

---

# AVANCES EN EL DISEÑO CONCEPTUAL DE FOTOBIORREACTORES PARA EL CULTIVO DE MICROALGAS

CORAL CONTRERAS-FLORES, JULIÁN MARIO PEÑA-CASTRO,  
LUIS BERNARDO FLORES-COTERA  
y ROSA OLIVIA CAÑIZARES-VILLANUEVA

---

En la década de 1950 se postuló por primera vez que el empleo de luz solar y agua marina, para obtener cultivos masivos de microalgas ricas en proteína de alta calidad, podría ser una buena alternativa para obtener alimento para el ser humano (Becker, 1994). Durante los años 60 y 70, diversos grupos de investigación tanto de países desarrollados como en vías de desarrollo, dedicaron esfuerzos a intentar lograr rendimientos de biomasa que pudieran equipararse a los obtenidos con microorganismos no autótrofos (principalmente levaduras). En el transcurso de los años se pudieron diversificar las áreas donde las microalgas eucariotas (Vilchez *et al.*, 1997) y cianobacterias (Morales *et al.*, 2002; Proserpi, 2000) cultivadas masivamente tienen aplicaciones prometedoras, especialmente en la producción de compuestos químicos “finos” y combustibles, en el tratamiento de aguas residuales, como intercambiadores iónicos y biofertilizantes, para la obtención de compuestos terapéuticos o aplicados a la terapéutica, y como alimento de consumo humano o animal. Sin embargo, la productividad teórica estimada de 100

toneladas anuales por hectárea de cultivos microalgales (Richmond, 2000), no pudo ser alcanzada ni siquiera en los laboratorios de investigación, sino hasta principios de la década de los 90. Una limitante para lograr los estimados teóricos se debió a que el sistema en carrusel, que inicialmente fue el mejor sistema para desarrollar cultivos en masa por su facilidad de construcción y operación, paradójicamente resultó inapropiado como punto de partida para el desarrollo de sistemas de cultivo de alta productividad (Richmond, 2000). El cultivo intensivo de microalgas ha sido posible en gran medida gracias al desarrollo de nuevos diseños de fotobiorreactores. A continuación se revisan los avances que han tenido lugar en este campo, principalmente durante la última década.

Existen dos diseños básicos para la producción de microorganismos fotoautotróficos (Grobbelaar, 2000), los sistemas abiertos en los que el cultivo está expuesto a la atmósfera y los sistemas cerrados, comúnmente denominados fotobiorreactores, en los que el cultivo tiene poco o ningún contacto con la atmósfera. La mayoría de los sistemas de

producción industrial de biomasa de microalgas construidos antes de los años 90 fueron esencialmente sistemas abiertos tipo carrusel (Figura 1), que permiten alcanzar densidades celulares de hasta 0,7g de células (base seca) por litro. Estos sistemas, constituidos por canales poco profundos (nivel de agua de 15-20cm) en forma de circuito cerrado, en los que el medio de cultivo es impulsado mediante paletas rotatorias, generalmente requieren de grandes áreas de terreno (500-5000m<sup>2</sup>), pero tienen como ventaja el bajo costo de producción de biomasa algal en algunas zonas geográficas específicas. Sin embargo, el perfeccionamiento de esta tecnología hace tiempo llegó a su límite, restringiendo así el desarrollo de la biotecnología de microalgas. La baja densidad celular origina varios inconvenientes, incluyendo baja productividad, fácil contaminación, costosa recuperación del producto de medios diluidos y dificultad para el control de la temperatura. Estos inconvenientes estimularon el desarrollo de fotobiorreactores construidos con materiales transparentes como vidrio y policarbonato, entre otros materiales. Los primeros fotobiorreactores fueron

---

**PALABRAS CLAVES / Biotecnología / Cianobacterias / Fotobiorreactores / Microalgas /**

---

Recibido: 20/03/2003. Aceptado: 29/07/2003

Coral Contreras-Flores. **Ingeniero Bioquímico, Instituto Tecnológico de Celaya, México. Estudiante de Maestría, Laboratorio de Biotecnología de Microalgas, Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN, México.**

Julián Mario Peña-Castro. **Maestro en Ciencias en Biotecnología y Estudiante de Doctorado, CINVESTAV-IPN. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN, México.**

Luis Bernardo Flores-Cotera. **Doctor en Ciencias Bioquímicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Profesor, Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN, México.**

Rosa Olivia Cañizares-Villanueva. **Doctor en Ciencias en Ecología, Instituto Politécnico Nacional. Profesora, CINVESTAV-IPN. Dirección: Laboratorio de Biotecnología de Microalgas, Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN. Av. IPN 2508, C.P. 07360 D.F., México. e-mail: rcanizar@mail.cinvestav.mx.**

---

propuestos por Pirt *et al.*, (1983), Gudín y Chaumont (1983), y Torzillo *et al.*, (1986). En la última década los fotobiorreactores tubulares y de placas planas (Figura 1) han recibido, entre otros, mucha atención, ya que permiten establecer cultivos de alta densidad celular, 3 o más veces en comparación con los sistemas convencionales de carrusel. Esto tiene ventajas como 1) facilidad para cosechar la biomasa, 2) mantenimiento del cultivo sin contaminación, 3) mejor control de las condiciones de cultivo y 4) menor inversión de capital en el fotobiorreactor. Este último factor es un elemento importante en el costo de producción de productos derivados de microalgas.

### La Curva Dosis-Respuesta a la Energía Luminosa

Un aspecto de suma importancia en el cultivo de organismos fotoautotróficos en general, es el relacionado con el aprovechamiento de la energía radiante durante la fotosíntesis. La tasa de fotosíntesis celular  $F$  (capacidad de captación de fotones) depende de la energía luminosa que reciben las células. La curva dosis-respuesta que describe esta relación representa una respuesta típica del crecimiento respecto a la disponibilidad de sustrato (Richmond, 2000). A bajos niveles de intensidad luminosa la rapidez de la fotosíntesis aumenta con la intensidad de luz, pero niveles de energía incidente superiores a un cierto valor ( $E_k$ ) inducen sólo pequeños cambios en  $F$  (Figura 2). La constante específica  $E_k$ , característica para cada organismo, indica el nivel de energía luminosa al que comienza a saturarse el fotosistema de un organismo. La energía incidente puede llegar a niveles que causan inhibición de los fotosistemas celulares, lo cual puede deteriorar el cultivo y causar incluso un daño irreversible. Por otro lado, la eficiencia ( $F/E$ ) con la que la luz incidente es utilizada, es decir la fracción de energía luminosa incidente convertida a energía química, disminuye rápidamente al aumentar el flujo de fotones y tiende a valores mínimos cuando la energía incidente alcanza niveles superiores a  $E_k$  (a mediodía en cultivos expuestos a la luz solar).

La curva dosis-respuesta describe lo que sucede cuando la luz es el factor limitante y todas las células reciben la misma cantidad de energía luminosa, como sucede en una capa celular delgada o en cultivos de muy baja densidad celular. Sin embargo, estos conceptos aunque generales no describen la realidad en la gran mayoría de los cultivos que se desarrollan en el laboratorio o a gran escala, en especial si se trata de cultivos de

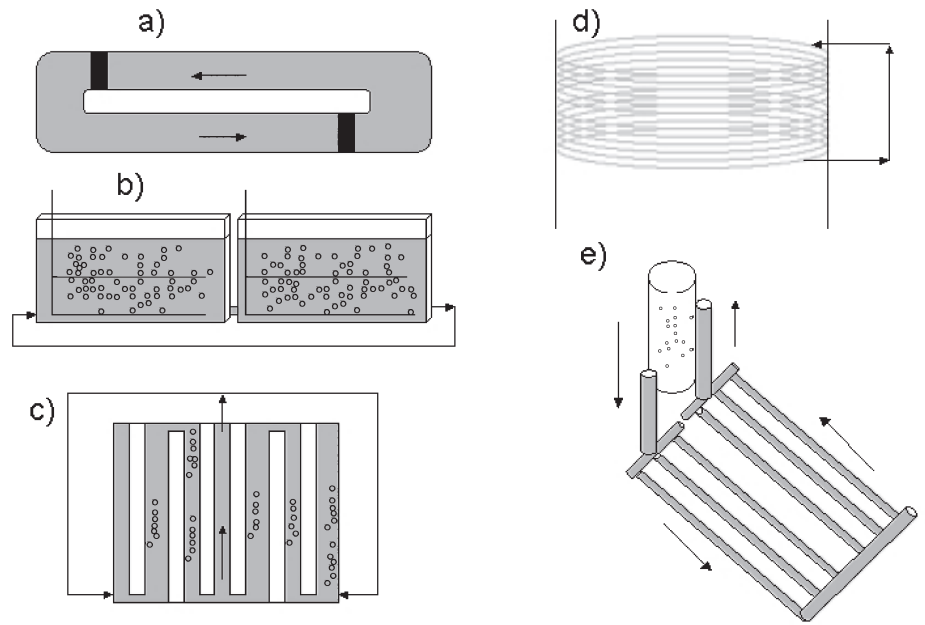


Figura 1. Tipos básicos de fotobiorreactores. a: Tipo carrusel, vista superior, los bloques negros indican propelas. b: Tipo plano, vista horizontal. c: Con iluminación interna, los bloques blancos indican espacios de iluminación. d: Tipo serpentín. e: Tipo tubular horizontal con sistema airlift.

alta densidad celular ( $>3g/l$ ; Javanmardian y Palsson, 1991). Bajo ciertas condiciones, los cultivos con mayor densidad celular, son capaces de utilizar la luz incidente con mayor eficiencia en comparación con cultivos convencionales diluidos. Por ejemplo, en cultivos de *Spirulina* en los que se optimiza cuidadosamente la densidad celular, no se observa una disminución significativa de la eficiencia al aumentar la intensidad de la luz incidente. Es decir, la fotoinhibición puede no presentarse aún en cultivos expuestos a intensidades de luz elevadas. Esto en gran medida se debe a una dilución de la luz, como resultado del autosombreado, más marcado entre las células conforme aumenta la densidad celular. Un exceso de luz a una densidad de  $1,8g/l$ , puede resultar óptimo para un cultivo a  $16g/l$  en el

no se ajusta a la intensidad de la fuente de luz. Sólo en estos casos se puede apreciar una disminución significativa de la eficiencia al aumentar la intensidad de iluminación. La omisión de estos conceptos condujo a que el diseño de sistemas comerciales frecuentemente se basara sólo en los cálculos de profundidades para evitar la digestión anaerobia del cultivo y en los cálculos de potencia de las paletas rotatorias para imprimir movimiento al cultivo, hasta el límite de esfuerzo de corte tolerado por la microalga en cuestión (Ogbonna y Tanaka, 2000).

### Diseño de Fotobiorreactores Basado en Conceptos sobre Distribución de Luz

En cultivos de microorganismos fotoautótrofos en los que otros

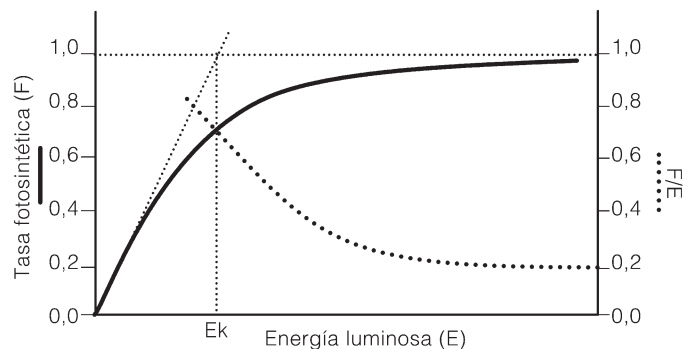


Figura 2. Efecto de la energía luminosa ( $E$ ) en la tasa fotosintética ( $F$ ) y en la eficiencia fotosintética ( $F/E$ ).  $E_k$  es la constante de saturación (Richmond, 2000).

factores no son limitantes, la disponibilidad de luz determina la intensidad a la que se realiza la fotosíntesis y, como consecuencia, determina también la velocidad de crecimiento ( $\mu$ ). Sin embargo, en todos los sistemas de cultivo, las células más cercanas a la superficie iluminada impiden la penetración de la luz hacia el seno del medio de cultivo y producen un efecto de sombreado sobre las células más alejadas de la superficie. En algunos cultivos se ha estimado que la luz penetra solo de 1 a 2mm más allá de la superficie, de manera que la zona fótica representa solo una pequeña fracción (10-30%) del volumen total del cultivo (Figura 3). Debido a que el medio de cultivo está en constante movimiento, las células solo son expuestas por breves instantes a la luz, en ciclos que pueden durar desde milisegundos a unas cuantas décimas de segundo. En condiciones reales, el factor que determina la actividad fotosintética es la cantidad de energía disponible para cada célula individual, más que la cantidad de energía luminosa incidente (Lu y Vonshak, 1999).

Los parámetros que pueden considerarse como básicos para describir la disponibilidad de energía bajo una iluminación intermitente son dos, la relación de los periodos luz/oscuridad (L/O) y la frecuencia de los ciclos L/O. Estos, junto con la intensidad de la luz y la trayectoria de la luz en el reactor, que se describirá más adelante, establecen en gran medida el régimen de iluminación, el cual es un indicador de la disponibilidad de luz para una célula individual (Fernández *et al.*, 2002). Para asegurar la máxima actividad fotosintética y la mejor utilización de la luz incidente, se requiere de un régimen de iluminación óptimo. No obstante, a pesar de su importancia, éste no puede determinarse cuantitativamente, razón por la cual es común usar los parámetros citados antes para caracterizar la incidencia de luz en los fotobiorreactores.

#### Trayectoria de la luz

La trayectoria de la luz es la distancia transversal que debe recorrer un fotón para pasar a través de un fotobiorreactor (Richmond, 1996), concepto que se ilustra en la Figura 3. Su magnitud es determinada por diferentes medidas en los diferentes tipos de reactores. Así, la trayectoria de la luz es determinada por la profundidad de líquido en un reactor de tipo carrusel, por la separación entre las placas en un reactor de placas (horizontal o vertical) o por el diámetro del tubo en un reactor tubular. Incrementar la trayectoria de la luz implica reducir el volumen iluminado en relación

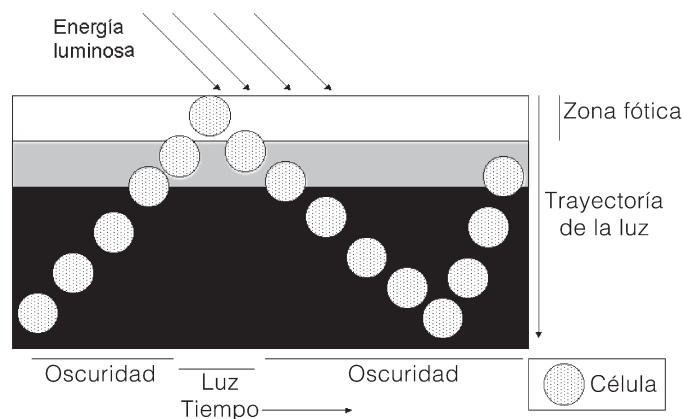


Figura 3. Ilustración de la trayectoria de la luz y de los ciclos luz/oscuridad.

al volumen no iluminado en el fotobiorreactor, debido a que el autosombreado entre las células sólo permite a la luz penetrar una corta distancia dentro del cultivo. En consecuencia, un incremento de la trayectoria de la luz reduce tanto la frecuencia promedio con la que las células son expuestas a la luz, como la relación de los periodos L/O (Grobelaar, 1994; Ogonna y Tanaka, 1998). Por el contrario, una trayectoria pequeña de la luz aumenta la relación de volúmenes iluminado/oscuro, permitiendo así periodos L/O mayores, una mayor frecuencia con la que las células son expuestas en promedio a la luz y por ende un mejor régimen de iluminación. En reactores tubulares de diámetro pequeño (1-3cm) se pueden lograr ciclos de alta frecuencia de L/O, que contribuyen a obtener una alta productividad. Lo anterior ha sido verificado en cultivos de *Spirulina platensis* y de diversas especies de microalgas, tanto en reactores tubulares horizontales como en reactores planos verticales e inclinados. Hu *et al.* (1996a) han reportado que al reducir la trayectoria de la luz se obtiene un aumento significativo de la densidad celular óptima y de la velocidad específica de crecimiento. En un fotobiorreactor de plano inclinado estos autores observaron además que con una trayectoria de la luz de 10,4cm, la productividad fue sólo 6% de la obtenida en otro reactor con una trayectoria de la luz de 1,3cm. En fotobiorreactores tubulares, se han reportado resultados similares al reducir la trayectoria de la luz. Richmond *et al.* (1993) usando un nuevo diseño de reactor tubular horizontal reportaron un aumento de 77% en la productividad volumétrica cuando el diámetro del tubo disminuyó de 5 a 2,8cm. La productividad en este último caso fue 640% superior a la obtenida en un sistema convencional de carrusel con 15cm de profundidad. Las ru-

tas luminosas que mejores resultados han dado en diferentes fotobiorreactores están entre 2,6 y 3,0cm; sin embargo, en cultivos de alta densidad celular, una trayectoria de la luz de 1cm aumenta la probabilidad de que las células en promedio estén expuestas a un régimen de iluminación óptimo (Javanmardian y Palsson, 1991). En virtud de lo anterior, actualmente no es recomendable utilizar rutas luminosas de más de 10cm en ningún tipo de biorreactor.

#### Otros Factores Importantes en el Diseño de Fotobiorreactores

Debido a que una condición necesaria para el éxito comercial de una biotecnología es tener una productividad alta y consistente, los diferentes tipos de fotobiorreactores se comparan con frecuencia en base a su productividad por unidad de volumen de reactor (g de biomasa/m<sup>3</sup>-día), a su productividad por unidad de área ocupada de reactor (g/m<sup>2</sup>-día) y a la productividad por área iluminada de reactor (g/m<sup>2</sup>-día), siendo la primera la más utilizada. En un cultivo continuo la productividad volumétrica (Pv) es proporcional a la velocidad específica de crecimiento y a la concentración celular x (Pv=  $\mu \cdot x$ ). Así, para lograr una alta productividad se deben mantener altas densidades celulares, pero sin que la velocidad de crecimiento disminuya significativamente, por ejemplo debido a un mayor sombreado entre células. La factibilidad de esto depende, como ya se discutió, de un suministro adecuado de luz a las células, pero además se requiere alinear cuidadosamente las condiciones ambientales en el reactor con las necesidades de la cepa seleccionada. Independientemente de la configuración del fotobiorreactor se deben considerar además de los factores ya discutidos que afectan el suministro de luz, otros funda-

mentales como el mezclado, el autosombreado entre las células, el suministro de nutrientes (incluyendo CO<sub>2</sub>), el control de la temperatura y la remoción del O<sub>2</sub> producido fotosintéticamente. Algunos requerimientos del cultivo como lo son el suministro de nutrientes y el control de la temperatura, son relativamente fáciles de cubrir (Morita *et al.*, 2002), pero otros como el suministro de luz, además de ser crítico, es difícil de controlar. En especial la consideración cuidadosa del mezclado, el autosombreado y la remoción del O<sub>2</sub> es importante para lograr altas productividades.

A continuación se discuten los efectos del mezclado y de la densidad celular, que son factores que juegan también un papel crucial en el régimen de iluminación y que de ninguna manera pueden considerarse menos importantes que la trayectoria de la luz o que la intensidad de luz.

### **Importancia del Mezclado en Fotobiorreactores**

El mezclado favorece el intercambio gaseoso, evita la sedimentación de células, la formación de gradientes de condiciones ambientales y de concentración de nutrientes, pero su función principal es permitir que todas las células puedan acceder a las zonas iluminadas en un fotobiorreactor (Ogbonna y Tanaka, 2000; Ugwu *et al.*, 2002). El mezclado puede inducirse de muy diversas formas; sin embargo, los sistemas basados en la aireación del cultivo con aire comprimido (columnas burbujeadas o *airlift*), se usan comúnmente por su sencillez y porque pueden diseñarse para inducir un esfuerzo de corte pequeño que no cause daño mecánico a las células (Richmond *et al.*, 1993; Sánchez *et al.*, 2000).

El tiempo que las células permanecen en zonas iluminadas y la frecuencia con la que son iluminadas (frecuencia de los ciclos L/O) dependen de la trayectoria de la luz, pero al mismo tiempo dependen del mezclado del medio de cultivo (Grobelaar, 1994). En un mismo fotobiorreactor es posible establecer diferentes condiciones de mezclado para manipular el régimen de iluminación y así la tasa de fotosíntesis. Richmond (1996) ha reportado que la eficiencia fotosintética disminuye al aumentar la intensidad luminosa en cultivos de baja densidad celular con una aireación de 0,6l de aire/l-min. En cambio, a una densidad celular óptima y una aireación de 4,2l/l-min, las eficiencias fueron similares a pesar de aumentar la intensidad de luz en un factor de 4. Adicionalmente, al aumentar la aireación de 0,6 a 4,2l/l-min la

productividad aumentó al doble. En cultivos de alta densidad celular en los que se utilizan niveles de iluminación como los que se presentan típicamente al mediodía, con frecuencia se reportan aumentos de la productividad al aumentar la intensidad de mezclado. Por ello, para lograr una alta productividad y un aprovechamiento óptimo de la luz, Richmond (1996) recomienda una iluminación intensa (mediodía), el uso de reactores con una trayectoria de la luz pequeña, y un mezclado vigoroso hasta donde lo permita la fragilidad de las células. Por otra parte, Grobbelaar (1994, 2000) determinó experimentalmente la contribución de los ciclos L/O y de la transferencia de nutrientes, y concluyó que los dos componentes del mezclado actúan sinérgicamente sobre la productividad. Una frecuencia alta o mediana de ciclos L/O ayuda a evitar la fotoinhibición, aún a niveles elevados de iluminación, debido a que las células no están expuestas permanentemente a la luz (Grobelaar, 1994). La tasa de fotosíntesis y la productividad de los cultivos aumentó al aumentar la frecuencia de los ciclos L/O en el intervalo de 0,05-5000Hz. La metodología empleada podría adecuarse para optimizar los ciclos L/O en diferentes especies de algas.

El mezclado de un cultivo permite una utilización óptima de la luz y un "mejor régimen de iluminación", sin embargo, puede también causar daño a las células. La fragilidad celular es con frecuencia un factor que limita la intensidad de mezclado que puede aplicarse a un cultivo. En virtud de que la fragilidad celular y las características fotosintéticas entre otros factores pueden variar de cepa a cepa, los niveles óptimos de mezclado dependerán de cada especie cultivada (Gudin y Chaumont, 1991).

### **Circulación del Medio de Cultivo en el Reactor**

La elección del método para circular el líquido es otra consideración importante en el diseño de fotobiorreactores. Las paletas rotatorias, las bombas de tornillo, rotatorias o de desplazamiento positivo, y en general cualquier método mecánico, tiene la desventaja de producir importantes esfuerzos de corte y daño celular. Por ello, en fotobiorreactores tubulares dispuestos horizontalmente, es común usar el método hidroneumático basado en el principio *airlift*. (Richmond *et al.*, 1993; Sánchez *et al.*, 2000). La velocidad del medio de cultivo en los tubos tiene que ser suficiente para asegurar un flujo turbulento que evite el crecimiento en la pared del tubo o la sedimentación de las células por una parte,

y por otra que asegure un régimen de iluminación favorable para establecer una fotosíntesis intensa (Gudin y Chaumont, 1991, Camacho *et al.*, 1999; Molina *et al.*, 1999). Una baja velocidad de circulación del líquido (<15cm/s) casi siempre produce crecimiento en la pared y posiblemente inhibición del crecimiento por altas concentraciones de O<sub>2</sub> disuelto. Una velocidad de líquido en los tubos de 30-50cm/s es apropiada en la mayoría de los casos.

Como ya se mencionó, disminuir la trayectoria de la luz incrementa la eficiencia de utilización de luz y la productividad. Sin embargo, emplear rutas luminosas muy cortas implica obstáculos técnicos adicionales, ya que la fuerza motriz necesaria para mantener un flujo turbulento es inversamente proporcional al diámetro del tubo empleado. Entonces, las mayores densidades celulares y mayores viscosidades asociadas con diámetros de tubo pequeños pueden producir limitaciones diferentes a las impuestas por la luz; por ello es de suma importancia optimizar el diámetro del reactor. Tanto en reactores tubulares como planos, una trayectoria de la luz de 1-2cm podría ser el mínimo práctico para operar fotobiorreactores cerrados.

### **Cultivos de Alta y Ultra Alta Densidad Celular**

Una tecnología que surgió a finales de los años 80 fue la de cultivos algales de Alta Densidad Celular (ADC) y Ultra Alta Densidad Celular (UADC), que implican mantener concentraciones celulares superiores a 3g/l de biomasa para los primeros (Lee y Pals-son, 1994) y de 15 a 80g/l para los segundos, ambos en base seca (Hu *et al.*, 1996a, b; 1998). Al aumentar la densidad celular es posible evitar la fotoinhibición, aún a altas intensidades de luz incidente, pero por otro lado los efectos de sombreado entre las células se vuelven más severos debido a que la luz penetra menos en cultivos densos en comparación con cultivos de menor densidad. Cuando el suministro de nutrientes y las condiciones ambientales no son limitantes, el mezclado es determinante para la eficiencia fotosintética y la productividad a densidades celulares por encima de 3g/l. Altas densidades celulares solo son posibles mediante una combinación de alta intensidad de luz, una trayectoria de la luz pequeña (1-5cm) y un mezclado vigoroso inducido por burbujas de aire (Javanmardian y Pals-son, 1991). Hu *et al.* (1996b) midieron la relación entre las fluorescencias variable y máxima de la clorofila, que es un indicador de la integridad de

TABLA I  
DISTINTOS TIPOS DE FOTOBIORREACTORES Y SUS USOS

Tipo	Pv	Pa	DC	Aplicación	Referencia
Sistema carrusel	0,18	27	0,4	Producción de biomasa	Richmond, 2000
Plano vertical UADC	9,2	67,8	22,5	Fijación de CO <sub>2</sub> del aire	Hu <i>et al.</i> , 1998
Plano inclinado ADC	4,3	51,1	8,4	Estudio del efecto de la trayectoria de la luz.	Hu <i>et al.</i> , 1996 b
Plano inclinado UADC	n.d.	n.d.	35	Estudio de la fisiología de los organismos en UADC	Hu <i>et al.</i> , 1996 a
Triangular	n.d.	n.d.	0,275	Remoción de amonio, nitrato y fósforo.	Sylvestre <i>et al.</i> , 1996
Tanque agitado iluminado	n.d.	n.d.	1,2	Remoción de amonio a altas concentraciones	Prosperi, 2000
Tubular horizontal	0,55	n.d.	n.d.	Prototipo de reactores horizontales con mecanismo <i>airlift</i>	Richmond <i>et al.</i> , 1993
Tubular inclinado	1,47	n.d.	n.d.	Con mezcladores estáticos internos	Ugwu <i>et al.</i> , 2002
Tubular helicoidal cónico	n.d.	33,2	n.d.	Prototipo agitado neumáticamente	Morita <i>et al.</i> , 2002
Iluminado cuasi-internamente UADC	n.d.	n.d.	2x10 <sup>9</sup> cel/ml	Prototipo de UADC con ultrafiltración e iluminación con diodos	Lee y Palsson, 1994
Iluminado internamente	n.d.	n.d.	30	Prototipo de reactores de UADC	Javanmardian y Palsson, 1991
Tubular horizontal ADC	1,6	27	4,8	Prototipo de producción de biomasa	Richmond, 2000
Plano vertical ADC	2,4	66	6	Prototipo de producción de biomasa	Richmond, 2000
Plano inclinado ADC	0,9	110	2,2	Prototipo de producción de biomasa	Richmond, 2000
Tubular horizontal ADC	n.d.	30	6,5	Producción de biomasa	Gudin y Chaumont, 1991
Plano horizontal	n.d.	30	2	Producción de biomasa	Gudin y Chaumont, 1983
Plano vertical	1,93	n.d.	n.d.	Estudios de fotoinhibición en diferentes geometrías	Tredici y Zitteli, 1998
Serpentín vertical	1,64	n.d.	n.d.	Estudios de fotoinhibición en diferentes geometrías	Tredici y Zitteli, 1998
Serpentín horizontal	0,9	n.d.	n.d.	Estudios de fotoinhibición en diferentes geometrías	Tredici y Zitteli, 1998
<i>Airlift</i>	0,34	n.d.	n.d.	Estudio y caracterización de reactores <i>airlift</i> .	Sánchez <i>et al.</i> , 2000

Pv: productividad volumétrica (g/l·día), Pa: productividad por área (g/m<sup>2</sup>·día) salvo donde se indique, DC: densidad celular máxima alcanzada (g/l), ADC: alta densidad celular, UADC: ultra alta densidad celular.

los fotosistemas. En células mantenidas a varias densidades celulares encontraron que la cantidad de energía luminosa que para células en cultivos de menor densidad celular es sumamente tóxica, para las de cultivos de mayor densidad es óptima.

Una dificultad adicional de los cultivos a altas densidades celulares es que las microalgas secretan sustancias autoinhibitorias (Richmond, 2000). En consecuencia, la producción microalgal a alta densidad celular requiere de una solución práctica al problema de la acumulación de estas sustancias. El desarrollo tanto de cultivos de ADC como de UADC fue posible gracias a los avances ya descritos en materia de fotobiorreactores, pero adicionalmente a la inclusión de etapas de ultrafiltración o filtración en lote o semicontinuas que permitieron la eliminación de sustancias autoinhibitorias y la adición de medio fresco. Concentraciones de hasta 80g/l se han obtenido en reactores verticales con una trayectoria de la luz pequeña, una agitación vigorosa y con remoción de sustancias

autoinhibitorias. Hasta ahora la remoción de estas sustancias ha sido semicontinua y externa al fotobiorreactor en cultivos de UADC. Recientemente se han utilizado membranas de ultrafiltración sumergidas en el medio de cultivo, para la recuperación continua del pigmento marenina producido por una diatomea (Rossignol *et al.*, 2000), idea que podría ser de interés para el desarrollo de otras tecnologías en las que la ultrafiltración continua sea deseable.

Para lograr cultivos de UADC se han utilizado diversas geometrías de fotobiorreactores y fuentes de iluminación, tales como reactores planos verticales con lámparas fluorescentes de luz blanca (Hu *et al.*, 1998), reactores iluminados cuasi-internamente por diodos (Lee y Palsson, 1994), reactores iluminados internamente mediante fibra óptica (Javanmardian y Palsson, 1991), y reactores planos inclinados con iluminación solar mantenidos en exteriores (Hu *et al.*, 1996b). Una comparación de los rendimientos logrados en diferentes sistemas se presenta en la Tabla I.

Una ventaja de mantener cultivos de UADC es la disminución de la respiración nocturna, en la cual la célula consume O<sub>2</sub> y oxida los carbohidratos endógenos acumulados durante el día. La pérdida de peso celular puede llegar a ser de hasta 50% en el sistema de carrusel, mientras que en UADC la pérdida puede ser menor del 5% debido a que la alta densidad celular reduce de manera importante la disponibilidad de O<sub>2</sub> que cada célula puede utilizar en la respiración (Hu *et al.*, 1996b). Por otra parte, en cultivos de UADC el contenido proteico de las células puede ser inferior en un 40% con respecto a células crecidas a baja densidad celular. Si se piensa utilizar el producto como fuente de proteínas en alimento humano o animal esto podría representar una desventaja. No obstante, los rendimientos celulares son tan altos, que la ganancia en productividad proteica de células con 35% de proteína crecidas a alta densidad es positiva en más de un orden de magnitud en comparación con células con 55% de proteína crecidas a una densidad baja (Hu *et al.*, 1996b).

## Fotoinhibición por Oxígeno

Para escalar fotobiorreactores planos, usualmente se aumenta la capacidad del cultivo con unidades conectadas en serie o "cascada" (Hu *et al.*, 1996a). En el caso de reactores tubulares y de serpentín, el escalamiento se hace aumentando la longitud de la tubería. Cuando se usan solo estos criterios de escalamiento, la acumulación de O<sub>2</sub> disuelto puede representar un fuerte obstáculo para el crecimiento de las algas. Altos niveles de O<sub>2</sub> disuelto en el medio de cultivo causan inhibición de la fotosíntesis (Camacho *et al.*, 1999) y en condiciones extremas pueden incluso causar la muerte de las células por daño oxidativo. En cultivos algales mantenidos en exteriores en reactores planos inclinados, se pueden alcanzar concentraciones de hasta 9,5mg/l de O<sub>2</sub> durante las horas de mayor energía radiante, lo que representa 30% más que la concentración de saturación de O<sub>2</sub> (Hu *et al.*, 1996a). En los reactores tubulares horizontales la concentración alcanzada puede ser aún mayor (Camacho *et al.*, 1999), por lo que usar la longitud de la tubería como único parámetro de escalamiento de fotobiorreactores puede conducir a una falla total de las plantas diseñadas. Este error fue frecuente en los años 80 y condujo a creer en la imposibilidad de escalar procesos algales fuera de la opción de los sistemas de tipo carrusel (Richmond, 2000). La remoción del O<sub>2</sub> producido fotosintéticamente es una necesidad al escalar reactores cerrados. En los reactores tubulares horizontales, una estrategia común es instalar etapas de aireación tipo *airlift* para remover por desorción el O<sub>2</sub> del medio de cultivo. Después de estar en contacto con el medio de cultivo, el aire enriquecido con O<sub>2</sub> puede separarse del líquido en un desgasificador. El tiempo entre etapas de aireación depende de la velocidad lineal del medio de cultivo, de la distancia entre etapas de aireación y de la velocidad de fotosíntesis (Richmond *et al.*, 1993).

## Control de pH

Cuando se lleva a cabo el escalamiento de fotobiorreactores, el pH del medio de cultivo puede variar significativamente. En reactores tubulares, el pH al final del tubo se eleva al disminuir la concentración de CO<sub>2</sub> debido al consumo algal. La concentración de CO<sub>2</sub> puede ser controlada mediante su inyección en las zonas donde la concentración ya no permite la capacidad fijadora máxima. El pH se controlará al mismo tiempo debido al conocido equilibrio del CO<sub>2</sub> con el agua (Camacho *et al.*, 1999).

## Recomendaciones para el Diseño de Fotobiorreactores

De la discusión anterior se pueden proponer varias recomendaciones para el diseño de fotobiorreactores:

- 1- La trayectoria de la luz debe ser pequeña (2,5cm)
- 2- Mantener una alta densidad celular (>8-15g/l)
- 3- Un mezclado vigoroso para asegurar ciclos L/O de alta frecuencia
- 4- Usar tramos cortos de tubería (20-30m) para evitar inhibición del crecimiento por acumulación de O<sub>2</sub>
- 5- Evitar acumulación de sustancias inhibitorias
- 6- Mantener temperatura y pH óptimos

La luz es uno de los factores más importantes que limitan la productividad de los cultivos microalgales. Sin embargo, algunas microalgas son capaces de crecer además de en condiciones de fotoautotrofia, en mixotrofia (uso de una fuente de carbono orgánico y energía luminosa como fuente de electrones) y heterotrofia (con una fuente de carbono orgánico en la oscuridad). Las fuentes de carbono orgánico más comúnmente citadas son el etanol, el acetato y la glucosa. Se ha reportado que *Haematococcus pluvialis* puede sintetizar astaxantina en heterotrofia y mixotrofia utilizando acetato de sodio como fuente de carbono, en ambos casos la concentración del pigmento es mayor a la obtenida en condiciones de fotoautotrofia, debido en parte a que el acetato promueve la obtención de mayores concentraciones celulares (Kobayashi *et al.*, 1992). También se ha estudiado la producción de  $\alpha$ -tocopherol con *Euglena gracilis* usando etanol como sustrato, la producción del antioxidante aumentó hasta 2,9 veces con relación a lo obtenido en fotoautotrofia (Ogbonna y Tanaka, 1998). La investigación acerca de la capacidad de las microalgas para utilizar diferentes fuentes de carbono orgánico es importante, debido a que permitiría el cultivo de microalgas en biorreactores más convencionales (*airlift* o de columna aireada por ejemplo), en los que el aprovechamiento óptimo de la energía luminosa no es factible ya sea técnica o económicamente; sin embargo éste es un campo de la biotecnología microalgal que se encuentra en su desarrollo inicial.

## Aplicaciones de los fotobiorreactores

### Producción de compuestos químicos finos

Las microalgas han sido reconocidas como fuentes de compuestos químicos "finos" de alto valor agregado

como vitaminas, ficobiliproteínas, pigmentos, ácidos grasos esenciales, etc. Varios de estos productos son todavía producidos comercialmente en sistemas en carrusel o en lagunas abiertas. Ejemplos de esto son la producción de ficobiliproteínas y biomasa de la cianobacteria *Spirulina*, en países como los Estados Unidos, India, China y Cuba, así como la producción de  $\beta$ -caroteno utilizando *Dunaliella* en Israel y Australia (Lorenz y Cysewski, 2000). La producción comercial de astaxantina utilizando *Haematococcus pluvialis* se lleva a cabo en dos fases, una de crecimiento y otra de producción del pigmento. Una empresa en Hawaii ocupa lagunas abiertas para la producción de la biomasa, y reactores tubulares para la inducción de la síntesis del pigmento, mientras que en Suecia otra empresa utiliza fotobiorreactores iluminados artificialmente en ambas fases (Olaizola, 2000). La producción de estas sustancias a partir de microalgas es costosa, pero se justifica debido a la mayor aceptación del consumidor por productos naturales en lugar de productos obtenidos por síntesis química. El nicho comercial de productos derivados de microalgas y cianobacterias es altamente cambiante y depende de las regulaciones aplicadas por las agencias de protección al consumidor a los productos sintetizados convencionalmente y al uso final de estos productos, que en varios casos no está aún muy extendido y continúa siendo diversificado (ficobiliproteínas) o bien tienen usos regionales, como por ejemplo en la acuicultura del salmón (astaxantina). No obstante, el empleo de fotobiorreactores modernos sin duda será una contribución importante para reducir el costo de producción de estos compuestos y hacer más competitiva su producción mediante la utilización de microalgas.

### Descontaminación ambiental

Las microalgas han sido propuestas para el tratamiento de aire (fijación de CO<sub>2</sub> y NOx) y de aguas (remoción de DBO, NXx, PXx, y metales pesados) (González *et al.*, 1997; Prakash *et al.*, 1999). La mayoría de los reactores utilizados para estos fines son de tipo carrusel a bajas densidades celulares (Oswald, 1988; Rovirosa *et al.*, 1995; Sylvestre *et al.*, 1996; Prospero, 2000). Solo en el cultivo a UADC de *Chlorococcum littorale* se han utilizado los avances tecnológicos aquí revisados para remover CO<sub>2</sub> (Hu *et al.*, 1998). El principal impulsor de los avances en el diseño de fotobiorreactores ha sido la producción de compuestos químicos "finos", y no la ya comprobada capacidad de las microalgas

para convertir desechos orgánicos (agroindustriales, porcícolas, aguas municipales, etc.) en insumos de alto valor agregado. El uso sistemático de esta capacidad en sistemas intensivos consistiría en un hito ecológico pues las microalgas, al ser la base de la cadena trófica acuática, son los microorganismos apropiados para cerrar el ciclo ecológico con el aprovechamiento de compuestos inorgánicos que las normatividades actuales consideran como peligrosos cuando están libres en el ambiente.

## Conclusiones

Debido al entendimiento limitado de la curva dosis de energía luminosa-respuesta que presentan los organismos autótrofos y al estancamiento en la utilización comercial del sistema en carrusel, los rendimientos de biomasa obtenidos en la práctica fueron durante mucho tiempo considerablemente inferiores a los rendimientos teóricos que se estimaban en los primeros años de la biotecnología algal. En los últimos 15 años, diversos grupos de investigación han encontrado soluciones para "diluir" la energía luminosa y por ende optimizar el régimen luminoso para aumentar los rendimientos de diferentes cultivos de microalgas. Los fotobiorreactores cerrados con rutas luminosas pequeñas, con ciclos L/O elevados y de frecuencia media o alta, con mezclado eficiente y la utilización de unidades de filtración y ultrafiltración, han contribuido a sobrepasar incluso los rendimientos teóricos predichos en los inicios de la biotecnología de microalgas.

## AGRADECIMIENTOS

Coral Contreras-Flores y Julián Mario Peña Castro son becarios del CONACYT-México.

## REFERENCIAS

- Becker EW (1994) *Microalgae: biotechnology and microbiology*. Cambridge University Press. Reino Unido. 293 pp.
- Camacho F, Ación FG, Sánchez JA, García F, Molina E (1999) Prediction of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration profiles in tubular photobioreactors for microalgal culture. *Biotechnol. Bioeng.* 62: 71-85.
- Fernández JM, García JL, García F, Molina E, Al-Dahhan MH, Huping L, Kemoun A (2002) Integration of fluid dynamics, light regime and photosynthetic response in photobioreactors. *1<sup>st</sup> Cong. Internat. Soc. Appl. Phycol.* Roquetas de Mar, Almería, España. p. 114.
- González LE, Cañizares RO, Baena S (1997) Efficiency of ammonia and phosphorus removal from a colombian agroindustrial wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus*. *Biores. Technol.* 60: 259-262.
- Grobbelaar JU (1994) Turbulence in mass algal cultures and the role of light/dark fluctuations. *J. Appl. Phycol.* 6: 331-335.
- Grobbelaar JU (2000) Physiological and technological considerations for optimizing mass algal cultures. *J. Appl. Phycol.* 12: 201-206.
- Gudin C, Chaumont D (1983) Solar biotechnology study and development of tubular solar receptors for controlled production of photosynthetic cellular biomass. En Palz W, Pirwitz D (Eds.) *Proceedings of the Workshop and EC Contractor's Meeting in Capri*. Reidel. Dordrecht, Holanda. Pp. 184-193.
- Gudin C, Chaumont D (1991) Cell fragility - the key problem of microalgae mass production in closed photobioreactors. *Biores. Technol.* 38: 145-151.
- Hu Q, Guterman H, Richmond A (1996a) A flat inclined modular photobioreactor for outdoor mass cultivation of photoautotrophs. *Biotechnol. Bioeng.* 51: 51-60.
- Hu Q, Guterman H, Richmond A (1996b) Physiological characteristics of *Spirulina platensis* (cyanobacteria) cultured at ultrahigh cell densities. *J. Phycol.* 32: 1066-1073.
- Hu Q, Kurano N, Kawachi M, Iwasaki I, Miyachi S (1998) Ultrahigh-cell-density culture of a marine green alga *Chlorococcum littorale* in a flat-plate photobioreactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 49: 655-662.
- Javanmardian M, Palsson BO (1991) High-density photoautotrophic algal cultures: design, construction, and operation of a novel photobioreactor system. *Biotechnol. Bioeng.* 38: 1182-1189.
- Kobayashi M, Kakizono T, Yamaguchi K, Nishio N, Nagai S (1992) Growth and astaxanthin formation of *Haematococcus pluvialis* in heterotrophic and mixotrophic conditions. *J. Ferment. Bioeng.* 74: 17-20.
- Lee CG, Palsson BO (1994) High density algal photobioreactors using light emitting diodes. *Biotechnol. Bioeng.* 44: 1161-1167.
- Lorenz RT, Cysewski GR (2000) Commercial potential of *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. *Trends Biotechnol.* 18: 160-167.
- Lu C, Vonshak A (1999) Photoinhibition in outdoor *Spirulina platensis* cultures assessed by polyphasic chlorophyll fluorescence transients. *J. Appl. Phycol.* 11: 355-359.
- Molina E, Ación FG, García F, Chisti Y (1999) Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. *J. Biotechnol.* 70: 231-248.
- Morales E, Rodríguez M, García D, Loreto C, Marco E (2002) Crecimiento, producción de pigmentos y exopolisacáridos de la cianobacteria *Anabaena* sp. PCC7120 en función del pH y CO<sub>2</sub>. *Interciencia* 27: 373-378.
- Morita M, Watanabe Y, Saiki H (2002) Photosynthetic productivity of conical helical tubular photobioreactor incorporating *Chlorella sorokiniana* under field conditions. *Biotechnol. Bioeng.* 77: 155-162.
- Ogbonna JC, Tanaka H (1998) Cyclic autotrophic/heterotrophic cultivation of photosynthetic cells: a method of achieving continuous cell growth under light/dark cycles. *Biores. Technol.* 65: 65-72.
- Ogbonna JC, Tanaka H (2000) Light requirement and photosynthetic cell cultivation -development of processes for efficient light utilization in photobioreactors. *J. Appl. Phycol.* 12: 207-218.
- Olaizola M (2000) Commercial production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using 25,000 liter outdoor photobioreactors. *J. Appl. Phycol.* 12: 499-506.
- Oswald WJ (1988) Micro-algae and waste-water treatment. En Borowitzka MA, Borowitzka LJ (Eds.) *Micro-algal biotechnology*. Cambridge University Press. Reino Unido. pp. 304-327.
- Pirt SL, Lee YK, Walach MR, Pirt MW, Balyuzi HH, Bazin MJ (1983) A tubular bioreactor for photosynthetic production of biomass from carbon dioxide: Design and performance. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 33B: 35-38.
- Prakash A, Margaritis A, Saunders RC, Vijayan, S (1999) High concentrations ammonia removal by the cyanobacterium *Plectonema boryanum* in a photobioreactor system. *Can. J. Chem. Eng.* 77: 99-106.
- Prosperi, CH (2000) Cyanobacteria in human affairs. *Interciencia* 25: 303-306
- Richmond A, Boussiba S, Vonshak A, Kopel R (1993) A new tubular reactor for mass production of microalgae outdoors. *J. Appl. Phycol.* 5: 327-332.
- Richmond A (1996) Efficient utilization of high irradiance for production of photoautotrophic cell mass: a survey. *J. Appl. Phycol.* 8: 381-387.
- Richmond A (2000) Microalgal biotechnology at the turn of the millennium: a personal view. *J. Appl. Phycol.* 12: 441-451.
- Rossignol N, Jaouen P, Robert J-M, Quéménéur F (2000) Production of exocellular pigment by the marine diatom *Hasklea ostrearia* Simonsen in a photobioreactor equipped with immersed ultrafiltration membranes. *Biores. Technol.* 73: 197-200.
- Rovirosa N, Sánchez F, Benítez L, Travieso L, Pellón A (1995) An integrated system for agricultural wastewater treatment. *Water Sci. Tech.* 32: 165-171.
- Sánchez A, García F, Contreras A, Molina E, Chisti Y (2000) Bubble column and air lift photobioreactors for algal culture. *Aiche J.* 46: 1872-1877.
- Sylvestre S, Lessard P, de la Noüe J (1996) Performance d'un photobioreacteur utilisant la cyanobactérie *Phormidium bohneri* pour l'enlèvement de l'azote et du phosphore. *Environ. Technol.* 17: 697-706.
- Torzillo G, Pushparaj B, Bocci F, Balloni W, Materassi R, Florenzano G (1986) Production of *Spirulina* biomass in closed photobioreactors. *Biomass* 11: 61-64.
- Tredici MR, Zitteli GC (1998) Efficiency of sunlight utilization: tubular versus flat photobioreactors. *Biotechnol. Bioeng.* 57: 187-197.
- Ugwu CU, Ogbonna JC, Tanaka H (2002) Improvement of mass transfer characteristics and productivities of inclined tubular photobioreactors by installation of internal static mixers. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 58: 600-607.
- Vilchez C, Garbayo I, Lobato MV, Vega JM (1997) Microalgae-mediated chemicals production and wastes removal. *Enzyme Microb. Technol.* 20: 562-572.