

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

**TESIS DOCTORAL** 

# Optimización y diseño de fotobiorreactores en operación por lote para cultivar un consorcio microbiano fotosintético nativo con potencial biofertilizante/bioestimulante

Para obtener el grado de Doctora

PRESENTA I.B.I Mónica Ivette Sánchez Contreras

Directora Dra. Rosa Icela Beltrán Hernández

Codirector Dr. Pablo Antonio López Pérez

Comité tutorial Dra. Dulce Jazmín Hernández Melchor, COLPOS Dr. Carlos Alexander Lucho Constantino Dr. Óscar Arce Cervantes, ICAP-UAEH

Pachuca de Soto, Hgo. México., Marzo 2025



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería School of Engineering and Basic Sciences

Mineral de la Reforma, Hgo. a 11 de marzo de 2025

Número de control: ICBI-D/556/2025 Asunto: Autorización de impresión de tesis.

# MTRA. OJUKY DEL ROCÍO ISLAS MALDONADO DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH

Por este conducto le comunico que el comité revisor asignado a la Ing. Mónica Ivette Sánchez Contreras, alumna del Doctorado en Ciencias Ambientales (Directo) con número de cuenta 177325, autoriza la impresión del proyecto de tesis titulado "Optimización y diseño de fotobiorreactores en operación por lote para cultivar un consorcio microbiano fotosintético nativo con potencial biofertilizante/bioestimulante" en virtud de que se han efectuado las revisiones y correcciones pertinentes.

A continuación, se registran las firmas de conformidad de los integrantes del comité revisor.

PRESIDENTE	Dr. Oscar Arce Cervantes	
SECRETARIO	Dr. Carlos Alexander Lucho	
1 <sup>er</sup> VOCAL	Dra. Rosa Icela Beltrán Hernández	
2 <sup>do</sup> VOCAL	Dr. Pablo Antonio López Pérez	4
3 <sup>er</sup> VOCAL	Dra. Dulce Jazmín Hernández Melchor	



Sin otro particular, reitero a Usted la seguridad de mi atenta consideración.



Esta tesis se realizó en el Laboratorio 2 de Biotecnología, en el Área Académica de Química de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, bajo la dirección de la Dra. Rosa Icela Beltrán Hernández y la codirección del Dr. Pablo Antonio López Pérez. La estudiante tuvo beca del CONAHCYT (Consejo Nacional de Ciencias, Humanidades y Tecnología) ahora SECIHTI (Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación): 761776

La investigación de esta tesis generó las siguientes publicaciones:

- Sánchez-Contreras, M. I., Beltrán-Hernández, R. I., Lucho-Constantino, C. A., & López-Pérez, P. A. (2025) A kinetic dynamic model of a photobioreactor in batch operation for production as biofertilizer. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. Vol.24, No. 1. <u>https://doi.org/10.24275/rmiq/Bio24366</u> (Ver Anexo I).
- Sánchez-Contreras, M. I., Alvarado-Santos, E., Beltrán-Hernández, R. I. & López-Pérez, P. A. (2022). Algoritmo para la optimización de dimensiones de un fotobiorreactor de cara plana con relación área de iluminación/volumen definida. No. de registro 03-2022-121408564700-01 (Ver Anexo II)
- Sánchez-Contreras, M. I., López-Pérez, P. A., Lucho-Constantino, C. A., Arce-Cervantes, O., Hernández-Melchor, D.J. & Beltrán-Hernández, R. I. (2022). Escalamiento de un consorcio microbiano fotosintético nativo de un cultivo de maíz, (*Zea mays*) en FBR tipo columna de burbuja de 0.5 L a FBR de cara plana de 6 L. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*. Vol. 13. No. 2. Pág. 35. (Ver Anexo III)
- Sánchez-Contreras, M. I., Alvarado-Santos, E., Beltrán-Hernández, R. I. & López-Pérez, P. A. (2022). Optimización del criterio de escalamiento área de iluminación/volumen para un FBR utilizando programación no lineal. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*. Vol. 13. No. 2. Pág. 36. (Ver Anexo III)

Los resultados de eta investigación fueron presentados en los siguientes congresos (Ver Anexo IV):

- "Propagación de un consorcio microbiano fotosintético nativo obtenido de un cultivo de maíz (*Zea mays*) en FBR de 0.3 y 0.9 L en lote", XLIII Encuentro Nacional de la Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química A.C. realizado en Puerto Vallarta, Jalisco, del 23 al 26 de agosto de 2022.
- "Escalamiento de un consorcio microbiano fotosintético nativo de un cultivo de maíz, (*Zea mays*) en FBR tipo columna de burbuja de 0.5 L a FBR de cara plana de 6 L". Congreso de Biotecnología Algal (VII CLABA, V SOLABIAA) realizado en el Centro de Investigaciones biológicas del Noreste, S.C. en la ciudad de la Paz, B.C.S., del 22 al 25 de noviembre de 2022.
- "Optimización del criterio de escalamiento área de iluminación/volumen para un FBR utilizando programación no lineal". Congreso de Biotecnología Algal (VII CLABA, V SOLABIAA) realizado en el Centro de Investigaciones biológicas del Noreste, S.C. en la ciudad de la Paz, B.C.S., del 22 al 25 de noviembre de 2022.

# CONTENIDO

IND	ICE D	PE TABLASvi
IND	ICE D	PE FIGURAS
RES	UME	Nix
ABS	TRAC	х
1.	INTI	RODUCCIÓN1
2.	MA	RCO TEÓRICO
	2.1	Microorganismos fotosintéticos: Microalgas y Cianobacterias
	2.2	Consorcios microbianos fotosintéticos5
	2.3	Biofertilizantes y bioestimulantes 6
		2.3.1 Clasificación
		2.3.2 Beneficios del uso de biofertilizantes
		2.3.3 Producción
		2.3.4 Marcas de biofertilizantes comerciales en México10
		2.3.5 Uso de microalgas en biofertilizantes11
	2.4	Fotobiorreactores15
		2.4.1 Clasificación de los fotobiorreactores15
	2.5	Modelos matemáticos
		2.5.1 Modelos matemático-cinéticos en bioprocesos19
		2.5.2 Modelos cinéticos en producción microalgal21
3.	PLA	NTEAMIENTO DEL PROBLEMA
4.	JUS	TIFICACIÓN
5.	OBJ	ETIVOS
	5.1	Objetivo general
	5.2	Objetivos específicos
6.	MA	TERIALES Y MÉTODOS
	6.1	Sistema experimental
	6.2	Etapa 1. Microbiología
		6.2.1 Recolección de muestras en sitio
		6.2.2 Propagación de muestras recolectadas en sitio por lote en FBR 0.25 L
		6.2.3 Cinética de crecimiento del CMF por lote en FBR de 0.5 L de volumen operacional31
		6.2.4 Modelo cinético del CMF

	6.3 Etapa 2. Ingeniería de bioprocesos	. 33
	6.3.1 Optimización de la relación $Ai/Vo~$ como criterio de escalamiento	. 34
	6.3.2 Diseño del FBR flat panel airlift	. 34
	6.3.3 Diseño y configuración de los FBR: triangular, columna de burbuja y de laguna	. 35
	6.3.5 Cinética de crecimiento en FBR de 6 L	. 36
	6.3.4 Caracterización hidrodinámica de los FBR	. 37
	6.4 Etapa 3. Evaluación del potencial biofertilizante o bioestimulante del CMF	. 41
7. R	ESULTADOS Y DISCUSIÓN	. 43
	7.1 Recolección de muestras en sitio	. 43
	7.2 Observaciones al microscopio	. 44
	7.3 Propagación de muestras simples en FBR por lote de 0.25 L	. 44
	7.4 Cinética de crecimiento del CMF por lote en FBR de 0.5 L	. 52
	7.4.1 Biomasa	. 53
	7.4.2 NH4 <sup>+</sup>	. 55
	7.4.3 Clorofila a	. 57
	7.4.4 HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	. 58
	7.5 Modelo cinético del CMF	. 59
	7.6 Optimización de la relación $Ai/V$ como criterio de escalamiento	. 59
	7.7 Diseño del FBR flat panel	. 59
	7.8 Diseño y configuración de los FBR: FTri, FCB y FLG.	. 60
	7.9 Caracterización hidrodinámica y cinética de crecimiento en FBR de 5 L	. 61
	7.10 Evaluación del potencial biofertilizante/bioestimulante del CMF	. 73
8.	CONCLUSIONES	. 76
9.	REFERENCIAS	. 78
10.	ANEXOS	. 91

# INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los biofertilizantes por el mecanismo de acción.	8
Tabla 2. Ejemplos de consorcios microbianos utilizados como biofertilizantes.	9
Tabla 3. Empresas mexicanas productoras de biofertilizantes.	10
Tabla 4 (Continuación). Empresas mexicanas productoras de biofertilizantes.	11
Tabla 5. Cianobacterias y microalgas verdes como agentes promotores del crecimiento de las	
plantas y biofertilizantes.	13
Tabla 6. Equivalencia de parámetros de la norma MIL-STD 105D.	29
Tabla 7. Descripción general de la segunda etapa de propagación de las muestras.	31
Tabla 8. Variables para evaluar el desempeño biológico del consorcio.	32
Tabla 9. Características del inóculo.	33
Tabla 10. Parámetros de crecimiento para evaluar la productividad de los FBR.	36
Tabla 11. Parámetros hidrodinámicos evaluados en los FBR.	40
Tabla 12. Características del suelo utilizado en el experimento.	41
Tabla 13. Tratamientos de enraizado y fertilización aplicada a las plantas de fresa.	42
Tabla 14. Comparación macroscópica y microscópica del comportamiento de crecimiento de l	a MC
en medio BG11.	46
Tabla 15. Comparación macroscópica y microscópica del comportamiento de crecimiento de l	MR en
medio BG11 <sub>0</sub> .	46
Tabla 16. Etapas de crecimiento observables en medio de cultivo BG11 <sub>0</sub> para las muestras MCI	۲y
MCRA.	48
Tabla 17. Etapas de crecimiento observables en medio de cultivo BG11 para las muestras	
combinadas.	49
Tabla 18. Planos de construcción y modelos tridimensionales de los FBR de 5L.	60
Tabla 19. Parámetros hidrodinámicos calculados para el FCP y el FTRi.	66
Tabla 20. Características y condiciones de operacionales de los FBR.	67
Tabla 21. Concentración de biomasa de consorcios o cepas de Nostoc sp.	72
Tabla 22. Parámetros de crecimiento evaluados en los tres FBR.	73
Tabla 23.Consumo de energía de cada FBR.	73

# **INDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Aplicaciones de las cianobacterias en biotecnología Fuente: Kumar et al. (2019)5
Figura 2. Papel de los diferentes tipos de microorganismos en la agricultura sustentable (Singh,
2019)
Figura 3. Capacidad fijadora de nitrógeno de diferentes especies microbianas. Fuente: elaborado
con información de (Saritha & Tollamadugu, 2019)7
Figura 4. Descripción general de las etapas, área del conocimiento y actividades realizadas en el
proyecto
Figura 5. A. Imagen satelital del sitio de muestreo; B. Ubicación del cultivo de Maíz en relación con
los otros cultivos
Figura 6. Distribución de los fotobiorreactores para la propagación de las muestras. A. Boceto; B.
Real
Figura 7. Diagrama de flujo para el diseño del FBR flat panel para establecer el factor gamma
óptimo
Figura 8. Diagrama de flujo para calcular las dimensiones de los FBR triangular, columna de burbuja
y laguna con valor de gamma constante35
Figura 9. Ubicación del medidor de oxígeno disuelto. A. FCP; B. FTRi
Figura 10. División del área de iluminación del FLG para el cálculo de la ubicación de los centroides.
Figura 11. Espacios físicos de recolección de muestras. A. Raíz de la planta; B. Surco; C. Cárcamo de
bombeo43
Figura 12. Muestras recolectadas de diferentes matrices. A. Raíz; B. Cárcamo de bombeo, C. Suelo
Figura 13. Observaciones al microscopio con objetivo 10x: A. Cárcamo; B. Pared del cárcamo; C y D.
Suelo
Figura 14. Observaciones al microscopio con objetivo 40 x: A. Cárcamo; B. Pared del cárcamo; C y
D. Suelo
Figura 15. CMF presente en las muestras en medio de cultivo BG11: A. t <sub>0</sub> ; B. t <sub>14</sub>
Figura 16. Proporción de producción de biomasa en medio BG11 <sub>0</sub> : A. Muestras compuestas MC:
muestras de cárcamo. MR: muestras de raíz y suelo; B. Muestras combinadas MCR: muestras
de cárcamo, raíz y suelo. MCRA: muestras de cárcamo, raíz, suelo y agua anegada en los
surcos
Figura 17. Observaciones al microscopio del CMF en medio BG11 <sub>0</sub> en cada etapa de la
propagación: A: Inicial en FBR de 0.3 L; B: Segunda propagación en FBR de 0.3 L; C: Cultivo en
FBR de 0.5 L
Figura 18. Proporción de producción de biomasa en medio BG11: A. Muestras compuestas; B.
Muestras combinadas
Figura 19. Observaciones al microscopio del CMF en medio BG11 en cada etapa de la propagación:
A: Inicial en FBR de 0.3 L; B: Segunda propagación en FBR de 0.3 L; C: Cultivo en FBR de 0.9 L.
50 50 50 50 50 50 50 50 50 50 50 50 50 5
Figura 20. A. Absorbancias a 680 nm y relación de biomasa producida en medio de cultivo BG11: B.
Linea de tendencia, ecuación de regresión líneal y coeficiente de correlación
Figura 21. Proporción de producción de biomasa en medio de cultivo BG11 <sub>0</sub> con y sin pulso de
fuente de nitrógeno

Figura 22. Relación de producción de biomasa con inóculo en diferente fase de crecimiento en
medio de cultivo: A. BG11 <sub>0</sub> ; B. BG1152
Figura 23. A: Proporción de producción de biomasa de la muestra MCRA en ambos medios de
cultivo en FBR de 0.5 L; B: Comparación de la producción de biomasa muestra MCRA en FBR
de 0.3 L vs FBR de 0.5 L en medio BG1153
Figura 24. Relación de producción de biomasa del CMF en ambos medios de cultivo con un inóculo
en fase exponencial54
Figura 25. Producción de biomasa con diferentes inóculos y pulso de nitrato en el día 4 54
Figura 26. Concentración de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> en mg L <sup>-1</sup> en ambos medios de cultivo
Figura 27. Concentración de cloforila a producida por el CMF en ambos medios de cultivo
Figura 28. Concentración de carbono inorgánico (HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) en ambos medios de cultivo
Figura 29. FBR flat panel. A. Plano de construcción. B. Diseño tridimensional
Figura 30. Variación del <i>kLa</i> a diferentes flujos de aire para el FBR de cara de plana de 5 L
Figura 31. Variación del $kLa$ a diferentes flujos de aire para el FTRi en sistema bifásico y trifásico 62
Figura 32 Variación en las mediciones experimentales de OD en la cara ascendente del
fotobiorreactor: A. FCP, flujo de 3.5 L min <sup>-1</sup> ; B. FTRi, flujo de 3 L min <sup>-1</sup>
Figura 33. Comparación de producción de biomasa del CMF para el flujo de óptimo calculado y un
flujo mayor o menor. A. FCP; B. FTri63
Figura 34. Localización de los centroides en el área de iluminación del FGL para colocar los
sensores de medición del OD64
Figura 35. Figura 1. Variación promedio del k <sub>L</sub> a en el FLG con diferente velocidad de mezclado 65
Figura 36. Comparación de producción de biomasa del CMF en el FLG a diferentes velocidades de
mezclado65
Figura 37. Promedio de los tiempos de mezclado ascendente y descendente para el FCP y el FTRi. 66
Figura 38. Problemas de mezclado del FTRi con el flujo de aireación óptimo para un k <sub>L</sub> a estable 67
Figura 39. Crecimiento del CMF FCB 0.5 L y FCP 6 L: a) Biomasa, b) X <sub>t</sub> /X <sub>0</sub> 68
Figura 40. Comparación de la concentración de clorofila en FCB vs FCP68
Figura 41. Concentración de biomasa del CMF en los diferentes fotobiorreactores69
Figura 42. Comparación de la concentración de clorofila a en los tres FBR69
Figura 43. Seguimiento del cultivo del CMF en los tres FBR en el t_0 y t_370
Figura 44. Seguimiento de la coloración del CMF en los tres FBR (de izquierda a derecha: FCP, FTRi y
FLG) entre $t_3$ y $t_{12}$
Figura 45. Observaciones al microscopio del CMF; A. Inóculo t_0: B. FCP t_{14}; C. FTRi t_{14}; D. FLG t_{14}71
Figura 46. Concentración de biomasa del CMF en los diferentes fotobiorreactores: A. FCP; B. FTRi;
C. FLG
Figura 47. Desarrollo de las plantas. A: Volumen de la raíz; B: Relación de altura de planta (h <sub>t/</sub> h <sub>0</sub> ).
PMC: consorcio microbiano fotosintético, $h_t$ : altura de la planta en el tiempo t; $h_0$ : altura inicial
de la planta74
Figura 48. A. Cantidad de flores. B. Cantidad de frutos

#### RESUMEN

El uso de productos alternativos a los fertilizantes químicos ha incrementado en las últimas dos décadas, con la finalidad de mantener el rendimiento en la producción agrícola y mitigar los efectos adversos en el ambiente, principalmente en el suelo. Para mantener el rendimiento de los cultivos y favorecer la fertilidad del suelo, algunos biofertilizantes incluyen en sus formulaciones microorganismos fotosintéticos como son las cianobacterias, fotótrofos anoxigénicos y microalgas eucariotas. Sin embargo, estos tipos de biofertilizantes usan en su formulación cepas puras de microalgas o cianobacterias como complementos en abonos orgánicos, micorrizas, compostas y vermicompostas, las cuales son cultivadas en diferentes tipos de fotobiorreactores con condiciones operacionales establecidas.

El presente trabajo incluye el muestreo de un cultivo de maíz para el aislamiento y propagación de un consorcio microbiano fotosintético (CMF) nativo obtenido de muestras de suelo, agua de surco y cárcamo de bombeo. Dichas muestras fueron propagadas en FBR de 0.3 L V<sub>o</sub> en dos medios de cultivo BG11 y BG11<sub>o</sub>, cuya diferencia reside en la presencia de nitrógeno en forma inorgánica, para fomentar el desarrollo poblacional preferentemente de microalgas y cianobacterias respectivamente. Derivado de lo anterior se seleccionaron las muestras con MCRA en ambos medios para evaluar la cinética de crecimiento en FBR de 0.5 L V<sub>o</sub>. Considerando concentración de biomasa, clorofila *a*, ion amonio, intensidad de luz y oxígeno disuelto como variables de estado se generó un modelo cinético dinámico para el crecimiento del CMF en ambos medios de cultivo y permite predecir condiciones operacionales de FBR.

A la par, se seleccionaron, optimizaron, construyeron e instrumentaron tres FBR de 5 L V<sub>o</sub>, dos cerrados y uno abierto, considerando una relación área de iluminación/volumen como un parámetro de escalamiento. La caracterización hidrodinámica de los fotobiorreactores determinó las condiciones operacionales de cada uno de ellos, para poder evaluar la producción del CMF en medio BG11<sub>o</sub>, siendo el FBR abierto de laguna el de mayor producción y menor consumo energético.

De forma complementaria, se realizó un experimento con una duración de tres meses en maceta con plantas de fresa, adicionando el CMF como suplemento en diferentes concentraciones v/v juntamente con un fertilizante químico, para evaluar el efecto biofertilizante-bioestimulante en el cultivo. El tratamiento que presentó una floración más temprana y mayor producción de frutos fue el de 50% CMF- 50% FQ, lo cual indica el potencial del CMF nativo.

#### ABSTRACT

The utilization of alternative products to chemical fertilizers has increased in the last two decades to maintain yields in agricultural production and mitigate adverse effects on the environment, particularly the soil. To maintain crop yields and promote soil fertility, certain biofertilizers incorporate photosynthetic microorganisms, such as cyanobacteria, anoxygenic phototrophs, and eukaryotic microalgae in their formulations. However, these types of biofertilizers employ pure strains of microalgae or cyanobacteria in their formulation as complements in organic fertilizers, mycorrhizae, composts, and vermicomposts, which are cultivated in various types of photobioreactors with established operational conditions.

The present study involved the sampling of a maize crop for the isolation and propagation of a native photosynthetic microbial consortium obtained from soil, furrow water, and pumping tank samples. These samples were propagated in a PBRs of 0.3 L Vo in two culture media, BG11 and BG11<sub>0</sub>, whose difference lies in the presence of nitrogen in inorganic form, to promote the population development preferably of microalgae and cyanobacteria, respectively. Based on the aforementioned, samples with MCRA in both media were selected to evaluate growth kinetics in an FBR of 0.5 L Vo. Considering biomass concentration, chlorophyll a, ammonium ions, light intensity, and dissolved oxygen as state variables, a dynamic growth kinetic model was generated that describes the behavior of the PMC in both culture media and enables the prediction of FBR operating conditions.

Concurrently, three 5 L Vo PBRs were selected, optimized, constructed, and instrumented, two closed and one open, with the same lighting area/volume ratio to evaluate this factor as a scaling parameter. The hydrodynamic characterization of the photobioreactors determined the operational conditions of each of them to evaluate the production of the PBR in BG11<sub>0</sub> medium, with the open raceway demonstrating the highest production and lowest energy consumption.

Furthermore, an experiment was conducted with a duration of three months in a pot with strawberry plants, incorporating PMC as a supplement in different v/v concentrations together with a chemical fertilizer, to evaluate the biofertilizer-biostimulant effect on the crop. The treatment that exhibited earlier flowering and greater fruit production was that 50% PMC-50 %QF, which indicates the potential of native PMC.

#### 1. INTRODUCCIÓN

Los bioprocesos industriales se basan principalmente en cultivos puros, cepas puras y cepas modificadas genéticamente. Este enfoque del bioproceso aumenta los costos operativos y además presenta desventajas como la contaminación cruzada o la productividad limitada, en comparación con la utilización de consorcios microbianos. Además, el comportamiento se modifica con los cambios en las condiciones de operación y las tasas de crecimiento específicas. Por otro lado, los consorcios microbianos pueden mejorar el rendimiento de la producción, la resistencia a la contaminación y mitigar los cuellos de botella relacionados con la productividad (Llamas et al. 2023; Renuka et al. 2013; Zayadan et al. 2014).

En los ecosistemas de forma natural el 90% están formados por consorcios microbianos, lo que demuestra que el condicionamiento y la selección de consorcios tienen importantes aplicaciones en el mundo real a nivel de producción industrial. En general, los consorcios de microbianos artificiales son diseñados para aumentar la productividad en función de varios factores, incluidas diferentes materias primas, tipos de bioproductos, aplicaciones y selectividad. Por lo anterior, la primera etapa de esta investigación correspondiente al área de conocimiento de la microbiología se aisló y propago un CMF nativo (apartados 7.1-7.3) (Timofeeva et al. 2023).

La biomasa microalgal ha sido considerada como fuente alternativa de productos de alto valor. El cultivo a escala industrial de consorcios fotosintéticos se ha desarrollado típicamente en estanques al aire libre. Una de las áreas de investigación en el campo de microalgas es el diseño de fotobiorreactores para el cultivo de algas nativas para tener control sobre el crecimiento, los fenómenos hidrodinámicos de transferencia de calor y masa, así como las condiciones de cultivo. En la etapa dos de este trabajo de investigación se incursiona en la optimización y diseño de FBR con características operacionales establecidas para evaluar la productividad del CMF en dichas condiciones (apartados 7.7-7.9).

En las operaciones en bioprocesos a partir de biomasa es necesario considerar el modelado matemático y la simulación numérica para evaluar el efecto de diferentes condiciones de operación para monitorear y optimizar el sistema. El objetivo principal del modelado es reproducir y simular las condiciones óptimas de operación involucradas en la producción de biofertilizantes con el fin de mejorar la productividad y el rendimiento. La estructura cinética es importante en la ingeniería de reacciones bioquímicas para diseñar, optimizar, operar y controlar fotobiorreactores. En un modelo

cinético, la estimación de parámetros se realiza utilizando una variedad de procedimientos no lineales. En esta investigación además, de la optimización de los fotobiorreactores, se desarrolló un modelo cinético no lineal para describir el desempeño del CMF en FBR de 0.5 L V<sub>o</sub> (apartado 8.5) el cual permite determinar indirectamente las condiciones operaciones de otros FBR para conservar la producción de biomasa y clorofila *a*.

Por último, el uso de biomasa microalgal ha demostrado mejorar el crecimiento de las plantas, la fertilidad del suelo y reducir la dependencia de los fertilizantes sintéticos al proporcionar nutrientes esenciales y compuestos bioactivos, al tiempo que ofrece prácticas agrícolas, por ello esta investigación también incluyó evaluar el potencial biofertilizante-bioestimulante del CMF en un cultivo de fresa en maceta (apartados 7.10).

# 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Microorganismos fotosintéticos: Microalgas y Cianobacterias

Las microalgas y las cianobacterias son dos grupos de microorganismos fotosintéticos generalmente referidos como microalga, los cuales comparten similitudes, la capacidad de realizar fotosíntesis oxigénica, se encuentran en diversos entornos, incluso en ambientes extremos, se pueden cultivar de tres diferentes formas: autotrófico, con suministro de carbono inorgánico, heterotrófico, con una fuente de carbono orgánico y mixotrófico, cuando tiene ambas fuentes de carbono, no obstante, también presentan diferencias cruciales (Andersen, 2013; Patel et al., 2019; Legrand et al., 2021).

La fotosíntesis oxigénica en microalgas y cianobacterias es un proceso altamente eficiente y adaptable, en una compleja red de fotosistemas y vías de transporte de electrones para optimizar la conversión de energía y adecuarse a los cambios ambientales, contribuir a la producción de oxígeno y la fijación de carbono en la biosfera. Se lleva a cabo en dos fotosistemas principales: el fotosistema II (PSII) y el fotosistema I (PSI), los cuales trabajan juntamente con portadores de electrones para facilitar el flujo de electrones, esencial para la síntesis de ATP y NADPH. El proceso comienza con la absorción de la luz por los pigmentos clorofílicos, que abundan en estos organismos y desempeñan un papel crucial en la captación de la energía luminosa (Peltier & Shikanai, 2016; Nikkanene et al., 2021; Jacob-Lopes et al., 2020).

La estructura celular de las microalgas es eucariota, lo que significa que sus células contienen núcleos definidos. Aunque a menudo se asocian con ambientes acuáticos, las microalgas también pueden encontrarse en ecosistemas terrestres. Son fotoautótrofas, por lo que dependen de la luz solar y el dióxido de carbono para su crecimiento. Algunas microalgas se cultivan para su uso como alimento en acuicultura y como fuente de biocombustibles (Whitton & Potts 2012).

Las microalgas desempeñan un papel crucial en la ecología de suelos, por lo que tienen un impacto significativo en la salud y la calidad del suelo. Realizan la fotosíntesis capturando dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) de la atmósfera y convirtiéndolo en materia orgánica. Esto ayuda a mitigar el cambio climático, ya que almacenan carbono en el suelo. Además, liberan exudados orgánicos que enriquecen el suelo con nutrientes como nitrógeno, fósforo y azufre, y de esta forma influyen en los ciclos biogeoquímicos de nutrientes, como la mineralización y la nitrificación (Gonçalves et al. 2023).

Se ha comprobado que las microalgas forman una biopelícula en la superficie del suelo, que lo protege contra la erosión causada por el viento y la lluvia, además permite estabilizar el pH del suelo

y prevenir la pérdida de nutrientes en áreas donde se práctica la agricultura intensa. También se ha observado que mejoran la estructura del suelo, y cuando se usan como biofertilizante, además de acondicionarlo mejoran su capacidad de retención de agua. Todos los efectos anteriores de las microalgas sustentan su uso para la restauración de suelos (Alvarez et al. 2021; Abinandan et al. 2019).

Las microalgas llegan a formar simbiosis con las raíces o tallos de las plantas, a las cuales les proporcionan nutrientes, mejoran su resistencia al estrés. Asimismo, funcionan como base de las cadenas alimenticias en los suelos al ser organismos autótrofos que sirven de alimento a de otros microrganismos del suelo (Gonçalves, et. al. 2023).

Las cianobacterias son procariotas, ya que carecen de núcleo definido, por lo que su información genética se encuentra en el citoplasma. También son conocidas como algas verde-azules o cianofíceas comunes en ambientes acuáticos, desde océanos hasta lagos y ríos, y también en ambientes terrestres, donde desempeñan un papel fundamental. Realizan fotosíntesis oxigénica, a través de la cual liberan oxígeno al ambiente, que contribuye significativamente a la atmósfera terrestre. Además, tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico en formas utilizables por otros organismos. Esto es crucial para la nutrición de plantas y otros seres vivos. En el caso de las plantas, acuáticas y terrestres, establecen relaciones de simbiosis para proporcionales el nitrógeno.

Además, las cianobacterias son una fuente importante de alimento para organismos acuáticos, como zooplancton, moluscos y peces, lo que las convierte en parte de la base de la cadena alimentaria en los océanos. Sin embargo, en algunos cuerpos de agua, las cianobacterias pueden proliferar en exceso debido a la eutrofización. Esto puede dar lugar a floraciones de algas, que afectan negativamente la calidad del agua y la biodiversidad. Algunas cianobacterias pueden producir toxinas, como microcistinas y saxitoxinas. Estas toxinas pueden afectar la salud humana y la de otros animales si consumen agua contaminada con ellas (Abinandan et. al. 2019).

Por otra parte, algunas cianobacterias son extremófilas, capaces de sobrevivir en condiciones extremas como alta salinidad, altas temperaturas y pH extremadamente bajo. Su presencia en ambientes extremos, como desiertos, lagos salinos y fuentes termales, es crucial para la estabilidad de esos ecosistemas. Las características de las cianobacterias las han hecho útiles para su uso en diversas aplicaciones biotecnológicas, algunas de las cuales se muestran en la Figura 1.

4



Figura 1. Aplicaciones de las cianobacterias en biotecnología Fuente: Kumar et al. (2019)

Uno de los aspectos fascinantes de las cianobacterias son las aplicaciones en la agricultura ya que fungen como estimuladores de la actividad microbiana en el suelo, esto lo logran manteniendo el carbono orgánico y la disponibilidad de los nutrientes, lo que aumenta de la fertilidad, así como la producción de los suelos (Renuka et al., 2018).

En resumen, aunque las microalgas y las cianobacterias comparten la capacidad realizar la fotosíntesis las primeras son eucariotas y más versátiles en su distribución, mientras que las segundas son procariotas y desempeñan un papel crucial en la ecología acuática, también difieren en la forma de asimilar carbono inorgánico (Beardall & Raven, 2016).

### 2.2 Consorcios microbianos fotosintéticos

Un CMF es una comunidad de microorganismos que trabajan juntos para llevar a cabo la fotosíntesis con metabolismo complementario y/o acoplado. Estos consorcios pueden incluir cianobacterias, microalgas u otros microorganismos fotosintéticos, los cuales principalmente colaboran en la producción de energía a partir de la luz solar. Las cianobacterias son frecuentemente los principales contribuyentes, pero también pueden incluir microalgas, bacterias fotosintéticas y otros organismos con los cuales pueden establecer simbiosis como los helechos y los musgos.

La importancia de los CMF en el suelo radica en que contribuyen a la fijación de carbono y nitrógeno almacenando energía en forma de carbohidratos, además de enriquecer el suelo con nutrientes

mejorando la fertilidad y la salud del sistema. Por ello, una de sus principales aplicaciones es como biofertilizantes (Mazhar et al., 2019).

#### 2.3 Biofertilizantes y bioestimulantes

Pensar en la producción agrícola de algunos cultivos sin la existencia del suelo, es inimaginable ya que es uno de los factores más importantes para la producción y el rendimiento del cultivo. Porque los organismos contenidos en él, además de reciclar nutrientes, los hacen accesibles para las plantas y evitan la pérdida de estos (Bhatt & Nailwal, 2018). Aunque la hidroponía, al ser una técnica de cultivo en ambientes controlados, permite la producción vegetal sin suelo, principalmente de plantas de tipo herbáceo, no así de otro tipo de vegetales o cereales (López-Anchondo et al.,2016).

Aunado a las malas prácticas, los malos usos del suelo han dado lugar a problemas ecológicos. Los biofertilizantes con microorganismos, que son parte integral de los ecosistemas y proporcionan los nutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas mediante el intercambio de sustancias orgánicas, parecen ser una mejor opción que los fertilizantes químicos (Kapoore et al., 2020).

La composta y los abonos orgánicos han sido utilizados desde tiempos antiguos como parte de las prácticas agrícolas, debido a que contienen grandes cantidades de nutrientes para las plantas, sustancias orgánicas y humus. Lo anterior no solo es positivo para el cultivo, ya que mejora las condiciones físicas del suelo, aportan humedad y ayudan a retenerla, lo cual se ve reflejado en la calidad del suelo (Meena & Busi, 2019).

Dado que la producción de comida orgánica, sana y sostenible depende de los microorganismos del suelo (los cuales se consideran uno de los principales componentes presentes de la rizosfera, microhábitat de estos), es importante determinar la cantidad y tipo de microorganismos presente en los fertilizantes orgánicos (Singh, 2019).

Los microorganismos presentes en un consorcio se pueden clasificar en dos grupos: el primero, que comprende los que proveen a la planta de sustancias que favorecen a su crecimiento y el segundo, en el que se encuentran aquellos con la capacidad de disminuir los efectos de microorganismos patógenos. Estos grupos no son mutuamente excluyentes, ya que algunos tienen ambas funciones (Armenta-Bojórquez et al., 2010).

Microorganismos como los hongos, las bacterias diazotróficas y rizobacterias promotoras del crecimiento (PGBR, por sus siglas en inglés) tienen importancia relevante en la reducción de la toxicidad y en las funciones del ecosistema para plantas y suelos (Singh, 2019).

Los microorganismos beneficiosos para el crecimiento de las plantas son los que desempeñan las siguientes funciones: 1) promueven el crecimiento de la planta, 2) descomponen de sustancias orgánicas y 3) protección contra agentes patógenos. En la Figura 2 se enlista cada una de las categorías microbianas, así como las acciones de mejora que proporcionan al cultivo (Singh, 2019).



Figura 2. Papel de los diferentes tipos de microorganismos en la agricultura sustentable (Singh, 2019)

Los biofertilizantes de tipo microbiano están compuestos por al menos un microorganismo, el cual tiene una función específica, relacionada básicamente con dos procesos la solubilización del fósforo o la fijación del nitrógeno. En la Figura 3 se muestra la capacidad máxima fijadora de nitrógeno de diferentes inóculos utilizados en algunos biofertilizantes.



Figura 3. Capacidad fijadora de nitrógeno de diferentes especies microbianas. Fuente: elaborado con información de (Saritha & Tollamadugu, 2019)

#### 2.3.1 Clasificación

Existen diferentes formas de clasificar a los biofertilizantes microbianos, una de ellas es de acuerdo con el tipo de acción que tienen como se muestra en la Tabla 1. La mayoría de los biofertilizantes comerciales actuales tienen acción indirecta ya que proporcionan los nutrientes necesarios para el cultivo indistintamente de este, sin embargo, los de acción directa están en desarrollo e investigación con la finalidad de identificar las aportaciones a la germinación, desarrollo o crecimiento del cultivo, que agreguen valor incrementando su calidad nutrimental.

Tipo de acción	Obtención de los microorganismos	Mecanismo de acción
Directa	Habitan en algún componente de la planta	Fijación biológica de nitrógeno
Indirecta	Cepas generales	Movilización de fosfatos Bacterias promotoras del crecimiento

#### Tabla 1. Clasificación de los biofertilizantes por el mecanismo de acción.

Fuente: Mohammadi & Sohrabi (2012)

#### 2.3.2 Beneficios del uso de biofertilizantes

El uso de biofertilizantes en los campos agrícolas es una de las estrategias principales para lograr la producción máxima de cultivos sin pérdidas económicas, debido a que aumentan el rendimiento, mejoran el crecimiento de las plantas y dan fertilidad al suelo. De ahí que se consideren benéficos en los tres componentes del sistema agrícola, suelo, cultivo y ambiente (Kumar et al., 2019).

Los biofertilizantes son beneficiosos para mejorar la productividad de los cultivos a través de diversos medios, como el aumento de la biomasa microbiana, la mejora de la disponibilidad o absorción de nutrientes mediante la solubilización y la promoción del crecimiento de las plantas mediante la acción hormonal o antibiosis. Además, los biofertilizantes pueden sustituir parcialmente a los fertilizantes químicos, reduciendo su uso y la contaminación ambiental asociada (Mohammadi & Sohrabi, 2012).

#### 2.3.3 Producción

Uno de los aspectos importantes al momento de desarrollar un biofertilizante es el tipo de consorcio a utilizar, ya que se pueden tener diferentes combinaciones de microorganismos, por ejemplo: cultivos mixtos integrados por hongo-bacteria, bacteria-bacteria, micorriza-bacteria o alga-bacteria así como interacciones entre ellos. Siempre debe asegurarse que una población aporte un microorganismo fijador de nitrógeno y la otra un microorganismo que solubiliza fósforo, ya que estos dos macroelementos son de mayor importancia para el rendimiento de los cultivos.

Consorcio microbiano	Características		Cultivo	Referencia
Funneliformis mosseae. Bacillus sonorensis	Forma de obtención	Se selecciona de una investigación previa del mismo autor.	Chile (Capsicum annuum)	Thilagar et al. (2016)
	Método de inoculación	Se hizo una mezcla de ambos microrganismos en diferentes proporciones.		
	Acondicionamiento para aplicación en cultivo	10 g de mezcla seca se aplicaron en cada parcela		
Azospirillum spp. Azoarcus spp. Azorhizobium spp.	Forma de obtención	Mezcla comercial de Mapleton Agri Biotec	Trigo blando (Triritcum aestivum L.)	Cortivo et al. (2020)
	Método de inoculación	El inóculo liofilizado de mezcló con agua ultrapura Se mezclo 0.02 g Kg <sup>-1</sup> de semillas		
	aplicación en cultivo			
HMA Rhizophagus	Forma de obtención	Mezcla commercial de Biosum Technology	Trigo blando (Triritcum	Cortivo et al. (2020)
irregularis. Bacillus	Método de inoculación	El inóculo liofilizado de mezcló con agua ultrapura	aestīvum L.)	
megaterium. Frateuria aurantia	Acondicionamiento para aplicación en cultivo	0. 375 g Kg <sup>-1</sup> de semillas		
Consorcio microbiano aislado de "La Sepultura"	Forma de obtención	Combinación de muestras de tres productores y de área natural protegida Reserva de la Biosfera "La Sepultura"	Maíz (Zea mays)	Rosabal et al.(2023)
Chiapas, México	Método de inoculación	Reproducción en estado sólido y activados en estado líquido en condiciones anaeróbicas.		
	Acondicionamiento para aplicación en cultivo	Se aplicó directamente al suelo a pie de planta a los 20, 40 y 60 días después de la plantación a razón de 10 mL por planta.		
Sin especificar	Forma de obtención	Combinación de seis bacterias aislados del ambiente	Frijol mungo ( <i>Vigna radiata</i>	Halderet al. (2020)
	Método de inoculación	Se seleccionó el consorcio con mayor cantidad de amonio producido.	var. MEHA)	
	Acondicionamiento para aplicación en cultivo	Se acondicionó una un efluente de aguas residuales y se aplicó al cultivo en forma líquida		

Tabla 2. Ejemplos de consorcios microbianos utilizados como biofertilizantes.

En la Tabla 2 se muestran algunos ejemplos de biofertilizantes con diferentes tipos de consorcios microbianos reportados en algunas investigaciones, los cuales pueden incluir desde su identificación, la fuente de donde fueron extraídos hasta el tipo de cultivo en el que fueron aplicados.

# 2.3.4 Marcas de biofertilizantes comerciales en México

En México en el año de 1999, se implementó el Programa Nacional de Biofertilizantes, sin embargo, este no ha tenido el impulso necesario para establecer las bases de una agricultura sustentable (Notimex, 2018). En la Tabla 3 y 4 se hace un listado de las empresas mexicanas que anuncian tener entre sus productos biofertilizantes, sin embargo, algunos de esos productos son más bien productos orgánicos como abonos enriquecidos.

Todos los biofertilizantes producidos por empresas mexicanas son del tipo de acción indirecta ya que contienen uno o varios microorganismos de acción general, los cuales ofertan mayor cantidad disponible de nitrógeno, fósforo entre otros nutrientes, así como la mejora de las condiciones del suelo a largo plazo, para evitar la salinidad del suelo.

Empresa	Productos	Microorganismo	Cultivo
Biofabrica siglo XXI <sup>1</sup>	AzoFer© MicorrizaFer© RhizoFer© MaxiFer©	Azospirillum brasilense (Bacteria) Glomus intraradice (Hongo) Rhizobium étli (Bacteria) Azospirillum brasilense (Bacteria)	Cultivos perennes y plantas de ornato Todo tipo de cultivos Leguminosas Todo tipo de cultivos
BIO-FOM <sup>2</sup>	BIO-FOM	Consorcio polifuncional 8 bacterias y hongo microrrizico	Todo tipo de cultivos
AgriBest <sup>3</sup>	BiorganikBomb	Microorganismos que fomentan la liberación de fósforo	Granos, cereales, forrajes, frutales, leguminosas, ornamentales.
Novedades agrícolas DASA <sup>4</sup>	Nutripellet	Aspergillus sp., Penicillum sp., Trichoderma sp., Glomus sp. Streptomycetes sp., Gliocladium sp., Paecilomyces sp, Nematoctonus Sp., Dactylaria sp. Bacillus spp., Nitrobacter sp. Bacillus subtillus. Pseudomonas flourescens, Pseudomonas chloraphis	Hortalizas, granos, aguacate y frutillas.

Tabla 3. Empresas mexicanas productoras de biofertilizantes.

Empresa	Productos	Microorganismo	Cultivo
Agronutrimentos espercializados <sup>5</sup>	Natur-Abono	Trichoderma harziadum, Trichoderma virens, Metarhizum anisopliae, Bacillus thuringiensis Bacillus subtilus, Bacillus polymixa, Beauveria bassiana Entrophospora colombiana, Glomus intraradices, Paecilomyces fumosoroseus	Caña de azúcar, jitomate, pimentón, maíz, papa, cebolla, aguacate, sorgo, canela
Bioqualitum <sup>6</sup>	BactoCROP	Géneros Bacillus y Azospirillum Micorrizas del género Glomus	Hortalizas (chile, cebolla, ajo, brócoli, tomate) Temporal (maíz, sorgo, alfalfa, cebada, trigo). Frutales (aguacate, durazno, manzano, peral, vid). Ornamentales (nochebuena, rosas) No específico

Tabla 4 (Continuación). Empresas mexicanas productoras de biofertilizantes. Microorgoniemo

<sup>1</sup> https://biofabrica.com.mx/

<sup>2</sup> https://www.biofom.com.mx/

<sup>3</sup> https://agribestmx.com/

<sup>4</sup> <u>https://novedadesdasa.com/</u>

<sup>5</sup> https://www.agronutrimentos.com.mx/

<sup>6</sup> <u>https://www.bioqualitum.com/</u>

#### 2.3.5 Uso de microalgas en biofertilizantes

El grupo algae está conformado por organismos fotosintéticos que incluyen algas verdes eucariotas y cianobacterias, procariotas gram negativas. Este grupo tiene un gran potencial de aplicación en la industria de los biocombustibles, alimentación, productos farmacéuticos entre otros (Renuka et al., 2018; Prasanna et al., 2021).

Uno de los aspectos fascinantes de este grupo microbiano son las aplicaciones en la agricultura ya que como se mencionó, fungen como estimuladores de la actividad microbiana en el suelo manteniendo el carbono orgánico, la disponibilidad de los nutrientes y el aumento de la fertilidad, así como de la producción (Renuka et al., 2018; Prasanna et al., 2021).

Para mejorar el rendimiento de los cultivos y mantener la fertilidad del suelo algunos biofertilizantes incluyen en sus formulaciones organismos fotosintéticos como las cianobacterias, fotótrofos anoxigénicos y microalgas eucariotas (Li et al., 2017). La participación de estos microorganismos se da principalmente en la movilización de compuestos orgánicos e inorgánicos, mineralización y producción de compuestos bioactivos, así como micro y macro nutrientes, todos ellos involucrados en mejorar el crecimiento de la planta (Prasanna et al., 2016).

Otra característica importante que presentan en particular las cianobacterias es el potencial de biocontrol por tener un efecto antagonista contra algunos patógenos como nemátodos, hongos y bacterias. Esto se debe a la producción de enzimas hidrolíticas y algunos compuestos biocidas). La inmunidad de las plantas mejora contra los agentes patógenos a la vez que aumenta su crecimiento y el rendimiento del cultivo. Al inocular las plantas con microalgas los procesos metabólicos se modifican provocando una actividad de defensa en las plantas, ya sea por la producción de enzimas, agentes quelantes transportadores, entre otros (Chaudhary et al., 2012; Gupta et al., 2013).

Se ha documentado el potencial de las cianobacterias para mejorar el crecimiento de las plantas, rendimiento de los cultivos, modulación de la actividad microbiana del suelo y los aportes nutricionales, ejemplo de algunos de ellos se muestra en la Tabla 5. Es importante mencionar que las investigaciones aquí referidas establecen la eficiencia y efectividad del consorcio como biofertilizante a nivel laboratorio en la mayoría de los casos y la utilización a nivel agronómico.

Los consorcios microbianos microalgales han surgido como alternativas prometedoras a los fertilizantes químicos tradicionales, ofreciendo una solución sostenible y ecológica para mejorar la productividad de los cultivos. Estudios recientes han demostrado la eficacia de la biomasa microalgal como biofertilizante; particularmente cuando se cultiva en aguas residuales. Las formulaciones que utilizan microalgas unicelulares y filamentosas han mostrado mejoras significativas en el contenido de nutrientes del suelo y los parámetros de crecimiento de las plantas en los cultivos de trigo. Estos tratamientos no solo aumentaron la disponibilidad de nitrógeno, fósforo y potasio en el suelo, sino que también mejoraron el carbono de la biomasa microbiana y el peso seco de las plantas, lo que aumento el rendimiento y la calidad del grano (Garcia-Gonzalez & Sommerfeld, 2016; Renuka et al. 2018; Prasanna et al., 2021).

La relación sinérgica entre las microalgas y las cianobacterias amplifica aún más el potencial de estos consorcios para aplicaciones agrícolas. Las microalgas, conocidas por sus altos rendimientos de biomasa y su capacidad de absorción de nutrientes, pueden formar asociaciones simbióticas con organismos diazótrofos que fijan el nitrógeno atmosférico. Esta relación puede crearse artificialmente para mejorar los procesos biotecnológicos, incluida la producción de biofertilizantes. Dichos consorcios pueden realizar tareas complejas que son desafiantes para las especies

12

individuales, esto reduce los costos de producción y aumenta la viabilidad económica de la biomasa de microalgas como biofertilizante (Llamas et al., 2023).

Cianobacteria/Microalga verde	Cultivo	Efectos	Referencia
Consorcio de cepas de Anabaena y Nostoc	Arroz	Rendimientos mejorados del cultivo y fertilización del suelo.	Goyal et al. (2019)
Anabaena doliolum HH-209, Cylindrospermum sphaerica	Mijo en grano y trigo	Mejoras en la mineralización del nitrógeno y carbono, así como mayor crecimiento y rendimiento de la planta	Nisha et al. (2007)
Azotobacter/Mesorhizobium Anabaena-	Garbanzo y okra	Absorción mejorada de micro y macronutrientes	Prasanna et al. (2013)
Calothrix elenkinii	Arroz	Mayor producción de hormonas de crecimiento de la planta. Incremento de la actividad hidrolítica.	Priya et al. (2015)
Calothrix ghosei, Hapalosiphon intricatus, Nostoc sp	Avena	Rendimiento mejorado del grano e incremento en el crecimiento de las plantas.	Karthikeyan et al. (2007)
Acutodesmus dimorphus	Tomate	Aumento en la tasa de germinación y crecimiento de la planta.	Gomiero et al. (2011)
Chlorella sp-Bacteria	Maíz	Aumento del carbono orgánico en el suelo y mejora la estabilidad de los micro y macronutrientes reteniéndolos en el suelo	Yilmaz & Sönmez (2017)
Chlorella vulgaris	Maíz y avena	Aumento en la tasa de germinación de las semillas y crecimiento de las plantas	Uysal et al. (2015)
ZOB-1 (Anabaena variabilis, Chlorella vulgaris, Azotobacter sp.)	Arroz	Mejora de la germinación y el crecimiento de las plantas de arroz.	Zayadan et al. (2014)

Tabla 5. Cianobacterias y microalgas verdes como agentes promotores del crecimiento de las plantas y biofertilizantes.

La evidencia experimental respalda el uso de biomasa de microalgas como biofertilizante para diversos cultivos. Por ejemplo, se han utilizado extractos celulares acuosos de *Chlorella variabilis* y *Scenedesmus obliquus* cultivados en aguas residuales lecheras para promover el crecimiento del maíz y la soja. Estos tratamientos dieron como resultado un aumento de las tasas de crecimiento, un mayor contenido total de compuestos fenólicos y flavonoides, y una mejor actividad antioxidante y contenido mineral en las plantas, lo que demuestra el potencial de los consorcios de microalgas para mejorar la productividad y la calidad de los cultivos (Loganathan et al., 2020).

La aplicación de extractos de microalgas como bioestimulantes a través del tratamiento de semillas y la pulverización foliar han mostrado resultados prometedores en el cultivo de tomate. Se ha descubierto que los extractos de consorcios microalgales, estimulan una germinación y un crecimiento de las plantas, lo que conduce a una mayor longitud de los brotes y las raíces, un alto contenido de clorofila y acumulación de biomasa. Estos hallazgos sugieren que los extractos de microalgas pueden servir como alternativas, económicas y respetuosas con el medio ambiente, a los fertilizantes sintéticos. (Supraja et al., 2020).

Además de su papel como biofertilizantes, los consorcios de microalgas pueden aumentar la salud del suelo al mejorar la diversidad microbiana y la composición de la comunidad en la rizosfera. Los estudios sobre el cultivo de pepino han demostrado que las aplicaciones de biomasa de microalgas promueven significativamente el crecimiento de las plantas y alteran la comunidad microbiana de la rizosfera. Esto indica que los biofertilizantes de microalgas no solo apoyan directamente el crecimiento de las plantan un entorno microbiano beneficioso en el suelo, lo que contribuye aún más a las prácticas agrícolas sostenibles (Lv et al., 2020).

El proceso de crecimiento de los consorcios de microalgas es otra ventaja de su utilización como biofertilizantes. Las microalgas se pueden cultivar utilizando aguas residuales, que no solo proporcionan una fuente de nutrientes rentable, sino que también ayudan en el tratamiento de aguas residuales. Este doble beneficio de la recuperación de nutrientes y la mitigación de la contaminación hace que los biofertilizantes de microalgas sean una opción ambientalmente sostenible (Castro et al., 2020; Khan et al., 2023).

La combinación de biofertilizantes de microalgas con fertilizantes químicos tradicionales puede reducir la necesidad general de insumos químicos. Por ejemplo, una combinación de biomasa de microalgas y fertilizantes químicos en el cultivo de arroz dio como resultado un rendimiento mayor en la producción de grano. La producción de biofertilizantes a partir de biomasa de microalgas es económicamente viable, especialmente cuando se integra con enfoques de biorrefinería que producen biodiésel y otros productos de alto valor. Este enfoque integrado puede compensar los costos de producción y proporcionar ingresos adicionales (Romero-García et al., 2022; Naya et al., 2019; Khan et al., 2023).

Aunque los beneficios de los biofertilizantes de microalgas son claros, el aumento de la producción para satisfacer las demandas comerciales sigue siendo un desafío. Los altos requisitos de nutrientes y agua, junto con los procesos posteriores de recuperación y separación de la biomasa microalgal que consumen mucha energía, deben abordarse para que esta tecnología sea comercialmente sostenible. Por ello, realizar investigación para optimizar la cadena de producción de microalgas, incluyendo la optimización del bioproceso de producción, el uso de fuentes de energía renovables y métodos eficientes de secado de biomasa, ayudará a reducir el impacto ambiental y mejorar la sostenibilidad general de los biofertilizantes de microalgas (Castro et al., 2020; Parmar et al., 2023).

### 2.4 Fotobiorreactores

Son dispositivos diseñados para el cultivo masivo de microrganismos fotótrofos como las microalgas y las cianobacterias. Estos dispositivos tienen como característica principal permitir el paso de los fotones a través de las paredes transparentes del reactor para suministrar la principal fuente de energía para el crecimiento de los organismos fotótrofos (Tredici, 2010; Doppler & Spadiut, 2021). El intercambio directo de gases, líquidos y partículas entre el cultivo y la atmósfera está determinado por el diseño y condiciones operacionales requeridas para la obtención de los productos y subproductos. Por ello, la función principal de un fotobiorreactor es mantener un entorno controlado y estable para el crecimiento de estos microorganismos (Zitelli et al., 2012; Carvalho et al., 2014; Doppler & Spadiut, 2021).

En la eficiencia de un FBR influyen numerosos factores. Entre ellos, los elementos biológicos como la contaminación por bacterias, hongos o protozoos, e incluso especies de microalgas no deseadas. Los aspectos fisicoquímicos como el suministro de energía luminosa, la regulación de la temperatura, los niveles de pH, la salinidad y la disponibilidad de nutrientes esenciales para el crecimiento, en particular el carbono inorgánico, desempeñan un papel crucial en el rendimiento (Legrand et al., 2021).

### 2.4.1 Clasificación de los fotobiorreactores

Los fotobiorreactores se pueden clasificar con base en el diseño y el modo de operación. Con base en el diseño las categorías son: 1) cara plana o tubular; 2) horizontal, vertical, inclinado o en espiral; 3) pliegue principal o serpenteado; 4) híbrido; 5) flotante; y 6) capa delgada. En función de las condiciones operacionales se clasifican en: 1) aireados y mezclados por bombeo y 2) reactores de una sola fase o de dos fases (dependiendo si la transferencia de gas se realiza en una cámara separada o si están en contacto directo tanto la fase líquida como la fase gaseosa (Zittelli et al., 2012; Dailami et al., 2022). Considerando el contacto directo o no con la atmosfera, los fotobiorreactores también se clasifican en: abiertos y cerrados. Los primeros son sistemas en los que el cultivo está en contacto directo con la atmósfera, y tienen como ventaja ser económicos y fáciles de construir en grandes volúmenes. Aunque se ha reportado una productividad baja por unidad de superficie, los fotobiorreactores abiertos, son ideales para especies robustas y de rápido crecimiento. En esta clasificación se incluyen los *open ponds* (estanques abiertos) y los raceways (estanques con canales con agitación) (Zitteli, 2012; Costa & Morais, 2013; Ahmad et al., 2021).

Los *open ponds* al ser estanques simples que contienen en el medio de cultivo los nutrientes adecuados, carecen de mezclado, por lo tanto, deben tener alturas bajas para que la luz solar, que es la principal fuente de energía de los microorganismos fotosintéticos, incida a través de todo el fotobiorreactor. Cuando esto último no ocurre, se tienen zonas obscuras en la profundidad y la concentración de biomasa disminuye. En general, los *open ponds* son sistemas con baja producción de biomasa por carecer de mezclado, pero el proceso es económico. Los *raceways*, a diferencia, sí tienen agitación y mezclado, proporcionados por las paletas de agitación, para mantener el cultivo en suspensión y suministrar aire eficientemente, también permiten un cierto control del pH (Costa & Morais, 2013; Narala et al., 2016; Ahmad et al., 2021).

Los fotobiorreactores abiertos, como los estanques de canalización, se utilizan ampliamente para la producción a gran escala debido a su simplicidad bajo costo, además de que son rentables, fáciles de construir y mantener. Estos sistemas se caracterizan por una gran relación superficie-volumen, que facilita la penetración de la luz y el intercambio de gases. Sin embargo, sufren importantes inconvenientes, como la susceptibilidad a la contaminación por microorganismos no deseados, las altas tasas de evaporación del agua y la dependencia de las condiciones climáticas, lo que puede dar lugar a una tasa de producción inestable limitando su eficiencia y confiabilidad (Kunjapur & Eldridge 2010; Yen et al., 2019; Tan et al., 2020; Devi et al., 2021)

Los fotobiorreactores cerrados ofrecen un entorno más controlado, lo cual es crucial para la producción de productos de alto valor, como productos farmacéuticos, nutracéuticos y cosméticos. Estos sistemas permiten un control preciso de la temperatura, el pH, la intensidad de la luz y el suministro de nutrientes, lo que puede mejorar significativamente el crecimiento y la productividad de las microalgas. (Pulz, 2001; Deprá et al., 2019, Tan et al., 2020).

Los fotobiorreactores cerrados mantienen el cultivo aislado del medio ambiente exterior, están equipados con sistemas de agitación, aireación, control del pH y adición de nutrientes, por lo tanto, ofrecen mayor control de las condiciones, pero también mayor costo. Se utilizan para la producción de microalgas con fines biotecnológicos, como biocombustibles, cosméticos y complementos alimenticios, ya que se pueden mantener en condiciones estériles (Xu et al., 2009; Chanquia et. al. 2021).

Uno de los fotobiorreactores cerrados más utilizados son los de cara plana (*flat panel*), los cuales ofrecen la posibilidad de construcción, durabilidad y estabilidad porque son rígidos. Presentan la ventaja de poder acomodar varios en extensiones horizontales con una separación entre ellos considerablemente menor y lograr un mayor aprovechamiento del área de producción del cultivo e incrementar las eficiencias fotosintéticas (Moheimani et al., 2011; Ahmad et al., 2021).

El burbujeo de aire en este tipo de fotobiorreactores se puede ajustar con el objetivo de asegurar una mezcla homogénea del medio, así como una turbulencia adecuada, una buena capacidad de transferencia de masa y evitar la acumulación de biomasa microalgal en las paredes. Sin embargo, el costo del suministro de energía puede ser alto, especialmente si se compara con el costo operativo de un fotobiorreactor de laguna mezclado (Bassi et al., 2010; Tan et al. 2020).

Los fotobiorreactores también se pueden clasificar por el material utilizado en su construcción: 1) vidrio o plástico y 2) rígido o flexible. Después de que en el año 2000 fuera patentado el *flat panel airlift*, a nivel industrial, es el más utilizado, además de ser el más innovador de los fotobiorreactores rígidos. Es un reactor básicamente de plástico rígido, dividido en dos secciones de forma transversal, lo cual permite tener una zona ascendente y otra descendente (Xu et al., 2009). Se han desarrollado varios diseños para mejorar la distribución de la luz y la eficiencia. Por ejemplo, los fotobiorreactores acrílicos luminiscentes pueden convertir los espectros de luz para optimizar las condiciones de crecimiento (Mohsenpour y Willoughby, 2013).

El diseño de fotobiorreactores desempeña un papel fundamental en la producción eficiente y rentable de microalgas y cianobacterias. Los sistemas abiertos son favorecidos debido a su bajo costo y simplicidad, pero están limitados por factores ambientales y riesgos de contaminación. Los sistemas cerrados ofrecen un control superior y una mayor productividad, pero a un costo más alto. Los diseños híbridos presentan un término medio viable que combina los beneficios de los sistemas abiertos y cerrados para mejorar la productividad y administrar los costos. Se espera que los avances

17

continuos en el diseño y la tecnología de FBR mejoren la viabilidad y la escalabilidad del cultivo de microalgas para diversas aplicaciones industriales (Yen et al., 2019; Tan et al., 2020).

La hidrodinámica del sistema es un factor crítico para optimizar la producción, ya que rige la uniformidad de la temperatura, el pH y la salinidad, así como la accesibilidad de los nutrientes y la luz a las microalgas. El funcionamiento en condiciones de intemperie introduce un elemento de inestabilidad temporal en la temperatura del fotobiorreactor, que impide que el sistema mantenga un rendimiento óptimo a lo largo del día y del periodo de crecimiento. Esta inestabilidad afecta principalmente en la formación de zonas oscuras conforme aumenta la densidad microalgal y, dependiendo de las condiciones de control del sistema de cultivo, también puede afectar a las variables de temperatura y pH (Pawar & Gupta 2017; Legrand et al., 2021).

En los últimos años, se han realizado avances significativos en la optimización del coeficiente de transferencia de masa de los FBR para mejorar la producción de microalgas y cianobacterias. Un desarrollo notable es el diseño de un circuito de transporte aéreo rectangular FBR, que se ha demostrado que mejora la retención de gas, la velocidad de circulación del líquido y el tiempo de mezcla. Mediante la optimización de la velocidad superficial del gas, los investigadores han desarrollado modelos empíricos para el control racional y la ampliación de estos sistemas. El cultivo de *Chlorella vulgaris* en este FBR demostró que la aireación optimizada mejoró significativamente el coeficiente de transferencia de masa, lo que hizo que el reactor fuera rentable para el cultivo de microalgas a gran escala (Guo et al., 2015).

La caracterización de los FBR de carga aérea de cilindro dividido ha proporcionado información valiosa sobre la optimización de la transferencia de masa para el cultivo eficiente de microalgas. Mediante la evaluación de la hidrodinámica de las fases líquida y gaseosa y la determinación del coeficiente de transferencia de masa, los investigadores han identificado mejoras en el diseño que satisfacen las necesidades específicas de las microalgas. Los FBR de transporte aéreo de cilindro dividido desarrollados demostraron un rendimiento superior en términos de mezcla y transferencia de masa, lo que los hace muy adecuados para la producción de microalgas (Fernandes et al., 2014)

# 2.5 Modelos matemáticos

Un modelo matemático es una construcción artificial que representa el comportamiento y/o aproximación de un proceso o fenómeno experimental. El fundamento matemático para este tipo de representaciones se denomina modelado, y consiste en extraer predicciones basadas en los

balances de materia y energía sobre la operación unitaria en estado estacionario y no estacionario. Los modelos matemáticos pueden adoptar diversas estructuras, desde pequeñas y simples hasta grandes e intrincadas, sistemas de ecuaciones en 1-Dimension, 2-Dimensiones y 3-Dimensiones y pueden ser intuitivos o abstractos (Moreira, 1996).

La característica clave de todos los modelos eficaces es su capacidad para proporcionar información sobre procesos o sistemas que de otro modo serían complicados de comprender. Los modelos excelentes pueden dar sentido a numerosos hechos y observaciones aislados, explicando por qué los sistemas naturales han evolucionado hacia las estructuras organizativas y regulatorias específicas observadas. Permiten predicciones y extrapolaciones sobre situaciones no probadas y tendencias futuras, lo que lleva a la formulación de nuevas hipótesis (Gomez & Barton, 2018).

El objetivo principal de los modelos matemáticos es representar un fenómeno y replicar su comportamiento en diversas condiciones de operación. Sin embargo, al construir un modelo, normalmente se hacen ciertas suposiciones y simplificaciones, lo que puede generar incertidumbre sobre el nivel de confianza del modelo cuando se omite información experimental. Por lo tanto, es fundamental realizar un análisis que asegure la reproducibilidad del modelo propuesto (Pruvost et al., 2006).

#### 2.5.1 Modelos matemático-cinéticos en bioprocesos

El modelado matemático es una herramienta fundamental en ingeniería de bioprocesos, y un componente crítico para análisis, optimización y control de sistemas biológicos. Se emplea en varias escalas, desde el metabolismo celular microscópico hasta variables de procesos macroscópicos, y es parte integral del desarrollo de biotecnologías y su comercialización (Moser, 1996; Bogaerts & Wouwer, 2023; López-Pérez et al. 2023; Alvarado-Santos et al. 2023; Sánchez-Contreras et al. 2025). Los modelos facilitan una comprensión más profunda del metabolismo celular, ayudan en el diseño de sensores de software y respaldan la optimización de bioprocesos, incluidas aplicaciones en biofarmacéuticos, bioenergía y procesos ambientales (Liu, 2020; Bogaerts & Wouwer, 2023; López-Pérez et al. 2023). Si bien el modelado matemático proporciona una representación simplificada de comportamientos biológicos complejos, el aprendizaje automático está surgiendo como un poderoso complemento a las técnicas de modelado tradicionales.

Los algoritmos de aprendizaje automático pueden manejar las complejidades de la cinética de reacción variable en el tiempo y la interacción de diferentes variables, lo que ofrece una solución sólida a los desafíos en el desarrollo de bioprocesos (Harwani & Lakhani, 2022). Además, los modelos

basados en restricciones y los modelos a escala genómica se utilizan cada vez más para predecir estados de flujo metabólico y guiar estrategias de ingeniería metabólica, acelerando así el ciclo de desarrollo de bioprocesos (Mahadevan et al., 2005). En resumen, el modelado matemático es indispensable en la ingeniería de bioprocesos, ya que permite el diseño sistemático y la optimización de bioprocesos. Se complementa con el aprendizaje automático y el modelado a escala genómica, que juntos están transformando el campo y contribuyendo al avance de la bioeconomía y las tecnologías de bioprocesos sostenibles (Moser , 1996; Mahadevan et al., 2005; Harwani & Lakhani, 2022; Bogaerts & Wouwer, 2023; López-Pérez et al. 2023; Alvarado-Santos et al. 2023).

Los modelos cinéticos en bioprocesos sirven como representaciones matemáticas de las reacciones bioquímicas y la cinética involucradas en los bioprocesos. Son esenciales para comprender, predecir y optimizar el comportamiento de los bioprocesos, lo cual es crucial para la producción de diversos bioproductos o metabolitos de interés industrial (Purohit et al., 2017; Mangipudi et al., 2022; López-Pérez et al. 2023; Alvarado-Santos et al. 2023).

Los modelos cinéticos pueden complementarse utilizando con los modelos basados en datos, lo cuales se basan en datos experimentales en tiempo real o de un historial para predecir los resultados óptimos de funcionamiento de los bioprocesos. Por ejemplo, en la optimización de la producción de luteína, se utiliza un modelo cinético predictivo acoplado a un modelo basado en datos para predecir el comportamiento de los resultados experimentales (González-Figueredo et al., 2018; Del Río-Chanona et al., 2019).

Si bien la cinética es fundamental para el diseño y la optimización de bioprocesos, es posible que no siempre proporcionen las predicciones más precisas en comparación a los enfoques basados en datos, especialmente en sistemas dinámicos complejos. Esto se debe a la variabilidad y complejidad inherentes de los sistemas biológicos, lo que puede dificultar el modelado preciso de la bioquímica de la cinética de reacción que no está definida con base a cálculos estequiométricos (Becker et al., 2023; López-Pérez et al. 2023; Alvarado-Santos et al. 2023).

Además, los modelos cinéticos a menudo requieren una comprensión profunda de las vías bioquímicas metabólicas subyacentes acoplado a la dinámica de fluidos, lo que puede ser difícil de calcular a escala piloto de reactor (Pretides et al., 2019; Mangipudi et al., 2022). Los modelos cinéticos son una herramienta fundamental en la ingeniería de bioprocesos, ya que proporcionan un marco teórico para comprender y optimizar los bioprocesos. Sin embargo, la complejidad de los sistemas biológicos y el surgimiento de modelos basados en datos presentan desafíos y

20

oportunidades para el desarrollo y aplicación de modelos cinéticos en el bioprocesamiento industrial (Purohit et al., 2017; Del Río-Chanona et al., 2019; Mangipudi et al., 2022; Becker et al., 2023; López-Pérez et al. 2023; Alvarado-Santos et al. 2023).

#### 2.5.2 Modelos cinéticos en producción microalgal

La expresión cinética de cultivos de microalgas es un término crítico para optimizar la producción de biomasa en fotobiorreactores. Los modelos cinéticos de crecimiento sirven para dilucidar la dinámica del crecimiento de las microalgas en diversas condiciones, lo que permite optimizar los parámetros de operación del cultivo (Lee et al., 2015; Guzmán et al., 2021). Estos modelos varían de simples a complejos e incorporan factores únicos o múltiples, como la disponibilidad de sustrato, la intensidad de la luz y diferentes condiciones ambientales (Lee et al., 2015; Romagnoli et al., 2021).

Algunos estudios han desarrollado modelos cinéticos robustos utilizando datos experimentales para predecir y controlar los cultivos de algas en condiciones específicas, como el tratamiento de aguas residuales (Eze et al., 2018), otros se han centrado en el potencial del cultivo de microalgas en el contexto de una economía circular, utilizando flujos de residuos industriales (Romagnoli et al., 2021). Además, la integración de modelos cinéticos con dinámica de fluidos computacional ha proporcionado información sobre los desafíos hidrodinámicos del cultivo de masivo microalgas para el escalamiento de fotobiorreactores (Zhang et al., 2021).

Los modelos cinéticos son herramientas indispensables para avanzar en las tecnologías de cultivo de microalgas. Permiten predecir las tasas de crecimiento y los rendimientos de biomasa en diferentes condiciones, lo cual es esencial para la viabilidad económica de los sistemas basados en microalgas. El desarrollo de estos modelos requiere un equilibrio entre complejidad y aplicación, por lo cual es necesario realizar investigaciones para incorporar diversas especies y factores ambientales para un modelado más realista de los sistemas (Lee et al., 2015). La integración de expresiones cinéticas validadas mediante métodos experimentales y computacionales continúa mejorando nuestra comprensión y control de los cultivos de microalgas para diversas aplicaciones en tiempo real (Eze et al., 2018; Zhang et al., 2021).

La producción de microalgas, cuando se escala desde el nivel de laboratorio hasta el nivel comercial, enfrenta varios desafíos que deben abordarse para garantizar operaciones eficientes y rentables. La transición implica no solo la mejora de los sistemas de cultivo, sino también la optimización de los parámetros ambientales e hidrodinámicos que influyen en el crecimiento de las algas, como el

21

control e instrumentación de variables de estado como: la luz, la temperatura y el pH (Verma et al., 2021)

Además, se está explorando la ingeniería genética para desarrollar cepas que sean más adecuadas para el cultivo masivo (Verma et al., 2021). El potencial de las microalgas en la producción de combustibles renovables es reconocido, sin embargo, la viabilidad económica sigue siendo una preocupación. Se están investigando técnicas de ingeniería bioquímica, incluido el estrés físico y nutricional, el cultivo en dos etapas y el uso de fitohormonas, para mejorar la producción de combustibles a base de microalgas, en particular biodiésel (Dias et al., 2022).

El aumentar la producción de microalgas es un esfuerzo multidisciplinario que requiere avances en las técnicas de cultivo, la ingeniería genética y el diseño de biorreactores. Los beneficios potenciales de las microalgas como fuente de bioproductos son significativos, pero es necesario superar barreras económicas y tecnológicas. La investigación y el desarrollo futuros son esenciales para abordar estos desafíos y aprovechar todo el potencial de las microalgas en aplicaciones comerciales (Haros & Paraleras, 2015; Guzman et al., 2021; Silva et al., 2021).

#### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los fertilizantes químicos se aplican en dosis excesivas por prácticas agrícolas inadecuadas, de tal forma que entre el 20-30% es asimilado por la planta, el exceso termina en aguas superficiales y subterráneas o en la atmósfera, donde se les considera contaminantes emergentes. Aunado, al manejo inadecuado durante su transportación son fuente de contaminación adicional. Los biofertilizantes son una alternativa potencial ya que se disminuye el uso excesivo de productos químicos en el suelo y la contaminación que su migración produce en otras esferas ambientales. Los biofertilizantes aportan nutrientes en forma asimilable principalmente soluble para las plantas, además de microorganismos benéficos que ayudan a aprovechar mejor dichos nutrientes o los que ya están en el suelo (Coskun et al. 2017; Ramesh & Raghavan, 2024).

La producción de biofertilizantes a partir de consorcios microalgales se presenta prometedoramente como una solución para mejorar la fertilidad del suelo y reducir el uso de fertilizantes químicos dadas sus características eco-amigables con el ambiente (Nayak, et. al 2019; Sido et al. 2022). Uno de los principales desafíos es la optimización operacional de los fotobiorreactores específicamente en sus características hidrodinámicas y de diseño donde se cultivan estos consorcios. Mejorar la eficiencia de estos sistemas para maximizar la productividad es uno de los aspectos fundamentales para garantizar la viabilidad económica del proceso de producción. Por ello, es necesario realizar investigación que permita describir y modelar matemáticamente la producción de biomasa microalgal, incluyendo los fenómenos de transporte, las interacciones entre el medio y características operacionales de los fotobiorreactores en el que se cultivan (Huang et al. 2017; Fu et al. 2019).

#### 4. JUSTIFICACIÓN

El aislamiento y la propagación de consorcios microbianos fotosintéticos nativos de cultivos agrícolas para evaluar su potencial como biofertilizantes es importante ya que estos consorcios al ser adaptados a condiciones locales pueden ofrecer ventajas significativas en términos de eficiencia y compatibilidad con los ecosistemas agrícolas. El uso de estos permite el desarrollo de soluciones específicas para mejorar la fertilidad del suelo, mantener la productividad, fomentar interacciones microbianas en el entorno natural y reducir la dependencia de fertilizantes químicos.

El uso de consorcios microalgales como biofertilizantes presenta un potencial significativo para aumentar la sostenibilidad agrícola y reducir la dependencia de fertilizantes químicos. La creciente demanda de prácticas agrícolas más ecológicas y eficientes hace imprescindible desarrollar alternativas que mejoren la productividad y la salud del suelo. El cultivo de microalgas en fotobiorreactores ha demostrado ser una fuente viable de biofertilizantes, pero su optimización es crucial para maximizar sus beneficios.

Uno de los mayores desafíos en la producción de biofertilizantes microalgales es la eficiencia de los fotobiorreactores. Además, el diseño de estos sistemas acoplado a la optimización de las propiedades hidrodinámicas, es fundamental para aumentar la productividad de las microalgas y garantizar la viabilidad económica del proceso. Una mayor eficiencia en la producción permitirá una adopción más amplia de esta tecnología en el sector agrícola.

La modelación matemática del proceso de cultivo de microalgas en fotobiorreactores es una herramienta para comprender y optimizar las condiciones operativas. A través de modelos, es posible predecir y mejorar el comportamiento de las microalgas bajo condiciones específicas, lo que contribuye a un uso más eficiente.

Describir el comportamiento de la producción de biomasa bajo condiciones operacionales específicas y con características hidrodinámicas específicas aunado a la modelación matemática del proceso de producción de microalgas en fotobiorreactores ofrece conjunto de herramientas para optimizar las condiciones operativas y de diseño. A través de modelos mutlivariables, incluyendo características hidrodinámicas y la transferencia de masa en diferentes tipos de fotobiorreactores permite identificar y corregir posibles limitaciones en el proceso.

En este contexto, este proyecto de investigación incursiona en tres áreas del conocimiento: microbiológico, agronómico e ingeniería de bioprocesos, lo que permite una aproximación integral a la problemática planteada.

# 5. OBJETIVOS

# 5.1 Objetivo general

Propagar, modelar y comparar el crecimiento de un CMF nativo en fotobiorreactores por lote, mediante un sistema experimental utilizando criterios de operación y escalamiento, para evaluar su potencial como biofertilizante o bioestimulante y contribuir a mitigar los efectos adversos al ambiente de los fertilizantes químicos.

## 5.2 Objetivos específicos

1. Obtener un CMF, mediante aislamiento, caracterización y propagación de organismo fotosintéticos nativos presentes en sistemas agrícolas locales.

2. Determinar la productividad y el rendimiento por lote del CMF mediante cinéticas de crecimiento del consorcio en un fotobiorreactor tipo burbuja de 0.5 L bajo condiciones controladas.

3. Modelar y validar los datos experimentales mediante cinéticas no estructuradas y técnicas no lineales de ajuste paramétrico para describir y predecir la operación por lote a nivel laboratorio de las variables del CMF.

4. Diseñar, construir, optimizar e instrumentar dos fotobiorreactores cerrados y uno abierto de 5 L con la misma relación volumen operacional / área de iluminación (factor gamma) con la finalidad de evaluar su uso como un parámetro de escalamiento y productividad.

5. Comparar la efectividad del CMF con productos químicos comerciales actualmente empleados para el enraizamiento y fertilización del cultivo de fresa (*Fragaria*).
# 6. MATERIALES Y MÉTODOS

# 6.1 Sistema experimental

La presente investigación se realizó en tres etapas cada una relacionada a un área del conocimiento específica, como se muestra en la Figura 4. En la etapa 1 se aisló y acondicionó un CMF (CMF) nativo, el cual posteriormente se caracterizó cinética y microbiológicamente. La información anterior se empleó para validar experimentalmente el modelo matemático que describe la cinética de crecimiento del consorcio en fotobiorreactores con un volumen operacional de 0.5 L. Posteriormente, en la etapa 2 se diseñaron cuatro FBR con la misma relación área de iluminación / volumen operacional (factor gamma), se construyeron e instrumentaron tres: el *flat panel* (FCP), triangular (FTri) y el de laguna (FLG). Además, se caracterizaron hidrodinámicamente y se evaluó la producción de biomasa del CMF en los tres FBR seleccionados. Finalmente, la etapa 3 consistió en la evaluación agronómica del CMF como suplemento en un cultivo de fresa para determinar su potencial biofertilizante y /o bioestimulante.

#### Etapa 1. Microbiología

- Aislamiento y propagación del CMF
- Caracterización microbiológica y bioquímica del CMF en FBR en operación en lote
- Modelo matemático de la cinética de crecimiento en FBR de 0.5 L

## Etapa 2. Ingeniería de Bioprocesos

- Diseño, construcción e instrumentación de FBR con la misma relación A<sub>i</sub>/V<sub>o</sub>
- Caracterización hidrodinámica de los FBR
- Producción del CMF en los FBR

## Etapa 3. Agronomía

 Evaluar el potencial del CMF como biofertilizante al adicionarlo como suplemento en un cultivo de fresa

Figura 4. Descripción general de las etapas, área del conocimiento y actividades realizadas en el proyecto.

# 6.2 Etapa 1. Microbiología

## 6.2.1 Recolección de muestras en sitio

Dado que el proyecto de investigación estaba enfocado en la propagación de un CMF nativo para obtener el modelo matemático que describiera la cinética del crecimiento y evaluar el potencial como biofertilizante o bioestimulante, fue de suma importancia la selección del sitio de muestreo en campo. Una de las características principales para este propósito fue que el cultivo estuviera regado con agua de pozo, para así evitar de inicio la presencia de agentes patógenos (Anduro et al.,2017).

En la búsqueda de campos de cultivo con dichas características, se ubicaron tres en diferentes lugares del estado de Hidalgo. Uno en la zona norte, en el municipio de Metztitlán; otro en la zona sureste, en Tepeapulco y otro en la zona suroeste, en el municipio de El Arenal. Cada uno con diferente tipo de cultivo nuez, hortalizas y maíz, respectivamente.

Se eligió el municipio de El Arenal por la importancia a nivel nacional e internacional de la producción de maíz (*Zea mays*), además de que por efectos del cambio climático se estima para el 2050 es probable que su cosecha se reduzca en un 27 % principalmente en productores con menos de 5 hectáreas (Notimex, 2019).

El sitio de estudio es de aproximadamente 5 hectáreas con localización geográfica 20°14'11.7" N 98°55'38.9" W. Solo una tercera parte del área corresponde al cultivo de maíz (*Zea mays*) en el resto se cultiva chile y forraje para alimento de ganado. En la Figura 5 se muestra la imagen satelital del terreno de cultivo y la ubicación del cultivo de maíz en relación con los otros cultivos.



Figura 5. A. Imagen satelital del sitio de muestreo; B. Ubicación del cultivo de Maíz en relación con los otros cultivos.

Para la validación del muestreo se tomó como base la norma Military Standard 105D, la cual se refiere a los procedimientos de muestreo por inspección considerando la presencia o ausencia de un atributo (U.S. Departament of Defense, 1963). Esta norma se usa para la aceptación de producción en lotes, sin embargo, se adecuaron los parámetros con un equivalente, detallado en la Tabla 5, para utilizarla como referencia en el muestreo del terreno de cultivo.

Se recolectaron ocho muestras simples de: pozo de bombeo (dos), raíz (una), suelo (dos) y agua inundada en los surcos (tres). De cada una de las muestras simples previamente homogeneizada, se tomó una gota para observarla al microscopio óptico (Motic, B3 Professional Series, China) para

confirmar visualmente la presencia de microorganismos fotosintéticos, así como la diferencia morfológica de estos en ambos medios de cultivo. y continuar con la propagación en condiciones de laboratorio.

Tabla 6. Equivalencia	de parámetros de	la norma MIL-STD 105D.
-----------------------	------------------	------------------------

Parámetro MIL-STD 105D	Equivalencia en el proyecto
Tamaño de lote	Número de surcos
Nivel de Calidad Aceptable (NCA)	Porcentaje de presencia (PP)
Fuente: Gutiérrez & De la Vara, 2019.	

# 6.2.2 Propagación de muestras recolectadas en sitio por lote en FBR 0.25 L

La propagación de las muestras obtenidas en campo se realizó aplicando un diseño experimental unifactorial en el que la variable respuesta fue la presencia de biomasa mientras que las variables independientes fueron el medio de cultivo, la intensidad de luz, los periodos de iluminación y la aireación. No se consideró la agitación en esta etapa ya que el volumen operacional de los fotobiorreactores (0.25 L) con la aireación fue suficiente para mantener el medio de cultivo homogéneo.

De cada muestra se tomaron 10 mL para inocular cada matraz y se completó el volumen de 240 mL con el medio de cultivo correspondiente. De la muestra de suelo, el inóculo fue el sobrenadante que se obtuvo después de suspender 1 g de la muestra en solución salina y centrifugar a 6000 rpm durante 5 minutos. Para la muestra de raíz se hizo un lavado previo de esta con solución salina. Cada muestra se sembró por triplicado en dos medios de cultivo: BG11 y BG11<sub>0</sub> (Ripkka et al., 1979) cuya diferencia radica en la ausencia de nitratos en el segundo. Esto favorece el desarrollo de las cianobacterias, debido a que tienen la capacidad de fijar nitrógeno, lo que las hace de suma importancia en un biofertilizante.

La propagación se realizó con fotoperiodo 12:12 horas (luz:oscuridad), a una temperatura de 25°C + 2°C y pH de 6.5-7, durante 41 días con un flujo de aire de 1.5-2 L min<sup>-1</sup> durante periodos de 12 horas. Para evaluar el desarrollo de los microorganismos fotosintéticos en los fotobiorreactores, al final de cada periodo se cuantificó la biomasa presente mediante peso seco, y posteriormente se interpretaron los resultados de la siguiente forma: si hubo un aumento de biomasa en un periodo de 15 días, se consideró como positivo el resultado y por lo tanto la presencia del consorcio con microorganismos fotosintéticos en la matriz correspondiente (Renuka et al., 2013).

Para realizar la propagación de las muestras simples en los dos medios de cultivo, con tres repeticiones cada uno, además del control, se operaron un total de 30 matraces de 0.25 L. Para mejorar el aprovechamiento de la luz, los fotobiorreactores se dispusieron en un gabinete cerrado por la parte posterior y acondicionado con luz led blanca en la parte central y lateral, como se muestra en la Figura 6. De esta forma se aseguró proporcionar 1500 lx aproximadamente (Dineshkumar et al. 2017).



Figura 6. Distribución de los fotobiorreactores para la propagación de las muestras. A. Boceto; B. Real

Después de la propagación inicial de las muestras la cual tuvo una duración de 21 días en medio BG11 y de 42 días en medio BG11<sub>0</sub>, se procedió a la etapa dos de la propagación.

En la segunda etapa se conformaron muestras compuestas con dos o más muestras simples de cárcamo (MC), de raíz y suelo (MR) y de agua anegada en los surcos (MA); en tanto que las muestras combinadas fueron el resultado de la integración en partes iguales (v/v) de dos o más muestras compuestas. Esta etapa tuvo como objetivo la estabilización del CMF en las condiciones de temperatura, flujo de luz, aireación y medio de cultivo, para identificar las etapas de crecimiento, la velocidad máxima y duración del ciclo de vida de los microorganismos presentes. La descripción general de esta etapa de propagación se observa en la Tabla 6.

En el caso del medio de cultivo BG11<sub>0</sub>, se trabajó con la muestra combinada MCR ya que en la fase 1 de la propagación, MA no presentó aumento de biomasa en dos de los tres FBR. Sin embargo, se consideró conformar la muestra combinada MCRA con la biomasa producida en ese FBR.

Para el mantenimiento de las microalgas metabólicamente activas se recomienda un subcultivo en serie de rutina, el cual consiste en transferir el inóculo en fase tardía o estacionaria de forma subsecuente. Con el objetivo de mantener salud fisiológica, morfológica y genéticamente representativa, conservando los cultivos de origen (Lorenz et al. 2005).

Medio de cultivo	Tipo de muestras	Muestras propagadas	Condiciones operacionales
BG11 <sub>0</sub>	Compuestas	MC, MR.	Tiempo: 14 días Aireación: 24 horas
	Combinadas	MCR, MCRA.	Periodo de iluminación: 12 x 12 horas Iluminación: 1500-2000 lx
BG11	Compuestas	MC, MR, MA.	Temperatura: 20-25 °C pH: 7.1-7.5 (Dineshkumar et al., 2015)
	Combinadas	MCR, MCA, MAR, MCRA.	% inóculo: 5 (Lorenz et al., 2005) Fase del inóculo: Estacionaria Volumen operacional: 200 mL Cantidad de FBR: 3 por muestra Repeticiones experimentales: 3

Tabla 7. Descripción general de la segunda etapa de propagación de las muestras.

Esta conservación se puede hacer en medio líquido o sólido, sin embargo, el primero representa un proceso y trabajo intenso por los consumibles y horas hombre requeridas. En medios sólidos la facilidad del manejo durante la transferencia es un factor importante porque reduce el riesgo de contaminación, además extiende los periodos entre subcultivo hasta por seis meses. El aspecto primordial de esta técnica de conservación consiste en reducir las condiciones de crecimiento a lo mínimo necesario, principalmente la intensidad de luz estándar, a valores entre 10 y 30 µmol·m<sup>-1</sup>·s<sup>-1</sup> para evitar una sobre iluminación la cual provocaría estrés fotoxidativo (Lorenz et al. 2005).

Por ello, tanto las muestras combinadas, compuestas y simples se mantuvieron en conservación en medio sólido.

# 6.2.3 Cinética de crecimiento del CMF por lote en FBR de 0.5 L de volumen operacional

Una vez estabilizado el CMF e identificado claramente las fases de crecimiento en ambos medios de cultivo se seleccionaron las muestras con mayor producción de biomasa en mg L<sup>-1</sup>, MCRA en BG11 y MCR en BG11<sub>0</sub>, para establecer la cinética de crecimiento del CMF en FBR de 0.5 L de volumen operacional.

Las condiciones operacionales en la configuración experimental se mantuvieron iguales a las empleadas en la fase de propagación, con la finalidad de poder comparar la producción de biomasa con diferente volumen operacional.

Para la evaluación del desempeño biológico del consorcio se utilizó la muestra combinada MCRA conformada por las muestras compuestas de cárcamo, raíz y agua (MC, MR y MA) incorporando la medición de otras variables además de la biomasa. Estas variables proporcionaron información

acerca del tipo de microorganismos presentes en el consorcio, así como de algunos aspectos del metabolismo del CMF. Las variables, técnicas y el aspecto cinético medido se enlistan en la Tabla 7. La cuantificación de la cantidad y tipo de clorofila con respecto al tiempo permite cuantificar de forma indirecta la cantidad de microorganismos fotosintéticos presentes en el CMF (Whitton & Potts, 2000).

La presencia del  $NH_4^+$  es índice de la cantidad de nitrógeno transformado por los microorganismos fijadores de nitrógeno presentes en medio  $BG11_0$  (Hernández-Melchor, 2017), además de ser un parámetro indicativo de inhibición de la nitrogenasa, la cual es la enzima responsable de la fijación de nitrógeno. El  $NH_4^+$  inhibe la actividad de la nitrato reductasa en microalgas al impedir la absorción de nitrato cuando están presentes por encima de determinadas concentraciones (Herrero et al. 1981; MacIntyre & Cullen, 2005).

El medio de cultivo BG11 está diseñado preferentemente para el crecimiento de microalgas, sin embargo, no es exclusivo por lo que pueden crecer, aunque en menor cantidad cianobacterias. Por esta razón también se cuantifica la cantidad de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> presente. Además, aunado a la inhibición de la nitrato reductasa es específica de cada especie, ya que tienen umbrales variables para la concentración de amonio, el cultivo de microalgas que en ambientes mixotróficos ha mostrado mayor tolerancia a altos niveles de amonio (Li et al. 2019).

Aspecto cinético	Variable medida	Técnica	Referencia
Crecimiento	Biomasa	Peso seco	(Trediciet al. 2004)
Presencia de microorganismos fotosintéticos		Pruebas espectrofotométricas Método tricromático	(APHA, 1992)
Estado de madurez microalgal	Clorofila <i>a</i>	Índice de Margalef	(APHA, 1992)
Oxígeno Disuelto	Coeficiente de transferencia de masa	Sonda multiparámetro Hanna Instrument HI9829	(Hernández-Melchor et al. 2017)
Cantidad de nitrógeno transformado	Amonio	Fenato No. 132 C	(APHA, 1992)
Intensidad luminosa	Densidad de biomasa	Hanna Instrument HI97500	(Guedes et al. 2023)

Tabla 8. Variables para evaluar el desempeño biológico del consorcio.

Las condiciones operacionales se mantuvieron casi en todos los aspectos respecto a la etapa de propagación de las muestras, es decir, aireación de 24 horas con un flujo constante entre 1.76 a 2 L min<sup>-1</sup>, periodo de iluminación de 12 x 12 horas, iluminación de entre 1500-2000 lx, pH 7.1-7.5, 5 %

inóculo (v/v) (Lorenz et al. 2005), volumen del FBR 0.9 L, volumen operacional de 0.5 L y por triplicado.

Una de las modificaciones fue en la etapa de crecimiento del inóculo de fase estacionaria a fase exponencial, con el objetivo de acortar la fase de adaptación del CMF (Hernández-Melchor, 2017; Bani et al., 2020). Además, con la finalidad de disminuir los costos de producción del CMF, los FBR se operaron en condiciones parcialmente estériles: fueron lavados con jabón, agua y una solución de hipoclorito de sodio al 0.005% y desinfectados con alcohol al 70 % mientras que el medio de cultivo se esterilizó a 120°C durante 15 min.

Teniendo como referencia que el índice de Margalef relaciona el estado de madurez algal de los microorganismos fotosintéticos presentes en el consorcio, se cuantificó la producción de biomasa de los FBR con diferentes tipos de inóculo como se muestra en la Tabla 8. Esto permitió evaluar el efecto del tipo de inóculo en la cantidad de biomasa producida.

Día de toma de inóculo	Etapa de crecimiento	Índice de Margalef	Estado de madurez
Cuatro	Exponencial temprana	1.3 (Bajo)	Asociación joven con
Nueve	Exponencial tardía	1.5 (Bajo)	alta productividad por unidad de biomasa

# 6.2.4 Modelo cinético del CMF

Los datos obtenidos de la cinética de crecimiento del CMF permitieron validar un modelo basado en una cinética no estructurada de crecimiento del CMF cuyo planteamiento, diseño, variables de estado, sensibilidad y validación se detallan en el artículo "A kinetic dynamic model of a photobioreactor in batch operation for production as biofertilizer" (Anexo II).

## 6.3 Etapa 2. Ingeniería de bioprocesos

En la estimación del rendimiento en la producción de biomasa y metabolitos de un consorcio o cepa fotosintética existen diferentes variables a considerar en el diseño de un fotobiorreactor como son: la geometría, el medio de cultivo, la temperatura, la aireación-agitación, unidad de área de iluminación, entre otras (Hernández-Melchor et al., 2017; Hernández-Melchor et al., 2025). Estas variables resultan significativas al momento de proyectar el escalamiento de los procesos de producción, es por ello necesario establecer un parámetro de relación, el cual permita conservar variables escalables constantes.

Para la elección del diseño geométrico y estructural, así como para la construcción de los FBR, se realizó una búsqueda con palabras claves como *raceway ponds*, *flat panel*, *bubble column*, *tubular* y *triangular*, este último es el menos mencionado en las referencias de producción científica.

# 6.3.1 Optimización de la relación $A_i/V_o$ como criterio de escalamiento

Para comparar el rendimiento de producción de biomasa en mg L<sup>-1</sup> en FBR con diferentes configuraciones, considerando que la iluminación es fundamental para la producción de biomasa microalgal se definió el factor gamma como la relación entre el área geométrica de iluminación y volumen operacional (Hernández-Melchor et al., 2017):

$$\gamma = \frac{A_i}{V_o}$$

Donde:  $A_i \coloneqq \text{área de iluminación máxima, } m^2$ 

 $V_o \coloneqq volumen operacional, m^3$ 

# 6.3.2 Diseño del FBR flat panel airlift

El FBR de tipo *flat panel-airlift* (FCP, por sus siglas en español) es de configuración geométrica conocida y caracterizada con diferentes propósitos y objetivos, además se ser el sistema cerrado más usado en la producción de biomasa microalgal. Por ello, se consideró este tipo de FBR base para establecer el valor del factor gamma a utilizar en el diseño de los demás. En la Figura 7, se muestra el diagrama de flujo utilizado para calcular las dimensiones del FCP.



Figura 7. Diagrama de flujo para el diseño del FBR *flat panel* para establecer el factor gamma óptimo.

Donde:

l:= largo del FCP  $h_i:=$  altura del FCP  $w_i:=$  ancho del FCP  $A_i(h_i):=$  área de iluminación del FCP como función de la altura V:= volumen operacional del FCP  $\gamma:=$  cociente de relación área de iluminación/volumen operacional

Para el diseño de los FBR abiertos y cerrados: *flat panel*, columna de burbuja, triangular y de laguna, se consideró un volumen total de construcción de 6 L y operacional de 5 L. En casi todos los casos, de las tres dimensiones a calcular, se estableció un valor fijo para una de ellas, otra en un intervalo de valores y así definir la última como una función de las otras dos.

6.3.3 Diseño y configuración de los FBR: triangular, columna de burbuja y de laguna Teniendo como base el diseño del FCP se consideró un factor gamma de  $17.73 \pm 1 \text{ m}^1$  para el diseño de los tres restantes: el de columna de burbuja (FCB), triangular (FTRi) y el de laguna (FLG). En la Figura 8, se muestra el diagrama de flujo general, las variables dependientes e independientes para determinar las dimensiones de los FBR. Las dimensiones del FCB solo depende de dos dimensiones: el radio y la altura, ninguna de estas se consideró constante ya que se definió una relación entre ellas, además el área de iluminación base fue de 3/4 del área total del FBR, por lo cual se hizo una modificación en la estructura del diagrama de flujo.



Figura 8. Diagrama de flujo para calcular las dimensiones de los FBR triangular, columna de burbuja y laguna con valor de gamma constante.

Donde: l:= largo del FBR  $h_i:= altura del FBR$   $w_i:= ancho del FBR$   $A_i(h_i):= área de iluminación del FBR como función de la altura$  V:= volumen operacional del FBR $\gamma:= cociente de relación área de iluminación/volumen operacional$ 

# 6.3.5 Cinética de crecimiento en FBR de 6 L

Considerando que el principal sustrato del CMF para el crecimiento es la luz la cuantificación de biomasa puede no ser suficiente para evaluar la productividad en fotobiorreactores de diferente configuración: cerrada, semiabierta o abierta y con diferente geometría: cara plana, triangular y laguna respectivamente. Debido a lo anterior, es necesario incorporar al análisis otros parámetros los cuales proporcionan información acerca de las variables de operación. En la Tabla 10, se muestran los parámetros de crecimiento para la evaluación de la productividad del CMF.

Parámetro	Parámetro Descripción		Expresión algebraica	Referencia
Velocidad específica de crecimiento (μ)	Cantidad de biomasa generada por unidad de tiempo	d <sup>-1</sup>	$\mu = \frac{1}{C} \cdot \frac{dC}{dt}$	(Lee et al.,2013)
Productividad volumétrica (P <sub>b</sub> )	Cantidad de biomasa generada por unidad de volumen y tiempo	g·m⁻³d⁻¹	$P_b = \frac{dC_b}{dt}$ $P_b = \mu C_b$	(Zitelli et al., 2013)
Productividad areal (Pa)	Cantidad de biomasa por unidad de superficie de suelo ocupada por tiempo	g·m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup>	$P_a = P_b \cdot a$ $a = \frac{V_R}{S}$	(Tredici, 2004)
Velocidad específica de mantenimiento (m)	Cantidad de biomasa perdida con respecto al tiempo	d <sup>-1</sup>	$m = \left(\frac{1}{C_b} \cdot \frac{dC_b}{dt}\right)$ $Ln\left(\frac{C_b}{C_{b_0}}\right)$ $= -m \cdot t$	(Zitelli et al., 2013)
Velocidad de producción de biomasa (F <sub>b</sub> )	Producción total del FBR	g·d <sup>-1</sup>	$F_b = P_b \cdot V_R$	(Molina et al., 2013)

Tabla 10. Parámetros de crecimiento para evaluar la productividad de los FBR.

Los tres FBR estuvieron operando en las siguientes condiciones: tiempo de aireación y/o mezclado de 24 horas, fotoperiodo 12:12 (oscuridad:luz), flujo de iluminación de 25  $\mu$ mol F m<sup>-1</sup>s<sup>2</sup> con un ángulo de irradiación de 90°, pH inicial de 7.1-7.4, medio de cultivo BG11<sub>0</sub> no estéril, FBR lavado con solución 0.5 % de hipoclorito de sodio y desinfectado con solución de etanol al 70 %, 10 % de inóculo v/v,

concentración inicial de biomasa 0.24 g L<sup>-1</sup>, rango de temperatura 21-28 ° C y para mantener constante el volumen operacional durante el tiempo de experimentación, la pérdida de líquido se compensó diariamente con agua potable.

## 6.3.4 Caracterización hidrodinámica de los FBR

La determinación del coeficiente de transferencia de masa ( $k_L a$ ) se realizó mediante el método dinámico, el cual evalúa los cambios en la concentración de oxígeno disuelto cuando ocurre un cambio en la concentración del aire suministrado al FBR en diferentes tiempos.

En fase líquida mezclada correctamente, el balance de masa se puede expresar mediante la Ecuación 1:

$$\frac{dC}{dt} = TTO - TUO \tag{1}$$

Donde,

 $\frac{dC}{dt}$  := tasa de acumulación del oxígeno en fase líquida,  $mol \cdot L^{-1} \cdot s^{-1}$ 

TTO := tasa de transferencia del oxígeno del aire al líquido,  $mol \cdot L^{-1} \cdot s^{-1}$ 

*TUO*:= tasa de utilización del oxígeno por parte de los microrganismos,  $mol \cdot L^{-1} \cdot s^{-1}$ 

Estos parámetros dependerán de si la medición se realiza en ausencia o presencia de microorganismos, en el primer caso se le denomina sistema bifásico (agua-aire) y en el segundo sistema trifásico (agua-aire-microorganismos) (García-Ochoa, 2009; Hernández-Melchor, 2017).

Se realizó la caracterización en sistema bifásico en los tres FBR y trifásico solamente en FCP y FTRi, de tal forma que, al no tener reacciones bioquímicas en el medio, el TUO = 0, por lo tanto, la Ecuación 1, se simplifica a:

$$\frac{dC}{dt} = TTO \tag{2}$$

Considerando la expresión para determinar la transferencia másica de oxígeno por unidad de volumen del FBR,  $N_{O_2}$ , es el producto del área interfacial por unidad de volumen gas-líquido y la intensidad del flujo promedio como:

$$N_{O_2} = k_L a \left( C_A^* - C_{A,L} \right)$$
(3)

donde:

 $C_A^*$ := concentración de saturación del oxígeno en el líquido  $C_{A,L}$ := gradiente de concentración de oxígeno en el líquido.

37

Incorporando la Ecuación 3 en la Ecuación 2, se obtiene la expresión:

$$\frac{dC}{dt} = k_L a \cdot (C_A^* - C_{A,L}) \tag{4}$$

De tal forma, que al resolver la Ecuación 4 entre dos tiempos se obtiene la Ecuación 5, en la cual la pendiente de esta recta corresponde al valor del  $k_L a$ :

$$ln\frac{c^*-c_0}{c^*-c} = -k_L a \ (t-t_0) \tag{5}$$

donde:

 $C^*$ := concentración de saturación de oxígeno disuelto (OD)

 $C_0$ := concentración de OD en el tiempo  $t_0$ 

C:= concentración de OD en el tiempo t

Considerando áreas de sección transversal iguales, el  $k_L a$  global se calculó con el promedio del  $k_L a$  de las zonas ascendentes y descendentes (Hernández-Melchor, 2017; García-Ochoa, 2009; Gauthier, 1991).

El OD se cuantificó con un medidor de oxígeno disuelto HANNA HI9146, el cual fue colocado en el centro de cada zona ascendente y descendente como se muestra en la Figura 9. Se evaluó con flujo de aire desde 0.5 L min<sup>-1</sup> hasta 6 L min<sup>-1</sup> en incrementos de 0.5 L min<sup>-1</sup> para ambos fotobiorreactores de configuración cerrada FCP y FTri.



Figura 9. Ubicación del medidor de oxígeno disuelto. A. FCP; B. FTRi

En el caso del FLG, el cual es un sistema abierto y carece de un sistema de aireación (dado que tanto la aireación como la agitación son proporcionadas por paletas), se propusieron dos modificaciones a la técnica química de medición de oxígeno disuelto para la determinación del  $k_La$ : agregando 0.5 g de sulfito de sodio anhidrido hasta una sutaración de oxígeno de cero y despues se realizó el registro de las lecturas del OD hasta la saturación máxima.

Es necesario mencionar que para este tipo de fotobiorreactores tipo laguna no existe una metodología establecida para el cálculo del  $k_L a$ , por lo tanto se propone un principio matemático (centroide) para la ubicación de la sonda de oxígeno disuelto dando una alternativa formal para el cálculo del coeficiente de transferencia de masa.

Primero, se calcularon tres centroides a lo largo del FBR para ubicar los sensores de oxígeno, con el objetivo de obtener lecturas representativas en diferentes estadios del flujo. Segundo, se observó el comportamiento del sistema a diferentes velocidades de rotación de la paleta de mezclado (rpm) con la finalidad mejorar la precisión y la representatividad de las mediciones de OD en el sistema.

Considerando la definición clásica de centroide como el centro de volumen el cual es el punto en el que la figura logra un equilibrio de fuerzas. En el caso del FLG la altura permance constante en cualquier punto, es por ello que la ubicación solo dependerá del área de iluminación del FLG. Para solventar el incoveniente de ubicar los sensores sobre la división del FBR y evitar la intereferencia de la paleta de mezclado, se dividió el área de iluminación en tres secciones: dos de ellas con área igual y una con área diferente, como se muestra en la Figura 10.





Considerando la altura constante ½ de h en todo el FBR, determinar el centroide de un área mediante la integración implica encontrar pesos ponderados de valores promedio  $\bar{x}$  y  $\bar{y}$ , evaluando estas tres integrales (Ecuaciones 6-8) (Baker & Haynes, 2020):

$$A = \int dA \tag{6}$$

$$Q_x = \int \bar{y}_{el} \, dA \tag{7}$$

$$Q_{y} = \int \bar{x}_{el} \, dA \tag{8}$$

Donde:

dA:= es el diferencial del elemento

A:= es el área total limitada por la forma y se calcula evaluando la primera integral

 $\bar{x}_{el}$  y  $\bar{y}_{el}$  := son las coordenadas del centroide del elemento, las cuales frecuentemente son funciones

 $Q_x$  y  $Q_y$  := son los primeros momentums del área con respecto a los ejes x y y

Complementariamente al coeficiente de transferencia de masa  $k_L a$ , la evaluación hidrodinámica de los FBR que incluye otros aspectos como son tiempos de mezclado, velocidad superficial del gas, fracción de gas retenido y potencia volumétrica, los cuales se describen en la Tabla 11. Todos ellos son indicadores de la distribución homogénea y accesibilidad de los nutrientes para los microorganismos presentes en el CMF (Hernández-Melchor, 2017b).

Parámetro hidrodinámico	Aspecto evaluado	Método utilizado	Expresión algebraica
Velocidad superficial (U <sub>G</sub> )	Medida indirecta de los esfuerzos de corte experimentados por la biomasa.	Relación entre flujo de aire inyectado y el área de la sección recta total (Sánchez-Mirónet al.,2000)	$U_G = \left(\frac{0.837}{k_L a} + 1\right)^{-1.029}$ , donde: $U_G$ : velocidad superficial $k_L a$ : coeficiente de transferencia de masa
Tiempo de mezclado ( $T_m$ )	Tiempo necesario para un tener un 95 % de mezcla homogénea.	Trazador ácido (Camacho Rubioet al. 2004)	$T_m = \frac{T_{md}+T_{mr}}{2}$ , donde: $T_{md}$ : Tiempo promedio de mezclado descendente $T_{mr}$ : Tiempo promedio de mezclado ascendente
Fracción de gas retenida $(\mathcal{E}_G)$	Tiempo de permanencia del gas a través del fotobiorreactor	Expansión volumétrica (Chisti, 1989)	$\varepsilon = \frac{H_G - H_L}{H_G}$ , donde: $H_L$ : altura del líquido (m) $H_G$ : altura del gas más líquido (m)
Potencia volumétrica $\left( \frac{P}{V} \right)$	Relación entre la energía necesaria para el desplazamiento de un volumen determinado	Función de la densidad del líquido, la velocidad del gas y la relación entre las áreas ascendente y descendente (Chisti, 1989)	$\frac{P}{V} = \frac{\delta_L g U_G}{1 + A_d / A_r}, \text{ donde:}$ $\frac{P}{V}: \text{ potencia volumétrica } (Wm^{-3})$ $\delta_L: \text{ densidad del líquido } (kg m^{-3})$ $g: \text{ aceleración gravitacional } (m s^{-2})$ $U_G: \text{ velocidad superficial del gas } (m s^{-1})$ $A_d / A_r: \text{ proporción entre el área transversal ascendente y descendente}$

Tabla 11. Parámetros hidrodinámicos evaluados en los FBR.

# 6.4 Etapa 3. Evaluación del potencial biofertilizante o bioestimulante del CMF

Para evaluar el efecto del CMF como biofertilizante o bioestimulante en un cultivo de fresa en maceta se añadió como suplemento diferentes concentraciones del CMF conjuntamente con el fertilizante químico usado por los agricultores locales. El CMF fue producido en FBR por lote de 0.5 L de volumen operacional como se describe en Sánchez-Contreras et al., (2025) el medio de cultivo utilizado fue BG11<sub>0</sub> debido a que favorece el desarrollo de cianobacterias, cuya capacidad de fijación de nitrógeno atmosférico es crucial para la agricultura.

El experimento se llevó a cabo de mayo a julio del 2023 en las instalaciones de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, localizada en el Municipio de Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. Durante este periodo las temperaturas mínimas oscilaron entre 9-15 °C y las máximas de 23-32° C, con una precipitación promedio de 178 mm (Weahter Spark, 2023).

El CMF usado para los diferentes tratamientos fue cosechado en el día 14 de crecimiento, en el cual se encuentra en mayor producción de biomasa con una concentración de 581  $\pm$  86 mg L<sup>-1</sup>de peso seco, 2.31  $\pm$  0.09 mg L<sup>-1</sup> de clorofila *a*, 1.1-1.9 mg L<sup>-1</sup> of N-NH<sub>4</sub>; 7.12-7-15 mg L<sup>-1</sup> de P y pH de 7.5-8.5.

El sustrato de las macetas se preparó mezclando por partes iguales fibra de coco, suelo y tezontle (25 Kg de cada uno) para obtener un medio de crecimiento poroso, bien drenado y rico en materia orgánica. Las características del suelo utilizado para el sustrato se muestran en la Tabla 12.

Característica	Valor	Característica	Valor
Clase textural	Franco arcilloso	Capacidad de campo (%	) 25.10
Densidad aparente (g cm <sup>-3</sup> )	1.14	Materia orgánica (%)	1.67
(mg kg <sup>-1</sup> )		(mg kg⁻¹)	
P-Olsen	36.51	Zn	1.31
К	397	Mn	8.84
Са	1911	Cu	0.83
Mg	747	В	0.77
Na	181	S	52.90
Fe	12.10	N-NO3 <sup>-</sup>	33.52

#### Tabla 12. Características del suelo utilizado en el experimento.

Una vez mezclado el sustrato se trató con ANIBAC Plus<sup>®</sup> humedeciéndolo hasta un 75 % de su capacidad de retención de agua, colocándose a solarización durante 4 semanas entre dos láminas plásticas. Después de la solarización se colocó 2.3 Kg aproximadamente en cada una de las macetas.

Se usaron plantas de fresa de raíz desnuda de un mes de edad, variedad Camino Real, cuyas características principales son: variedad de día corto, apta para climas áridos, plantas pequeñas, compactas y fáciles de manejar. Las plantas se dividieron aleatoriamente en seis grupos (cinco plantas por grupo), según los tratamientos mostrados en la Tabla 13.

Tratamiento	CMF (%)	PUSH® (%)	Enraizador
T1 (control)	0	0	0
T2	0	100	Root-Factor <sup>®</sup>
Т3	25	75	CMF
T4	50	50	CMF
Т5	75	25	CMF
Т6	100	0	CMF

Tabla 13. Tratamientos de enraizado y fertilización aplicada a las plantas de fresa.

Al momento de ser trasplantadas las raíces de las plantas fueron podadas para medir 5 cm y tratadas sumergiéndolas en una solución de 1 mL L<sup>-1</sup> de un enraizador comercial: Root-Factor® (T2) o en una solución de 10 mL L<sup>-1</sup> de CMF (T3-T6), las raíces del grupo control (T1) no fueron tratadas con ningún enraizador. Después del trasplante, cada tres días se regaron las plantas con 150 mL de agua y cada 15 días se aplicaron 150 mL de una solución o agua de acuerdo con el tratamiento correspondiente.

Las soluciones de tratamiento se prepararon mezclando los volúmenes correspondientes para obtener los porcentajes de la Tabla 13, utilizando una solución de 1 mL L<sup>-1</sup> de PUSH<sup>®</sup>, fertilizante comercial, y una solución de 10 mL L<sup>-1</sup> de PMC.

Para evaluar el efecto del CMF en el crecimiento vegetativo, se midió la altura de la planta y el número de flores y frutos cada 14 días durante tres meses. El volumen radicular se midió al mes y medio después del trasplante.

Para asegurar la distribución normal de los datos, se realizó una prueba de Shapiro Wilks. Luego, para determinar si el biofertilizante tuvo un efecto significativo en el volumen de raíces, altura de las plantas y número de flores y frutos, se aplicó un ANOVA de una vía. Finalmente, se realizaron una prueba de Tuckey y una prueba de Dunnet para identificar diferencias significativas entre los tratamientos.

# 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

# 7.1 Recolección de muestras en sitio

La toma de muestras aleatorias se realizó el día 16 de junio de 2020 alrededor de medio día. El área correspondiente al maíz se dividió en cuatro partes de las cuales se hizo un recorrido en 5 surcos seleccionados aleatoriamente de la parte frontal hacia la parte media. En la inspección visual se identificó la presencia de microorganismos fotosintéticos en mayor o menor cantidad en diferentes matrices como son raíz, suelo y agua, como se muestra en la Figura 11.

En la Figura 11B, la presencia de burbujas puede ser un indicador visual de la presencia de  $CO_2$  que infiere actividad microbiana. En la Figura 11A y 11C la coloración verdosa en el suelo y la pared del cárcamo es evidencia ineludible de la presencia de microrganismos fotosintéticos (Renuka et al., 2013).



Figura 11. Espacios físicos de recolección de muestras. A. Raíz de la planta; B. Surco; C. Cárcamo de bombeo.

De los 20 surcos revisados, se observó la presencia de microorganismos fotosintéticos en 8 de ellos (en algunas de las matrices: raíz, suelo y agua) de los cuales se tomaron muestras simples, en la Figura 12 se muestran algunas de ellas. Las muestras se transportaron en una hielera, a 4 °C aproximadamente y se mantuvieron en refrigeración hasta la propagación en laboratorio.



Figura 12. Muestras recolectadas de diferentes matrices. A. Raíz; B. Cárcamo de bombeo, C. Suelo

## 7.2 Observaciones al microscopio

Las 8 muestras simples colectadas en sitio, se observaron al microscopio y se comprobó la presencia de microorganismos fotosintéticos en 4 de ellas por características similares con los reportados por otros autores como Mukherjee et. al. (2016). En las muestras provenientes del cárcamo de bombeo se pueden apreciar claramente cantidades mayores de microorganismos fotosintéticos, además confirmar la constitución de un consorcio microbiano por la presencia de diferentes tipos de microorganismos. En las muestras de suelo no se distinguieron colonias tan desarrolladas, aunque sí algunas de forma aislada y unicelulares como se observa en la Figura 13.



Figura 13. Observaciones al microscopio con objetivo 10x: A. Cárcamo; B. Pared del cárcamo; C y D. Suelo.

Con el objetivo de 40X se observaron las formaciones de consorcios en las muestras del cárcamo mientras que en las de suelo no fue tan evidente la presencia de tales consorcios en comparación con el resto de las muestras, como se aprecia en la Figura 13. Sin embargo, esas pequeñas cantidades tienen potencial de propagación (Dineshkumar et al., 2020).



Figura 14. Observaciones al microscopio con objetivo 40 x: A. Cárcamo; B. Pared del cárcamo; C y D. Suelo.

#### 7.3 Propagación de muestras simples en FBR por lote de 0.25 L

En medio BG11 a partir del día 8 la presencia de microorganismos fotosintéticos fue evidente a simple vista por la coloración verde en los FBR correspondientes a las MC, mientras que para las muestras MA y MR se observó coloración verde hasta después de 10 días. En el medio de cultivo BG11<sub>0</sub>, tardó 14 días más en la aclimatación de los microorganismos y se observó aumento de biomasa de coloración amarilla. Esta fase de adaptación tan prolongada en la cual los microorganismos se están adaptando a las nuevas condiciones de aireación, pH, temperatura y medio de cultivo, pudo deberse a la ausencia de nitrato en la composición del medio. Otra razón

podría ser la no viabilidad de las células o la formación de esporas por el tiempo de refrigeración del inóculo (Grobbelaar, 2013; Lee et al., 2013).

La cuantificación de la biomasa presente en el cultivo por lote tiene la finalidad de identificar las fases de crecimiento (adaptación, exponencial y estacionaria) en los cultivos fotosintéticos, para establecer el tiempo operacional de los FBR (Lee et al. 2013). Sin embargo, en esta etapa de propagación no se pudieron determinar dichas fases de crecimiento, debido a la alta variabilidad durante la adaptación de los microorganismos a los medios de cultivo y condiciones operacionales de los FBR. Con la cuantificación de biomasa en la segunda etapa se identificaron las fases de crecimiento entre 14 y 21 días para microalgas y cianobacterias reportadas (Hernández-Melchor et al., 2017; Dineshkumar et al., 2017).

En la Figura 15, se muestra el cambio morfológico de los microorganismos presentes en la muestra MC en los FBR con medio BG11 en el día 14.



Figura 15. CMF presente en las muestras en medio de cultivo BG11: A. t<sub>0</sub>; B. t<sub>14</sub>.

La morfología de los microorganismos fotosintéticos también es un indicio de estar aún en fase de adaptación, se presupone un cambio de agregados celulares de la forma filamentosa en las muestras antes de la propagación y la no filamentosa en las fases posteriores del crecimiento (Masojídek et al. 2013). También se consideró que las muestras obtenidas de cuerpos de agua de irrigación para el cultivo o anegada entre los surcos, puede incluir un número elevado de algas verdes, cianobacterias y diatomeas (Brandet al. 2013), lo cual estaría relacionado con la fase de adaptación tardía de los microorganismos en un medio de cultivo carente de fuente de nitrógeno inorgánico.

La evidencia cualitativa de microrganismos fotosintéticos presentes en MC en medio de cultivo BG11 se puede observar en la Tabla 14, donde se incluye la comparación macroscópica y microscópica en el día 0 y 21.

Madia	Día	Evidencia		
iviedio	Dia	Macroscópica	Microscópica	
	0			
BG11	21			

Tabla 14. Comparación macroscópica y microscópica del comportamiento de crecimiento de la MC en medio BG11.

Las observaciones al microscopio evidenciaron la existencia de un consorcio microbiano con presencia de algas verdes y diatomeas, aunque macroscópicamente los FBR no presentaban una coloración verde intensa, no se observaba macroscópicamente un aumento en la biomasa en aquellos propagados en BG11<sub>0</sub> como se observa en la Tabla 15.

Madia	Día	Evidencia		
iviedio	Dia	Macroscópica	Microscópica	
BG11₀	0			
BG11₀	21	12 min BESTO		

Tabla 15. Comparación macroscópica y microscópica del comportamiento de crecimiento de MR en medio BG11<sub>0</sub>.

Dado que el primer ciclo de propagación en medio BG11<sub>0</sub> en FBR de 0.30 L tuvo una duración mayor a 40 días y en BG11 de 21 días, los datos eran insuficientes para la identificación de las etapas del crecimiento del CMF. Por ello, se realizaron dos ciclos más de propagación en medio BG11 y tres en medio BG11<sub>0</sub> con la finalidad de observar una estabilización en los tiempos de cada una de las fases de crecimiento microbiano.

Una vez que se observó la estabilización en las muestras simples en 21 días, se propagaron las muestras compuestas y combinadas. En la Figura 16 se muestran las gráficas de la producción de biomasa con respecto al tiempo de las muestras compuestas (Figura 16A) y combinadas (Figura 16B) en medio BG11<sub>0</sub>. La producción de biomasa se presenta como la relación de la cantidad presente en el tiempo *t* con respecto a la cantidad presente al inicio ( $X_t/X_0$ ) para de esta forma tener un criterio adimensional para utilizar en las siguientes etapas (Hernández-Melchor, 2017).



Figura 16. Proporción de producción de biomasa en medio BG11<sub>0</sub>: A. Muestras compuestas MC: muestras de cárcamo. MR: muestras de raíz y suelo; B. Muestras combinadas MCR: muestras de cárcamo, raíz y suelo. MCRA: muestras de cárcamo, raíz, suelo y agua anegada en los surcos.

En las muestras compuestas MC y MR (Figura 16A), la mayor producción de biomasa fue de la muestra MC, la cual se cuadruplicó con respecto a la biomasa inicial, mientras que en MR el aumento de biomasa fue 3.5 veces. Sin embargo, como se puede observar, en ninguna de las dos muestras fueron evidentes las etapas de crecimiento microbiano después de tres ciclos de propagación. A diferencia de lo que se observa en la Figura 16B donde las muestras combinadas MCR y MCRA donde sí se presentan las cuatro fases de crecimiento microbiano en 14 días. En la Tabla 16, se enlistan las fases de crecimiento, así como los días en que se observaron. Para calcular la V<sub>max</sub> de crecimiento de MCR y MCRA, se consideró la cantidad de biomasa producida teniendo valores de 0.04 g L<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> y 0.06 g L<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> respectivamente, por ello, la muestra MCRA fue la seleccionada para evaluar la

cinética de crecimiento en FBR de 0.5 L y a partir de esta elección se le denomina consorcio microbiano fotosintético (CMF).

Fase	Días de duración
Latencia	0-4
Exponencial	4-10
Estacionaria	10-12
Muerte	12-14

Tabla 16.Etapas de crecimiento observables en medio de cultivo BG11<sub>0</sub> para las muestras MCR y MCRA.

Aunado a la estabilidad temporal de crecimiento del CMF a un periodo de 14 días también se pudo observar la conformación microscópica del consorcio identificándose morfológicamente la presencia de *Nostoc sp.* en mayor proporción que *Scenedesmus sp.* como se muestra en la Figura 16.



Figura 17. Observaciones al microscopio del CMF en medio BG11<sub>0</sub> en cada etapa de la propagación: A: Inicial en FBR de 0.3 L; B: Segunda propagación en FBR de 0.3 L; C: Cultivo en FBR de 0.5 L.

La propagación de las muestras en FBR de 0.3 L con medio de cultivo BG11, se presenta en la Figura 18, tanto para las muestras compuestas MC, MR y MA como las combinadas MCR, MRA, MAC y MCRA. Aunque la relación  $X_t/X_0$  de las muestras compuestas (Figura 17A) tiene una tendencia creciente, entre los días 4 y 14 no son tan evidentes las etapas de crecimiento microbiano, a diferencia de lo que se observa en las muestras combinadas (Figura 17B).

La muestra MCR tuvo la mayor relación de producción de biomasa al aumentar 2.8 veces con respecto a la cantidad presente al inicio de la propagación, seguida de la MCRA con un valor de 1.9 veces (Figura 17B). Las fases de crecimiento coinciden en temporalidad para las muestras combinadas como se observa en la Tabla 17.



Figura 18. Proporción de producción de biomasa en medio BG11: A. Muestras compuestas; B. Muestras combinadas. MC: muestras de cárcamo. MR: muestras de raíz y suelo. MA: muestras de agua. MCR: muestras de cárcamo, raíz y suelo. MRA: muestras de raíz, suelo y agua. MAC: muestras de agua y cárcamo. MCRA: muestras de cárcamo, raíz, suelo y agua.

Considerando la producción de biomasa de las muestras MCR y MCRA y la duración de la fase exponencial se calculó la V<sub>max</sub> de crecimiento de 0.20 g L<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> y 0.16 g L<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> respectivamente las cuales son comparables con las de algunas cepas puras de microalgas del género *Chorella* (Wood et al. 2005).

	-
Latencia	0-4
Exponencial	4-12
Estacionaria	12-13
Muerte	13-14

Tabla 17. Etapas de crecimiento observables en medio de cultivo BG11 para las muestras combinadas.FaseDías en que se observa

En medio de cultivo BG11 el CMF presentó una adaptación a la composición de este, lo cual se reflejó en la conformación microbiológica del consorcio, en este caso, con un desarrollo poblacional mayor de *Scenedesmus sp.* en relación con *Nostoc sp.* ambas cepas identificadas morfológicamente como se muestra en la Figura 19.

Además de cuantificar la cantidad de biomasa producida con la técnica de peso seco, también se midieron las absorbancias de las muestras a 680 nm, con la finalidad de establecer una correlación entre la cantidad de biomasa microalgal producida y la absorbancia, ajustar a una función lineal estas dos variables y cuantificar la cantidad de biomasa producida (Trevan et al., 1990).



Figura 19. Observaciones al microscopio del CMF en medio BG11 en cada etapa de la propagación: A: Inicial en FBR de 0.3 L; B: Segunda propagación en FBR de 0.3 L; C: Cultivo en FBR de 0.9 L.

En la Figura 20A se muestra la relación de la biomasa producida y la absorbancia medida para la muestra MCRA para verificar la tendencia ambos datos con respecto al tiempo de crecimiento, así como el ajuste lineal de la absorbancia con respecto a  $X_t/X_0$ .



Figura 20. A. Absorbancias a 680 nm y relación de biomasa producida en medio de cultivo BG11: B. Línea de tendencia, ecuación de regresión lineal y coeficiente de correlación.

El ajuste lineal tuvo un coeficiente de correlación de 0.9568, el cual se considera estadísticamente aceptable (Figura 20 B). Sin embargo, para calcular la cantidad de biomasa presente en la muestra recolectada del FBR se tendría que realizar la cuantificación inicial en peso seco ya que utilizando la función lineal se calcula el aumento proporcional con respecto al valor inicial.

Se realizaron ensayos para comparar la cantidad de biomasa presente en diferentes días de la cinética con las medidas calculadas utilizando la función lineal y las absorbancias medibles comparando con la cantidad de biomasa obtenida con peso seco, para validar el uso de esta técnica propuesta en etapas subsecuentes de la investigación.

Sin embargo, los resultados no fueron estadísticamente cercanos a los cuantificados con peso seco, debido a una posible interferencia de medición de clorofila la cual es medible entre 630-650 nm tal como lo sugieren Schagerl et al. 2022, por lo cual no se usó esta técnica para la cuantificación de biomasa del CMF.

Dado que en la muestra MCRA en medio BG11<sub>0</sub> fue la de mayor producción de biomasa y la fase exponencial de su crecimiento está comprendida entre el día 4 y el día 10, se realizó una modificación en el medio de cultivo, agregando un 2 % v/v de medio BG11, el cual corresponde a una concentración de 0.006 g L<sup>-1</sup> de NaNO<sub>3</sub>. En la Figura 21 se muestra la comparación en el comportamiento de la relación de biomasa X<sub>t</sub>/X<sub>0</sub> con y sin el pulso de fuente inorgánica de nitrógeno.



Figura 21. Proporción de producción de biomasa en medio de cultivo BG11<sub>0</sub> con y sin pulso de fuente de nitrógeno.

Aunque la proporción de producción de biomasa para la muestra MCRA en medio BG11<sub>0</sub> fue la mayor al casi triplicar la concentración inicial, esta se incrementa hasta 7 veces más con un pulso de fuente de nitrógeno inorgánico al inicio de la fase exponencial de crecimiento como se puede observar en la Figura 21.

Para confirmar que la biomasa adicional que se produjo con el pulso de nitrógeno corresponda a un incremento de microorganismos fotosintéticos se consideró cuantificar otra variable como la clorofila, además de la cuantificación del ion amonio, la cual indica de forma indirecta la presencia de cianobacterias y determinar el efecto de la fuente inorgánica de nitrógeno sobre la dinámica poblacional del CMF. Sin embargo, al no ser uno de los objetivos de este proyecto doctoral se pospuso dicha valoración.

#### 7.4 Cinética de crecimiento del CMF por lote en FBR de 0.5 L

Para optimizar los tiempos y recursos utilizados, se evaluó el efecto de que el inóculo de los FBR de 0.5 L estuviera en fase exponencial ( $t_4$ ), ya que durante las dos etapas de la propagación de las muestras compuestas y combinadas había sido en fase estacionaria ( $< t_{14}$ ). En la Figura 22 se muestra la comparación de producción de biomasa con respecto al tiempo con un inóculo en fase exponencial y en fase estacionaria en medio BG11<sub>0</sub> (Figura 22A) y en medio BG11 (Figura 22B)



Figura 22. Relación de producción de biomasa con inóculo en diferente fase de crecimiento en medio de cultivo: A. BG11<sub>0</sub>; B. BG11

Un primer aspecto para tener en cuenta es que parecería que un inóculo en fase exponencial alarga el tiempo de crecimiento del CMF dos días a diferencia de lo observado con el inóculo en fase estacionaria, contrario a lo esperado. Sin embargo, es importante hacer la anotación que en los experimentos anteriores se había mantenido la temperatura máxima en un rango entre los 20-25 °C, mientras que en esta ocasión alcanzó una temperatura ambiental de hasta 38 °C durante los días 6 a 8 del experimento.

En ambos medios de cultivo se puede observar un cambio en la tendencia de crecimiento durante los días mencionados ya que para producir una célula con la misma tasa de crecimiento se requiere más carbono y nutrientes a una temperatura no óptima (Hu, 2013). En el medio BG11<sub>0</sub> se observa un aumento en la velocidad de crecimiento mientras que en BG11 presenta una fase estacionaria del crecimiento, lo cual indica un mayor o menor grado de sensibilidad de las microalgas o cianobacterias presentes en el CMF a la temperatura.

En medio  $BG11_0$  (Figura 22A) al usar el inóculo en fase exponencial la relación de producción de biomasa ( $X_t/X_0$ ) incrementa 1.5 veces con respecto al inóculo en fase estacionaria del CMF, a

diferencia del medio BG11 en el cual la  $X_t/X_0$  se mantiene alrededor de 2 veces con ambos tipos de inóculo.



Figura 23. A: Proporción de producción de biomasa de la muestra MCRA en ambos medios de cultivo en FBR de 0.5 L; B: Comparación de la producción de biomasa muestra MCRA en FBR de 0.3 L vs FBR de 0.5 L en medio BG11.

De forma similar a lo ocurrido en los FBR de 0.3 L, la relación de producción de biomasa en los FBR de 0.5 L aumenta, además se identifican las fases de crecimiento, aunque con una modificación en su duración de entre 0-2 días en latencia, de 2-10 días en exponencial, de 10-12 días en estacionaria y después del día 12 en decaimiento como se observa en la Figura 23A.

En la Figura 23B, se comprueba que la relación de producción de biomasa de MCRA se mantiene aún con el cambio de volumen operacional del FBR, lo cual indica que manteniendo constante el resto de las variables (relación área de iluminación/volumen operacional, aireación, pH, temperatura y fotoperiodo), se puede aumentar el volumen total y operacional de los FBR sin afectar la producción de biomasa, es decir, la escalabilidad de la producción del CMF.

#### 7.4.1 Biomasa

Desde la propagación de las muestras simples recolectadas en el cultivo de maíz hasta la producción del CMF en FBR de 0.5 L, el diseño experimental fue unifactorial teniendo como variable dependiente la relación de producción de biomasa. Por lo cual para establecer el desempeño biológico del CMF además de evaluar la  $X_t/X_0$ , se cuantifico la producción de clorofila *a*, concentración de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, intensidad lumínica a través del FBR y OD en ambos medios de cultivo.

En la figura 24 se muestra la relación  $X_t/X_0$  de biomasa en ambos medios de cultivo, en BG11<sub>0</sub> el aumento fue de hasta casi 3.5 veces, mientras que en medio BG11 fue 2. Es importante mencionar

que la densidad celular en el tiempo cero es diferente para cada medio por el tipo de microorganismos del CMF que encuentran presentes en mayor proporción. En medio BG11<sub>0</sub> la concentración inicial fue de 0.17 g/L y final de 0.57 g/L la cual es mayor que la reportada para otros CMF (Hernández-Melchor et al. 2017), mientras que en BG11 las concentraciones inicial y final fueron de 1.7 g/L y 3.5 g/L, respectivamente lo cual es comparable con la producción de cepas puras en aguas residuales o cultivos mixtos.



Figura 24. Relación de producción de biomasa del CMF en ambos medios de cultivo con un inóculo en fase exponencial Derivado del aumento de la relación de producción de biomasa  $X_t/X_0$  de 3 veces en medio BG11<sub>0</sub> (en FBR de 0.3 L) con un pulso de Na<sub>2</sub>NO<sub>3</sub> mediante la adición de 2 % v/v de medio BG11, se evaluó el comportamiento del CMF empleando un inóculo en fase exponencial: temprana:t<sub>4</sub> y tardía: t<sub>9</sub> y aplicando un pulso de nitrato en el día 4 de crecimiento. En la Figura 25 se muestra la relación de producción de biomasa X<sub>t</sub>/X<sub>0</sub> en función de la edad del inóculo y el pulso de nitrato.



Figura 25. Producción de biomasa con diferentes inóculos y pulso de nitrato en el día 4.

Un efecto de usar inóculos en fase exponencial es que la fase de adaptación es inexistente, como se observa en la Figura 25. Hasta el día cuatro el incremento de  $X_t/X_0$  era prácticamente igual con ambos inóculos, sin embargo, después que se agregó 2 % v/v de medio BG11 para dar el pulso de nitrato, la tasa de crecimiento promedio con el inóculo t<sub>9</sub> fue mayor que con el t<sub>4</sub> y se mantuvo por los siguientes ocho días hasta llegar a la máxima  $X_t/X_0$  de aproximadamente 6 en el día 12 que es mayor a la registrada por t<sub>4</sub>.

Es importante mencionar que no hay diferencia en el índice de Margalef para los dos inóculos: 1.5 y 1.4 para  $t_4$  y  $t_9$  respectivamente los cuales son menores de 2, valor que indica un estado de madurez algal óptima para la producción de biomasa.

## 7.4.2 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

El nitrógeno es un elemento esencial para la todas las estructuras y proteínas funcionales de las células de las microalgas y cianobacterias, representa entre el 7-10 % del peso seco de la biomasa. Las microalgas y cianobacterias son capaces de utilizar como fuente de nitrógeno nitritos, nitratos, amonio, urea o nitrógeno atmosférico dependiendo de la vía metabólica mediante la cual lo incorporen al metabolismo celular (Hu, 2013).

La fijación de nitrógeno se lleva a cabo en un complejo enzimático denominado nitrogenasa, conformado por dos unidades (la ferroproteína y la molibdoferroproteína), que se nutre del poder reductor generado en el metabolismo. Se inactiva por la presencia de un agente oxidante como el oxígeno principalmente y se ha reportado la inhibición de la actividad enzimática con concentraciones de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> mayores de 18 mg L<sup>-1</sup> (Li et al. 2010).

El NH<sub>4</sub><sup>+</sup> es preferido por algunos microorganismos para ser asimilado y utilizado como fuente de nitrógeno en comparación con los nitratos, sin embargo, ambas formas son energéticamente beneficiosas para el crecimiento de biomasa microalgal. Por ello es importante en la biotecnología microalgal considerar el suministro adecuado de este nutriente para lograr altos rendimientos en la producción (Grobbelaar, 2013).

Ambos medios de cultivo  $BG11_0$  y BG11 están formulados con una fuente de nitrógeno en forma de  $NH_4^+$  con una concentración mínima de 1.2 ppm para proveer al inicio del crecimiento este nutriente. La diferencia entre estos medios radica en que el BG11 además contiene 1.5 g de  $NaNO_3$  lo cual provee de otra forma de nitrógeno asimilable para los microorganismos fotosintéticos del CMF. La presencia de nitratos favorece al crecimiento de microalgas, mientras que el medio BG11<sub>0</sub> al carecer de esta sal propicia el incremento de cianobacterias, por la necesidad de obtenerlo mediante la fijación de nitrógeno atmosférico. En la Figura 26, se muestra la concentración NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en ambos medios de cultivo durante los 16 días de cinética de crecimiento.

En la Figura 26 la concentración inicial de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> es alrededor de 0.4 mg L<sup>-1</sup> en ambos medios de cultivo, la diferencia de la concentración inicial de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> con respecto a la formulación puede deberse a que durante la esterilización parte el citrato férrico de amonio precipitó, no obstante que en ambos medios se ajustó el pH antes de la esterilización.



Figura 26. Concentración de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en mg L<sup>-1</sup> en ambos medios de cultivo.

En la Figura 26 se observa un descenso en la concentración de  $NH_4^+$  en medio  $BG11_0$  por ser la única fuente de nitrógeno presente al inicio y es el tiempo en que las especies fijadoras de nitrógeno del CMF se aclimatan al medio desplazando la vía metabólica a la transformación del  $N_2$  atmosférico. Después del día 4 la concentración de  $NH_4^+$  aumenta, lo cual es una medida indirecta de la actividad de la nitrogenasa, considerando la siguiente reacción bioquímica:

$$N_2 + 8H^+ + 8e^- + 16 \text{ ATP} \rightarrow 2NH_3 + H_2 + 16 \text{ ADP} + 16 P_i$$
 (9)

En la cual se tendría la presencia de amoniaco ( $NH_3$ ), sin embargo, dado que el pH del medio de cultivo fue entre 7.1-7.5 se favorece la ionización del amoniaco a amonio de acuerdo con la siguiente ecuación química:

$$NH_3 + H_2O \rightarrow NH_4^+ + OH^-$$
(10)

La concentración final del  $NH_4^+$  en medio  $BG11_0$  es alrededor de 1.0 mg L<sup>-1</sup>, cantidad mucho menor a la reportada para la inhibición de la actividad de la nitrogenasa de 18 mg L<sup>-1</sup>. En el medio BG11 la concentración NH<sub>4</sub><sup>+</sup> fue cuantificada porque, aunque preferentemente los microorganismos presentes son microalgas y utilizan el nitrato como fuente inorgánica de nitrógeno se ha observado es necesario la presencia del amonio para le regulación enzimática de la nitrito y nitrato reductasas (Herrero et al., 1981). La concentración máxima en medio BG11 fue de aproximadamente 1.9 mg L<sup>-1</sup> en el día 14 (Figura 26) la cual no se considera tóxica, como para reducir la tasa de crecimiento.

Dado que el medio BG11 es un medio en el cual pueden coexistir algas verdes y cianobacterias, el incremento en la concentración de amonio durante los 14 días se puede atribuir a la presencia de cianobacterias en el CMF (Grobbelaar, 2013). Las cianobacterias aportan cierta cantidad de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> por la fijación del nitrógeno molecular al medio, aunado a una baja en la tasa de absorción y el amonio transformado a partir de los nitratos.

# 7.4.3 Clorofila a

Todos los microorganismos fotosintéticos contienen pigmentos orgánicos para el aprovechamiento de la energía luminosa, los cuales pueden ser clorofila, carotenoides y ficobilinas. Los diferentes tipos de clorofila tienen dos bandas de absorción: azul o verde-azul (450-475 nm) y roja (630 a 675 nm). La clorofila *a* está presente en todos los fotoautótrofos oxigénicos como parte de los complejos pigmento-proteicos del núcleo (Masojídek, 2013) y representa del 0.5 al 1.5 % de peso seco de microalgas y cianobacterias (Hachichaet al. 2022).

Por lo anterior, la producción de clorofila *a* se cuantificó para evaluar la actividad fotosintética del CMF y su desempeño relativo (Richmond, 2013). Además, la cantidad de estos pigmentos está relacionada con la producción de biomasa y puede ser un indicador del crecimiento de microorganismos fotosintéticos en el CMF (Woodet al. 2005). En la Figura 27 se muestra la producción de clorofila *a* en ambos medios de cultivo.

La concentración máxima de clorofila *a* se alcanza en ambos casos el día 10 de la cinética de crecimiento, en medio BG11 fue de aproximadamente 12 mg L<sup>-1</sup> la cual es cuatro veces mayor que en medio BG11<sub>0</sub>. Esto se debe a que las microalgas han sido reportadas como las principales productoras de clorofila, entre ellas *Chlorella sp.* En medio BG11<sub>0</sub> la concentración máxima fue de 3 mg L<sup>-1</sup> la cual es mayor a la reportada por otros CMF (Hernández-Melchoret al. 2017).



Figura 27. Concentración de cloforila *a* producida por el CMF en ambos medios de cultivo.

## 7.4.4 HCO3<sup>-</sup>

Además de la luz solar, micronutrientes y agua los microorganismos fotosintéticos requieren de CO<sub>2</sub> como fuente de carbono para su crecimiento. Es un hecho que la biomasa del cultivo de microalgas y cianobacterias se produce con base en la siguiente reacción general:

 $CO_2 + H_2O + nutrientes + energía luminosa \rightarrow biomasa + O_2$ 

Asimismo, los microorganismos fotosintéticos tienen una eficiencia para capturar  $CO_2$  de 10 a 15 veces mayor que las plantas superiores y lo pueden captar de la atmósfera (Hosikianet al., 2010).

En agua dulce, el sistema  $CO_2-H_2CO_3-HCO_3^{-2}-CO_3^{-2}$  es el más importante búfer para controlar y mantener el pH en niveles óptimos para la producción de biomasa de algunas especies fotosintéticas, aunque durante la fijación de nitrógeno el medio se acidifica, las cianobacterias absorben dióxido de carbono el cual disuelta en agua forma ácido carbónico el cual se disocia en iones bicarbonato y protones, así que dependiendo de la actividad predominante fijación de nitrógeno o fotosíntesis el pH puede aumentar gradualmente(Grobbelaar, 2013).

La Agencia Europea del Medio Ambiente considera que 0.0391 % de la composición del aire es  $CO_2$ y dado que el flujo de aire en los FBR fue de 1.75-2 L min<sup>-1</sup> durante 24 horas, se suministraron entre 80.4-91.8 mg h<sup>-1</sup> de  $CO_2$  más 17 mg L<sup>-1</sup> de  $Na_2CO_3$  que contenía en la formulación ambos medios de cultivo, en la Figura 27 se muestra la concentración de carbono inorgánico presente en el medio de cultivo durante la cinética de crecimiento.

En la Figura 28 se observa una diferencia en la concentración de  $HCO_3^-$ , en BG11 aumenta la concentración hasta aproximadamente 60 mg L<sup>-1</sup> en el día 8, mientras que en BG11<sub>0</sub> disminuye durante los primeros 6 días. Este fenómeno coincide con el periodo en el que el CMF presentó una mayor tasa de producción de biomasa, lo cual es indicio de un mejor aprovechamiento tanto del CO<sub>2</sub> del aire y del CO<sub>3</sub><sup>-</sup> el medio.



Figura 28. Concentración de carbono inorgánico (HCO<sub>3</sub>-) en ambos medios de cultivo.

Después del día 10 en ambos medios de cultivo desciende la cantidad de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> presente en el medio, lo cual coincide con el día en que disminuye la producción de clorofila.

# 7.5 Modelo cinético del CMF

Ver Anexo I. Artículo publicado

# 7.6 Optimización de la relación $A_i/V$ como criterio de escalamiento

Ver Anexo II. Derechos de autor

## 7.7 Diseño del FBR flat panel

En el caso del *flat panel*, el largo *l* se fijó relativamente en 0.26 m, la altura  $h_i$  en un intervalo de 0.2 a 0.32 m para mantener la configuración rectangular representativa del mismo y el ancho  $w_i$  como función de la anteriores. Las dimensiones del *flat panel* para una configuración estable se muestran en la Figura 8, así como el diseño tridimensional del mismo.



Figura 29. FBR flat panel. A. Plano de construcción. B. Diseño tridimensional

# 7.8 Diseño y configuración de los FBR: FTri, FCB y FLG.

En la Tabla 18, se muestran las dimensiones y diseños de los otros tres FBR, triangular, columna de burbuja y laguna.







# 7.9 Caracterización hidrodinámica y cinética de crecimiento en FBR de 5 L

La pendiente de la Ecuación (5), es el  $k_L a$ , la variación de este coeficiente con diferentes flujos de aire debe mantenerse constante para que el sistema se considere estable. En la Figura 30 se observa la linealización promedio del  $k_L a$  ascendente y descendente para el FCP, en sistema bifásico y trifásico, la razón de incremento del  $k_L a$  con respecto al de flujo de aire se mantiene constante desde 0.5 hasta 3.5 L min<sup>-1</sup> por lo cual se estableció como óptimo máximo para la transferencia de masa la operación del FBR a 3.5 L min<sup>-1</sup> de aire.



Figura 30. Variación del  $k_L a$  a diferentes flujos de aire para el FBR de cara de plana de 5 L

La estimación del  $k_L a$  global para el FTri en sistema bifásico y trifásico se puede observar en la Figura 31, el incremento de la razón se mantiene constante en el intervalo de 0.5 hasta los 3.0 L min<sup>-1</sup> después de este intervalo de flujos de aire existe un cambio en la tendencia en ambos sistemas, en sentidos diferentes por lo cual se considera este último como el flujo de aire máximo óptimo para el crecimiento del CMF.



Figura 31. Variación del  $k_L a$  a diferentes flujos de aire para el FTRi en sistema bifásico y trifásico

Al mantener la relación área de iluminación/volumen operacional constante para el diseño de los fotobiorreactores y configuración geométrica diferente: el FCP tenía un largo de 40 cm y el FTRi de 60 cm, a lo cual se atribuye la diferencia de flujo de aire máximo óptimo sea diferente, aunque tienen el mismo volumen operacional.
Aunque el flujo máximo para el FTRi es menor que para el FCP, se requirió una bomba de mayor potencia para alcanzar el flujo máximo de 5 L min<sup>-1</sup> con la finalidad de que se aireara toda la línea, sin embargo, no fue así. También se pudo observar una variación en las mediciones del OD con mayor rango de dispersión de los datos en el FTRi como se observa en la Figura 32.

Además de la diferencia entre el rango de dispersión de los datos, también se puede observar un aumento en el tiempo para la estabilización de la concentración de oxígeno disuelto en el FTRi de 2500 s en comparación con 1350 s del FCP.



Figura 32 Variación en las mediciones experimentales de OD en la cara ascendente del fotobiorreactor: A. FCP, flujo de 3.5 L min<sup>-1</sup>; B. FTRi, flujo de 3 L min<sup>-1</sup>.

El método dinámico para determinar el flujo de aire máximo para el  $k_L a$  óptimo, indicó un flujo de 3.5 L min<sup>-1</sup> para el FCP y de 3 L min<sup>-1</sup> para el FTRi, por las características geométricas de cada uno, se comparó la producción de biomasa del CMF con un flujo 0.5 L min<sup>-1</sup> menor y mayor al calculado para comprobar experimentalmente que los flujos de aire correspondían a los máximos óptimos.



Figura 33. Comparación de producción de biomasa del CMF para el flujo de óptimo calculado y un flujo mayor o menor. A. FCP; B. FTri.

En la Figura 33 se muestra una tendencia de incremento de biomasa similar para ambos flujos, tanto en el FCP como en el FTRi. En la Figura 33A la concentración de biomasa producida en el FCP con un flujo menor al óptimo calculado disminuyó a partir del segundo día y tuvo una producción 28 % menor al final, de 790 mg L<sup>-1</sup> a 1100 mg L<sup>-1</sup>. De forma similar en la Figura 33B la concentración de biomasa final producida en FTRi, con un flujo mayor al óptimo disminuye un 12 %, de 1090 mg L<sup>-1</sup> a 960 mg L<sup>-1</sup>.

Aunque en ambos FBR disminuye la concentración de biomasa producida, las razones por la cuales sucede difieren. En condiciones de menor flujo, la disponibilidad de nutrientes es inferior a la óptima. Por otro lado, en situaciones de mayor flujo, puede ocurrir la ruptura de la pared celular, lo que resulta en una disminución en la cantidad de microorganismos viables (Zitelli, et al 2013).

Con la modificación de la técnica para la determinación de la velocidad óptima de rotación de la paleta de mezclado para el FLG, después de resolver las Ecuaciones 6 y 7, la ubicación de los centroides para cada área se muestra en la Figura 34. La ubicación del sensor en el A<sub>1</sub>, quedó después de la paleta de mezclado.



Figura 34. Localización de los centroides en el área de iluminación del FGL para colocar los sensores de medición del OD. Mediante una metodología análoga a la empleada en la técnica de FBR cerrados, se llevaron a cabo las mediciones de OD en cada una de las ubicaciones en sistema bifásico exclusivamente. Esto se debió a que, en sistema trifásico, la utilización de sulfito de sodio anhidro resulta tóxica para el CMF, provocando la pérdida de su actividad metabólica. En la Figura 35 se presenta el valor de  $k_L a$  para diferentes velocidades de rotación de la paleta de mezclado a las que operó el FLG. Es relevante señalar que no fue posible realizar mediciones a velocidades inferiores a 20 rpm debido a que el motor de la paleta de mezclado se detenía por el esfuerzo de operar a una velocidad baja. Asimismo, no fue posible realizar mediciones a velocidades superiores a 45 rpm, ya que el flujo del fluido se tornaba turbulento y provocaba derrames fuera del FBR.



Figura 35. Figura 1. Variación promedio del k<sub>L</sub>a en el FLG con diferente velocidad de mezclado.

Como se puede observar en la Figura 35, únicamente para las velocidades de 20 y 25 rpm, la tendencia de aumento del  $k_L a$  es lineal. Se consideró que la velocidad máxima óptima para operar el FLG fue de 25 rpm. Al igual que en el caso del FCP y FTRi, se validó experimentalmente esta condición operacional mediante la comparación de la cuantificación de biomasa producida por el CMF a una velocidad superior de 30 rpm (Figura 36).



Figura 36. Comparación de producción de biomasa del CMF en el FLG a diferentes velocidades de mezclado.

La diferencia en la producción de biomasa del CMF con una velocidad de mezclado de 30 rpm, comparada con la obtenida a 25 rpm, mostró un incremento de 2.7 veces, pasando de 1300 mg L<sup>-1</sup> a 3500 mg L<sup>-1</sup>, lo cual representa un aumento del 62 % (Figura 36). Esto confirma que la modificación de la técnica es efectiva y resulta en la optimización de una condición operacional en este tipo de FBR.

El promedio de los tiempos de mezclado con respecto al flujo de aireación para el FCP y el FTRi se presenta en la Figura 37, en la cual se observa una tendencia inversamente proporcional al flujo de aireación. Además, se puede observar en la Figura 6 que los tiempos de mezclado son mayores para el FTRi, lo cual se relaciona con la longitud de este FBR. A pesar de contar con un flujo máximo de 5 L min<sup>-1</sup>, la parte central no presenta burbujeo, lo que implica un mayor tiempo para la homogenización de la mezcla.



Figura 37. Promedio de los tiempos de mezclado ascendente y descendente para el FCP y el FTRi.

En la tabla 19, se presentan los valores calculados para cada uno de los parámetros hidrodinámicos, en los fotobiorreactores de configuración cerrada.

Parámetro hidrodinámico	FCP	FTRi
Coeficiente de transferencia de masa (K <sub>L</sub> a)	0.0015 s <sup>-1</sup>	0.0006 s <sup>-1</sup>
Velocidad superficial $(U_G)$	0.00149 m s <sup>-1</sup>	0.00058 m s <sup>-1</sup>
Tiempo de mezclado $(T_m)$	46 s	72 s
Fracción de gas retenida ( $\varepsilon_G$ )	0.062	0.043
Potencia volumétrica $\left( rac{P}{V}  ight)$	0.0073 W m <sup>-3</sup>	0.0028 W m <sup>-3</sup>

Tabla 19. Parámetros hidrodinámicos calculados para el FCP y el FTRi.

Los tres fotobiorreactores evaluados fueron diseñados, construidos e instrumentados con una  $\frac{A_i}{V_0}$  de 17 ± 1, lo cual equivale a un área de iluminación aproximada de 0.1 m<sup>2</sup>. Las características específicas de operación de los tres fotobiorreactores evaluados se presentan en la Tabla 20.

De los FBR de configuración cerrada, el FCP es el más eficiente, ya que presenta un mayor coeficiente de transferencia de masa, un menor tiempo de mezclado y una mayor fracción de gas retenida. Estas características se reflejan directamente en la producción de biomasa de CMF, la cual fue un 6 %

mayor en este FBR. Además, es importante mencionar el efecto de la longitud del FTRi sobre la homogenización del cultivo, ya que la biomasa tiende a acumularse en la parte central inferior, como se observa en la Figura 38.

Característica	Tipo de fotobiorreactor		
	Cara plana (FCP)	Triangular (FTRi)	Laguna (FLG)
Configuración	Cerrada	Semiabierta	Abierta
Volumen total (V <sub>t</sub> )	6 L	6 L	6 L
Volumen operacional (V <sub>0</sub> )	5 L	5 L	5 L
Área de iluminación	0.096 m <sup>2</sup>	0.09 m <sup>2</sup>	0.09 m <sup>2</sup>
$\frac{A_i}{V_o}$	18 m <sup>-1</sup>	18 m <sup>-1</sup>	18 m <sup>-1</sup>
Flujo de aireación	3.5 L min <sup>-1</sup>	4 L min <sup>-1</sup>	NA
Diámetro de burbuja de aireación	2 mm	2mm	NA
Forma de mezclado	Aireación	Aireación	Paletas
Tiempo de mezclado (T <sub>m</sub> )	20 s	30 s	15 s
Velocidad de agitación	NA	NA	30 rpm

Tabla 20. Características y condiciones de operacionales de los FBR.



Figura 38. Problemas de mezclado del FTRi con el flujo de aireación óptimo para un k<sub>L</sub>a estable

El aumento de área de iluminación de 0.01 m<sup>2</sup> en el FCB de 0.5 L a 0.09 m<sup>2</sup> en el FCP de 5L, así como la diferente configuración geométrica, se reflejó en un incremento en las concentraciones finales de biomasa, tal como se observa en la Figura 39A, aunque en ambos la concentración inicial fue de 0.16 g L<sup>-1</sup>. La concentración máxima alcanzada fue de 0.58 g L<sup>-1</sup> en el FCB y de 1.1 g L<sup>-1</sup> en el FCP. Lo anterior representa un aumento del doble en la relación Xt/X<sub>0</sub> como se muestra en la Figura 39B.

Además de la diferencia en la concentración final de biomasa, la velocidad específica de crecimiento  $(V_{max})$  es mayor en el FCP con un valor promedio de 0.19 d<sup>-1</sup>, mientras que el FCB fue de 0.11 d<sup>-1</sup>, lo cual representa una mayor productividad volumétrica (P<sub>v</sub>) en el FCP con un valor de 0.21 g m<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup> contra 0.05 g m<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup> en FCB.



En cuanto a la concentración de clorofila *a*, en ambos FBR se mantuvo la misma tendencia que la producción de biomasa y de igual forma la concentración en el FCP es mayor que en la del FCB como se observa en la Figura 40.



Figura 40. Comparación de la concentración de clorofila en FCB vs FCP.

Dado que la luz actúa como el principal sustrato para el CM) y considerando que el medio de cultivo BG11<sub>0</sub> no contiene nitrógeno en forma de nitratos, así como el diseño de los FBR con una relación  $\frac{A_i}{V_0}$ igual, se anticiparía que el aumento en la concentración de biomasa siguiera una tendencia similar y se lograra una concentración final de aproximadamente 1.0 g L<sup>-1</sup>, tal como se ilustra en la Figura 41.



Figura 41. Concentración de biomasa del CMF en los diferentes fotobiorreactores.

Al tratarse de la producción del CMF en FBR por lote, si solo se analizara el cambio en  $\frac{X_t}{X_0}$  en los tres todos cuadruplicaron de la biomasa inicial. Siendo el FCP cerrado el de mayor y el FLG el mayor con 4.6. En la Figura 42 se observa que en el FLG y FTRi, se presentó una fase de adaptación del CMF durante los primeros tres días, aunque el inóculo se tomó en el día 4 de crecimiento para asegurar se encontrarán en fase exponencial y continuará así su crecimiento. Este fenómeno se atribuye al cambio de configuración cerrada del FBR donde creció el inóculo a un FBR de configuración abierta.

De forma similar sucedió con la clorofila *a*, como se observa en la Figura 42 en la cual la concentración de clorofila *a* aumenta durante los 14 días de la cinética de crecimiento. En los tres primeros días para el FLG incluso existe una disminución en la concentración de clorofila *a*, mientras que en el FTRi la concentración es menor en comparación la de FCP.



Figura 42. Comparación de la concentración de clorofila a en los tres FBR

La disminución de la cantidad de clorofila en el FLG corresponde con la coloración amarilla que presentó al inicio este FBR a diferencia de los otros dos como se observa en la Figura 43. El parámetro cinético para determinar la madurez algal del CMF es el índice de Margalef el cual presentó valores entre 3 y 4, es decir, aún en estado de reproductivo.



Figura 43. Seguimiento del cultivo del CMF en los tres FBR en el t<sub>0</sub> y t<sub>3</sub>.

Después del día 8, la coloración de los tres FBR fue muy similar, lo cual coincidió con la concentración de clorofila *a*. En la Figura 44 se muestra el cambio de coloración macroscópica en los tres FBR en los días 2,4,5,6,8,9,11 y 12.



Figura 44. Seguimiento de la coloración del CMF en los tres FBR (de izquierda a derecha: FCP, FTRi y FLG) entre t<sub>3</sub> y t<sub>12</sub>.

También se realizó un monitoreo microscópico con la finalidad de observar algún cambio en la dinámica poblacional del CMF o contaminación de este por el contacto con el ambiente, principalmente en el FLG al ser este de configuración abierta.

El CMF mostró adaptabilidad a los cambios de condiciones como son el aumento de temperatura, disminución o aumento del pH del medio, flujo de aireación y forma de desinfección del FBR y contacto con el ambiente (en el caso del FLG). En la Figura 45 se muestra la comparación microscópica del CMF al t<sub>0</sub> y t<sub>14</sub> para los tres FBR.



Figura 45. Observaciones al microscopio del CMF; A. Inóculo t<sub>0</sub>: B. FCP t<sub>14</sub>; C. FTRi t<sub>14</sub>; D. FLG t<sub>14</sub>

Para validar estadísticamente la producción de biomasa y clorofila *a* en cada uno de los FBR se cuantificó la producción del CMF durante 21 días por triplicado. En la Figura 46 se muestra la producción de biomasa para cada repetición y el promedio de esta en cada FBR.





En la Figura 46B, el FTRi tuvo una banda de mayor amplitud en la dispersión de los datos de las diferentes repeticiones, aunque mantiene la tendencia de aumento de producción de biomasa del CMF, lo cual se atribuye a la acumulación de biomasa en el centro del FBR.

La concentración promedio final de biomasa fue de 1173.3, 1100 y 1546 mg L<sup>-1</sup> para el FCP, FTRi y el FLG respectivamente. Se realizó un análisis estadístico ANOVA simple de una variable con un resultado p=0.0002, lo cual indica que sí hay diferencia significativa entre la concentración de biomasa en los diferentes FBR. La concentración promedio final de biomasa es significativamente mayor en el FLG que en el FCP y FTRi.

En la Tabla 21 se muestra la comparación de producción de biomasa del CMF con otros consorcios o con cepas puras de la especie *Nostoc sp* por ser la cianobacteria identificada morfológicamente en

el CMF que predomina en la dinámica poblacional en medio de cultivo BG11<sub>0</sub>. La concentración de biomasa promedio del CMF se encuentra en la parte intermedia de la concentración máxima de una cepa pura en condiciones específicas de laboratorio y una cultivada en aguas residuales, en la cual el efecto buscado es la remoción de nitrógeno presente.

La cantidad de clorofila *a*, tiene la misma tendencia en los tres fotobiorreactores con concentraciones promedio finales de 3.57, 4.28 y 5.88 mg  $L^{-1}$  para FTRi, FCP y FLG respectivamente.

Cepa/Consorcio	Condiciones de crecimiento	Biomasa (mg L <sup>-1</sup> )	Referencia
Nostoc	Medio de cultivo Fog´s	1420-2900	Devi, T.E. &
elipsosporum	4500 lux		Parthiban, R., 2020
	Luz LED azul		
	Fotoperiodo 16:08 horas (luz:obscuridad)		
	0.2 vvm aireación		
	Lote de 1L		
Nostoc muscorum	Medio de cultivo BG11	1470-2070	Ortiz-Moreno et al.,
	Fotoperiodo 12:12 horas		2020
	1000 Lux		
	Sistema hidropónico		
	10 L		
CMF	Medio de cultivo BG11 <sub>0</sub>	1450-1620	Presente estudio
	Fotoperiodo 12:12 horas		
	Lote de 5 L		
	20 días		
	Fotobiorreactor de laguna		
Nostoc flagelliforme	Urea como fuente de nitrógeno.	720-1200	Han et al., 2017
	9 días de iluminación con luz blanca y 9 días		
	con iluminación 12:5:5 longitudes de onda		
	rojo/azul/verde		
Consorcio de cultivo	Medio de cultivo BG11 <sub>0</sub>	305	Hernández-Melchor,
de arroz Anabaena	Fotoperiodo 12:12 (luz:oscuridad)		2017
oscilliaroides	FBR Columna de burbuja 11 L		
(cianobacteria)	Flujo de aire de 10 L min <sup>-1</sup>		
	3480 Lux		
	14 días		
Nostoc muscorum	Medio de cultivo agua residual	140-143	Khan et al. 2019
	FBR de laguna		
	Temperatura y luz ambiente		
	Periodo de luz de 12 a 15 horas		

Tabla 21. Concentración de biomasa de consorcios o cepas de *Nostoc sp*.

Dado que el aumento en la concentración de biomasa tuvo una tendencia similar en los tres FBR algún cambio entre los parámetros de crecimiento puede ser decisivo para la elección del FBR para el escalamiento ascendente a 20 L. Los valores calculados de dichos parámetros se muestran en la Tabla 22. Considerando un parámetro intensivo de P<sub>b</sub> y el extensivo F<sub>b</sub> el FLG tendría ventaja de producción del CMF sobre los otros dos FBR. Sin embargo, el FCP sería recomendado para el aprovechamiento de los gases producidos por un biodigestor en el contexto de una biorrefinería.

Tabla 22. Parámetros de	e crecimiento	evaluados en	los tres FBR
-------------------------	---------------	--------------	--------------

Parámetro	FCP	FTRi	FLG
$\mu$ ( $d^{-1}$ )	0.16	0.15	0.17
$\mathbf{P_b}\left(g\cdot m^{-3}d^{-1}\right)$	0.17	0.16	0.19
$\mathbf{P}_{a}(g\cdot m^{-2}d^{-1})$	0.017	0.011	0.011
$m(d^{-1})$	0.11	0.10	0.11
$F_b(g\cdot d^{-1})$	0.0011	0.0096	0.0011

Donde: μ, velocidad específica de crecimiento. P<sub>b</sub>, productividad volumétirca. P<sub>a</sub>, productividad areal. m, velocidad específica de mantenimiento, F<sub>b</sub>, velocidad de producción de biomasa.

Otro aspecto para considerar además de los parámetros de crecimiento es el consumo de energía durante el periodo de operación de los tres FBR, este dato se muestra en la Tabla 23.

Tabla 23.Consumo de energía de cada FBR.				
FBR	Consumo por iluminación ( $W h^{-1}$ )	Consumo por aireación y agitación $(W \ h^{-1})$	Consumo total $(W \ d^{-1})$	
FCP	36	3.9	526	
FTRi	36	4.5	540	
FLG	36	2.6	494	

El menor consumo energético durante los 14 días de operación es el del FLG seguido de la FCP. Además del consumo energético y los parámetros de crecimiento, también es importante considerar la tasa de pérdida de volumen ya que esta indica la evaporación y reposición del medio con agua, los valores son de 0.14, 0.18 y 0.4 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> para el FCP, FTRi y FLG respectivamente. Lo cual refleja que a una mayor área en contacto con el ambiente aumenta la pérdida de volumen.

### 7.10 Evaluación del potencial biofertilizante/bioestimulante del CMF

Cinco semanas después del trasplante algunas plantas mostraron pobre crecimiento y cuatro murieron (una planta en T1 y T3 y dos en T6), por lo que en la sexta semana se realizó una segunda poda de raíces y la primera poda de la biomasa aérea para estimular el crecimiento de las plantas. Antes de la segunda poda se midió el volumen de las raíces para evaluar el efecto del CMF como enraizador.

Utilizando el CMF como tratamiento de enraizamiento, el volumen promedio de raíces fue de 391 ± 13.4 cm<sup>3</sup>, en comparación con 371 ± 9.61 cm<sup>3</sup> para el enraizador comercial (Root Fact<sup>®</sup>), y 347 ± 5.7 cm<sup>3</sup> para el control (Figura 47A). Los resultados de las pruebas de ANOVA y Dunnett demostraron que ambos tratamientos de enraizamiento resultaron en un volumen de raíces significativamente mayor que el control. Si bien PMC y Root Fact<sup>®</sup> fueron estadísticamente iguales, los resultados mostraron que el PMC es útil como agente de enraizamiento incluso con un mejor desempeño que el producto comercial utilizado actualmente para el cultivo de fresa. El CMF demostró ser un promotor eficaz del desarrollo radicular, alcanzando niveles equivalentes al uso de fertilizantes convencionales.

Para evaluar el aumento del tamaño de las plantas de fresa, minimizando la influencia de las diferencias iniciales entre plantas, se calculó la relación entre la altura medida y la inicial ( $h_t/h_0$ ) (Figura 2) en cada momento. La altura de las plantas varió con los tratamientos en el siguiente orden: T2 > T3 > T5 > T1 > T4 > T6 (Figura 47B). Sin embargo, solo las plantas de T2 y T3 fueron significativamente más altas que las plantas de T6. Estos resultados mostraron que el CMF (T6) fue el tratamiento que menos promovió la división celular y la elongación. Sin embargo, cuando el CMF se combinó con el 25 % del fertilizante químico (T5), la altura de las plantas fue similar a la de T2 y T3.



Figura 47. Desarrollo de las plantas. A: Volumen de la raíz; B: Relación de altura de planta ( $h_{t/}h_0$ ). PMC: consorcio microbiano fotosintético,  $h_t$ : altura de la planta en el tiempo t;  $h_0$ : altura inicial de la planta

Dado que la fresa es un cultivo frutal de tipo perenne el cual crece mejor en climas templados, en suelos bien drenados con un pH ligeramente ácido, con riego constante y adecuado, cuya propagación es principalmente mediante estolones; la relación entre la cantidad de flores y frutos en la fresa es bastante directa y de importancia agronómica, ya que cada flor tiene el potencial de convertirse en un fruto. Por ello, en la Figura 48 se muestra la cantidad de flores y frutos en los meses de tratamiento.

La evaluación del CMF como suplemento biofertilizante-bioestimulante reveló resultados significativos en diversos tratamientos. En particular, el tratamiento T4, compuesto por un 50% de CMF y un 50% de fertilizante químico, mostró una floración anticipada de 3 semanas con respecto al T2, el cual solo es fertilización química (Figura 48A). Lo anterior coincide con la aparición de frutos dos semanas antes con el T4 en comparación con el T2, además de tener una mayor cantidad de frutos alcanzó su máxima productividad en el día 55 del experimento (Figura 48B).



Figura 48. A. Cantidad de flores. B. Cantidad de frutos

## 8. CONCLUSIONES

El CMF mostró una notable estabilidad en cuanto a composición microbiológica y producción de biomasa, frente a variaciones de temperatura y condiciones de esterilidad o únicamente desinfección de los FBR. Esta característica de estabilidad es fundamental para su aplicación en diversos contextos biotecnológicos, ya que garantiza el rendimiento del CMF en sistemas donde las condiciones estériles son difíciles de mantener, sin comprometer su eficacia.

También, el CMF mostró una capacidad de adaptación destacable al ser cultivado en dos medios distintos, lo cual modificó la dinámica poblacional a favor de una mayor proporción de cianobacterias en un medio sin nitratos, y una mayor proporción de microalgas en un medio con fuente inorgánica de nitrógeno. Este comportamiento sugiere que el CMF posee una flexibilidad metabólica que le permite optimizar su crecimiento y composición bajo diferentes regímenes nutricionales, abriendo así nuevas oportunidades para su explotación en la producción de biomasa y otros compuestos de interés biotecnológico, posicionándolo como un candidato prometedor para bioproductos.

En el área de Ingeniería de bioprocesos el factor gamma, este se posiciona como un posible parámetro en el escalamiento de FBR, debido a su estrecha correlación con la optimización del coeficiente de transferencia de masa. Esta optimización impacta directamente en las condiciones operacionales de los FBR con diversas configuraciones geométricas para la mayor producción de biomasa y clorofila *a* del CMF.

Mantener constante el factor gamma en el diseño, construcción e instrumentación en diferentes configuraciones geométricas reveló que las dimensiones del FTRi no fueron las más adecuadas para asegurar un mezclado homogéneo. Esta observación subraya la necesidad de ajustar las dimensiones y condiciones operativas específicas de cada configuración geométrica para alcanzar una óptima transferencia de masa y, por ende, una producción eficiente de biomasa y clorofila *a*.

El FLG demostró tener una mayor producción en comparación con el FCP y el FTRi, resaltando la importancia de considerar las particularidades de cada configuración geométrica en el proceso de escalamiento.

La definición de una cinética bioquímica para el CMF, que considera como productos la concentración de biomasa, amonio y clorofila *a*, tomando como base la cantidad de OD y la irradiación luminosa a través del FBR, permitió el desarrollo de un modelo dinámico no estructurado

validado experimentalmente. Este modelo ofrece una descripción precisa de las características de formación de producto y consumo de reactivos del CMF, así como la relación con el  $k_L a$ . El desarrollo de este modelo proporciona una herramienta esencial para optimizar las condiciones operacionales de los FBR en escalas volumétricas mayores, asegurando así una producción más eficiente y controlada.

Además, el modelo dinámico no estructurado desarrollado no solo facilita la comprensión de los procesos bioquímicos del CMF, sino que, al emplear este modelo, es posible ajustar y predecir con mayor precisión las condiciones necesarias para maximizar la producción de biomasa, amonio y clorofila *a*, adaptándose a diferentes configuraciones y escalas de los FBR.

Por último, en el área agronómica, el CMF demostró un considerable potencial biofertilizantebioestimulante al ser utilizado como suplemento agrícola. La capacidad para adelantar la floración y, en consecuencia, la aparición y cantidad de frutos en tres semanas en un cultivo de fresa, representa una ventaja significativa en comparación con los productos comerciales actualmente disponibles. Este resultado es especialmente relevante cuando se considera una proporción 50-50, de biofertilizante-fertilizante químico, lo cual no solo sugiere una reducción del 50 % en el uso de fertilizantes químicos, sino que también implica un impacto ambiental positivo al disminuir la dependencia de estos productos. Esta ventaja ecológica subraya la importancia de explorar y fomentar el uso de CMF en la agricultura sostenible.

El CMF mostró un efecto prometedor como enraizador, lo que sugiere su utilidad en etapas tempranas de desarrollo de las plantas. Esta característica podría mejorar la eficiencia y éxito del cultivo, contribuyendo a una producción más robusta y saludable. La combinación de estos beneficios resalta el valor añadido del CMF.

## 9. REFERENCIAS

Abinandan, S., Subashchandrabose, S., Venkateswarlu, K., & Megharaj, M. (2019). Soil microalgae and cyanobacteria: the biotechnological potential in the maintenance of soil fertility and health. *Critical Reviews in Biotechnology*, 39, 981 - 998. https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1654972

Ahmad, I., Abdullah, N., Koji, I., Yuzir, A., & Muhammad, S. (2021). Evolution of photobioreactors: A review based on microalgal perspective. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1142. <u>https://doi.org/10.1088/1757-899X/1142/1/012004</u>

Al-Dailami, A., Koji, I., Ahmad, I., & Goto, M. (2022). Potential of photobioreactors (PBRs) in cultivation of microalgae. *Journal of Advanced Research in Applied Sciences*, *27*(1), 32-44.

Alvarado-Santos, E., Aguilar-López, R., Neria-González, M.I., Romero-Cortés, T., Robles-Olvera, V.J., and López-Pérez, P.A. (2023). A novel kinetic model for a cocoa waste fermentation to ethanol reaction and its experimental validation. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, *53*(2), 167-182. <u>https://doi.org/10.1080/10826068.2022.2056746</u>

Alvarez, A., Weyers, S., Goemann, H., Peyton, B., & Gardner, R. (2021). Microalgae, soil and plants: A critical review of microalgae as renewable resources for agriculture. *Algal Research*. <u>https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2021.102200</u>

Andersen, R. A. (2013). The microalgal cell. En: Q. Hu, & A. Richmond (Eds.) *Handbook of microalgal culture: Applied phycology and biotechnology* (2<sup>nd</sup> Ed., pp. 3-20). Wiley Blackwell. <u>https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch1</u>

Anduro, J., Cantú, E., Campas, O., López, J., Sánchez, D., & Félix, A. (2017). Diagnóstico de la calidad sanitaria del agua de pozo en comunidades del sur de Sonora, México. *Revista de Salud Pública y Nutrición*, 16(1), 2-8. <u>https://doi.org/10.29105/respyn16.1-1</u>

APHA, AWWA, WPCF (1992). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 16th Edition. Washington, D.C.

Armenta-Bojórquez, A. D., García-Gutiérrez, C., Camacho-Báez, J. R., Apodaca-Sánchez, M. Á., Gerardo-Montoya, L., & Nava-Pérez, E. (2010). Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. *Ra Ximhai, 6*(1), 51-56.

Baker, D. W., & Haynes, W. (2020). Engineering statics: open and interactive.

Bani, A., Fernández, F., D'Imporzano, G., Parati, K., & Adani, F. (2020). Influence of photobioreactor set-up on the survival of microalgae inoculum. *Bioresource technology*, 320 Pt B, 124408. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124408.

Beardall, J. & Raven, J.A. (2016). Carbon acquisition by microalgae. En: Borowitzka, M., Beardall, J., Raven, J. (Eds.) *The physiology of microalgae. Developments in applied phycology,* vol 6. Springer, Cham. <u>https://doi.org/10.1007/978-3-319-24945-2\_4</u>

Becker, L., Sturm, J., Eiden, F., & Holtmann, D. (2023). Analyzing and understanding the robustnessofbioprocesses.*TrendsinBiotechnology*, 41(8),pp.1013-1026.https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2023.03.002

Bharti, A., Prasanna, R., Kumar, G., Kumar, A., & Nain, L. (2019). Co-cultivation of cyanobacteria for raising nursery of chrysanthemum using a hydroponic system. *Journal of Applied Phycology*, 31, 3625 - 3635. <u>https://doi.org/10.1007/s10811-019-01830-9</u>

Bhatt, P., & Nailwal, T. K. (2018). Crop improvement through microbial technology: a step toward sustainable agriculture. En: *Crop improvement through microbial biotechnology* (pp. 245-253). Elsevier. <u>https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63987-5.00011-6</u>

Bogaerts, P., & Wouwer, A. V. (2023). *Mathematical Modeling and Control of Bioprocesses* (p. 302). MDPI-Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <u>https://doi.org/10.3390/books978-3-0365-7141-6</u>

Brand, J. J., Andersen, R. A., Nobles, D. R. Jr. (2013). Maintenance of microalgae in culture collections. En: Q. Hu, & A. Richmond (Eds.), *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology* (2nd., pp. 80-89). Wiley Blackwell. <u>https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch5</u>

Camacho Rubio, F., Sánchez-Mirón A., Cerón-García M.C., García-Camacho, F., Molina-Grima, E., Chisti, Y. (2004). Mixing in bubble columns: a new approach for characterizing dispersión coefficients. *Chemical Engineering Science* 59: 4369-4376. <u>https://doi.org/10.1016/j.ces.2004.06.037</u>

Carvalho, J. C. M., Matsudo, M. C., Bezerra, R. P., Ferreira-Camargo, L.S., Sato, S. (2014). Microalgae bioreactors. En: R. Bajpai et al. (Eds.), *Algal Biorefineries*. Vol. 1. (pp. 83-125). Springer Science. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7494-0\_4

Castro, J., Calijuri, M., Ferreira, J., Assemany, P., & Ribeiro, V. (2020). Microalgae based biofertilizer: A life cycle approach. *The Science of the total environment*, 724, 138138 . https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138138.

Chanquia, S. N., Vernet, G., & Kara, S. (2021). Photobioreactors for cultivation and synthesis: Specifications, challenges, and perspectives. *Engineering in Life Sciences*, 22(12), 712–724. <u>https://doi.org/10.1002/elsc.202100070</u>

Chaudhary, V., Prasanna, R., Nain, L., Dubey, S. C., Gupta, V., Singh, R., Bhatnagar, A. K. (2012). Bioefficacy of novel cyanobacteria-amended formulations in suppressing damping off disease in tomato seedlings. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 28(12), 3301-3310. https://doi.org/10.1007/s11274-012-1141-z

Chsiti, M. Y. (1989). Airlift bioreactors. Elsevier Science Publishing Ltd., Essex UK. <u>https://doi.org/10.1002/cjce.5450680228</u>

Coppens, J., Grunert, O., Van Den Hende, S., Vanhoutte, I., Boon, N., Haesaert, G., & De Gelder, L. (2015). The use of microalgae as a high-value organic slow-release fertilizer results in tomatoes with increased carotenoid and sugar levels. *Journal of Applied Phycology*, 28(4), 2367-2377. <u>https://doi.org/10.1007/s10811-015-0775-2</u> Cortivo, D., Ferrari, M., Visioli, G., Lauro, M., Fornasier, F., Barion, G., Panozzo, A., & Vamerali, T. (2020). Effects of seed-applied biofertilizers on rhizosphere biodiversity and growth of common wheat (*Triticum aestivum L.*) in the Field. *Frontiers in Plant Science*, 11. <u>https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00072</u>

Coskun, D., Britto, D., Shi, W., & Kronzucker, H. (2017). Nitrogen transformations in modern agriculture and the role of biological nitrification inhibition. *Nature Plants*, 3. <u>https://doi.org/10.1038/nplants.2017.74</u>

Costa, J. A. V., & De Morais, M. G. (2013). Chapter 1 - An open pond system for microalgal cultivation. En: *Biofuels from Algae* (pp. 1–22). Elsevier Bv. <u>https://doi.org/10.1016/b978-0-444-59558-4.00001-</u> 2

Del Rio-Chanona, E. A., Wagner, J. L., Ali, H., Fiorelli, F., Zhang, D., & Hellgardt, K. (2019). Deep learning-based surrogate modeling and optimization for microalgal biofuel production and photobioreactor design. *AIChE Journal*, *65*(3), 915-923. <u>https://doi.org/10.1002/aic.16473</u>

Deprá, M., Mérida, L., Menezes, C., Zepka, L., & Jacob-Lopes, E. (2019). A new hybrid photobioreactor design for microalgae culture. *Chemical Engineering Research and Design*. https://doi.org/10.1016/J.CHERD.2019.01.023.

Devi, N., Goud, V., & Hu, B. (2021). Algal cultivation systems and photobioreactor designs. En: Dalai, A.K.et al. (Eds.), *Algal Biorefinery: Developments, Challenges and Opportunities.* (pp. 24-49). Routledge. <u>https://doi.org/10.4324/9781003100317</u>

Devi, T. E., & Parthiban, R. (2020). Hydrothermal liquefaction of *Nostoc ellipsosporum* biomass grown in municipal wastewater under optimized conditions for bio-oil production. *Bioresource Technology*, *316*, 123943. <u>https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123943</u>

Dias, R.R., Sartori, R.B., Severo, I.A., de Oliveira, Á.S., Zepka, L.Q., Jacob-Lopes, E. (2022). Food wastes for biofuel production. En: Guldhe, A., Singh, B. (Eds.) *Novel Feedstocks for Biofuels Production. Clean Energy Production Technologies*. Springer, Singapore. <u>https://doi.org/10.1007/978-981-19-3582-4\_10</u>

Dineshkumar, R., Duraimurugan, M., Sharmiladevi, N., Lakshmi, L. P., Rasheeq, A. A., Arumugam, A., & Sampathkumar, P. (2020). Microalgal liquid biofertilizer and biostimulant effect on green gram (*Vigna radiata L*) an experimental cultivation. *Biomass Conversion and Biorefinery*. https://doi.org/10.1007/s13399-020-00857-0

Dineshkumar, R., Kumaravel, R., Gopalsamy, J., Sikder, M. N. A., & Sampathkumar, P. (2017). Microalgae as bio-fertilizers for rice growth and seed yield productivity. *Waste and Biomass Valorization*, 9(5), 793-800. <u>https://doi.org/10.1007/s12649-017-9873-5</u>

Doppler, P. & Spadiut, O. (2021). Chapter 5 Introduction to autotrophic cultivation of microalgae in photobioreactors. En R. Kourist & S. Schmidt (Eds.), *The Autotrophic Biorefinery: Raw Materials from Biotechnology* (pp. 113-130). Berlin, Boston: De Gruyter. <u>https://doi.org/10.1515/9783110550603-005</u>

Eze, V. C., Velasquez-Orta, S. B., Hernández-García, A., Monje-Ramírez, I., & Orta-Ledesma, M. T. (2018). Kinetic modelling of microalgae cultivation for wastewater treatment and carbon dioxide sequestration. *Algal Research*, *32*, 131-141. <u>https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.03.015</u>

Fernandes, B., Mota, A., Ferreira, A., Dragone, G., Teixeira, J., & Vicente, A. (2014). Characterization of split cylinder airlift photobioreactors for efficient microalgae cultivation. *Chemical Engineering Science*, 117, 445-454. <u>https://doi.org/10.1016/J.CES.2014.06.043</u>.

Florencio, F. (1999). Biología molecular de la asimilación de amonio en cianobacterias. En: C. Herrero & J. Abalde (Eds.), *Biotecnología y aplicaciones de microorganismos pigmentados.* (pp. 147-167) Universidad da Coruña.

Fu, J., Huang, Y., Liao, Q., Xia, A., Fu, Q., & Zhu, X. (2019). Photo-bioreactor design for microalgae: A review from the aspect of CO<sub>2</sub> transfer and conversion. *Bioresource technology*, 121947. <u>https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2019.121947</u>

Garcia-Gonzalez, J., & Sommerfeld, M. (2016). Biofertilizer and biostimulant properties of the microalga *Acutodesmus dimorphus*. *Journal of Applied Phycology.*, 28, 1051-1061. <u>https://doi.org/10.1007/s10811-015-0625-2</u>

García-Ochoa, F., Gómez, E. (2009). Biorreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes an overwiew. *Biotechnology Advances*. 27, 153-176. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.10.006

Gauthier, L., Thibault, J., LeDuy, A. (1991). Measuring  $k_La$  with randomly pulse dynamic method. Biotechnology and Bioengineering.37 (9),889-893. <u>https://doi.org/10.1002/bit.260370914</u>

Gomez, J.A., Barton, P.I. (2018). Dynamic flux balance analysis using DFBAlab. En: Fondi, M. (Eds.) *Metabolic Network Reconstruction and Modeling. Methods in Molecular Biology*, vol 1716. Humana Press, New York, NY. <u>https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7528-0\_16</u>

Gomiero, T., Pimentel, D., & Paoletti, M. G. (2011). Environmental impact of different agricultural management practices: conventional vs. organic agriculture. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 30(1-2), 95-124. <u>https://doi.org/10.1080/07352689.2011.554355</u>

Gonçalves, J., Freitas, J., Fernandes, I., & Silva, P. (2023). Microalgae as biofertilizers: A sustainable way to improve soil fertility and plant growth. *Sustainability*. <u>https://doi.org/10.3390/su151612413</u>

González-Figueredo, C., Flores-Estrella, R. A., & Rojas-Rejón, O. A. (2018). *Fermentation: Metabolism, kinetic models, and bioprocessing* (Vol. 1). Rijeka, Croatia: IntechOpen.

Goyal, D., Prakash, O., & Pandey, J. (2019). Chapter 9 - Rhizospheric microbial diversity: An important component for abiotic stress management in crop plants toward sustainable sgriculture. En: J. S. Singh & D. P. Singh (Eds.), *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 115-134): Elsevier.

Grobbelaar, J.U. (2013). Inorganic algal nutrition. En: Q. Hu, & A. Richmond (Eds.), *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology* (2nd., pp. 123-133). Wiley Blackwell. https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch8 Guedes, V.C., Palma, G.M., and Horta, A.C.L. (2023). An evaluation of light wavelengths, intensity and control for the production of microalgae in photobioreactors: a review. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 1-14. <u>https://doi.org/10.1007/s43153-023-00388-x</u>

Guo, X., Yao, L., & Huang, Q. (2015). Aeration and mass transfer optimization in a rectangular airlift loop photobioreactor for the production of microalgae. *Bioresource technology*, 190, 189-95. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.077.

Gupta, V., Ratha, S. K., Sood, A., Chaudhary, V., & Prasanna, R. (2013). New insights into the biodiversity and applications of cyanobacteria (blue-green algae)—Prospects and challenges. *Algal Research*, 2(2), 79-97. <u>https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.01.006</u>

Gutiérrez Pulido, H., & De la Vara Salazar, R. (2009). Control estadístico de calidad y seis sigma. México DF: Mc Graw Hill.

Guzmán, J. L., Acién, F. G., & Berenguel, M. (2021). Modelado y control de la producción de microalgas en fotobiorreactores industriales. *Revista Iberoamericana de Automática e Informática industrial*, *18*(1), 1-18.

Hachicha, R., Elleuch, F., Hilma, H. B., Dubessay, P., Baynast, H., Delattre, C., Pierre, G., Hachicha, R., Abdelkafi, S., Michaud, P. & Fendri, I. (2022). Biomolecules from microalgae and cyanobacteria: applications and market survey. *Applied Sciences.* 12, 1924. <u>https://doi.org/10.3390/app12041924</u>

Halder, N., Gogoi, M., Sharmin, J., Gupta, M., Banerjee, S., Biswas, T., & Ray Chaudhuri, S. (2020). Microbial consortium–based conversion of dairy effluent into biofertilizer. *Journal of Hazardous, Toxic and Radioactive Waste*, *24*(1), 04019039. <u>https://doi.org/10.1061/(ASCE)HZ.2153-5515.000048</u>

Han, P. P., Shen, S. G., Guo, R. J., Zhao, D. X., Lin, Y. H., Jia, S. R., & Wu, Y. K. (2019). ROS is a factor regulating the increased polysaccharide production by light quality in the edible cyanobacterium *Nostoc flagelliforme. Journal of agricultural and food chemistry*, *67*(8), 2235-2244. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06176

Haro, S., & Perales, J. A. (2015). Cinética de consumo de nutrientes y crecimiento de un bloom de microalgas en un fotobiorreactor High Rate Algae Pond (HRAP). *Tecnología y ciencias del agua, 6*(3), 15-31.

Harwani, D., & Lakhani, J. (2022). *Applications of machine learning in bioprocess development and optimization* (pp. 463–472). <u>https://doi.org/10.1201/9781003306931-32</u>

Hernández-Melchor, D. J., Cañizares-Villanueva, R. O., Terán-Toledo, J. R., López-Pérez P. A., Cristiani-Urbina, E. (2017b). Hydrodynamic and mass transfer characterization of flat-panel airlift photobioreactors for the cultivation of photosynthetic microbial consortium. *Biochemical Engineering Journal*, (128),141-148. <u>https://doi.org/10.1016/j.bej.2017.09.0141369-703X/</u>

Hernández-Melchor, D. J., Cristiani-Urbina, E., Ferrera-Cerrato, R., Esparza-García, J. F., Cañizares-Villanueva, R. O. (2017). Producción a la intemperie de un consorcio microbiano fotosintético fijador de nitrógeno en cultivo por lote y semicontinuo en un fotobiorreactor de puente aéreo de cara plana. Revista Internacional de Contaminación Ambiental., Especial de Biotecnología e Ingeniería Ambiental, (33), 73-81. <u>https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.esp01.07</u>

Hernández-Melchor, D. J., López-Pérez, P. A., Ferrera-Cerrato, R., & Alarcón, A. (2025). Study of the hydrodynamic parameters in an internal flat-plate airlift reactor for the increased degradation of newspaper by *Trichoderma reesei*. *Environmental Technology*, 1–16. https://doi.org/10.1080/09593330.2024.2447959

Herrero, A., Flores, E. & Guerrero, M.G. (1981). Regulation of nitrate reductase levels in the cyanobacteria *Anacystis nidulans, Anabaena sp.* strain 7119, and *Nostoc sp.* strain 6719. Journal of Bacteriology. 145:175-180. <u>https://doi.org/10.1128/jb.145.1.175-180.1981</u>

Hosikian, A., Lim, S., Halim, R. Danquah, M. K. (2010). Chlorophyll extraction from microalgae: A review on the process engineering aspects. *International Journal of Chemical Engineering*. <u>https://doi.org/10.1155/2010/391632</u>

Hu, Q. (2013). Environmental effects on cell composition. En: Q. Hu, & A. Richmond (Eds.), *Handbook of microalgal culture: Applied phycology and biotechnology* (2<sup>nd</sup> Ed., pp. 90-113). Wiley Blackwell. https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch7

Huang, Q., Fuhua, J., Wang, L., & Yang, C. (2017). Design of photobioreactors for mass cultivation of photosynthetic organisms. *Engineering*, 3, 318-329. <u>https://doi.org/10.1016/J.ENG.2017.03.020</u>

Jacob-Lopes, E., Queiroz, M., Queiroz, L., Editors, Z., Zepka, L., & Lopes, E. (2020). Pigments from microalgae handbook. <u>https://doi.org/10.1007/978-3-030-50971-2</u>

Kapoore, R. V., Padmaperuma, G., Maneein, S., & Vaidyanathan, S. (2022). Co-culturing microbial consortia: approaches for applications in biomanufacturing and bioprocessing. *Critical Reviews in Biotechnology*, *42*(1), 46-72. <u>https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1390728</u>

Karthikeyan, N., Prasanna, R., Nain, L., & Kaushik, B. D. (2007). Evaluating the potential of plant growth promoting cyanobacteria as inoculants for wheat. *European Journal of Soil Biology*, 43(1), 23-30. <u>https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2006.11.001</u>

Khan, S. A., Sharma, G. K., Malla, F. A., Kumar, A., & Gupta, N. (2019). Microalgae based biofertilizers: A biorefinery approach to phycoremediate wastewater and harvest biodiesel and manure. *Journal of Cleaner production*, *211*, 1412-1419. <u>https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.11.281</u>

Khan, S., Thaher, M., AbdulQuadir, M., Faisal, M., Mehariya, S., Al-Najjar, M., Al-Jabri, H., & Das, P. (2023). Utilization of Microalgae for Urban Wastewater Treatment and Valorization of Treated Wastewater and Biomass for Biofertilizer Applications. *Sustainability*. https://doi.org/10.3390/su152216019.

Kublanovskaya, A. A., Khapchaeva, S. A., Zotov, V. S., Zaytsev, P. A., Lobakova, E. S., & Solovchenko, A. E. (2020). The Effect of the Microalga *Chlorella vulgaris* Ippas C-1 Biomass Application on Yield, Biological Activity, and the Microbiome of the Soil during Bean Growing. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, 74(4), 227-234. <u>https://doi.org/10.3103/s0096392519040084</u>

Kumar, J., Singh, D., Tyagi, M. B., & Kumar, A. (2019). Cyanobacteria: applications in biotechnology. In *Cyanobacteria* (pp. 327-346). Academic Press. <u>https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814667-5.00016-7</u>

Kunjapur, A., & Eldridge, R. (2010). Photobioreactor design for commercial biofuel production from microalgae. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 49, 3516-3526. https://doi.org/10.1021/IE901459U.

Lee, E., Jalalizadeh, M., & Zhang, Q. (2015). Growth kinetic models for microalgae cultivation: A review. *Algal research*, 12, 497-512. <u>https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.10.004</u>

Lee, Y., Chen, W., Shen, H., Han, D., Li, Y., Jones, H. D. T., TimLin, J. A., & Hu, Q. (2013). Basic culturing and analytical measurement techniques. En: Q. Hu, & A. Richmond (Eds.), *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology* (2nd Ed., pp. 37-68). Wiley Blackwell. https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch3

Legrand, J., Artu, A., & Pruvost, J. (2021). A review on photobioreactor design and modelling for microalgae production. *Reaction Chemistry & Engineering*, *6*(7), 1134-1151.

Li Z., Yu J., Kyoung-Rae K., Brand J. (2010). Nitrogen fixation by a marine non-heterocystous cyanobacterium requires a heterotrophic bacterial consort. *Environmental Microbiology*. 12(5):1185–1193. https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02159.x

Li, R., Tao, R., Ling, N., & Chu, G. (2017). Chemical, organic and bio-fertilizer management practices effect on soil physicochemical property and antagonistic bacteria abundance of a cotton field: Implications for soil biological quality. *Soil and Tillage Research*, 167, 30-38. https://doi.org/10.1016/j.still.2016.11.001

Li, X., Li, W., Zhai, J., Wei, H., & Wang, Q. (2019). Effect of ammonium nitrogen on microalgal growth, biochemical composition and photosynthetic performance in mixotrophic cultivation. *Bioresource technology*, 273, 368-376 . <u>https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.042</u>

Liu, S. (2020). Chapter 1 - What is bioprocess engineering? In *Bioprocess Engineering* (pp. 1–15). Elsevier BV. <u>https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821012-3.00001-4</u>

Llamas, Á., Leon-Miranda, E., & Tejada-Jiménez, M. (2023). Microalgal and nitrogen-fixing bacterial consortia: from interaction to biotechnological potential. *Plants*, 12. <u>https://doi.org/10.3390/plants12132476</u>

Loganathan, B., Orsat, V., & Lefsrud, M. (2020). Utilizing the microalgal biomass of *Chlorella variabilis* and *Scenedesmus obliquus* produced from the treatment of synthetic dairy wastewater as a biofertilizer. *Journal of Plant Nutrition*, 44, 1486 - 1497. https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1862191

López-Anchondo, A. N., López-Ortiz, C. E., Mejía-Hernández, C. M., & López-de-la-Cruz, D. (2016). Hidroponía una alternativa sustentable para el cultivo sin suelo: características y aspectos básicos. *Tópicos selectos de sustentabilidad: un reto permanente, 4*, 31-54. López-Anchondo, A. N., López-Ortiz, C. E., Mejía-Hernández, C. M., & López-de-la-Cruz, D. (2016). Hidroponía una alternativa sustentable para el cultivo sin suelo: características y aspectos básicos. *Tópicos selectos de sustentabilidad: un reto permanente*, *4*, 31-54.

López-Pérez, P., López-López, M., Núñez-Colín, C., Mukhtar, H., Aguilar-López, R. and Peña-Caballero, V. (2023). A novel nonlinear sliding mode observer to estimate biomass for lactic acid production. *Chemical Product and Process Modeling*, 18(4), 565-580. <u>https://doi.org/10.1515/cppm-2021-0074</u>

Lorenz, M., Friendl, T. & Day, J.G. (2005). Perpetual maintenance of actively metabolizing microalgal cultures. En: Andersen, R. A. (Ed), *Algal Culture techniques*. (pp. 145-156). Elsevier Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-012088426-1/50011-1

Lv, J., Liu, S., Feng, J., Liu, Q., Guo, J., Wang, L., Jiao, X., & Xie, S. (2020). Effects of microalgal biomass as biofertilizer on the growth of cucumber and microbial communities in the cucumber rhizosphere. *Turkish journal of botany*. <u>https://doi.org/10.3906/bot-1906-1</u>.

MacIntyre, H.L. & Cullen, J. (2005) Using cultures to investigate the physiological ecology of microalgae. En: Andersen, R. (Ed), *Algal culturing techniques* (pp. 287-326). Elsevier Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-012088426-1/50020-2

Mahadevan, R., Burgard, A. P., Van Dien, S., Famili, I., & Schilling, C. H. (2005). Applications of metabolic modeling to drive bioprocess development for the production of value-added chemicals. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, *10*(5), 408–417. <u>https://doi.org/10.1007/bf02989823</u>

Mangipudi, S., Reddy, D. G. V., & Ranganathan, P. (2022). Computational tools in bioprocessing. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (pp. 211-231). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91167-2.00012-5

Masojídek, J., Torzillo, G., & Kloblizek, M. (2013). Photosynthesis in microalgae. En: Q. Hu, & A. Richmond (Eds.), *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology* (2nd Ed., pp. 21-36). Wiley Blackwell. <u>https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch2</u>

Mazhar, S., Cohen, J., & Hasnain, S. (2019). Novel approach for the determination of nitrogen fixation in cyanobacteria. *Journal of the chemical society of pakistan*. https://doi.org/10.52568/000711/jcsp/41.01.2019

Meena, H., & Busi, S. (2019). Use of microbial biofertilizers technology in agro-environmental sustainability. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 199-211). Elsevier. <u>https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818258-1.00013-3</u>

Mohammadi, K., & Sohrabi, Y. (2012). Bacterial biofertilizers for sustainable crop production: a review. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*, 7(5), 307-316. http://www.arpnjournals.com/jabs/research\_papers/rp\_2012/jabs\_0512\_396.pdf

Moheimani, N. R., Raes, E., Isdepsky, A., Borowitzka, M. A., & Lisec, J. (2011). Coccolithophorid algae culture in closed photobioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*, *108*(9), 2078–2087. https://doi.org/10.1002/bit.23161 Molina, E., Acién, F., Robles, A. (2013). Downstream processing of cell mass and products. En: Q. Hu, & A. Richmond (Eds.), *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology* (2nd Ed., pp. 267-309). Wiley Blackwell. <u>https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch14</u>

Moreira, A. R., & Wallace, K. K. (1996). *Computer and Information Science Applications in Bioprocess Engineering*. <u>https://doi.org/10.1007/978-94-009-0177-3</u>

Moser, A. (1996). *General Methodology in Bioprocess Engineering* (pp. 349–364). Springer netherlands. <u>https://doi.org/10.1007/978-94-009-0177-3\_29</u>

Mukherjee, C., Chowdhury, R., Sutradhar, T., Begam, M., Ghosh, S. M., Basak, S. K., & Ray, K. (2016). Parboiled rice effluent: A wastewater niche for microalgae and cyanobacteria with growth coupled to comprehensive remediation and phosphorus biofertilization. *Algal Research*, 19, 225-236. https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.09.009

Narala, R. R., Garg, S., Sharma, K. K., Thomas-Hall, S. R., Deme, M., Li, Y., & Schenk, P. M. (2016). Comparison of microalgae cultivation in photobioreactor, open raceway pond, and a two-stage hybrid system. *Frontiers in Energy Research*, 4, 29. <u>https://doi.org/10.3389/fenrg.2016.00029</u>

Nayak, M., Swain, D., & Sen, R. (2019). Strategic valorization of de-oiled microalgal biomass waste as biofertilizer for sustainable and improved agriculture of rice (*Oryza sativa L.*) crop. *The Science of the total environment*. 682, 475-484 . <u>https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.123</u>.

Nikkanen, L., Solymosi, D., Jokel, M., & Allahverdiyeva, Y. (2021). Regulatory electron transport pathways of photosynthesis in cyanobacteria and microalgae: recent advances and biotechnological prospects.. *Physiologia plantarum*. <u>https://doi.org/10.1111/ppl.13404</u>

Nisha, R., Kaushik, A., & Kaushik, C. P. (2007). Effect of indigenous cyanobacterial application on structural stability and productivity of an organically poor semi-arid soil. *Geoderma*, 138(1), 49-56. <u>https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2006.10.007</u>

Notimex. (26 de junio de 2019). La campiña. Obtenido de

https://revistalacampina.mx/2019/06/26/en-2050-podria-reducirse-hasta-27-produccion-de-maizen-mexico/

Ortiz-Moreno, M. L., Cárdenas-Poblador, J., Agredo, J., & Solarte-Murillo, L. V. (2020). Modeling the effects of light wavelength on the growth of *Nostoc ellipsosporum*. *Universitas Scientiarum*, *25*(1), 113-148. <u>https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC25-1.mte</u>

Parmar, P., Kumar, R., Neha, Y., & Srivatsan, V. (2023). Microalgae as next generation plant growth additives: Functions, applications, challenges and circular bioeconomy based solutions. *Frontiers in Plant Science*, 14. <u>https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1073546</u>.

Patel, A., Matsakas, L., Rova, U., & Christakopoulos, P. (2019). A perspective on biotechnological applications of thermophilic microalgae and cyanobacteria. Bioresource technology, 278, 424-434 . https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.063

Pawar, S., Gupta, S. (2017). Mass production of microalgae in photobioreactors for biodiesel application: selection, limitations, and optimization. En: Purohit, H., Kalia, V., Vaidya, A., Khardenavis,

A. (Eds.) *Optimization and Applicability of Bioprocesses*. Springer, Singapore. <u>https://doi.org/10.1007/978-981-10-6863-8\_10</u>

Peltier, G., Aro, E., & Shikanai, T. (2016). NDH-1 and NDH-2 plastoquinone reductases in oxygenic photosynthesis. *Annual review of plant biology*, 67, 55-80. <u>https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043014-114752</u>

Petrides, D., Carmichael, D., Siletti, C., Koulouris, A. (2019). Bioprocess simulation and economics. In: Berenjian, A. (Eds.) *Essentials in Fermentation Technology. Learning Materials in Biosciences*. Springer, Cham. <u>https://doi.org/10.1007/978-3-030-16230-6\_9</u>

Prasanna, R., Chaudhary, V., Gupta, V., Babu, S., Kumar, A., Singh, R. & Nain, L. (2013). Cyanobacteria mediated plant growth promotion and bioprotection against *Fusarium* wilt in tomato. *European Journal of Plant Pathology*, 136(2), 337-353. <u>https://doi.org/10.1007/s10658-013-0167-x</u>

Prasanna, R., Kanchan, A., Kaur, S., Ramakrishnan, B., Ranjan, K., Singh, M. C., & Shivay, Y. S. (2016). Chrysanthemum growth gains from beneficial microbial interactions and fertility improvements in soil under protected cultivation. *Horticultural Plant Journal*, 2(4), 229-239. https://doi.org/10.1016/j.hpj.2016.08.008

Prasanna, R., Renuka, N., Nain, L., Ramakrishnan, B. (2021). Natural and constructed cyanobacteriabased consortia for enhancing crop growth and soil fertility. En: Seneviratne, G., Zavahir, J.S. (Eds.) *Role of Microbial Communities for Sustainability. Microorganisms for Sustainability*, vol 29. Springer, Singapore. <u>https://doi.org/10.1007/978-981-15-9912-5\_13</u>

Priya, H., Prasanna, R., Ramakrishnan, B., Bidyarani, N., Babu, S., Thapa, S., & Renuka, N. (2015). Influence of cyanobacterial inoculation on the culturable microbiome and growth of rice. *Microbiological Research*. 171, 78-89. https://doi.org/10.1016/j.micres.2014.12.011

Pruvost, J., Pottier, L., & Legrand, J. (2006). Numerical investigation of hydrodynamic and mixing conditions in a torus photobioreactor. *Chemical Engineering Science*, *61*(14), 4476-4489. <u>https://doi.org/10.1016/j.ces.2006.02.027</u>

Pulz, O. (2001). Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 57, 287–293. <u>https://doi.org/10.1007/s002530100702</u>

Purohit, H. J., Kalia, V. C., Vaidya, A. N., & Khardenavis, A. A. (Eds.). (2017). *Optimization and applicability of bioprocesses*. Springer. <u>https://doi.org/10.1007/978-981-10-6863-8</u>

Ramesh, K., & Raghavan, V. (2024). Agricultural waste-derived biochar-based nitrogenous fertilizer for slow-release applications. *ACS Omega*,9,4377-4385. <u>https://doi.org/10.1021/acsomega.3c06687</u>

Renuka, N., Guldhe, A., Prasanna, R., Singh, P., & Bux, F. (2018). Microalgae as multi-functional options in modern agriculture: current trends, prospects and challenges. *Biotechnology Advances*, 36(4), 1255-1273. <u>https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.04.004</u>

Renuka, N., Prasanna, R., Sood, A., Ahluwalia, A., Bansal, R., Babu, S., Singh, R., Shivay, Y., & Nain, L. (2016). Exploring the efficacy of wastewater-grown microalgal biomass as a biofertilizer for

wheat. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 6608-6620. https://doi.org/10.1007/s11356-015-5884-6.

Renuka, N., Sood, A., Ratha, S.K., Prassana, R., Ahluwalia, A. S. (2013). Evaluation of microalgal consortia for treatment of primary treated sewage effluent and biomass production. *Journal of Applied Phycology*, 25, 1529-1537. <u>https://doi.org/10.1007/s10811-013-9982-x</u>

Richmond, A. (2013). Biological principles of mass cultivation of photoautotrophic microalgae. En: Q. Hu, & A. Richmond (Eds.), *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology* (2nd Ed., pp. 171-204). Wiley Blackwell. <u>https://doi.org/10.1002/9780470995280.ch8</u>

Ripkka, R., Deruelles, J., Waterbury, J., Herdman, M., & Stanier, R. (1979). Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Journal of General Microbiology*, 1-61. <u>https://doi.org/10.1099/00221287-111-1-1</u>

Romagnoli, F., Weerasuriya-Arachchige, A. R. P. P., Paoli, R., Feofilovs, M., & Ievina, B. (2021). Growth kinetic model for microalgae cultivation in open raceway ponds: a system dynamics tool. *Rigas Tehniskas Universitates Zinatniskie Raksti*, 25(1), 1317-1336. <u>https://doi.org/10.2478/rtuect-2021-0100</u>

Romero-García, J., González-López, C., Brindley, C., Fernández-Sevilla, J., & Acién-Fernándéz, F. (2022). Simulation and techno-economical evaluation of a microalgal biofertilizer production process. *Biology*, 11. <u>https://doi.org/10.3390/biology11091359</u>.

Rosabal, L., Hernández, F., Ruiz, V., La O, M., Raj, D., & Reyes, M. (2023). Effect of microbial consortia on maize yield in Chiapas, Mexico. *Revista de la Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia*. <u>https://doi.org/10.47280/revfacagron(luz).v40.n3.04</u>.

Sánchez-Contreras, M. I., Beltrán-Hernández, R. I., Lucho-Constantino, C. A., & López-Pérez, P. A. (2025) A kinetic dynamic model of a photobioreactor in batch operation for production as biofertilizer. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. Vol.24, No. 1. https://doi.org/10.24275/rmiq/Bio24366

Sánchez-Mirón A., García-Camacho, F., Contreras-Gómez, A., Molina-Grima, Chisti, Y. (2000). Bubblecolumn and airlift photobiorreactors for algal culture. *AlChE Journal.* 46(9). <u>https://doi.org/10.1002/aic.690460915</u>

Saritha, M., & Tollamadugu, N. P. (2019). The status of research and application of biofertilizers and biopesticides: global scenario. En: *Recent developments in applied microbiology and biochemistry* (pp. 195-207). Academic Press. <u>https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816328-3.00015-5</u>

Schagerl, M., Siedler, R., Konopáčová, E., & Ali, S. S. (2022). Estimating biomass and vitality of microalgae for monitoring cultures: A roadmap for reliable measurements. *Cells*, *11*(15), 2455. <u>https://doi.org/10.3390/cells11152455</u>

Sido, M., Tian, Y., Wang, X., & Wang, X. (2022). Application of microalgae *Chlamydomonas applanata* M9V and *Chlorella vulgaris* S3 for wheat growth promotion and as urea alternatives. *Frontiers in Microbiology*, 13. <u>https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1035791</u>

Silva, T. L. D., Moniz, P., Silva, C., & Reis, A. (2021). The role of heterotrophic microalgae in waste conversion to biofuels and bioproducts. *Processes*, *9*(7), 1090. <u>https://doi.org/10.3390/pr9071090</u>

Singh, M., Singh, D., Gupta, A., Pandey, K. D., Singh, P. K., & Kumar, A. (2019). Chapter Three - Plant growth promoting rhizobacteria: Application in biofertilizers and biocontrol of phytopathogens. En: A. K. Singh, A. Kumar & P. K. Singh (Eds.), *PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture* (pp. 41-66): Woodhead Publishing.

Singh, P. P., Kujur, A., Yadav, A., Kumar, A., Singh, S. K., & Prakash, B. (2019). Chapter Two -Mechanisms of plant-microbe interactions and its significance for sustainable agriculture. En: A. K. Singh, A. Kumar & P. K. Singh (Eds.), *PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture* (pp. 17-39): Woodhead Publishing.

Singh, R. (2019). Chapter 8 - Microbial Biotechnology: A promising implement for sustainable agriculture. En: J. S. Singh & D. P. Singh (Eds.), *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 107-114): Elsevier.

Sobolewska, E., Borowski, S., Nowicka-Krawczyk, P., & Jurczak, T. (2023). Growth of microalgae and cyanobacteria consortium in a photobioreactor treating liquid anaerobic digestate from vegetable waste. *Scientific Reports*, *13*(1), 22651.

Supraja, K.V., Bunushree, B. & Balasubramanian, P. (2020). Efficacy of microalgal extracts as biostimulants through seed treatment and foliar spray for tomato cultivation. *Industrial Crops and Products*, 151, 112453. <u>https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112453</u>.

Tan, C., Tan, X., Ho, S., Lam, S., Show, P., & Nguyen, T. (2020). Conceptual design of a hybrid thin layer cascade photobioreactor for microalgal biodiesel synthesis. *International Journal of Energy Research*, 44, 9757 - 9771. <u>https://doi.org/10.1002/er.5699</u>

Tan, K. M., Kassim, M. A., Ng, Z. J., & Lalung, J. (2020). Isolation and characterization of novel acidophilic microalgae from abandoned mining site area for carbohydrate biosynthesis and its kinetic growth study in photobioreactor. En: *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 716, No. 1, p. 012011). IOP Publishing. https://doi.org/10.1088/1757-899X/716/1/012011

Thilagar, G., Bagyaraj, D. J., & Rao, M. S. (2016). Selected microbial consortia developed for chilly reduces application of chemical fertilizers by 50% under field conditions. *Scientia Horticulturae*, 198, 27-35. <u>https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.11.021</u>

Timofeeva, A. M., Galyamova, M. R., & Sedykh, S. E. (2023). Plant growth-promoting bacteria of soil: designing of consortia beneficial for crop production. *Microorganisms*, *11*(12), 2864. https://doi.org/10.3390/microorganisms11122864

Tredici M. R. (2004). Mass production of microalgae: photobioreactors. En: Richmond, A. (Ed.) *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. pp. 178-214. Blackwell Science Ltd. Oxford. <u>https://doi.org/10.1002/9780470995280.ch9</u>

Trevan, M.D., Boffey, S., Goulding, K. H. & Stanbury, P. (1990). *Biotecnología: Principios biológicos.* pp. 117-120. Editorial Acriba, S. A.

U.S. Departament of Defense. (23 de April de 1963). Sampling procedures and tables for inspection by attributes. *MIL-STD-105D*. Washington D.C., USA. Obtenido de <u>https://archive.org/details/MIL-STD-105D/mode/2up</u>

Uysal, O., Uysal, O. F., & Ekinci, K. (2015). Evaluation of microalgae as microbial fertilizer. *European Journal of Sustainable Development*, 4(2), 77-82. <u>https://doi.org/10.14207/ejsd.2015.v4n2p77</u>

Verma, S., Chowdhury, R., Das, S. K., Franchetti, M. J., & Liu, G. (2021). Sunlight intensity, photosynthetically active radiation modelling and its application in algae-based wastewater treatment and its cost estimation. *Sustainability*, *13*(21), 11937. https://doi.org/10.3390/su132111937

Weahter Spark (2023). https://weatherspark.com

Whitton, B. A., & Potts, M. (2012). Introduction to the cyanobacteria. En: *Ecology of cyanobacteria II: their diversity in space and time* (pp. 1-13). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-3855-3 1

Wood, A.M., Everrroad, R.C. & Wingard, L.M. (2005). Measuring growth rates in microalgal cultures. En: Andersen, R. (Ed), *Algal culturing techniques* (pp. 269-286). Elsevier Academic Press.

Xu, L., Weathers, P., Xiong, X., & Liu, C. (2009). Microalgal bioreactors: Challenges and opportunities. *Engineering in Life Sciences*, 9. <u>https://doi.org/10.1002/elsc.200800111</u>.

Yen, H., Hu, I., Chen, C., & Chang, J. (2019). Design of photobioreactors for algal cultivation. *Biofuels from Algae*. <u>https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59558-4.00002-4</u>.

Yilmaz, E., & Sönmez, M. (2017). The role of organic/bio–fertilizer amendment on aggregate stability and organic carbon content in different aggregate scales. *Soil and Tillage Research*, 168, 118-124. https://doi.org/10.1016/j.still.2017.01.00

Zayadan, B. K., Matorin, D. N., Baimakhanova, G. B., Bolathan, K., Oraz, G. D., & Sadanov, A. K. (2014). Promising microbial consortia for producing biofertilizers for rice fields. *Microbiology*, 83(4), 391-397. <u>https://doi.org/10.1134/s0026261714040171</u>

Zhang, C., Li, S., & Ho, S. H. (2021). Converting nitrogen and phosphorus wastewater into bioenergy using microalgae-bacteria consortia: a critical review. *Bioresource Technology*, *342*, 126056. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126056

Zitelli, G. C., Biondi, N., Rodolfi, L., Tredici, M. R. (2013). Photobiorreactors for mass production of microalgae. En: Q. Hu, & A. Richmond (Eds.), *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology* (2nd Ed., pp. 225-266). Wiley Blackwell. https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch13

## **10. ANEXOS**

Anexo I. Artículo publicado

# Vol. 24, No. 1(2025) Bio24366 Revista Mexicana de Ingeniería Química

### A kinetic dynamic model of a photobioreactor in batch operation for production as biofertilizer

#### Modelo cinético dinámico de un fotobiorreactor en operación por lote para la producción de un biofertilizante

 M.I. Sánchez-Contreras<sup>1</sup>, R.I. Beltrán-Hernández<sup>1</sup>, C.A. Lucho-Constantino<sup>1</sup>, P.A. López-Pérez<sup>2\*</sup>
 <sup>1</sup>Centro de Investigaciones Químicas. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Carretera Pachuca-Tulancingo Km 4.5. C.P. 42184. Pachuca de Soto, Hidalgo, México.
 <sup>2</sup>Escuela Superior de Apan. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Carretera Apan-Calpulalpan Km. 8. C.P. 43900. Chimalpa Tlalayote, Apan, Hidalgo, México. Received: July 2, 2024; Accepted: September 27, 2024

### Abstract

A native microbial consortium (MC) was isolated and propagated in BG11 and BG11<sub>0</sub> media to promote the growth of microalgae and cyanobacteria, respectively. Biomass, chlorophyll *a*, ammonium, light intensity, and dissolved oxygen were monitored during MC growth in a batch photobioreactor system. The MC highlighted the high production of chlorophyll *a* (11.2 mg L<sup>-1</sup>) in BG11 and the potential as a biofertilizer because of its ammonium concentration (1.1-1.9 mg L<sup>-1</sup>) in both media. An unstructured phenomenological kinetic model was developed by incorporating reaction rates in the photobioreactor for the state variables experimentally monitored. The kinetic model parameters were evaluated using the Marquardt-Levenberg algorithm, which is a nonlinear least square fitting method. The statistical evaluation of the model's effectiveness was performed using dimensionless efficiency coefficients and relative standard deviations. A global sensitivity analysis determined that the light intensity and specific oxygen consumption rate directly influenced the system. The proposed model is robust and suitable for optimization in laboratoryscale photobioreactors because it can represent the hydrodynamics parameter as  $k_L a$  and the illumination area-operational volume of the photobioreactor, which is an advantage over current models for this type of system.

Keywords: Ammonium ion concentration, batch culture, Monte Carlo method, mass transfer coefficient, Zea mays, microbial consortium.

#### Resumen

Se aisló un consorcio microbiano nativo (CM) y se propagó en los medios BG11 y BG11<sub>0</sub> para promover el crecimiento de microalgas y cianobacterias, respectivamente. Se monitoreó la biomasa, la clorofila *a*, el amonio, la intensidad de la luz y el oxígeno disuelto durante el crecimiento del CM en un sistema de fotobiorreactor por lotes. El CM destacó la alta producción de clorofila *a* (11.2 mg L<sup>-1</sup>) en BG11 y el potencial como biofertilizante debido a su concentración de amonio (1.1-1.9 mg L<sup>-1</sup>) en ambos medios. Se desarrolló un modelo cinético fenomenológico no estructurado incorporando velocidades de reacción en el fotobiorreactor para las variables de estado monitoreadas experimentalmente. Los parámetros del modelo cinético se evaluaron utilizando el algoritmo de Marquardt-Levenberg, que es un método de ajuste de mínimos cuadrados no lineal. La evaluación estadística de la efectividad del modelo se realizó utilizando coeficientes de eficiencia adimensionales y desviaciones estándar relativas. Un análisis de sensibilidad global determinó que la intensidad de la luz y el atsa de consumo específico de oxígeno influyeron directamente en el sistema. El modelo propuesto es robusto y adecuado para la optimización en fotobiorreactores a escala de laboratorio, porque puede representar el parámetro hidrodinámico  $k_L a$  y el área de iluminación-volumen operacional del fotobiorreactor, lo que representa una ventaja sobre los modelos actuales para este tipo de sistemas.

Palabras clave: Concentración de ion amonio, operación por lote, método Monte Carlo, coeficiente de transferencia de masa, Zea mays, consorcio microbiano.

\*Corresponding author E-mail: pablo\_lopez@uaeh.edu.mx; https://doi.org/10.24275/rmiq/Bio24366 ISSN:1665-2738, issn-c.2395-8472

Publicado por la Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química A.C.

## Anexo II. Derechos de Autor

Para los efectos de los artículos 13, 162, 163 liacojón I, 194 fracción I, y domás relativos de la Ley Fodoral Derecho de Autor, se hace constar que la OBRA cuyas especificaciones aparocen a continuación, ha qued insorta en el Registro Público del Derecho de Autor, con los siguientes datos:         AUTORES:       ALVARADO SANTOS EDUARDO BELTRAN HEIPNANDEZ ROSA ICELA LOPEZ PEREZ PADLO ANTONIO SANCHEZ CONTRERAS MONICA METTE         TÍTULO:       Al GORITMO PARA LA OPTIMIZACION DE DIMENSIONES DE FOTOB ORREACTOR DE CARA PLANA CON RELACIÓN AREA ILUMINACION/VOLUMEN DEFINIDA         RAMA:       PROGRAMAS DE COMPUTACIÓN         TITULAR:       UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO (CON TUNDAMENTO EL ARTICULO 33 DE LA L.F.D.A)         Con fundamento en el artículo 3º de la Ley Federal del Derecho de Autor, las inscripciones en el resolución de services ou terrores. Si surge controversia, los efectos de la inscripción quedrán superior de las conserversia, los efectos de la inscripción quedrán superior en las contrarios de la Ley Federal del Derecho de Autor, las inscripción quedrán superior en las constan selvo prueba en contrario inscripción des avior de services ou terrores. Si surge controversia, los efectos de la inscripción quedrán superior en lanto se oronuncie resolución time por autoridad comparative.         Con fundamento en los artículos 2, 208, 208 fracción II y 211 de la Ley Federal del Derecho de Autor, las inscripción quedrán superior en lanto se oronuncie resolución time por autoridad comparente.         Con fundamento en los artículos 2, 208, 208 fracción II y 211 de la Ley Federal del Derecho de Autor, las inscripción quedrán superior en lanto se oronuncie resolución time por autoridad comportente.         Con fundamento en los a		Registro Público del Derecho de Autor		
AUTORES:       ALVARADO SANTOS EDUARDO BELITRAN HEINANDEZ ROSA ICELA LOPEZ PEREZ PADLO ANTONIO SANCHEZ CONTRERAS MONICA VETTE         TÍTULO:       ALGORITMO PARA LA OPTIMIZACION DE DIMENSIONES DE FOTOB ORREACTOR DE CARA PLANA CON RELACION AREA ILLUMINACIONAVOLUMEN DEFINIDA         RAMA:       PROGRAMAS DE COMPUTACIÓN         TITULAR:       UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO (CON FUNDAMENTO EL ARTICULO 83 DE LA L.F.D.A.)         Con funcamento en el artículo 3º de la Ley Federal del Derecho de Autor el presente contilicado ampara ún exclusivamente la obra original Programa de Computación.         Con fundamento en lo establecido por el artículo 166 de la Ley Federal del Derecho de Autor, las insoripciones en el re- resclusivamente la obra original Programa de Computación.         Con fundamento en lo establecido por el artículo 166 de la Ley Federal del Derecho de Autor, las insoripciones en el re- resclusivamente la obra original Programa de Computación.         Con fundamento en lo establecido por el artículo 166 de la Ley Federal del Derecho de Autor, las insoripciones en el re- rescripción deja a salvo los dorochos de terceros. Si surge pontroversia, los efectos de la insoripción quedarán suspen- un tanto se pronuncie resolución time por autoridad competente.         Con fundamento en los artículos 2, 208, 208 fracción II y 211 de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 14, 8 fracción I y Bealesmento lescarto.       Si surge pontroversia, los efectos de la inscripcion de Autor; artículos 14, 8 fracción I y Bealesmento lescarto.	Para los efectos d Derecho de Autor, inscrita en el Regis	e los artículos 13, 162, 163 fracción I, 164 fracción I, y domás relativos de la Ley Federal de se hade constar que la <b>OBRA</b> cuyas especificaciones aparecen a continuación, ha quadadi arto Público del Derecho de Autor, con los siguientes catos:		
TÍTULO:       AI GORITMO       PARA       LA       OPTIMIZACION       DE       DIMENSIONES       DE         FOTOR ORREACTOR       DE       CARA       PLANA       CON       RELACION       AREA         ILUMINACIONAVOLUMEN       DEFINIDA       PROGRAMAS DE COMPUTACION       ILUMINACIONAVOLUMEN       DEFINIDA         RAMA:       PROGRAMAS DE COMPUTACION       ILUMINACIONAVOLUMEN       DEFINIDA         TITULAR:       UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO (CON FUNDAMENTO EL ARTICULO 33 DE LA L.F.D.A.)         Con fundamento en el artículo 3º de la Ley Federal del Derecho de Autor al presente confilicado ameara ún exclusivamente la obra original Programa de Computación.         Con fundamento en lo establecido por el artículo 168 de la Ley Federal del Derecho de Autor, las inscripciones en el resentecido de ser ciertos los hebricos y actos que en elas consten, salvo prueba an contraño inscripción deja a salvo los derechos de terceros. Si surge controversia, los efectos de la inscripción quedarán suspena en tanto se provueta resolución tirme por autoridad competente.         Con fundamento en los artículos 2, 208, 208 fracción ILly 211 de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 64         Con fundamento en los artículos 2, 208, 209 fracción ILly 211 de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 64         Con fundamento en los artículos 2, 208, 209 fracción ILly 211 de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 64         Con fundamento la los artículos 2, 208, 209 fracción ILly 211 de la Ley Federal del Derecho de Autor; a frac	AUTORES:	ALVARADO SANTOS EDUARDO BELTRAN HERNANDEZ ROSA ICELA LOPEZ PEREZ PABLO ANTONIO SANCHEZ CONTRERAS MONICA VETTE		
RAMA:         PROGRAMAS DE COMPUTACION           TITULAR:         UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO (CON FUNDAMENTO EL ARTICULO 33 DE LA L.F.D.A.)           Con fundamento en el artículo 3ª de la Ley Federal del Derecho de Autor al presente certificado ampara ún exclusivamente la obra original Programa de Computeción.           Con fundamento en lo establecido por el artículo 168 de la Ley Federal del Derecho de Autor las inscripciones en el rej establecen la presunción de ser diartos los hobros y actos que en elsa consten, salvo prueba en contraño inscripción deja a salvo los derechos de tercenos. Si surge controvensia, los efectos de la inscripción quedarán suspena en tanto se pronuncie resolución firme por autoridad competente.         Con fundamento de Sartículos 2, 208, 208 fracción II y 211 de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 64 fracción M y 104 del Reglamento de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 64 fracción M y 104 del Reglamento del Sartículos 100 fracción II y 211 de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 14, 8 fracción I y Bealemento la basitudo Nacional del Derecho de Autor; se exolició el presente cartíficado 14, 8 fracción I y	TÍTULO:	ALGORITMO PARA LA OPTIMIZACION DE DIMENSIONES DE UL FOTOBIORREACTOR DE CARA PLANA CON RELACION AREA D ILLUMINACIONAVOLUMEN DEFINIDA		
TITULAR:         UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO (CON FUNDAMENTO EL ARTICULO 83 DE LA L.F.D.A.)           Con fundamento en el artículo 3º de la Ley Federal del Derecho de Autor el presente certificado ampara ún exclusivamente la obra original Programa de Computación.           Con fundamento en lo establecido por el artículo 168 de la Ley Federal del Derecho de Autor, las inscripciones en el re- establecen la presunción de ser ciertos los hedros y actos que en elsa consten, salvo prueba en contrario inscripción deja a salvo los derechos de tercenos. Si surge controversia, los efectos de la inscripción quadarán suspen en tanto se pronuncie resolución firme por autoridad competente.           Con fundamento en los artículos 2, 208, 209 fracción III y 211 de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 64 fracción M y 104 del Regismento de la Ley Federal del Derecho de Autor; a artículos 64 fracción M y 104 del Regismento de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 14, 8 fracción I y Beatsmeto la bacita de Nacional del Derecho de Autor; se excita el presente cartíficado.	RAMA:	PROGRAMAS DE COMPUTACIÓN		
Con funcamento en el artículo 3º de la Ley Federal del Derecho de Autor al presente contilicado ampara ún exclusivamente la obra original Programa de Computación. Con fundamento en lo establecido por el artículo 168 de la Ley Federal del Derecho de Autor, las inscripciones en el re- establecen la presunción de ser ciertos los hodros y actos que en elsa consten, salvo prueba en contraño inscripción deja a salvo los derechos de tercenos. Si surge controversia, los efectos de la inscripción quedarán suspense en tanto se pronuncie resolución firme por autoridad competente. Con funcamento en los artículos 2, 208, 209 fracción II y 211 de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 64 fracción M y 164 del Reglamento de la Ley Federal del Derecho de Autor; y artículos 1, 3 fracción 1, 4, 8 fracción 1 y Bealamento la particulo Nacional del Derecho de Autor; se artículos 1, 3 fracción 1, 4, 8 fracción 1 y Bealamento la parteción de batil de Nacional del Derecho de Autor; se artículos 1, a fracción 1, 4, 8 fracción 1 y Bealamento la parteción de batil de Nacional del Derecho de Autor; se artículos 1, 5 fracción 1, 4, 8 fracción 1 y Bealamento la parteción de batil de Nacional del Derecho de Autor; se articida el presente cartificado.	TITULAR:	UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO (CON L'UNDAMENTO EN EL ARTICULO 83 DE LA L.F.D.A.)		
Con fundamento en lo establecido por el artículo 168 de la Loy Federal del Derecho de Autor, las inscripciones en el re- establecen la presunción de ser ciertos los hechos y actos que en ellas consten, salvo prueba en contrario inscripción deja a salvo los derechos de teneros. Si surge controversia, los efectos de la inscripción quedarán suspen- en tanto se pronuncie resolución time por autoridad competente. Con fundamento en los artículos 2, 208, 208 fracción III y 211 de la Loy Federal del Derecho de Autor; artículos 64 fracción IV y 104 del Reglemento de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 1, 3 fracción 1, 4, 8 fracción I y Reviensento lavorido de bratilio Nacional del Derecho de Autor; se explició el presente partificado.	Con funcamento e exclusivamente la	n el artículo 3° de la Ley Federal del Derecho de Autor el presente contilicado ampara única obra original Programa de Computación.		
Con fundamento en los artículos 2, 208, 209 fracción III y 211 de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 64 fracción IV y 104 del Reglamento de la Ley Foderal del Derecho de Autor; y artículos 1, 3 fracción I, 4, 8 fracción I y Bealamento la particula de la casteria de la territoria de Autor; y artículos 2, 3 fracción I y Bealamento de la casteria de la ca	Con fundamento en establecen la pres inscripción deja a si en tanto se pronun	lo establecido por el anticulo 168 de la Loy Federal del Derecho de Autor, las inscripciones en el registi unción, de ser ciertos los hechos y actos que en ellas consten, salvo prueba en contrario. Tos alvo los derechos de terceros. El surge controversia, los efectos de la inscripción quedarán suspendido de resolución tirme por autoridad competente.		
regenero nero de resta de resta do secolo se mas recento se mase a prese de anticada.	Con fundamento a fracción IV y 104 de Reglamento Interior	n los aniculos 2, 208, 209 fracción III y 211 de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 84, 10 al Reglamento de la Ley Foderal del Derecho de Autor; y artículos 1, 3 fracción 1, 4, 8 fracción 1 y 9 d de Instituto Nacional del Derecho de Autor, se excida el presente cartificado.		
Número de Registro: 03-2022-121408564700-01	Número de Reg	istro: 03-2022-121408564700-01		

JESÚS PARETS GÓMEZ

AUGUST!

CRETARIA DE CULTURA MUDITAL DE CULTURA DEME POR ENDIA DEME POR ENDIA DEME POR ENDIA DEME DE LOS CONTRO RÉMESO DE LOS CONTROLS

92

Anexo III. Divulgación de los resultados de la investigación

Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal Vol. 13 No. 2 p. 35.

Área temática: Biotecnología

# ESCALAMIENTO DE UN CONSORCIO MICROBIANO FOTOSINTÉTICO NATIVO DE UN CULTIVO DE MAÍZ (Zea mays) EN FBR TIPO COLUMNA DE BURBUJA DE 0.5 L A FBR DE CARA PLANA DE 6

Mónica Ivette Sánchez-Contreras<sup>1</sup>, Pablo Antonio López-Pérez<sup>2</sup>, Carlos Alexander Lucho-Constantino<sup>1</sup>, Oscar Arce-Cervantes<sup>3</sup>, Dulce Jazmín Hernández-Melchor<sup>4</sup>, Rosa Icela Beltrán-Hernández<sup>1</sup>\*

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Químicas, <sup>2</sup>Escuela Superior de Apan, <sup>3</sup> Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Mineral de la Reforma, Hidalgo. <sup>4</sup>Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México.

(\*Autor de correspondencia: rosa@uaeh.edu.mx)

## RESUMEN

En este trabajo se presenta una comparación experimental de la concentración de biomasa de un consorcio microbiano fotosintético (CMF) obtenido de un cultivo de maíz (Zea mays) en medio de cultivo BG11<sub>0</sub>, de un fotobiorreactor de columna de burbuja (FCB) con un volumen operacional  $(V_0)$ de 0.5 L a un fotobiorreactor de cara plana (FCP) con Vo de 5 L. Las condiciones operacionales de los dos fotobiorreactores fueron: aireación de 24 horas, fotoperiodo 12:12 (oscuridad:luz), flujo de iluminación de 25 µmolf mºls2, pH inicial de 7.1-7.4, medio de cultivo estéril, FBR lavado con solución 0.05% de hipoclorito de sodio y desinfectado con solución de etanol al 70%. Las condiciones experimentales por considerar además de la geometría son: relación área de iluminación/volumen, flujo de aireación y porcentaje de inóculo. En el CMF se ha identificado morfológicamente la presencia de Nostoc sp.y Scenedesmus sp. El aumento de área de iluminación de 0.01 m<sup>2</sup> en el FCB a 0.09 m<sup>2</sup> en el FCP, se reflejó en un aumento en las concentraciones finales de biomasa, aunque en ambos la concentración inicial fue de 0.16 g L<sup>-1</sup>, para el día 14 presentaron una concentración máxima de 0.58 g L-1 en el FCB y de 1.1 g L-1 en el FCP. La velocidad específica de crecimiento (µ) es mayor en el FCP con un valor promedio de 0.19 d<sup>-1</sup>, mientras que el FCB fue de 0.11 d<sup>-1</sup>, lo cual representa una mayor productividad volumétrica (Pv) en el FCP con un valor de 0.21 g m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup> contra 0.05 g m<sup>-</sup> <sup>3</sup> d<sup>-1</sup> en FCB. En conclusión, el cambio de configuración geométrica de un FCB a un FCP y de  $V_0$  de 0.5 L a 6 L tiene un efecto debido a que duplica la proporción de concentración de biomasa en el mismo periodo de tiempo.

Palabras clave: escalamiento, fotobiorreactores, consorcio microbiano nativo.

Open Access: This abstract is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC-BY 4.0) which permits any use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and the source are credited.

©The Author(s) 2022. This abstract is published with open access by Sociedad Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal Vol. 13 No. 2 p. 36.

Área temática: Biotecnología

## OPTIMIZACIÓN DEL CRITERIO DE ESCALAMIENTO ÁREA DE ILUMINACIÓN/VOLUMEN PARA UN FBR UTLIZANDO PROGRAMACION NO LINEAL

Mónica Ivette Sánchez-Contreras<sup>1</sup>, Eduardo Alvarado-Santos<sup>3</sup>, Pablo Antonio López-Pérez<sup>2</sup>\*, Rosa Icela Beltrán-Hernández<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Químicas.

<sup>2</sup>Escuela Superior de Apan, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Mineral de la Reforma, Hidalgo.

<sup>3</sup>Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV. IPN, San Pedro Zacatenco, México.

(\*Autor de correspondencia: pablo\_lopez@uaeh.edu.mx)

### RESUMEN

La intensidad de iluminación es un factor limitante para el crecimiento de microalgas y cianobacterias, en específico, para la construcción de fotobiorreactores (FBR) depende específicamente del área de iluminación, además de la configuración y geometría. El fotobiorreactor de cara plana (FCP) de geometría rectangular y configuración cerrada es el utilizado a nivel laboratorio para fines de escalamiento industrial. En este trabajo se presenta una alternativa operacional para maximizar el área de iluminación minimizando las dimensiones el FCP vía un algoritmo evolutivo de optimización global (función objetivo (J)) el cual es validado experimentalmente. Se define un factor gamma como la relación área de iluminación/volumen operacional, este parámetro permite el diseño y construcción de FCP con diferente volumen para su escalamiento. Matemáticamente la formación de J se considera un problema de programación no lineal que consiste en encontrar el vector de parámetros P provenientes de un ajuste entre el sistema de referencia y un sistema secundario que emula al sistema de referencia. En este trabajo J está definida como la norma del error entre el volumen deseado y el volumen calculado, donde P = (L, h, h)b, k). Los parámetros fueron estimados con una metodología hibrida que muestra los valores óptimos y reales del FBR. La minimización se realizó mediante un barrido del parámetro k. En conclusión, este algoritmo permite determinar las dimensiones de un FCP para diferente volumen con el mismo factor gamma y facilitar el proceso de escalamiento.

Palabras clave: optimización, fotobiorreactor de cara plana, escalamiento, área de iluminación.

Open Access: This abstract is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC-BY 4.0) which permits any use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and the source are credited.

©The Author(s) 2022. This abstract is published with open access by Sociedad Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal

36

Anexo IV. Constancias de participación







# Anexo V. Conservación de las muestras del CMF en medio sólido

En la siguiente tabla, se resume las condiciones y muestras en conservación en medio sólido.

	•	
Medio de cultivo	Muestras en conservación	Condiciones
BG11	MC, MR, MA,MCR y MCRA	Tiempo: 6 meses
BG110		Periodo de iluminación: 18 x 12 horas
		Iluminación: 10-30 μmol·m <sup>-1</sup> ·s <sup>-1</sup>
		Temperatura: 20-25 °C
		рН: 7.1-7.5
		Fase del inóculo: Estacionaria

Relación de muestras que se encuentran en mantenimiento perpetuo.