

Quijano Armengol, A.J, Robles Heredia, J.C., Narváez García, A., Canedo López, Y. 2025. Diseño y Funcionamiento de un Fotobioreactor Helicoidal para el Crecimiento y Remoción de Nutrientes Mediante *Chlorella vulgaris*, p. 321-336. En: J.G. Cerón Bretón, R. M. Cerón Bretón y M. López Cisneros (ed.). Tópicos Selectos de Contaminación Ambiental. Universidad Autónoma de Campeche. 366 p. ISBN 978-607-8907-33-5. doi 10.26359/EPOMEX01202516.

Diseño y Funcionamiento de un Fotobioreactor Helicoidal para el Crecimiento y Remoción de Nutrientes Mediante *Chlorella vulgaris*

A. de J. Quijano Armengol, J.C. Robles Heredia,
A. Narváez García y Y. Canedo-López

Facultad de Química
Universidad Autónoma del Carmen

Resumen

El presente trabajo tiene como prioridad la evaluación del crecimiento celular y la remoción de nutrientes por *Chlorella vulgaris* en medios de agua residual, así como en la capacidad de las microalgas para generar un mayor crecimiento mediante las diferentes longitudes de onda; el estudio se realizó utilizando condiciones autótrofas bajo distintos espectros de luz (Blanco), dentro de un fotobiorreactor de forma tubular, el cual estará conectado a un diseño de serpentín (helicoidal), que contará con una delimitación por zonas de diferentes colores (Violeta, rojo y azul), con los que la microalga obtendrá un aporte de energía a lo largo del fotobiorreactor. Así mismo, para evitar la aglomeración continua de las microalgas durante la fase de crecimiento en el serpentín y las mangueras de interconexión, fue necesario añadir un sistema de bombeo que ayuda a que todo el medio de cultivo tenga un recorrido más completo, logrando así, absorber la mayor cantidad de luz posible durante la fase de crecimiento exponencial y evitando que ocurran daños por estrés que repercutan en su crecimiento celular y remoción de nutrientes. El proceso implica la puesta en marcha y configuración del fotobiorreactor, así como la preparación de los cultivos de *Chlorella vulgaris*. Durante el presente trabajo se monitoreó el crecimiento de las algas, evaluando su eficacia en la remoción de nitrógeno (N_2) dentro del agua residual, como compuestos orgánicos e inorgánicos. Los resultados obtenidos proporcionan datos importantes sobre la capacidad de *Chlorella vulgaris* para depurar agua residual y su potencial aplicación en la biorremediación de aguas contaminadas. Este trabajo contribuirá a dar un mayor realce a la microalga en el desarrollo de aplicaciones sostenibles sobre el tratamiento de aguas residuales con fines ambientales.

Palabras clave: crecimiento, agua residual, espectro de luz, *Chlorella vulgaris*.

Abstract

The focus of this study is to evaluate the growth of *Chlorella vulgaris* and its ability to remove nutrients from wastewater media. Additionally, the study aims to determine how different light wavelengths can promote increased growth of microalgae. The research was conducted under autotrophic conditions using various light spectrums (including white light) in a tubular photo-bioreactor. The photo-bioreactor was designed with a coil structure and segmented, into different colored zones (violet, red, and blue), to provide the microalgae with energy. To prevent the microalgae from clumping together during growth within the coil and interconnecting hoses, a pumping system was added to ensure that the culture medium circulated effectively. This design allows the microalgae to absorb as much light as possible during the exponential growth phase and helps prevent stress damage that can hinder cell growth and nutrient removal. The process involves starting up and configuring the photo-bioreactor, as well as preparing *Chlorella vulgaris* cultures. During this work, we monitored the growth of algae and evaluated its effectiveness in removing nitrogen (N_2) within the wastewater, both organic and inorganic compounds. The results obtained provide important data on the capacity of *Chlorella vulgaris* to purify wastewater and its potential application in the bioremediation of contaminated waters. This work will contribute to giving greater prominence to microalgae in the development of sustainable applications for wastewater treatment for environmental purposes.

Keywords: Growth, Wastewater, Light spectrum, *Chlorella vulgaris*.

Introducción

Las microalgas son microorganismos fotoautótrofos que cuentan con una estructura unicelular con la que logran transformar la energía proveniente del sol en energía química a través de la fijación de CO_2 , por lo general, se encuentran en sistemas de agua dulce y sistemas de agua salada como océanos, lagos y estanques, algunas especies también pueden crecer en suelos húmedos y rocas, la biotecnología microalgal es una forma de producción de biomasa muy similar a la agricultura convencional, presentando algunas ventajas, ya que las algas son fotosintéticamente más eficientes que las plantas comunes, logrando alcanzar productividades de biomasa más alta, tasas de crecimiento más rápido, mayor fijación de CO_2 y mayor tasa de producción de O_2 en comparación con plantas superiores. Otra de las ventajas es que algunas especies son capaces de crecer empleando materia orgánica como fuente de energía o de carbono. Las diferentes especies varían mucho, pero todas las microalgas comparten una misma característica: son capaces de producir su propio alimento a través de la fotosíntesis. Actualmente las microalgas han surgido como una prometedora fuente de biomasa renovable con una amplia gama de aplicaciones industriales y ambientales. Estos microorganismos fotosintéticos unicelulares, que incluyen especies como *Chlorella*, *Spirulina* y *Nannochloropsis*, han atraído considerable la atención debido a su capacidad para producir biomoléculas de interés, como lípidos, proteínas y carbohidratos, que pueden ser convertidos en biocombustibles, productos químicos y alimentos funcionales. Además, las microal-

gas desempeñan un papel importante en la mitigación del cambio climático, al absorber dióxido de carbono durante la fotosíntesis y albergar el potencial para la captura y almacenamiento de carbono.

Uno de los factores más determinantes para el crecimiento óptimo de una microalga es la geometría del reactor y el sistema de mezclado, durante la década pasada se han usado múltiples diseños de fotobiorreactores para el cultivo de organismos fotoautótrofos microscópicos como microalgas y cianobacterias, evitando la fotoinhibición y daños por estrés fotooxidativo que repercutiría en el crecimiento celular, así mismo, la cantidad y calidad de luz en los cultivos juega un papel importante dentro del estudio de las microalgas ya que determina la cantidad de energía disponible hacia los organismos fotosintéticos para regular las funciones metabólicas y fisiológicas. Estudios sugieren que los cambios bioquímicos ocurridos en la biomasa algal es una respuesta al incremento o decremento de la intensidad de luz y longitud de onda (Huang *et al.*, 2021). Algunos factores por destacar en los cultivos microalgales son los siguientes:

Intensidad lumínica: Las microalgas requieren una cierta cantidad de luz para llevar a cabo la fotosíntesis de manera eficiente. La intensidad lumínica óptima varía según la especie de microalga y las condiciones de cultivo, pero generalmente se sitúa en el rango de $50\text{--}200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiación fotosintéticamente activa por sus siglas en inglés: PAR.

Espectro de luz: Un adecuado espectro de luz también es de vital importancia cuan-

do se trata del crecimiento y desarrollo de las microalgas. Diversos autores señalan que la luz azul y roja son las más utilizadas en la fotosíntesis de las microalgas, ya que son absorbidas con mayor facilidad mediante los pigmentos fotosintéticos, como la clorofila y los carotenoides. Sin embargo, estos espectros pueden variar dependiendo de la manera en que cada especie microalgal responda a cada una de ellas.

Fotoperiodos: El ciclo de luz y oscuridad influye en el metabolismo de las microalgas. Un régimen de luz continua puede ser adecuado para algunas especies de microalgas, mientras que otras pueden requerir ciclos de luz-oscuridad para optimizar la producción de biomasa o compuestos de interés, como lípidos.

Uniformidad de la iluminación: Es importante garantizar una distribución uniforme de la luz en todo el cultivo para evitar gradientes de luz que puedan afectar el crecimiento y la productividad de las microalgas.

Fuentes de luz: Se pueden utilizar diferentes fuentes de luz, como lámparas fluorescentes, LED o luz solar natural, dependiendo de los requisitos específicos del cultivo, la disponibilidad de energía y el costo.

Al diseñar un sistema de iluminación para cultivos microalgales, es fundamental considerar estos factores para optimizar el crecimiento, la productividad de las microalgas y maximizar el rendimiento de la biomasa o los productos de interés.

Se ha demostrado que durante la etapa de crecimiento las microalgas pueden ser afectadas por distintos factores que pueden impedir su adecuado desarrollo y una

baja productividad de ácidos grasos. Entre los principales factores que afectan a las microalgas se encuentran la temperatura, el pH, la cantidad y calidad de luz, los factores operacionales de los fotobiorreactores y los factores bióticos (Ácien *et al.*, 2010).

Un rango de temperatura ideal para el crecimiento de las microalgas se encuentra entre los 20 y 24 °C, este puede variar dependiendo del medio de cultivo utilizado (Guillard *et al.*, 2022; Wang, *et al.*, 2021).

Así mismo, el pH dentro del medio de cultivo debe mantenerse en un rango de 7 a 9, esto debido a que, en niveles alcalinos, la disponibilidad de CO₂ puede ser limitante para su crecimiento y la fotosíntesis de las microalgas (Song *et al.*, 2020). El pH se incrementa conforme la edad del cultivo va avanzando, debido a la acumulación de minerales y a la oxidación de nutrientes (Guan *et al.*, 2021).

Para el crecimiento de las microalgas se requiere nutrientes disueltos en el medio de cultivo, los requerimientos varían según la especie a cultivar, al igual del resultado que se esté buscando para definir la composición de este. Los sistemas de cultivos de microalgas pueden ser iluminados por luz artificial, luz solar o ambas. Los biorreactores empleados a nivel laboratorio son iluminados interna o externamente por luz artificial con lámparas fluorescentes, diodos emisores de luz, entre otros. La tasa específica de crecimiento de las microalgas depende de la intensidad y calidad de luz utilizada. Una intensidad lumínica elevada puede producir fotoinhibición en las células microalgales, en cambio una intensidad muy baja puede afectar su metabolismo, ya que al no tener la emisión adecuada el proceso de fotosíntesis

es detenido evitando que las células obtengan energía necesaria para desarrollarse y reproducirse (Zhang *et al.*, 2020).

En algunos casos, los cultivos cerrados son buenos para el escalonamiento y la mezcla de flujos, debido a que son más factible de escalar y de menor costo comparado con los métodos de sistemas abiertos, debido a que estos últimos necesitan en algunos casos purificación, un procedimiento que muestra costo y baja rentabilidad (Hajiaghahi *et al.*, 2020). Si el suministro de nutrientes es adecuado se puede esperar una alta tasa de producción de biomasa algal. Al igual se pueden modificar las concentraciones de nutrientes, cantidad de iluminación y tipo de reactor con el fin de obtener una mayor productividad de lípidos o de biomasa (Ferreira *et al.*, 2021).

La remoción de nutrientes de la microalga *Chlorella vulgaris* en medios de agua residual puede tener varios efectos, tanto positivos como negativos:

1. Remoción de nutrientes: *Chlorella vulgaris* es conocida por su capacidad de absorber nutrientes como nitrógeno y fósforo del agua, lo que puede ayudar a redu-

cir la eutrofización, un fenómeno causado por un exceso de nutrientes en cuerpos de agua.

2. Remoción de contaminantes orgánicos: La microalga puede metabolizar y remover compuestos orgánicos presentes en el agua residual, como contaminantes industriales, pesticidas y productos farmacéuticos. Esto contribuye a la depuración del agua y a la reducción de la carga contaminante.

3. Generación de oxígeno: Durante su proceso de fotosíntesis, *Chlorella vulgaris* libera oxígeno al medio ambiente, lo que puede mejorar la calidad del agua al aumentar los niveles de oxígeno disuelto, beneficiando la vida acuática. En la Figura 1 se muestra el diseño experimental con un diagrama de flujo.

4. Producción de biomasa: La microalga puede crecer rápidamente en medios ricos de nutrientes, lo que conduce a la producción de biomasa. Esta biomasa puede ser aprovechada para la producción de biocombustibles, alimento animal o productos químicos, lo que representa una forma de valorización de los residuos.

Metodología

Para el desarrollo de la parte experimental fue seleccionada la microalga *Chlorella vulgaris* por su capacidad de desarrollarse en distintos tipos de medio de cultivo (Medio de Agua Residual, Medio Marino, etc.), además de que la tasa de crecimiento, el contenido de lípidos y tasa de remoción que la microalga puede alcanzar son elevados (Zheng *et al.*, 2021; Xie *et al.*, 2020).

La microalga fue cultivada bajo las condiciones de medio de agua residual (Ruiz *et al.*, 2010) para su posterior aclimatación en los laboratorios de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma del Carmen, logrando evaluar el impacto que tienen los modos de cultivo propuestos y el tipo de luz sobre las productividades de biomasa y consumo de nitrógeno en cada etapa experimental.



Figura 1. Diseño Experimental.

Preparación de medios de cultivo

La especie fue cultivada en un edio artificial enriquecido con diversos nutrientes en base a las concentraciones necesarias para simular el agua residual de una planta de tratamiento de aguas residuales (Ruiz *et al.*, 2017). Para la preparación de este medio se requieren siete soluciones stock: cinco soluciones de sales, una de metales traza (Guillard & Ryther, 1962), y una de vitaminas (tablas 1 a 3). Las soluciones stock se mantuvieron en refrigeración constante y se prepararon mensualmente para evitar cambios bruscos en las concentraciones.

Para la preparación de la solución stock de los metales traza se disolvieron 3.15 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 4.36 g de Na_2EDTA^+ en 900

mL de agua destilada. Se prepararon soluciones independientes para cada metal traza con las concentraciones indicadas en la tabla anterior, para posteriormente agregar 1mL de cada una de ellas a la solución de EDTA mencionada, la cual fue aforada a 1 L y agitada.

Las vitaminas se obtuvieron de un producto comercial (vitamina FORZE VF Q-10) para el cual las concentraciones finales de las vitaminas en el medio fueran similares a las indicadas en la tabla 3. Se usó el contenido de 3 cápsulas disueltas en agua destilada esterilizada, agitándose continuamente para propiciar una mejor disolución. La solución fue filtrada a través de filtros de fibra de vidrio GF-C (47 mm diámetro) con ayuda de

Tabla 1. Composición de las Soluciones Stock de sales.

Nutrientes	Concentración (mg L ⁻¹)
NH ₄ Cl	15.6
NaCl	7.0
CaCl ₂	4.0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2.0
KH ₂ PO ₄	15.0

Tabla 2. Composición del medio f/2 para la solución Stock de metales traza.

Metales Trazas	Concentración (mg L ⁻¹)
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.98
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	2.20
CoCl ₂ ·6H ₂ O	1.0
MnCl ₂ ·4H ₂ O	18.0
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.63

Tabla 3. Composición del medio f/2 para la solución Stock de vitaminas.

Metales Trazas	Concentración (mg L ⁻¹)
Tiamina	0.1
Biotina	0.1
B12	0.2

una bomba de vacío para evitar la presencia de residuos sólidos cuando se llevó a cabo la preparación del medio artificial, ya que la vitamina es una emulsión aceitosa en la cápsula. La vitamina se agregó después de esterilizar y enfriar los medios.

Después de preparar los medios, se esterilizaron en autoclave a condiciones de 121 °C y 103.42 kPa por 20 min, en matraces cerrados con papel aluminio y se dejaron enfriar a temperatura ambiente por 24 horas antes de inocular la cepa.

Preparación del inóculo y puesta en marcha

Durante el presente trabajo los cultivos de estudio fueron realizados con la microalga *Chlorella vulgaris*, donde fue puesta en medio enriquecido dentro de un fotobiorreactor de 5 L de forma tubular, el cual contará con una extensión en forma de helicoide a régimen de luz blanca continua y combinación de colores (Como se muestra en la figura 2.), como apoyo se tendrá un sistema de inyección de aire continuo que ayuda a que

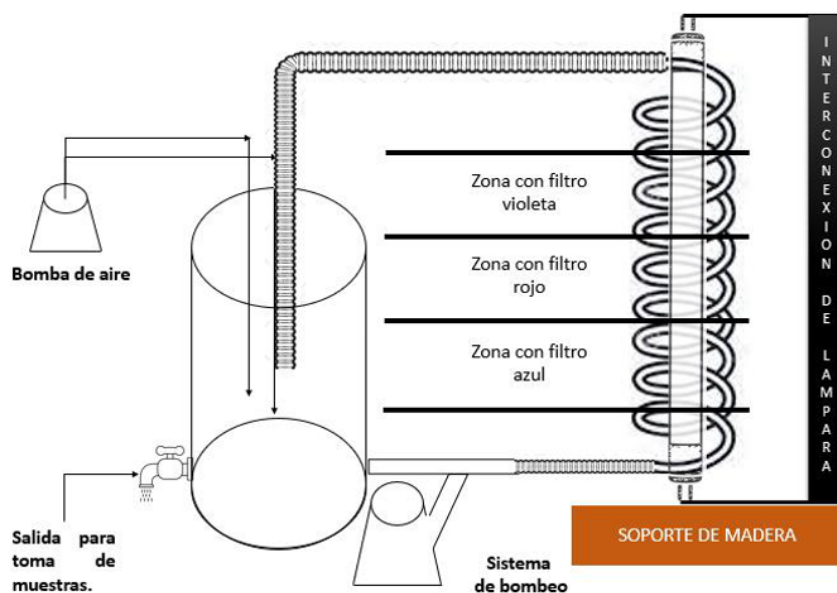


Figura 2. Diseño del Fotobiorreactor tubular propuesto con recirculación helicoidal.

la microalga tenga un recorrido más completo y fácil a través del serpentín, haciendo que logre absorber la mayor cantidad de luz posible durante la fase de crecimiento exponencial y se evite que ocurran fotoinhibiciones y daños por estrés que repercutan en su crecimiento celular (Sarrafzadeh *et al*, 2020)

Cultivo bajo diferentes tipos de luz

Durante la parte experimental se realizaron cultivos bajo limitación de nitrógeno (Escenario conocido como two-stage), donde la microalga *Chlorella vulgaris* fue colocada en medio enriquecido en fotobiorreactores de 5 L con un contenido de nitrógeno de 90 mg L⁻¹. Durante la fase de crecimiento, un volumen de células algal obtenida de los fotobiorreactores fueron cosechados y transferidos a un nuevo lote microalgal de acuerdo con

la siguiente ecuación: donde C_1 es la concentración obtenida en el fotobiorreactor en el quinto día, V_1 es el volumen del fotobiorreactor (5 L), C_2 es la concentración inicial propuesta de 1×10^6 y V_2 es el volumen que se necesita del reactor semilla para producir la limitación de nitrógeno.

Para la segunda etapa, cada uno de los fotobiorreactores contenían medio fresco a una concentración de nitrógeno de 30 mg L⁻¹ y con un tamaño de inóculo de 1×10^6 cel mL⁻¹. Los fotobiorreactores fueron puestos en una incubadora a temperaturas de 30 ± 4 °C e iluminación externa de 140 mE m⁻² s⁻¹. Para obtener diferentes longitudes de onda se emplearon filtros de color Rojo (entre 620 y 750 nm), Azul (entre 450 y 495 nm) y Violeta (entre 380 y 450 nm), cada una de estas coloraciones sugieren que los cambios bioquímicos ocurridos en la bio-

masa algal es una respuesta al incremento o decremento de la intensidad de luz y longitud de onda.

Por otro lado, la dispersión o absorción de luz por las especies de fitoplancton puede ser relacionado con la estructura y desarrollo de estos organismos (Sánchez *et al.*, 2006; Boulus *et al.*, 2007). Para su debido análisis, fueron recolectadas muestras por duplicado de los cultivos para determinar el incremento de la densidad celular, biomasa peso seco (20 mL), clorofila (20 mL), lípidos (10 mL) y tasa de remoción de N (50 mL) cada 24 h.

Actualmente diversos diseños cerrados de fotobiorreactores y estanques abiertos para el cultivo de microalgas se están evaluando, aunque la mayoría carecen de una o más limitaciones en términos de transferencia de gas, mezcla, suministro de luz y productividad (Behbahani *et al.*, 2022; Ghimire & Choi, 2021). Sin embargo, Huang *et al.*, (2021) señala que la combinación de dos o más diseños de fotobiorreactores estimulan la capacidad de transmitir selectivamente longitudes de onda específicas de la luz solar natural. La delimitación de coloración por zonas del reactor tipo helicoidal transmite de manera efectiva diferentes espectros visibles, permitiendo que bandas de luz específicas sean más prominentes que otras. Los filtros también protegieron las células de microalgas de la fotooxidación y la fotoinhibición al reflejar los rayos UV e infrarrojos que de lo contrario causarían estrés oxidativo. Diversos autores señalan que utilizar ambos filtros de longitud de onda permitieron la transmisión de cantidades variables del espectro visible restante. Los investigadores encontraron que los filtros de luz no podían mejorar el crecimiento de *Chlorella vulgaris*

cuando se cultivaban en diseños de polietilentereftalato (PET). Esto se atribuyó a la reflexión adicional de que la luz se transmite mejor en paredes de vidrio. Sin embargo, sí mejoraron los rendimientos de biomasa en los sistemas plásticos de FBR.

Técnicas Analíticas

Determinación de biomasa peso seco

para la determinación de Biomasa Peso Seco, se filtraron 10 ml de cultivo a través de filtros de fibra de vidrio GF-C (47 mm diámetro) previamente incinerados a 450 °C en una mufla (Istotemp Fisher Scientific) durante 4 h. Una vez realizado, los filtros con la muestra fueron colocados en una estufa hasta obtener un peso seco constante a 120 °C durante 24 horas y colocados en un desecador por 1 h. Con la diferencia de peso entre los filtros incinerados y los filtros sacados del desecador fue determinada la Biomasa Peso Seco (g L^{-1}).

Determinación de clorofila

La determinación de clorofila fue realizada de acuerdo con Parsons *et al.* (1984). 20 ml de cultivo fueron filtrados e introducidos en tubos conteniendo 10 mL de acetona al 90% y mantenidos a niveles bajos de temperatura en completa oscuridad durante 24 h para la extracción de pigmentos.

La concentración de clorofila se determinó usando un espectrofotómetro HACH DR/2000. La concentración de clorofila a fue calculada mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Clorofila a (Ca)} = 11.85E_{664} - 1.54E_{647} - 0.08E_{630}$$

Donde E son los valores de absorbancia a las diferentes longitudes de onda (una

vez corregidas por la lectura a 750 nm) y Ca es la cantidad de clorofilas (en $\mu\text{g L}^{-1}$ dado que se empleó una celda de 1 cm). La cantidad de clorofila en la muestra original se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{mg clorofila m}^{-3} = (C \cdot v) / (V \cdot 1)$$

Donde v es el volumen (10 mL) de acetona al 90 % (en mL), V es el volumen de agua filtrada y C es la cantidad de clorofila calculada con la ecuación anterior.

Análisis de consumo de nitrógeno

Para realizar la determinación de consumo de nitrógeno se procedió de la siguiente manera: Se filtraron 50 mL de medio de cultivo agregándole 4 gotas de H_2SO_4 , para man-

tenerse en refrigeración. Posteriormente se dividió en dos matraces Erlenmeyer con 25 mL cada uno, a los cuales se les agregó 5 mL de solución amortiguadora de boratos (buffer) y 4 gotas de NaOH_6N para elevar el pH. Después se prepararon dos matraces Erlenmeyer con 25 mL de solución indicadora de ácido bórico, a cada uno se les agregó 3 gotas de indicador Shiro Toshiro; las muestras de cultivo se destilaron en equipo Buchi micro kjeldahl y se colectaron 50 mL en los matraces con la solución de ácido bórico y estas se titularon con H_2SO_4 0.02 N hasta que la solución cambio de verde a morado. La concentración de N-NH_4^+ se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{N} - \text{NH}_4 = \frac{\text{Volumen de ácido gastado} \times 0.02\text{N} \times 14}{\text{Volumen de muestra}} \times 1000$$

Resultados

Evaluación del crecimiento microalgal

Durante los muestreos por duplicado bajo condiciones de medio de cultivo enriquecido (90 mg L^{-1}) en fotobiorreactores con flujos de aire a 2 vvm, se obtuvieron las mejores condiciones de cultivo para el uso de los filtros de luz combinadas. En las figuras 3-4, se indican los crecimientos obtenidos de la microalga *C. vulgaris* bajo filtros de luz propuestos (luz blanca y luz combinada) con la limitación de nitrógeno bajo $140 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de intensidad de luz continua.

Cada uno de los fotobiorreactores helicoidales iniciaron con una concentración celular de $1 \times 10^6 \text{ cel mL}^{-1}$ y la cinética de crecimiento fue similar a lo reportado por

Kumar *et al.* (2021), expresando una fase de aclimatación (fase lag); fase de crecimiento exponencial (fase log) y fase estacionaria.

De acuerdo a las figuras 3 y 4, la geometría del fotobiorreactor propuesta indica que existió un continuo aumento de la densidad celular, mostrando así, que el máximo crecimiento celular alcanzado en ambos filtros de luz propuestos, fue a 90 mg L^{-1} con una densidad celular de $17.21 \times 10^6 \text{ cel mL}^{-1}$, mientras que para los filtros de luz combinado fue de $21.87 \times 10^6 \text{ cel mL}^{-1}$, sugiriendo para estas dos combinaciones de luz una relación positiva entre el crecimiento y la geometría, así como que los cultivos bajo filtros de luz blanca presentaron un decaimiento al llegar a su fase exponencial, mientras que en los

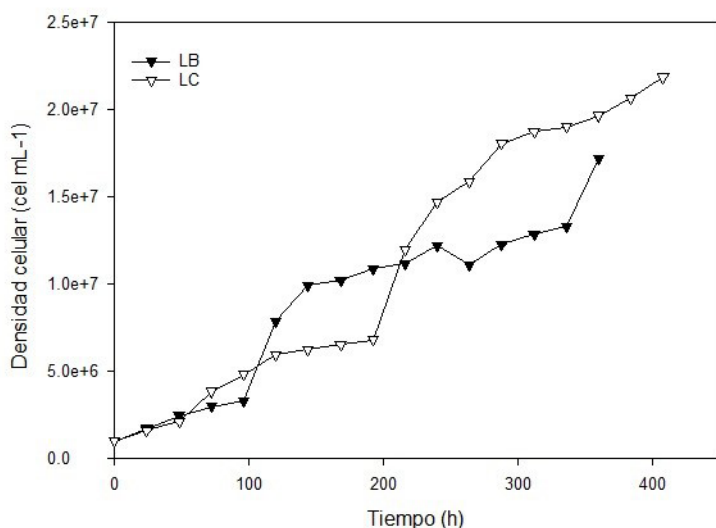


Figura 3. Máxima densidad celular (cel mL⁻¹) en fotobiorreactores con filtros de luz a 90 mg L⁻¹. LB: luz blanca; LC: luz combinada.

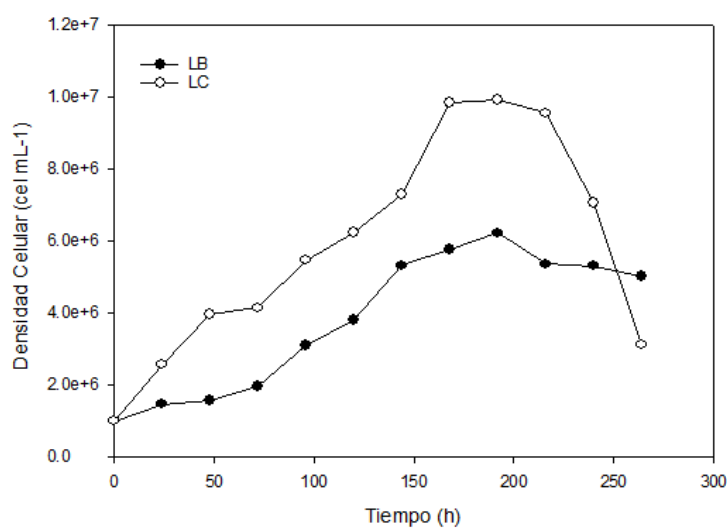


Figura 4. Máxima densidad celular (cel mL⁻¹) en fotobiorreactores con filtros de luz a 30 mg L⁻¹. LB: luz blanca; LC: luz combinada.

cultivos bajo limitación se muestra un crecimiento celular más discreto, pero cumpliendo con la cinética de los casos a 30 mg L⁻¹.

Es importante hacer notar que, en ambos casos de estudio con luz blanca y luz combinada, la microalga no presentó disminución en su crecimiento, denotando que únicamente fueron detenidas por el consumo de nitrógeno que se muestran en ambos casos. En tabla 4 se indica la producción de clorofila a las diferentes condiciones de iluminación y concentración de nitrógeno.

De acuerdo a Ghimire *et al.* (2022) para llegar a obtener un óptimo manejo de luz y alcanzar altas productividades de biomasa

microalgal, es esencial que la luz emitida sea complementaria a los espectros de absorción de las microalgas, dándonos a entender, que la red de electrones que maneja la microalga *Chlorella vulgaris* están sujetas a longitudes de ondas específicas, lo cual comprueba lo dicho por Hu *et al.* (2020), donde señala que las luces roja, violeta y azul permiten una mayor concentración de absorción de longitudes de onda y contenido de clorofila (tabla 4).

En las tablas 5 y 6 se plasman los valores de máxima densidad celular (cel mL⁻¹) y consumo de nitrógeno de *Chlorella vulgaris* a 90 mg L⁻¹ y 30 mg L⁻¹ respectivamente.

Tabla 4. Tasa de producción de clorofila.				
Tiempo (h)	Clorofila (µg mg ⁻¹ peso seco de biomasa) 140 µE m ⁻² s ⁻¹			
	LB (90 mg L ⁻¹)	LC (90 mg L ⁻¹)	LB (30 mg L ⁻¹)	LC (30 mg L ⁻¹)
0	0.0540	0.0480	0.0645	0.0565
24	0.0570	0.0525	0.0910	0.0295
48	0.0615	0.0555	0.0295	0.0750
72	0.0675	0.0625	0.0970	0.0260
96	0.0730	0.0725	0.2025	0.1280
120	0.0750	0.0755	0.1315	0.1525
144	0.0805	0.0825	0.1380	0.0685
168	0.0845	0.090	0.0910	0.0890
192	0.0890	0.096	0.0505	0.0810
216	0.0985	0.1025	0.0835	0.0920
240	0.1045	0.1130	0.0795	0.0580
264	0.1185	0.1190	0.0580	0.0335
288	0.1350	0.1260	-	-
312	0.1535	0.1545	-	-
336	0.1690	0.2025	-	-
360	0.1930	0.6655	-	-
384	-	0.6920	-	-
408	-	0.7845	-	-

Tabla 5. Máxima densidad celular (cel mL⁻¹) y consumo de nitrógeno de *Chlorella vulgaris* a 90 mg L⁻¹.

Tiempo (h)	Concentración de nitrógeno	Tipo de luz	Densidad celular (cel mL ⁻¹)	Consumo de Nitrógeno (%)
144	C ₉₀	LB	9.92x10 ⁶	21.68
		LC	6.26x10 ⁶	17.76
192	C ₉₀	LB	10.90x10 ⁶	23.92
		LC	6.81x10 ⁶	29.52
240	C ₉₀	LB	12.22x10 ⁶	26.16
		LC	14.72x10 ⁶	35.12
288	C ₉₀	LB	12.23x10 ⁶	30.64
		LC	18.06x10 ⁶	38.48
360	C ₉₀	LB	17.21x10 ⁶	39.60
		LC	19.70x10 ⁶	56.40
408	C ₉₀	LB	17.21x10 ⁶	Traspaso a 30 mg L ⁻¹
		LC	21.87x10 ⁶	

Tabla 6. Máxima densidad celular (cel mL⁻¹) y consumo de nitrógeno de *Chlorella vulgaris* a 30 mg L⁻¹.

Tiempo (h)	Concentración de nitrógeno	Tipo de luz	Densidad celular (cel mL ⁻¹)	Consumo de Nitrógeno (%)
144	C ₃₀	LB	5.32x10 ⁶ x10 ⁶	7.60
		LC	7.29x10 ⁶ x10 ⁶	12.08
168	C ₃₀	LB	576x10 ⁶	8.72
		LC	9.84x10 ⁶	15.44
192	C ₃₀	LB	6.22x10 ⁶	12.64
		LC	9.92x10 ⁶	16.00
240	C ₃₀	LB	5.30x10 ⁶	9.84
		LC	7.06x10 ⁶	13.20

Los resultados obtenidos en las tablas 5 y 6 nos permiten apreciar que durante el caso de estudio con medios de 90 mg L⁻¹ las mayores densidades de crecimiento celular se obtuvieron a partir de las 300 horas de operación, mientras que en los casos de 30 mg L⁻¹ las densidades comenzaron a ascender a partir de las 150 horas de estudio, por tanto, se puede suponer que la variación entre el consumo de nitrógeno y la máxima densidad celular de cada una de las combinaciones de luz puede variar a medida que existe una disminución en la remoción de

nitrógeno, presentándose como una variable proporcional en la densidad celular, debido a que esta tiende a aumentar o disminuir dependiendo de la concentración de nutrientes y la emisión luminosa en las células algales a estudiar (Robles, 2014). Según se observa por los valores indicados de las tablas 5 y 6 que los experimentos con luz blanca presentan una menor densidad celular a comparación con la luz combinada mostrándose así una relación en la diferencia de remoción de nitrógeno por experimento, por tanto, se puede inferir, que a condiciones con luz

combinada existió una mayor adaptabilidad de la microalga para crecimiento celular, remoción de nutrientes y producción de clorofila. Cabe señalar que a las 408 horas se

hace el traspaso para iniciar con la limitación de nitrógeno como se indica en Tabla 5 y continuar con el medio de cultivo a 30 mg L⁻¹.

Conclusiones

La biomasa de algas posee un gran potencial para el proceso biotecnológico, que es un enfoque atractivo y que tiene como principal desafío integrar las diversas tecnologías de conversión de biomasa, para la producción de biocombustibles y coproductos de valor agregado. Este proyecto busca hacer crecer el valor de las microalgas, así como aumentar la importancia de tener un adecuado fotobiorreactor donde se pueda observar un apropiado crecimiento debido a que el diseño y la puesta en marcha exitosa de un fotobiorreactor tipo helicoidal representan un avance significativo en la investigación sobre el cultivo de microalgas. Este sistema proporciona un entorno controlado y eficiente para el crecimiento de estas, dándonos un importante hallazgo en la distribución uniforme de la luz y una mejor utilización de los nutrientes.

El estudio continúa desarrollándose en los laboratorios de la Facultad de Química, sin embargo, con los resultados obtenidos hasta el momento destacan la capacidad del fotobiorreactor helicoidal para favorecer el crecimiento óptimo de microalgas como *Chlorella vulgaris*, incluso bajo condiciones de estrés como la limitación de N₂. Además,

se espera que este estudio logre contribuir a mejorar nuestra comprensión sobre una adecuada configuración de espectros de luz para influir favorablemente en el crecimiento y calidad de los biocombustibles producidos por microalgas, ya que, de acuerdo a los resultados obtenidos, con limitación de nitrógeno y luz combinada, en conjunto con la configuración helicoidal del fotobiorreactor se esperaría obtener un proceso óptimo para obtención de metabolitos importantes, así como para la producción de biocombustibles más adelante.

El desarrollo exitoso de este fotobiorreactor tipo helicoidal tiene importantes implicaciones en la búsqueda de fuentes de energía renovable y sostenible. Al proporcionar un método eficiente y escalable para el cultivo de microalgas, este sistema podría contribuir significativamente a la producción de biocombustibles y a la mitigación del cambio climático. Además, abre nuevas oportunidades para la investigación e innovación en el campo de la biotecnología de microalgas, con el potencial de desarrollar soluciones más eficientes y económicas para las demandas energéticas futuras.

Agradecimientos

Agradecemos a la Facultad de Química de la Universidad Autónoma del Carmen, quienes nos brindan los laboratorios y equipos pertinentes para la investigación y ejecución del proyecto, así como a la empresa Troop y compañía, por permitirme continuar con los estudios del posgrado pertinentes y apoyar con los recursos necesarios con tal de po-

der aportar soluciones a las demandas energéticas futuras, así mismo, agradecemos al personal Alberto Cruz Centeno, Javier Jesús Sarao Acosta y José Alberto Vázquez Maldonado quienes nos apoyaron con las facilidades de fabricación y modificación del Fotobioreactor para lograr un mejor desempeño y desarrollo en el proyecto.

Literatura citada

- Acién, F. G., Reis, A., Wijffels, R. H., Barbosa, M., Verdelho, V., & Llamas, B. (2021). The role of microalgae in the bioeconomy. *New Biotech*, 61, 99-107.
- Behbahani, M., Shariati, M., & Asadinezhad, A. (2022). Evaluation of the effect of different light sources on biomass and fatty acids productivity in the cultivation of microalgae *Chlorella vulgaris* in photobioreactor. *Biotechnology Reports*, 33, e00729.
- Boulus A, Spaneir E, Friedlander M (2007) Effect of outdoor conditions on growth rate and chemical composition of *Gelidium crinale* in culture. *Journal applied Phycology*, 19, 471-478.
- Ferreira, J., Coelho, J., & Coutinho, J. A. (2021). Growth kinetics and nutrient removal of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* cultivated in swine wastewater under different light intensities. *Journal of Applied Phycology*, 33, (6), 3227-3238.
- Ghimire, A., & Choi, W.J. (2021). A review on recent advances in photobioreactors for microalgae cultivation. *Algal Research*, 54, 102159.
- Guan, C., Li, X., Li, F., & Lin, H. (2021). Effect of temperature on growth and lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in semi-continuous photobioreactors. *Bioresource Technology Reports*, 14, 100662.
- Guillard, V., Pistorius, A. M. A., & Dimnet, L. (2022). Impact of temperature on the microalgae growth and nutrients removal in high rate algal ponds for wastewater treatment. *Bioresource Technology*, 343, 126115.
- Guillard, V., Pistorius, A. M. A., & Dimnet, L. (2022). Impact of temperature on the microalgae growth and nutrients removal in high rate algal ponds for wastewater treatment. *Bioresource Technology*, 343, 126115.
- Hajiaghahi, S., Koocheki, A., Nassiri Mahallati, M., Razmjoo, J., & Mirmahdi, S. (2020). The effects of temperature and salinity on growth and biochemical composition of two strains of *Arthrospira platensis* isolated from Gomishan wetland. *Algal Research*, 45, 101748.
- Hu, Q., Zhang, C., & Li, Y. (2020). Fundamentals of microalgae cultivation. CRC Press.
- Huang, S., Chen, B., Qi, C., & Huang, X. (2021). Effect of light intensity and photoperiod on growth, lipid accumulation, and productivity of microalgae *Scenedesmus* sp. in photobioreactor. *Bioresource Technology Reports*, 15, 100690.

- Kumar, K., Das, D., & Yadav, S. (2021). Photobioreactor design and scale-up for microalgae cultivation: A comprehensive review. *Bioresource Technology Reports*, 15, 100743.
- Parsons TR, Maita Y, Carol CM (1984) A Manual of Chemical and Biological Method for Seawater Analysis. Pergamon Press. Oxford: 173p.
- Parsons TR, Maita Y, Carol CM (1984) A Manual of Chemical and Biological Method for Seawater Analysis. Pergamon Press. Oxford: 173p.
- Robles-Heredia, J. C. (2014). Evaluación de la productividad de lípidos en *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus obliquus* bajo dos modos de limitación de nitrógeno en fotobiorreactores tipo airlift y columna de burbujeo (Tesis doctoral). Universidad Autónoma de Yucatán, Yucatán, México
- Ruiz-Marín, A; Mendoza-Espinosa, Mendoza-Espinosa L. G., & Stephenson, T., 2010. Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. *Bioresource Technology*, 101, (1), 58-64.
- Sanchez-Saavedra MP, Voltolina D (2006) The growth rate, biomass production and composition of *Chaetoceros* sp. Grown with different light sources. *Aquacultural Engineering*, 35: 161-165.
- Sarrafzadeh, M.H., Aslam, A., Hossain, M.S., & Kellens, M. (2020). Effects of temperature, light intensity, and pH on the growth rate of microalgae in the photobioreactor. *Algal Research*, 47, 101867.
- Taştas, E., & Şengör, G.F. (2020). Investigation of optimum operating conditions and biofuel production potential of a photobioreactor system by using the microalgae *Scenedesmus obliquus*. *Renewable Energy*, 147, 1325-1333.
- Wang, Y., & Zhang, Y. (2021). Temperature-induced impacts on the growth and fatty acid profile of two microalgae species in photobioreactors. *Algal Research*, 54, 102158.
- Wang, Y., & Zhang, Y. (2021). Temperature-induced impacts on the growth and fatty acid profile of two microalgae species in photobioreactors. *Algal Research*, 54, 102158.
- Xie, X., Huang, A., Gu, W., Zeng, H., & Guo, C. (2020). Engineering aspects of light-emitting diodes based photobioreactors for microalgae cultivation: A review. *Bioresource Technology Reports*, 11, 100458.
- Zhang, S., Tang, Y., Li, Q., & Chen, S. (2020). Effects of nitrate and phosphate concentrations on the growth, lipid accumulation and nutrient uptake of the oleaginous microalga *Neochloris oleoabundans* in batch cultures. *Algal Research*, 45, 101742.
- Zheng, Y., Chen, T., Hua, Y., & Ji, B. (2021). A review on microalgae cultivation and harvesting in the perspective of photobioreactor design. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 618421.