

## Diseño, construcción y puesta en marcha de un fotobiorreactor flat panel para el cultivo de microalgas

Dr. Alfredo de Jesús Martínez Roldán<sup>1</sup>, M.C. Brenda Paloma Gómez Lozano<sup>2</sup>, I.Q. Mario Antonio Díaz Ramírez<sup>3</sup>, I.Q. Miguel Ángel Ruíz García<sup>4</sup>

**Resumen:** Las microalgas son organismos fotosintéticos, por lo que los implementos tecnológicos para su cultivo son denominados Fotobiorreactores (FBR), y en su diseño se deben considerar aspectos particulares que normalmente no se toman en cuenta al construir fermentadores clásicos. La construcción de FBR debe emplear materiales de alta transparencia como vidrio, acrílico o polietileno y debe tener una configuración que permita una buena distribución de la luz. El diseño de los FBR emplea parámetros como la producción y productividad de biomasa, el área iluminada, la relación entre el área iluminada y el volumen del reactor, el paso de luz, etc. En la presente investigación se diseñó y construyó un FBR flat panel y se evaluó su desempeño mediante el crecimiento de una microalga. Empleando valores obtenidos por revisión bibliográfica de producción, productividad y relación área iluminada/Volumen, se obtuvieron las dimensiones de 60x60x5cm. El FBR se construyó en cristal y su diseño se validó mediante el crecimiento de *Chlorella vulgaris*. El cultivo alcanzó valores máximos de biomasa y clorofila de  $1.0 \pm 0.141 \text{ g L}^{-1}$  y  $18.5 \pm 1.22 \text{ mg L}^{-1}$  respectivamente. La productividad de biomasa fue de  $116 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  valor ligeramente inferior al valor empleado en el diseño. La elevada relación entre el área iluminada y el volumen permitió alcanzar una elevada concentración de biomasa; sin embargo, las condiciones de operación deben ser optimizadas para asegurar la factibilidad del proceso.

**Palabras clave:** *Chlorella*, Fotobiorreactor, Diseño, Prototipo

### Introducción

La biotecnología ha buscado el desarrollo de procesos a partir de organismo vivos o sus partes a fin de obtener un beneficio. En muchas ocasiones, dicho beneficio se centra en la obtención de biomasa, un producto de alto valor o incluso de un beneficio ambiental. Dentro de las diferentes ramas de la biotecnología, se destacan algunas por su alto grado de desarrollo, como es el caso de los procesos a partir de bacterias y levaduras, mientras que otras áreas se encuentran aún en franco desarrollo (Argumedo Delira, Sánchez Viveros, Alarcón, & García Meza, 2018). Una de estas áreas de la biotecnología que ha recibido gran atención es la concerniente a las microalgas y cianobacterias; esto se debe a que de ellas se pueden obtener una gran cantidad de productos de alto valor agregado, así como el desarrollo de proceso de remediación, para la eliminación de diversos contaminantes (Argumedo Delira et al., 2018; Martínez-Roldán & Cañizares-Villanueva, 2019).

Las microalgas son un diverso grupo de organismos que no cuentan con un ancestro común, por lo que es denominado como polifilético; esta diversidad ocasiona que la clasificación taxonómica sea complicada y que actualmente con el empleo de las herramientas moleculares, cambie continuamente (Barsanti & Gualtieri, 2006). Sin embargo, la mayoría de los miembros de este grupo tienen la capacidad de llevar a cabo el proceso fotosintético oxigénico (al igual que las plantas), por lo que son considerados como autótrofos. Las microalgas han demostrado tener potencial para ser empleadas en diversos procesos biotecnológicos dentro de los que se destacan: producción de biomasa para su empleo para la alimentación (animal o humana), producción de moléculas de alto valor agregado (antioxidantes, pigmentos, antimicrobianos, antimicóticos, ácidos grasos esenciales, etc.), producción de bioenergéticos (bioetanol, biodiesel, biohidrógeno, etc.), eliminación de contaminantes (metales pesados, pesticidas, colorantes, etc.), en el tratamiento de aguas residuales (eliminación de nitrógeno y fósforo principalmente), etc. (Argumedo Delira et al., 2018; Flórez-Miranda, Cañizares-Villanueva, Melchy-Antonio, Martínez-Jerónimo, & Flores-Ortíz, 2017; Flórez-Miranda, Martínez-Roldán, & Cañizares-Villanueva, 2015; Franco Martínez, Rodríguez Rosales, Moreno Medina, & Martínez-Roldán, 2017; Martínez-Roldán & Cañizares-Villanueva, 2019; Martínez-Roldán & Ibarra-Berumen, 2019).

<sup>1</sup> El Dr. Alfredo de Jesús Martínez Roldán, es Cátedra Conacyt y se encuentra comisionado al Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico de Durango en donde es Profesor de la Maestría en Sistemas Ambientales (MSA) en el TecNM/IT Durango, Durango, Dgo., México, [alfredo.martinez@itdurango.edu.mx](mailto:alfredo.martinez@itdurango.edu.mx), [adjmartinezro@conacyt.mx](mailto:adjmartinezro@conacyt.mx), (autor corresponsal)

<sup>2</sup> La M.C. Brenda Paloma Gómez Lozano es Profesora de la Carrera en Ingeniería Química (IQ) en el Departamento de Ingenierías Química y Bioquímica del TecNM/IT Durango, Durango, Dgo., México

<sup>3</sup> I.Q. Mario Antonio Díaz Ramírez es Alumno del Primer Semestre de la Maestría en Sistemas Ambientales del TecNM/IT Durango, Durango, Dgo., México

<sup>4</sup> El I.Q. Miguel Ángel Ruíz García es Alumno de tercer semestre de la Maestría en Sistemas Ambientales del TecNM/IT Durango, Durango, Dgo., México

A pesar del gran potencial de las microalgas para el desarrollo de procesos biotecnológicos, una limitante, aún hoy, es la generación de biomasa. Esto se debe a que los dispositivos tecnológicos necesarios para su crecimiento son diferentes a los que de forma clásica se desarrollaron para el cultivo de bacterias y levaduras y muchas de las configuraciones aún se encuentran en desarrollo y evaluación (Martínez-Roldán & Cañizares-Villanueva, 2015; Zittelli, Rodolfi, & Tredici, 2007). Las configuraciones desarrolladas buscan satisfacer necesidades específicas de cada especie como resistencia al estrés hidrodinámico, generación de aglomerados, tolerancia lumínica, etc. (Martínez-Roldán & Cañizares-Villanueva, 2015; Mohamed Ramli, Verdegem, Yusoff, Zulkifely, & Verreth, 2017; Vega-Estrada, Montes-Horcasitas, Domínguez-Bocanegra, & Cañizares-Villanueva, 2005). Actualmente las configuraciones de FBR pueden ser clasificadas como cerradas o abiertas, dependiendo del contacto que el organismo tenga con el medio ambiente; de estos dos grupos el más diversificado es el de los FBR cerrados, donde se pueden considerar configuraciones tubulares, tipo fermentador, *flat panel*, *thin layer*, tipo columna, etc. (Acién et al., 2017; Martínez-Roldán & Cañizares-Villanueva, 2015).

Algunas de las configuraciones de FBR se caracterizan por buscar una eficiente distribución de luz, así como un suministro suficiente de la misma. Algunos de los FBR que son diseñados bajo estos objetivos son los *thin layer* y *flat panel*. En ellos, la distancia que debe atravesar la luz (*light path*) es menor a los 10 cm y se ha demostrado que entre menor sea el *light path*, mayor será la eficiencia de utilización de la luz (Torzillo et al., 2010). Sin embargo, espesores muy pequeños dificultan el mezclado, generando estratificaciones y disminuyendo considerablemente la transferencia de masa (Masojídék, Kopecký, Giannelli, & Torzillo, 2011). Los parámetros útiles para el diseño de reactores de bajo *light path*, además de la producción y productividad de biomasa, es la relación existente entre el área que está expuesta a la luz y el volumen (A/V) del FBR (Martínez-Roldán & Cañizares-Villanueva, 2015). Dado que diversos aspectos deben ser considerados al momento de diseñar un FBR flat panel, la presente investigación tuvo como objetivo primeramente fijar los valores de los parámetros de diseño, para posteriormente dimensionar y construir el prototipo de FBR y finalmente evaluar la eficiencia del diseño mediante el seguimiento de un cultivo de *Chlorella vulgaris* por 8 días.

## Desarrollo

### Microorganismo

Se empleó una cepa de *Chlorella vulgaris* que fue donada por el Dr. Hugo Perales Vela de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la UNAM. Durante el desarrollo de los inóculos así como durante los experimentos de evaluación del prototipo, *C. vulgaris* fue cultivada en medio Basal Bold (CCAP, 2019).

### Metodologías

Al cultivo se le realizó el seguimiento diario durante ocho días, mediante determinaciones de peso seco, pigmentos fotosintéticos, nitrógeno de nitratos y fósforo de ortofosfatos. Biomasa fue cuantificada mediante filtrado de una alícuota de cultivo a través de un filtro de fibra de vidrio Whatman® previamente secado hasta peso constante (Martínez-Roldán, Perales-Vela, Cañizares-Villanueva, & Torzillo, 2014). Para la determinación de pigmentos fotosintéticos (clorofilas *a* y *b* y carotenoides) se separó la biomasa del medio de cultivo por centrifugación a 3600 rpm y temperatura ambiente; al paquete celular se le adicionó un volumen conocido de metanol 100% y una vez homogenizado, se colocó en baño maría a 100° C por 10 min. La biomasa fue separada mediante centrifugación a las mismas condiciones anteriormente descritas; al extracto se le cuantificó la absorbancia en un Espectrofotómetro Genesys UV/VIS® a 666, 653 y 470 nm y el cálculo de las concentraciones se realizó conforme a Wellburn, 1994.

Las concentraciones de fósforo (P-PO<sub>4</sub>) y nitrógeno (N-NO<sub>3</sub>) en el medio de cultivo, fueron cuantificadas espectrofotométricamente, al sobrenadante libre de células mediante las técnicas reportadas por APHA, AWWA, & WEF, 1999 y Zhang & Fischer, 2006 respectivamente. A partir de los valores de concentración de biomasa se obtuvieron los valores de producción y productividad de biomasa. Además, se construyó el gráfico PS vs Clorofila total a fin de obtener el valor de contenido específico de este pigmento.

### Diseño y construcción del fotobiorreactor

Se realizó una búsqueda bibliográfica a fin de conocer los valores promedio de producción global de biomasa de un proceso con 8 días de duración. Además, se buscaron valores de productividad de biomasa de diferentes especies de microalgas y finalmente valores de la relación A/V. Esto se hizo con el fin de fijar los valores para cada uno de los parámetros a emplearse en el dimensionamiento del FBR. Posteriormente fue construido empleando vidrio de 6 mm de espesor con base en las dimensiones teóricas obtenidas.

### Condiciones de operación del FBR

El FBR fue inoculado con un cultivo a la mitad de la fase exponencial alcanzando una concentración inicial de clorofila total de entre 1 y 2 mg L<sup>-1</sup>. El cultivo se mantuvo en agitación mediante el burbujeo contante de ~8 L min<sup>-1</sup> (0.5 vvm) de aire sin enriquecer; esto se logró mediante el empleo de un compresor. El suministro de luz consistió en un arreglo de 4 lámparas de luz fría de 36 Watts que operaron de forma continua y la temperatura y presión se mantuvieron sin control.

### Resultados y análisis

La búsqueda bibliográfica arrojó que la concentración final típica de un proceso de producción de biomasa a escala laboratorio es de aproximadamente 1 g L<sup>-1</sup>, una productividad de biomasa de alrededor de 120 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> y que los valores de la relación A/V para este tipo de configuración deben ser de 20 a 100 d<sup>-1</sup>. Considerando lo anterior, se fijó una producción global del proceso de 15 g y una relación A/V de 40 m<sup>-1</sup> (Acién et al., 2017; Martínez-Roldán & Cañizares-Villanueva, 2015). Los parámetros considerados al momento de realizar el dimensionamiento del FBR se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Parámetros empleados para el dimensionamiento del Prototipo.

Parámetro	Valor	Unidades
Duración del proceso	8	d
Producción global de biomasa	14.0	g
Productividad de biomasa	120	mg L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>
Relación Área iluminada/Volumen	40	m <sup>-1</sup>
Espesor del vidrio	6	mm
Diámetro del distribuidor de aire	6	mm
Perforaciones del distribuidor	0.5	mm
Separación de las perforaciones	2	cm

El valor de producción global y la productividad de biomasa, así como el tiempo de duración del proceso, se relacionan con el volumen del reactor según la Ecuación 1; el empleo de esta ecuación permitió poder calcular dicho parámetro

$$\text{Productividad de biomasa (mg L}^{-1}\text{d}^{-1}) = \frac{(\text{Producción global})}{(\text{tiempo})(\text{Volumen})} \quad (\text{Ec 1})$$

Para que las unidades sean congruentes la producción debe emplearse en gramos, la productividad en g L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, el tiempo en días y el volumen en litros. Al despejar el volumen de la ecuación 1 se obtuvo:

$$\text{Volumen (L)} = \frac{(\text{Producción global})}{(\text{tiempo})(\text{Productividad de biomasa})} \quad (\text{Ec 2})$$

Sustituyendo, los valores correspondientes en la Ec. 2, se obtuvo

$$\text{Volumen (L)} = \frac{(14 \text{ g})}{(8 \text{ d})(0.12 \text{ g L}^{-1}\text{d}^{-1})} \quad (\text{Ec 1})$$

Resultando en un volumen de 14.58 L; sin embargo, es necesario agregar un espacio para intercambio gaseoso y las heurísticas marcan que dicho espacio debe ser entre el 10 y el 20% del volumen del recipiente por lo que se consideró un 15%. Esto ocasionó que el valor del volumen total del FBR fuera de 17.1 L.

Posteriormente se empleó la relación A/V seleccionada para obtener el valor del Área iluminada, esto mediante la Ec. 3. Para que los cálculos sean coherentes en la Ec. 3, el volumen debe emplearse en metros cúbicos.

$$40 \text{ (m}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Área iluminada}}{(\text{Volumen})} \quad (\text{Ec 3})$$

De la Ec. 3, se despejó el área y se sustituyó el valor del volumen calculado previamente y se obtuvo un valor de 0.684 m<sup>2</sup>. Debido a que la configuración considera la iluminación por ambas caras y que el FBR es un paralelepípedo regular, se consideró que el área de cada cara era la mitad del área total iluminada y que su forma era la de un cuadrado.

Esto ocasionó que cada cara se dimensionara en 0.342 m<sup>2</sup> y que sus dimensiones fueran 0.585 m por lado. Considerando que el volumen de un paralelepípedo se obtiene con la Ec. 4, se empleó dicha ecuación para obtener el valor de la profundidad del recipiente.

$$Volumen = (Area)(Profundidad) \quad (Ec\ 3)$$

La profundidad resultante fue de 5 centímetros. Esto ocasionó que el FBR fuera dimensionado en un contenedor de 58.5 cm\*58.5 cm\*5 cm, resultando en un volumen total de 17.111 L. las piezas de vidrio fueron mandadas a cortar, sin embargo, la dificultad de cortar exactamente 58.5 cm ocasionó que las dimensiones se modificaran a 60 cm. Esto incrementó los volúmenes de operación y total; estos fueron de 15 y 18 L respectivamente. Las dimensiones finales del FBR se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Dimensiones finales del Prototipo de Fotobiorreactor.

Parámetro	Valor	Unidades
Volumen total	18.0	L
Volumen de líquido	15.0	L
volumen de espacio de cabeza	3.0	L
Altura total	60	cm
Altura de líquido	50	cm
Altura de espacio de cabeza	10	cm
Espesor	5	cm

Una vez construido el FBR, se procedió a evaluar el prototipo mediante el crecimiento de *C. vulgaris* por 8 días. En la figura 1 se muestra el comportamiento de la biomasa medida como PS. Se observa que la concentración inicial fue de 0.065±0.007 g L<sup>-1</sup>; este valor fue incrementándose durante la cinética has alcanzar un valor máximo de 1.00±0.141 g L<sup>-1</sup> al final de experimento. Este aumento en la concentración de biomasa representó un valor de productividad global de biomasa de 0.116 g L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>; este valor resulta similar a los valores de producción y productividad de biomasa reportados tanto para otras especies de microalgas como para *C. vulgaris* creciendo en diferentes configuraciones de FBR (Franco Martínez et al., 2017; Martínez-Roldán et al., 2014; Villanueva Garcia, 2018), incluso, fue muy cercano al valor considerado al momento de diseñar el prototipo.

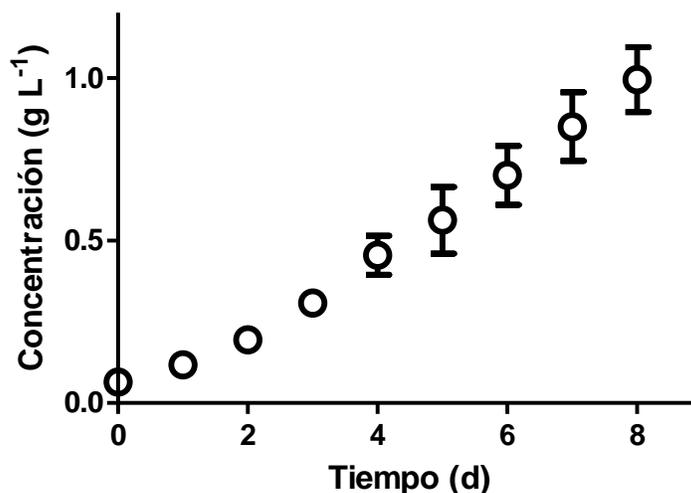


Figura 1. Cinética de crecimiento de *C. vulgaris* en el FBR flat panel.

Además del monitoreo de la concentración de biomasa, es útil también llevar a cabo la cuantificación de los pigmentos fotosintéticos; esto se debe a que cambios en su concentración o comportamiento pueden evidenciar modificaciones metabólicas que en ocasiones no son visibles al analizar el comportamiento de la biomasa únicamente (Martínez-Roldán et al., 2014). Dentro de los pigmentos, se monitoreo el comportamiento de las clorofilas *a* y *b* y de los carotenoides totales (Fig. 2). En el caso de la clorofila total (*a* + *b*), la concentración inicial fue de 1.51±0.078 mg L<sup>-1</sup>; este pigmento incrementó su concentración hasta alcanzar un valor máximo de 18.54±1.22 mg L<sup>-1</sup> a los 5 días de

cultivo. A partir del día 6, la concentración de clorofila total presentó un ligero descenso hasta alcanzar una concentración final de  $15.20 \pm 2.03 \text{ mg L}^{-1}$ ; sin embargo, hay que destacar el hecho de que los valores a partir del día 6 los valores no presentaron diferencia significativa entre ellos ( $p > 0.01$ ). En cuanto a los carotenoides totales, presentaron incrementos importantes durante los primeros cinco días de cultivo y a partir de ese momento, no presentaron diferencias significativas alcanzando un valor final de  $2.86 \pm 0.105 \text{ mg L}^{-1}$ . Dado que el cultivo fue de *C. vulgaris*, estos carotenoides pueden incluir moléculas del tipo beta-caroteno, luteína e incluso astaxantina y algunos otros pigmentos de color amarillo-rojo (Flórez-Miranda et al., 2017, 2015); sin embargo, es necesaria la realización de perfiles por HPLC para conocer la composición real.

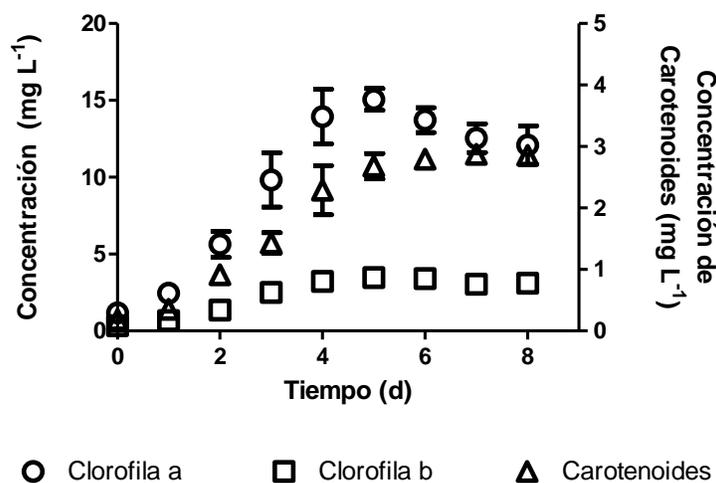


Figura 2. Concentración de pigmentos fotosintéticos en cultivo de *C. vulgaris* en el FBR flat panel.

El comportamiento de la clorofila total demuestra que a partir del día 5 existe algún factor que limita el crecimiento y esto generó una disminución/estancamiento en el valor de su concentración. Esto es más evidente en el gráfico que relaciona la concentración de biomasa contra la concentración de clorofila total (Fig. 3). En cultivos de biomasa microalgal, la relación entre el peso celular seco y la concentración de clorofila es lineal e incluso, la pendiente de la línea de ajuste denota el contenido específico de dicho pigmento; sin embargo, dicha linealidad se rompe cuando algún nutriente comienza a ser limitante (Martínez-Roldán & Cañizares-Villanueva, 2017; Martínez-Roldán et al., 2014).

En la figura 3 se observa que al relación se mantiene lineal hasta el punto que corresponde a  $0.56 \pm 0.103 \text{ g L}^{-1}$  de biomasa y ese valor corresponde al día 5 de cultivo.

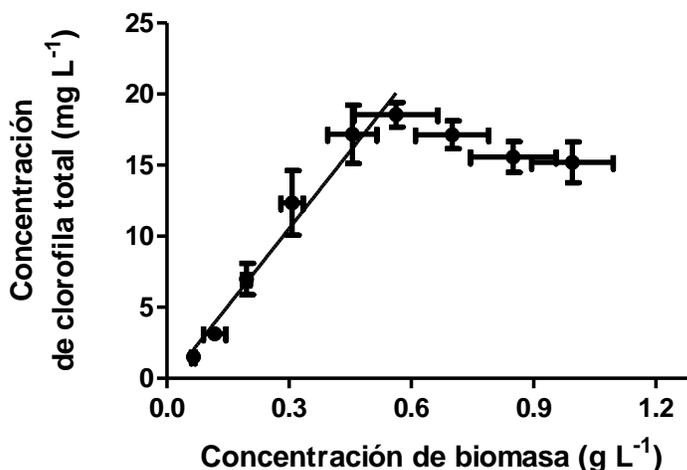


Figura 3. Peso celular seco contra Clorofila total en cultivo de *C. vulgaris* en el FBR flat panel

El factor limitante puede ser de muy diversa índole, sin embargo, considerando el comportamiento de los nutrientes (nitrógeno y fósforo), se pueden considerar como posibles causas la limitación por nitrógeno, luz o la concentración de CO<sub>2</sub>. El nitrógeno fue completamente consumido al día cinco, sin embargo, se ha demostrado que las microalgas son capaces de continuar dividiéndose al menos por otras dos generaciones aunque ya no exista nitrógeno en el medio de cultivo (Martínez-Roldán & Cañizares-Villanueva, 2017; Martínez-Roldán et al., 2014). En cultivos sin adición de dióxido de carbono se ha observado que la producción de biomasa comienza a desacelerarse a partir de los días 5-6 y normalmente es debido a limitaciones por luz; en cambio, la limitación es por efecto del dióxido de carbono en cultivos que son suministrados con aire (Franco Martínez et al., 2017; Martínez-Roldán & Cañizares-Villanueva, 2017; Martínez-Roldán et al., 2014; Torzillo et al., 2010).

El consumo de nutrientes es otro factor que ayuda a conocer la condición metabólica del microorganismo que es cultivado. En el caso de las microalgas, los nutrientes principales a considerar, después del carbono, son el nitrógeno y el fósforo (Martínez-Roldán et al., 2014). Estos son adicionados como sales inorgánicas, en el caso del fósforo se adiciona como fosfato, mientras que el nitrógeno en forma de nitrato. En la figura 4 se observa el comportamiento de ambos nutrientes durante la cinética de crecimiento.

Se observa que el consumo de nitrógeno resultó más acelerado ya que de una concentración inicial de 27.67±2.50 mg L<sup>-1</sup>, se logró un consumo total de este nutriente a partir del día 5. En el caso del fósforo, el consumo fue más lento y de una concentración inicial de 39.59±1.85 mg L<sup>-1</sup>, se alcanzó una concentración final de 26±2.155 mg L<sup>-1</sup>. Esto representa un consumo de aproximadamente el 35% del contenido inicial. El ajuste de una línea de regresión permite calcular la velocidad de consumo de ambos nutrientes. Al realizarlo, se obtuvieron 6.135±0.451 y 2.15±0.162 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> para nitrógeno y fósforo respectivamente. Los valores de velocidad de consumo de N y P coinciden con los valores reportados para microalgas y cianobacterias; esto ya que normalmente el valor para nitrógeno se encuentra entre 5 y 10 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> mientras que para fósforo alcanza de entre 1 y 2 mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> (Franco Martínez et al., 2017; Martínez-Roldán, 2008; Martínez-Roldán et al., 2014; Villanueva Garcia, 2018)

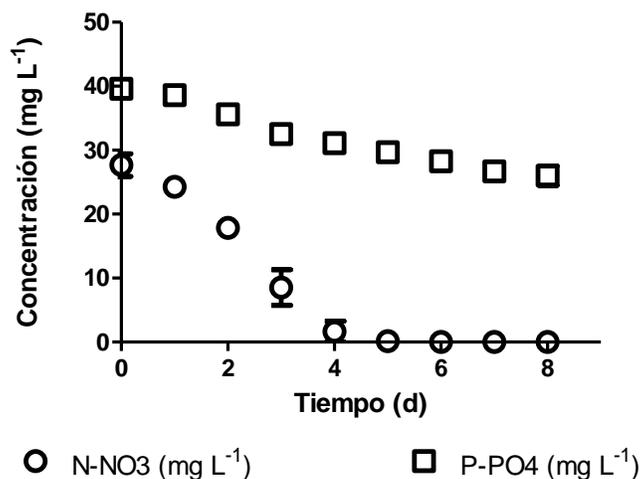


Figura 3. Peso celular seco contra Clorofila total en cultivo de *C. vulgaris* en el FBR flat panel

Considerando los valores de los diferentes parámetros cinéticos, se construyó la tabla 3. Se debe destacar que a pesar de que el cultivo no fue suministrado con aire enriquecido con CO<sub>2</sub>, la concentración final de biomasa así como la productividad de biomasa fueron elevadas. Al momento de comparar los valores obtenidos de los parámetros cinéticos con los valores que fueron propuestos momento de realizar el diseño se observa que la producción fue ligeramente superior, ya que en el diseño se consideró una producción de 14 g de biomasa y en el experimento se alcanzaron 15 g. Sin embargo, en el valor de productividad de biomasa, se había propuesto un valor de 0.12 g L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> y solamente se alcanzaron 0.116 g L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, lo que resulta ligeramente inferior; esto pudo deberse a error experimental ya que la diferencia es menor al 5%.

Tabla 3. Parámetros obtenidos en la cinética de crecimiento de *C. vulgaris*.

Parámetro	Valor	Unidades
Concentración máxima de biomasa	1.00±0.141	g L <sup>-1</sup>
Productividad de biomasa	0.116	g L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>
Concentración máxima de clorofila	18.54±1.22	mg L <sup>-1</sup>
Contenido específico de clorofila	36.29 ± 3.067	mg g <sup>-1</sup>
Consumo de nitrógeno	27.67	mg L <sup>-1</sup>
Consumo de fosforo	13.59	mg L <sup>-1</sup>
Velocidad de consumo de nitrógeno	6.135±0.451	mg L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>
Velocidad de consumo de fosforo	2.15±0.162	mg L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>

### Conclusiones

En la presente investigación se diseñó y construyó un FBR flat panel y se evaluó su desempeño mediante el crecimiento de una microalga. La configuración de FBR *thin layer* resultó sencilla en cuanto a su construcción y operación; además, permitió crecer a *C. vulgaris* de forma eficiente. En condiciones autotróficas se alcanzaron los valores propuestos al momento de realizar el diseño en cuanto a producción y productividad de biomasa; esto demuestra que las condiciones de operación empleadas fueron las adecuadas. Sin embargo, dado que existen parámetros que no han sido optimizados, como el contenido de nitrógeno del medio, agitación, cantidad de luz, etc. o incluso, que no se empleó aire enriquecido con CO<sub>2</sub>, es posible realizar una optimización posterior del proceso e incrementar los valores de producción de biomasa que pueden ser alcanzados con este prototipo.

Debido al aceptable desempeño del cultivo en el prototipo desarrollado, los trabajos posteriores a esta investigación incluirán el efecto de enriquecen la corriente gaseosa con dióxido de carbono y la optimización de la cantidad y estrategia de iluminación (continua, fotoperiodo 12/12, fotoperiodo 14 luz /10 oscuridad), a fin de obtener los valores de rendimiento máximo que es posible alcanzar con esta configuración.

### Referencias

- Ación, F. G., Molina, E., Reis, A., Torzillo, G., Zittelli, G. C., Sepúlveda, C., & Masojídek, J. (2017). Photobioreactors for the production of microalgae. In *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts: From Feedstock Cultivation to End-Products* (pp. 1–44). Elsevier Inc.
- APHA, AWWA, & WEF. (1999). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. In *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (p. 1496).
- Argumedo Delira, R., Sánchez Viveros, G., Alarcón, A., & García Meza, J. V. (2018). *Biotechnología microbiana: Aplicaciones energéticas, ambientales y alternativas* (Primera). Veracruz, México: Universidad Veracruzana.
- Barsanti, L., & Gualtieri, P. (2006). *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology*. Vasa (2nd Edición). CRC Press.
- CCAP. (2019). Culture Collection of Algae and Protozoa (CCAP). Retrieved from <https://www.ccap.ac.uk/>
- Flórez-Miranda, L., Cañizares-Villanueva, R. O., Melchy-Antonio, O., Martínez-Jerónimo, F., & Flores- Ortíz, C. M. (2017). Two stage heterotrophy/photoinduction culture of *Scenedesmus incrassatulus*: potential for lutein production. *Journal of Biotechnology*, 262, 67–74.
- Flórez-Miranda, L., Martínez-Roldán, A. J., & Cañizares-Villanueva, R. O. (2015). Microalgae in livestock nutrition. In L. Torres-Bustillos (Ed.), *Microalgae and Other Phototrophic Bacteria: Culture, Processing, Recovery and New Products* (pp. 87–110). USA: Nova Science Publishers.
- Franco Martínez, M. L., Rodríguez Rosales, M. D. J., Moreno Medina, C. U., & Martínez-Roldán, A. J. (2017). Tolerance and nutrients consumption of *Chlorella vulgaris* growing in mineral medium and real wastewater under laboratory conditions. *Open Agriculture*, 2, 394–400.
- Martínez-Roldán, A. J. (2008). *Producción de biomasa de Spirulina maxima en cultivo por lote utilizando un fotobiorreactor "air-lift" de cara plana y agua residual sintética*. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.
- Martínez-Roldán, A. J., & Cañizares-Villanueva, R. O. (2015). Photobioreactors: Improving the biomass productivity. In L. Torres-Bustillos (Ed.), *Microalgae and Other Phototrophic Bacteria: Culture, Processing, Recovery and New Products* (First Edit, pp. 145–170). Nova Science Publishers.
- Martínez-Roldán, A. J., & Cañizares-Villanueva, R. O. (2017). The effect of the nitrogen-source modification and the addition of CO<sub>2</sub> on the growth and composition of lipids in *Nannochloropsis*. In M. Jan & P. Kazik (Eds.), *Nannochloropsis: Biology, Biotechnological Potential and Challenges* (First, p. 253). Nova Science Publishers.
- Martínez-Roldán, A. J., & Cañizares-Villanueva, R. O. (2019). Biodiesel Production from Microalgae as a Biorefinery Concept. In L. F. Rios Pinto, E. Marques Takase, & H. Silva Santana (Eds.), *A Closer Look at Biodiesel Production* (First). Nova Science Publishers.
- Martínez-Roldán, A. J., & Ibarra-Berumen, J. (2019). Employment of Wastewater to Produce Microalgal Biomass as a Biorefinery Concept. In *Microalgae Biotechnology for Development of Biofuel and Wastewater Treatment* (pp. 487–504). Singapore: Springer Singapore.

- Martínez-Roldán, A. J., Perales-Vela, H. V., Cañizares-Villanueva, R. O., & Torzillo, G. (2014). Physiological response of *Nannochloropsis* sp. to saline stress in laboratory batch cultures. *Journal of Applied Phycology*, *26*, 115–121.
- Masojídek, J., Kopecký, J., Giannelli, L., & Torzillo, G. (2011). Productivity correlated to photobiochemical performance of *Chlorella* mass cultures grown outdoors in thin-layer cascades. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, *38*, 307–317.
- Mohamed Ramli, N., Verdegem, M., Yusoff, F., Zulkifely, M., & Verreth, J. (2017). Removal of ammonium and nitrate in recirculating aquaculture systems by the epiphyte *Stigeoclonium nanum* immobilized in alginate beads. *Aquaculture Environment Interactions*, *9*, 213–222.
- Torzillo, G., Giannelli, L., Martínez-Roldán, A. J., Verdone, N., De Filippis, P., Scarsella, M., ... Bravi, M. (2010). Microalgae culturing in thin-layer photobioreactors. *Chemical Engineering Transactions*, *20*, 265–270.
- Vega-Estrada, J., Montes-Horcasitas, M. C., Domínguez-Bocanegra, A. R., & Cañizares-Villanueva, R. O. (2005). *Haematococcus pluvialis* cultivation in split-cylinder internal-loop airlift photobioreactor under aeration conditions avoiding cell damage. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *68*, 31–35.
- Villanueva Garcia, R. (2018). *Aprovechamiento del efluente del desarenador de la PTAR Sur para la producción de biomasa microalgal*. TecNM/IT Durango.
- Wellburn, A. R. (1994). The spectral determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*, *144*, 307–313.
- Zhang, J.-Z., & Fischer, C. J. (2006). A simplified resorcinol method for direct spectrophotometric determination of nitrate in seawater. *Marine Chemistry*, *99*, 220–226.
- Zitelli, G. C., Rodolfi, L., & Tredici, M. R. (2007). Industrial Production of Microalgal Cell-Mass and Secondary Products - Species of High Potential: Mass Cultivation of *Nannochloropsis* in Closed Systems. In A. Richmond (Ed.), *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology* (pp. 298–303). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.