y	0.0012	$gN(m)^3$
z_{C0}	0.05	$gN(gC)^{-1}$
z_{Cm}	0.25	$gN(gC)^{-1}$
ρ_m	0.073	$gN(gC)^{-1}d^{-1}$
k_{SI}^*	1.4	$\mu mol m^{-2} s^{-1}$
k_{iI}	295	$\mu mol m^{-2} s^{-1}$
R	0.0081	d^{-1}
γ_{max}	0.57	$gChl(gN)^{-1}$
k_I^*	63	$\mu mol m^{-2} s^{-1}$
a	16.2	$m^2(gChl)^{-1}$
b	0.087	$m^2(gChl)^{-1}$
c	0	m^{-1}
K_g	10.6	—
α	2.6	$gC(gN)^{-1}$
β	4.8	$gC(gN)^{-1}$

3.5. ESCENARIOS DE SIMULACIÓN

La tabla 3.3 presenta los diferentes escenarios de simulación que se llevaron a cabo durante el análisis dinámico del modelo de Droop en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*. La simulación dinámica se llevó a cabo considerando un sistema de cultivo en condiciones de iluminación continua. Cada escenario de simulación se identificó con una letra (A, B, C, D y E), que corresponde a diferentes intensidades de luz (50, 150, 250, 500 y 750 $\mu mol m^{-2} s^{-1}$, respectivamente). Las simulaciones se realizaron con el fin de observar los efectos de la intensidad de la luz en la evolución dinámica de las variables de estado del modelo.

Tabla 3.3: Escenarios de simulación con diferentes condiciones de intensidad de luz usados en las simulaciones de un sistema de cultivo continuo de microalgas de la cepa *Isochrysis galbana*.

Escenarios	Intensidad de luz (I_0)
A	50
B	150
C	250
D	500
E	750

Se considera un fotobiorreactor continuo de tanque agitado con iluminación constante paralela a la superficie. Se asume que las concentraciones son homogéneas y, por lo tanto, solo la luz tiene una distribución espacial. Para representar la fotoinhibición, se utiliza la función exponencial basada en la Ley de Beer-Lambert para describir la distribución de la irradiancia dentro del cultivo. La intensidad de la luz incidente en la superficie se representa por I_0 . A medida que la luz se desplaza hacia una profundidad w dentro del fotobiorreactor, es decir, $I_{(w)}$, se asume que las células comienzan a adaptarse a las condiciones de iluminación. Esto se puede representar, como se explicó en capítulos anteriores, mediante I^* . La figura (3.6) muestra una representación esquemática de la distribución de luz propuesta para este trabajo de simulación.

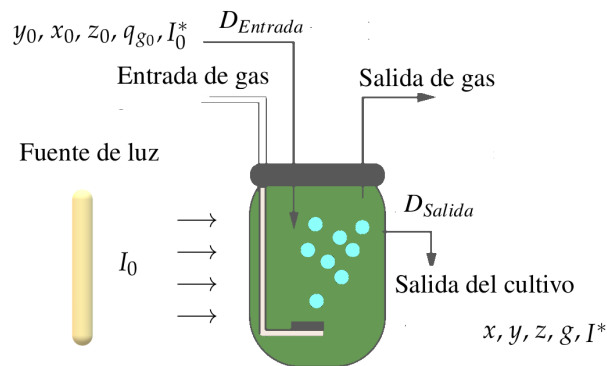


Figura 3.6: Representación esquemática de la distribución de la intensidad de luz dentro de un fotobiorreactor continuo de tanque agitado con iluminación constante paralela a la superficie. La intensidad de luz incidente es señalada como I_0 y la intensidad de luz a una profundidad w , se representa como $I_{(w)}$.

3.6. CONDICIONES INICIALES

La tabla 3.4 presenta los valores de las condiciones iniciales de las variables de estado utilizadas en las simulaciones del modelo de Droop en un sistema de cultivo por lotes de la cepa *D. tertiolecta*. En este experimento, se llevaron a cabo simulaciones en dos condiciones iniciales diferentes, denominadas C_1 y C_2 , con el objetivo de observar los estados estacionarios alcanzados y verificar visualmente los resultados obtenidos en el análisis de estabilidad.

Tabla 3.4: Condiciones iniciales de la simulación del modelo de Droop de un sistema de cultivo por lotes de la cepa *D. tertiolecta*.

Condiciones iniciales	x_0	y_0	z_0
Unidades	$mgCm^{-3}$	$mgNm^{-3}$	$mgCmgC$
C_1	91.483	14.5148	0.0347
C_2	192.332	17.03	0.0303

La tabla 3.5 presenta los valores de las condiciones iniciales de las variables de estado para las simulaciones del modelo de Droop en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*. El propósito del experimento fue simular el modelo en las condiciones C_1 , C_2 y C_3 con el fin de corroborar la consistencia de los resultados obtenidos en el análisis de sensibilidad.

Tabla 3.5: Condiciones iniciales de la simulación de las funciones de sensibilidad obtenidas para el modelo de Droop de un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*.

Condiciones iniciales	x_0	y_0	z_0	I_0^*	q_g	I_0	D	Tiempo
Unidades	gCm^{-3}	gNm^{-3}	$gN(gC)^{-1}$	$\mu molm^{-2}s^{-1}$	$gC(gC)^{-1}$	$\mu molm^{-2}s^{-1}$	d^{-1}	d
C_1	10.1	33.2	0.055	50	0.3	350	0.2625	60
C_2	30.7	41.3	0.055	50	0.3	350	0.2625	60
C_2	225	49.9	0.055	50	0.3	350	0.2625	60

3.7. ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD

Para llevar a cabo el análisis de sensibilidad de las variables de estado a las variaciones de los parámetros, se siguió el método descrito en la sección (2.8.1.2) y que constó de los siguientes pasos: [198].

1. Resolver la ecuación de estado nominal para obtener las soluciones nominales $x(t, \lambda_0)$.
2. Evaluar las matrices Jacobianas $A(t, \lambda_0)$ y $B(t, \lambda_0)$, ecuaciones 2.75 y 2.76, respectivamente.
3. Resolver la ecuación de sensibilidad, ecuación de sensibilidad (2.77).

3.8. EQUILIBRIO Y PRODUCTIVIDAD

Las ecuaciones (3.1–3.2) describen el cálculo de los diagramas de equilibrio y productividad de biomasa (x) y carbohidratos (g) correspondientes a las simulaciones de la variación de los parámetros de intensidad de luz y velocidad de dilución, durante un tiempo de simulación de 100 días. La productividad de biomasa y carbohidratos se calculó mediante las siguientes ecuaciones (3.1) y (3.1), respectivamente:

$$P_C = \bar{x}\vec{D} \quad (3.1)$$

$$P_g = \bar{x}\vec{q}_g\vec{D} \quad (3.2)$$

La curva de productividad de biomasa se denota por P_C , y la de productividad de carbohidratos por P_g . El vector \bar{x} representa las soluciones de la biomasa en estado estacionario, mientras que el vector \vec{D} incluye un rango de valores de velocidad de dilución de 0.02 a 0.5 con incrementos de 0.02 unidades. Para la intensidad de luz, se consideró un rango de variación entre 50 y 1000 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ con incrementos de 25 unidades. El vector \vec{q}_g representa las soluciones de la cuota de carbohidratos en estado estacionario obtenidas a partir de las simulaciones del sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*.

Análisis y discusión de Resultados

4.1. ANÁLISIS MATEMÁTICO DEL MODELO DE DROOP

Modelo Cinético de Droop para procesos de cultivo de microalgas por lotes.

Las ecuaciones diferenciales no lineales del modelo de Droop están dadas por las siguientes ecuaciones:(4.1)–(4.1) las cuales involucran tres variables de estado: la concentración de biomasa x , la concentración de nutrientes y y la cuota intracelular z .

$$\begin{aligned}\dot{x} &= \mu(z)x \\ \dot{y} &= -\rho(y)x \\ \dot{z} &= \rho(y) - \mu(z)z\end{aligned}\tag{4.1}$$

La tasa de absorción $\rho(y)$, está definida por la descripción de Monod, donde k_y es la constante de saturación media y ρ_m es la tasa máxima de absorción de nutriente inorgánico, Ecuación (4.2).

$$\rho(y) = \rho_m \frac{y}{y + k_y} \quad (4.2)$$

La tasa específica de crecimiento $\mu(z)$ se define como una función de la cuota intracelular z , μ_m es la tasa máxima de crecimiento, y zc_0 es la cuota mínima celular o cuota minima requerida por el organismo antes de que este pueda proceder a crecer, Ecuación (4.3).

$$\mu(z) = \mu_m \left(1 - \frac{zc_0}{z} \right) \quad (4.3)$$

4.1.1. Análisis de estabilidad y del equilibrio del modelo de Droop en operación por lotes.

Se encontraron dos puntos fijos en el estado estacionario del modelo considerado. Los puntos fijos representan tanto la extinción o sobrevivencia a largo plazo para los organismos dentro del sistema de cultivo en modo de operación por lotes. Los cuales están dados por:

$$\bar{v}_1 = (c_1, 0, zc_0) \quad (4.4)$$

y

$$\bar{v}_2 = \left(0, -\frac{c_2 k_y \mu_m}{-zc_0 \mu_m + c_2 \mu_m - \rho_m}, c_2 \right) \quad (4.5)$$

En orden de determinar la estabilidad de los puntos fijos \bar{v}_1 y \bar{v}_2 la matriz jacobiana de derivadas parciales del sistema considerado es:

$$Df = \begin{pmatrix} \mu(z) & 0 & \frac{zc_0\mu_m x}{z^2} \\ -\rho(y) & \frac{\rho(y)x}{(y+k_y)} - \frac{\rho_m x}{y+k_y} & 0 \\ 0 & \frac{\rho_m}{y+k_y} - \frac{\rho(y)}{(y+k_y)} & -\mu(z) - \frac{zc_0\mu_m}{z} \end{pmatrix} \quad (4.6)$$

Evaluando Df en $\bar{v}_1 = (c_1, 0, zc_0)$, resulta:

$$Df_{(\bar{v}_1)} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & \frac{c_1\mu_m}{zc_0} \\ 0 & \frac{c_1\rho_m}{k_s} & 0 \\ 0 & -\frac{\rho_m}{k_s} & -\mu_m \end{pmatrix} \quad (4.7)$$

Evaluando Df en \bar{v}_2 :

$$Df_{(\bar{v}_2)} = [\vec{A} \mid \vec{B} \mid \vec{C}] \quad (4.8)$$

donde:

$$\vec{A} = \begin{bmatrix} \left(1 - \frac{zc_0}{c_2}\right) \mu_m \\ \frac{c_2 k_y^2 \rho_m \mu_m^2 - zc_0}{(c_2 \mu_m \rho_m - zc_0 \mu_m) \left(k_y - \frac{c_2 k_y^2 \mu_m^2 - zc_0}{c_2 \mu_m - \rho_m - zc_0 \mu_m}\right)} \\ 0 \end{bmatrix} \quad (4.9)$$

$$\vec{B} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ \frac{\rho_m}{k_y - \frac{c_2 k_y^2 \mu_m^2 - zc_0}{c_2 \mu_m - \rho_m - zc_0 \mu_m}} + \frac{c_2 k_y^2 \rho_m \mu_m^2 - zc_0}{(c_2 \mu_m \rho_m - zc_0 \mu_m) \left(k_y - \frac{c_2 k_y^2 \mu_m^2 - zc_0}{c_2 \mu_m - \rho_m - zc_0 \mu_m}\right)^2} \end{bmatrix} \quad (4.10)$$

$$\vec{C} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ \left(1 - \frac{zc_0}{c_2}\right) \mu_m - \frac{zc_0 \mu_m}{c_2} \end{bmatrix} \quad (4.11)$$

Los eigenvalores obtenidos $Df(\bar{v}_1)$ y $Df(\bar{v}_2)$ son dados por las Ecuaciones (4.12) y (4.13):

$$Df(\bar{v}_1) = \left(-\frac{c_1 \rho_m}{k_y}, -\mu_m, 0 \right) \quad (4.12)$$

$$Df(\bar{v}_2) = \left(-\frac{(zc_0 - c_2)\mu_m}{c_2}, -\mu_m, 0 \right) \quad (4.13)$$

Como se puede ver, ambos eigenvalores tienen partes reales no positivas y hay al menos un eigenvalor con parte real cero, así que, no es suficiente determinar los eigenvalores $Df(\bar{v}_1)$ y $Df(\bar{v}_2)$. Habiendo dicho lo anterior fue necesario examinar el modelo como sigue: Primero, es importante demarcar el significado físico de los equilibrios encontrados. en el caso del punto fijo $\bar{v}_1 = (c_1, 0, zc_0)$, se puede notar desde un sentido físico la existencia de biomasa $x = c_1$ dentro del sistema de crecimiento de microalgas cuando el suministro de nutrientes externos está completamente consumido $y = 0$ y entonces la cuota intracelular z alcanza una cantidad mínima zc_0 , ver Figura 4.1. Por otro lado, el punto fijo $\bar{v}_2 = \left(0, -\frac{c_2 k_y \mu_m}{-zc_0 \mu_m + c_2 \mu_m - \rho_m}, c_2 \right)$ desde un sentido físico significa la ausencia de biomasa en el sistema. Con esto en mente, comencemos con el análisis de la estabilidad de los puntos fijos.

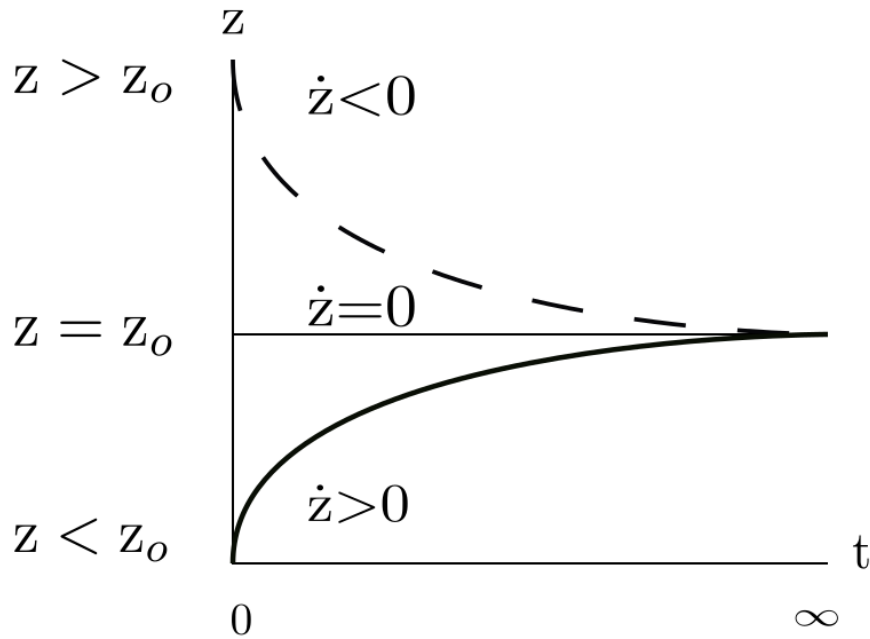


Figura 4.1: . Diagrama que muestra el comportamiento de la cuota intracelular z en el tiempo bajo tres condiciones de la variable de estado. De acuerdo a la definición de z_{c0} , z debe ser más grande que z_{c0} para tener sentido biológico. Note que cuando $z > z_{c0}$, \dot{z} es negativa, durante ese tiempo z decrece y para $z < z_{c0}$, \dot{z} es positiva, lo cual implica que la mínima concentración de nutriente limitante por célula requerida antes de dar paso al crecimiento de biomasa está tratando de ser alcanzada. Así que durante ese tiempo, no hay crecimiento de biomasa hasta que $z = z_{c0}$ sea alcanzada. En otras palabras, cuando $z = z_{c0}$, evidentemente existe producción de biomasa. Además, note que el $\lim_{y \rightarrow \infty} = 0$ en \bar{v}_1 , así que ρ_m lo que implica que $\lim_{z \rightarrow \infty} = z_{c0}$ para todo $t > 0$, en cultivo por lotes.

4.1.2. Análisis de estabilidad del equilibrio de producción de biomasa a largo plazo.

Para el equilibrio \bar{v}_1 se puede observar que la parte real $-\frac{c_1 \rho_m}{k_y}$ del eigenvalor $Df(\bar{v}_1)$ involucra los valores de los parámetros de la tasa de absorción, constante de saturación media y la biomasa, $x = c_1$, y , lógicamente los sistemas de crecimiento de microalgas no admiten valores negativos para estos valores, así que la parte real del eigenvalor $Df(\bar{v}_1)$ siempre permanece negativo. Lo mismo se puede decir de la parte real $-\rho_m$ de $Df(\bar{v}_1)$ la cual es la máxima tasa de absorción, y también este no admite valores negativos desde un punto de vista físico. Note también, que el valor de $x = c_1$, donde c_1 es una constante indefinida, lo que implica que la biomasa pueda tomar infinitos posibles conjuntos de valores en el

estado estacionario (conjunto Ω), entonces el sistema no tiene únicamente un equilibrio, sino más bien, una recta de puntos fijos. En otras palabras, el sistema considerado puede tener un infinito número de posibles puntos fijos aislados. Este equilibrio depende solamente de las condiciones iniciales y es importante resaltar que el valor de \bar{v}_1 solamente incluye el parámetro z_{c0} para el valor de z en el estado estacionario, lo que significa que cambios en este parámetro puede resultar en cambios en el punto fijo \bar{v}_1 del sistema, particularmente de interés, en la cantidad de biomasa, ver Figura 4.2.

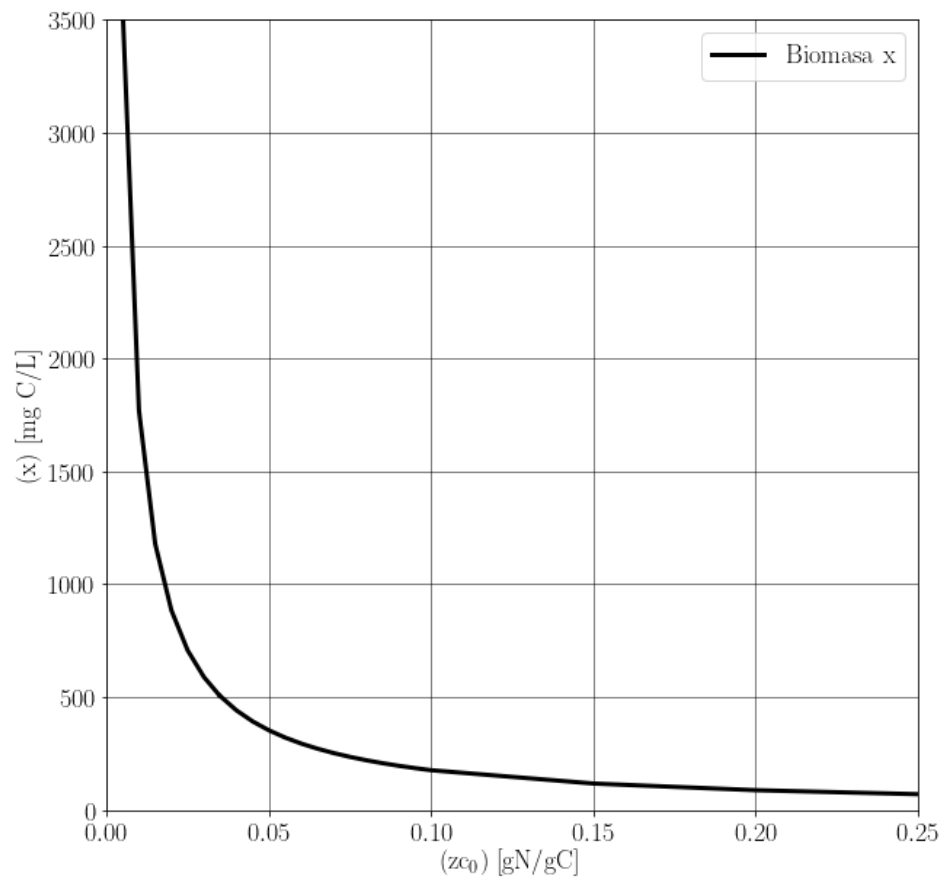


Figura 4.2: . Diagrama de bifurcaciones de la variable de estado x vs el parámetro z_{c0} . El eje horizontal de esta figura muestra valores del parámetro de la mínima cuota celular z_{c0} , y el eje vertical muestra valores de biomasa x . Para cada valor de z_{c0} , el diagrama muestra los correspondientes puntos fijos. La tabla (3.1) muestra los parámetros usados en la simulación. La simulación y el gráfico se desarrollaron en Octave 5.1.0.0 y Python 3.7.1

A menor valor de la mínima cuota celular, se tiene mayor tasa de crecimiento de biomasa. Los parámetros y condiciones iniciales fueron tomados de [124].

En orden de representar la estabilidad del punto fijo \bar{v}_1 , se utilizó un diagrama de bifurcaciones, como se muestra en la Figura 4.3.

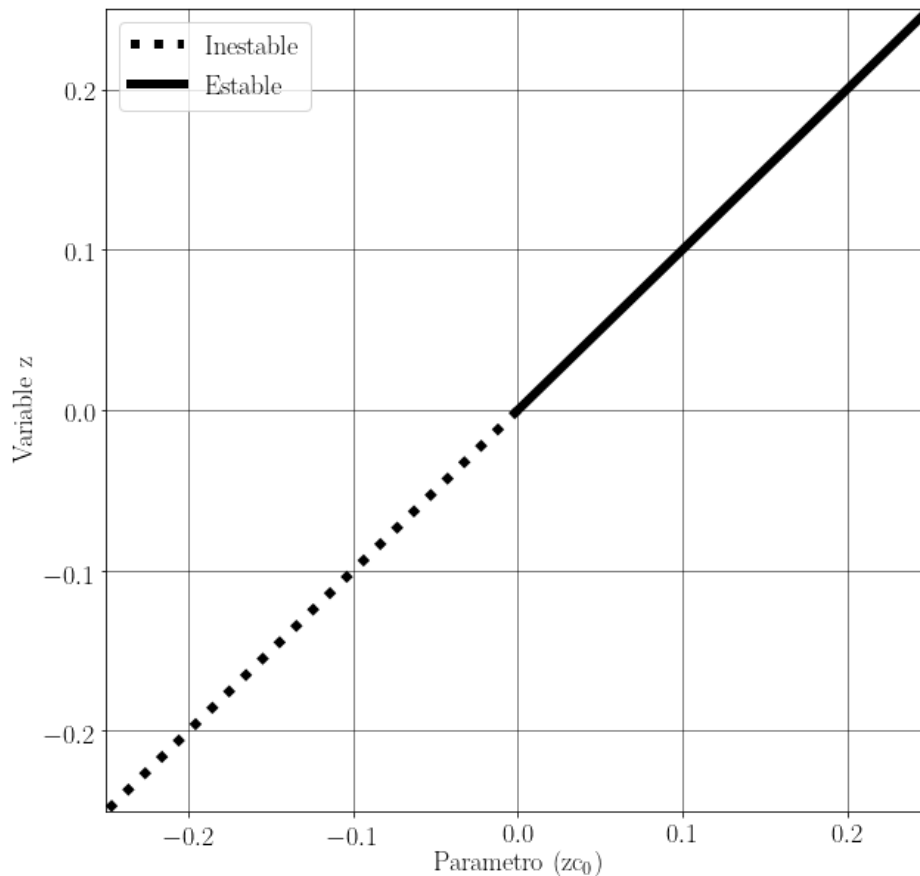


Figura 4.3: . Diagrama de bifurcaciones de la variable de estado z vs el parámetro z_{c_0} . El eje horizontal de la figura 4.3 muestra valores del parámetro de la cuota mínima celular z_{c_0} , y el eje vertical muestra valores de z . Para cada valor de z_{c_0} , el diagrama muestra los correspondientes puntos de equilibrio. La línea sólida representa equilibrios estables, mientras que la línea punteada representa los inestables. Gráfico preparado por los autores en Python 3.7.1.

Esta bifurcación transcítica muestra que en el estado estacionario \bar{v}_1 es estable para valores del parámetro $z_{c_0} > 0$ e inestable para valores $z_{c_0} < 0$. Los conjuntos Ω colisionan e intercambian estabilidad en $z=0$. La estabilidad del equilibrio \bar{v}_1 depende del valor del parámetro de la mínima cuota celular en condiciones iniciales dadas. Dicho lo anterior, \bar{v}_1 es estable, pero no asintóticamente estable porque los valores de los parámetros $z_{c_0} < 0$ no tienen sentido biológico.

4.1.3. Análisis de estabilidad del equilibrio de extinción de biomasa

Para el equilibrio de \bar{v}_2 , es posible observar que la parte real $-\frac{(zc_0 - c_2)\mu_m}{c_2}$ del eigenvalor $Df_{\bar{v}_2}$, donde, $c_2 = z$ en el estado estacionario y para $z > zc_0$, el signo de $-\frac{(zc_0 - c_2)\mu_m}{c_2}$ permanece positivo, así que, el equilibrio \bar{v}_2 es inestable. En otras palabras, si $z < zc_0$ el equilibrio \bar{v}_2 es estable, ver Figura 4.1. Esta última condición no tiene significado físico para el crecimiento de microalgas porque si \bar{v}_2 fuera estable, significaría que el crecimiento de microalgas siempre tendería a la extinción de biomasa lo cual no ocurre, más bien, los cultivos de microalgas tienden a crecer para valores iniciales de biomasa $x_o \neq 0$.

4.1.4. Prueba de estabilidad de \bar{v}_1 por reducción a un sistema bidimensional

En orden de explorar otra alternativa para probar la estabilidad de \bar{v}_1 , las ecuaciones del sistema (4.1), (4.1) y (4.1) pueden ser fácilmente reducidas a un sistema bidimensional como sigue:

Resolviendo las expresiones $\frac{\dot{x}}{x}$ y $\frac{\dot{y}}{y}$, de las ecuaciones (4.1) y (4.1), respectivamente, resulta:

$$\frac{\dot{x}}{x} = \mu_m \left(1 - \frac{zc_0}{z} \right) \quad (4.14)$$

$$\frac{\dot{y}}{y} = -\rho_m \frac{y}{y + k_y} \quad (4.15)$$

Tales expresiones son entonces sustituidas en la ecuación (4.1), como sigue:

$$\dot{z} = \frac{-\dot{y} - \dot{x}z}{x} \quad (4.16)$$

Entonces, el término $-\dot{y}$ puede ser resuelto de la ecuación (4.16), resultando:

$$-\dot{y} = \dot{x}z + x\dot{z} \quad (4.17)$$

Integrando ambos lados de la ecuación (4.17), la concentración de nutriente y , es obtenida:

$$-\int \dot{y} = \int (\dot{x}z + x\dot{z}) \quad (4.18)$$

$$\alpha - y = xz \quad (4.19)$$

Finalmente, el valor de la concentración de nutriente y es dado por la ecuación (4.20):

$$y = \alpha - xz \quad (4.20)$$

Por lo tanto, y no es independiente ni de x o z . Mientras $\alpha = x(t)y(t) + z(t)$ para todo $t \geq 0$, con α definido como $\alpha = x_0y_0 + z_0$, donde x_0 , y_0 y z_0 son condiciones iniciales.

Substituyendo y de la ecuación (4.20) en las ecuaciones (4.1) y (4.1), y descartando la segunda ecuación (4.1), resulta:

$$\dot{x} = \mu_m \left(1 - \frac{zc_0}{z} \right) x \quad (4.21)$$

$$\dot{z} = \rho_m \frac{\alpha - xz}{\alpha - xz + k_y} - \mu_m \left(1 - \frac{zc_0}{z}\right) z \quad (4.22)$$

Las ecuaciones (4.21) y(4.22) describen un sistema bidimensional en términos de x y z . El análisis de tal sistema puede llevar a la descripción de la estabilidad local del sistema.

Dos equilibrios fueron encontrados en el punto estacionario del nuevo sistema dimensional. Los equilibrios \bar{v}_3 y \bar{v}_4 representan la sobrevivencia a largo plazo para el organismo o la ausencia de biomasa, respectivamente, en un modo de cultivo por lotes, dado por:

$$\bar{v}_3 = \left(\frac{\alpha}{zc_0}, zc_0 \right) \quad (4.23)$$

y

$$\bar{v}_4 = \left(0, -\frac{(k_y + \alpha) \mu_m zc_0 + \alpha \rho_m}{(k_y + \alpha) \mu_m} \right) \quad (4.24)$$

La matriz Jacobiana del sistema reducido, dado por las ecuaciones (4.21) y (4.22), es:

$$Df_2 = \left[\vec{D} \mid \vec{E} \right] \quad (4.25)$$

donde:

$$\vec{D} = \begin{bmatrix} \mu(z) \\ -\frac{\rho_m z (\alpha - xz)^2}{-xz + k_y + \alpha} - \frac{\rho_m z}{-xz + k_y + \alpha} \end{bmatrix} \quad (4.26)$$

$$\vec{E} = \begin{bmatrix} \frac{\mu_m x z c_0}{z^2} \\ -\mu(z) - \frac{\mu_m z c_0}{z} - \frac{\rho_m x}{-xz + k_y + \alpha} + \frac{\rho_m x (\alpha - xz)^2}{-xz + k_y + \alpha} \end{bmatrix} \quad (4.27)$$

Evaluando \bar{v}_3 en Df_2 :

$$Df_2(\bar{v}_3) = \begin{bmatrix} \vec{D}_a & \vec{E}_a \end{bmatrix} \quad (4.28)$$

Donde:

$$\vec{D}_a = \begin{bmatrix} 0 \\ -\frac{\rho_m z_0}{k_y} \end{bmatrix} \quad (4.29)$$

$$\vec{E}_a = \begin{bmatrix} \frac{\alpha \mu_m}{z c_0^2} \\ \frac{\alpha \rho_m}{k_y z c_0} - \mu_m \end{bmatrix} \quad (4.30)$$

Las partes reales de los eigenvalores obtenidos de la matriz Df_2 evaluada, Ecuación (4.25) en \bar{v}_3 , Ecuación (4.23), son:

$$Df_2(\bar{v}_3) = \left(-\frac{\alpha\rho_m}{k_y z c_0}, -\mu_m \right) \quad (4.31)$$

Desde que la parte real de cada eigenvalor de $Df_2(\bar{v}_3)$ es negativo, entonces \bar{v}_3 es estable para todo $x_0 > 0, y_0 > 0$ y $z_0 > 0$.

Sin embargo, si el sistema bidimensional antes mencionado es considerado para evaluar la estabilidad del equilibrio de la ausencia de biomasa, resulta:

Evaluando \bar{v}_4 , Ecuación (4.24) en Df_2 , Ecuación (4.25):

$$Df_2(\bar{v}_4) = \left[\vec{F}_a \mid \vec{G}_a \right] \quad (4.32)$$

donde:

$$\vec{F}_a = \begin{bmatrix} \mu_m \left(1 - \frac{(k_y + \alpha) \mu_m z c_0}{(k_y + \alpha) \mu_m z c_0 + \alpha \rho_m} \right) \\ \frac{\alpha \rho_m ((k_y + \alpha) \mu_m z c_0 + \alpha \rho_m)}{(k_y + \alpha)^3 \mu_m} \end{bmatrix} \quad (4.33)$$

$$\vec{G}_a = \begin{bmatrix} 0 \\ -\mu_m \left(1 - \frac{(k_y + \alpha) \mu_m z c_0}{(k_y + \alpha) \mu_m z c_0 + \alpha \rho_m} \right) - \frac{(k_y + \alpha) \mu_m^2 z c_0}{(k_y + \alpha) \mu_m z c_0 + \alpha \rho_m} \end{bmatrix} \quad (4.34)$$

Las partes reales de los eigenvalores obtenidos de la matriz Df_2 evaluada, Ecuación (4.25) en \bar{v}_4 , Ecuación (4.24), son:

$$Df_2(\bar{v}_4) = \left(\frac{\alpha\rho_m\mu_m}{(k_y + \alpha)\mu_m z_{C0} + \alpha\rho_m}, -\mu_m \right) \quad (4.35)$$

Desde que la parte real de al menos un eigenvalor de $Df_2(\bar{v}_4)$ es positivo, entonces \bar{v}_4 es inestable.

4.1.5. Análisis de las simulaciones del modelo de Droop operado por lotes

El comportamiento físico del equilibrio fue analizado a través de simulaciones de un sistema de cultivo por lotes de la cepa *D. tertiolecta*. Los parámetros y obtenidos de la literatura y las condiciones iniciales de la simulación se pueden revisar en las tablas (3.1) y (3.4) respectivamente. La configuración detallada del experimento y la estimación de los parámetros se pueden encontrar en [124]. Lo interesante de estas simulaciones es observar que el punto fijo donde existe biomasa es estable. Note también, como los puntos fijos cambian bajo diferentes condiciones iniciales, aunque se usen los mismos parámetros. Ver figuras 4.4 y 4.5.

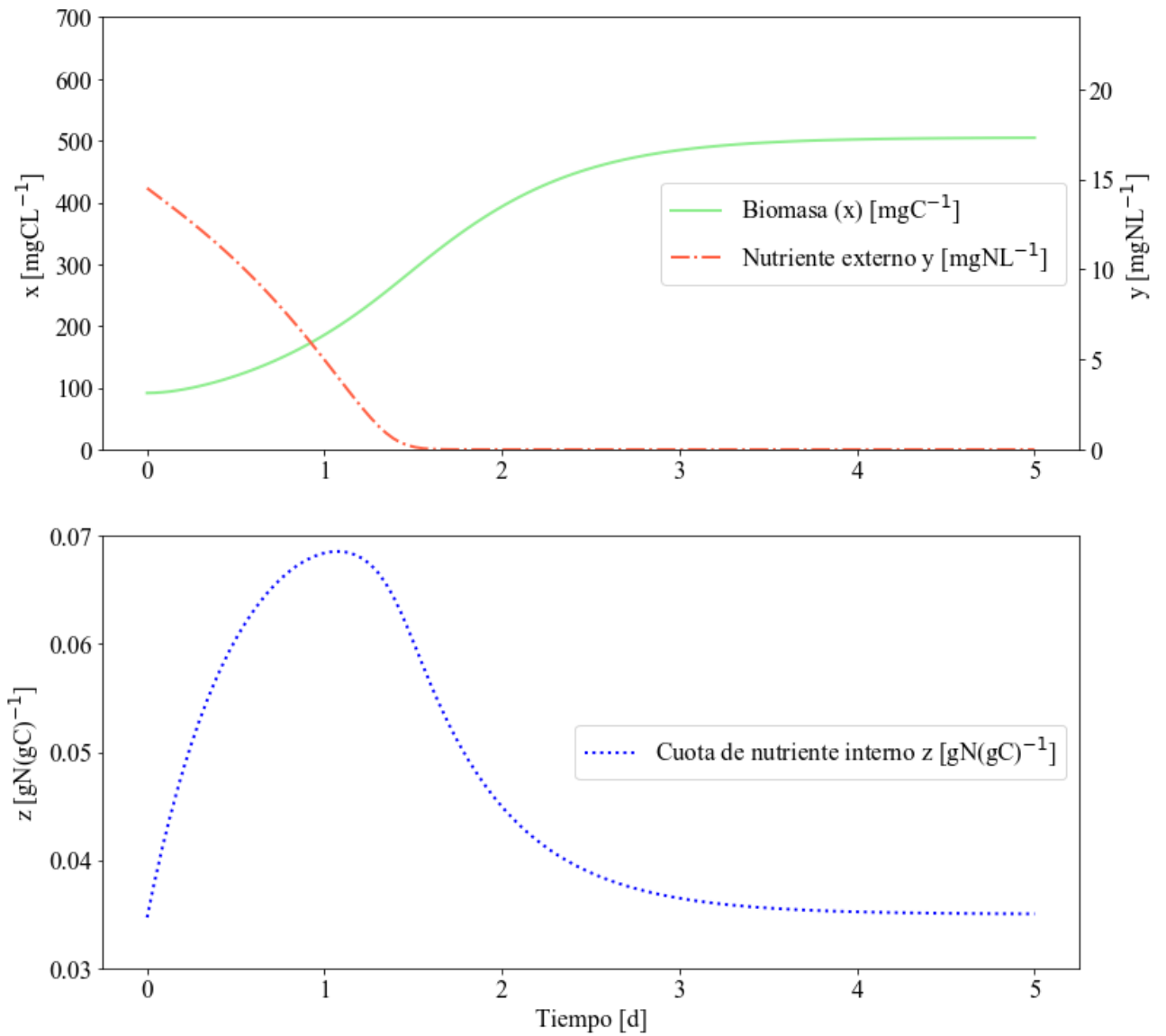


Figura 4.4: .

Simulación de la evolución dinámica de biomasa x , nutriente externo y y cuota intracelular z en un sistema de cultivo por lotes de la cepa *Dunaliella tertiolecta* utilizando el modelo de Droop. Las tablas (3.1) y (3.4) muestran las condiciones iniciales (C_1) y los parámetros obtenidos de la literatura para la simulación.

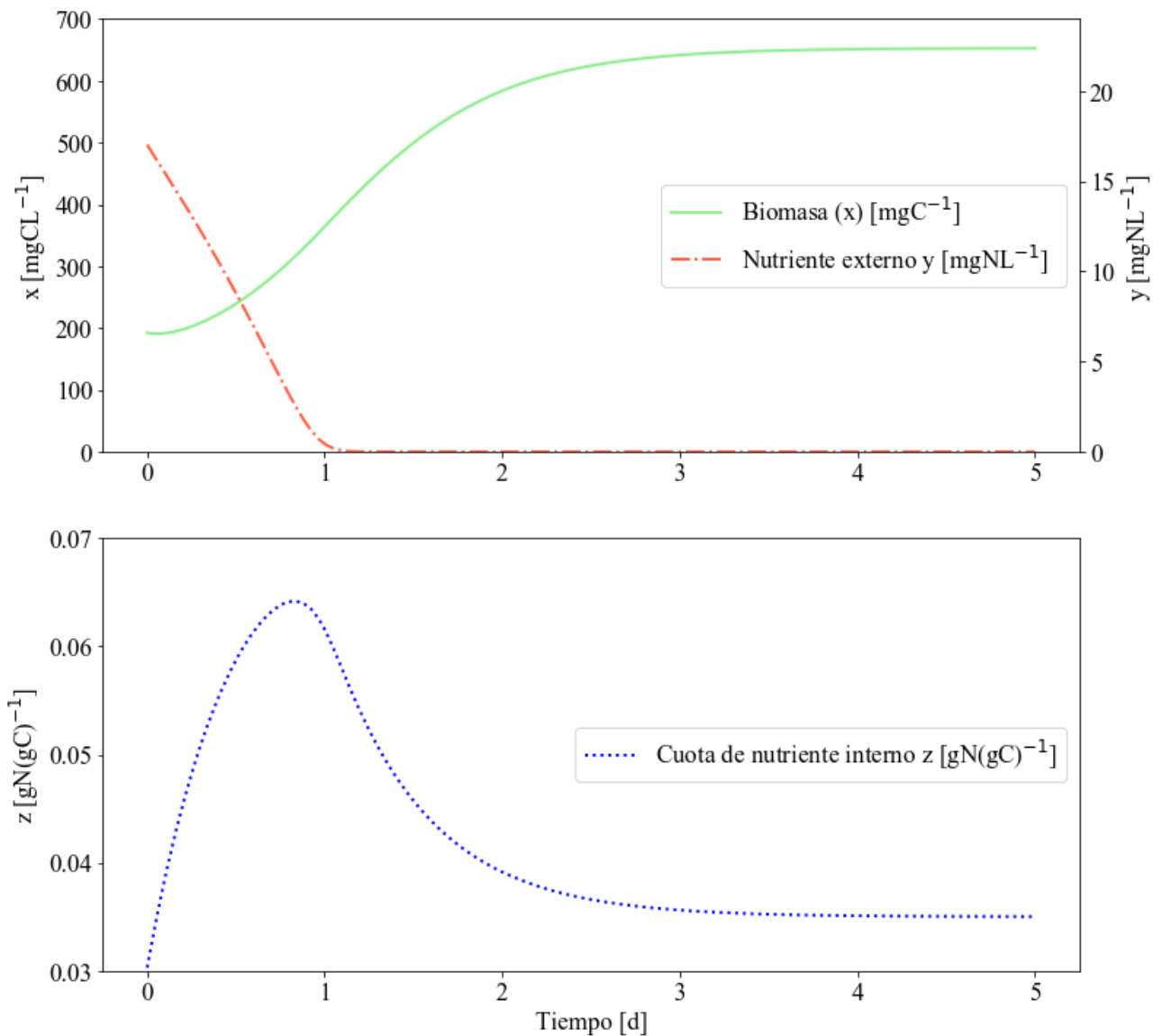


Figura 4.5: .

Simulación de la evolución dinámica de biomasa x , nutriente externo y y cuota intracelular z en un sistema de cultivo por lotes de la cepa *Dunaliella tertiolecta* utilizando el modelo de Droop. Las tablas (3.1) y (3.4) muestran las condiciones iniciales (C_2) y los parámetros obtenidos de la literatura para la simulación.

El espacio fase en la figura 4.6 ilustra que el equilibrio de las trayectorias A y B correspondiente a las simulaciones de las figuras 4.4 y 4.5 convergen a una línea recta en el plano XZ para un valor dado del

parámetro z_0 y condiciones iniciales particulares. La línea mencionada de equilibrios es un atractor en el parámetro z_0 , como se puede observar en la Figura 4.6.

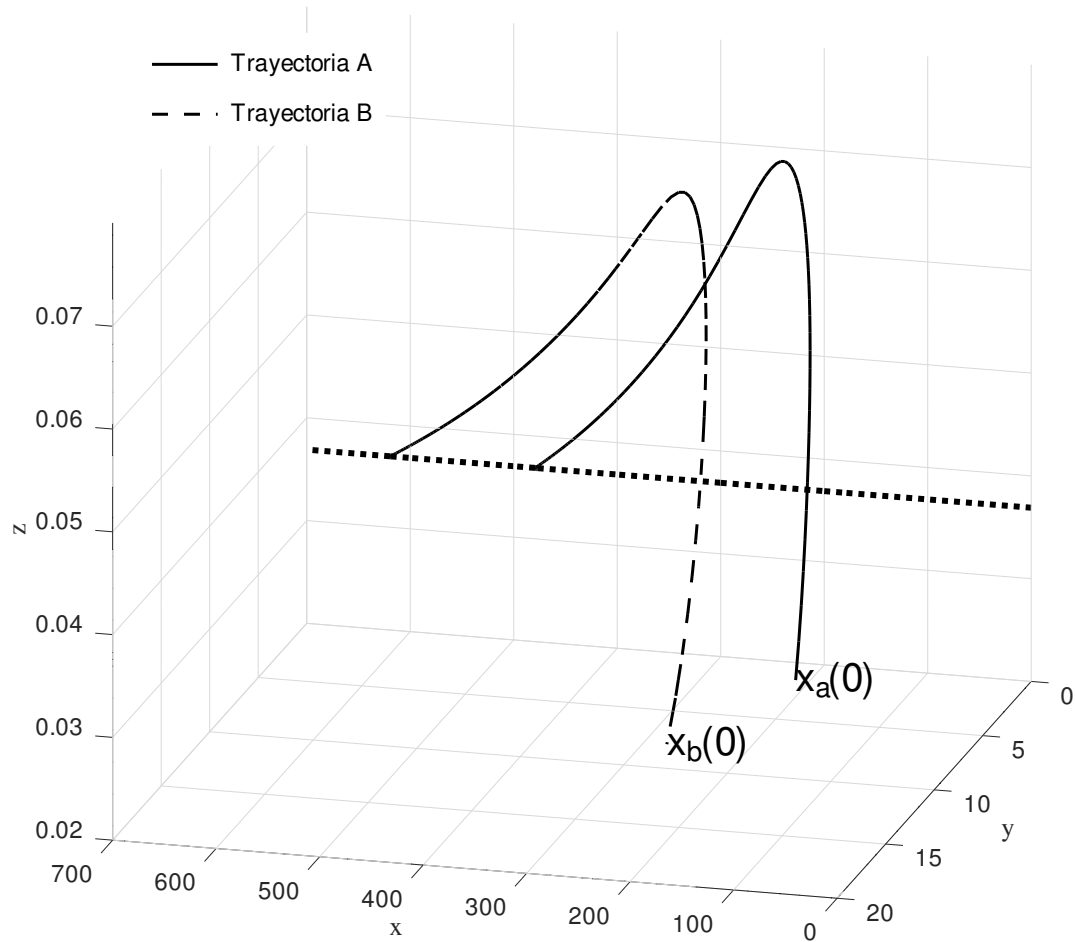


Figura 4.6. . Espacio fase que muestra dos trayectorias resultado de las simulaciones del modelo de Droop con dos condiciones iniciales distintas mostradas en las figuras 4.4 y 4.5. Note que las trayectorias A y B son atraídas no asintóticamente a una región estable (línea) en el plano XZ cuando z tiende a z_0 . Las tablas (3.1) y (3.4) muestran las condiciones iniciales y los parámetros obtenidos de la literatura para la simulación. La simulación y el gráfico fueron preparados por los autores en Octave 5.1.0.0 y Python 3.7.1

4.2. ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD PARA EL MODELO DE DROOP OPERADO POR LOTES

El análisis de sensibilidad es una herramienta importante durante el empleo y desarrollo de modelos, calibración y optimización. El análisis de sensibilidad es usado para identificar los parámetros que más influencia tienen en los resultados obtenidos en los modelos. Un análisis de sensibilidad del modelo estudiado en este trabajo podría ayudar a promover un mejor entendimiento de las interacciones entre los parámetros de entrada, variable de estado y los resultados de las predicciones. también puede ser útil para desarrollar modelos más elaborados.

El análisis de sensibilidad es aplicado para determinar las sensibilidades de las variables de estado x , y y z con respecto a cada uno de los parámetros: tasa máxima de absorción de nutriente inorgánico ρ_m , constante de saturación media k_y , tasa máxima de crecimiento μ , y la cuota mínima intracelular zc_0 . Antes de comenzar el procedimiento de calcular la sensibilidad, es conveniente renombrar las variables y parámetros en las ecuaciones 4.1, 4.1 y 4.1 como sigue:

$$x = \begin{bmatrix} \dot{x}_1 \\ \dot{x}_2 \\ \dot{x}_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \dot{x} \\ \dot{y} \\ \dot{z} \end{bmatrix} \quad (4.36)$$

Sea λ ser los parámetros y λ_0 , los valores nominales de λ como sigue:

$$\lambda = \begin{bmatrix} \lambda_1 \\ \lambda_2 \\ \lambda_3 \\ \lambda_4 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \rho_m \\ k_y \\ \mu \\ zc_0 \end{bmatrix} \quad (4.37)$$

$$\lambda_0 = \begin{bmatrix} \lambda_{0_1} \\ \lambda_{0_2} \\ \lambda_{0_3} \\ \lambda_{0_4} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \rho_m \\ k_y \\ \mu \\ zc_0 \end{bmatrix} \Big|_{\text{nominal}} \quad (4.38)$$

Entonces el sistema nominal está dado como sigue:

$$\dot{x}_1 = \lambda_{0_3} \left(1 - \frac{\lambda_{0_4}}{x_3} \right) x_1 \quad (4.39)$$

$$\dot{x}_2 = -\lambda_{0_1} \frac{x_2}{x_2 + \lambda_{0_2}} x_1 \quad (4.40)$$

$$\dot{x}_3 = \lambda_{0_1} \frac{x_2}{x_2 + \lambda_{0_2}} - \lambda_{0_3} \left(1 - \frac{\lambda_{0_4}}{x_3} \right) x_3 \quad (4.41)$$

La función de sensibilidad $\dot{S}(t)$ Provee estimaciones de primer orden del efecto de la variación de los parámetros.

$$\dot{S}(t) = A(t, \lambda_0) S(t) + B(t, \lambda_0), S(t_0) \quad (4.42)$$

donde:

$$A(t, \lambda_0) = \frac{\partial f(t, x, \lambda)}{\partial x} \Big|_{x=x(t, \lambda_0), \lambda=\lambda_0} \quad (4.43)$$

$$(4.44)$$

$$B(t, \lambda_0) = \frac{\partial f(t, x, \lambda)}{\partial \lambda} \Big|_{x=x(t, \lambda_0), \lambda=\lambda_0} \quad (4.45)$$

La función de sensibilidad se calculó resolviendo numéricamente 4.42:

$$\begin{aligned} \dot{x}_1 &= f(t, x, \lambda) & x(t_0) &= x_0 \\ \dot{x}_\lambda &= \left[\frac{\partial f(t, x, \lambda)}{\partial x} \right] x_\lambda + \left[\frac{\partial f(t, x, \lambda)}{\partial \lambda} \right] & x_\lambda(t_0) &= 0 \end{aligned} \quad (4.46)$$

Las matrices jacobianas $\frac{\partial f}{\partial x}$ Y $\frac{\partial f}{\partial \lambda}$ están dadas por:

$$\frac{\partial f}{\partial x} = \begin{pmatrix} \lambda_3 \left(1 - \frac{\lambda_4}{x_3} \right) & 0 & \frac{\lambda_4 \lambda_3 x_1}{x_3^2} \\ -\frac{\lambda_1 x_2}{x_2 + \lambda_2} & \frac{\lambda_1 x_1 x_2}{(x_2 + \lambda_2)^2} - \frac{\lambda_1 x_1}{x_2 + \lambda_2} & 0 \\ 0 & \frac{\lambda_1}{x_2 + \lambda_2} - \frac{\lambda_1 x_2}{(x_2 + \lambda_2)^2} & -\lambda_3 \left(1 - \frac{\lambda_4}{x_3} \right) - \frac{\lambda_4 \lambda_3}{x_3} \end{pmatrix}$$

y

$$\frac{\partial f}{\partial \lambda} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & x_1 \left(1 - \frac{\lambda_4}{x_3} \right) & -\frac{\lambda_3 x_1}{x_3} \\ -\frac{x_1 x_2}{x_2 + \lambda_2} & \frac{\lambda_1 x_1 x_2}{(x_2 + \lambda_2)^2} & 0 & 0 \\ \frac{x_2}{x_2 + \lambda_2} & \frac{-\lambda_1 x_2}{(x_2 + \lambda_2)^2} & -x_3 \left(1 - \frac{\lambda_4}{x_3} \right) & \lambda_3 \end{pmatrix}$$

Evaluando estas matrices Jacobianas en los parámetros nominales dados en 4.37, obtenemos:

$$\frac{\partial f}{\partial x} \Big|_{\text{nominal}} = \begin{pmatrix} \lambda_{03} \left(1 - \frac{\lambda_{04}}{x_3} \right) & 0 & \frac{\lambda_{04} \lambda_{03} x_1}{x_3^2} \\ -\frac{\lambda_{01} x_2}{x_2 + \lambda_{02}} & \frac{\lambda_{01} x_1 x_2}{(x_2 + \lambda_{02})^2} - \frac{\lambda_{01} x_1}{x_2 + \lambda_{02}} & 0 \\ 0 & \frac{\lambda_{01}}{x_2 + \lambda_{02}} - \frac{\lambda_{01} x_2}{(x_2 + \lambda_{02})^2} & -\lambda_{03} \left(1 - \frac{\lambda_{04}}{x_3} \right) - \frac{\lambda_{04} \lambda_{03}}{x_3} \end{pmatrix}$$

y

$$\frac{\partial f}{\partial \lambda} \Big|_{\text{nominal}} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & x_1 \left(1 - \frac{\lambda_{0_4}}{x_3}\right) & -\frac{\lambda_{0_3} x_1}{x_3} \\ -\frac{x_1 x_2}{x_2 + \lambda_{0_2}} & \frac{\lambda_{0_1} x_1 x_2}{(x_2 + \lambda_{0_2})^2} & 0 & 0 \\ \frac{x_2}{x_2 + \lambda_{0_2}} & \frac{-\lambda_{0_1} x_2}{(x_2 + \lambda_{0_2})^2} & -x_3 \left(1 - \frac{\lambda_{0_4}}{x_3}\right) & \lambda_{0_3} \end{pmatrix}$$

Para resolver $S(t)$ numéricamente, resolvemos 4.46 a los valores nominales de los parámetros, sea S :

$$S = \begin{bmatrix} x_4 & x_7 & x_{10} & x_{13} \\ x_5 & x_8 & x_{11} & x_{14} \\ x_6 & x_9 & x_{12} & x_{15} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_1} & \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_2} & \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_3} & \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_4} \\ \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_1} & \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_2} & \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_3} & \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_4} \\ \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_1} & \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_2} & \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_3} & \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_4} \\ \frac{\partial \lambda_1}{\partial \lambda_1} & \frac{\partial \lambda_2}{\partial \lambda_2} & \frac{\partial \lambda_3}{\partial \lambda_3} & \frac{\partial \lambda_4}{\partial \lambda_4} \end{bmatrix} \Big|_{\text{nominal}} \quad (4.47)$$

Entonces las funciones de sensibilidad al resolver 4.46 están dadas por:

$$\begin{aligned}
\dot{x}_1 &= \lambda_{0_3} \left(1 - \frac{\lambda_{0_4}}{x_3}\right) x_1 & x_1(0) &= x_{1_0} \\
\dot{x}_2 &= x_{2_0} - \lambda_{0_1} \frac{x_2}{x_2 + \lambda_{0_2}} x_1 & x_1(0) &= x_{2_0} \\
\dot{x}_3 &= \frac{x_{3_0} \lambda_{0_1} \frac{x_2}{x_2 + \lambda_{0_2}} - \lambda_{0_3} \left(1 - \frac{\lambda_{0_4}}{x_3}\right)}{\lambda_{0_3} \lambda_{0_4} x_1 x_6 + \lambda_{0_3} x_4 \left(1 - \frac{\lambda_{0_4}}{x_3}\right)} & x_3(0) &= x_{3_0} \\
\dot{x}_4 &= \frac{\lambda_{0_3} \lambda_{0_4} x_1 x_6}{x_3^2} + \lambda_{0_3} x_4 \left(1 - \frac{\lambda_{0_4}}{x_3}\right) & x_4(0) &= 0 \\
\dot{x}_5 &= -\frac{x_1 x_2}{x_2 + \lambda_{0_2}} - \frac{\lambda_{0_1} x_2 x_4}{(x_2 + \lambda_{0_2})} + x_5 \left(\frac{\lambda_{0_1} x_1 x_2}{(x_2 + \lambda_{0_2})^2} - \frac{\lambda_{0_1} x_1}{(x_2 + \lambda_{0_2})} \right) & x_5(0) &= 0 \\
\dot{x}_6 &= \frac{x_2}{x_2 + \lambda_{0_2}} + x_5 \left(\frac{\lambda_{0_1} x_2}{(x_2 + \lambda_{0_2})^2} + \frac{\lambda_{0_1}}{(x_2 + \lambda_{0_2})} \right) - \lambda_{0_3} x_6 & x_6(0) &= 0 \\
\dot{x}_7 &= \frac{\lambda_{0_3} \lambda_{0_4} x_1 x_9}{x_3^2} + \lambda_{0_3} x_7 \left(1 - \frac{\lambda_{0_4}}{x_3}\right) & x_7(0) &= 0 \\
\dot{x}_8 &= \frac{\lambda_{0_1} x_1 x_2}{(x_2 + \lambda_{0_2})^2} - \frac{\lambda_{0_1} x_2 x_7}{(x_2 + \lambda_{0_2})} + x_8 \left(\frac{\lambda_{0_1} x_1 x_2}{(x_2 + \lambda_{0_2})^2} - \frac{\lambda_{0_1} x_1}{(x_2 + \lambda_{0_2})} \right) & x_8(0) &= 0 \\
\dot{x}_9 &= -\frac{\lambda_{0_1} x_2}{(x_2 + \lambda_{0_2})^2} + x_8 \left(\frac{\lambda_{0_1} x_2}{(x_2 + \lambda_{0_2})^2} + \frac{\lambda_{0_1}}{(x_2 + \lambda_{0_2})} \right) - \lambda_{0_3} x_9 & x_9(0) &= 0 \\
\dot{x}_{10} &= \frac{\lambda_{0_3} \lambda_{0_4} x_1 x_{12}}{x_3^2} + \lambda_{0_3} x_{10} \left(1 - \frac{\lambda_{0_4}}{x_3}\right) + x_1 \left(1 - \frac{\lambda_{0_4}}{x_3}\right) & x_{10}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{11} &= -\frac{\lambda_{0_1} x_{10} x_2}{(x_2 + \lambda_{0_2})} + x_{11} \left(\frac{\lambda_{0_1} x_1 x_2}{(x_2 + \lambda_{0_2})^2} - \frac{\lambda_{0_1} x_1}{(x_2 + \lambda_{0_2})} \right) & x_{11}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{12} &= x_{11} \left(-\frac{\lambda_{0_1} x_2}{(x_2 + \lambda_{0_2})^2} + \frac{\lambda_{0_1}}{(x_2 + \lambda_{0_2})} \right) - \lambda_{0_3} x_{12} - x_3 \left(1 - \frac{\lambda_{0_4}}{x_3}\right) & x_{12}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{13} &= \frac{\lambda_{0_3} \lambda_{0_4} x_1 x_{15}}{x_3^2} - \frac{\lambda_{0_3} x_1}{x_3} + \lambda_{0_3} x_{13} \left(1 - \frac{\lambda_{0_4}}{x_3}\right) & x_{13}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{14} &= -\frac{\lambda_{0_1} x_{13} x_2}{(x_2 + \lambda_{0_2})} + x_{14} \left(\lambda_{0_1} \frac{x_1 x_2}{(x_2 + \lambda_{0_2})^2} - \frac{\lambda_{0_1} x_1}{(x_2 + \lambda_{0_2})} \right) & x_{14}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{15} &= \lambda_{0_3} + x_{14} \left(-\frac{\lambda_{0_1} x_2}{(x_2 + \lambda_{0_2})^2} + \frac{\lambda_{0_1}}{(x_2 + \lambda_{0_2})} \right) - \lambda_{0_3} x_{15} & x_{15}(0) &= 0
\end{aligned} \tag{4.48}$$

La solución de esta ecuación se computó para la condición inicial $x_{1_0} = 91.483 \text{ mgCL}^{-1}$, $x_{2_0} = 14.5148 \text{ mgNL}^{-1}$ y $x_{3_0} = 0.03047 \text{ mgN(mgC)}^{-1}$ como se observa en la figura 4.4. Los valores de los parámetros nominales basados usados para la simulación corresponden a: $\lambda_{0_1} = 0.1 \text{ mgN(mgC)}^{-1} \text{d}^{-1}$, $\lambda_{0_2} = 2 \text{ mgNL}^{-1}$, $\lambda_{0_3} = 2 \text{ d}^{-1}$ y $\lambda_{0_4} = 0.03 \text{ mgN(mgC)}^{-1}$.

La figura 4.7 muestra los resultados de la integración numérica de las funciones de sensibilidad x_4 , x_7 , x_{10} y x_{13} , los cuales son las sensibilidades de x_1 con respecto a ρ_m , k_y , μ , y z_{c0} , respectivamente.

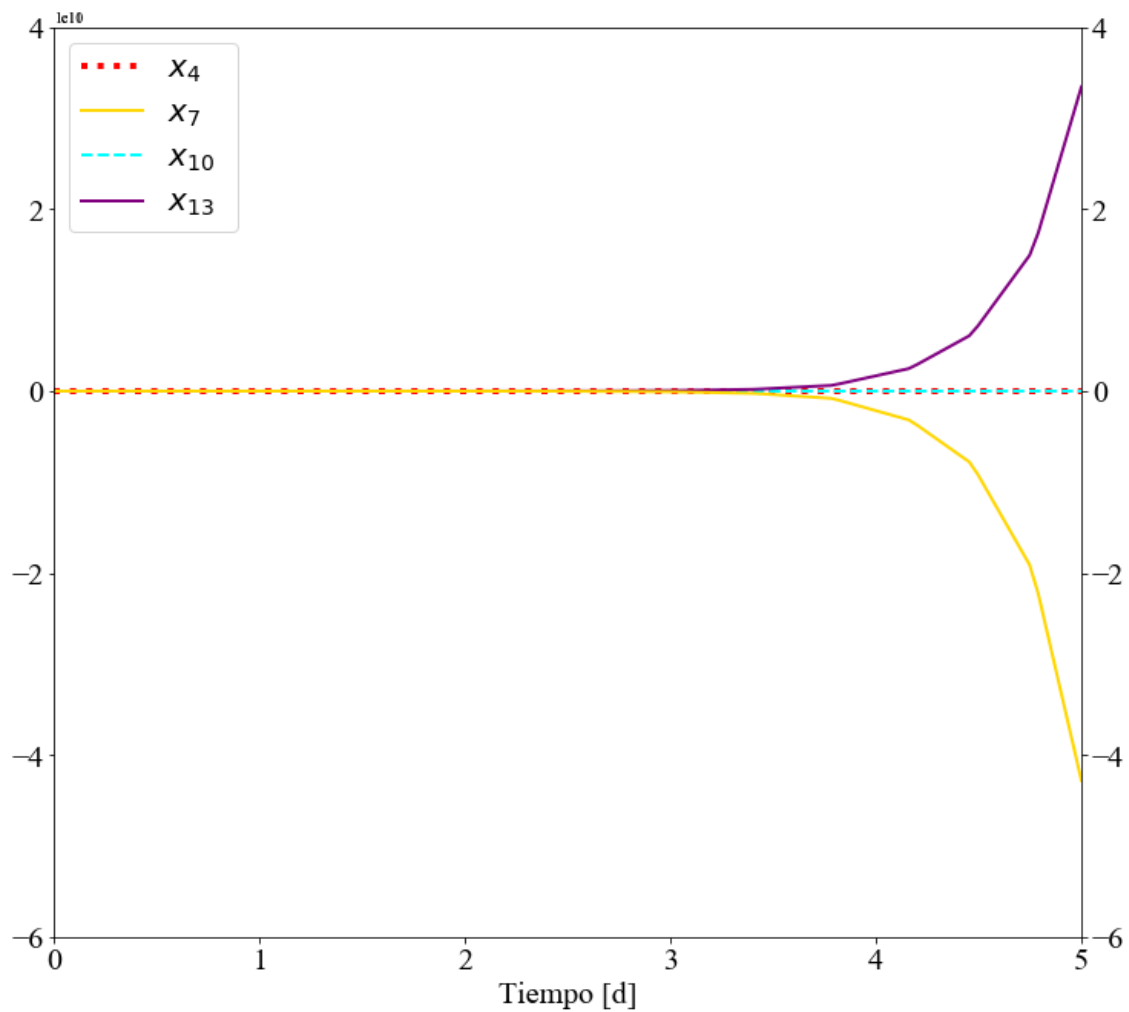


Figura 4.7: Funciones de sensibilidad x_4 , x_7 , x_{10} x_{13} . Las cuales son las sensibilidades de x_1 con respecto a $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ and λ_4 , en el tiempo respectivamente. La solución es más sensible a variaciones en los parámetros λ_2 y λ_4 que a λ_1 and λ_3 . Simulación y gráficos preparados en Octave 5.1.0.0 y Python 3.7.1.

La figura 4.8, muestra los resultados de la integración numérica de las funciones de sensibilidad x_5 , x_8 , x_{11} y x_{14} los cuales son las sensibilidades de x_2 con respecto a ρ_m , k_y , μ , y z_{c0} , respectivamente.

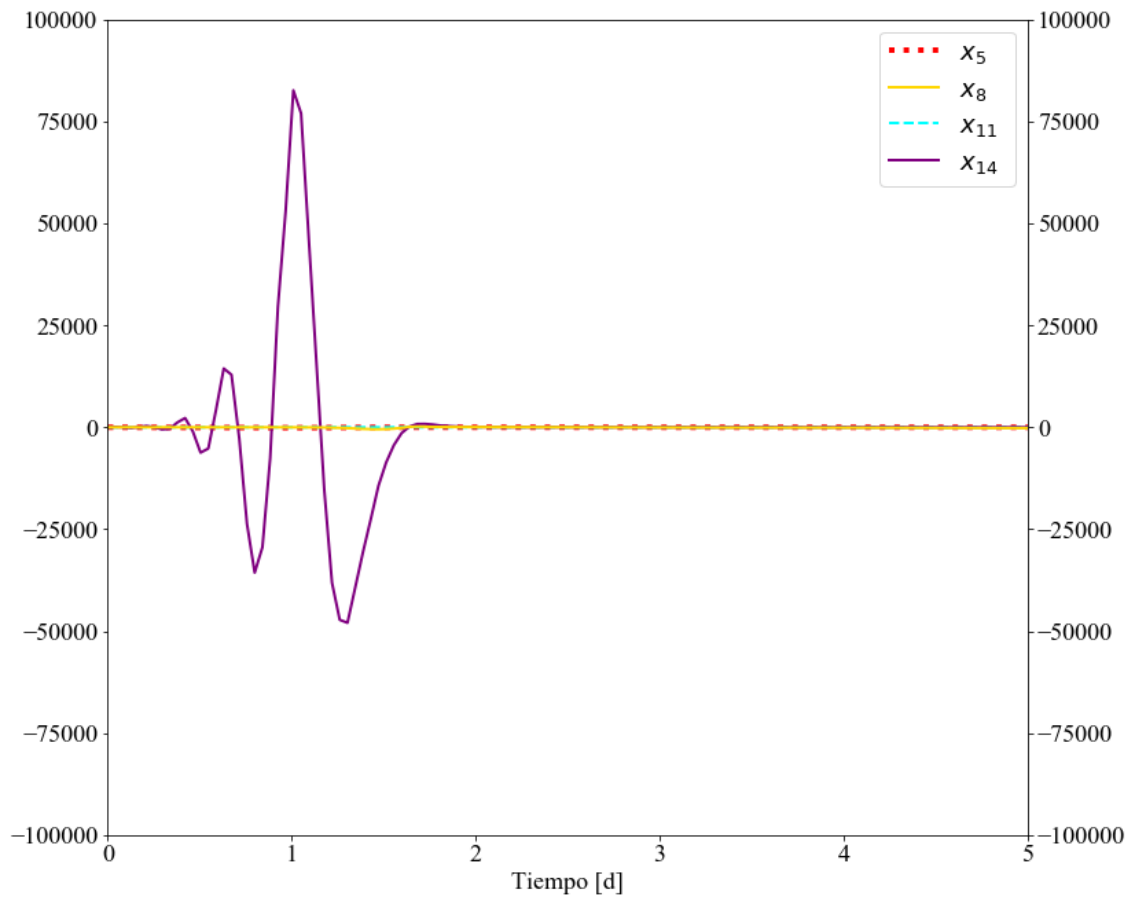


Figura 4.8: Funciones de sensibilidad x_5 , x_8 , x_{11} y x_{14} las cuales son las sensibilidades de x_2 con respecto a $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ y λ_4 en el tiempo, respectivamente. La tabla 3.5 muestra la condición inicial C_1 usada en esta simulación. La solución es más sensible a variaciones en los parámetros λ_2 y λ_4 que a λ_1 y λ_3 . Simulación y gráficos preparados en Octave 5.1.0.0 y Python 3.7.1.

La Figura 4.9, muestra los resultados de la integración numérica de las funciones de sensibilidad x_6 , x_9 , x_{12} y x_{15} los cuales son las sensibilidades de x_3 con respecto a ρ_m , k_y , μ , y z_{c0} , respectivamente.

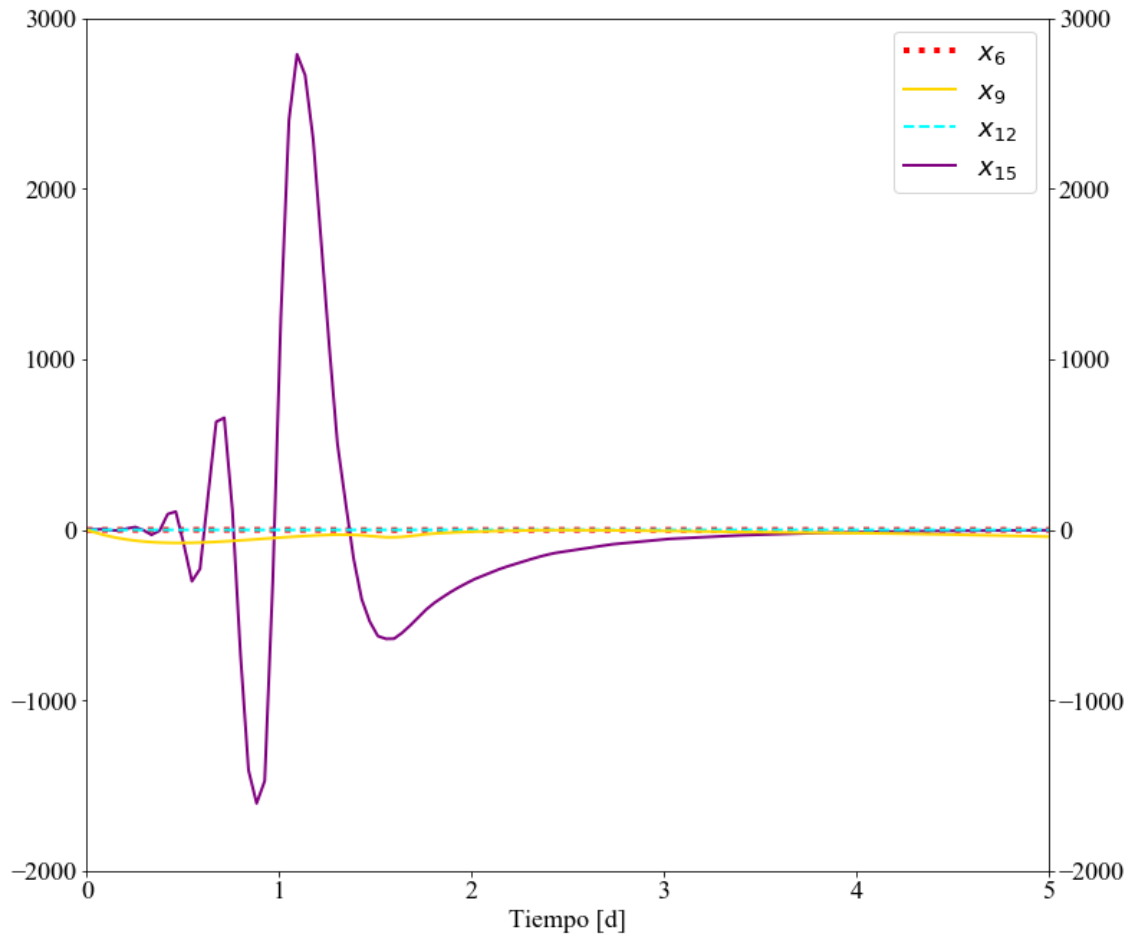


Figura 4.9: Funciones de sensibilidad x_6 , x_9 , x_{12} y x_{15} Las cuales son las sensibilidades de x_3 con respecto a $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ y λ_4 en el tiempo, respectivamente. La tabla 3.5 muestra la condición inicial C_1 usada en esta simulación. La solución es más sensible a variaciones en los parámetros λ_2 y λ_4 que a λ_1 y λ_3 . Simulación y gráficos preparados en Octave 5.1.0.0 y Python 3.7.1.

Una inspección de estas figuras muestra que la solución es más sensible a la variación de los parámetros $\lambda_2 = k_y$ y $\lambda_4 = z_{c0}$ que a la variación de los parámetros $\lambda_1 = \rho_m$ y $\lambda_3 = \mu_m$.

4.3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LAS SIMULACIONES DINÁMICAS

4.3.1. Análisis y discusión de resultados de la dinámica de fotoaclimatación (I^*)

En la figura (4.10) se muestra el resultado gráfico de la simulación numérica de la variable que describe la dinámica de fotoaclimatación a la intensidad de luz (I^*).

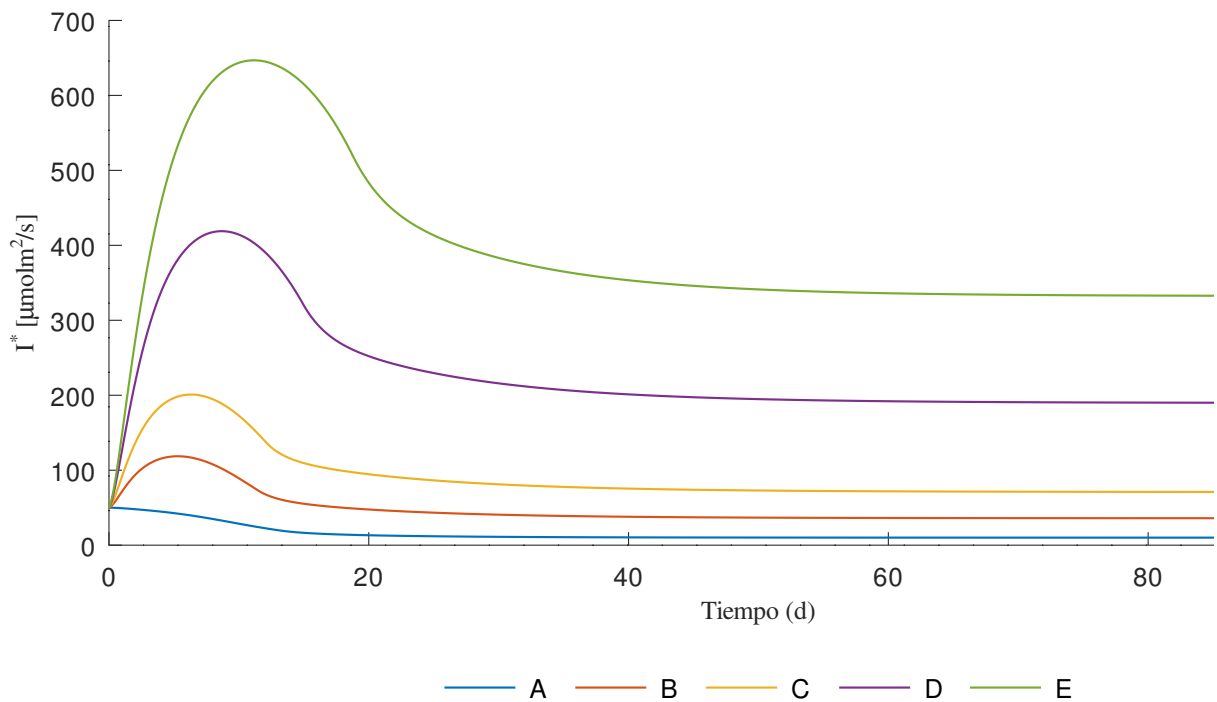


Figura 4.10: Simulación dinámica de la densidad de flujo de fotones de la fotoaclimatación (I^*) en un sistema de cultivo continuo con parámetros experimentales de la cepa *Isochrysis galbana* en diferentes condiciones de iluminación A, B, C, D y E correspondientes a $50 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, $150 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ (x), $250 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, $500 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $750 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente. Los parámetros de la simulación se muestran en la tabla (3.2). Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

Se encontró que la respuesta de fotoaclimatación aumenta con respecto al aumento del parámetro de la intensidad de la luz. El escenario E ($750 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$) mostró un mayor incremento de energía lumínica requerida para realizar la fotoaclimatación que los escenarios A, B y C y D con 50, 150, 250 y 500 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente.

4.3.2. Análisis y discusión de resultados de la dinámica de síntesis de clorofila (Chl)

La figura (4.11), muestra el resultado gráfico de la simulación numérica de la clorofila en el tiempo.

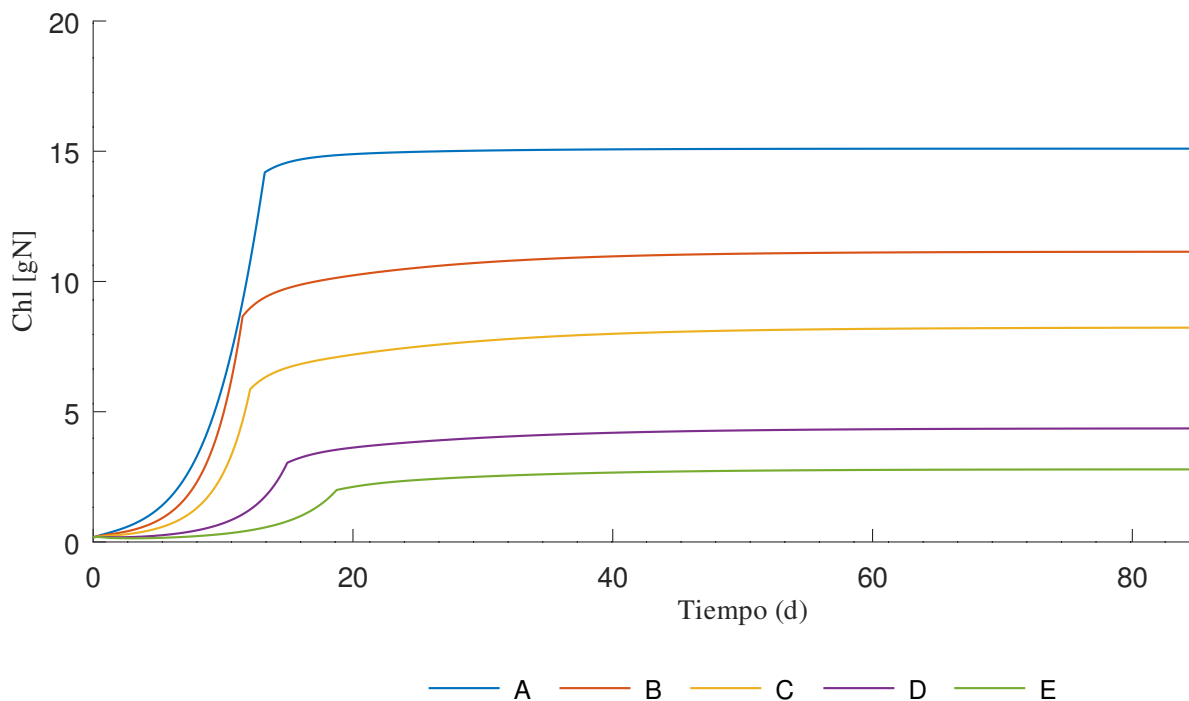


Figura 4.11: Simulación dinámica de la concentración de clorofila (Chl) en un sistema de cultivo continuo con parámetros experimentales de la cepa *Isochrysis galbana* en diferentes condiciones de iluminación A, B, C, D y E correspondientes a $50 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, $150 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ (x), $250 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, $500 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $750 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente. Los parámetros de la simulación se muestran en la tabla (3.2). Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

Se encontró que la concentración de clorofila aumenta con respecto a menor es la intensidad de luz. Es decir, la concentración de clorofila en la simulación del escenario A cuando se usó $50 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ de intensidad de luz resultó mayor a la de los escenarios B, C, D y E con 150 , 250 , 500 y $750 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente. Estos resultados son consistentes con los reportes en la literatura que indican que las microalgas regulan la síntesis de pigmento respecto a la disponibilidad de luz, sintetizando mayor concentración de clorofila en intensidades bajas para mejorar el proceso fotosintético y disminuyendo la concentración en altas intensidades para evitar la foto-oxidación [12].

4.3.3. Análisis y discusión de resultados de la dinámica de producción de biomasa (x)

La figura (4.12) muestra los resultados de la simulación numérica de la variable que representa a la biomasa (x).

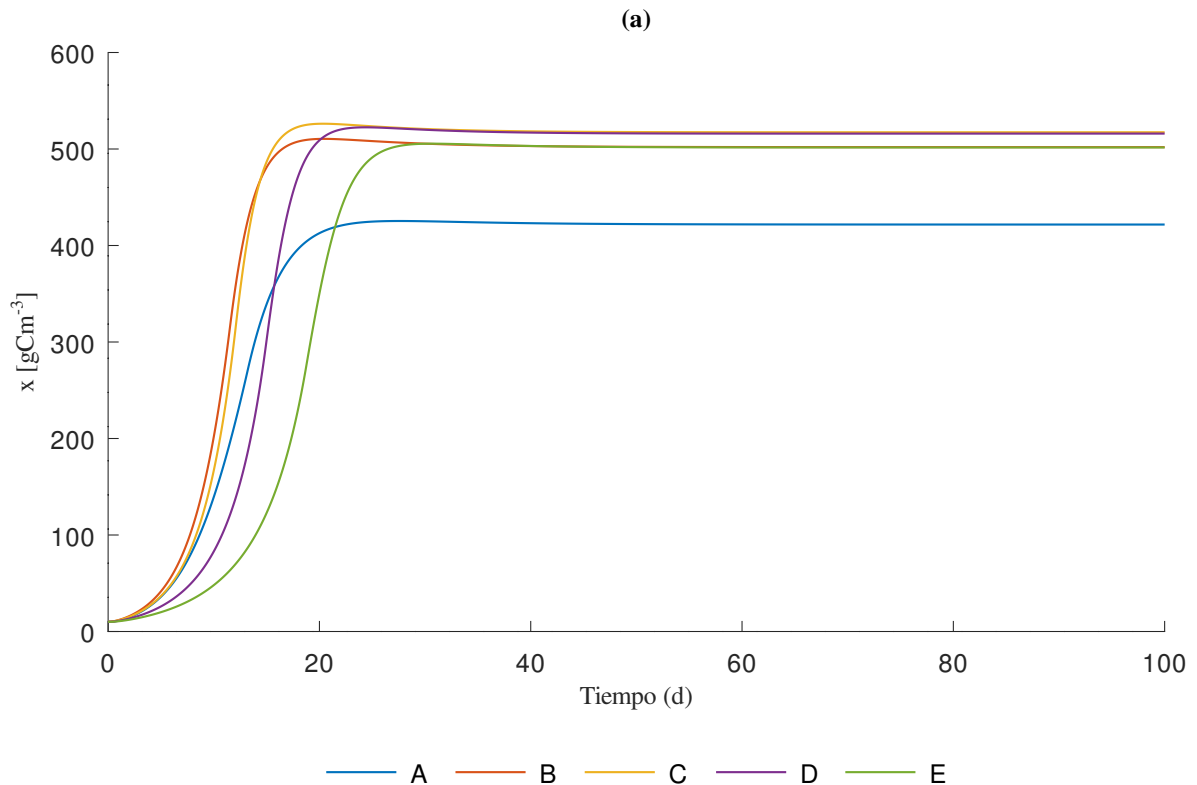


Figura 4.12: Simulación dinámica de la de producción de biomasa (x) en un sistema de cultivo continuo con parámetros experimentales de la cepa *Isochrysis galbana* en diferentes condiciones de iluminación A, B, C, D y E correspondientes a $50 \mu\text{molm}^2\text{s}^{-1}$, $150 \mu\text{molm}^2\text{s}^{-1}$ (x), $250 \mu\text{molm}^2\text{s}^{-1}$, $500 \mu\text{molm}^2\text{s}^{-1}$ y $750 \mu\text{molm}^2\text{s}^{-1}$, respectivamente. Los parámetros de la simulación se muestran en la tabla (3.2). Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

La simulación matemática en la figura 4.12, mostró que la dinámica de producción de biomasa se modifica por el uso de diferentes intensidades de luz. En comparación con los escenarios B, C, D y E, el escenario A alcanzó una concentración de biomasa más baja en el estado estacionario. La concentración de biomasa en el escenario B superó significativamente la concentración obtenida en el escenario A, y se alcanzó más rápido que en que en cualquiera de los demás escenarios evaluados. En el escenario C, la concentración de biomasa se encontró mayor que en el escenario B, pero la

velocidad de crecimiento disminuyó ligeramente. Finalmente, con base en las simulaciones realizadas en los escenarios D y E, se observó una reducción en la concentración de biomasa y la velocidad de crecimiento conforme la intensidad de luz es mayor. Cabe señalar que si bien la concentración alcanzada en el estado estacionario en el escenario D no cambió mucho de la concentración alcanzada en el escenario C, si se observó una reducción de la velocidad de crecimiento en el escenario D comparada con el escenario C. Los resultados de la simulación dinámica de la producción de biomasa son consistentes con los informes de la literatura sobre los efectos de la intensidad de la luz en los sistemas de cultivo de microalgas encontrados en [167, 188]. Cabe recalcar que la concentración inicial de biomasa y nutrientes se mantuvo constante para cada caso de simulación. Por lo tanto, el punto de saturación de luz en cada escenario se alcanzó más rápido conforme se usó una mayor intensidad de luz. Esto mejoró el proceso fotosintético, sin embargo, más allá de ese punto, la fotosíntesis no puede generar suficiente energía para el crecimiento celular.

Otra observación cualitativa es que los estados estacionarios alcanzados parecen ser estables, pero no asintóticamente estables. Esto sugiere que la estabilidad del equilibrio puede depender de la intensidad de la luz. Sin embargo, este razonamiento podría demostrarse realizando un análisis de Lyapunov, para determinar la estabilidad del equilibrio con respecto a la intensidad de la luz con rigor matemático.

4.3.4. Análisis y discusión de resultados de la dinámica de la concentración de nutrientes externos (y) y la cuota interna de nutrientes (z)

Las figuras (4.13.a) y (4.13.b) muestran el efecto de la intensidad de luz sobre la dinámica de la concentración de nutrientes externos y la cuota interna de nutrientes, respectivamente.

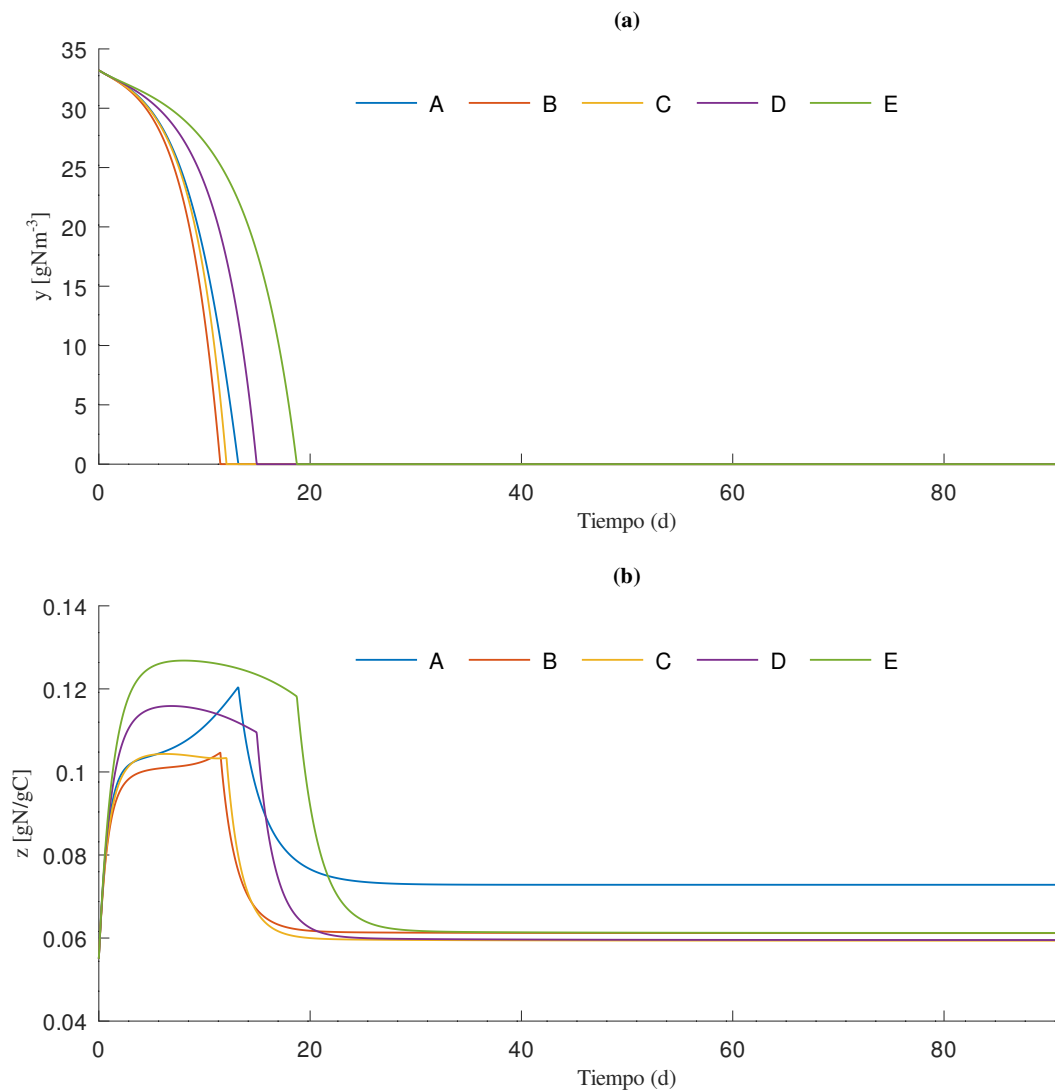


Figura 4.13: Simulación dinámica de la concentración de nutrientes externos (y) (a) y la cuota interna de nutrientes (z) (b) en un sistema de cultivo continuo con parámetros experimentales de la cepa *Isochrysis galbana* en diferentes condiciones de iluminación A, B, C, D y E correspondientes a $50 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, $150 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ (x), $250 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, $500 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $750 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente. Los parámetros de la simulación se muestran en la tabla (3.2). Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

En la figura (4.13.a) se puede observar que en el escenario B la concentración del nutriente externo fue removida más rápido en comparación de los escenarios A,C,D y E. Como consecuencia la concentración de biomasa se obtuvo a una velocidad de crecimiento más rápida que en cualquier otro escenario como se puede ver en la figura 4.12. En el escenario C la remoción de la concentración de nutrientes externo fue ligeramente menor que en el escenario B , sin embargo la metabolización del nutriente como biomasa fue mayor como se mostró en la figura 4.12. Finalmente se puede observar que la velocidad de remoción de la concentración del nutriente se ve considerablemente afectada conforme la intensidad de la luz es mayor como se puede observar en los escenarios D y E. En la simulación matemática de la figura (4.13.b) se observó que el comportamiento dinámico de la asimilación del nutriente intracelular (z), cambia con respecto a las condiciones de luz utilizadas en cada escenario. La cuota interna de nutrientes aumenta alcanzando un valor de saturación superior para los escenarios con mayor intensidad de luz (D y E) a medida que la concentración del nutriente externo disminuye. La simulación también muestra que las células comenzaron a metabolizar el nitrógeno que habían almacenado una vez que los nutrientes externos se eliminaron por completo del medio de cultivo. El comportamiento dinámico del consumo de nutrientes externo y su asimilación hacia el interior de la célula anteriormente descrito es consistente con la información encontrada en la literatura respecto a las relaciones entre efecto de la intensidad de la luz en la remoción de nutrientes del medio de cultivo, en la que se ha reportado que la utilización del nutriente externo y el carbono asimilado están estrechamente interrelacionados. Las microalgas usan el ciclo del ácido tricarboxílico para generar energía a partir del carbono inorgánico que almacenan. La energía resultante es utilizada para absorber el nitrógeno del medio de cultivo para producir los aminoácidos glutamina y glutamato los cuales necesitan energía en la forma de trifosfato de adenosina (ATP) y nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) junto con esqueletos de carbono en la forma de 2-oxoglutamato y oxalacetato [200]. En otras palabras, la simulación matemática denotó que la luz afecta la eficiencia fotosintética para capturar el CO_2 con el que las microalgas producen energía para asimilar y metabolizar el nitrógeno del medio de cultivo externo.

4.3.5. Análisis y discusión de resultados de la dinámica de la cuota de carbohidratos (q_g).

La figura 4.14 muestra los resultados gráficos de la simulación numérica de la cuota de carbohidratos en los diferentes escenarios de iluminación propuestos para las simulaciones del modelo.

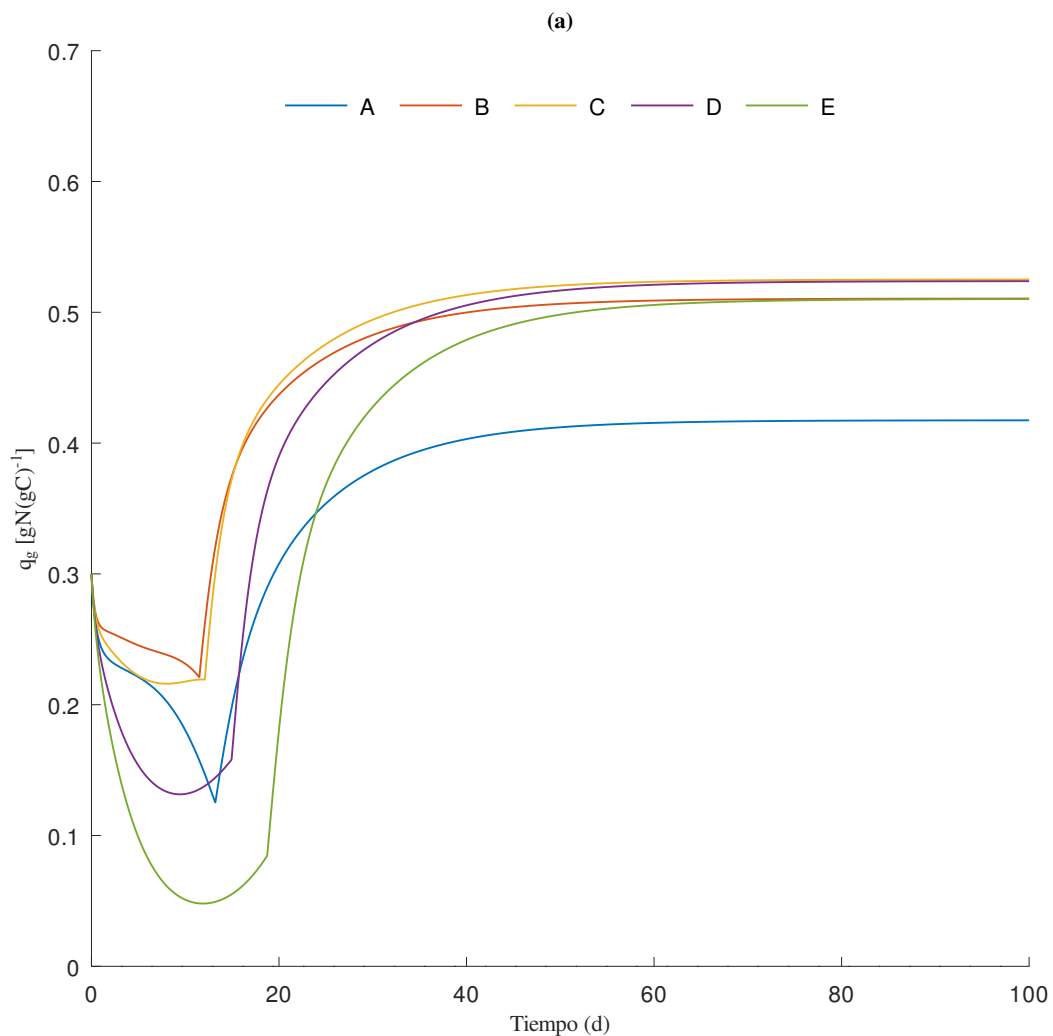


Figura 4.14: Simulación dinámica de la cuota carbohidratos (q_g) en un sistema de cultivo continuo con parámetros experimentales de la cepa *Isochrysis galbana* en diferentes condiciones de iluminación A, B, C, D y E correspondientes a $50 \mu\text{molm}^2\text{s}^{-1}$, $150 \mu\text{molm}^2\text{s}^{-1}$ (x), $250 \mu\text{molm}^2\text{s}^{-1}$, $500 \mu\text{molm}^2\text{s}^{-1}$ y $750 \mu\text{molm}^2\text{s}^{-1}$, respectivamente. Los parámetros de la simulación se muestran en la tabla (3.2). Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

Los resultados de la simulación matemática de la cuota de carbohidratos mostrada en la figura 4.14 señalaron que la concentración de la cuota de carbohidratos en el escenario C fue mayor que la obtenida en los escenarios A, B, D y E. La simulación matemática de la dinámica de la cuota de carbohidratos mostró que la intensidad de luz afecta a la producción de carbohidratos. Esto puede ser debido a que la intensidad de la luz modifica la manera en que las microalgas asimilan el carbono inorgánico. Las bajas intensidades de luz inducen a una deficiencia del carbono asimilado y consecuentemente se estimula la síntesis de clorofila en orden de incrementar la capacidad fotosintética para fijar el dióxido de carbono, de tal manera que en dichas condiciones de pobre iluminación las estructuras de carbono asimilado son direccionadas para la síntesis de clorofila (figura 4.11) más que para la síntesis de otros compuestos orgánicos. Por otro lado, la inanición de nitrógeno en el medio de cultivo induce a un decremento en la producción de pigmentos y un aumento en la producción de carbohidratos como se puede observar en la figura, por lo tanto el efecto de la intensidad de la luz puede afectar la velocidad de absorción del nitrógeno y retrasar la inanición nutritiva. Cabe señalar que es justo en el momento en que el nutriente externo se consume por completo (figura 4.13), cuando se dispara la producción de carbohidratos en todos los escenarios evaluados. Estas observaciones son consistentes con lo encontrado en la literatura [201].

4.4. ANÁLISIS Y RESULTADOS DEL EQUILIBRIO

4.4.1. Análisis y resultados del equilibrio de la concentración de biomasa y la cuota de carbohidratos con respecto a la intensidad de luz incidente (I_0)

La figura (4.15) muestra el diagrama con los puntos de equilibrio de la producción de biomasa (x) con respecto a variaciones del parámetro de la intensidad de luz incidente (I_0) de un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*.

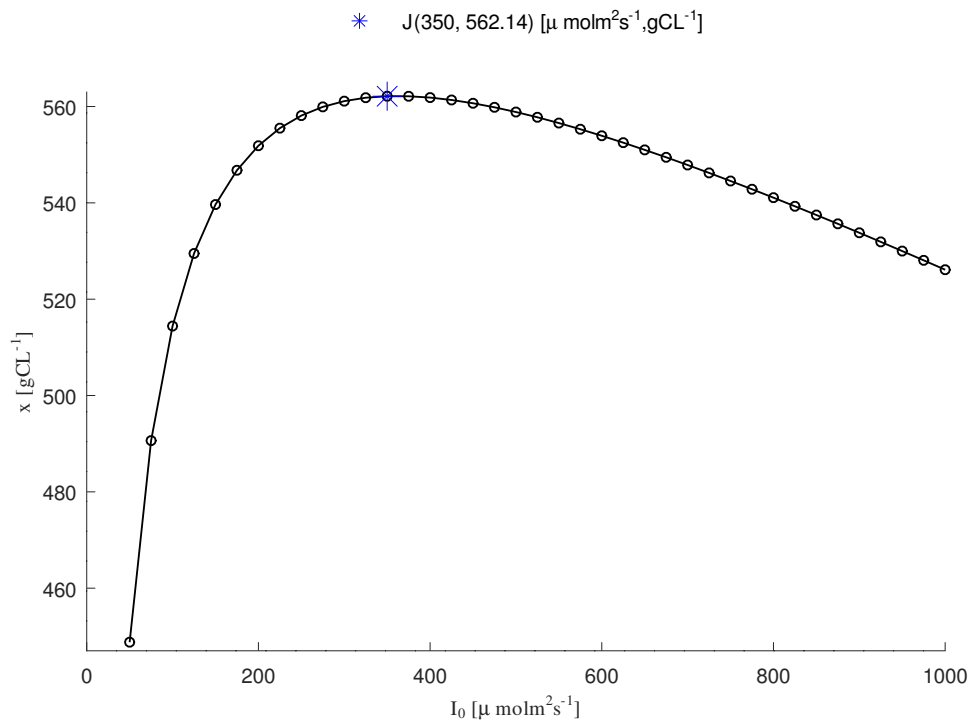


Figura 4.15: Diagrama de equilibrio de la producción de biomasa (x) con respecto a variaciones del parámetro de la intensidad de luz incidente (I_0) variando desde 50 a 1000 [$\mu \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$] en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*. Los parámetros de la simulación se muestran en la tabla (3.2). Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

Los círculos representan el estado estacionario alcanzado en las simulaciones para cada valor de I_0 desde 50 hasta 1000 $\mu \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ con intervalos de 25 de unidades. El periodo de tiempo de cada

simulación fue de 100 días. El punto óptimo de concentración de biomasa $J(I_0, x)$ denotado por el símbolo (*) señala el estado estacionario en el que se encontró la mayor concentración de biomasa con respecto a la intensidad de luz incidente utilizada en dicho punto. La concentración más alta de biomasa fue de 562.14 gCL^{-1} , obtenida con una intensidad de luz de $350 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$. El diagrama muestra que la concentración de biomasa decae con intensidades de luz superiores a $350 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$.

La figura 4.16 muestra el diagrama con los puntos de equilibrio de la cuota de carbohidratos (q_g) con respecto a variaciones del parámetro de la intensidad de luz incidente (I_0) de un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*.

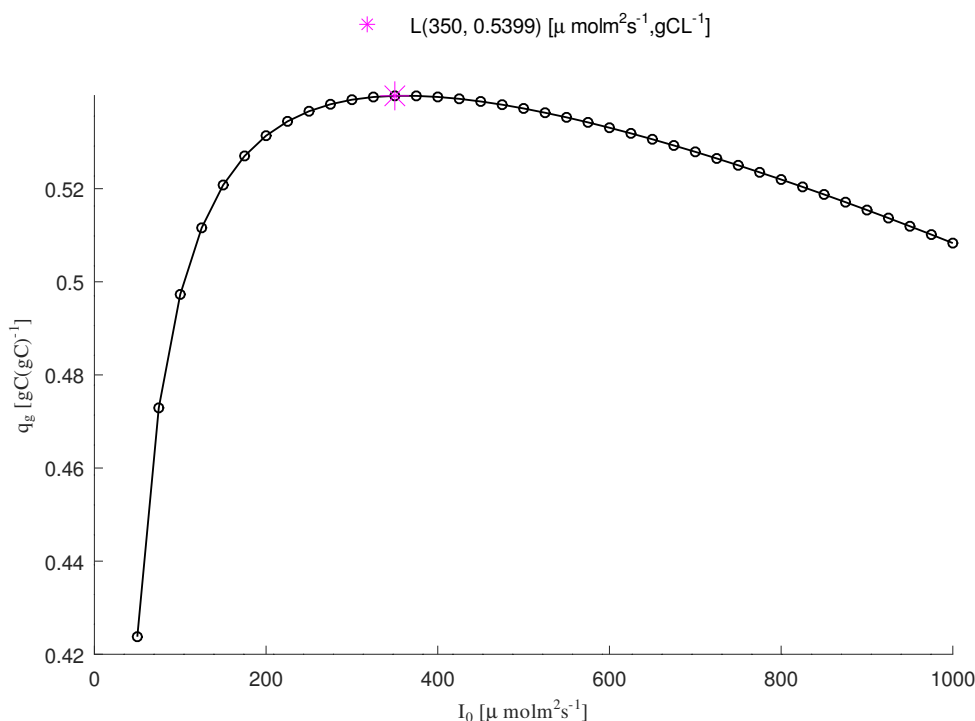


Figura 4.16: Diagrama de equilibrio de la cuota de carbohidratos (q_g) con respecto a variaciones del parámetro de la intensidad de luz incidente (I_0) variando desde 50 a 1000 [$\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$] en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*. Los parámetros de la simulación se muestran en la tabla (3.2). Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

Los círculos representan el estado estacionario alcanzado en las simulaciones para cada valor de I_0 desde 50 hasta 1000 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ con intervalos de 25 de unidades. El periodo de tiempo de cada simulación fue de 100 días. El punto óptimo de la cuota de carbohidratos $L(I_0, x)$ denotado por el

símbolo (*) señala el estado estacionario en el que se encontró la mayor cuota de carbohidratos con respecto a la intensidad de luz incidente utilizada en dicho punto. La concentración más alta de cuota de carbohidratos fue de $0.5399 \text{ gC}(\text{gC})^{-1}$, obtenida con una intensidad de luz de $350 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$. El diagrama muestra que la cuota de carbohidratos decae con intensidades de luz superiores a $350 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Este resultado es consistente con datos reportados en la literatura que indicaron un aumento en el contenido de carbohidratos utilizando un rango de intensidad de luz entre 30 y 400 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y disminuciones para a intensidades más altas para *I.galbana* [165].

4.4.2. Análisis y resultados del equilibrio de la concentración de biomasa y la cuota de carbohidratos con respecto a la velocidad de dilución (D).

La figura (4.17) muestra el diagrama con los puntos de equilibrio de la producción de biomasa (x)

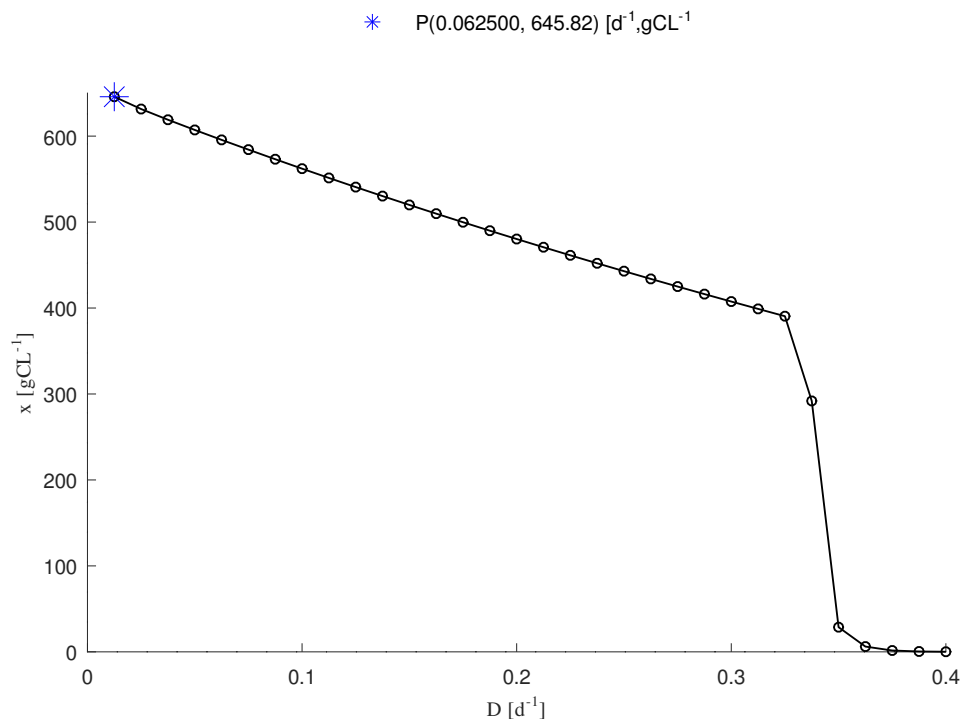


Figura 4.17: Diagrama de equilibrio de la producción de biomasa (x) con respecto a variaciones del parámetro de la velocidad de dilución variando desde 0.0125 y 0.4 d^{-1} en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*. Los parámetros de la simulación se muestran en la tabla (3.2). Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

con respecto a variaciones del parámetro de la velocidad de dilución D en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*.

Los círculos representan el estado estacionario alcanzado en cada simulación correspondiente a cada ejecución entre 0.0125 y 0.4 d^{-1} . El punto $P(D,x)$ representado por el símbolo (*), señala el punto óptimo de dilución y de máxima concentración de biomasa. La máxima concentración de biomasa fue de $645.82 \text{ gCL}^{-1} \text{ d}^{-1}$. El valor del parámetro de la velocidad de dilución (D) óptimo para obtener el máximo rendimiento de biomasa fue de 0.0625 d^{-1} dentro de las condiciones de simulación planteadas en el presente trabajo. La productividad de la concentración de biomasa decae para valores del parámetro (D) superiores a 0.0625 d^{-1} .

La figura 4.18 muestra el diagrama con los puntos de equilibrio de la cuota de carbohidratos (q_g)

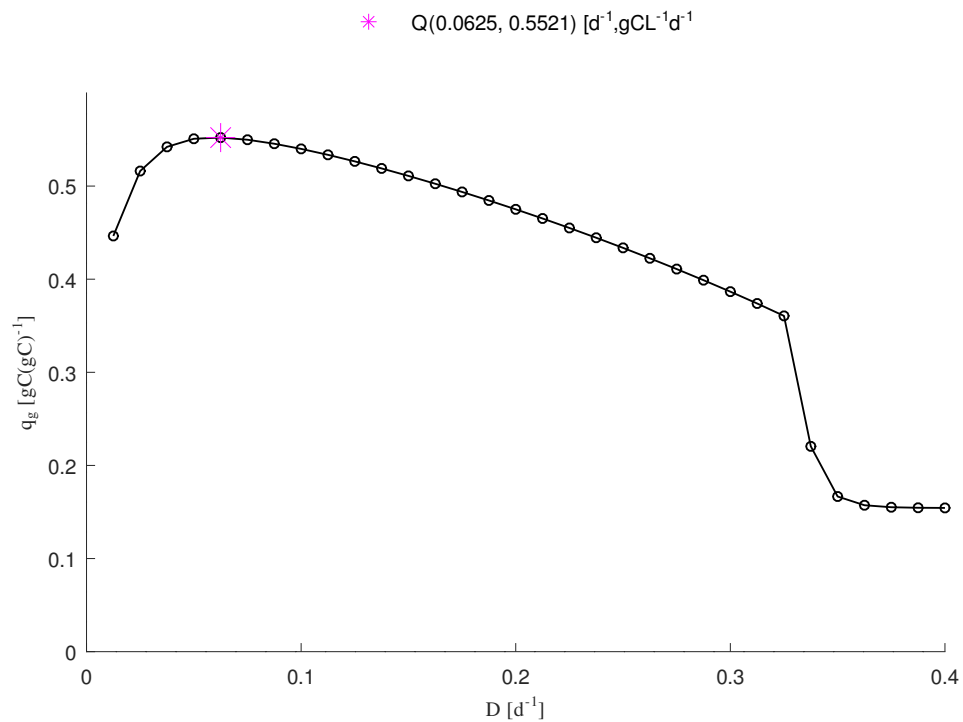


Figura 4.18: Diagrama de equilibrio de la producción de carbohidratos (q_g) con respecto a variaciones del parámetro de la velocidad de dilución variando desde 0.0125 y 0.4 d^{-1} en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*. Los parámetros de la simulación se muestran en la tabla (3.2). Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

con respecto a variaciones del parámetro de la velocidad de dilución D en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*.

Los círculos representan el estado estacionario alcanzado en cada simulación correspondiente a cada ejecución entre 0.0125 y $0.4 d^{-1}$. El punto $Q(D,x)$ representado por el símbolo (*), señala el punto óptimo de dilución y de máxima concentración de biomasa. La máxima concentración de carbohidratos fue de $0.5521 gCd^{-1}$. El valor del parámetro de la velocidad de dilución (D) óptimo para obtener el máximo rendimiento de biomasa fue de $0.0625 d^{-1}$ dentro de las condiciones de simulación planteadas en el presente trabajo. La productividad de la concentración de biomasa decae para valores del parámetro (D) superiores a $0.0625 d^{-1}$.

4.5. ANÁLISIS Y RESULTADOS DE LA PRODUCTIVIDAD

Tradicionalmente, la productividad de la biomasa se ha utilizado como un indicador en sistemas de fotobiorreactores continuos para estimar el rendimiento. En esta sección, el potencial del modelo para describir la acumulación de carbohidratos se empleó para encontrar los valores óptimos de los parámetros operativos correspondientes a intensidad de la luz y la velocidad de dilución. Esto nos permitió estimar el máximo rendimiento de carbohidratos en las condiciones descritas en este trabajo. Los valores de productividad se aprovecharon como parámetros nominales en las simulaciones del análisis de sensibilidad descrito más adelante.

4.5.1. Análisis y resultados de la productividad de la biomasa y carbohidratos con respecto a la intensidad de luz

En la figura 4.19 se muestra el mapa de productividad de la biomasa con respecto a las variaciones del parámetro de la intensidad de luz (I_0).

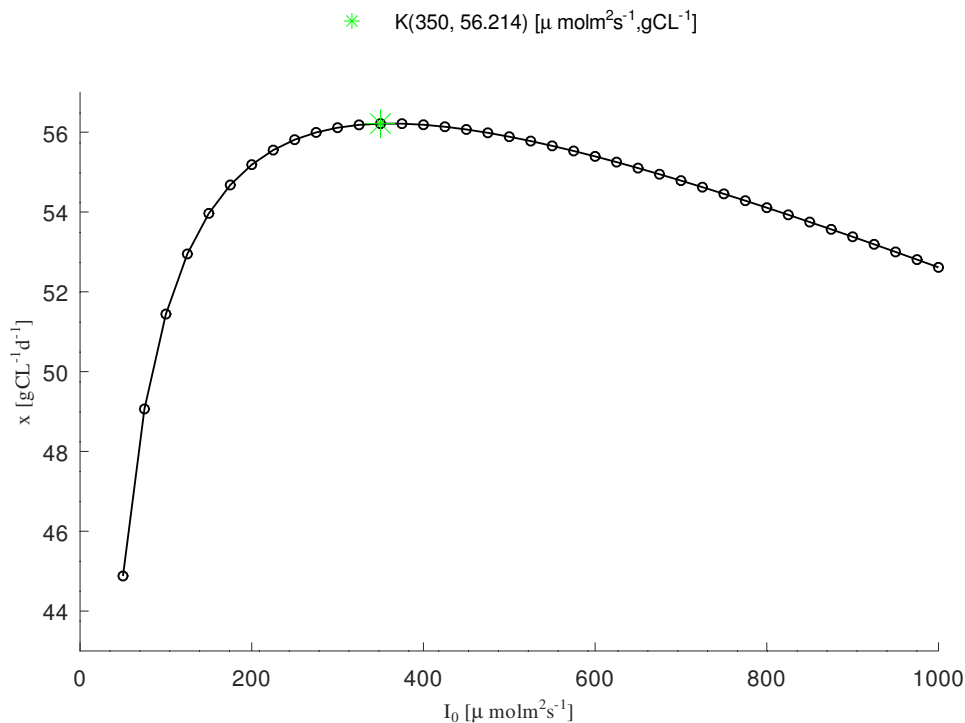


Figura 4.19: Mapa de productividad de la biomasa con respecto a variaciones del parámetro de la intensidad de luz (I_0) entre 0 y $1000 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*. Los parámetros de la simulación se muestran en la tabla (3.2). Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

El mapa de productividad muestra las simulaciones del rendimiento de la concentración de biomasa por unidad de tiempo de la cepa *Isochrysis galbana*. Los puntos de equilibrio anteriormente mostrados en la figura (4.19) fueron obtenidos a partir de variaciones del parámetro de intensidad de luz (I_0) entre 50 y $1000 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Los círculos representan el estado estacionario alcanzado multiplicado por la tasa de dilución ($D=0.1$). El punto $K(I_0, x)$ representado por el símbolo (*), señala el punto óptimo de intensidad de luz y de máxima productividad de biomasa. La máxima productividad de biomasa fue de $56.214 \text{ gCL}^{-1}\text{d}^{-1}$. El valor del parámetro de la intensidad de luz (I_0) óptimo para obtener el máximo rendimiento de biomasa fue de $350 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ dentro de las condiciones de simulación planteadas en el presente trabajo. La productividad de la concentración de biomasa decae para valores del parámetro (I_0) superiores a $350 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$.

En la figura 4.20 se muestra el mapa de productividad de la concentración de carbohidratos de la cepa *Isochrysis galbana* con respecto a cambios en el parámetro de la intensidad de luz (I_0).

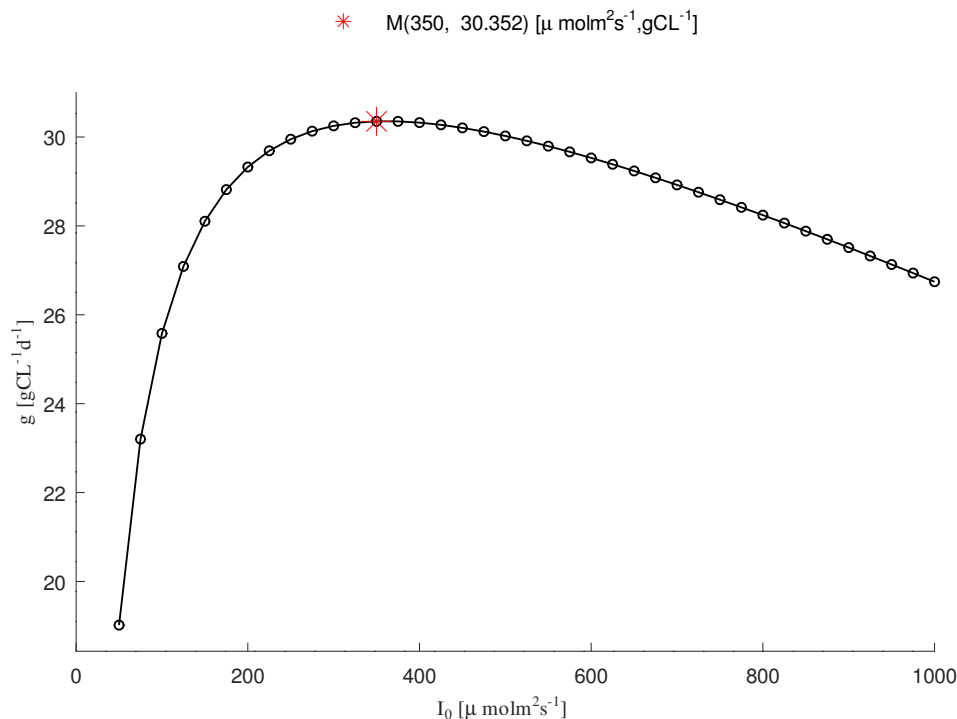


Figura 4.20: Mapa de productividad de la concentración de carbohidratos con respecto a variaciones del parámetro de la intensidad de luz (I_0) entre 0 y $1000 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*. Los parámetros de la simulación se muestran en la tabla (3.2). Simulación y gráficos preparados enGNU Octave versión 7.1.0.

El mapa de productividad muestra las simulaciones del rendimiento de la concentración de carbohidratos por unidad de tiempo de la cepa *Isochrysis galbana*. Los puntos de equilibrio anteriormente mostrados en la figura (4.19) fueron obtenidos a partir de variaciones del parámetro de intensidad de luz (I_0) entre 50 y $1000 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Los círculos representan el estado estacionario alcanzado en cada simulación, multiplicado por la tasa de dilución ($D=0.1$). El punto $M(I_0, x)$ representado por el símbolo (*), señala el punto óptimo de intensidad de luz y de máxima productividad de biomasa. La máxima productividad de carbohidratos fue de $30.352 \text{ gCL}^{-1}\text{d}^{-1}$. El valor del parámetro de la intensidad de luz (I_0) óptimo para obtener el máximo rendimiento de carbohidratos fue de $350 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ dentro de las condiciones de simulación planteadas en el presente trabajo. La productividad de la concentración de biomasa decae para valores del parámetro (I_0) superiores a $350 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$.

4.5.2. Análisis y resultados de la productividad de la concentración de biomasa y carbohidratos con respecto a la velocidad de dilución (D)

En la figura 4.21 se muestra el mapa de productividad de la concentración de biomasa de la cepa *Isochrysis galbana* con respecto a cambios en el parámetro de dilución (D).

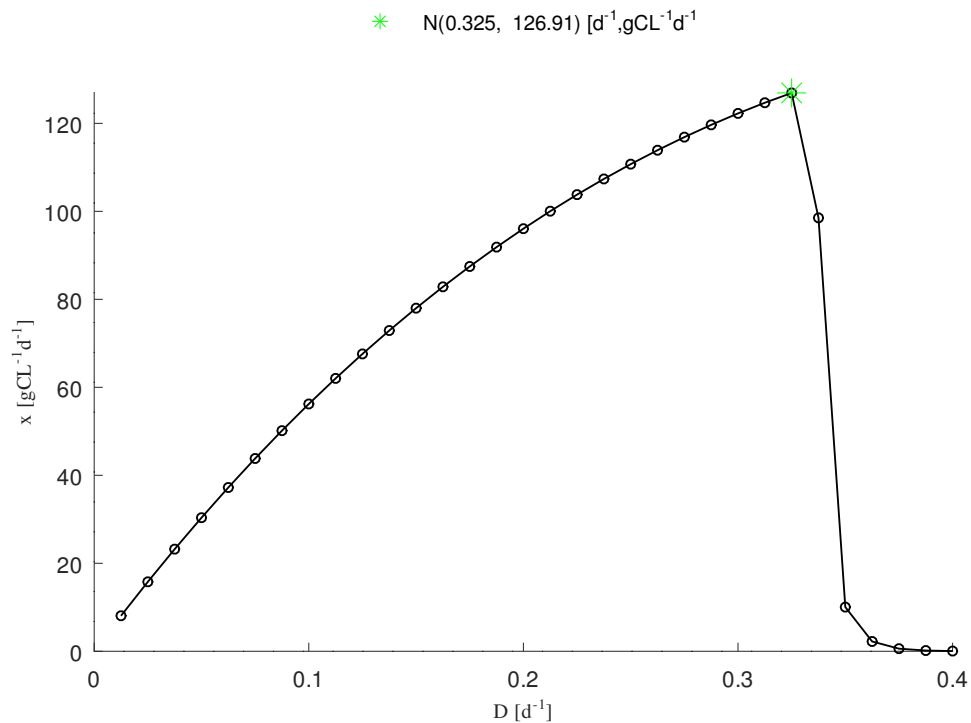


Figura 4.21: Mapa de productividad de la concentración de biomasa (x) con respecto a variaciones del parámetro de la dilución (D) entre 0.00625 y $0.4 d^{-1}$ en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*. Los parámetros de la simulación se muestran en la tabla (3.2). Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

El mapa de productividad muestra las simulaciones del rendimiento de la concentración de biomasa por unidad de tiempo de la cepa *Isochrysis galbana*. Los puntos de equilibrio anteriormente mostrados en la figura (4.21) fueron obtenidos a partir de variaciones del parámetro de la dilución (D) entre 0.0125 y $0.4 d^{-1}$. Los círculos representan el estado estacionario alcanzado en cada simulación, multiplicado por la tasa de dilución (D) correspondiente a cada ejecución entre 0.0125 y $0.4 \mu mol m^{-2} s^{-1}$. El punto $N(D, x)$ representado por el símbolo (*), señala el punto óptimo de dilución y de máxima productividad

de biomasa. La máxima productividad de biomasa fue de $126.91 \text{ gCL}^{-1}d^{-1}$. El valor del parámetro de la dilución (D) óptimo para obtener el máximo rendimiento de biomasa fue de $0.325 d^{-1}$ dentro de las condiciones de simulación planteadas en el presente trabajo. La productividad de la concentración de biomasa decae para valores del parámetro (D) superiores a $0.325 d^{-1}$.

En la figura 4.22 se muestra el mapa de productividad de la concentración de carbohidratos de la cepa *Isochrysis galbana* con respecto a cambios en el parámetro de dilución (D).

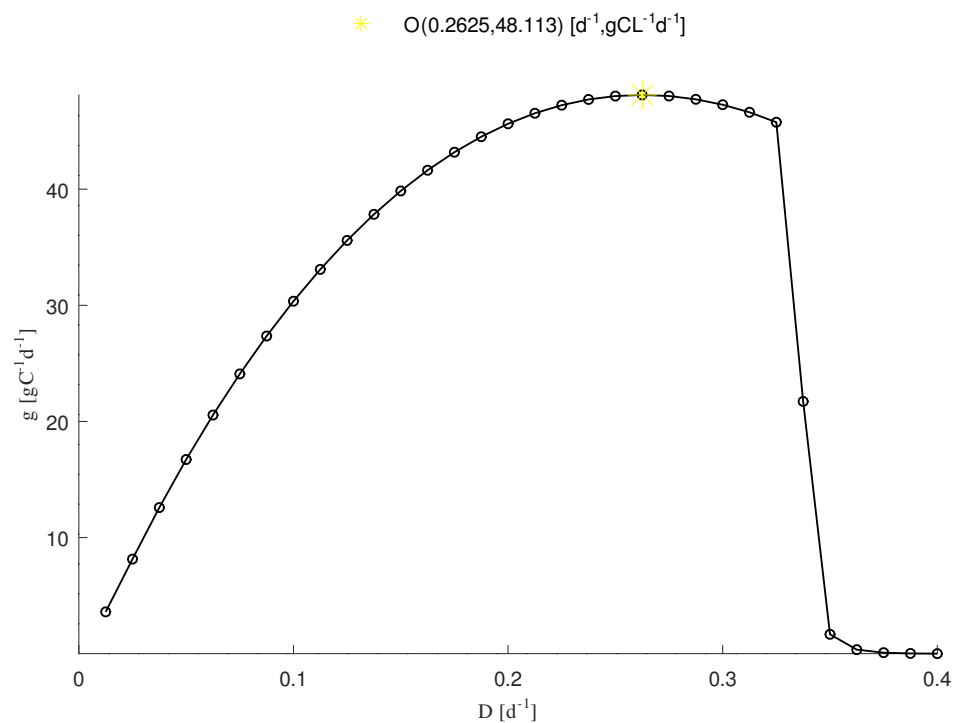


Figura 4.22: Mapa de productividad de la concentración de carbohidratos (g) con respecto a variaciones del parámetro de la dilución (D) entre 0.00625 y $0.4 d^{-1}$ en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*. Los parámetros de la simulación se muestran en la tabla (3.2). Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

El mapa de productividad muestra las simulaciones del rendimiento de la concentración de carbohidratos por unidad de tiempo de la cepa *Isochrysis galbana*. Los puntos de equilibrio anteriormente mostrados en la figura (4.22) fueron obtenidos a partir de variaciones del parámetro de la dilución (D) entre 0.0125 y $0.4 \mu molm^{-2}s^{-1}$. Los círculos representan el estado estacionario alcanzado en cada simulación, multiplicado por la tasa de dilución (D) correspondiente a cada ejecución entre 0.0125 y $0.4 d^{-1}$.

El punto $O(D, x)$ representado por el símbolo (*), señala el punto óptimo de dilución y de máxima productividad de carbohidratos. La máxima productividad de carbohidratos fue de $48.113 \text{ gC}^{-1}d^{-1}$. El valor del parámetro de la dilución (D) óptimo para obtener el máximo rendimiento de carbohidratos fue de 0.2625 d^{-1} dentro de las condiciones de simulación planteadas en el presente trabajo. La productividad de la concentración de carbohidratos decae para valores del parámetro (D) superiores a 0.2625 d^{-1} .

4.6. ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD PARA EL MODELO DE DROOP OPERADO EN MODO CONTINUO

En esta sección se presentan los resultados de las simulación dinámica de las funciones de sensibilidad que fueron calculadas de acuerdo a la metodología mostrada en la sección (3.7) para obtener estimaciones de primer orden del efecto de las variaciones de los parámetros en soluciones de las variables dinámicas del modelo de Droop en modo continuo considerando el efecto de la intensidad de la luz en las variables de estado y la dinámica de la cuota de carbohidratos que se dedujo en la sección (2.7.5).

El arreglo (4.49) muestra la nomenclatura de las variables involucradas en el análisis de sensibilidad.

$$x = \begin{bmatrix} \dot{x}_1 \\ \dot{x}_2 \\ \dot{x}_3 \\ \dot{x}_4 \\ \dot{x}_5 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \dot{x} \\ \dot{y} \\ \dot{z} \\ \dot{I}^* \\ \dot{g}_q \end{bmatrix} \quad (4.49)$$

El arreglo (4.50) muestra la representación de los parámetros denotados por el símbolo (λ) y el arreglo (4.51) muestra la representación de los parámetros nominales (λ_0) a evaluar.

$$\lambda = \begin{bmatrix} \lambda_1 & \lambda_6 & \lambda_{11} \\ \lambda_2 & \lambda_7 & \lambda_{12} \\ \lambda_3 & \lambda_8 & \lambda_{13} \\ \lambda_4 & \lambda_9 & \lambda_{14} \\ \lambda_5 & \lambda_{10} & \lambda_{15} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} D & K_{il} & \alpha \\ I_0 & \rho_m & \beta \\ \gamma_m & K_S & a \\ K_{SI}^* & zC_m & b \\ K_I^* & zC_0 & k_g \end{bmatrix} \quad (4.50)$$

$$\lambda_0 = \begin{bmatrix} \lambda_{0_1} & \lambda_{0_6} & \lambda_{0_{11}} \\ \lambda_{0_2} & \lambda_{0_7} & \lambda_{0_{12}} \\ \lambda_{0_3} & \lambda_{0_8} & \lambda_{0_{13}} \\ \lambda_{0_4} & \lambda_{0_9} & \lambda_{0_{14}} \\ \lambda_{0_5} & \lambda_{0_{10}} & \lambda_{0_{15}} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} D_0 & K_{iI_0} & \alpha_0 \\ I_{0_0} & \rho_{m_0} & \beta_0 \\ \gamma_{m_0} & K_{s_0} & a_0 \\ K_{sI_0^*} & zc_{m0} & b_0 \\ K_{I_0^*} & zc_{0_0} & k_{g_0} \end{bmatrix} \Big|_{\text{nominal}} \quad (4.51)$$

El sistema de ecuaciones (4.52) muestra la representación del modelo de Droop para sistemas de cultivo continuo considerando los parámetros nominales revisados en el arreglo (4.51).

$$\begin{aligned} \dot{x} &= \mu(I_{0_0}, I^*, x, z, \lambda_0)x - D_0x - R_0x \\ \dot{y} &= Dy_{in_0} - \rho(y, z, \lambda_0)x - D_0y \\ \dot{z} &= \rho(y, z, \lambda_0) - \bar{\mu}(I_{0_0}, I^*, x, z, \lambda_0)(z - zc_{0_0}) \\ \dot{q}_g &= (1 - \beta_0z - g_q)\mu(I_{0_0}, I^*, x, z, \lambda_0) - \alpha_0\rho(y, z, \lambda_0) + R(q_g - 1) \\ \dot{I}^* &= \mu(I_{0_0}, I^*, x, z, \lambda_0) [\bar{I}(I_0) - I^*] \end{aligned} \quad (4.52)$$

Los arreglos 4.53 y 4.54 muestran de manera resumida a los elementos de las matrices Jacobianas $J_{A_{i,j}}$ y $J_{B_{i,j}}$ obtenidas para llevar a cabo el computo de la ecuación de sensibilidad descrito en la sección 3.7. Los elementos matriciales se denotan como [A(1,n)... A(m,n)] y [B(1,n)... B(m,n)], con n=15 y m=5.

$$J_{A_{i,j}} = \frac{\partial f_i(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial \lambda_j} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial x_1} & \dots & \frac{\partial f_1(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial x_n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_m(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial x_1} & \dots & \frac{\partial f_m(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial x_n} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A(1,1) & \dots & A(1,n) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ A(m,1) & \dots & A(m,n) \end{bmatrix} \quad (4.53)$$

$$J_{B_{i,j}} = \frac{\partial f_i(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial \lambda_j} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial x_1} & \cdots & \frac{\partial f_1(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial x_n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_m(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial x_1} & \cdots & \frac{\partial f_m(\mathbf{x}, \mathbf{t}, \lambda)}{\partial x_n} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} B(1,1) & \cdots & B(1,n) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ B(m,1) & \cdots & B(m,n) \end{bmatrix} \quad (4.54)$$

Los arreglos 4.6 y 4.6 muestran la representación de las matrices Jacobianas evaluadas en los valores de los parámetros nominales denotados en 4.52 Los símbolos ϑ y ϖ representan a los elementos A y B evaluados en los parámetros nominales. Las ecuaciones de los elementos de $J_{\vartheta_{i,j}}$ y $J_{\varpi_{i,j}}$ se pueden encontrar el en Anexo (E).

$$J_{\vartheta_{i,j}}|_{\text{nominal}} = \begin{bmatrix} \vartheta(1,1) & \cdots & \vartheta(1,n) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \vartheta(m,1) & \cdots & \vartheta(m,n) \end{bmatrix}$$

y

$$J_{\varpi_{i,j}}|_{\text{nominal}} = \begin{bmatrix} \varpi(1,1) & \cdots & \varpi(1,n) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \varpi(m,1) & \cdots & \varpi(m,n) \end{bmatrix}$$

Una vez obtenidas las matrices Jacobianas correspondientes, se llevo a cabo la obtención de las ecuaciones dinámicas de sensibilidad como se muestra en el sistema 4.55 para su posterior solución numérica.

$$\dot{x}_1 = f(t, x, \lambda) \quad x(t_0) = x_0 \quad (4.55)$$

$$\dot{x}_\lambda = \left[\frac{\partial f(t,x,\lambda)}{\partial x} \right] x_\lambda + \left[\frac{\partial f(t,x,\lambda)}{\partial \lambda} \right] \quad x_\lambda(t_0) = 0$$

Los arreglos (4.56), (4.57), y (4.58) muestran las ecuaciones dinámicas de sensibilidad del modelo de Droop considerando los efectos de la velocidad de dilución y la intensidad de la luz.

$$\begin{aligned}
\dot{x}_6 &= \vartheta(1,1)x_6 + \vartheta(1,2)x_7 + \vartheta(1,3)x_8 + \vartheta(1,4)x_9 + \vartheta(1,5)x_{10} + \varpi(1,1) & x_6(0) &= 0 \\
\dot{x}_7 &= \vartheta(2,1)x_6 + \vartheta(2,2)x_7 + \vartheta(2,3)x_8 + \vartheta(2,4)x_9 + \vartheta(2,5)x_{10} + \varpi(2,1) & x_7(0) &= 0 \\
\dot{x}_8 &= \vartheta(3,1)x_6 + \vartheta(3,2)x_7 + \vartheta(3,3)x_8 + \vartheta(3,4)x_9 + \vartheta(3,5)x_{10} + \varpi(3,1) & x_8(0) &= 0 \\
\dot{x}_9 &= \vartheta(4,1)x_6 + \vartheta(4,2)x_7 + \vartheta(4,3)x_8 + \vartheta(4,4)x_9 + \vartheta(4,5)x_{10} + \varpi(4,1) & x_9(0) &= 0 \\
\dot{x}_{10} &= \vartheta(5,1)x_6 + \vartheta(5,2)x_7 + \vartheta(5,3)x_8 + \vartheta(5,4)x_9 + \vartheta(5,5)x_{10} + \varpi(5,1) & x_{10}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{11} &= \vartheta(1,1)x_{11} + \vartheta(1,2)x_{12} + \vartheta(1,3)x_{13} + \vartheta(1,4)x_{14} + \vartheta(1,5)x_{15} + \varpi(1,2) & x_{11}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{12} &= \vartheta(2,1)x_{11} + \vartheta(2,2)x_{12} + \vartheta(2,3)x_{13} + \vartheta(2,4)x_{14} + \vartheta(2,5)x_{15} + \varpi(2,2) & x_{12}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{13} &= \vartheta(3,1)x_{11} + \vartheta(3,2)x_{12} + \vartheta(3,3)x_{13} + \vartheta(3,4)x_{14} + \vartheta(3,5)x_{15} + \varpi(3,2) & x_{13}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{14} &= \vartheta(4,1)x_{11} + \vartheta(4,2)x_{12} + \vartheta(4,3)x_{13} + \vartheta(4,4)x_{14} + \vartheta(4,5)x_{15} + \varpi(4,2) & x_{14}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{15} &= \vartheta(5,1)x_{11} + \vartheta(5,2)x_{12} + \vartheta(5,3)x_{13} + \vartheta(5,4)x_{14} + \vartheta(5,5)x_{15} + \varpi(5,2) & x_{15}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{16} &= \vartheta(1,1)x_{16} + \vartheta(1,2)x_{17} + \vartheta(1,3)x_{18} + \vartheta(1,4)x_{19} + \vartheta(1,5)x_{20} + \varpi(1,3) & x_{16}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{17} &= \vartheta(2,1)x_{16} + \vartheta(2,2)x_{17} + \vartheta(2,3)x_{18} + \vartheta(2,4)x_{19} + \vartheta(2,5)x_{20} + \varpi(2,3) & x_{17}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{18} &= \vartheta(3,1)x_{16} + \vartheta(3,2)x_{17} + \vartheta(3,3)x_{18} + \vartheta(3,4)x_{19} + \vartheta(3,5)x_{20} + \varpi(3,3) & x_{18}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{19} &= \vartheta(4,1)x_{16} + \vartheta(4,2)x_{17} + \vartheta(4,3)x_{18} + \vartheta(4,4)x_{19} + \vartheta(4,5)x_{20} + \varpi(4,3) & x_{19}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{20} &= \vartheta(5,1)x_{16} + \vartheta(5,2)x_{17} + \vartheta(5,3)x_{18} + \vartheta(5,4)x_{19} + \vartheta(5,5)x_{20} + \varpi(5,3) & x_{20}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{21} &= \vartheta(1,1)x_{21} + \vartheta(1,2)x_{22} + \vartheta(1,3)x_{23} + \vartheta(1,4)x_{24} + \vartheta(1,5)x_{25} + \varpi(1,4) & x_{21}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{22} &= \vartheta(2,1)x_{21} + \vartheta(2,2)x_{22} + \vartheta(2,3)x_{23} + \vartheta(2,4)x_{24} + \vartheta(2,5)x_{25} + \varpi(2,4) & x_{22}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{23} &= \vartheta(3,1)x_{21} + \vartheta(3,2)x_{22} + \vartheta(3,3)x_{23} + \vartheta(3,4)x_{24} + \vartheta(3,5)x_{25} + \varpi(3,4) & x_{23}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{24} &= \vartheta(4,1)x_{21} + \vartheta(4,2)x_{22} + \vartheta(4,3)x_{23} + \vartheta(4,4)x_{24} + \vartheta(4,5)x_{25} + \varpi(4,4) & x_{24}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{25} &= \vartheta(5,1)x_{21} + \vartheta(5,2)x_{22} + \vartheta(5,3)x_{23} + \vartheta(5,4)x_{24} + \vartheta(5,5)x_{25} + \varpi(5,4) & x_{25}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{26} &= \vartheta(1,1)x_{26} + \vartheta(1,2)x_{27} + \vartheta(1,3)x_{28} + \vartheta(1,4)x_{29} + \vartheta(1,5)x_{30} + \varpi(1,5) & x_{26}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{27} &= \vartheta(2,1)x_{26} + \vartheta(2,2)x_{27} + \vartheta(2,3)x_{28} + \vartheta(2,4)x_{29} + \vartheta(2,5)x_{30} + \varpi(2,5) & x_{27}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{28} &= \vartheta(3,1)x_{26} + \vartheta(3,2)x_{27} + \vartheta(3,3)x_{28} + \vartheta(3,4)x_{29} + \vartheta(3,5)x_{30} + \varpi(3,5) & x_{28}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{29} &= \vartheta(4,1)x_{26} + \vartheta(4,2)x_{27} + \vartheta(4,3)x_{28} + \vartheta(4,4)x_{29} + \vartheta(4,5)x_{30} + \varpi(4,5) & x_{29}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{30} &= \vartheta(5,1)x_{26} + \vartheta(5,2)x_{27} + \vartheta(5,3)x_{28} + \vartheta(5,4)x_{29} + \vartheta(5,5)x_{30} + \varpi(5,5) & x_{30}(0) &= 0
\end{aligned}
\tag{4.56}$$

$$\begin{aligned}
\dot{x}_{31} &= \vartheta(1,1)x_{31} + \vartheta(1,2)x_{32} + \vartheta(1,3)x_{33} + \vartheta(1,4)x_{34} + \vartheta(1,5)x_{35} + \varpi(1,6) & x_{31}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{32} &= \vartheta(2,1)x_{31} + \vartheta(2,2)x_{32} + \vartheta(2,3)x_{33} + \vartheta(2,4)x_{34} + \vartheta(2,5)x_{35} + \varpi(2,6) & x_{32}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{33} &= \vartheta(3,1)x_{31} + \vartheta(3,2)x_{32} + \vartheta(3,3)x_{33} + \vartheta(3,4)x_{34} + \vartheta(3,5)x_{35} + \varpi(3,6) & x_{33}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{34} &= \vartheta(4,1)x_{31} + \vartheta(4,2)x_{32} + \vartheta(4,3)x_{33} + \vartheta(4,4)x_{34} + \vartheta(4,5)x_{35} + \varpi(4,6) & x_{34}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{35} &= \vartheta(5,1)x_{31} + \vartheta(5,2)x_{32} + \vartheta(5,3)x_{33} + \vartheta(5,4)x_{34} + \vartheta(5,5)x_{35} + \varpi(5,6) & x_{35}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{36} &= \vartheta(1,1)x_{36} + \vartheta(1,2)x_{37} + \vartheta(1,3)x_{38} + \vartheta(1,4)x_{39} + \vartheta(1,5)x_{40} + \varpi(1,7) & x_{36}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{37} &= \vartheta(2,1)x_{36} + \vartheta(2,2)x_{37} + \vartheta(2,3)x_{38} + \vartheta(2,4)x_{39} + \vartheta(2,5)x_{40} + \varpi(2,7) & x_{37}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{38} &= \vartheta(3,1)x_{36} + \vartheta(3,2)x_{37} + \vartheta(3,3)x_{38} + \vartheta(3,4)x_{39} + \vartheta(3,5)x_{40} + \varpi(3,7) & x_{38}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{39} &= \vartheta(4,1)x_{36} + \vartheta(4,2)x_{37} + \vartheta(4,3)x_{38} + \vartheta(4,4)x_{39} + \vartheta(4,5)x_{40} + \varpi(4,7) & x_{39}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{40} &= \vartheta(5,1)x_{36} + \vartheta(5,2)x_{37} + \vartheta(5,3)x_{38} + \vartheta(5,4)x_{39} + \vartheta(5,5)x_{40} + \varpi(5,7) & x_{40}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{41} &= \vartheta(1,1)x_{41} + \vartheta(1,2)x_{42} + \vartheta(1,3)x_{43} + \vartheta(1,4)x_{44} + \vartheta(1,5)x_{45} + \varpi(1,8) & x_{41}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{42} &= \vartheta(2,1)x_{41} + \vartheta(2,2)x_{42} + \vartheta(2,3)x_{43} + \vartheta(2,4)x_{44} + \vartheta(2,5)x_{45} + \varpi(2,8) & x_{42}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{43} &= \vartheta(3,1)x_{41} + \vartheta(3,2)x_{42} + \vartheta(3,3)x_{43} + \vartheta(3,4)x_{44} + \vartheta(3,5)x_{45} + \varpi(3,8) & x_{43}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{44} &= \vartheta(4,1)x_{41} + \vartheta(4,2)x_{42} + \vartheta(4,3)x_{43} + \vartheta(4,4)x_{44} + \vartheta(4,5)x_{45} + \varpi(4,8) & x_{44}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{45} &= \vartheta(5,1)x_{41} + \vartheta(5,2)x_{42} + \vartheta(5,3)x_{43} + \vartheta(5,4)x_{44} + \vartheta(5,5)x_{45} + \varpi(5,8) & x_{45}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{46} &= \vartheta(1,1)x_{46} + \vartheta(1,2)x_{47} + \vartheta(1,3)x_{48} + \vartheta(1,4)x_{49} + \vartheta(1,5)x_{50} + \varpi(1,9) & x_{46}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{47} &= \vartheta(2,1)x_{46} + \vartheta(2,2)x_{47} + \vartheta(2,3)x_{48} + \vartheta(2,4)x_{49} + \vartheta(2,5)x_{50} + \varpi(2,9) & x_{47}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{48} &= \vartheta(3,1)x_{46} + \vartheta(3,2)x_{47} + \vartheta(3,3)x_{48} + \vartheta(3,4)x_{49} + \vartheta(3,5)x_{50} + \varpi(3,9) & x_{48}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{49} &= \vartheta(4,1)x_{46} + \vartheta(4,2)x_{47} + \vartheta(4,3)x_{48} + \vartheta(4,4)x_{49} + \vartheta(4,5)x_{50} + \varpi(4,9) & x_{49}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{50} &= \vartheta(5,1)x_{46} + \vartheta(5,2)x_{47} + \vartheta(5,3)x_{48} + \vartheta(5,4)x_{49} + \vartheta(5,5)x_{50} + \varpi(5,9) & x_{50}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{51} &= \vartheta(1,1)x_{51} + \vartheta(1,2)x_{52} + \vartheta(1,3)x_{53} + \vartheta(1,4)x_{54} + \vartheta(1,5)x_{55} + \varpi(1,10) & x_{51}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{52} &= \vartheta(2,1)x_{51} + \vartheta(2,2)x_{52} + \vartheta(2,3)x_{53} + \vartheta(2,4)x_{54} + \vartheta(2,5)x_{55} + \varpi(2,10) & x_{52}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{53} &= \vartheta(3,1)x_{51} + \vartheta(3,2)x_{52} + \vartheta(3,3)x_{53} + \vartheta(3,4)x_{54} + \vartheta(3,5)x_{55} + \varpi(3,10) & x_{53}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{54} &= \vartheta(4,1)x_{51} + \vartheta(4,2)x_{52} + \vartheta(4,3)x_{53} + \vartheta(4,4)x_{54} + \vartheta(4,5)x_{55} + \varpi(4,10) & x_{54}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{55} &= \vartheta(5,1)x_{51} + \vartheta(5,2)x_{52} + \vartheta(5,3)x_{53} + \vartheta(5,4)x_{54} + \vartheta(5,5)x_{55} + \varpi(5,10) & x_{55}(0) &= 0
\end{aligned}
\tag{4.57}$$

$$\begin{aligned}
\dot{x}_{56} &= \vartheta(1,1)x_{56} + \vartheta(1,2)x_{57} + \vartheta(1,3)x_{58} + \vartheta(1,4)x_{59} + \vartheta(1,5)x_{60} + \varpi(1,11) & x_{56}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{57} &= \vartheta(2,1)x_{56} + \vartheta(2,2)x_{57} + \vartheta(2,3)x_{58} + \vartheta(2,4)x_{59} + \vartheta(2,5)x_{60} + \varpi(2,11) & x_{57}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{58} &= \vartheta(3,1)x_{56} + \vartheta(3,2)x_{57} + \vartheta(3,3)x_{58} + \vartheta(3,4)x_{59} + \vartheta(3,5)x_{60} + \varpi(3,11) & x_{58}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{59} &= \vartheta(4,1)x_{56} + \vartheta(4,2)x_{57} + \vartheta(4,3)x_{58} + \vartheta(4,4)x_{59} + \vartheta(4,5)x_{60} + \varpi(4,11) & x_{59}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{60} &= \vartheta(5,1)x_{56} + \vartheta(5,2)x_{57} + \vartheta(5,3)x_{58} + \vartheta(5,4)x_{59} + \vartheta(5,5)x_{60} + \varpi(5,11) & x_{60}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{61} &= \vartheta(1,1)x_{61} + \vartheta(1,2)x_{62} + \vartheta(1,3)x_{63} + \vartheta(1,4)x_{64} + \vartheta(1,5)x_{65} + \varpi(1,12) & x_{61}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{62} &= \vartheta(2,1)x_{61} + \vartheta(2,2)x_{62} + \vartheta(2,3)x_{63} + \vartheta(2,4)x_{64} + \vartheta(2,5)x_{65} + \varpi(2,12) & x_{62}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{63} &= \vartheta(3,1)x_{61} + \vartheta(3,2)x_{62} + \vartheta(3,3)x_{63} + \vartheta(3,4)x_{64} + \vartheta(3,5)x_{65} + \varpi(3,12) & x_{63}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{64} &= \vartheta(4,1)x_{61} + \vartheta(4,2)x_{62} + \vartheta(4,3)x_{63} + \vartheta(4,4)x_{64} + \vartheta(4,5)x_{65} + \varpi(4,12) & x_{64}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{65} &= \vartheta(5,1)x_{61} + \vartheta(5,2)x_{62} + \vartheta(5,3)x_{63} + \vartheta(5,4)x_{64} + \vartheta(5,5)x_{65} + \varpi(5,12) & x_{65}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{66} &= \vartheta(1,1)x_{66} + \vartheta(1,2)x_{67} + \vartheta(1,3)x_{68} + \vartheta(1,4)x_{69} + \vartheta(1,5)x_{70} + \varpi(1,13) & x_{66}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{67} &= \vartheta(2,1)x_{66} + \vartheta(2,2)x_{67} + \vartheta(2,3)x_{68} + \vartheta(2,4)x_{69} + \vartheta(2,5)x_{70} + \varpi(2,13) & x_{67}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{68} &= \vartheta(3,1)x_{66} + \vartheta(3,2)x_{67} + \vartheta(3,3)x_{68} + \vartheta(3,4)x_{69} + \vartheta(3,5)x_{70} + \varpi(3,13) & x_{68}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{69} &= \vartheta(4,1)x_{66} + \vartheta(4,2)x_{67} + \vartheta(4,3)x_{68} + \vartheta(4,4)x_{69} + \vartheta(4,5)x_{70} + \varpi(4,13) & x_{69}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{70} &= \vartheta(5,1)x_{66} + \vartheta(5,2)x_{67} + \vartheta(5,3)x_{68} + \vartheta(5,4)x_{69} + \vartheta(5,5)x_{70} + \varpi(5,13) & x_{70}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{71} &= \vartheta(1,1)x_{71} + \vartheta(1,2)x_{72} + \vartheta(1,3)x_{73} + \vartheta(1,4)x_{74} + \vartheta(1,5)x_{75} + \varpi(1,14) & x_{71}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{72} &= \vartheta(2,1)x_{71} + \vartheta(2,2)x_{72} + \vartheta(2,3)x_{73} + \vartheta(2,4)x_{74} + \vartheta(2,5)x_{75} + \varpi(2,14) & x_{72}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{73} &= \vartheta(3,1)x_{71} + \vartheta(3,2)x_{72} + \vartheta(3,3)x_{73} + \vartheta(3,4)x_{74} + \vartheta(3,5)x_{75} + \varpi(3,14) & x_{73}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{74} &= \vartheta(4,1)x_{71} + \vartheta(4,2)x_{72} + \vartheta(4,3)x_{73} + \vartheta(4,4)x_{74} + \vartheta(4,5)x_{75} + \varpi(4,14) & x_{74}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{75} &= \vartheta(5,1)x_{71} + \vartheta(5,2)x_{72} + \vartheta(5,3)x_{73} + \vartheta(5,4)x_{74} + \vartheta(5,5)x_{75} + \varpi(5,14) & x_{75}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{76} &= \vartheta(1,1)x_{76} + \vartheta(1,2)x_{77} + \vartheta(1,3)x_{78} + \vartheta(1,4)x_{79} + \vartheta(1,5)x_{80} + \varpi(1,15) & x_{76}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{77} &= \vartheta(2,1)x_{76} + \vartheta(2,2)x_{77} + \vartheta(2,3)x_{78} + \vartheta(2,4)x_{79} + \vartheta(2,5)x_{80} + \varpi(2,15) & x_{77}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{78} &= \vartheta(3,1)x_{76} + \vartheta(3,2)x_{77} + \vartheta(3,3)x_{78} + \vartheta(3,4)x_{79} + \vartheta(3,5)x_{80} + \varpi(3,15) & x_{78}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{79} &= \vartheta(4,1)x_{76} + \vartheta(4,2)x_{77} + \vartheta(4,3)x_{78} + \vartheta(4,4)x_{79} + \vartheta(4,5)x_{80} + \varpi(4,15) & x_{79}(0) &= 0 \\
\dot{x}_{80} &= \vartheta(5,1)x_{76} + \vartheta(5,2)x_{77} + \vartheta(5,3)x_{78} + \vartheta(5,4)x_{79} + \vartheta(5,5)x_{80} + \varpi(5,15) & x_{80}(0) &= 0
\end{aligned}
\tag{4.58}$$

El arreglo (4.59) muestra la representación de las soluciones de las funciones de sensibilidad $x_n \dots x_m$. Cada elemento del arreglo (S) representa la variación de las variables de estado con respecto a cada uno de los parámetros respecto al orden mostrado en el arreglo (H) 4.60. La solución numérica de las funciones de sensibilidad se evaluó para tres condiciones iniciales mostradas en la tabla (3.5). Los parámetros de la simulación se muestran en la tabla (3.2). Las simulaciones se llevaron a cabo utilizando los valores óptimos encontrados en el análisis de productividad, correspondientes a una velocidad de dilución de $0.2625 d^{-1}$ y a una intensidad de luz de $350 \mu mol m^{-2} s^{-1}$.

$$S = \begin{bmatrix} x_6 & x_{11} & x_{16} & x_{21} & x_{26} & x_{31} & x_{36} & x_{41} & x_{46} & x_{51} & x_{56} & x_{61} & x_{66} & x_{71} & x_{76} \\ x_7 & x_{12} & x_{17} & x_{22} & x_{27} & x_{32} & x_{37} & x_{42} & x_{47} & x_{52} & x_{57} & x_{62} & x_{67} & x_{72} & x_{77} \\ x_8 & x_{13} & x_{18} & x_{23} & x_{28} & x_{33} & x_{38} & x_{43} & x_{48} & x_{53} & x_{58} & x_{63} & x_{68} & x_{73} & x_{78} \\ x_9 & x_{14} & x_{19} & x_{24} & x_{29} & x_{34} & x_{39} & x_{44} & x_{49} & x_{54} & x_{59} & x_{64} & x_{69} & x_{74} & x_{79} \\ x_{10} & x_{15} & x_{20} & x_{25} & x_{30} & x_{35} & x_{40} & x_{45} & x_{50} & x_{55} & x_{60} & x_{65} & x_{70} & x_{75} & x_{80} \end{bmatrix} = H \quad (4.59)$$

$$H = \begin{bmatrix} \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_1} & \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_2} & \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_3} & \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_4} & \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_5} & \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_6} & \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_7} & \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_8} & \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_9} & \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_{10}} & \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_{11}} & \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_{12}} & \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_{13}} & \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_{14}} & \frac{\partial x_1}{\partial \lambda_{15}} \\ \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_1} & \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_2} & \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_3} & \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_4} & \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_5} & \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_6} & \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_7} & \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_8} & \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_9} & \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_{10}} & \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_{11}} & \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_{12}} & \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_{13}} & \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_{14}} & \frac{\partial x_2}{\partial \lambda_{15}} \\ \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_1} & \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_2} & \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_3} & \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_4} & \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_5} & \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_6} & \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_7} & \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_8} & \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_9} & \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_{10}} & \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_{11}} & \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_{12}} & \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_{13}} & \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_{14}} & \frac{\partial x_3}{\partial \lambda_{15}} \\ \frac{\partial x_4}{\partial \lambda_1} & \frac{\partial x_4}{\partial \lambda_2} & \frac{\partial x_4}{\partial \lambda_3} & \frac{\partial x_4}{\partial \lambda_4} & \frac{\partial x_4}{\partial \lambda_5} & \frac{\partial x_4}{\partial \lambda_6} & \frac{\partial x_4}{\partial \lambda_7} & \frac{\partial x_4}{\partial \lambda_8} & \frac{\partial x_4}{\partial \lambda_9} & \frac{\partial x_4}{\partial \lambda_{10}} & \frac{\partial x_4}{\partial \lambda_{11}} & \frac{\partial x_4}{\partial \lambda_{12}} & \frac{\partial x_4}{\partial \lambda_{13}} & \frac{\partial x_4}{\partial \lambda_{14}} & \frac{\partial x_4}{\partial \lambda_{15}} \\ \frac{\partial x_5}{\partial \lambda_1} & \frac{\partial x_5}{\partial \lambda_2} & \frac{\partial x_5}{\partial \lambda_3} & \frac{\partial x_5}{\partial \lambda_4} & \frac{\partial x_5}{\partial \lambda_5} & \frac{\partial x_5}{\partial \lambda_6} & \frac{\partial x_5}{\partial \lambda_7} & \frac{\partial x_5}{\partial \lambda_8} & \frac{\partial x_5}{\partial \lambda_9} & \frac{\partial x_5}{\partial \lambda_{10}} & \frac{\partial x_5}{\partial \lambda_{11}} & \frac{\partial x_5}{\partial \lambda_{12}} & \frac{\partial x_5}{\partial \lambda_{13}} & \frac{\partial x_5}{\partial \lambda_{14}} & \frac{\partial x_5}{\partial \lambda_{15}} \\ \frac{\partial \lambda_1}{\partial \lambda_1} & \frac{\partial \lambda_2}{\partial \lambda_2} & \frac{\partial \lambda_3}{\partial \lambda_3} & \frac{\partial \lambda_4}{\partial \lambda_4} & \frac{\partial \lambda_5}{\partial \lambda_5} & \frac{\partial \lambda_6}{\partial \lambda_6} & \frac{\partial \lambda_7}{\partial \lambda_7} & \frac{\partial \lambda_8}{\partial \lambda_8} & \frac{\partial \lambda_9}{\partial \lambda_9} & \frac{\partial \lambda_{10}}{\partial \lambda_{10}} & \frac{\partial \lambda_{11}}{\partial \lambda_{11}} & \frac{\partial \lambda_{12}}{\partial \lambda_{12}} & \frac{\partial \lambda_{13}}{\partial \lambda_{13}} & \frac{\partial \lambda_{14}}{\partial \lambda_{14}} & \frac{\partial \lambda_{15}}{\partial \lambda_{15}} \end{bmatrix} \quad (4.60)$$

La figura (4.23) muestra el resultado de la simulación numérica de la producción de biomasa en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana* en diferentes condiciones iniciales.

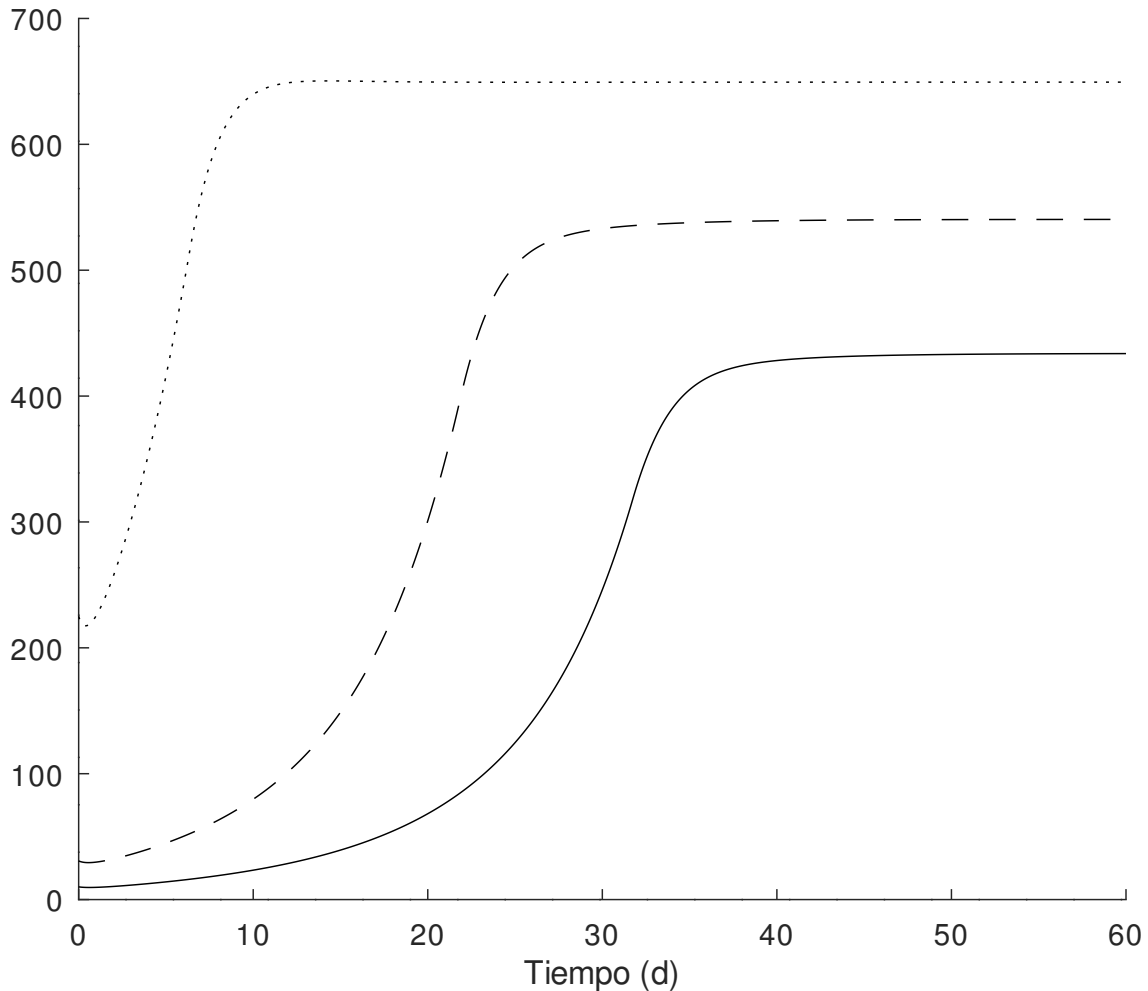


Figura 4.23: Simulación numérica de la biomasa en condiciones iniciales diferentes. La línea discontinua, continua y punteada muestran los resultados gráficos de las simulaciones con respecto a las condiciones iniciales: c_1 , c_2 y c_3 respectivamente. Las condiciones iniciales y parámetros nominales de las soluciones numéricas se pueden ver en las tablas 3.5 y 3.2. Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

La inspección de la figura 4.24 muestra que la solución de x_1 en orden de importancia es más sensible a variaciones de los parámetros: zc_0 , ρ_m , D y zc_m que a las variaciones en los parámetros de I_0 , γ_m , K_{sl}^* , K_I^* , K_{il} , K_S , α , β , a , b y k_g . Este patrón es consistente cuando se resolvió el sistema para otras condiciones iniciales.

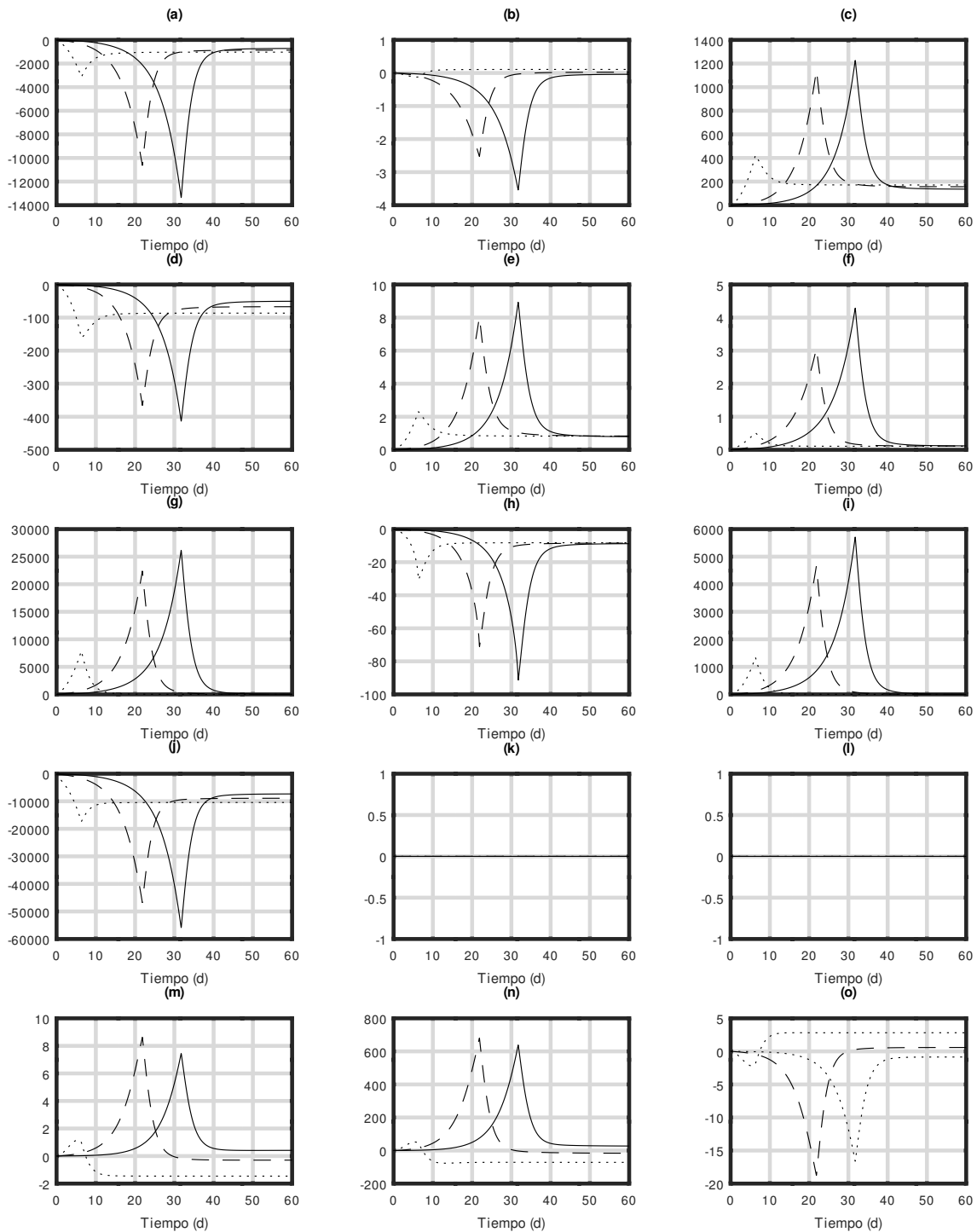


Figura 4.24: Simulación numérica de las funciones de sensibilidad: $x_6, x_{11}, x_{16}, x_{21}, x_{26}, x_{31}, x_{36}, x_{41}, x_{46}, x_{51}, x_{56}, x_{61}, x_{66}, x_{71}$ y x_{76} correspondientes a las sensibilidades de la biomasa (x_1) con respecto a los parámetros: (a) D , (b) I_0 , (c) γ_m , (d) K_{SI}^* , (e) K_I^* , (f) K_{II} , (g) ρ_m , (h) K_S , (i) z_{c_m} , (j) z_{c_0} , (k) α , (l) β , (m) a , (n) b y (o) k_g respectivamente. La línea discontinua, continua y punteada muestran los resultados gráficos de las simulaciones con respecto a las condiciones iniciales: c_1, c_2 y c_3 respectivamente. Las condiciones iniciales y parámetros nominales de las soluciones numéricas se pueden ver en las tablas 3.5 y 3.2. Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

La figura (4.25) muestra el resultado de la simulación numérica del consumo externo de nutrientes en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana* en diferentes condiciones iniciales.

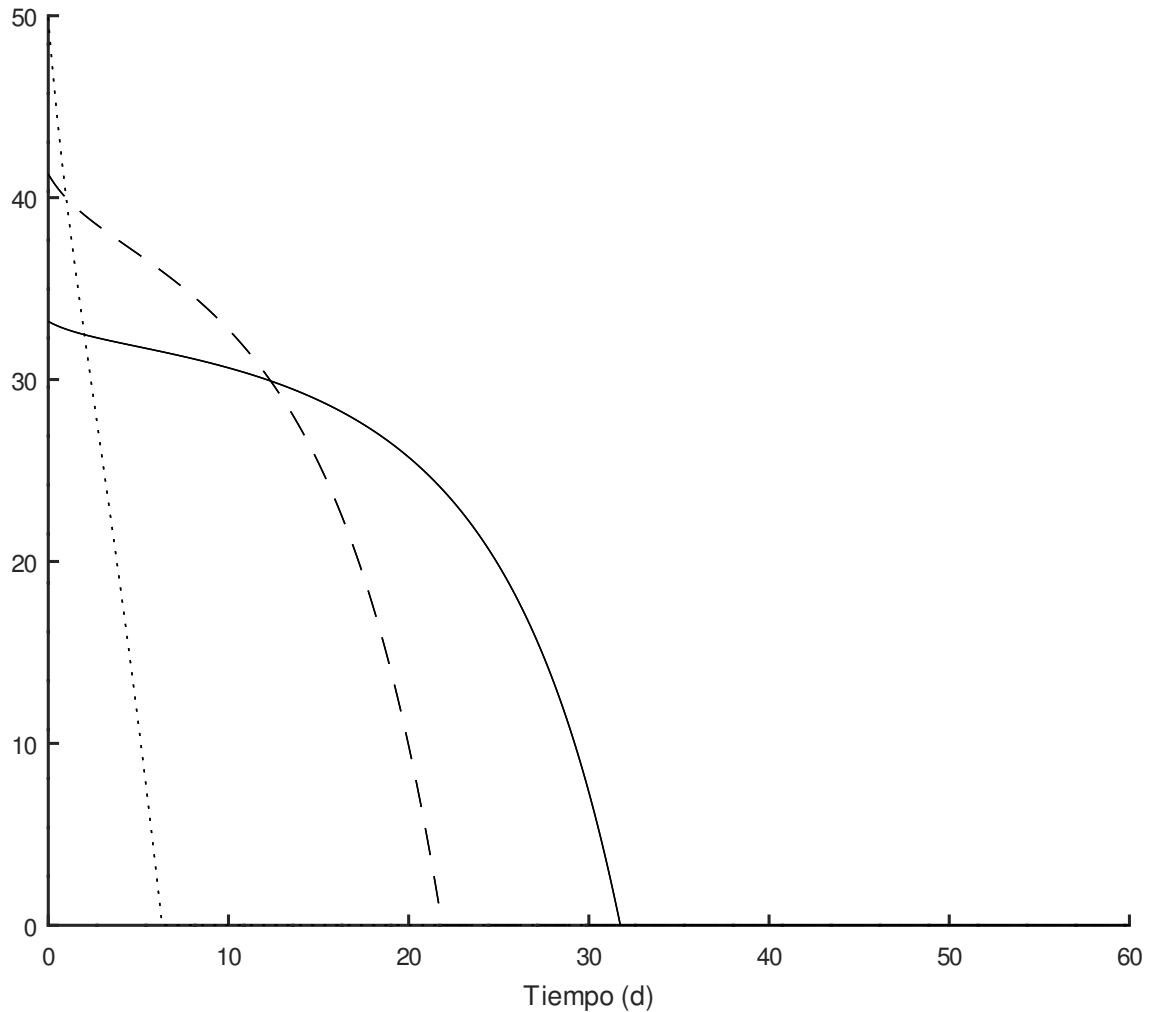


Figura 4.25: Simulación numérica del nutriente externo en condiciones iniciales diferentes. La línea discontinua, continua y punteada muestran los resultados gráficos de las simulaciones con respecto a las condiciones iniciales: c_1 , c_2 y c_3 respectivamente. Las condiciones iniciales y parámetros nominales de las soluciones numéricas se pueden ver en las tablas 3.5 y 3.2. Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

La inspección de la figura 4.26 mostró que la solución de x_2 en orden de importancia es más sensible a variaciones de los parámetros: z_{c0} , ρ_m , D y z_{cm} que a las variaciones en los parámetros de I_0 , γ_m , K_{sl}^* , K_l^* , K_{il} , K_S , α , β , a , b y k_g . Este patrón es consistente cuando se resolvió el sistema para otras condiciones iniciales.

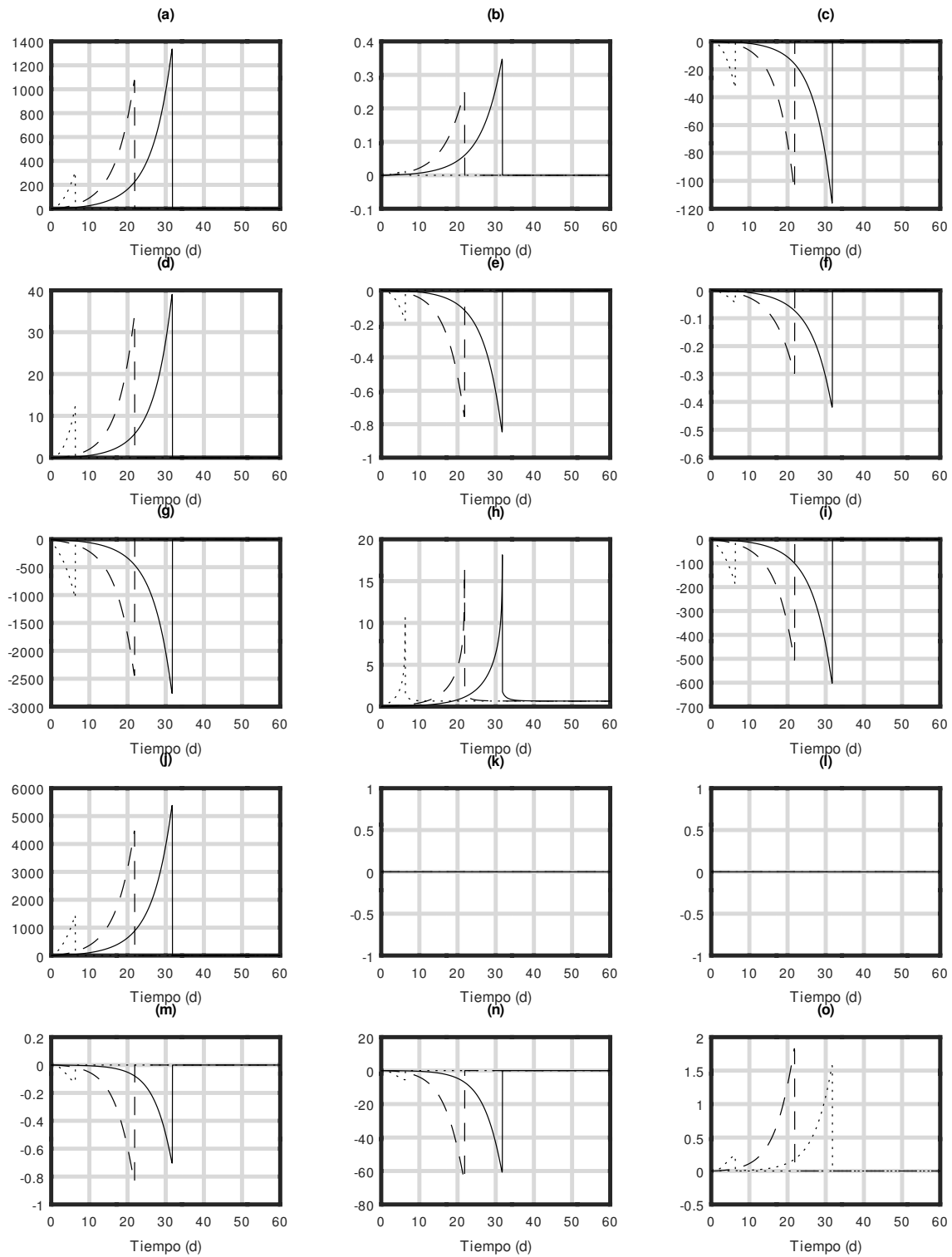


Figura 4.26: Simulación numérica de las funciones de sensibilidad: $x_7, x_{12}, x_{17}, x_{22}, x_{27}, x_{32}, x_{37}, x_{42}, x_{47}, x_{52}, x_{57}, x_{62}, x_{67}, x_{72}$ y x_{77} correspondientes a las sensibilidades del nutriente externo (x_2) con respecto a los parámetros: (a) D , (b) I_0 , (c) γ_m , (d) K_{SI}^* , (e) K_I^* , (f) K_{II} , (g) ρ_m , (h) K_S , (i) zc_m , (j) zc_0 , (k) α , (l) β , (m) a , (n) b y (o) k_g respectivamente. La línea discontinua, continua y punteada muestran los resultados gráficos de las simulaciones con respecto a las condiciones iniciales: c_1, c_2 y c_3 respectivamente. Las condiciones iniciales y parámetros nominales de las soluciones numéricas se pueden ver en las tablas 3.5 y 3.2. Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

La figura (4.27) muestra el resultado de la simulación numérica de la cuota interna de nutriente (z) en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana* en diferentes condiciones iniciales.

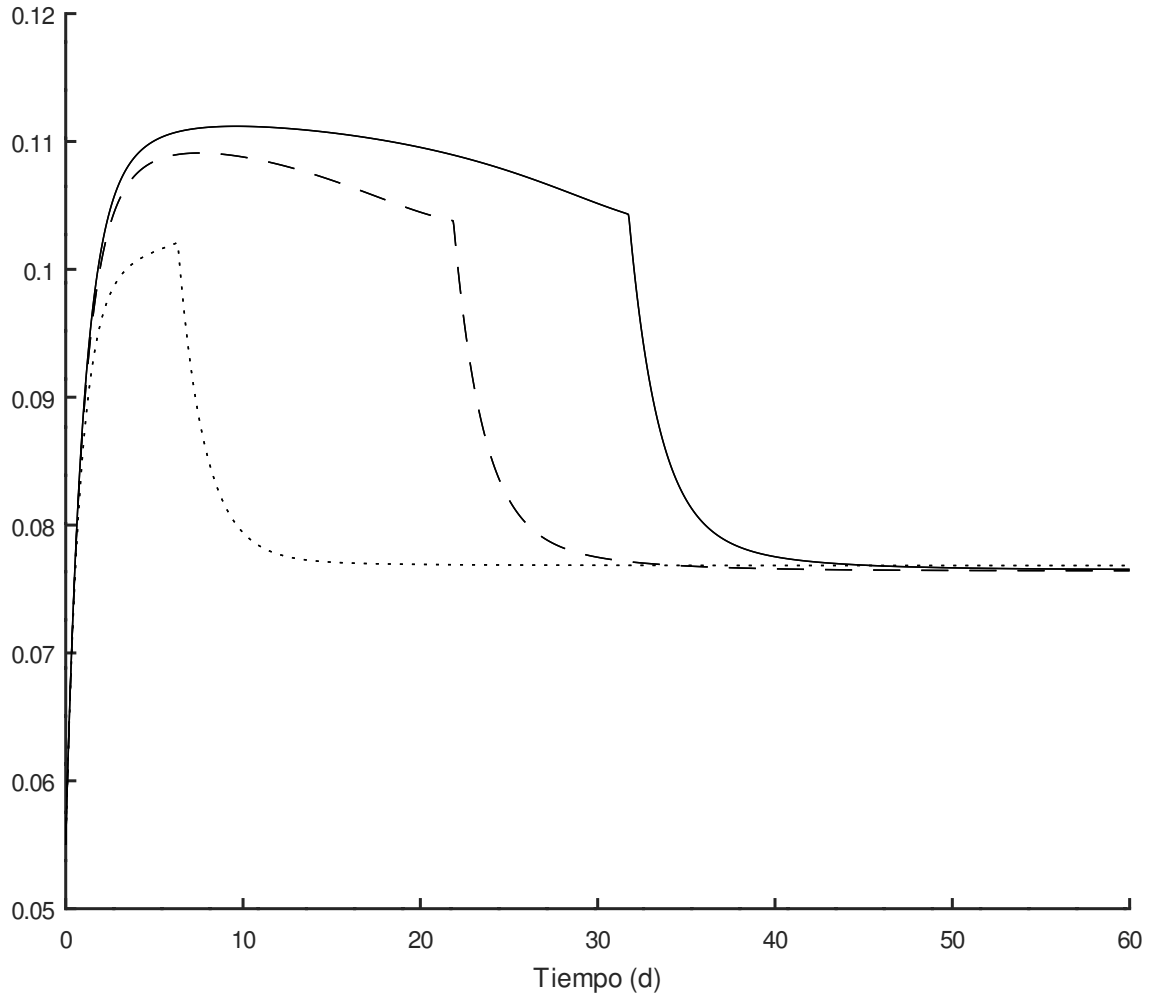


Figura 4.27: Simulación numérica de la cuota interna de nutrientes en condiciones iniciales diferentes. La línea discontinua, continua y punteada muestran los resultados gráficos de las simulaciones con respecto a las condiciones iniciales: c_1 , c_2 y c_3 respectivamente. Las condiciones iniciales y parámetros nominales de las soluciones numéricas se pueden ver en las tablas 3.5 y 3.2. Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

La inspección de la figura 4.27 mostró que la solución de x_3 en orden de importancia es más sensible a variaciones de los parámetros: z_{c0} , ρ_m y D que a las variaciones de los parámetros de: I_0 , γ_m , K_{sl}^* , K_I^* , K_{il} , K_S , z_{cm} , α , β , a , b y k_g . Este patrón es consistente cuando se resolvió el sistema para otras condiciones iniciales.

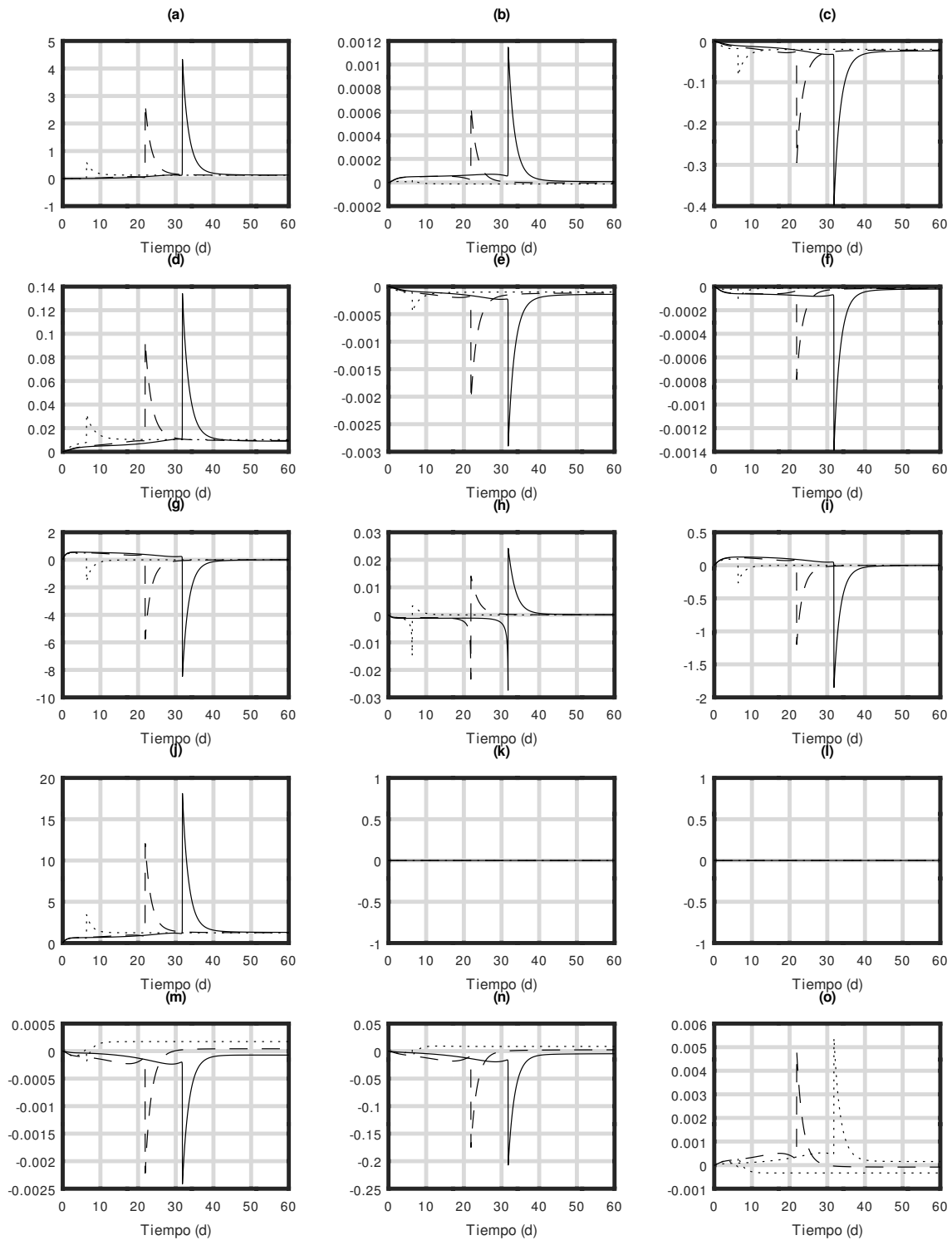


Figura 4.28: Simulación numérica de las funciones de sensibilidad: x_8 , x_{13} , x_{18} , x_{23} , x_{28} , x_{33} , x_{38} , x_{43} , x_{48} , x_{53} , x_{58} , x_{63} , x_{68} , x_{73} y x_{78} correspondientes a las sensibilidades de la cuota interna de nutriente (x_3) con respecto a los parámetros: (a) D , (b) I_0 , (c) γ_m , (d) K_{SI}^* , (e) K_I^* , (f) K_{II} , (g) ρ_m , (h) K_S , (i) z_{cm} , (j) z_{c0} , (k) α , (l) β , (m) a , (n) b y (o) k_g respectivamente. La línea discontinua, continua y punteada muestran los resultados gráficos de las simulaciones con respecto a las condiciones iniciales: c_1 , c_2 y c_3 respectivamente. Las condiciones iniciales y parámetros nominales de las soluciones numéricas se pueden ver en las tablas 3.5 y 3.2. Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

La figura (4.29) muestra el resultado de la simulación numérica de la fotoaclimatación (I^*) en un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana* en diferentes condiciones iniciales.

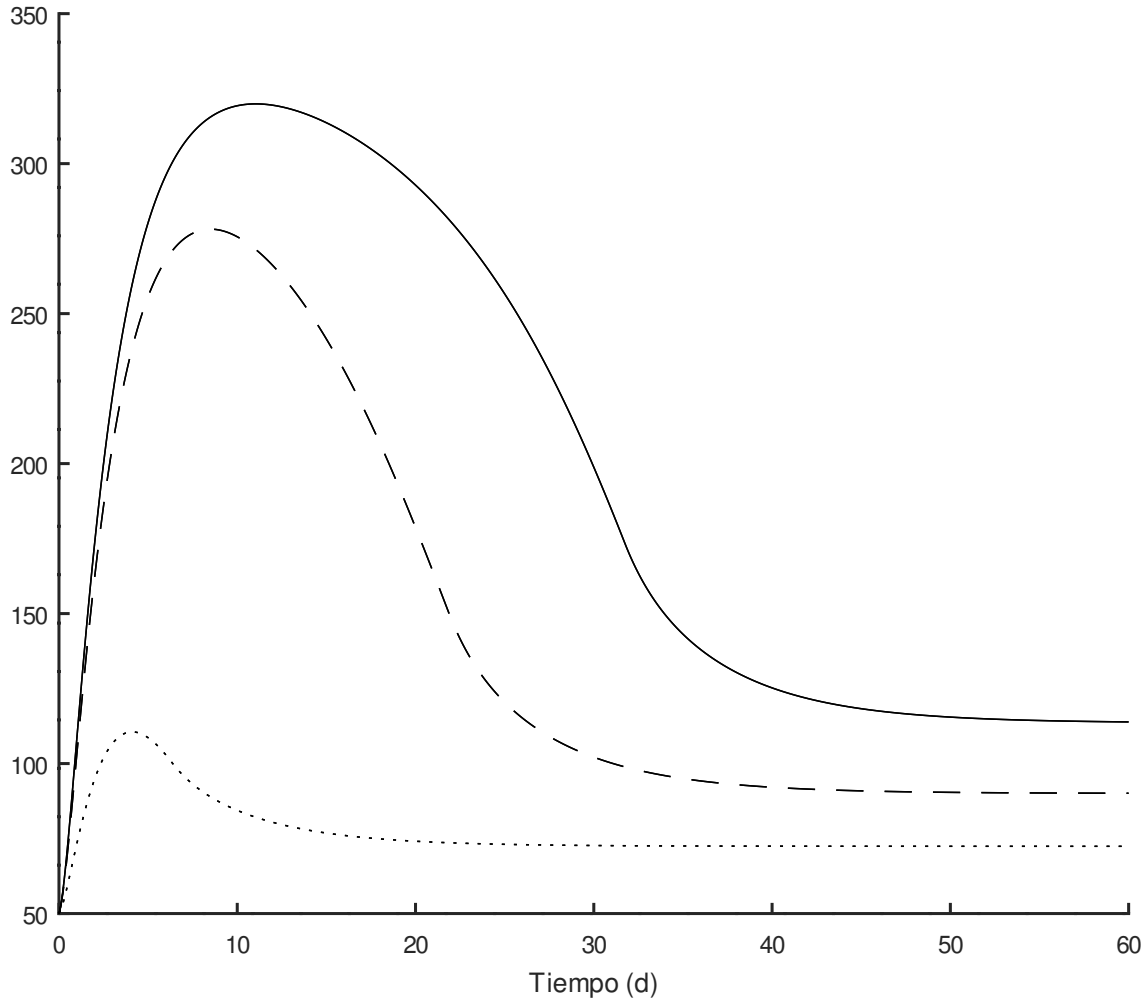


Figura 4.29: Simulación numérica de la fotoaclimatación en condiciones iniciales diferentes. La línea discontinua, continua y punteada muestran los resultados gráficos de las simulaciones con respecto a las condiciones iniciales: c_1 , c_2 y c_3 respectivamente. Las condiciones iniciales y parámetros nominales de las soluciones numéricas se pueden ver en las tablas 3.5 y 3.2. Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

La inspección de la figura 4.29 mostró que la solución de x_4 en orden de importancia es más sensible a variaciones de los parámetros: z_{c_0} , ρ_m , D y z_{c_m} que a las variaciones en los parámetros de I_0 , γ_m , K_{sl}^* , K_{I^*} , K_{il} , K_S , α , β , a , b y k_g . Este patrón es consistente cuando se resolvió el sistema para otras condiciones iniciales.

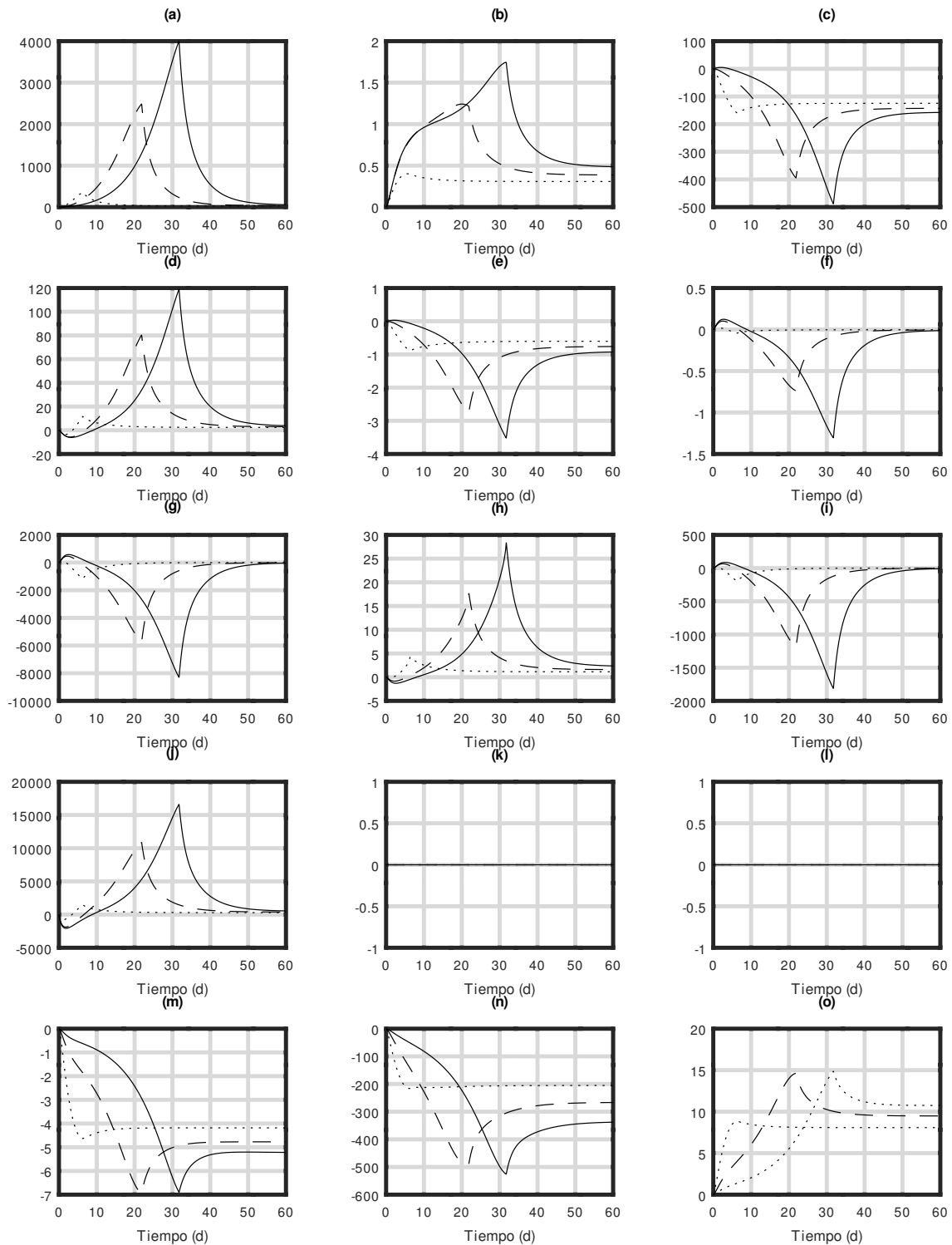


Figura 4.30: Simulación numérica de las funciones de sensibilidad: x_9 , x_{14} , x_{19} , x_{24} , x_{29} , x_{33} , x_{39} , x_{44} , x_{49} , x_{54} , x_{59} , x_{64} , x_{69} , x_{74} y x_{79} correspondientes a las sensibilidades de la cuota interna de nutriente (x_4) con respecto a los parámetros: (a) D , (b) I_0 , (c) γ_m , (d) K_{sl}^* , (e) K_I^* , (f) K_{il} , (g) ρ_m , (h) K_S , (i) z_{c_m} , (j) z_{c_0} , (k) α , (l) β , (m) a , (n) b y (o) k_g respectivamente. La línea discontinua, continua y punteada muestran los resultados gráficos de las simulaciones con respecto a las condiciones iniciales: c_1 , c_2 y c_3 respectivamente. Las condiciones iniciales y parámetros nominales de las soluciones numéricas se pueden ver en las tablas 3.5 y 3.2. Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

La figura (4.31) muestra el resultado de la simulación numérica de la cuota de carbohidratos (q_g) en un sistema de cultivo de la cepa *Isochrysis galbana* en diferentes condiciones iniciales.

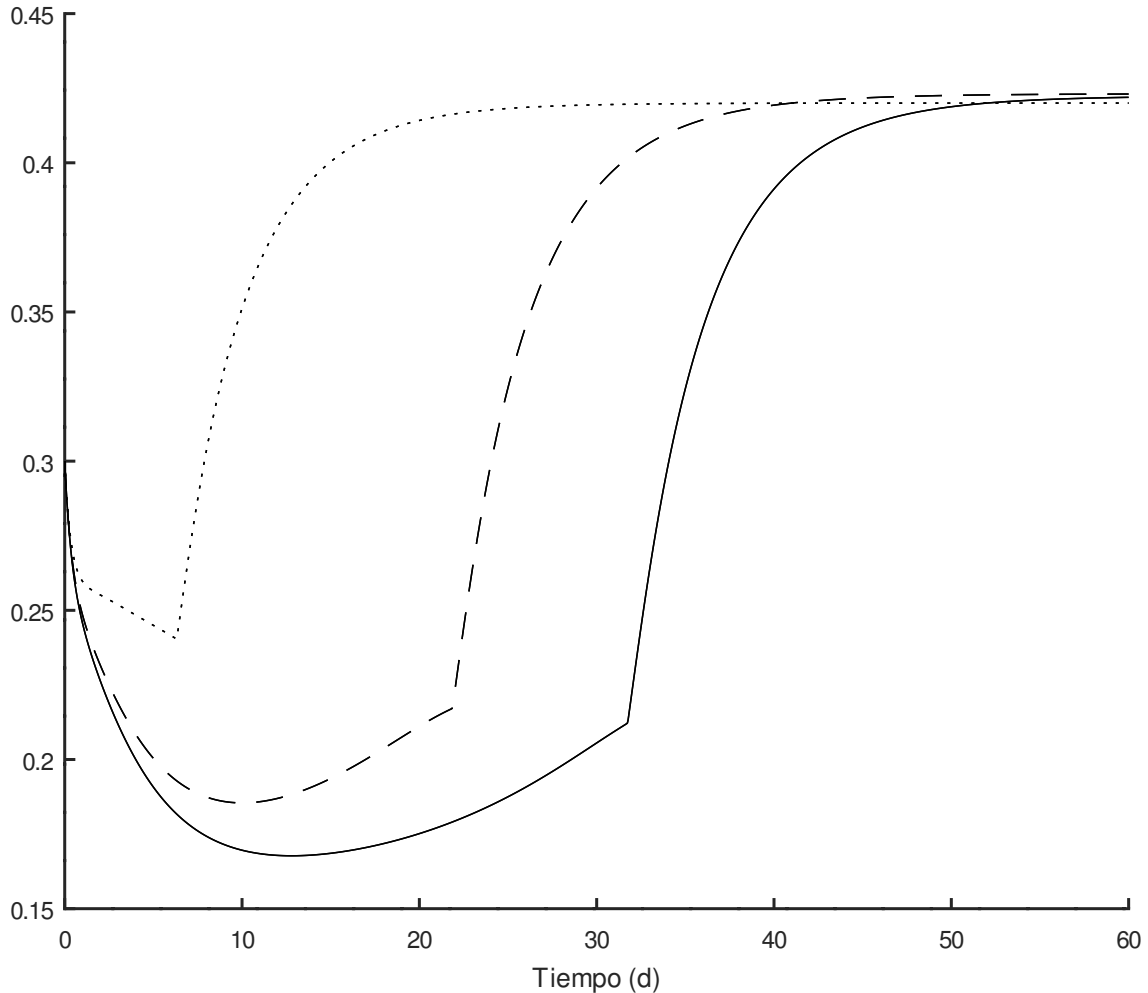


Figura 4.31: Simulación numérica de la cuota de carbohidratos en condiciones iniciales diferentes. La línea discontinua, continua y punteada muestran los resultados gráficos de las simulaciones con respecto a las condiciones iniciales: c_1 , c_2 y c_3 respectivamente. Las condiciones iniciales y parámetros nominales de las soluciones numéricas se pueden ver en las tablas 3.5 y 3.2. Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

La inspección de la figura 4.31 mostró que la solución de x_5 en orden de importancia es más sensible a variaciones de los parámetros: z_{c0} , ρ_m , D y z_{cm} que a las variaciones en los parámetros de I_0 , γ_m , K_{sl}^* , K_I^* , K_{il} , K_S , α , β , a , b y k_g . Este patrón es consistente cuando se resolvió el sistema para otras condiciones iniciales.

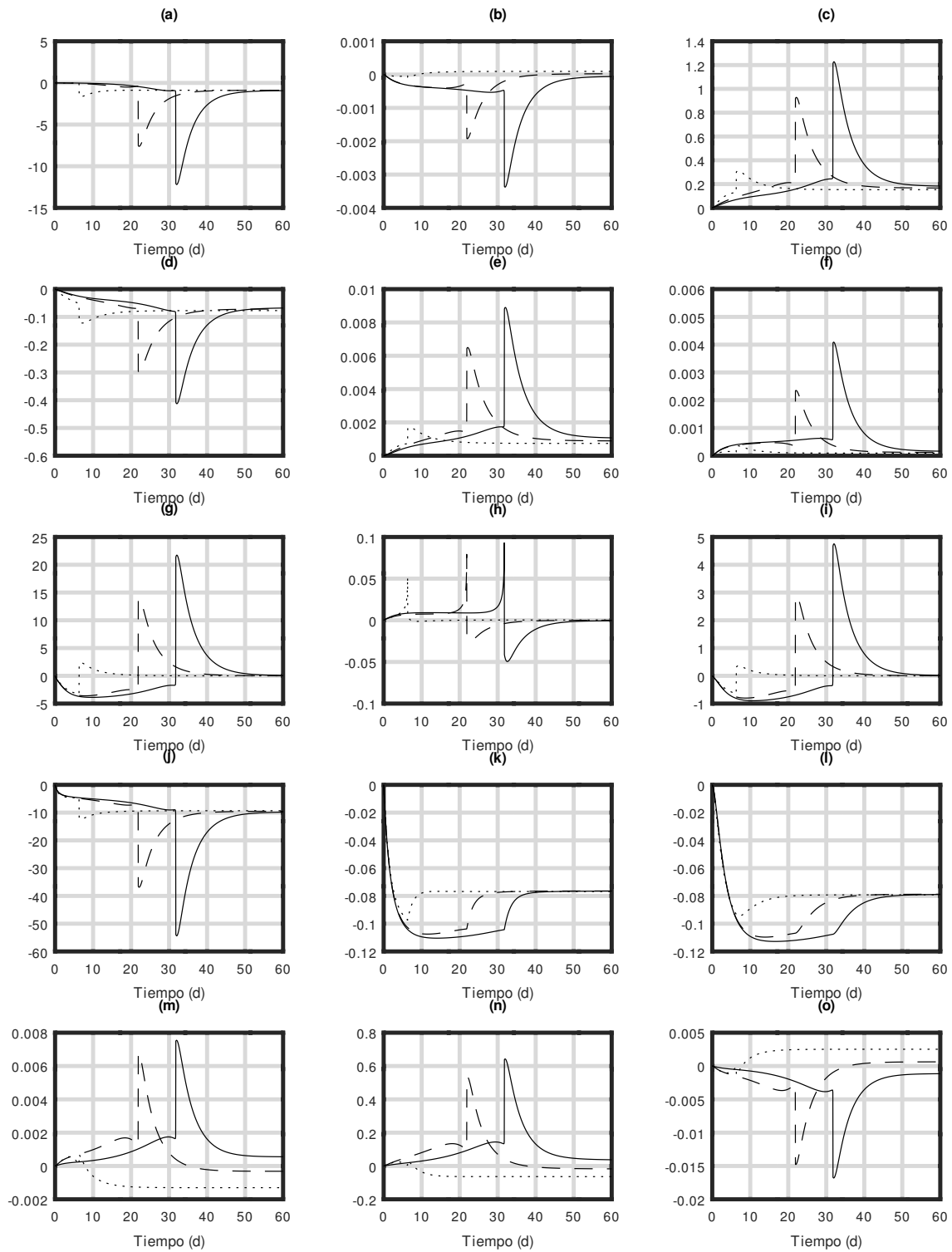


Figura 4.32: Simulación numérica de las funciones de sensibilidad: x_{10} , x_{15} , x_{20} , x_{25} , x_{30} , x_{35} , x_{40} , x_{45} , x_{50} , x_{55} , x_{60} , x_{65} , x_{70} , x_{75} y x_{80} correspondientes a las sensibilidades de la cuota de carbohidratos (x_5) con respecto a los parámetros: (a) D , (b) I_0 , (c) γ_m , (d) K_{SI}^* , (e) K_I^* , (f) K_{IL} , (g) ρ_m , (h) K_S , (i) z_{c_m} , (j) z_{c_0} , (k) α , (l) β , (m) a , (n) b y (o) k_g respectivamente. La línea discontinua, continua y punteada muestran los resultados gráficos de las simulaciones con respecto a las condiciones iniciales: c_1 , c_2 y c_3 respectivamente. Las condiciones iniciales y parámetros nominales de las soluciones numéricas se pueden ver en las tablas 3.5 y 3.2. Simulación y gráficos preparados en GNU Octave versión 7.1.0.

Conclusión

En este trabajo de tesis se abordó un análisis de la dinámica de la producción de carbohidratos en sistemas de cultivo de microalgas a través de simulación matemática motivado por la creciente preocupación internacional relacionada a al aumento de la demanda energética que es ocasionada por el incremento población mundial y el resultante agotamiento de los recursos energéticos de origen fósil de los que dependemos. Las microalgas poseen un potencial para convertir la energía lumínica en biomasa como carbohidratos a través de la fotosíntesis la cual puede ser convertida en energía limpia como una alternativa para reemplazar las energías fósiles. La influencia de los factores de crecimiento como la luz, el consumo de nutrientes, la fotoaclimatación , entre otros puede estudiarse a través del análisis de los sistemas dinámicos.

El análisis abordado en este trabajo de investigación esta basado en el modelo de Droop, el cual ha sido ampliamente validado y guarda consistencia en las predicciones encontradas en la literatura. El estudio del análisis matemático a profundidad sobre el equilibrio y estabilidad del modelo de Droop

para sistemas de cultivo por lotes demostró que el sistema tiene dos equilibrios representando tanto la ausencia de biomasa y la producción de biomasa a largo plazo. El equilibrio de producción de biomasa a largo plazo se probó estable, mientras que el equilibrio de ausencia de biomasa se encontró inestable. Por otro lado, un análisis del equilibrio mostró que el sistema no tiene puntos fijos aislados, sino más bien un infinito número de equilibrios que dependen del valor de la cuota mínima celular y las condiciones iniciales de las variables de estado correspondientes a la biomasa, nutriente externo y cuota de nutrientes internos. Los resultados permitieron comprender el comportamiento de la estabilidad y equilibrio lejos del equilibrio termodinámico desde un punto de vista físico y más explícito. El concepto de estabilidad de los sistemas de algas en cultivos reales hace que las trayectorias de las variables del sistema dinámico no presenten cambios bruscos ante bajas perturbaciones de las condiciones iniciales, como la concentración de nutrientes, por ejemplo. Un comportamiento inestable en los sistemas de crecimiento de algas conduce a resultados imprecisos en las predicciones de la cinética del crecimiento y la producción de biomasa. El comportamiento no asintóticamente estable encontrado en el equilibrio de producción de biomasa a largo plazo del modelo analizado en este trabajo significa que los cambios en las condiciones iniciales son proporcionales a los cambios en el equilibrio alcanzado en el estado estacionario.

En la naturaleza, pocos parámetros son casi constantes debido a las condiciones de múltiples variantes del entorno. La fluctuación de los parámetros provocada por las perturbaciones medioambientales externas puede afectar en diferente medida el comportamiento dinámico y el estado estacionario de las variables de estado relacionadas con los sistemas de cultivo.

En relación al análisis de sensibilidad para determinar el efecto de las variaciones de los parámetros en las soluciones del modelo de Droop para sistemas de cultivo por lotes, indicaron que las soluciones del modelo correspondientes a la biomasa, el consumo externo de nutrientes y la cuota interna de nutrientes son más sensibles a el parámetro de la constante de saturación media y cuota mínima celular que a las variaciones en la velocidad máxima de absorción nutritiva y la velocidad máxima de crecimiento. Las ecuaciones de sensibilidad propuestas pueden ser simuladas con diversas condiciones experimentales que pueden variar en el tipo de especie de microalgas, medios de cultivo, configuración

del fotobiorreactor, entre otros factores para identificar qué parámetros pueden estar influenciados por otros factores externos e impactar en los resultados finales de variables de estado a lo largo del tiempo.

En relación al análisis de sensibilidad del modelo de Droop considerando los efectos de la luz para un sistema de cultivo continuo de la cepa *Isochrysis galbana*, se encontró que las soluciones de la biomasa (x), nutriente externo (y), cuota interna de nutrientes (z), fotoaclimatación (I^*) y la cuota de carbohidratos (q_g) son más sensibles en orden de importancia a las variaciones de los parámetros de la cuota mínima celular de nitrógeno (z_{c0}), la velocidad máxima de absorción de nutrientes (ρ_m), la velocidad de dilución (D) y la cuota máxima celular de nitrógeno z_{cm} que a las variaciones en el resto de los parámetros evaluados. Lo anterior además sugiere que es importante dar atención especial a la correcta identificación y calibración de los parámetros más sensibles denotados en este trabajo.

En relación al análisis del equilibrio realizado para observar el cambio del estado estacionario de la concentración de biomasa y la concentración de carbohidratos con respecto a la variación del parámetro de la intensidad de la luz y la velocidad de dilución en simulaciones de un sistema de cultivo de la cepa *Isochrysis galbana* se encontró que, $350 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ resultó ser el valor óptimo de luz para alcanzar la máxima productividad de biomasa y carbohidratos correspondiente a $56.214 \text{ gCL}^{-1}\text{d}^{-1}$ y $30.352 \text{ gCL}^{-1}\text{d}^{-1}$, respectivamente.

En relación al análisis de productividad con respecto a la tasa de dilución se encontró que 0.325 d^{-1} y 0.2625 d^{-1} resultaron ser los valores óptimos de velocidad de dilución para alcanzar la máxima productividad de biomasa y carbohidratos de $126.91 \text{ gCL}^{-1}\text{d}^{-1}$ y $48.113 \text{ gC}^{-1}\text{d}^{-1}$, respectivamente.

Mediante el análisis dinámico de las simulación matemática del modelo fotoaclimatado en un sistema de cultivo dentro de un fotobiorreactor continuo de la cepa *I. galbana* se encontró que proceso de fotoaclimatación se relaciona dinámicamente con la síntesis de clorofila, la incorporación de nutrientes y la acumulación de carbohidratos. En relación a la síntesis de carbohidratos se observaron dos procesos independientes pero estrechamente relacionados concernientes a la asimilación de nitrógeno y

formación de proteínas, tomando en cuenta que en el modelo utilizado, la clorofila es considerada ser proporcional a las proteínas celulares (es decir, linealmente correlacionado con nitrógeno particulado). En este contexto dado que el nitrógeno es un componente esencial para la síntesis de proteínas, su deficiencia causada por altas intensidades de luz reduce la velocidad de síntesis de proteínas.

En pauta con lo anterior, la síntesis de proteínas es un componente crucial tanto del centro de reacción del fotosistema como del sistema de transporte de electrones en la fotosíntesis. Así, dado que la clorofila es un compuesto nitrogenado, la concentración de nitrato juega un papel importante en la síntesis de clorofila. Relacionado a lo anterior, la limitación de nitrógeno también afecta indirectamente a la fotosíntesis. Además se corroboró que la síntesis de clorofila también está controlada por el proceso de fotoaclimatación. Las simulaciones dinámicas mostraron que bajo alta intensidad de luz, el contenido de clorofila disminuye para prevenir que la maquinaria fotosintética absorba energía luminosa excedente y sufra foto-daños. Las observaciones indicaron una compensación entre altas intensidades de luz, asimilación de nitrógeno y la síntesis de carbohidratos. Dada la interdependencia entre estos procesos y el hecho de que las células de microalgas experimentan un cambio metabólico drástico de la producción de proteínas a la síntesis de carbohidratos bajo privación de nitrógeno del medio de cultivo, el exceso de luz puede retrasar el agotamiento de nitrógeno y consecuentemente el disparo de la síntesis de carbohidratos. Por el contrario, las intensidades de luz bajas disminuyen producción de clorofila, lo que resulta en una absorción de energía insuficiente para la fotosíntesis. Por lo anterior la regulación de nutriente externo por medio del control de la velocidad de dilución es un factor importante para regular la densidad de celular dentro del fotobiorreactor y con ello la disponibilidad de luz necesaria para eficientemente llevar a cabo la fotosíntesis. Este enfoque podría ser útil para desarrollar modelos adecuados para la optimización de procesos industriales para la producción de carbohidratos a base de microalgas. La luz juega un papel influyente en la modificación de las vías metabólicas como factor de estrés. Dicho lo anterior, podrían utilizarse estrategias de estrés celular como la regulación de la deficiencia nutricional y la intensidad de la luz para mejorar la productividad de biomasa como carbohidratos en fotobiorreactores continuos para el cultivo de microalgas. Este enfoque podría ser útil en el desarrollo de modelos matemáticos adecuados para la optimización de procesos industriales

para la producción de carbohidratos a base de microalgas, a través de la manipulación artificial las condiciones de cultivo de microalgas mejorando la eficiencia y productividad de los sistemas de cultivo.

5.1. TRABAJOS FUTUROS

1. Identificar los parámetros del modelo para diferentes cepas en el laboratorio para llevar a cabo simulaciones dinámicas de su comportamiento y predecir posibles rendimientos de la composición química de la biomasa en el tiempo.
2. Analizar la estabilidad del modelo de Droop para sistemas de cultivo por lotes considerando la intensidad de luz y la fotoaclimatación.
3. Incorporar funciones periódicas que regulen la intensidad de la luz y otras perturbaciones periódicas relacionadas a los parámetros con mayor sensibilidad.
4. Desarrollar un método eficiente y no invasivo para cuantificar la concentración de carbohidratos y la variación de la sensibilidad de los parámetros en tiempo real utilizando como base el modelo de Droop.

5.2. PUBLICACIONES

Guzmán-Palomino, A.; Aguilera-Vázquez, L.; García-Vite, P.M.; Mendoza-Martínez, A.M. Study of the evolution of C: N: Chl in green microalgae considering solar irradiation through a dynamic model. *Revista de Energía Química y Física*, 6(19):13-21,2019. DOI: 10.35429/JCPE.2019.19.6.13.21

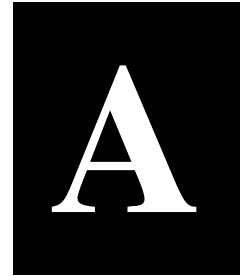
Guzmán-Palomino, A.; Aguilera-Vázquez, L.; Hernández-Escoto, H.; García-Vite, P.M. Sensitivity, Equilibria, and Lyapunov Stability Analysis in Droop's Nonlinear Differential Equation System for Batch Operation Mode of Microalgae Culture Systems. *Mathematics* 2021, 9, 2192. <https://doi.org/10.3390/math9182192>

Glosario de símbolos matemáticos

- x . Concentración de biomasa
- y . Concentración de nutriente externo
- z . Concentración de la cuota interna de nutrientes
- q_g . Concentración de la cuota de carbohidratos
- I^* . Densidad del flujo de fotones de fotoaclimatación
- z_{c0} . Cuota mínima celular de nutriente
- z_{cm} . Cuota máxima celular de nutriente
- μ_m . Velocidad específica de crecimiento
- $\bar{\mu}$. Velocidad máxima de crecimiento
- $\tilde{\mu}$. Velocidad específica promedio de crecimiento
- $\rho(y)$. Velocidad específica de absorción de nutrientes
- ρ_m . Velocidad máxima de absorción de nutrientes
- k_y . Constante de saturación media de absorción de nutrientes
- D . Velocidad de dilución
- y_{in} . Concentración de nutrientes en el flujo de entrada
- y_{in} . Concentración de nutrientes en el flujo de entrada
- Chl . Concentración de clorofila
- θ . Cuota interna de clorofila
- \bar{I} . Densidad promedio del flujo de fotones dentro del fotobiorreactor
- K_{sI} . Constante de saturación media del crecimiento normalizado
- K_{sI^*} . Constante de saturación media de crecimiento

- K_{iI} . Constante de saturación media de la densidad de flujo de fotones sobre el crecimiento
- K_I^* . Velocidad de saturación en función de la concentración de clorofila
- ξ . Velocidad de atenuación de la luz
- λ . Densidad óptica
- L. Profundidad del cultivo
- a. Coeficiente de atenuación debido a la clorofila
- b. Coeficiente de atenuación debido a la biomasa
- c. Coeficiente de atenuación debido a la turbidez
- γ_{max} . Velocidad máxima de saturación de clorofila
- γ . Velocidad de saturación en función de la concentración de clorofila
- K_g . Constante de la densidad promedio de saturación del flujo de fotones

Anexos



Código 1. Análisis de estabilidad

En esta sección se presenta el código utilizado para realizar el análisis de estabilidad. El código se planteó en la interfaz gráfica de usuario para sistemas de álgebra simbólica de MAXIMA (wxMaxima 19.05.7). El listado A.1 muestra el código y el lenguaje usado para el análisis de estabilidad del modelo de Droop para sistemas de cultivo en operación por lotes.

Los vectores que conforman el equilibrio \bar{v}_i en \mathbb{R}^n tal que $f_i(\bar{v}) = 0$ para $i = 1, \dots, n$, del sistema de ecuaciones no lineales del modelo de Droop para $D = 0$ se pueden obtener de manera numérica. Como un primer paso se estableció el método para encontrar valores de las variables x_1, \dots, x_n que satisfacen el sistema de ecuaciones del modelo de Droop en el estado estacionario. La función **algsys** permitió obtener una lista de soluciones, indicando los valores de las variables de estado. La función **jacobian** (f, x) se usó para obtener los elementos (i, j) – *simo* de la matriz jacobiana del sistema del modelo de Droop. Las funciones que contiene el paquete **eigen** se usaron para el cálculo simbólico de los vectores propios (eigenvalores). El paquete se cargó de forma explícita mediante **load** (“eigen”).

Finalmente los eigenvalores se calcularón por medio de llamar a la función **eigenvalues**, para despues extraer la parte real por medio de la función **realpart**.

Listado A.1: Código usado para el análisis de estabilidad. Códificado en GNU wxMaxima 19.05.7.

```
%i1) pm;  
%i2) kn;  
%i3) NC0;  
%i4) um;  
%i5) p: pm*y / (y+kn);  
%i6) mu: um*(1 - (NC0/z));  
%i7) xdot: mu*x;  
%i8) ydot: -p*x;  
%i9) zdot: p-mu*z;  
%i10) algsys([xdot, ydot, zdot], [x, y, z])  
%i11) J_A=jacobian([xdot, ydot, zdot], [x, y, z]);  
%i12) ev(J_A, x=Sol(x_1), y=Sol(x_2), z=Sol(x_3));  
%i13) load("eigen.mac")  
%i14) realpart(eigenvalues(J_A));
```

Código 2. Análisis de sensibilidad

En esta sección se presenta el código utilizado para realizar el análisis de sensibilidad. Supongamos que el modelo de Droop está dado por $\mathbf{f}: \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^m$, definido para todo $\mathbf{x} = (x_1, x_2, \dots, x_n, \lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_n)$, en donde λ representa al conjunto de parámetros a evaluar en el análisis de sensibilidad. El sistema se asume estar definido definido por:

$$\begin{aligned}\mathbf{f}(\mathbf{x}) &= \mathbf{f}(x_1, x_2, \dots, x_n) \\ &= (f_1(x_1, x_2, \dots, x_n), \dots, f_m(x_1, x_2, \dots, x_n)) \\ &= (f_1(\mathbf{x}), \dots, f_m(\mathbf{x}))\end{aligned}\tag{B.1}$$

Supongamos que la matriz Jacobiana del modelo de Droop, \mathbf{f} , denotada por \mathbb{J} , expresada como sigue:

$$\mathbb{J} = \begin{bmatrix} \frac{\partial \mathbf{f}(\mathbf{x})}{\partial x_1} & \dots & \frac{\partial \mathbf{f}(\mathbf{x})}{\partial x_n} \\ \frac{\partial f_1(\mathbf{x})}{\partial x_1} & \dots & \frac{\partial f_1(\mathbf{x})}{\partial x_n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_m(\mathbf{x})}{\partial x_1} & \dots & \frac{\partial f_m(\mathbf{x})}{\partial x_n} \end{bmatrix}$$

y está definida como una matriz de tamaño $m \times n$ cuya (i,j)-ésima entrada es: $\mathbb{J}_{i,j} = \frac{\partial f_i(\mathbf{x})}{\partial x_j}$

El listado B.1 muestra el código y lenguaje sintetizado para determinar las matrices jacobianas $\mathbb{J}_{A,i,j}$ y $\mathbb{J}_{B,i,j}$ del sistema de ecuaciones denotadas como $x\dot{d}(1)$, $x\dot{d}(2)$, $x\dot{d}(3)$, $x\dot{d}(4)$ y $x\dot{d}(5)$, respectivamente para las variables de estado x , y , z , I^* y q_g . La función **jacobian** (f,v) en GNU Octave version 7.1.0 se usó para computar la matriz Jacobiana del sistema de ecuaciones de Droop con respecto a las variables de estado y los parámetros λ del sistema. Los elementos (i,j) compuestos por las derivadas parciales en la matriz fueron usados para resolver la función de sensibilidad (S). La función **matlabFunction** fue usada para convertir las expresiones simbólicas de los elementos (A(i,j)) y (B(i,j)) en expresiones de código para la posterior integración numérica y simulación de las x_n funciones de sensibilidad.

Listado B.1: Código usado para el análisis de sensibilidad. Códificado en GNU Octave 7.3.0.

```

Clear all
syms f(x_1, x_2 ... , u_n, u_1, u_2 ... , u_n)
xdot(1)=mu_1.*x(1)-D.*x(1)-R.*x(1);
xdot(2)=(D.*Ds)-((p.*(x(2)./(x(2)+K_s))).*((1-(x(3)/Q1)).*x(1)))
-D.*x(2);
xdot(3)=p.*(x(2)./(x(2)+K_s)).*(1-(x(3)./Q1))-mu_2.*(x(3)-zc_{0});
xdot(4)=mu_1.*(I_av-x(4));
xdot(5)=mu_1.*(1-b_t.*x(3)-x(5))
-a_lf.*p.*(x(2)./(x(2)+K_s)).*(1-(x(3)./Q1))+R*(x(5)-1);
jacobian([xdot(1),xdot(2),xdot(3),xdot(4),xdot(5)], [xdot(1),
xdot(2),xdot(3),xdot(4),xdot(5)])

```

```
matlabFunction(A(i,j))  
matlabFunction(B(i,j))  
x_n=A(i,j)*x_n...A(i,j)*x_m...+B(i,j)
```

Código 3. Integración numérica del sistema de ecuaciones diferenciales

En la presente sección se presenta la forma en la que se resolvió el sistema de ecuaciones diferenciales no lineales del modelo de Droop en Octave. La función **lsode** se usó para resolver el (ODEs) de la forma usando el solucionador de (ODEs) de Hindmarsh. El comando **lsode** determina, de forma automática, tanto el método a emplear como el tamaño de paso empleado en función de ciertas tolerancias preestablecidas. El método de integración empleado (BDF, Adams, RK4, etc.) puede ser controlados por medio de el comando *lsode_options* en caso necesario. La función y sus opciones se puede cargar como **lsode** (fcn, x0, t, *t_crit*), en donde *x0* es el estado inicial del sistema, devuelva la matriz *x* como una función de *t*. En la matriz de resultados, cada fila corresponde a un elemento en el vector *t*. Por tanto, la primera fila de la salida corresponde al estado inicial *x0*. El elemento **Fcn** es el primer argumento. Especifica la función que debe usarse para calcular el vector de los lados derechos con

respecto al conjunto de ecuaciones. Debe tener la forma $dx/dt=f(x,t)$ con $x_{t_0}=x_0$. En el listado C.1 se muestra el código haciendo uso de la función **lsode** para resolver el sistema de ecuaciones de Droop.

Listado C.1: *Listado con el código haciendo uso de **lsode** para resolver el conjunto de ecuaciones diferenciales no lineales del modelo de Droop. Códificado en GNU Octave 7.3.0.*

```

Clear all
function xdot = f (x, t)
xdot = zeros (5,1);
xdot(1)=mu_1.*x(1)-D.*x(1)-R.*x(1);
xdot(2)=(D.*Ds) -((p.*(x(2)./(x(2)+K_s))).*((1-(x(3)/Q1)).*x(1)))
-D.*x(2);
xdot(3)=p.*(x(2)./(x(2)+K_s)).*(1-(x(3)./Q1))-mu_2.*(x(3)-zc_{0});
xdot(4)=mu_1.*(I_av-x(4));
xdot(5)=mu_1.*(1-b_t.*x(3)-x(5))
-a_lf.*p.*(x(2)./(x(2)+K_s)).*(1-(x(3)./Q1))+R*(x(5)-1);
endfunction
d=100
h=d*24
x0=[10.1;33.2;0.025;50;0.3]
t = linspace (0,d,h);

```

Código 4. Análisis de productividad y solución gráfica

En esta sección se presenta el código para calcular los puntos de equilibrio y productividad. Los puntos de equilibrio se resolvieron iterando el código mostrado en el listado C.1 para el rango de valores de intensidad de luz I_0 (50-1000) $\mu\text{molm}^2\text{s}^{-1}$ y velocidades de dilución D (0.025 a 0.5). Los estados estacionarios obtenidos se computaron por medio de las ecuaciones 3.1 y 3.2. El listado D.1 muestra el código usado para computar dichas soluciones. Posteriormente se hizo uso de la función **plot**(x,y).

La función **plot** se usó para obtener la solución gráfica de los puntos fijos obtenidos de la simulación almacenados en un vector vec_{x1} y vec_{x5} del mismo tamaño, correspondientes a la concentración de la biomasa y la cuota de carbohidratos respectivamente. Todas las funciones de trazado de Octave usan **gnuplot** para manejar los gráficos. La función **plot** (y, property, value,...) se usó para

Los argumentos de las propiedades se aplicaron a los objetos de línea dibujados por la función plot. Las propiedades usadas para modificar el gráfico se llevaron a cabo mediante “estilo de línea”, “ancho de línea”, “color”, “marcador”, “tamaño de marcador”, entre otras propiedades que pueden encontrarse dentro del entorno de la función plot.

El listado D.1 muestra el código usado para determinar la productividad y el listado D.2 la salida gráfica de las simulaciones realizadas en este trabajo.

Listado D.1: *Listado con el código usado para determinar la productividad del conjunto de ecuaciones diferenciales no lineales del modelo de Droop. Códificado en GNU Octave 7.3.0.*

```
Clear all
D=[0.02 0.04 0.06 0.08 0.1 0.12 0.14 0.16 0.18 0.2 0.22 0.24 0.26
0.28 0.3 0.32 0.34 0.36 0.4 0.42 0.44 0.46 0.48 0.5];
vec_x1=[4.5355e+02 5.1294e+02 5.2697e+02 5.2659e+02 5.2006e+02
5.1046e+02 4.9922e+02 4.8705e+02 4.7436e+02 4.6141e+02 4.4834e+02
4.3526e+02 4.2222e+02 4.0929e+02 3.9647e+02 3.8380e+02 3.7129e+02
2.4729e+00 6.4375e-04 1.2254e-05 6.9199e-07 2.6607e-07 1.0147e-07
4.0766e-08 ]
vec_x5=[4.5256e-01 5.2092e-01 5.3378e-01 5.3345e-01 5.2759e-01
5.1872e-01 5.0788e-01 4.9558e-01 4.8209e-01 4.6755e-01 4.5203e-01
4.3556e-01 4.1814e-01 3.9975e-01 3.8036e-01 3.5991e-01 3.3834e-01
1.5556e-01 1.5437e-01 1.5437e-01 1.5437e-01 1.5437e-01 1.5437e-01
1.5437e-01]
P_qg=vec_x1.*vec_x5.*D
P_C=vec_x1.*D
```

Listado D.2: Listado con el código usado para efectuar la salida gráfica de las simulaciones de la productividad.

```

figure(1, 'position',[1,2,1330,1200]) %' position ',
[ startx , starty , width , height ]);
h1 = plot (x,vec_x1, 'LineWidth', 1.5, 'LineStyle', '-','Marker', 'o',
"Markersize", 4, 'color', 'k') %' DisplayName ',
'100\mu_mol_m^{-2}s^{-1}');
set(gca, 'FontSize', 12,"ygrid", "on","xgrid", "on")
%xlim[50,1000]
%title ("(a)", 'fontsize',9, 'FontName', 'times ');
xlabel ('D_{d^{-1}}', 'fontsize',12, 'FontName', 'times ');
ylabel ('g_{gCL^{-1}d^{-1}}', 'fontsize',12, 'FontName', 'times ');
hold on
[ maxVal ,maxIDX] = max(vec_x1);
h2=plot(x(maxIDX), maxVal, 'r*', "Markersize", 12, 'DisplayName',
'P_{g}_{(0.350,27.438)}_{d^{-1},gCL^{-1}d^{-1}}');
hL = legend ([h2]);
legend boxoff
legend( hL, 'orientation', 'vertical', 'location', 'southoutside',
'fontsize', 12 );
print -color -depsc figure1.eps

```

Funciones de sensibilidad del modelo considerando la intensidad de la luz.

$$\begin{aligned}
 \vartheta(1,1) = -D - & \frac{I_0 L k_g \tilde{\mu} x \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1 \right) \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\
 & + \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} x \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1 \right) \left(\frac{2 I_0^2 L k_g^2 \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b \right)}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^3} + \frac{I_0 L k_g \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)^2} \\
 & + \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1 \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)} - R
 \end{aligned} \tag{E.1}$$

$$\vartheta(2,1) = 0 \quad (\text{E.2})$$

$$\begin{aligned} \vartheta(3,1) = & - \frac{I_0 K_{I^*} L a k_g \tilde{\mu} x^2 \gamma_m \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1 \right)}{(K_{I^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\ & + \frac{I_0 z c_0 k_g \tilde{\mu} x}{x_3^2 \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\ & + \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} x \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1 \right) \left(\frac{2 I_0^2 K_{I^*} L a k_g^2 x \gamma_m}{K_{il} (K_{I^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^3} + \frac{I_0 K_{I^*} L a k_g x \gamma_m}{(K_{I^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m} \right)^2} \end{aligned} \quad (\text{E.3})$$

$$\begin{aligned} \vartheta(4,1) = & - \frac{I_0 K_{I^*} L a k_g \tilde{\mu} x^2 x_3 \gamma_m \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1 \right)}{(K_{I^*} + I^*)^2 \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\ & + \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} x \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1 \right) \left(-\frac{2 I_0^2 K_{I^*} L a k_g^2 x x_3 \gamma_m}{K_{il} (K_{I^*} + I^*)^2 \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^3} - \frac{I_0 K_{I^*} L a k_g x x_3 \gamma_m}{(K_{I^*} + I^*)^2 \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} - \frac{K_{sl}^*}{K_{I^*} x_3 \gamma_m} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m} \right)^2} \end{aligned} \quad (\text{E.4})$$

$$\vartheta(5,1) = 0 \quad (\text{E.5})$$

$$\vartheta(1,2) = -\frac{\rho_m y \left(1 - \frac{x_3}{z c_m}\right)}{K_y + y} \quad (\text{E.6})$$

$$\vartheta(2,2) = -D + \frac{\rho_m x y \left(1 - \frac{x_3}{z c_m}\right)}{(K_y + y)^2} - \frac{\rho_m x \left(1 - \frac{x_3}{z c_m}\right)}{K_y + y} \quad (\text{E.7})$$

$$\vartheta(3,2) = \frac{\rho_m x y}{z c_m (K_y + y)} \quad (\text{E.8})$$

$$\vartheta(4,2) = 0 \quad (\text{E.9})$$

$$\vartheta(5,2) = 0 \quad (\text{E.10})$$

$$\begin{aligned} \vartheta(1,3) = & \frac{I_0 L k_g \tilde{\mu} (-z c_0 + x_3) \left(\frac{K_{f^*} a x_3 \gamma_m}{K_{f^*} + I^*} + b\right)}{\left(L \left(\frac{K_{f^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{f^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{f^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{f^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{f^*} a x_3 \gamma_m}{K_{f^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl} (K_{f^*} + I^*)}{K_{f^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\ & - \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} (-z c_0 + x_3) \left(\frac{2 I_0^2 L k_g^2 \left(\frac{K_{f^*} a x_3 \gamma_m}{K_{f^*} + I^*} + b\right)}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{f^*} a x_3 \gamma_m}{K_{f^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^3} + \frac{I_0 L k_g \left(\frac{K_{f^*} a x_3 \gamma_m}{K_{f^*} + I^*} + b\right)}{\left(L \left(\frac{K_{f^*} a x_3 \gamma_m}{K_{f^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{f^*} a x_3 \gamma_m}{K_{f^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{f^*} a x_3 \gamma_m}{K_{f^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{f^*} a x_3 \gamma_m}{K_{f^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl} (K_{f^*} + I^*)}{K_{f^*} x_3 \gamma_m} \right)^2} \end{aligned} \quad (\text{E.11})$$

$$\vartheta(2,3) = -\frac{\rho_m y \left(1 - \frac{x_3}{z c_m}\right)}{(K_y + y)^2} + \frac{\rho_m \left(1 - \frac{x_3}{z c_m}\right)}{K_y + x_2} \quad (\text{E.12})$$

$$\begin{aligned}
\vartheta(3,3) = & \frac{I_0 K_{I^*} L a k_g \tilde{\mu} x \gamma_m (-z c_0 + x_3)}{(K_{I^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\
& \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} (-z c_0 + x_3) \left(\frac{2 I_0^2 K_{I^*} L a k_g^2 x \gamma_m}{K_{il} (K_{I^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^3} + \frac{I_0 K_{I^*} L a k_g x \gamma_m}{(K_{I^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m} \right)^2} \\
& \frac{I_0 k_g \tilde{\mu}}{\left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m} \right)} \tag{E.13}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
\vartheta(4,3) = & \frac{I_0 K_{I^*} L a k_g \tilde{\mu} x \gamma_m (-z c_0 + x_3)}{(K_{I^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_{max}}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_{max}}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\
& \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} (-z c_0 + x_3) \left(\frac{2 I_0^2 K_{I^*} L a k_g^2 x \gamma_m}{K_{il} (K_{I^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_{max}}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^3} + \frac{I_0 K_{I^*} L a k_g x \gamma_m}{(K_{I^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m} \right)^2} \tag{E.14}
\end{aligned}$$

$$\vartheta(5,3) = 0 \tag{E.15}$$

$$\begin{aligned}
\vartheta(1,4) = & - \frac{I_0^2 L k_g^2 \tilde{\mu} \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1 \right) \left(\frac{K_{J^*} ax_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} ax_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^3 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} ax_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} ax_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\
& - \frac{I_0 L k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1 \right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} ax_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} - I^* \right) \left(\frac{K_{J^*} ax_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} ax_3 \gamma_{max}}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} ax_3 \gamma_{max}}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} ax_3 \gamma_{max}}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\
& + \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1 \right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} ax_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} - I^* \right) \left(\frac{2I_0^2 L k_g^2 \left(\frac{K_{J^*} ax_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b \right)}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} ax_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^3} + \frac{I_0 L k_g \left(\frac{K_{J^*} ax_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} ax_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} ax_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} ax_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} ax_3 \gamma_{max}}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)^2}
\end{aligned} \tag{E.16}$$

$$\vartheta(2,4) = 0 \tag{E.17}$$

$$\begin{aligned}
\vartheta(3,4) = & \frac{I_0^2 K_{J^*} Lak_g^2 \bar{\mu} x \gamma_m \left(-\frac{z_0}{x_3} + 1\right)}{(K_{J^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^3 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{ij} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_{max}}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g} + \frac{K_{ij}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m}\right)} \\
& - \frac{I_0 K_{J^*} Lak_g \bar{\mu} x \gamma_m \left(-\frac{z_0}{x_3} + 1\right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g} - I^*\right)}{(K_{J^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{ij} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g} + \frac{K_{ij}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m}\right)} \\
& + \frac{I_0 z_0 k_g \bar{\mu} \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g} - I^*\right)}{x_3^2 \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_{max}}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{ij} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g} + \frac{K_{ij}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m}\right)} \\
& + \frac{I_0 k_g \bar{\mu} \left(-\frac{z_0}{x_3} + 1\right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g} - I^*\right) \left(\frac{2 I_0^2 K_{J^*} Lak_g^2 x \gamma_m}{K_{ij} (K_{J^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^3} + \frac{I_0 K_{J^*} Lak_g x \gamma_m}{(K_{J^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{K_{ij}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m}\right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{ij} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g} + \frac{K_{ij}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_{max}}\right)^2}
\end{aligned} \tag{E.18}$$

$$\begin{aligned}
\vartheta(4,4) = & \frac{I_0 K_{J^*} Lak_g \bar{\mu} x x_3 \gamma_m \left(-\frac{z_0}{x_3} + 1\right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g} - I^*\right)}{(K_{J^*} + I^*)^2 \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{ij} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g} + \frac{K_{ij}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m}\right)} \\
& + \frac{I_0 k_g \bar{\mu} \left(-\frac{z_0}{x_3} + 1\right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g} - I^*\right) \left(-\frac{2 I_0^2 K_{J^*} Lak_g^2 x x_3 \gamma_m}{K_{ij} (K_{J^*} + I^*)^2 \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^3} - \frac{I_0 K_{J^*} Lak_g x x_3 \gamma_m}{(K_{J^*} + I^*)^2 \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2} - \frac{K_{ij}^*}{K_{J^*} x_3 \gamma_m}\right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{ij} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g} + \frac{K_{ij}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m}\right)^2} \\
& + \frac{I_0 k_g \bar{\mu} \left(-\frac{z_0}{x_3} + 1\right) \left(\frac{I_0 K_{J^*} Lak_g x x_3 \gamma_m}{(K_{J^*} + I^*)^2 \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2} - 1\right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{ij} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g} + \frac{K_{ij}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m}\right)}
\end{aligned} \tag{E.19}$$

$$\vartheta(5,4) = 0 \tag{E.20}$$

$$\begin{aligned}
\vartheta(1,5) = & - \frac{I_0 L k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1 \right) \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b \right) (-\beta x_3 - q_g + 1)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\
& + \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1 \right) \left(\frac{2 I_0^2 L k_g^2 \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b \right)}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^3} + \frac{I_0 L k_g \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} \right) (-\beta x_3 - q_g + 1)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)^2} \quad (E.21)
\end{aligned}$$

$$\vartheta(2,5) = \frac{\alpha \rho_m x_2 \left(1 - \frac{x_3}{z c_m} \right)}{(K_y + x_2)^2} - \frac{\alpha \rho_m \left(1 - \frac{x_3}{z c_m} \right)}{K_y + x_2} \quad (E.22)$$

$$\begin{aligned}
\vartheta(3,5) = & - \frac{I_0 K_{J^*} L a k_g \tilde{\mu} x \gamma_m \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1 \right) (-\beta x_3 - q_g + 1)}{(K_{J^*} + x_4) \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\
& + \frac{I_0 z c_0 k_g \tilde{\mu} (-\beta x_3 - q_g + 1)}{x_3^2 \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\
& - \frac{I_0 \beta k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1 \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\
& + \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1 \right) (-\beta x_3 - q_g + 1) \left(\frac{2 I_0^2 K_{J^*} L a k_g^2 x \gamma_m}{K_{il} (K_{J^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^3} + \frac{I_0 K_{J^*} L a k_g x \gamma_m}{(K_{J^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)^2} \\
& + \frac{a_{1f} \rho_m x_2}{z c_m (K_y + x_2)} \quad (E.23)
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
\vartheta(4,5) = & \frac{I_0 K_{J^*} Lak_g \tilde{\mu} x x_3 \gamma_m \left(-\frac{z_0}{x_3} + 1\right) (-\beta x_3 - q_g + 1)}{(K_{J^*} + I^*)^2 \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m}\right)} \\
& + \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{z_0}{x_3} + 1\right) (-\beta x_3 - q_g + 1) \left(-\frac{2 I_0^2 K_{J^*} Lak_g^2 x x_3 \gamma_m}{K_{il} (K_{J^*} + I^*)^2 \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^3} - \frac{I_0 K_{J^*} Lak_g x x_3 \gamma_m}{(K_{J^*} + I^*)^2 \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} - \frac{K_{sl}^*}{K_{J^*} x_3 \gamma_m}\right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m}\right)^2}
\end{aligned} \tag{E.24}$$

$$\begin{aligned}
\vartheta(5,5) = & \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{z_0}{x_3} + 1\right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m}\right)^2} + R
\end{aligned} \tag{E.25}$$

$$\varpi(1,1) = -x \tag{E.26}$$

$$\varpi(2,1) = Ds - x_2 \tag{E.27}$$

$$\varpi(3,1) = 0 \tag{E.28}$$

$$\varpi(4,1) = 0 \tag{E.29}$$

$$\varpi(5,1) = 0 \tag{E.30}$$

$$\begin{aligned}
\varpi(1,2) = & \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} x \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1 \right) \left(-\frac{2I_0 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} - \frac{k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)^2} \\
& + \frac{k_g \tilde{\mu} x \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1 \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)} \quad (E.31)
\end{aligned}$$

$$\varpi(2,2) = 0 \quad (E.32)$$

$$\begin{aligned}
\varpi(3,2) = & - \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} (-zc_0 + x_3) \left(-\frac{2I_0 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} - \frac{k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)^2} \\
& - \frac{k_g \tilde{\mu} (-zc_0 + x_3)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)} \quad (E.33)
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
\varpi(4,2) = & \frac{I_0 k_g^2 \tilde{\mu} \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1 \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2 + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl} (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma m} \right)} \\
& + \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1 \right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} - I^* \right) \left(-\frac{2I_0 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} - \frac{k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2 + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma m} \right)} \\
& + \frac{k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1 \right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} - I^* \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} ax_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2 + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma m} \right)} \\
& + \frac{k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1 \right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} - I^* \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} ax_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2 + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma m} \right)} \tag{E.34}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
\varpi(5,2) = & \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1 \right) \left(-\frac{2I_0 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} - \frac{k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} \right) (-\beta x_3 - q_g + 1)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2 + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl} (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma m} \right)} \\
& + \frac{k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1 \right) (-\beta x_3 - x_5 + 1)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2 + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axx_3 \gamma m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma m} \right)} \tag{E.35}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
\varpi(1,3) = & \frac{I_0 K_{I^*} L a k_g \tilde{\mu} x^2 x_3 \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1\right)}{(K_{I^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2 + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m}\right)} \\
& + \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} x \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1\right) \left(\frac{2 I_0^2 K_{I^*} L a k_g^2 x x_3}{K_{il} (K_{I^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^3} + \frac{I_0 K_{I^*} L a k_g x x_3}{(K_{I^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m^2}\right)}{\left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m}\right)^2}
\end{aligned} \tag{E.36}$$

$$\varpi(2,3) = 0 \tag{E.37}$$

$$\begin{aligned}
\varpi(3,3) = & \frac{I_0 K_{I^*} L a k_g \tilde{\mu} x x_3 (-z c_0 + x_3)}{(K_{I^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m}\right)} \\
& - \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} (-z c_0 + x_3) \left(\frac{2 I_0^2 K_{I^*} L a k_g^2 x x_3}{K_{il} (K_{I^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^3} + \frac{I_0 K_{I^*} L a k_g x x_3}{(K_{I^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m^2}\right)}{\left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{I^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + I^*)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m}\right)^2} \\
& - \frac{I_0 k_g \mu}{\left(L \left(\frac{K_{I^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + x_4} + b x_1 + c\right) + k_g\right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{I^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + x_4} + b x_1 + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{I^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{I^*} + x_4} + b x_1 + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{I^*} + x_4)}{K_{I^*} x_3 \gamma_m}\right)} \\
& + R - \frac{\rho_m x_2}{Q I (K_y + x_2)}
\end{aligned} \tag{E.38}$$

$$\begin{aligned}
\varpi(4,3) = & - \frac{I_0^2 K_{J^*} L a k_g^2 \tilde{\mu} x x_3 \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1\right)}{(K_{J^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^3 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m}\right)} \\
& - \frac{I_0 K_{J^*} L a k_g \tilde{\mu} x x_3 \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1\right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g} - I^*\right)}{(K_{J^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m}\right)} \\
& + \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1\right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g} - I^*\right) \left(\frac{2 I_0^2 K_{J^*} L a k_g^2 x x_3}{K_{il} (K_{J^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^3} + \frac{I_0 K_{J^*} L a k_g x x_3}{(K_{J^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m}\right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m}\right)^2}
\end{aligned} \tag{E.39}$$

$$\begin{aligned}
\varpi(5,3) = & - \frac{I_0 K_{J^*} L a k_g \tilde{\mu} x z \left(-\frac{z c_0}{z} + 1\right) (-\beta z - q_g + 1)}{(K_{J^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} z \gamma_m}\right)} \\
& + \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{z c_0}{z} + 1\right) (-\beta z - q_g + 1) \left(\frac{2 I_0^2 K_{J^*} L a k_g^2 x z}{K_{il} (K_{J^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^3} + \frac{I_0 K_{J^*} L a k_g x z}{(K_{J^*} + I^*) \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} z \gamma_m}\right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} z \gamma_m}\right)^2}
\end{aligned} \tag{E.40}$$

$$\begin{aligned}
\varpi(1,4) = & - \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} x (K_{J^*} + I^*) \left(-\frac{z c_0}{z} + 1\right)}{K_{J^*} z \gamma_m \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} z \gamma_m}\right)^2}
\end{aligned} \tag{E.41}$$

$$\varpi(2,4) = 0 \tag{E.42}$$

$$\varpi(3,4) = \frac{I_0 k_g \tilde{\mu}(K_{J^*} + I^*)(-zc_0 + z)}{K_{J^*} z \gamma_m \left(L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^*(K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} z \gamma_m} \right)^2} \quad (\text{E.43})$$

$$\varpi(4,4) = - \frac{I_0 k_g \tilde{\mu}(K_{J^*} + I^*) \left(-\frac{zc_0}{z} + 1 \right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} - I^* \right)}{K_{J^*} z \gamma_m \left(L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^*(K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} z \gamma_m} \right)^2} \quad (\text{E.44})$$

$$\varpi(5,4) = - \frac{I_0 k_g \tilde{\mu}(K_{J^*} + I^*) \left(-\frac{zc_0}{z} + 1 \right) (-\beta z - q_g + 1)}{K_{J^*} z \gamma_m \left(L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^*(K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} z \gamma_m} \right)^2} \quad (\text{E.45})$$

$$\begin{aligned} \varpi(1,5) = & - \frac{I_0 L k_g \tilde{\mu} x \left(-\frac{zc_0}{z} + 1 \right) \left(-\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{(K_{J^*} + I^*)^2} + \frac{axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^*(K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} z \gamma_m} \right)} \\ & + \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} x \left(-\frac{zc_0}{z} + 1 \right) \left(\frac{2I_0^2 L k_g^2 \left(-\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{(K_{J^*} + I^*)^2} + \frac{axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} \right)}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^3} + \frac{I_0 L k_g \left(-\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{(K_{J^*} + I^*)^2} + \frac{axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} - \frac{K_{sl}^*}{K_{J^*} z \gamma_m} + \frac{K_{sl}(K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*}^2 z \gamma_m} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} axz \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + bx + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}(K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} z \gamma_m} \right)^2} \end{aligned} \quad (\text{E.46})$$

$$\varpi(2,5) = 0 \quad (\text{E.47})$$

$$\begin{aligned}
\varpi(3,5) = & \frac{I_0 L k_g \tilde{\mu}(-z c_0 + z) \left(-\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{(K_{J^*} + I^*)^2} + \frac{a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + x_4)}{K_{J^*} z \gamma_m} \right)} \\
& \frac{I_0 k_g \tilde{\mu}(-z c_0 + z) \left(\frac{2 I_0^2 L k_g^2 \left(-\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{(K_{J^*} + I^*)^2} + \frac{a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} \right)}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^3} + \frac{I_0 L k_g \left(-\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{(K_{J^*} + I^*)^2} + \frac{a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} - \frac{K_{sl}^*}{K_{J^*} z \gamma_m} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*}^2 z \gamma_m} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} z \gamma_m} \right)^2}
\end{aligned} \tag{E.48}$$

$$\begin{aligned}
\varpi(4,5) = & - \frac{I_0^2 L k_g^2 \tilde{\mu} \left(-\frac{z c_0}{z} + 1 \right) \left(-\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{(K_{J^*} + I^*)^2} + \frac{a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^3 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl} (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} z \gamma_m} \right)} \\
& \frac{I_0 L k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{z c_0}{z} + 1 \right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} - I^* \right) \left(-\frac{K_{J^*} a x z v}{(K_{J^*} + I^*)^2} + \frac{a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} z \gamma_m} \right)} \\
& \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{z c_0}{z} + 1 \right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} - I^* \right) \left(\frac{2 I_0^2 L k_g^2 \left(-\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{(K_{J^*} + I^*)^2} + \frac{a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} \right)}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^3} + \frac{I_0 L k_g \left(-\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{(K_{J^*} + I^*)^2} + \frac{a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} - \frac{K_{sl}^*}{K_{J^*} z \gamma_m} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*}^2 z \gamma_m} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x z \gamma_m}{K_{J^*} + I^*} + b x + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + I^*)}{K_{J^*} z \gamma_m} \right)^2}
\end{aligned} \tag{E.49}$$

$$\begin{aligned}
\varpi(5,5) = & \frac{I_0 L k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{zc_0}{z} + 1\right) \left(-\frac{K_{j^*} axz \gamma_m}{(K_{j^*} + I^*)^2} + \frac{axz \gamma_m}{K_{j^*} + I^*}\right) (-\beta z - q_g + 1)}{\left(L \left(\frac{K_{j^*} axz \gamma_m}{K_{j^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{j^*} axz \gamma_m}{K_{j^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{j^*} axz \gamma_m}{K_{j^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{j^*} + I^*)}{K_{j^*} z \gamma_m}\right)} \\
& \frac{I_0 L k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{zc_0}{z} + 1\right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{j^*} axz \gamma_m}{K_{j^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g} - I^*\right) \left(-\frac{K_{j^*} axz \gamma_m}{(K_{j^*} + I^*)^2} + \frac{axz \gamma_m}{K_{j^*} + I^*}\right)}{\left(L \left(\frac{K_{j^*} axz \gamma_m}{K_{j^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{j^*} axz \gamma_m}{K_{j^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{j^*} axz \gamma_m}{K_{j^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{j^*} + I^*)}{K_{j^*} z \gamma_m}\right)} \\
& + \frac{I_0 k_g \tilde{\mu} \left(-\frac{zc_0}{z} + 1\right) (-\beta z - q_g + 1) \left(\frac{2I_0^2 L k_g^2 \left(-\frac{K_{j^*} axz \gamma_m}{(K_{j^*} + I^*)^2} + \frac{axz \gamma_m}{K_{j^*} + I^*}\right)}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{j^*} axz \gamma_m}{K_{j^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^3} + \frac{I_0 L k_g \left(-\frac{K_{j^*} axz \gamma_m}{(K_{j^*} + I^*)^2} + \frac{axz \gamma_m}{K_{j^*} + I^*}\right)}{\left(L \left(\frac{K_{j^*} axz \gamma_m}{K_{j^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2} - \frac{K_{sl}^*}{K_{j^*} z \gamma_m} + \frac{K_{sl}^* (K_{j^*} + I^*)}{K_{j^*}^2 z \gamma_m}\right)}{\left(L \left(\frac{K_{j^*} axz \gamma_m}{K_{j^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{j^*} axz \gamma_m}{K_{j^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{j^*} axz \gamma_m}{K_{j^*} + I^*} + bx + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{j^*} + I^*)}{K_{j^*} z \gamma_m}\right)^2}
\end{aligned} \tag{E.50}$$

$$\begin{aligned}
\varpi(1,6) = & \frac{I_0^3 k_g^3 \mu x_1 \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1\right)}{K_{il}^2 \left(L \left(\frac{K_{j^*} ax_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + bx_1 + c\right) + k_g\right)^3 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{j^*} ax_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + bx_1 + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{j^*} ax_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + bx_1 + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{j^*} + x_4)}{K_{j^*} x_3 \gamma_m}\right)^2}
\end{aligned} \tag{E.51}$$

$$\varpi(2,6) = 0 \tag{E.52}$$

$$\begin{aligned}
\varpi(3,6) = & \frac{I_0^3 k_g^3 \mu (-zc_0 + x_3)}{K_{il}^2 \left(L \left(\frac{K_{j^*} ax_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + bx_1 + c\right) + k_g\right)^3 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{j^*} ax_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + bx_1 + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{j^*} ax_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + bx_1 + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{j^*} + x_4)}{K_{j^*} x_3 \gamma_m}\right)^2}
\end{aligned} \tag{E.53}$$

$$\varpi(4,6) = \frac{I_0^3 k_g^3 \mu \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1\right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} \alpha x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + bx_1 + c\right) + k_g} - x_4\right)}{K_{il}^2 \left(L \left(\frac{K_{J^*} \alpha x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + bx_1 + c\right) + k_g\right)^3 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} \alpha x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + bx_1 + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} \alpha x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + bx_1 + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}(K_{J^*} + x_4)}{K_{J^*} x_3 \gamma m}\right)^2} \quad (\text{E.54})$$

$$\varpi(5,6) = \frac{I_0^3 k_g^3 \mu \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1\right) (-b_l x_3 - x_5 + 1)}{K_{il}^2 \left(L \left(\frac{K_{J^*} \alpha x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + bx_1 + c\right) + k_g\right)^3 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} \alpha x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + bx_1 + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} \alpha x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + bx_1 + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl}^*(K_{J^*} + x_4)}{K_{J^*} x_3 \gamma m}\right)^2} \quad (\text{E.55})$$

$$\varpi(1,7) = 0 \quad (\text{E.56})$$

$$\varpi(2,7) = -\frac{x_1 x_2 \left(1 - \frac{x_3}{Q_l}\right)}{K_y + x_2} \quad (\text{E.57})$$

$$\varpi(3,7) = \frac{x_2 \left(1 - \frac{x_3}{Q_l}\right)}{K_y + x_2} \quad (\text{E.58})$$

$$\varpi(4,7) = 0 \quad (\text{E.59})$$

$$\varpi(5,7) = -\frac{\alpha x_2 \left(1 - \frac{x_3}{Q_l}\right)}{K_y + x_2} \quad (\text{E.60})$$

$$\varpi(1,8) = 0 \quad (\text{E.61})$$

$$\varpi(2,8) = \frac{\rho_m x_1 x_2 \left(1 - \frac{x_3}{Ql}\right)}{(K_y + x_2)^2} \quad (\text{E.62})$$

$$\varpi(3,8) = -\frac{\rho_m x_2 \left(1 - \frac{x_3}{Ql}\right)}{(K_y + x_2)^2} \quad (\text{E.63})$$

$$\varpi(4,8) = 0 \quad (\text{E.64})$$

$$\varpi(5,8) = \frac{\alpha \rho_m x_2 \left(1 - \frac{x_3}{Ql}\right)}{(K_y + x_2)^2} \quad (\text{E.65})$$

$$\varpi(1,9) = 0 \quad (\text{E.66})$$

$$\varpi(2,9) = -\frac{\rho_m x_1 x_2 x_3}{Ql^2 (K_y + x_2)} \quad (\text{E.67})$$

$$\varpi(3,9) = \frac{\rho_m x_2 x_3}{Ql^2 (K_y + x_2)} \quad (\text{E.68})$$

$$\varpi(4,9) = 0 \quad (\text{E.69})$$

$$\varpi(5,9) = -\frac{\alpha \rho_m x_2 x_3}{Ql^2 (K_y + x_2)} \quad (\text{E.70})$$

$$\varpi(1, 10) = - \frac{I_0 k_g \mu x_1}{x_3 \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g} + \frac{K_{sJ^*} (K_{J^*} + x_4)}{K_{J^*} x_3 \gamma m} \right)} \quad (\text{E.71})$$

$$\varpi(2, 10) = 0 \quad (\text{E.72})$$

$$\varpi(3, 10) = \frac{I_0 k_g \mu}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g} + \frac{K_{sJ^*} (K_{J^*} + x_4)}{K_{J^*} x_3 \gamma m} \right)} \quad (\text{E.73})$$

$$\varpi(4, 10) = - \frac{I_0 k_g \mu \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g} - x_4 \right)}{x_3 \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g} + \frac{K_{sJ^*} (K_{J^*} + x_4)}{K_{J^*} x_3 \gamma m} \right)} \quad (\text{E.74})$$

$$\varpi(5, 10) = - \frac{I_0 k_g \mu (-b_l x_3 - x_5 + 1)}{x_3 \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g} + \frac{K_{sJ^*} (K_{J^*} + x_4)}{K_{J^*} x_3 \gamma m} \right)} \quad (\text{E.75})$$

$$\varpi(1, 11) = 0 \quad (\text{E.76})$$

$$\varpi(2, 11) = 0 \quad (\text{E.77})$$

$$\varpi(3, 11) = 0 \quad (\text{E.78})$$

$$\varpi(4, 11) = 0 \quad (\text{E.79})$$

$$\varpi(5, 11) = -\frac{\rho_m x_2 \left(1 - \frac{x_3}{Ql}\right)}{K_y + x_2} \quad (\text{E.80})$$

$$\varpi(1, 12) = 0 \quad (\text{E.81})$$

$$\varpi(2, 12) = 0 \quad (\text{E.82})$$

$$\varpi(3, 12) = 0 \quad (\text{E.83})$$

$$\varpi(4, 12) = 0 \quad (\text{E.84})$$

$$\varpi(5, 12) = -\frac{I_0 k_g \mu x_3 \left(-\frac{z c_0}{x_3} + 1\right)}{\left(L \left(\frac{K_{f^*} a x_1 x_3 \gamma m}{K_{f^*} + x_4} + b x_1 + c\right) + k_g\right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{f^*} a x_1 x_3 \gamma m}{K_{f^*} + x_4} + b x_1 + c\right) + k_g\right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{f^*} a x_1 x_3 \gamma m}{K_{f^*} + x_4} + b x_1 + c\right) + k_g} + \frac{K_{sl} (K_{f^*} + x_4)}{K_{f^*} x_3 \gamma m}\right)} \quad (\text{E.85})$$

$$\begin{aligned}
\varpi(5,13) = & - \frac{I_0 K_{J^*} L k_g \mu x_1 x_3 \gamma_m \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1 \right) (-b_l x_3 - x_5 + 1)}{(K_{J^*} + x_4) \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + x_4)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\
& + \frac{I_0 k_g \mu \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1 \right) \left(\frac{2I_0^2 K_{J^*} L k_g^2 x_1 x_3 \gamma_m}{K_{il} (K_{J^*} + x_4) \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^3} + \frac{I_0 K_{J^*} L k_g x_1 x_3 \gamma_m}{(K_{J^*} + x_4) \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} \right) (-b_l x_3 - x_5 + 1)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + x_4)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)^2}
\end{aligned} \tag{E.90}$$

$$\begin{aligned}
\varpi(1,14) = & - \frac{I_0 K_{J^*} L k_g \mu x_1 x_3 \gamma_m \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1 \right) (-b_l x_3 - x_5 + 1)}{(K_{J^*} + x_4) \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + x_4)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\
& + \frac{I_0 k_g \mu \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1 \right) \left(\frac{2I_0^2 K_{J^*} L k_g^2 x_1 x_3 \gamma_m}{K_{il} (K_{J^*} + x_4) \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^3} + \frac{I_0 K_{J^*} L k_g x_1 x_3 \gamma_m}{(K_{J^*} + x_4) \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} \right) (-b_l x_3 - x_5 + 1)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + x_4)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)^2}
\end{aligned} \tag{E.91}$$

$$\begin{aligned}
\varpi(1,14) = & - \frac{I_0 L k_g \mu x_1^2 \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1 \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + x_4)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\
& + \frac{I_0 k_g \mu x_1 \left(-\frac{zc_0}{x_3} + 1 \right) \left(\frac{2I_0^2 L k_g^2 x_1}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^3} + \frac{I_0 L k_g x_1}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{il} \left(L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{J^*} a x_1 x_3 \gamma_m}{K_{J^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g} + \frac{K_{sl}^* (K_{J^*} + x_4)}{K_{J^*} x_3 \gamma_m} \right)^2}
\end{aligned} \tag{E.92}$$

$$\varpi(2,14) = 0 \tag{E.93}$$

$$\begin{aligned}
\omega(5, 15) = & \frac{I_0 k_g \mu \left(-\frac{z_0}{x_3} + 1 \right) (-b_l x_3 - x_5 + 1) \left(\frac{2I_0^2 k_g^2}{K_{ij} \left(L \left(\frac{K_{j^*} \alpha x_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^3} - \frac{2I_0^2 k_g}{K_{ij} \left(L \left(\frac{K_{j^*} \alpha x_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{\left(L \left(\frac{K_{j^*} \alpha x_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} - \frac{I_0}{L \left(\frac{K_{j^*} \alpha x_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g} \right)}{\left(L \left(\frac{K_{j^*} \alpha x_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{ij} \left(L \left(\frac{K_{j^*} \alpha x_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{j^*} \alpha x_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g} + \frac{K_{ij}^* (K_{j^*} + x_4)}{K_{j^*} x_3 \gamma_m} \right)^2} \\
& - \frac{I_0 k_g \mu \left(-\frac{z_0}{x_3} + 1 \right) (-b_l x_3 - x_5 + 1)}{\left(L \left(\frac{K_{j^*} \alpha x_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{ij} \left(L \left(\frac{K_{j^*} \alpha x_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{j^*} \alpha x_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g} + \frac{K_{ij}^* (K_{j^*} + x_4)}{K_{j^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\
& - \frac{I_0 k_g \mu \left(-\frac{z_0}{x_3} + 1 \right) \left(\frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{j^*} \alpha x_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g} - x_4 \right)}{\left(L \left(\frac{K_{j^*} \alpha x_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2 \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{ij} \left(L \left(\frac{K_{j^*} \alpha x_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{j^*} \alpha x_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g} + \frac{K_{ij}^* (K_{j^*} + x_4)}{K_{j^*} x_3 \gamma_m} \right)} \\
& + \frac{I_0 \mu \left(-\frac{z_0}{x_3} + 1 \right) (-b_l x_3 - x_5 + 1)}{\left(L \left(\frac{K_{j^*} \alpha x_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right) \left(\frac{I_0^2 k_g^2}{K_{ij} \left(L \left(\frac{K_{j^*} \alpha x_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g \right)^2} + \frac{I_0 k_g}{L \left(\frac{K_{j^*} \alpha x_1 x_3 \gamma_m}{K_{j^*} + x_4} + b x_1 + c \right) + k_g} + \frac{K_{ij}^* (K_{j^*} + x_4)}{K_{j^*} x_3 \gamma_m} \right)}
\end{aligned}$$

(E.100)

Bibliografía

- [1] Eyasu Shumbulo Shuba and Demeke Kifle. Microalgae to biofuels: ‘Promising’ alternative and renewable energy, review. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 81(April 2016):743–755, 2018.
- [2] Giorgos Markou, Irimi Angelidaki, and Dimitris Georgakakis. Microalgal carbohydrates: an overview of the factors influencing carbohydrates production, and of main bioconversion technologies for production of biofuels. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 96(3):631–645, nov 2012.
- [3] F.G. Acién, J.M. Fernández, J.J. Magán, and E. Molina. Production cost of a real microalgae production plant and strategies to reduce it. *Biotechnol. Adv.*, 30(6):1344–1353, nov 2012.
- [4] F. G. Acién, E. Molina, A. Reis, G. Torzillo, G. C. Zittelli, C. Sepúlveda, and J. Masojídek. Photobioreactors for the production of microalgae. *Environmental Sci. Biotechnol.*, 12(January):131–151, 2013.
- [5] Quentin Béchet, Andy Shilton, and Benoit Guieysse. Modeling the effects of light and temperature on algae growth: State of the art and critical assessment for productivity prediction during outdoor cultivation. *Biotechnol. Adv.*, 31(8):1648–1663, 2013.
- [6] Eunyong Lee, Mehregan Jalalizadeh, and Qiong Zhang. Growth kinetic models for microalgae cultivation: A review. *Algal Res.*, 12:497–512, 2015.
- [7] M. R. Droop. The nutrient status of algal cells in batch culture. *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom*, 54(4):825–855, 1974.
- [8] Olivier Bernard, Pierre Masci, Antoine Sciandra, Olivier Bernard, Pierre Masci, and Antoine Sciandra. A photobioreactor model in nitrogen limited conditions To cite this version : HAL Id : hal-03523391 conditions. 2022.
- [9] Andrea Bernardi, Andreas Nikolaou, Andrea Meneghesso, Tomas Morosinotto, Benoît Chachuat, and Fabrizio Bezzo. High-Fidelity Modelling Methodology of Light-Limited Photosynthetic Production in Microalgae. *PLoS One*, 11(4):e0152387, apr 2016.
- [10] Francis Mairet, Olivier Bernard, Pierre Masci, Thomas Lacour, and Antoine Sciandra. Modelling neutral lipid production by the microalga *Isochrysis aff. galbana* under nitrogen limitation. *Bioresour. Technol.*, 102(1):142–149, 2011.

- [11] Francis Mairet, Olivier Bernard, Thomas Lacour, and Antoine Sciandra. *Modelling microalgae growth in nitrogen limited photobioreactor for estimating biomass, carbohydrate and neutral lipid productivities*, volume 44. IFAC, 2011.
- [12] Olivier Bernard. Hurdles and challenges for modelling and control of microalgae for CO₂ mitigation and biofuel production. *J. Process Control*, 21(10):1378–1389, 2011.
- [13] Cristina González-Fernández and Mercedes Ballesteros. Linking microalgae and cyanobacteria culture conditions and key-enzymes for carbohydrate accumulation. *Biotechnol. Adv.*, 30(6):1655–1661, 2012.
- [14] Hiroshi Takeda. Classification of *Chlorella* strains by cell wall sugar composition. *Phytochemistry*, 27(12):3823–3826, jan 1988.
- [15] Beatrice Allard and Abid Tazi. Influence of growth status on composition of extracellular polysaccharides from two *Chlamydomonas* species. *Phytochemistry*, 32(1):41–47, dec 1992.
- [16] J. V. Moroney and A. Somanchi. How Do algae concentrate CO₂ to increase the efficiency of photosynthetic carbon fixation? *Plant Physiol.*, 119(1):9–16, jan 1999.
- [17] Jian-Ming Lv, Li-Hua Cheng, Xin-Hua Xu, Lin Zhang, and Huan-Lin Chen. Enhanced lipid production of *Chlorella vulgaris* by adjustment of cultivation conditions. *Bioresour. Technol.*, 101(17):6797–6804, sep 2010.
- [18] Attilio Converti, Alessandro A. Casazza, Erika Y. Ortiz, Patrizia Perego, and Marco Del Borghi. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chem. Eng. Process. Process Intensif.*, 48(6):1146–1151, jun 2009.
- [19] In Soo Suh and Choul-Gyun Lee. Photobioreactor engineering: Design and performance. *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 8(6):313–321, dec 2003.
- [20] Steven G. Ball, Léon Dirick, André Decq, Jean-Claude Martiat, and René F. Matagne. Physiology of starch storage in the monocellular alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Sci.*, 66(1):1–9, jan 1990.
- [21] Richard Geider and Julie La Roche. Redfield revisited: variability of C:N:P in marine microalgae and its biochemical basis. *Eur. J. Phycol.*, 37(1):1–17, mar 2002.
- [22] Jacco Kromkamp. Formation and functional significance of storage products in cyanobacteria. *New Zeal. J. Mar. Freshw. Res.*, 21(3):457–465, sep 1987.
- [23] Yasunori Nakamura, Jun-ichiro Takahashi, Aya Sakurai, Yumiko Inaba, Eiji Suzuki, Satoko Nihei, Shoko Fujiwara, Mikio Tsuzuki, Hideaki Miyashita, Hisato Ikemoto, Masanobu Kawachi, Hiroshi Sekiguchi, and Norihide Kurano. Some Cyanobacteria Synthesize Semi-amylopectin Type α -Polyglucans Instead of Glycogen. *Plant Cell Physiol.*, 46(3):539–545, mar 2005.
- [24] Hamid Rismani-Yazdi, Berat Z Haznedaroglu, Kyle Bibby, and Jordan Peccia. Transcriptome sequencing and annotation of the microalgae *Dunaliella tertiolecta*: Pathway description and gene discovery for production of next-generation biofuels. *BMC Genomics*, 12(1):148, dec 2011.

- [25] Seung Phill Choi, Minh Thu Nguyen, and Sang Jun Sim. Enzymatic pretreatment of *Chlamydomonas reinhardtii* biomass for ethanol production. *Bioresour. Technol.*, 101(14):5330–5336, jul 2010.
- [26] Chun Yen Chen, Xin Qing Zhao, Hong Wei Yen, Shih Hsin Ho, Chieh Lun Cheng, Duu Jong Lee, Feng Wu Bai, and Jo Shu Chang. Microalgae-based carbohydrates for biofuel production. *Biochem. Eng. J.*, 78:1–10, 2013.
- [27] Mi-Sun Kim, Jin-Sook Baek, Young-Su Yun, Sang Jun Sim, Sunghun Park, and Sun-Chang Kim. Hydrogen production from *Chlamydomonas reinhardtii* biomass using a two-step conversion process: Anaerobic conversion and photosynthetic fermentation. *Int. J. Hydrogen Energy*, 31(6):812–816, may 2006.
- [28] Shih-Hsin Ho, Chun-Yen Chen, and Jo-Shu Chang. Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO₂ fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. *Bioresour. Technol.*, 113:244–252, jun 2012.
- [29] Óscar J. Sánchez and Carlos A. Cardona. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. *Bioresour. Technol.*, 99(13):5270–5295, sep 2008.
- [30] Xin Wang, Xianhua Liu, and Guangyi Wang. Two-stage Hydrolysis of Invasive Algal Feedstock for Ethanol Fermentation. *J. Integr. Plant Biol.*, 53(3):246–252, mar 2011.
- [31] Dujia Cheng, Dengjin Li, Yizhong Yuan, Lin Zhou, Xuyang Li, Tong Wu, Liang Wang, Quanyu Zhao, Wei Wei, and Yuhan Sun. Improving carbohydrate and starch accumulation in *Chlorella* sp. AE10 by a novel two-stage process with cell dilution. *Biotechnol. Biofuels*, 10(1):75, 2017.
- [32] Giuliano Dragone, Bruno D Fernandes, Ana P Abreu, António A Vicente, and José A Teixeira. Nutrient limitation as a strategy for increasing starch accumulation in microalgae. *Appl. Energy*, 88:3331–3335, 2011.
- [33] Giorgos Markou and Dimitris Georgakakis. Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: A review. *Appl. Energy*, 88(10):3389–3401, oct 2011.
- [34] Giorgos Markou, Iordanis Chatzipavlidis, and Dimitris Georgakakis. Carbohydrates Production and Bio-flocculation Characteristics in Cultures of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*: Improvements Through Phosphorus Limitation Process. *BioEnergy Res.*, 5(4):915–925, dec 2012.
- [35] Chih-Hung Hsieh and Wen-Teng Wu. Cultivation of microalgae for oil production with a cultivation strategy of urea limitation. *Bioresour. Technol.*, 100(17):3921–3926, sep 2009.
- [36] Elizabeth H. Burrows, Frank W.R. Chaplen, and Roger L. Ely. Optimization of media nutrient composition for increased photofermentative hydrogen production by *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Int. J. Hydrogen Energy*, 33(21):6092–6099, nov 2008.
- [37] Katarzyna Chojnacka . and Facundo-Joaquin Marquez-Rocha . Kinetic and Stoichiometric Relationships of the Energy and Carbon Metabolism in the Culture of Microalgae. *Biotechnology(Faisalabad)*, 3(1):21–34, jan 2004.

- [38] Asako Izumo, Shoko Fujiwara, Yasunori Oyama, Aya Satoh, Naoko Fujita, Yasunori Nakamura, and Mikio Tsuzuki. Physicochemical properties of starch in *Chlorella* change depending on the CO₂ concentration during growth: Comparison of structure and properties of pyrenoid and stroma starch. *Plant Sci.*, 172(6):1138–1147, jun 2007.
- [39] Jian-Rong XIA and Kun-Shan GAO. Impacts of Elevated CO₂ Concentration on Biochemical Composition, Carbonic Anhydrase, and Nitrate Reductase Activity of Freshwater Green Algae. *J. Integr. Plant Biol.*, 47(6):668–675, jun 2005.
- [40] M.R. Brown, S.W. Jeffrey, J.K. Volkman, and G.A Dunstan. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, 151(1-4):315–331, may 1997.
- [41] Ana P. Abreu, Bruno Fernandes, António A. Vicente, José Teixeira, and Giuliano Dragone. Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* using industrial dairy waste as organic carbon source. *Bioresour. Technol.*, 118:61–66, aug 2012.
- [42] Shunni Zhu, Yajie Wang, Wei Huang, Jin Xu, Zhongming Wang, Jingliang Xu, and Zhenhong Yuan. Enhanced Accumulation of Carbohydrate and Starch in *Chlorella zofingiensis* Induced by Nitrogen Starvation. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 174(7):2435–2445, dec 2014.
- [43] Yanna Liang, Nicolas Sarkany, and Yi Cui. Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions. *Biotechnol. Lett.*, 31(7):1043–1049, jul 2009.
- [44] F.M. Lupi, H.M.L. Fernandes, M.M. Tomé, I. Sá-Correia, and J.M. Novais. Influence of nitrogen source and photoperiod on exopolysaccharide synthesis by the microalga *Botryococcus braunii* UC 58. *Enzyme Microb. Technol.*, 16(7):546–550, jul 1994.
- [45] Tim van Oijen, Maria A van Leeuwe, Winfried WC Gieskes, and Hein JW de Baar. Effects of iron limitation on photosynthesis and carbohydrate metabolism in the Antarctic diatom *Chaetoceros brevis* (Bacillariophyceae). *Eur. J. Phycol.*, 39(2):161–171, may 2004.
- [46] L P Hardie, D L Balkwill, and S E Stevens. Effects of Iron Starvation on the Physiology of the Cyanobacterium *Agmenellum quadruplicatum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45(3):999–1006, mar 1983.
- [47] KR Timmermans, MA van Leeuwe, JTM de Jong, RML McKay, RF Nolting, HJ Witte, J van Ooyen, MJW Swagerman, H Kloosterhuis, and HJW de Baar. Iron stress in the Pacific region of the Southern Ocean:evidence from enrichment bioassays. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 166:27–41, 1998.
- [48] John G. Rueler and Dennis R. Ades. The role of iron nutrition in photosynthesis and nitrogen assimilation in *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyceae). *J. Phycol.*, 23(3):452–457, sep 1987.
- [49] Chittra Yeesang and Benjamas Cheirsilp. Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand. *Bioresour. Technol.*, 102(3):3034–3040, feb 2011.
- [50] Qingshan Huang, Fuhua Jiang, Lianzhou Wang, and Chao Yang. Design of Photobioreactors for Mass Cultivation of Photosynthetic Organisms. *Engineering*, 3(3):318–329, jun 2017.

- [51] Junying Zhu, Junfeng Rong, and Baoning Zong. Factors in mass cultivation of microalgae for biodiesel. *Cuihua Xuebao/Chinese J. Catal.*, 34(1):80–100, 2013.
- [52] M. D. Iglesias-Rodriguez, N. A. Nimer, and M. J. Merrett. Carbon Dioxide-Concentrating Mechanism and the Development of Extracellular Carbonic Anhydrase in the Marine Picoeukaryote *Micromonas pusilla*.
- [53] Li-Hai Fan, Ya-Tao Zhang, Lin Zhang, and Huan-Lin Chen. Evaluation of a membrane-sparged helical tubular photobioreactor for carbon dioxide biofixation by *Chlorella vulgaris*. *J. Memb. Sci.*, 325(1):336–345, nov 2008.
- [54] K.K. Vasumathi, M. Premalatha, and P. Subramanian. Parameters influencing the design of photobioreactor for the growth of microalgae. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 16(7):5443–5450, sep 2012.
- [55] Navid R. Moheimani and Michael A. Borowitzka. Increased CO₂ and the effect of pH on growth and calcification of *Pleurochrysis carterae* and *Emiliana huxleyi* (Haptophyta) in semicontinuous cultures. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 90(4):1399–1407, may 2011.
- [56] Clemens Posten. Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae. *Eng. Life Sci.*, 9(3):165–177, jun 2009.
- [57] David O. Hall, F. G. Ación Fernández, E. Cañizares Guerrero, K. Krishna Rao, and E. Molina Grima. Outdoor helical tubular photobioreactors for microalgal production: Modeling of fluid-dynamics and mass transfer and assessment of biomass productivity. *Biotechnol. Bioeng.*, 82(1):62–73, apr 2003.
- [58] A. Melis. Solar energy conversion efficiencies in photosynthesis: minimizing the chlorophyll antennae to maximize efficiency. *Plant Sci.*, 177(4):272–280, 2009.
- [59] Bei Wang, Christopher Q. Lan, and Mark Horsman. Closed photobioreactors for production of microalgal biomasses. *Biotechnol. Adv.*, 30(4):904–912, jul 2012.
- [60] Yang Quan, Simo O. Pehkonen, , and Madhumita B. Ray*. Evaluation of Three Different Lamp Emission Models Using Novel Application of Potassium Ferrioxalate Actinometry. 2004.
- [61] J.C. Merchuk and X. Wu. Modeling of photobioreactors: Application to bubble column simulation. *J. Appl. Phycol.*, 15(2/3):163–169, mar 2003.
- [62] J.P. Bitog, I.-B. Lee, C.-G. Lee, K.-S. Kim, H.-S. Hwang, S.-W. Hong, I.-H. Seo, K.-S. Kwon, and E. Mostafa. Application of computational fluid dynamics for modeling and designing photobioreactors for microalgae production: A review. *Comput. Electron. Agric.*, 76(2):131–147, may 2011.
- [63] Clemens Posten. Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae. *Eng. Life Sci.*, 9(3):165–177, 2009.
- [64] J Degen, A Uebele, A Retze, U Schmid-Staiger, and W Trösch. A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the flashing light effect. *J. Biotechnol.*, 92(2):89–94, dec 2001.

- [65] Cor Zonneveld. Light-limited microalgal growth: a comparison of modelling approaches. Technical report, 1998.
- [66] Celeste Brindley, F.G. Ación Fernández, and J.M. Fernández-Sevilla. Analysis of light regime in continuous light distributions in photobioreactors. *Bioresour. Technol.*, 102(3):3138–3148, feb 2011.
- [67] Carsten Vejrazka, Marcel Janssen, Mathieu Streefland, and René H. Wijffels. Photosynthetic efficiency of *Chlamydomonas reinhardtii* in flashing light. *Biotechnol. Bioeng.*, 108(12):2905–2913, dec 2011.
- [68] Jean-François Cornet and Claude-Gilles Dussap. A Simple and reliable formula for assessment of maximum volumetric productivities in photobioreactors. *Biotechnol. Prog.*, 25(2):424–435, mar 2009.
- [69] A.P. Carvalho, L.A. Meireles, and F.X. Malcata. Microalgal Reactors: A Review of Enclosed System Designs and Performances. *Biotechnol. Prog.*, 22(6):1490–1506, dec 2006.
- [70] E. Molina, F.G. Ación Fernández, F. García Camacho, F. Camacho Rubio, and Y. Chisti. Scale-up of tubular photobioreactors. *J. Appl. Phycol.*, 12(3/5):355–368, 2000.
- [71] Y. Kawase and M. Moo-Young. The effect of antifoam agents on mass transfer in bioreactors. *Bioprocess Eng.*, 5(4):169–173, 1990.
- [72] D. Chaumont, C. Thepenier, C. Gudín, and C. Junjas. Scaling up a tubular photoreactor for continuous culture of *Porphyridium cruentum* from laboratory to pilot plant (1981-1987). *Algal Biotechnol. / Ed. by T. Stadler ... [et al.]*, 1988.
- [73] Xin Guo, Lishan Yao, and Qingshan Huang. Aeration and mass transfer optimization in a rectangular airlift loop photobioreactor for the production of microalgae. *Bioresour. Technol.*, 190:189–195, aug 2015.
- [74] Lara Sanchez Rizza, Maria Eugenia Sanz Smachetti, Mauro Do Nascimento, Graciela Lidia Salerno, and Leonardo Curatti. Bioprospecting for native microalgae as an alternative source of sugars for the production of bioethanol. *Algal Res.*, 22:140–147, mar 2017.
- [75] Avigad Vonshak. *Spirulina: Growth, Physiology and Biochemistry*. pages 61–84, apr 2014.
- [76] R.N. Singh and Shaishav Sharma. Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 16(4):2347–2353, may 2012.
- [77] Tylor J. Johnson, Sarmila Katuwal, Gary A. Anderson, Liping Gu, Ruanbao Zhou, and William R. Gibbons. Photobioreactor cultivation strategies for microalgae and cyanobacteria. *Biotechnol. Prog.*, (March), 2018.
- [78] Hu Qiang and Amos Richmond. Productivity and photosynthetic efficiency of *Spirulina platensis* as affected by light intensity, algal density and rate of mixing in a flat plate photobioreactor. *J. Appl. Phycol.*, 8(2):139–145, mar 1996.

- [79] F.G. Ación Fernández, J.M. Fernández Sevilla, J.A. Sánchez Pérez, E. Molina Grima, and Y. Chisti. Airlift-driven external-loop tubular photobioreactors for outdoor production of microalgae: assessment of design and performance. *Chem. Eng. Sci.*, 56(8):2721–2732, apr 2001.
- [80] E. Sierra, F.G. Ación, J.M. Fernández, J.L. García, C. González, and E. Molina. Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. *Chem. Eng. J.*, 138(1-3):136–147, may 2008.
- [81] Amos Richmond. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology/edited by Amos Richmond. *Orton.Catie.Ac.Cr.*, page 472, 2004.
- [82] Orlando Jorquera, Asher Kiperstok, Emerson A. Sales, Marcelo Embiruçu, and Maria L. Ghirardi. Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors. *Bioresour. Technol.*, 101(4):1406–1413, feb 2010.
- [83] Amos Richmond and Zhang Cheng-Wu. Optimization of a flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis* sp. outdoors. *J. Biotechnol.*, 85(3):259–269, feb 2001.
- [84] José Moreno, M.Ángeles Vargas, Herminia Rodríguez, Joaquín Rivas, and Miguel G. Guerrero. Outdoor cultivation of a nitrogen-fixing marine cyanobacterium, *Anabaena* sp. ATCC 33047. *Biomol. Eng.*, 20(4-6):191–197, jul 2003.
- [85] Navid Reza Moheimani and Michael A. Borowitzka. Limits to productivity of the alga *Pleurochrysis carterae* (Haptophyta) grown in outdoor raceway ponds. *Biotechnol. Bioeng.*, 96(1):27–36, jan 2007.
- [86] Joseph C. Weissman, Raymond P. Goebel, and John R. Benemann. Photobioreactor design: Mixing, carbon utilization, and oxygen accumulation. *Biotechnol. Bioeng.*, 31(4):336–344, mar 1988.
- [87] Kawisra Sompech, Yusuf Chisti, and Thongchai Srinophakun. Design of raceway ponds for producing microalgae. *Biofuels*, 3(4):387–397, jul 2012.
- [88] David Chiaramonti, Matteo Prussi, David Casini, Mario R. Tredici, Liliana Rodolfi, Niccolò Bassi, Graziella Chini Zittelli, and Paolo Bondioli. *Applied energy*. Elsevier, 2013.
- [89] Scott C. James and Varun Boriah. Modeling Algae Growth in an Open-Channel Raceway. *J. Comput. Biol.*, 17(7):895–906, jul 2010.
- [90] Johan U. Grobbelaar. Microalgae mass culture: the constraints of scaling-up. *J. Appl. Phycol.*, 24(3):315–318, jun 2012.
- [91] Y. Azov and G. Shelef. Operation of high-rate oxidation ponds: theory and experiments. *Water Res.*, 16(7):1153–1160, jan 1982.
- [92] J.B.K. Park, R.J. Craggs, and A.N. Shilton. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresour. Technol.*, 102(1):35–42, jan 2011.
- [93] Ron Putt, Manjinder Singh, Senthil Chinnasamy, and K.C. Das. An efficient system for carbonation of high-rate algae pond water to enhance CO₂ mass transfer. *Bioresour. Technol.*, 102(3):3240–3245, feb 2011.

- [94] Carlos Jiménez, Belén R. Cossío, and F.Xavier Niell. Relationship between physicochemical variables and productivity in open ponds for the production of *Spirulina*: a predictive model of algal yield. *Aquaculture*, 221(1-4):331–345, may 2003.
- [95] Facundo J. Marquez, Ken Sasaki, Naomichi Nishio, and Shiro Nagai. Inhibitory effect of oxygen accumulation on the growth of *Spirulina platensis*. *Biotechnol. Lett.*, 17(2):225–228, feb 1995.
- [96] Liam Brennan and Philip Owende. Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 14(2):557–577, feb 2010.
- [97] Mario R. Tredici. Mass Production of Microalgae: Photobioreactors. In *Handb. Microalgal Cult.*, pages 178–214. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK.
- [98] Balachandran Ketheesan and Nagamany Nirmalakhandan. Feasibility of microalgal cultivation in a pilot-scale airlift-driven raceway reactor. *Bioresour. Technol.*, 108:196–202, mar 2012.
- [99] Gustavo A. de Andrade, Daniel J. Pagano, Ignacio Fernández, J. L. Guzmán, and Manuel Berenguel. Boundary Control of an Industrial Tubular Photobioreactor Using Sliding Mode Control, 2014.
- [100] Yaşar Durmaz and Gökhan Çağatay Erbil. Performance of industrial-scale tubular photobioreactor in marine hatchery. *J. Appl. Phycol.*, 29(6):2755–2760, dec 2017.
- [101] G. Torzillo, B. Pushparaj, F. Bocci, W. Balloni, R. Materassi, and G. Florenzano. Production of *Spirulina* biomass in closed photobioreactors. *Biomass*, 11(1):61–74, jan 1986.
- [102] Yoshitomo Watanabe, Joël de la Noüe, and David O. Hall. Photosynthetic performance of a helical tubular photobioreactor incorporating the cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Biotechnol. Bioeng.*, 47(2):261–269, jul 1995.
- [103] Yue-Hui Zhu and Jian-Guo Jiang. Continuous cultivation of *Dunaliella salina* in photobioreactor for the production of β -carotene. *Eur. Food Res. Technol.*, 227(3):953–959, jul 2008.
- [104] Marcel Janssen, Lucas de Bresser, Teun Baijens, Johannes Tramper, Luuc R. Mur, Jan F.H. Snel, and René H. Wijffels. Scale-up aspects of photobioreactors: effects of mixing-induced light/dark cycles. *J. Appl. Phycol.*, 12(3/5):225–237, 2000.
- [105] F. G. Acién Fernández, F. García Camacho, J. A. Sánchez Pérez, J. M. Fernández Sevilla, and E. Molina Grima. Modeling of biomass productivity in tubular photobioreactors for microalgal cultures: Effects of dilution rate, tube diameter, and solar irradiance. *Biotechnol. Bioeng.*, 58(6):605–616, jun 1998.
- [106] Roger W. Babcock, Jos Malda, and JoAnn C. Radway. Hydrodynamics and mass transfer in a tubular airlift photobioreactor. *J. Appl. Phycol.*, 14(3):169–184, 2002.
- [107] Suvi Ojanen, Esa Tyystjärvi, Henrik Holmberg, and Pekka Ahtila. Porous membrane as a means of gas and nutrient exchange in a tubular photobioreactor. *J. Appl. Phycol.*, 27(3):1169–1175, jun 2015.

- [108] Lihua Cheng, Lin Zhang, Huanlin Chen, and Congjie Gao. Carbon dioxide removal from air by microalgae cultured in a membrane-photobioreactor. *Sep. Purif. Technol.*, 50(3):324–329, jul 2006.
- [109] Caitlin R. Gerdes, Taylor N. Suess, Gary A. Anderson, and Stephen P. Gent. Investigation of Hydrodynamics and Heat Transfer Effects Due to Light Guides in a Column Photobioreactor. *J. Fuel Cell Sci. Technol.*, 11(4):041002, aug 2014.
- [110] C. Leonard, J.-H. Ferrasse, O. Boutin, S. Lefevre, and A. Viand. Bubble column reactors for high pressures and high temperatures operation. *Chem. Eng. Res. Des.*, 100:391–421, aug 2015.
- [111] Chitralekha Nag Dasgupta, J Jose Gilbert, Peter Lindblad, Thorsten Heidorn, Stig A Borgvang, Kari Skjanes, and Debabrata Das. Recent trends on the development of photobiological processes and photobioreactors for the improvement of hydrogen production. *Int. J. Hydrogen Energy*, 2010.
- [112] Michael A. Borowitzka. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *J. Biotechnol.*, 70(1-3):313–321, apr 1999.
- [113] Esra Imamoglu. Effects of geometrical configurations of photobioreactors on the growth of marine benthic diatom *Cylindrotheca closterium*.
- [114] B. Ketheesan and N. Nirmalakhandan. Development of a new airlift-driven raceway reactor for algal cultivation. *Appl. Energy*, 88(10):3370–3376, oct 2011.
- [115] Martin Gross, Vernon Mascarenhas, and Zhiyou Wen. Evaluating algal growth performance and water use efficiency of pilot-scale revolving algal biofilm (RAB) culture systems. *Biotechnol. Bioeng.*, 112(10):2040–2050, oct 2015.
- [116] Zouhayr Arbib, Jesús Ruiz, Pablo Álvarez-Díaz, Carmen Garrido-Pérez, Jesus Barragan, and José A. Perales. Long term outdoor operation of a tubular airlift pilot photobioreactor and a high rate algal pond as tertiary treatment of urban wastewater. *Ecol. Eng.*, 52:143–153, mar 2013.
- [117] Jiří Doucha, František Straka, and Karel Lívanský. Utilization of flue gas for cultivation of microalgae *Chlorella* sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor. *J. Appl. Phycol.*, 17(5):403–412, oct 2005.
- [118] Jiří Doucha and Karel Lívanský. Novel outdoor thin-layer high density microalgal culture system: Productivity and operational parameters. *Algol. Stud. für Hydrobiol. Suppl. Vol.*, pages 129–147, jan 1995.
- [119] O. Pulzl, N. Gerbsch, and R. Buchholz. Light energy supply in plate-type and light diffusing optical fiber bioreactors. *J. Appl. Phycol.*, 7(2):145–149, apr 1995.
- [120] Amos Richmond. Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors: an overview. *Hydrobiologia*, 512(1-3):33–37, jan 2004.
- [121] A.L. Ahmad, N.H. Mat Yasin, C.J.C. Derek, and J.K. Lim. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(1):584–593, January 2011.

- [122] Cynthia Folsom Murphy and David T. Allen. Energy-water nexus for mass cultivation of algae. *Environ. Sci. Technol.*, 45(13):5861–5868, June 2011.
- [123] Kevin J. Flynn, David O. F. Skibinski, and Christian Lindemann. Effects of growth rate, cell size, motion, and elemental stoichiometry on nutrient transport kinetics. *PLOS Computational Biology*, 14(4):e1006118, April 2018.
- [124] Micaela Benavides, Dries Telen, Joost Lauwers, Filip Logist, Jan Van Impe, and Alain Vande Wouwer. Parameter identification of the droop model using optimal experiment design. *IFAC-PapersOnLine*, 28(1):586–591, 2015.
- [125] F. G. Ación Fernández, F. García Camacho, J. A. Sánchez Pérez, J. M. Fernández Sevilla, and E. Molina Grima. A model for light distribution and average solar irradiance inside outdoor tubular photobioreactors for the microalgal mass culture. *Biotechnol. Bioeng.*, 55(5):701–714, 1997.
- [126] A. Bahadur, M. Zubair, and M. B. Khan. Design, construction and evaluation of solarized airlift tubular photobioreactor. *J. Phys. Conf. Ser.*, 439(1), 2013.
- [127] Micaela Benavides, Anne Lise Hantson, Jan van Impe, and Alain Vande Wouwer. Parameter identification of Droop model: an experimental case study. *Bioprocess Biosyst. Eng.*, 38(9):1783–1793, 2015.
- [128] John Caperon. Population Growth in Micro-Organisms Limited by Food Supply. *Ecology*, 48(5):715–722, 1967.
- [129] Christopher A. Klausmeier, Elena Litchman, and Simon A. Levin. Phytoplankton growth and stoichiometry under multiple nutrient limitation. *Limnology and Oceanography*, 49(4part2):1463–1470, January 2004.
- [130] G. Gris, A. C. Paim, M. Farenzena, and J. O. Trierweiler. Laboratory apparatus to evaluate microalgae production. *Brazilian J. Chem. Eng.*, 30(3):487–497, 2013.
- [131] Jacques Monod. THE GROWTH OF BACTERIAL CULTURES. *Annual Review of Microbiology*, 3(1):371–394, October 1949.
- [132] Sebnem Aslan and Ilgi Karapinar Kapdan. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecological Engineering*, 28(1):64–70, November 2006.
- [133] Candida S. Punla, <https://orcid.org/0000-0002-1094-0018>, cspunla@bpsu.edu.ph, Rosemarie C. Farro, <https://orcid.org/0000-0002-3571-2716>, rcfarro@bpsu.edu.ph, and Bataan Peninsula State University Dinalupihan, Bataan, Philippines. Are we there yet?: An analysis of the competencies of BEED graduates of BPSU-DC. *International Multidisciplinary Research Journal*, 4(3):50–59, September 2022.
- [134] John F. Andrews. A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates. *Biotechnology and Bioengineering*, 10(6):707–723, November 1968.
- [135] Norihide Kurano and Shigetoh Miyachi. Selection of microalgal growth model for describing specific growth rate-light response using extended information criterion. *J. Biosci. Bioeng.*, 100(4):403–408, October 2005.

- [136] Anondho Wijanarko, Dianursanti, Antonius Yudi Sendjaya, Heri Hermansyah, Arief Budi Witarto, Misri Gozan, Bondan Tiara Sofyan, Kazuhiro Asami, Kazuhisa Ohtaguchi, Roekmijati Widaningroem Soemantojo, and Seung Koo Song. Enhanced *Chlorella vulgaris* batch growth by photon flux density alteration in serial photobioreactors. *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 13(4):476–482, August 2008.
- [137] M.E. Martínez Sancho, J.M. Jiménez Castillo, and Farida El Yousfi. Influence of phosphorus concentration on the growth kinetics and stoichiometry of the microalga *Scenedesmus obliquus*. *Process Biochemistry*, 32(8):657–664, November 1997.
- [138] M.E. Martínez, J.M. Jiménez, and F. El Yousfi. Influence of phosphorus concentration and temperature on growth and phosphorus uptake by the microalga *Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology*, 67(3):233–240, March 1999.
- [139] James P. Grover. Dynamics of Competition among Microalgae in Variable Environments: Experimental Tests of Alternative Models. *Oikos*, 62(2):231, 1991.
- [140] John Caperton and Judith Meyer. Nitrogen-limited growth of marine phytoplankton-I. changes in population characteristics with steady-state growth rate. *Deep. Res. Oceanogr. Abstr.*, 19(9):601–618, 1972.
- [141] K J Flynn. Modelling the interactions between ammonium and nitrate. *Philos. Trans. B*, 352, 1997.
- [142] K. Shibata A. Mituya T. Iwamura T. Nihei T. Sasa H. Tamiya, E. Hase. Kinetics of growth of *Chlorella*, with special reference to its dependence on quantity of available light and on temperature, algal culture from laboratory to pilot plant. *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts*, pages 204–234, September 1953.
- [143] S.R. Chae, E.J. Hwang, and H.S. Shin. Single cell protein production of *Euglena gracilis* and carbon dioxide fixation in an innovative photo-bioreactor. *Bioresource Technology*, 97(2):322–329, January 2006.
- [144] J.L.P. van Oorschot. Conversion of light energy in algal culture. *Bioresource Technology*, January 1955.
- [145] T. T. Bannister. Quantitative description of steady state, nutrient-saturated algal growth, including adaptation. *Limnology and Oceanography*, 24(1):76–96, January 1979.
- [146] Bruce E. Chalker. Modeling light saturation curves for photosynthesis: An exponential function. *Journal of Theoretical Biology*, 84(2):205–215, May 1980.
- [147] E. Molina Grima, F. García Camacho, J. A. Sánchez Pérez, J. M. Fernández Sevilla, F. G. Acién Fernández, and A. Contreras Gómez. A mathematical model of microalgal growth in light-limited chemostat culture. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 61(2):167–173, oct 1994.
- [148] James C. Ogonna, Hirokazu Yada, and Hideo Tanaka. Kinetic study on light-limited batch cultivation of photosynthetic cells. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 80(3):259–264, January 1995.

- [149] J. H. Steele. ENVIRONMENTAL CONTROL OF PHOTOSYNTHESIS IN THE SEA. *Limnology and Oceanography*, 7(2):137–150, April 1962.
- [150] Shuichi Aiba. Growth kinetics of photosynthetic microorganisms. In *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, pages 85–156. Springer Berlin Heidelberg, 1982.
- [151] H. Y. Lee, L. E. Erickson, and S. S. Yang. Kinetics and bioenergetics of light-limited photoautotrophic growth of *Spirulina platensis*. *Biotechnology and Bioengineering*, 29(7):832–843, May 1987.
- [152] P TALBOT. A comparative study and mathematical modeling of temperature, light and growth of three microalgae potentially useful for wastewater treatment. *Water Research*, 25(4):465–472, April 1991.
- [153] Olivier Bernard and Barbara Rémond. Validation of a simple model accounting for light and temperature effect on microalgal growth. *Bioresour. Technol.*, 123:520–527, 2012.
- [154] Gaël Bougaran, Olivier Bernard, and Antoine Sciandra. Modeling continuous cultures of microalgae colimited by nitrogen and phosphorus. *J. Theor. Biol.*, 265(3):443–454, 2010.
- [155] Elly Spijkerman, Francisco de Castro, and Ursula Gaedke. Independent colimitation for carbon dioxide and inorganic phosphorus. *PLoS ONE*, 6(12):e28219, December 2011.
- [156] Jeremy S. Guest, Mark C. M. van Loosdrecht, Steven J. Skerlos, and Nancy G. Love. Lumped pathway metabolic model of organic carbon accumulation and mobilization by the alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental Science and Technology*, 47(7):3258–3267, March 2013.
- [157] Heikki Haario, Leonid Kalachev, and Marko Laine. Reduced models of algae growth. *Bulletin of Mathematical Biology*, 71(7):1626–1648, May 2009.
- [158] Rayen Filali, Sihem Tebbani, Didier Dumur, Arsène Isambert, Dominique Pareau, and Filipa Lopes. *Growth modeling of the green microalga Chlorella vulgaris in an air-lift photobioreactor*, volume 44. IFAC, 2011.
- [159] J. Pruvost, G. Van Vooren, G. Cogne, and J. Legrand. Investigation of biomass and lipids production with *Neochloris oleoabundans* in photobioreactor. *Bioresource Technology*, 100(23):5988–5995, December 2009.
- [160] Liliana Rodolfi, Graziella Chini Zittelli, Niccolò Bassi, Giulia Padovani, Natascia Biondi, Gimena Bonini, and Mario R. Tredici. Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnol. Bioeng.*, 102(1):100–112, jan 2009.
- [161] ON Ross and RJ Geider. New cell-based model of photosynthesis and photo-acclimation: accumulation and mobilisation of energy reserves in phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*, 383:53–71, May 2009.
- [162] M. R. Droop. 25 years of algal growth kinetics a personal view. *Botanica Marina*, 26(3), 1983.
- [163] G. C. Layek. *An introduction to dynamical systems and chaos*. 2015.

- [164] Francis Mairet and Régis Baron. A Physiologically Structured Equation to Consider Quota Heterogeneity in the Droop Model. *IFAC-PapersOnLine*, 52(26):275–280, 2019.
- [165] Assaf Sukenik and Alexander Livne. Variations in lipid and fatty acid content in relation to acetyl CoA carboxylase in the marine prymnesiophyte *isochrysis galbana*. *Plant and Cell Physiology*, 32(3):371–378, April 1991.
- [166] J Ohlrogge and J Browse. Lipid biosynthesis. *The Plant Cell*, 7(7):957–970, July 1995.
- [167] M. R. Droop, M. J. Mickelson, J. M. Scott, and M. F. Turner. Light and nutrient status of algal cells. *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom*, 62(2):403–434, 1982.
- [168] Richard J. Geider, Hugh L. MacIntyre, and Todd M. Kana. A dynamic regulatory model of phytoplankton acclimation to light, nutrients, and temperature. *Limnology and Oceanography*, 43(4):679–694, June 1998.
- [169] Mercedes Pascual and Hal Caswell. From the cell cycle to population cycles in phytoplankton-nutrient interactions. *Ecology*, 78(3):897, April 1997.
- [170] B. Faugeras, O. Bernard, A. Sciandra, and M. Lévy. A mechanistic modelling and data assimilation approach to estimate the carbon/chlorophyll and carbon/nitrogen ratios in a coupled hydrodynamical-biological model. *Nonlinear Processes in Geophysics*, 11(4):515–533, November 2004.
- [171] P. H.C. Eilers and J. C.H. Peeters. A model for the relationship between light intensity and the rate of photosynthesis in phytoplankton. *Ecol. Modell.*, 42(3-4):199–215, 1988.
- [172] J T Lehman, D B Botkin, and G E Likens. The assumptions and rationales of a computer model of phytoplankton population dynamics. *Limnol. Oceanogr.*, 20(3):343–364, 1975.
- [173] F. G. Acién Fernández, F. García Camacho, J. A. Sánchez Pérez, J. M. Fernández Sevilla, and E. Molina Grima. A model for light distribution and average solar irradiance inside outdoor tubular photobioreactors for the microalgal mass culture. *Biotechnology and Bioengineering*, 55(5):701–714, September 1997.
- [174] Jef Huisman and Franz J. Weissing. Light-limited growth and competition for light in well-mixed aquatic environments: An elementary model. *Ecology*, 75(2):507–520, March 1994.
- [175] Tracy Anning, Hugh L. MacIntyre, Sandra M. Pratt, Pippa J. Sammes, Stuart Gibb, and Richard J. Geider. Photoacclimation in the marine diatom *skeletonema costatum*. *Limnology and Oceanography*, 45(8):1807–1817, December 2000.
- [176] Edward A. Laws and T. T. Bannister. Nutrient- and light-limited growth of *thalassiosira fluviatilis* in continuous culture, with implications for phytoplankton growth in the ocean. *Limnology and Oceanography*, 25(3):457–473, May 1980.
- [177] Richard J. Geider and Julie La Roche. Redfield revisited: Variability of C:N:P in marine microalgae and its biochemical basis. *Eur. J. Phycol.*, 37(1):1–17, 2002.
- [178] Nathalie Lefèvre, Arnold H. Taylor, Francis J. Gilbert, and Richard J. Geider. Modeling carbon to nitrogen and carbon to chlorophyll a ratios in the ocean at low latitudes: Evaluation of the role of physiological plasticity. *Limnol. Oceanogr.*, 48(5):1796–1807, 2003.

- [179] Olivier Bernard and Francis Mairet. *Modelling of Microalgae Culture Systems with Applications to Control and Optimization*. 2015.
- [180] Kathleen T. Alligood, Tim. Sauer, and James A. Yorke. *Chaos : an introduction to dynamical systems*. Springer, 1996.
- [181] Mesut Bekirogullari, Gonzalo M. Figueroa-Torres, Jon K. Pittman, and Constantinos Theodoropoulos. Models of microalgal cultivation for added-value products - A review. *Biotechnol. Adv.*, 44:107609, 2020.
- [182] Ebraheem O. Alzahrani, M. M. El-Dessoky, and Prashant Dogra. Global dynamics of a cell quota-based model of light-dependent algae growth in a chemostat. *Commun. Nonlinear Sci. Numer. Simul.*, 90:105295, 2020.
- [183] Anthony Thornton, Thomas Weinhart, Onno Bokhove, Bowen Zhang, Dick M Van Der Sar, Kundan Kumar, Maxim Pisarenco, Maria Rudnaya, Valeriu Savcenco, Jens Rademacher, Julia Zijlstra, Alicja Szabelska, Joanna Zyprych, Martin Van Der Schans, Vincent Timperio, and Frits Veerman. *Modeling and Optimization of Algae Growth*. Technical report.
- [184] Ignacio López Muñoz and Olivier Bernard. Modeling the influence of temperature, light intensity and oxygen concentration on microalgal growth rate. *Processes*, 9(3):1–14, 2021.
- [185] Kenneth Lange and Francisco J. Oyarzun. The attractiveness of the droop equations. *Math. Biosci.*, 111(2):261–278, 1992.
- [186] Stephen Wiggins, L Sirovich, S S Antman, P Holmes, D Barkley, M Dellnitz, and Stephen Wiggins. *Introduction to applied nonlinear dynamical systems and chaos*, volume 33. 1991.
- [187] Guzmán-Palomino, Luciano Aguilera-Vázquez, Héctor Hernández-Escoto, and Pedro Martin García-Vite. Sensitivity, equilibria, and lyapunov stability analysis in droop’s nonlinear differential equation system for batch operation mode of microalgae culture systems. *Mathematics*, 9(18), 2021.
- [188] R. Ratianingsih, Fitriani, N. Nacong, Resnawati, Mardlijah, and B. Widodo. The stability analysis of the nutrition restricted dynamic model of the microalgae biomass growth. *AIP Conf. Proc.*, 1937, 2018.
- [189] Jie Li and Jian-Bing Chen. Dynamic response and reliability analysis of structures with uncertain parameters. *International Journal for Numerical Methods in Engineering*, 62(2):289–315, 2004.
- [190] Dong-Wei Huang, Shen-Xin Yu, and Yu-Xia Fu. Research on the Dynamics of Red Tide Algae Density Evolution Mechanism and Control. (Icmsa):804–809, 2015.
- [191] F. Mairet, H. Ramírez C., and A. Rojas-Palma. Modeling and stability analysis of a microalgal pond with nitrification. *Appl. Math. Model.*, 51:448–468, 2017.
- [192] Elisa Benincá, Jef Huisman, Reinhard Heerkloss, Klaus D. Jöhnk, Pedro Branco, Egbert H. Van Nes, Marten Scheffer, and Stephen P. Ellner. Chaos in a long-term experiment with a plankton community. *Nature*, 451(7180):822–825, 2008.

- [193] Gerasimos Rigatos, Pierluigi Siano, Sul Ademi, and Patrice Wira. An adaptive neurofuzzy H-infinity control method for bioreactors and biofuels production. *Proc. IECON 2017 - 43rd Annu. Conf. IEEE Ind. Electron. Soc.*, 2017-Janua:8750–8755, 2017.
- [194] Zhe Li and Rui Xu. Stability analysis of a ratio-dependent chemostat model with time delay and variable yield. *Int. J. Biomath.*, 3(2):243–253, 2010.
- [195] Howard Passell, Harnoor Dhaliwal, Marissa Reno, Ben Wu, Ami Ben Amotz, Etai Ivry, Marcus Gay, Tom Czartoski, Lise Laurin, and Nathan Ayer. Algae biodiesel life cycle assessment using current commercial data. *J. Environ. Manage.*, 129:103–111, 2013.
- [196] Kyung Hwan Ryu, Min Gyu Sung, Boeun Kim, Seongmin Heo, Yong Keun Chang, and Jay H. Lee. *A mathematical model of intracellular behavior of microalgae for predicting growth and intracellular components syntheses under nutrient-replete and -deplete conditions*, volume 115. 2018.
- [197] Diyuan Wang, Yi Chun Lai, Amanda L. Karam, Francis L. De Los Reyes, and Joel J. Ducoste. Dynamic Modeling of Microalgae Growth and Lipid Production under Transient Light and Nitrogen Conditions. *Environ. Sci. Technol.*, 53(19):11560–11568, 2019.
- [198] Hassan K Khalil. *Nonlinear systems; 3rd ed.* Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ, 2002. The book can be consulted by contacting: PH-AID: Wallet, Lionel.
- [199] Federico Alberto Gorrini, Jesús Miguel Zamudio Lara, Silvina Inés Biagiola, José Luis Figueroa, Héctor Hernández Escoto, Anne Lise Hantson, and Alain Vande Wouwer. Experimental study of substrate limitation and light acclimation in cultures of the microalgae *Scenedesmus obliquus*—Parameter identification and model predictive control. *Processes*, 8(12):1–23, 2020.
- [200] H C Huppe and D H Turpin. Integration of carbon and nitrogen metabolism in plant and algal cells. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 45(1):577–607, June 1994.
- [201] Ana P. Carvalho, Cristina M. Monteiro, and F. Xavier Malcata. Simultaneous effect of irradiance and temperature on biochemical composition of the microalga *Pavlova lutheri*. *J. Appl. Phycol.*, 21(5):543–552, oct 2009.