

Perspectivas sobre los sistemas de cultivo de microalgas: una revisión crítica

Insights into microalgae culture systems: A critical review

Mariana Manzoni Maroneze*, Carlos Alberto Montenegro Herrera,
Alfredo Martínez Jiménez

Departamento de Ingeniería Celular y Biotecnología, Instituto de Biotecnología, Universidad
Nacional Autónoma de México,
Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Mor. 62210, México

mariana.manzoni@ibt.unam.mx, carlos.montenegro@ibt.unam.mx,
alfredo.martinez@ibt.unam.mx

Resumen

Debido a su amplia variedad de aplicaciones, los procesos y productos basados en microalgas son actualmente el foco de un número considerable de investigadores, tanto en institutos de investigación y universidades públicas, como en empresas privadas de todo el mundo. Sin embargo, a pesar de los avances recientes, la producción de microalgas todavía tiene varios desafíos que deben abordarse, especialmente relacionados con los sistemas de cultivo. De esta manera, expertos de todo el mundo están trabajando en enfoques de ingeniería que ayudarán a la consolidación del cultivo de microalgas a escala comercial. En este sentido, el objetivo de esta revisión es abordar críticamente los problemas relacionados con los sistemas de cultivo de microalgas. Se discuten los principales factores que afectan la eficiencia de los cultivos de microalgas, los fotobiorreactores más usados, con sus ventajas y limitaciones, así como una comparación de los sistemas de cultivo y, finalmente, se presentan algunos casos comerciales de éxito.

Palabras clave: Alga, fotobiorreactores, bioprocesos, bioproductos.

Abstract

Because the wide array of applications, microalgae-based processes and products are currently the focus of considerable number of research, both in government agencies, and private companies around the world. However, despite the recent advances, microalgae production still has several challenges that need to be addressed, especially related to the culture systems. In this way, experts all over the world are working on engineering approaches that will assist in the consolidation of commercial microalgae. In this sense, the objective of this review is to critically address the issues related to microalgae culture system. In this review, we discuss major factors affecting the efficiency of microalgae cultures, the main photobioreactors available with its advantages and limitations, a comparison of these cultivation systems and, finally some commercial cases of success will be presented.

Key words: Algae, photobioreactors, bioprocesses, bioproducts.

Introducción

La población mundial continúa aumentando y se espera que llegue a 9 mil millones de personas en 2050. Este hecho asociado a la industrialización, la urbanización y el desarrollo de la economía global, han provocado el cambio climático y un aumento en la demanda de energía, alimentos, agua, medicamentos y otros recursos esenciales en las actividades humanas (Fetanat et al., 2021). Además, la actual pandemia de COVID-19 ha exacerbado el riesgo de hambruna e inseguridad alimentaria a nivel mundial (Laborde et al., 2020). Por lo tanto, para satisfacer las crecientes demandas, será necesario el desarrollo y la implementación de innovaciones incrementales y disruptivas para avanzar hacia sistemas alimentarios y energéticos más resilientes. En este sentido, las microalgas han sido identificadas como uno de los recursos biológicos más prometedores para el suministro de la próxima generación de alimentos, piensos, nutracéuticos y biocombustibles, entre otros productos (Wibisono et al., 2019).

La biomasa de estos microorganismos presenta una amplia gama de moléculas y productos potenciales como carbohidratos, proteínas, lípidos, pigmentos, minerales, vitaminas y enzimas (Barros et al., 2019). Además, los procesos basados en microalgas también se han propuesto como una herramienta poderosa para aplicaciones ambientales, específicamente el tratamiento de aguas residuales y la mitigación de CO₂. Aproximadamente 7000 toneladas de biomasa de algas secas se producen en todo el mundo cada año y el mercado mundial de biomasa de algas se valoró en USD 717.14 millones en 2018 y se prevé que alcance los USD 1365,8 millones en 2027, a una tasa de crecimiento anual compuesta de 7.42% (Transparency Market Research, 2018). Estos datos muestran que la industria de las microalgas está ganando popularidad a nivel mundial, ya que además de la amplia variedad de aplicaciones, tiene varias ventajas potenciales frente a otros recursos fotosintéticos (Tang 2020).

A diferencia de las plantas, el crecimiento de microalgas no se limita a tierras cultivables y agua dulce. Además, estos microorganismos presentan alta

productividad, bajo impacto ambiental y no presentan estacionalidad; es decir, su cultivo se puede repetir durante todo el año y se puede cosechar diariamente (Daneshvar et al., 2021). A pesar de estas potencialidades, uno de los principales requerimientos para apoyar el desarrollo de la industria de las microalgas es el cultivo eficiente de microalgas a gran escala de forma económica. La tecnología de cultivo está relacionada tanto con el diseño del tipo y configuración de los sistemas de cultivo abiertos o cerrados, así como con las condiciones operativas que conducen al equilibrio entre el crecimiento óptimo de las microalgas y la productividad del bioproducto objetivo (Yen et al., 2019; Maroneze et al., 2020).

Con el mercado en crecimiento y la necesidad de sistemas de cultivo que permitan la producción comercial de microalgas, la investigación en el campo de los fotobiorreactores se intensificó en las últimas décadas. Se han propuesto múltiples diseños y configuraciones de fotobiorreactores con diferencias sustanciales en los costos de construcción y operación. Aun así, la mayoría de los sistemas se clasifican en una de cuatro categorías: fotobiorreactores de tanque, tubulares, planos o híbridos, que, como regla general, se dividen en abiertos y cerrados. Incluso con todas las investigaciones realizadas a nivel mundial, todavía no existe un sistema universal para el cultivo a gran escala de microalgas. Para cualquier aplicación, el fotobiorreactor que se utilizará debe seleccionarse adecuadamente en función de la cepa, los productos objetivo, los rendimientos y las condiciones ambientales (Chang et al., 2017).

Teniendo en cuenta lo anterior, el objetivo de esta revisión es abordar críticamente los conocimientos relacionados con los sistemas de cultivo de microalgas. Primero, se presenta una descripción general de los procesos basados en microalgas con énfasis en el modo de cultivo y los factores que afectan la producción de biomasa de microalgas. A continuación, se presenta una descripción crítica de los desarrollos recientes y consolidados en las tecnologías de cultivo de microalgas. Finalmente, se revisan algunos casos comerciales de éxito de los sistemas de cultivo de microalgas en todo el mundo.

Procesos basados en microalgas

Los procesos basados en microalgas comprenden operaciones secuenciales de procesamiento: *upstream* (USP) y *downstream* (DSP) (Figura 1). El USP se centra en la selección de cepas, la manipulación genética, el cultivo y los requerimientos del sistema biológico. El DSP tiene como objetivo la cosecha, secado, ruptura celular, extracción y purificación de los bioproductos de la biomasa de microalgas. Los USP, especialmente el cultivo, se consideran la línea de base en los procesos de microalgas. Esta operación unitaria es un punto crítico en el proceso, tanto en términos técnicos como económicos, ya que afecta directamente la calidad y cantidad de la biomasa microalgal producida (Deneshvar et al., 2021). El proceso de producción puede diferir de muchas maneras, donde la primera variación a considerar es la elección metabólica de fuentes de carbono y energía, que pueden ser fotoautótrofas, heterótrofas y mixotróficas.

Cultivos autótrofos vs heterótrofos vs mixotróficos

Las microalgas se han producido a gran escala desde la década de 1960, dado su alto potencial como fábricas de células. Desde entonces, el proceso fotosintético es la condición de cultivo más utilizada para el crecimiento de microalgas a nivel comercial (Chew et al., 2018). El cultivo fotoautótrofo se refiere al proceso en el que las microalgas, a través de la fotosíntesis, capturan la energía luminosa y convierten directamente el carbono inorgánico en energía química (Yin et al. 2020). Los procesos basados en esta ruta metabólica se consideran más económicos y

eco-amigables que el de los otros dos, ya que pueden utilizar la luz solar, los gases residuales industriales y el CO₂ de la atmósfera para su mantenimiento y crecimiento. Por otro lado, el escalamiento de cultivos autótrofos es un proceso que requiere mucho tiempo y ocupa un área significativa de las fábricas de producción industrial. Aunque la fotosíntesis es la ruta preferida de la gran mayoría de microalgas, está bien establecido que algunas cepas han conservado la capacidad de utilizar diferentes fuentes de carbono orgánicas para crecer heterótróficamente o mixotróficamente, incluso mostrando mejores rendimientos en la producción de biomasa.

La producción de microalgas en fermentadores (cultivos cerrados), bajo condiciones de crecimiento heterótrofo, ha demostrado ser una ruta de comercialización muy exitosa. En este modo de crecimiento, el carbono exógeno se descompone de la misma manera que en otros microorganismos, donde las moléculas complejas se metabolizan a través de la vía Embden-Mayerhoff-Parnas (vía EMP o glucólisis) o vía de las pentosas fosfato (PPP) (Jareonsin & Pumas, 2021). Según Pérez-García et al. (2011), cuando es posible el crecimiento heterótrofo se puede superar la mayor deficiencia de los cultivos autótrofos, es decir, la dependencia de la luz que complica significativamente el proceso. Además, el fácil escalamiento y la relativa simplicidad de las operaciones y el mantenimiento diario son los principales atractivos del crecimiento heterótrofo. Sin embargo, el cultivo heterótrofo de microalgas puede incrementar los costos de producción, debido a la necesidad de una

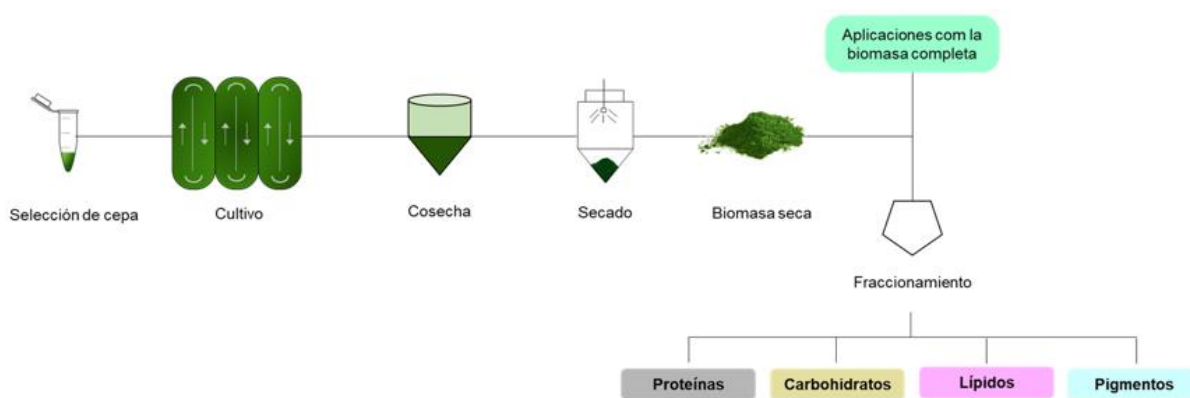


Figura 1. Proceso fundamental basado en microalgas.

fuentes de carbono orgánico exógena, y también son susceptibles a la contaminación microbiana y se limitan a producir metabolitos no inducidos por la luz. Para mejorar la viabilidad económica en la comercialización de productos a base de microalgas, se pueden emplear azúcares (p. ej. glucosa) o residuos de bajo costo, como es el caso del glicerol (Katiyar et al., 2017), desechos de alimentos (Pleissner et al., 2013) y aguas residuales agroindustriales (Maroneze et al., 2014; Queiroz et al., 2018), que son sustratos ampliamente utilizados para este propósito. Además de incrementar la viabilidad económica, el uso de residuos y desechos contribuye a la gestión de residuos (Neves et al., 2016).

Otra estrategia de cultivo para el crecimiento de microalgas es el modo mixotrófico, donde estos microorganismos pueden metabolizar simultáneamente carbono orgánico e inorgánico, mediante la respiración celular y la fotosíntesis, respectivamente (Zhan et al., 2017). Teniendo en cuenta que la mixotrofia comprende modos heterótrofos y autótrofos, las microalgas que tienen esta capacidad metabólica pueden crecer constantemente aún bajo la limitación de cualquiera de las fuentes (luz, carbono orgánico e inorgánico), incrementando de esta manera la factibilidad económica para la producción a gran escala. Otra ventaja importante de estos procesos está relacionada con la biorremediación, ya que se pueden aplicar para tratar tanto gases de combustión como aguas residuales orgánicas (Patel et al., 2020). Además de los beneficios, el cultivo mixotrófico también comparte varias

desventajas del régimen heterotrófico: riesgos de contaminación, costo de la fuente de carbono exógeno y número limitado de especies capaces de crecer en este modo; y del autótrofo: sistemas de cultivo tecnológico no completamente desarrollados.

Parámetros de la producción de microalgas

Para que los procesos basados en microalgas sean sostenibles, factibles y económicamente viables, es necesario desarrollar tecnologías de cultivo con alta productividad de biomasa y/o bioproductos objetivo al menor costo de producción. Con frecuencia, como el producto objetivo está relacionado con la formación de masa celular o el producto es la propia biomasa, la productividad de la biomasa es el parámetro clave a maximizar. El cultivo de microalgas depende de la especie y se ve afectado por factores biológicos como la intensidad de la luz, la temperatura, el pH, el CO₂, el oxígeno y la disponibilidad de nutrientes. La productividad también está directamente relacionada con el diseño del fotobiorreactor, y esto depende de factores como la geometría, la dinámica de fluidos y la capacidad de transferencia de masa. Una vez definidas las condiciones biológicas y el diseño del fotobiorreactor, el siguiente paso es seleccionar la ubicación geográfica de la instalación de microalgas, con base a la radiación solar, el fotoperiodo, la temperatura y las variaciones estacionales, como se muestra en la Figura 2 (García-Mañas et al., 2019; Acien et al., 2020; Kirnev et al., 2020).

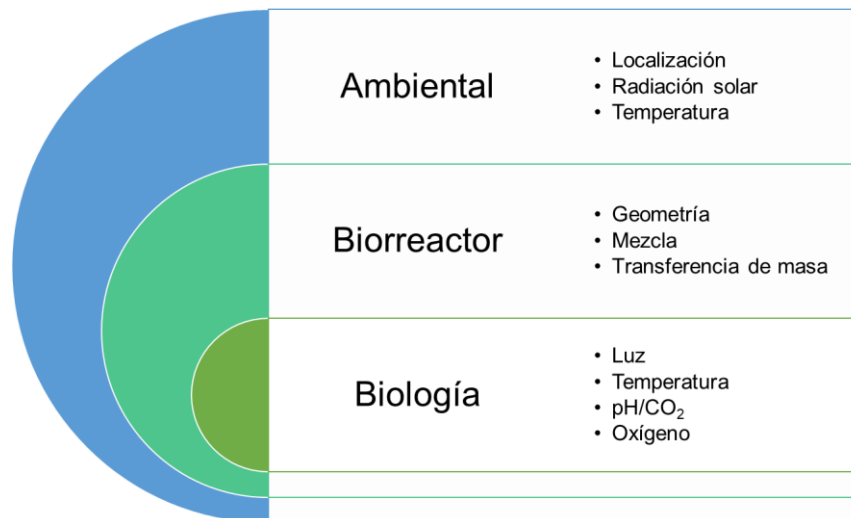


Figura 2. Principales parámetros que determinan la productividad de los sistemas relacionados con las microalgas.

Medio ambiente: factores operativos que afectan los parámetros biológicos

Como se describió anteriormente, el crecimiento de microalgas se ve afectado por la combinación de varios parámetros operativos, tales como la intensidad de la luz, el fotoperíodo, la temperatura, el pH, el CO₂, el oxígeno disuelto y la disponibilidad de nutrientes en el medio de cultivo (Kitaya et al., 2008). Entre ellos, la calidad y cantidad de luz es el motor de la reacción de la fotosíntesis y afecta no solo la fotosíntesis de microalgas, la composición celular y las vías metabólicas, sino también la eficiencia económica del proceso de cultivo de estos microorganismos (Blanken et al., 2013; Maroneze et al., 2016).

De todo el espectro de luz solar, la radiación fotosintéticamente activa (PAR) para las microalgas solo varía entre 400 y 700 nm aproximadamente, lo que representa el 43% de la radiación solar (Kwan et al., 2020). La capacidad de las microalgas y cianobacterias para absorber una longitud de onda de luz específica depende de los pigmentos que sintetiza, los cuales funcionan como complejos antena captadores de fotones. La mayoría de los pigmentos fotosintéticos son clorofilas "a" y "b", que exhiben dos picos de absorción máxima, en azul (420 nm para Chl_a y 435 nm para Chl_b) y rojo (660 nm para Chl_a y 643 nm para Chl_b). Otros pigmentos implicados en la absorción de luz son los carotenoides (420-550 nm) y las ficobilinas (500-650 nm) (Martín-Girela et al., 2017).

Ya está bien definido que la luz es necesaria para la fotosíntesis de microalgas, pero para el desarrollo de fotobiorreactores y procesos de base fotosintética, es necesario comprender los fenómenos asociados con diferentes intensidades de luz, que son la limitación, saturación e inhibición por la luz (Carvalho et al., 2011). Existe un mínimo de luz requerido para realizar la fotosíntesis, conocido como irradiancia de compensación, por debajo de este valor, las microalgas están bajo fotolimitación, lo cual ocurre cuando no hay luz suficiente y se produce la respiración. Por encima de este valor de compensación, la tasa de asimilación fotosintética aumenta con la irradiancia hasta alcanzar el punto de saturación de la luz. A irradiaciones superiores al punto de saturación, se produce la fotoinhibición, lo que provoca un daño reversible al aparato fotosintético,

posteriormente con el aumento de la intensidad de luz, se induce un daño oxidativo celular (fotooxidación), el cual es irreversible. Los valores de estos parámetros característicos de la luz son diferentes para las diferentes microalgas; por tanto, son factores cruciales para considerar a la hora de elegir la especie y diseñar el fotobiorreactor (Chang et al., 2017; Martín-girela et al., 2017; Acién et al., 2020).

La energía luminosa puede ser proporcionada por la luz solar, que es la fuente de energía más rentable para la producción de microalgas. Sin embargo, también tiene ciertas desventajas, incluidos los ciclos día/noche, la influencia de las condiciones climáticas y los cambios estacionales. Por otro lado, la iluminación artificial puede dar como resultado una tasa fotosintética mejorada y, por lo tanto, una productividad mayor de la biomasa y la acumulación de productos específicos. Al mismo tiempo, el uso continuo de luz artificial da como resultado aumentos en los costos por consumo de energía eléctrica, lo que incrementa los costos del producto final (Blanken et al., 2013; Abu-Ghosh et al., 2015; Kwan et al., 2020). Alternativamente, se ha propuesto el uso de diferentes fotoperíodos para reducir la demanda de energía en cultivos de microalgas y por ende desarrollar procesos más económicos y eficientes, ya que el uso de regímenes de luz adecuados puede reducir la demanda de energía lumínica con una productividad similar o incluso superior a la obtenida con iluminación continua (Maroneze et al., 2016; Maroneze et al., 2019). Otro factor importante para considerar es la radiación ultravioleta (UV). La radiación UV puede afectar la fisiología normal, la bioquímica de las células de microalgas y afectar negativamente la fotosíntesis, el crecimiento, la motilidad y otros procesos celulares (Rastogi et al., 2019). El continuo agotamiento de la capa de ozono estratosférico indica que este factor será cada vez más relevante en la transición de cultivos del interior al exterior. Este efecto, fue evidenciado en la práctica por Schipper et al. (2021), quienes concluyeron que la radiación UV puede haber sido uno de los principales factores del fracaso en la transición de cultivos de cianobacterias de interior a exterior en Qatar, una región con altos niveles de radiación UV.

Además de la calidad y cantidad de luz, el crecimiento de las microalgas está muy influenciado por la temperatura. En general, cada especie de microalgas se caracteriza por una temperatura de crecimiento óptima. Por debajo de este valor, la tasa de crecimiento de los cultivos se reduce, aproximadamente, a la mitad cada 10 grados. Por otro lado, por encima del valor óptimo de temperatura el cultivo puede morir por sobrecalentamiento, generalmente a 10 °C por encima del valor óptimo (Queiroz et al., 2018; Ación et al., 2020). El metabolismo de las microalgas es un conjunto de procesos fotoquímicos y bioquímicos. Por lo tanto, las fluctuaciones de la temperatura ambiental tienen un impacto directo en las tasas de crecimiento a través de sus efectos en los procesos bioquímicos y fisiológicos térmicamente sensibles. Las temperaturas bajas generalmente reducen la actividad carboxilasa de la enzima RuBisCo, y esto puede conducir a una sobreproducción de energía en las membranas de los tilacoides, lo que puede generar un desequilibrio entre el suministro de energía fotosintética y el consumo de energía dentro del ciclo de Calvin-Benson-Bassham en la célula (Falk et al., 1996; Ras et al., 2013; Siqueira et al., 2020).

La mayoría de las microalgas son mesófilas, las tasas de crecimiento máximas comienzan en temperaturas entre 20 y 25 °C. Sin embargo, algunas especies pueden crecer en condiciones extremas de temperatura, como cepas termófilas y psicrófilas, p. Ej. *Galdieria sulphuraria* y *Asterionella formosa*, que tienen temperaturas óptimas de crecimiento alrededor de 42 °C y 17 °C, respectivamente (Ras et al., 2013). Las microalgas cultivadas en fotobiorreactores al aire libre están expuestas a variaciones estacionales y diurnas de temperatura. Por lo tanto, un equipo de control de temperatura puede ser crucial dependiendo del clima local. Por otro lado, se debe considerar que los sistemas de enfriamiento/calefacción ocasionan incrementos en el costo del bioproceso debido al uso intensivo de energía o en casos particulares el costo puede reducir por un aumento en la eficiencia del bioproceso (Uyar y Kapucu, 2015).

Por otra parte, el pH es una de las condiciones ambientales más críticas en el cultivo de microalgas, ya que determina la solubilidad y disponibilidad de CO₂ en el

cultivo e influye en el estado fisiológico de las células. Cada especie de microalgas tiene un rango de pH óptimo. En general, la mayoría de las especies de microalgas crecen en un pH neutro, excepto las marinas, que prefieren valores de pH de 8.0 a 8.4, y especies extremófilas, como *Spirulina platensis*, que puede tolerar hasta pH 9, y *Galdieria sulphuraria*, que puede tolerar pH por debajo a 2 (Khan et al., 2018). En cultivos de microalgas autótrofas, es común usar gas enriquecido con CO₂ para controlar el pH y proporcionar el carbono inorgánico requerido por las células, que comúnmente se suministra en la suspensión de microalgas en forma de burbujas a través de un difusor de gas (Fu et al., 2019; Ación et al., 2020). La concentración de CO₂ en el cultivo está determinada por la concentración de carbono inorgánico total en el medio de cultivo y el pH, según el sistema tampón bicarbonato-carbonato (CO₂ - HCO₃⁻ - CO₃²⁻). Es importante mencionar que, durante el cultivo, el pH aumenta gradualmente debido a la absorción de carbono inorgánico por las microalgas, lo que puede limitar la disponibilidad de CO₂ y luego inhibir el crecimiento celular. Por el contrario, en cultivos heterótrofos se consume oxígeno y se produce CO₂, la transferencia de masa líquido-gas también es un factor clave en estos procesos (Pérez García et al., 2011).

La reacción de fotosíntesis produce estequiométricamente 1.9 toneladas de oxígeno cuando se genera 1 tonelada de biomasa de microalgas. Si no se dispone de los mecanismos adecuados para eliminarlo, el oxígeno puede acumularse en el medio de cultivo (Maroneze y Queiroz, 2018). Los niveles altos de oxígeno pueden inducir la fotorrespiración en las microalgas, donde el exceso de O₂ compite con el CO₂ por los sitios de unión de RuBisCO. Este fenómeno conduce a un cambio de la fotosíntesis a la fotorrespiración, reduciendo así la eficiencia fotosintética y el rendimiento de biomasa. Además, la combinación de oxígeno y exceso de luz puede crear especies reactivas de oxígeno (ROS) y luego conducir a una fotooxidación severa (Richmond, 1991; Kazbar et al., 2019). En un estudio con condiciones de luz sub-saturadas y oxígeno disuelto saturado de aire, Raso et al. (2012) demostraron una reducción en la tasa de crecimiento específico de *Nannocchloropsis* sp. de 63% cuando

umentan la concentración de saturación de aire de 75% para 250%. De la misma forma, Sousa et al. (2013), investigaron el efecto de la presión parcial de oxígeno sobre el crecimiento de *Neochloris oleoabundans* a bajas intensidades de luz. En dicho estudio concluyeron que la pérdida en la productividad de la biomasa era resultado de la actividad fotorrespiratoria de RuBisCO, ya que la luz se encontraba en valores de subsaturación. Por lo tanto, un aspecto crítico del diseño y escalado de fotobiorreactores tubulares es establecer geometrías que no permitan la acumulación de oxígeno a niveles inhibitorios (Camacho-Rubio et al., 1999).

Parámetros del fotobiorreactor

Los sistemas de cultivo deben diseñarse para proporcionar las condiciones óptimas requeridas por las cepas seleccionadas con una demanda y un costo mínimo de energía. Por lo tanto, se deben proporcionar las condiciones de cultivo específicas ya discutidas. Para satisfacer estas demandas impuestas por el sistema biológico, los sistemas de cultivo deben diseñarse de manera que garanticen mezclado y transferencia de masa eficientes. Los biorreactores de microalgas se clasifican según su diseño en dos tipos principales: sistemas abiertos (como estanques extensos sin mezclar, estanques con canales) y sistemas cerrados (como fotobiorreactores tubulares -PBR-, PBR verticales, fermentadores heterótrofos). Normalmente, estas estructuras constan de sistemas de cuatro fases: células como fase sólida, medio de crecimiento como fase líquida, fase gaseosa y colector de radiación luminosa (en el caso de cultivos fotoautótrofos) (Chang et al., 2017).

El primer aspecto de la geometría a considerar en los fotobiorreactores es la relación superficie-volumen (relación S/V), ya que la distribución de luz en el PBR está relacionada con el área total de superficie transparente disponible. Como regla general, las productividades máximas de cultivo se logran con una relación S/V más alta, ya que esto asegura una mejor uniformidad de la energía luminosa, mejorando la eficiencia fotosintética. Por lo tanto, se prefieren los diseños de PBR de trayectoria de luz corta, incluidos los PBR tubulares, de placa plana, de biopelícula o de columna vertical. Además,

la distribución de la luz es el mayor cuello de botella en la ampliación de los PBR, ya que limita su volumen o la reducción excesiva de diámetro puede provocar un colapso estructural.

En cualquier sistema de cultivo de microalgas es imperativo generar condiciones hidrodinámicas que promuevan un buen mezclado para: (i) minimizar la existencia de gradientes y distribuir eficientemente nutrientes y gases entre las células y el medio de cultivo; (ii) evitar el estancamiento de las células en zonas no iluminadas; (iii) mantener las células en suspensión; (iv) facilitar la transferencia de calor y el intercambio de gases; y (v) evitar los fenómenos de fotolimitación, fotoinhibición y fotooxidación. En sistemas abiertos como "raceways", el mezclado se realiza mecánicamente mediante sistemas de agitación con ruedas de paletas. En fotobiorreactores cerrados, la mezcla se realiza mediante bombas y/o aspersores de CO₂/aire (p. Ej., columna de burbujas o airlift). Los fermentadores heterótrofos convencionales se agitan mediante impulsores y deflectores y/o mediante aireación con sistemas de elevación de aire o columna de burbujas (Pérez-García et al., 2015). También se puede aplicar una combinación de métodos mecánicos y no mecánicos en fotobiorreactores y fermentadores. Sin embargo, los niveles de turbulencia que superan la resistencia al cizallamiento celular pueden conducir a una condición de estrés y, en consecuencia, inhibición de la actividad metabólica, daño celular o incluso disrupción celular (Assunção et al., 2020).

Los fenómenos de transferencia de masa afectan todos los aspectos de los bioprocesos. La capacidad de transferencia de masa del sistema de cultivo biológico es su capacidad para transportar cualquier componente a las células (Acién et al., 2020). Los compuestos disueltos en la fase líquida están disponibles fácilmente para las células ya que están suspendidos en el mismo líquido. Por otro lado, los problemas de transferencia de masa entre las fases gaseosa y líquida surgen durante el suministro de oxígeno y dióxido de carbono, en cultivos heterótrofos y fotoautótrofos, respectivamente (Chisti, 2009). Como ya se ha comentado, en los cultivos de microalgas los componentes que deben intercambiarse entre las fases líquida y

gaseosa son el CO₂ y el O₂. El desafío es proporcionar y eliminar estos gases a una velocidad lo suficientemente rápida para satisfacer los requisitos de las células de microalgas con un aporte mínimo de energía. La transferencia de masa se evalúa con frecuencia mediante el coeficiente de transferencia de masa volumétrica, el cual está dado en función de tres parámetros: (i) el coeficiente de transferencia de masa (k_{LA}); (ii) la fuerza impulsora, es decir la diferencia entre la concentración del componente en la fase líquida y la que está en equilibrio con la fase gaseosa; y (iii) el volumen del sistema (Reyna-Velarde 2010; Acién et al., 2020).

Parámetros ambientales/climáticos

Según Holdman et al. (2019), los procesos autótrofos de microalgas a gran escala solo pueden ser baratos si se utiliza la luz solar. Se debe considerar que los cultivos al aire libre están expuestos a cambios en el clima y cambios estacionales, que afectan la intensidad de la luz, la temperatura y el fotoperíodo, y por tanto, las productividades y los rendimientos del bioproceso dependen de las condiciones climáticas predominantes en una localidad en particular. Por lo anterior, para lograr un proceso rentable, es de vital importancia la selección de cepas de algas y ubicaciones adecuadas con alta irradiación solar anual y un intervalo de temperatura óptimo, que permita el crecimiento de las microalgas durante todo el año con niveles altos de productividad (Brusca et al., 2017).

Harmelen y Oonk (2006) establecieron que las condiciones climáticas adecuadas para las microalgas se encuentran aproximadamente en el área entre 37° N y 37° S de latitud, lo que corresponde a temperaturas medias anuales superiores a 15 °C. Siqueira et al. (2020) evaluaron el crecimiento de la microalga *Scenedesmus obliquus* en simulaciones climáticas de diferentes regiones de Brasil y concluyeron que los mejores resultados se encontraron en climas tropicales y bajas latitudes. Con la misma cepa de microalgas, Dias et al. (2020) evaluaron las condiciones simuladas de catorce tipos de climas distribuidos en 33 localizaciones geográficas de las zonas ecuatoriales y tropicales del mundo. Estos investigadores encontraron que los climas tropicales y secos, caracterizados por temperaturas más altas, favorecieron la

productividad de biomasa microalgal y la acumulación de lípidos. México, debido a su baja latitud promedio, tiene una alta irradiación solar anual, lo que resulta en temperaturas medias altas. De hecho, las civilizaciones nativas del Valle de México utilizaron como alimento la Spirulina, cianobacteria que crece naturalmente en el lago Texcoco a valores de pH elevados (Soni et al., 2017). Lozano-García et al. (2019) construyeron un modelo de sistema de información geográfica para identificar áreas en México con alto potencial de producción de microalgas e identificaron que hasta el 26.8% del país cuenta con áreas aptas para la producción de microalgas, equivalentes a 526,672 km². Esta información corrobora lo planteado por Speranza et al. (2015), quien concluye que los climas ideales para el cultivo de microalgas serían tropicales y secos con baja variación de temperatura durante el año. A nivel mundial, el grupo climático dominante por área de la superficie continental es el seco (30.2%), seguido de tropical (19%) y subtropical (13.4%) (Dias et al., 2020). Además, es importante mencionar que es poco probable que las regiones muy alejadas de la línea del Ecuador (latitud 0°) puedan soportar cultivos heterótrofos de microalgas, ya que los rayos solares están más inclinados y, en consecuencia, las regiones reciben una irradiación solar menor, lo que resulta en una menor temperatura (Speranza et al., 2015). Una vez definidos los aspectos relacionados con la posición geográfica y climática, se deben considerar factores relacionados con el uso del suelo, como la topografía, el nivel y la accesibilidad de las parcelas, así como la disponibilidad de insumos (agua y nutrientes) y el acceso a la infraestructura de transporte.

Sistemas de cultivo de microalgas

Sistemas abiertos

Raceways

Actualmente, los estanques de “*raceways*” son el sistema más utilizado para la producción comercial de microalgas, se utilizan en aproximadamente el 95% de la producción mundial; debido principalmente a su simplicidad, flexibilidad, fácil ampliación, y bajos costos de construcción y operación (Mendoza et al. 2013). Un *raceway* es un canal de recirculación de circuito cerrado, generalmente hecho de paredes de concreto

y divisores revestidos con una membrana de plástico o fibra de vidrio para evitar filtraciones o simplemente se construyen en suelo compactado con un revestimiento para evitar que el suelo absorba el líquido (Singh & Sharma, 2012). En estos estanques se utiliza mezclado con ruedas de paletas con el fin de mantener un sistema homogéneo de microalgas, agua y nutrientes, los cuales circulan alrededor de un “*raceway*”. Para la producción de biomasa de microalgas, las instalaciones basadas en canales suelen tener muchos estanques, ya que un solo estanque no suele superar las 0.5 ha (Chisti, 2016).

Los reactores de canales generalmente operan en modo continuo donde los nutrientes, cuando se requiere, se agregan en la parte frontal de la rueda de paletas, y las microalgas, después de que ha circulado a través del circuito, se recolectan detrás de la rueda de paletas (Singh & Sharma, 2012). Para evitar la limitación de la luz dentro del cultivo los canales se mantienen invariablemente poco profundos y, dado que la luz solar puede penetrar el agua del estanque solo a una profundidad limitada, generalmente tienen entre 25 y 30 cm de profundidad (Chang et al. 2017), lo cual incrementa el espacio requerido en la instalación y limita la productividad volumétrica del sistema. Además, debe tenerse en cuenta que la profundidad del reactor influye directamente en la transferencia de masa y calor. La menor profundidad de los canales reduce el tiempo de contacto entre la fase gaseosa y líquida y en consecuencia se pierde hasta un 80-90% del CO₂ burbujeado a la atmósfera, lo cual puede llevar a una limitación de carbono (Kumar et al., 2015).

Por otro lado, estos sistemas presentan algunos inconvenientes importantes, que incluyen alto riesgo de contaminación del cultivo, falta de control de temperatura, bajo crecimiento celular, lo que resulta en altos costos de recolección, y, el considerado más grave, mala transferencia de masa gas/líquido (Mendoza et al., 2013). No obstante, sigue siendo el sistema económicamente más viable a nivel comercial. Slade y Bauen (2013) estimaron el costo de producción de biomasa de microalgas en *raceway* y en fotobiorreactor tubular, y concluyeron que la producción en el

sistema abierto puede ser aproximadamente un 80% menor. Según Chisti (2016), el costo estimado para producir un estanque revestido de plástico de 100 ha de tierra compacta fue de aproximadamente USD 144,830 por ha en 2014. Aunque se han reportado altas productividades de biomasa, p. ej. 37 g m⁻² d⁻¹ (Moheimani & Borowitzka, 2006), por lo general se describen productividades mucho menores, como 1.6-3.5 g m⁻² d⁻¹ (García-González et al., 2003), y 4-10 g m⁻² d⁻¹ (Delrue et al., 2017). Esta variación también se reflejará en el costo de producción de biomasa, que, según Ación et al. (2019), generalmente es mayor a 4.5 €/kg. Delrue et al. (2017) estimaron que el costo de producción de *Spirulina* en estanques de canales oscila entre 3.8 y 9.5 €/kg dependiendo de la productividad del sistema. Fernández et al. (2019) estimaron que el costo de producir microalgas en un sistema de canales es 50% más bajo que en fotobiorreactores de capa delgada en cascada.

A pesar de ser una tecnología rudimentaria, los estanques de *raceways* siguen siendo una pieza clave para la expansión de los productos y procesos basados en el mercado de las microalgas, ya que son el sistema más económico y sencillo. Aun así, para que esto sea económicamente viable es necesario invertir en mejoras en los sistemas y procesos. En este sentido, varios investigadores y empresas han buscado soluciones a estos cuellos de botella tecnológicos. Ryu et al. (2019) acoplaron un intercambiador de calor a un biorreactor de laguna utilizando el flujo de residuos industriales como fuente de calor y como estrategia para mantener una alta productividad durante todo el año. Estos autores registraron un aumento de hasta un 44% en la productividad de los cultivos y un 95% en la viabilidad económica. Inostroza et al. (2021), optimizaron el diseño y la hidrodinámica de un “*raceway*” de 500 m², utilizando Dinámica de Fluidos Computacional (CFD). Eustance et al. (2020) mejoraron la eficiencia de utilización de CO₂ en tres veces mediante la carbonatación de membranas. Sirikulrat et al. (2021) utilizaron una columna de dispersión de luz transparente para mejorar la iluminación en el nivel más profundo de un estanque de canales profundos, lo que resultó en un incremento del 48.3% para la

productividad y decrementos de 41.7% en la energía consumida y de aproximadamente 14% en la evaporación del agua.

Estanques extensos sin mezclar y estanques naturales

Las microalgas cuando encuentran condiciones ambientales favorables y con suficientes nutrientes, pueden crecer abundantemente de forma natural. Esto ocurre invariablemente con especies extremófilas, que crecen en condiciones que limitan el crecimiento de microorganismos contaminantes, como pH ácido o alcalino, temperatura extrema y alta concentración de sal. El principal ejemplo de esto son los cultivos de *Arthrospira*, también conocida comercialmente como Spirulina, que se utilizan comúnmente como alimento, suplemento dietético y suplemento alimenticio. Este microorganismo crece naturalmente en lagos alcalinos tropicales y subtropicales, con un pH de crecimiento óptimo en el rango de 8 a 10. El primer registro de producción y consumo de biomasa de Spirulina es de los aztecas que solían cosechar *Arthrospira maxima* (conocido como Tecuitlatl por pre-Hispanos) del lago de Texcoco en el Estado de México, muy cerca del actual aeropuerto internacional de la Ciudad de México (Figura 3). La Spirulina, después de ser secada, se vendía para consumo humano en un mercado de

Tenochtitlán. La primera producción comercial de Spirulina, iniciada en la década de 1970, fue en el "Caracol", una extensa laguna sin sistemas de mezclado artificial de la compañía Sosa Texoco (Belay, 2008, Hamed, 2016). Antes del cierre a mediados de la década de 1990 debido al aumento de la contaminación, resultante del desarrollo urbano e industrial de la Ciudad de México, el 'Caracol' era un evaporador solar gigante en forma de espiral de 3200 m de diámetro con una superficie de 900 ha dentro del lago de Texcoco, que producía alrededor de 300 toneladas de biomasa por año. La productividad de la biomasa informada en este sistema fue de 10 g m⁻² d⁻¹ (Borowitzka, 1999; Tredici, 2004).

Las lagunas extensas no mezcladas o lagunas poco profundas se denominan así porque generalmente tienen menos de 0.5 m de profundidad, hasta 250 ha de área y no tienen un sistema de mezclado (artificial), excepto el viento y la convección. Aunque requieren una cierta cantidad de trabajo para su construcción y mantenimiento, a menudo se les conoce como lagunas naturales (Tredici, 2004; Kumar, 2015). Los estanques sin mezclado pueden representar el método de cultivo comercial más económico y menos técnico cuando las condiciones climáticas adecuadas permiten el cultivo durante casi todo el año, como es el caso de Australia. El país alberga a los 3 mayores productores de



Figura 3. Azteca cosechando espirulina en México. Drawing in Human Nature, marzo de 1978, por Peter T. Furst (Hamed, 2016).

β -caroteno de *Dunaliella salina* en el mundo. Esta especie contiene hasta un 14% de β -caroteno en las células y también se considera un microorganismo extremófilo, ya que crece en medios de cultivo de alta salinidad, con un rango óptimo entre 18 y 22% de NaCl (Borowitzka et al. 1984; Maroneze et al., 2020).

El proceso de cultivo en estos estanques abiertos consiste en bombear agua de mar desde el océano adyacente al estanque y luego se agregan nutrientes a esta agua salina. Cuando el sistema ha alcanzado la densidad celular y el contenido de β -caroteno apropiados, el cultivo se dirige a una planta de recolección. Después de la cosecha, el medio residual se recicla al estanque, donde se ajusta la salinidad y el contenido de nutrientes (Borowitzka, 1990). Las principales ventajas de los estanques extensivos no mezclados están relacionadas con los aspectos económicos, ya que operan sin adición de CO₂, sin mezclado artificial, lo cual evita cierto consumo de energía eléctrica, y con un control mínimo del sistema, operando bajo condiciones de temperatura, humedad y ciclos luz/obscuridad que se presentan en el lugar (del Campo, 2007). Las principales desventajas están asociadas con las limitaciones de especies de microalgas que se pueden cultivar y las condiciones climáticas, además de la baja productividad, que apenas supera el valor de 1 g m² d⁻¹, lo que dificulta y encarece la recolección de biomasa (Trediti, 2004; Kotzen et al., 2019).

Estos sistemas, a pesar de sus problemas, son realmente rentables para el crecimiento de microalgas extremófilas, especialmente de *D. salina* para la producción de β -caroteno, el cual es un producto de alto valor. Sin embargo, estos sistemas están extremadamente limitados a regiones con una irradiancia anual muy alta, clima cálido, escasas precipitaciones y principalmente alta disponibilidad de agua salina.

Sistemas cerrados

Fotobiorreactores tubulares

Entre los sistemas cerrados, los fotobiorreactores tubulares se consideran el diseño más prometedor y factible para la producción comercial de microalgas, particularmente para la obtención de productos de alto valor como productos

químicos finos o farmacéuticos (Torzillo & Zittelli, 2015; Zittelli et al., 2013). El éxito de estos fotobiorreactores se debe a la gran superficie, las condiciones de cultivo estables y controlables, la reproducibilidad y la alta productividad de la biomasa. Esto permite utilizar estos reactores para generar biomasa a partir de cepas sensibles como *H. pluvialis*, que fácilmente son presa de microorganismos contaminantes y son sensibles a condiciones ambientales extremas (Berstenhorst et al., 2009). Como ocurre con cualquier reactor biológico, la productividad depende de variables diversas, como la configuración geométrica, las especies de microalgas y las condiciones de funcionamiento y cultivo.

Los fotobiorreactores tubulares se describieron por primera vez en 1953 (Tamiya et al., 1953), pero no se consolidaron hasta la década de 1990, después de ser mejorados progresivamente (Gudin & Chaumont, 1983; Pirt et al., 1983; Chaumont et al., 1988; Richmond et al., 1993). Consisten en una serie de tubos de plástico o vidrio transparentes rectos, que se pueden organizar en diferentes patrones (p. ej., rectos, en zigzag o en espiral) y ángulos (p. ej., horizontales, inclinados, verticales o helicoidales) (Maroneze & Queiroz, 2018). El intercambio de gases y la adición de nutrientes generalmente ocurren en una columna de burbujas o tanque adicional. El cultivo de microalgas se recircula mediante una bomba o por *airlift* en un flujo muy turbulento, con una velocidad del líquido en el rango de 0.4 a 1.0 m s⁻¹ (Trediti, 2004; Abomohra et al., 2016; Chang et al., 2017).

Aunque los PBR tubulares son una tecnología consolidada, todavía tienen varias desventajas que superar, incluida la fotolimitación o fotoinhibición, problemas de transferencia de masa y alto costo (Huang et al., 2017). En cultivos de exterior, los problemas con la iluminación son habituales, en donde para mitigarlos, además de la elección de la ubicación, el diámetro y disposición de los tubos son determinantes. En general, se acepta que, a menor diámetro, menor fotolimitación, por lo tanto, mayor eficiencia fotosintética, pero hay un límite mínimo para evitar el límite de saturación lumínica. Los valores de diámetro recomendados oscilan entre 0.03 y 0.12 m. Como ya se ha comentado, el exceso de O₂ en cultivos autótrofos es tóxico para las

células y debe eliminarse de forma eficaz, en este sentido el PBR tubular tiene tasas de transferencia de masa relativamente bajas. El principal factor que afecta la acumulación de oxígeno disuelto es la longitud del colector solar, por tal motivo se sugieren longitudes máximas de 100 y 400 m para configuraciones de colector y serpentín, respectivamente (Acién et al., 2020). Recientemente, con el incremento del uso de PBR tubulares en plantas piloto, se han reportado problemas de contaminación, que hasta entonces era una de las grandes ventajas aparentes de tales sistemas.

Aunque tienen varios desafíos tecnológicos, la principal limitación a escala comercial de los reactores tubulares es el costo de inversión, que puede exceder el doble del monto reportado para los sistemas a base de canales. Según Nosker et al. (2011), este valor varía alrededor de 0.51 M €/ha a escala de 100 ha. En cuanto al costo de producción de biomasa, se han reportado valores de 4.15 €/kg (Nosker et al., 2011), 25 €/kg (Delrue et al., 2017), y 74 €/kg (Molina Grima, 2009). Uno de los factores que más incide en los costos de producción es la productividad de la biomasa y, en este sentido, se han alcanzado valores elevados en estos sistemas. Se han reportado productividades de biomasa de 10-40 g m² d⁻¹ para *Spirulina* (Delrue et al., 2017), 13 g m² d⁻¹ para *Haematococcus pluvialis* (Olaizola, 2000), y de 20 a 50 g m² d⁻¹ para *Scenedesmus* (Acién et al., 2012).

De hecho, estos sistemas de cultivo marcaron un gran avance para los procesos basados en microalgas, debido a que ha sido posible cultivar cepas sensibles a gran escala. Sin embargo, hasta el día de hoy solo son económicamente viables para la producción de compuestos de alto valor agregado, como la astaxantina, debido a la alta inversión requerida y los elevados costos de operación. Aun así, las ventajas de los fotobiorreactores tubulares, especialmente con relación a los altos rendimientos, sugieren que se debe investigar más para tratar de reducir costos y superar los cuellos de botella tecnológicos que limitan su uso generalizado.

Biorreactores para cultivos heterótrofos

La mayor ventaja del crecimiento heterótrofo es la posibilidad de utilizar casi cualquier fermentador como biorreactor. A

diferencia del crecimiento autótrofo, en heterótrofos el oxígeno puede ser un sustrato limitante y su suministro es uno de los mayores desafíos para la ingeniería de reactores debido a su baja solubilidad en agua (Pérez-García et al., 2011). Según Griffiths et al. (1960), independientemente del sustrato orgánico o de las especies de microalgas, la productividad de la biomasa aumenta con mayores niveles de aireación. Además de la transferencia de oxígeno, el crecimiento de microalgas en condiciones heterótrofas también presenta requerimientos relacionados con el mezclado, suministro de nutrientes y un ambiente estéril.

Para cumplir con estos requisitos, los reactores de tanque agitado (STR) son los más utilizados gracias a su eficiencia de mezclado, buena transferencia de calor y masa y fácil operación. En estos equipos la agitación se proporciona mecánicamente con la ayuda de impulsores, a veces deflectores, y aspersores de gas (Jossen et al., 2017). Sin embargo, este tipo de biorreactor también tiene varias limitaciones, especialmente para las células sensibles al cizallamiento, que pueden dañarse al aumentar la velocidad de agitación o a altas velocidades de suministro de gases (p. ej. aire), además de un alto consumo de energía, que incrementa significativamente los costos del proceso. Otro grupo de biorreactores de gran importancia para la industria biotecnológica son los denominados biorreactores neumáticos, en los que la agitación del medio se realiza mediante el burbujeo de aire. Estos reactores son generalmente de forma cilíndrica, donde el aire se inyecta en la base del recipiente a través de un aspersor, para proporcionar de manera simultánea aireación, mezclado y circulación de fluidos. Hay dos tipos principales de biorreactores agitados neumáticamente: biorreactores de columna de burbujeos y tipo "air lift", que generalmente generan bajo esfuerzo cortante, diseño y construcción simple y bajos costos de operación. Sin embargo, no se recomiendan para fluidos viscosos no newtonianos, ya que la viscosidad elevada disminuye la retención de gas y reduce la transferencia de masa (Jesus et al., 2017). Para superar los inconvenientes de los biorreactores de tanque neumáticos y agitados, se propusieron biorreactores *airlift* con agitación mecánica (Chisti & Jauregui-Haza, 2002).

Al igual que con otros sistemas ya discutidos, los costos de producción en biorreactores para cultivos heterótrofos varían en función de la especie de microalga usada, la productividad y el tipo de reactor. Sin embargo, en estos sistemas, la fuente de carbono orgánico es un factor importante por considerar, ya que representa alrededor del 80% del costo del medio de cultivo (Francisco et al., 2015). Según Enzing et al. (2014), los costos actuales de producción de *Chlorella* en biorreactores heterótrofos se estiman alrededor de USD 2-2.6/kg. Ende & Noke (2019) estimaron que este valor se puede reducir a USD 1-1.25/kg utilizando residuos como materia prima.

En términos de producción de biomasa, cuando se comparan con otros sistemas de cultivo, los biorreactores aplicados a cultivos heterótrofos suelen presentar los valores más altos de productividad. Xiong et al. (2008), encontraron una productividad de *Chlorella prototecoides* de $7.40 \text{ g l}^{-1} \text{ d}^{-1}$ en un STR de 5 l, utilizando glucosa como fuente de carbono. Francisco et al. (2015) reportaron $6.68 \text{ g l}^{-1} \text{ d}^{-1}$ en un biorreactor de columna de burbujeo de 2 l con aguas residuales de yuca. Queiroz et al. (2018) encontraron una productividad de biomasa de $4 \text{ g l}^{-1} \text{ d}^{-1}$ en un biorreactor de columna de burbujeo de 2 l y usando aguas residuales de procesamiento de lácteos como materia prima.

La principal ventaja de los biorreactores heterótrofos radica en el escalado, factor crucial en los procesos consolidados basados en microalgas a escala industrial. Sin embargo, sigue siendo un método de cultivo caro, pero con potencial de expansión, especialmente si se asocia al concepto de biorrefinería, ya que las aguas residuales pueden utilizarse como medio de cultivo, con tratamiento secundario y terciario paralelo de los efluentes. Independientemente del tipo de biorreactor o medio de cultivo, los cultivos heterótrofos de microalgas presentan baja susceptibilidad a la contaminación, y por supuesto en menor grado que los estanques abiertos y biorreactores tubulares. Para reducir los riesgos de contaminación y mantener las condiciones axénicas en biorreactores, el uso de microalgas extremófilas puede ser una alternativa viable.

Sistemas de cultivo de microalgas en desarrollo

Con el objetivo de resolver los problemas de los sistemas consolidados, se han propuesto otros tipos de fotobiorreactores, p. ej. fotobiorreactores tubulares verticales, de placa plana e híbridos. Sin embargo, hasta donde sabemos, ninguno de ellos se utiliza actualmente a escala industrial, principalmente debido a la dificultad en escalar su construcción y operación, su costo alto, problemas de ingeniería para resolver a escala de producción, los requisitos de un área amplia para instalar estos sistemas de cultivo o porque aún son tecnologías emergentes (Ación et al., 2020).

Los fotobiorreactores de columna vertical estuvieron entre los primeros sistemas de cultivo de microalgas descritos en la literatura (Cook, 1950). Consiste en tubos transparentes verticales que permiten la penetración de la luz, cuentan con un aspersor de gas en la parte inferior del reactor, que además promueve el mezclado del medio de cultivo la transferencia de CO_2 y eliminación de O_2 (Kumar et al., 2011). Según su modo de flujo de líquido, los PBR tubulares verticales se pueden clasificar en columna de burbujas y airlift (Singh & Sharma, 2012). Estos sistemas son compactos con una alta relación área superficial/volumen, bajo riesgo de contaminación y alto crecimiento celular. Sin embargo, hasta ahora los PBRs de columna vertical no se utilizan en propuestas industriales debido a limitaciones en el escalado, que se atribuye a la fragilidad del material, la transferencia de gas en las regiones superiores del PBR, el control de temperatura y una superficie limitada para iluminación (Mirón et al., 1999; Koller, 2015; Maroneze & Queiroz, 2018). Un caso real de los problemas en el escalamiento es el caso de GreenFuel Technologies Corporation, en Arizona en 2007 con fotobiorreactores cerrados inclinados verticales. La compañía tuvo mucho éxito con una planta piloto para utilizar CO_2 residual para producir biomasa de microalgas en estos reactores, pero cuando realizaron un escalamiento 100 veces mayor, el sistema colapsó debido a fallas de diseño de tipo ingenieril. Desafortunadamente, el proyecto de millones de dólares fracasó (Waltz, 2009; Maroneze & Queiroz, 2018).

Los fotobiorreactores de placa plana se describieron por primera vez en la década de 1950 como una gran promesa para los cultivos de microalgas debido a su alta relación de superficie a volumen. En este tipo de fotobiorreactor, se pasa una fina capa de cultivo (en el orden de milímetros) a través de un panel plano hecho de un material transparente, donde la mezcla generalmente se proporciona burbujeando gases desde un lado o al fondo del PBR a través de un tubo perforado (rociador) (Chang et al., 2017; Faried et al., 2017). Se ha reportado que se pueden lograr altas eficiencias fotosintéticas en PBRs de placa plana y, además, el oxígeno disuelto es relativamente menor en comparación con los fotobiorreactores tubulares horizontales (Ugwu et al., 2008). Los paneles planos son una tecnología prometedora para generar altas concentraciones de biomas microalgal, sin embargo, existen problemas sin resolver para ser usados a escala comercial y por esto hasta ahora solo se utilizan a escala piloto. El “ensuciamiento” o “crecimiento en pared” se considera el principal defecto, el cual ocurre cuando las células se adhieren a las paredes de plástico o vidrio, provocando una disminución en la penetración de la luz y un mayor riesgo de contaminación (Chang, 2017). Estos sistemas también pueden experimentar problemas con el control de temperatura, dificultades en la limpieza y baja eficiencia en términos de producción en masa por unidad de espacio. Las dimensiones de los paneles planos son diversas, pero se recomiendan alturas inferiores a 1.5 m, con una anchura inferior a 0.10 m para evitar el uso de materiales de alta resistencia mecánica, por lo que el escalado se convierte en una limitación crítica, ya que se requieren de muchos módulos para una instalación comercial y por tanto se requiere una amplia área para su instalación (área para instalar los PBR). adicionalmente, el costo de operación es elevado porque, en comparación con otros tipos de PBRs a escala de producción, los sistemas de placas requieren una cantidad considerablemente mayor de trabajo de mantenimiento (Fernandez et al., 2013).

También existen sistemas híbridos, que combinan dos o más configuraciones de varios sistemas. En estos, la desventaja de un diseño se complementa con las ventajas del otro, permitiendo mayores productividades y

relación superficie / volumen además de menor demanda y costos de energía (Estrada-Graf et al., 2020). Soman & Shastri (2015) combinaron PBR de placa plana y tubulares, que tienen una relación superficie/volumen un 7% mayor, un mejor régimen de flujo y menores costos operativos y de materiales. Deprá et al. (2019) desarrollaron un reactor de columna de burbujas acoplado a una plataforma de iluminación con una reducción de costos de capital, potencializando el escalamiento del sistema, ya que el PBR requirió un área superficial menor. Un fotobiorreactor híbrido estanque-tubular fue desarrollado por Xu et al. (2020). En este se logró mejorar el rendimiento de biomasa de microalgas en un 31.2% en comparación con los estanques tradicionales. Recapitulando, estas tecnologías tienen potencial para generar mayores productividades de biomasa microalgal que los sistemas ya usados a escala mayor, pero aún se requiere más investigación y desarrollo para estar disponibles en cultivos a gran escala.

La elección del sistema de cultivo: Criterios y comparación de características básicas

Es notorio que aún numerosas barreras intervienen en la producción de microalgas y hasta el día de hoy no existe un sistema que se adapte a todos los procesos sin que se presenten algunas limitaciones. Teniendo esto en cuenta, se deben considerar algunos parámetros al elegir el biorreactor adecuado. Los principales criterios por considerar incluyen (i) tipo y calidad del producto objetivo; (ii) tolerancia de las cepas de microalgas a variaciones ambientales; (iii) escala de los sistemas de cultivo y productividad versus costo de las instalaciones y de operación; (iv) condiciones climáticas en las zonas a instalar los cultivos; y (v) impactos ambientales (Chang, 2017). Para apoyar en los criterios de elección, la Tabla 1 compara algunas de las características de las tecnologías discutidas en este artículo.

El primer factor por considerar es el tipo de producto, por ejemplo, para producir biocombustibles, es necesario un sistema que sea económico, hasta el punto de ser competitivo con los combustibles fósiles, como los estanques de canales. Para obtener productos con alto valor agregado, se pueden

considerar sistemas más robustos para obtener procesos más controlados, como es el caso de fotobiorreactores cerrados o cultivos en fermentadores si la cepa puede metabolizar fuentes de carbono orgánico. La especie de microalga debe estudiarse en cuanto a su resistencia al estrés hidrodinámico y los potenciales contaminantes. Como puede verse en la Tabla 1, los sistemas como los fermentadores heterótrofos, PBR vertical y PBR de placa plana son más susceptibles al estrés hidrodinámico, mientras que los sistemas abiertos tienen un bajo control de contaminación. En cuanto a la escala y el costo, es bien sabido que los sistemas abiertos y los fotobiorreactores tubulares tienen ventajas sobre los demás. La posición geográfica y el clima local son factores importantes, por ejemplo, los lugares con condiciones favorables son plausibles para albergar cultivos al aire libre, mientras que las regiones con climas menos favorables deben investigar la posibilidad de utilizar sistemas cerrados.

También se debe comparar el impacto ambiental de las tecnologías de cultivo de microalgas, debido a que la selección del reactor influye fuertemente en esos aspectos. Deprá et al. (2021) evaluó métricas e indicadores de sostenibilidad para sistemas comerciales de cultivo, es decir, estanque de canales, PBR tubular, PBR de placa plana y fermentador heterotrófico. A través de un análisis del ciclo de vida, estos autores demostraron que el sistema con mayor impacto ambiental fue el fotobiorreactor tubular, mientras que el estanque de *raceway* presentó el menor impacto ambiental entre las configuraciones evaluadas. Esto está relacionado directamente con la demanda energética de cada sistema, corroborando lo que se muestra en la Tabla 1.

Casos comerciales de éxito

Se espera que el mercado de productos a base de microalgas supere valores de USD 4.2 billones para 2031. Las empresas del mercado de productos a base de microalgas están fortaleciendo sus

capacidades de producción para satisfacer la creciente demanda de estos productos. La Tabla 2 resume algunas de las empresas involucradas en la producción de productos a base de microalgas en todo el mundo con sus respectivos sistemas de producción, principales productos y especies utilizadas.

Los primeros casos de éxito comercial en el área de microalgas fueron con la producción de *Spirulina* y hasta el momento, los mayores productores de esta microalga utilizan estanques de *raceway*, como Zhejiang Binmei Biotechnology, Earthrise Farms y Parry Nutraceuticals, ubicados en China, Estados Unidos e India, respectivamente. Los dos mayores productores de β -caroteno a partir de *D. salina* en el mundo son Western Biotechnology Ltd. y Betatene Ltd. en Australia y utilizan estanques extensos sin mezclar para el crecimiento de microalgas. Aunque son utilizados solo por una parte de las empresas basadas en microalgas, los biorreactores para cultivos heterótrofos y mixotróficos también han ganado importancia (Borowitzka, 2018). Solazyme en Brasil ha logrado una producción industrial exitosa de biomasa heterotrófica de microalgas para la producción de aceites, combustibles, productos de cuidado personal en fermentadores (Barros et al., 2019).

Un caso exitoso destacado fue el de Algatechnologies Ltd. (Ketura, Israel), que estableció un proceso de dos etapas para la producción de astaxantina a partir de *Haematococcus pluvialis* en PBR tubulares (Ayalon, 2014). Cabe mencionar que el desarrollo de cultivos en reactores tubulares cerrados fue un mito en la producción de astaxantina, ya que *H. pluvialis*, el mayor productor de este pigmento, presenta un bajo rendimiento en sistemas abiertos, por ser una especie sensible (Olaizola, 2000). Los cultivos en dos o más etapas están ganando terreno en los procesos industriales, como es el caso de AllMicroalgae en Portugal, que utiliza un proceso de tres etapas, con fermentadores, PBR de placa plana y PBR tubulares, como se muestra en la Tabla 2.

Artículos

Tabla 1. Comparación de diferentes sistemas de cultivo.

Sistema de cultivo	Eficiencia de mezcla	Eficiencia de iluminación	Control de temperatura	Transferencia de gas	Control de contaminación	Estrés hidrodinámico	Evaporación	Consumo de energía	Escalamiento	Status
Raceways	Justo	Baja	Sin	Baja	Bajo	Muy bajo	Alta	Bajo	Fácil	Comercial
Estanques extensos sin mezclar	Muy pobre	Baja	Sin	Baja	Bajo	Bajo	Alta	Bajo	Fácil	Comercial
PBR tubular	Uniforme	Excelente	Buen	Baja	Alto	Alto	Baja	Alto	Fácil	Comercial
Fermentador heterótrofo	Uniforme	-	Buen	Alta	Alto	Alto	Baja	Alto	Fácil	Comercial
PBR vertical	Uniforme	Buena	Buen	Alta	Alto	Alto	Baja	Alto	Difícil	Escala piloto
PBR de placa plana	Uniforme	Excelente	Sin	Alta	Alto	Alto	Baja	Justo	Difícil	Escala piloto
Híbridos	Uniforme	Excelente	Regular	Alta	Regular	Alto	Justo	Justo	Fácil	Escala piloto

Tabla 2. Algunos de los productores comerciales de productos a base de microalgas en todo el mundo.

Microalgae	Product	Company	Location	Culture system
<i>H. pluvialis</i> , <i>A. platensis</i>	Astaxantina, Ficocianina	Cyanotech	Hawaii	Tubular, Raceways
<i>H. pluvialis</i>	Astaxantina	Mera Pharmaceuticals	Hawaii	Tubular, Raceways
<i>H. pluvialis</i>	Astaxantina	AstaReal	Suecia	Vertical
<i>H. pluvialis</i>	Astaxantina	Algatechnologies	Israel	Tubular
<i>H. pluvialis</i>	Astaxantina	Beijing Gingko Group	China	Tubular
<i>D. salina</i>	β -caroteno	Betatene (BASF)	Australia	Estanques extensos sin mezclar
<i>D. salina</i>	β -caroteno	Western Biotechnology	Australia	Estanques extensos sin mezclar
<i>D. salina</i>	β -caroteno	AquaCaroteno	Australia	Estanques extensos sin mezclar
<i>D. salina</i>	β -caroteno	Cyanotech	Hawaii	Raceways
<i>D. salina</i>	B-caroteno	Nature Beta Technologies	Israel	Raceways
<i>D. salina</i> , <i>Chlorella</i> , <i>A. platensis</i>	β -caroteno, tabletas. aceite de astaxantina, ficocianina	Tianjin Lantai Biotechnologies	China	Raceways
<i>A. platensis</i>	Ficocianina	Zhejiang Binmei Biotechnology	China	Raceways
<i>A. platensis</i>	Ficocianina	Earthrise Farms	Estados Unidos	Raceways
<i>A. platensis</i>	Ficocianina	Parry Nutraceuticals	India	Raceways
-	Ingredientes, biocombustibles, compuestos bioactivos	Algenol	Estados Unidos	Tubular
-	Grasas, biocombustibles, cosméticos y otros	Solazyme	Brszil	Fermentador
-	Grasas, biocombustibles	Cellana	Estados Unidos	Raceways, Tubular
<i>Tetraselmis chui</i> , <i>Spirulina</i> , <i>C. vulgaris</i> .	Fertilizantes, alimentos, piensos	All microalgae	Portugal	Fermentador + Placa plana + Tubular
-	Biodiesel, alimentos, piensos	AlgaEnergy	España	Raceways, Placa plana, Tubular

Conclusiones

Las microalgas han suscitado un gran interés en todo el mundo debido a su enorme aplicación biotecnológica en los diversos campos de los biocombustibles, alimentos y piensos, cosmética, farmacia y remediación medioambiental. Incluso con las importantes mejoras tecnológicas alcanzadas hasta ahora, el establecimiento de procesos basados en microalgas tiene una miríada de cuellos de botella, particularmente en las tecnologías de producción en masa. Los principales inconvenientes están asociados al costo de construcción y operación, el escalamiento, la transferencia de masa y un conocimiento limitado sobre los nuevos sistemas de cultivo. No existe un sistema de cultivo ideal universalmente, y la tecnología ideal aún depende del producto objetivo, las especies de microalgas y las condiciones ambientales.

A menudo se ha informado que los sistemas de cultivo abiertos no se recomiendan para la producción de productos de alto valor agregado. Sin embargo, podemos ver que en términos de la realidad industrial esto no se aplica, ya que los problemas de costos de inversión y mantenimiento son más significativos. Con base en lo discutido, es posible concluir que, en la actualidad, los estanques de *raceways* y los fotobiorreactores tubulares son los únicos sistemas capaces de producir biomasa a escala comercial con posibilidad de aplicación en las regiones del mundo más diversas. Además, es importante enfatizar que los avances recientes en esta área son cruciales para consolidar el mercado de productos a base de microalgas en un futuro próximo.

Referencias

- Abomohra A, Jin W, Tu R, Han S, Eid M, Eladel H (2016) Microalgal biomass production as a sustainable feedstock for biodiesel: current status and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 64: 596-606. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.06.056>
- Abu-Ghosh S, Fixler D, Dubinsky Z, Iluz, D (2016) Flashing light in microalgae biotechnology. *Bioresource technology* 203: 357-363. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.12.057>
- Acíen Fernandes FG, Molina E, Reis A, Torzillo G, Zittelli GC, Sepúlveda C, Masojídek J (2017) Photobioreactors for the production of microalgae. In: *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts*. Gonzalez-Fernandez C, Muñoz E (Eds). Woodhead Publishing, Sawston, UK. pp.1-44.
- Acíen Fernández FG, Fernández Sevilla JM, Molina Grima E (2019) Costs analysis of microalgae production. In: *Biomass, Biofuels, Biochemicals*, 2nd Edition. Lee DJ, Pandey A, Chang JS, Chisti Y, Soccol C (Eds). Elsevier, New York, NY. pp.551-566.
- Acíen Fernández FG, Fernández-Sevilla JM, Moya BL, Grima EM (2020) Microalgae production systems. In *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products*. Jacob-Lopes E, Maroneze MM, Zepka LQ, Queiroz MI (Eds). Academic Press. pp. 127-163.
- Assunção J, Malcata FX (2020) Enclosed “non-conventional” photobioreactors for microalga production: A review. *Algal Research* 52: 102107. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102107>
- Ayalon O (Algatechnologies Ltd.) (2014) Astaxanthin derivatives for heat stress prevention and treatment. WO2014057493 A1.
- Barros A, Pereira H, Campos J, Varela J, Silva J (2019) Heterotrophy as a tool to overcome the long and costly autotrophic scale-up process for large scale production of microalgae. *Nature Scientific Reports* 9: 13935. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50206-z>
- Belay A (2008) Spirulina (Arthrospira): production and quality assurance. In: *Spirulina in human nutrition and health*. Gershwin ME, Amha EB (Eds) CRC Press, London, UK. pp. 2-23.
- Berstenhorst SM, Hohmann H-P, Stahmann K-P (2009) Vitamins and vitamin-like compounds: microbial production. In: *Encyclopedia of Microbiology*. 3rd ed. Schaechter M (Ed). Elsevier, New York, NY. pp.549-561.

- Blanken W, Cuaresma M, Wijffels RH, Janssen M (2013) Cultivation of microalgae on artificial light comes at a cost. *Algal Research* 2:333–340. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.09.004>
- Borowitzka LJ, Borowitzka MA, Moulton T (1984) The mass culture of *Dunaliella* for fine chemicals: from laboratory to pilot plant. Eleventh International Seaweed Symposium. *Developments in Hydrobiology*, vol 22. Bird C.J., Ragan M.A. (Eds). Springer, Dordrecht. pp.115-121.
- Borowitzka M (2018) Commercial-Scale Production of Microalgae for Bioproducts. In: *Blue Biotechnology: Production and Use of Marine Molecules*. La Barre S, Bates SS (Eds) Wiley, Hoboken, NJ. pp. 33-65.
- Borowitzka MA (1990) The mass culture of *Dunaliella salina*. In: *Technical Resource Papers. Regional Workshop on the Culture and Utilisation of Seaweeds 2. Regional Seafarming Development and Demonstration Project*, FAO Network of Aquaculture Centres in Asia: Bangkok, Thailand. pp. 63-80.
- Borowitzka MA (1999) Commercial production of microalgae: ponds, tanks, and fermenters. *Journal of Biotechnology* 70:313-321.
- Brusca S, Famoso F, Lanzafame R, Messina M and Wilson J (2017) A site selection model to identify optimal locations for microalgae biofuel production facilities in Sicily (Italy). *International Journal of Applied Engineering Research* 12: 16058-16067.
- Carvalho AP, Silva SO, Baptista JM, Malcata FX (2011) Light requirements in microalgal photobioreactors: an overview of biophotonic aspects. *Applied microbiology and biotechnology* 89(5): 1275-1288. [10.1007/s00253-010-3047-8](https://doi.org/10.1007/s00253-010-3047-8)
- Chang JS, Show PL, Ling TC, Chen CY, Ho SH, Tan CH, Nagarajan D, Phong WN (2017) Photobioreactors. In: *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Bioprocesses, Bioreactors and Controls*. Larroche C, Sanroman M, Du G, Pandey A (Eds). Elsevier, New York, NY. pp. 313-352.
- Chaumont D (1993) Biotechnology of algal biomass production: a review of systems for outdoor mass culture. *Journal of Applied Phycology* 5: 593–604. <https://doi.org/10.1007/BF02184638>
- Chaumont D, Thepenier C, Gudín C (1988) Scaling up a tubular photoreactor for continuous culture of *Porphyridium cruentum* - From laboratory to pilot plant. In: *Algal Biotechnology*. Stadler T, Morillon J, Verdus MC, Karamanos W, Morvan H, Christiaen D (Eds). Elsevier, New York, NY. pp. 199-208.
- Chew KW, Chia SR, Show PL, Yap YJ, Ling TC, Chang JS (2018) Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: A review. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 91: 332-344. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.05.039>
- Chisti Y (2009) Mass transfer. In: *Encyclopedia of Industrial Biotechnology: Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology*. Flickinger MC (Ed). John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, pp.1-38.
- Chisti Y, Jauregui-Haza UJ (2002) Oxygen transfer and mixing in mechanically agitated airlift bioreactors. *Biochemical Engineering Journal* 10: 143-153. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(01\)00174-7](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(01)00174-7)
- Chisti, Y (2016) Large-scale production of algal biomass: Raceway ponds. In: *Algae Biotechnology: Products and Processes*. Bux F, Chisti Y. (Eds). Springer, New York, pp. 21-40.
- Daneshvar E, Ok YS, Tavakoli S, Sarkar B, Shaheen SM, Hong H, Bhatnagar A (2021) Insights into upstream processing of microalgae: A review. *Bioresource Technology* 329: 124870. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124870>
- Del Campo, J. A., García-González, M., & Guerrero, M. G. (2007). Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. *Applied microbiology and biotechnology*, 74, 1163-1174. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.11.019>

- Delrue F, Alaux E, Moudjaoui L, Gaignard C, Fleury G, Perilhou A, Sassi JF (2017) Optimization of *Arthrospira platensis* (Spirulina) Growth: From Laboratory Scale to Pilot Scale. *Fermentation* 3: 59. <https://doi.org/10.3390/fermentation3040059>
- Deprá MC, Mérida LG, de Menezes CR, Zepka LQ, Jacob-Lopes E (2019) A new hybrid photobioreactor design for microalgae culture. *Chemical Engineering Research and Design* 144: 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2019.01.023>
- Dias RR, Lasta, P, Vendruscolo RG, Wagner R, Zepka LQ, Jacob-Lopes E (2020) Mapping the performance of photobioreactors for microalgae cultivation. Part II: equatorial and tropical climate zone. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 96: 613-621. <https://doi.org/10.1002/jctb.6574>
- Ende SSW, Noke A (2019) Heterotrophic microalgae production on food waste and by-products. *Journal of Applied Phycology* 31: 1565-1571. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1697-6>
- Enzing C, Sijtsma L, Parisi C, Viganì M, Barbosa M, Ploeg M, Rodrigues Cerezo E (2014) Microalgae-based products for the food and feed sector: an outlook for Europe. European Commission, Luxembourg.
- Estrada-Graf A, Hernández S, Morales M (2020) Biomitigation of CO₂ from flue gas by *Scenedesmus obtusiusculus* AT-UAM using a hybrid photobioreactor coupled to a biomass recovery stage by electro-coagulation-flotation. *Environmental Science and Pollution Research* 27: 28561-28574. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08240-2>
- Eustance E, Lai YJS, Shesh T, Rittmann BE (2020) Improved CO₂ utilization efficiency using membrane carbonation in outdoor raceways. *Algal Research* 51: 102070. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102070>
- Falk S, Maxwell DP, Laudenbach DE, Huner NP (1996) Photosynthetic adjustment to temperature. In *Advances in Photosynthesis and Respiration*, Vol. 5. Baker NR (Ed). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 367-383.
- Faried M, Samer M, Abdelsalam E, Yousef RS, Attia YA, Ali AS (2017) Biodiesel production from microalgae: Processes, technologies and recent Advancements. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 79: 893-913. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.199>
- Fernandez FGA, Sevilla JMF, Grima EM (2013) Photobioreactors for the production of microalgae. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 12: 131-151. <https://doi.org/10.1007/s11157-012-9307-6>
- Fetanat A, Tayebi M, Mofid H (2021) Water-energy-food security nexus based selection of energy recovery from wastewater treatment technologies: An extended decision making framework under intuitionistic fuzzy environment. *Sustainable Energy Technologies and Assessments* 43: 100937. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2020.100937>
- Francisco EC, Franco TT, Zepka LQ, Jacob-Lopes E (2015) From waste-to-energy: The process integration and intensification for bulk oil and biodiesel production by microalgae. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 3: 482-487. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.12.017>
- Fu J, Huang Y, Liao Q, Xia A, Fu Q, Zhu X (2019) Photo-bioreactor design for microalgae: a review from the aspect of CO₂ transfer and conversion. *Bioresource technology* 292: 121947. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121947>
- García-González M, Moreno J, Canavate J, Anguis V, Prieto A, Manzano C, Florencio FJ, Guerrero MG (2003) Conditions for open-air outdoor culture of *Dunaliella salina* in southern Spain. *Journal of Applied Phycology* 15: 177-184.
- García-Mañas F, Guzmán JL, Berenguel M, Ación FG (2019) Biomass estimation of an industrial raceway photobioreactor using an extended Kalman filter and a dynamic model for microalgae production. *Algal Research* 37: 103-114. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.11.009>

- Griffiths DJ, Thresher CL, Street HE (1960) The heterotrophic nutrition of *Chlorella vulgaris* (brannon no. 1 strain). *Annals of Botany* 24: 1-11. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a083682>
- Gudin C, Chaumont D (1983) Solar biotechnology study and development of tubular solar receptors for controlled production of photosynthetic cellular biomass. In: *Proceedings of the Workshop and E.C. Contractor's Meeting in Capri*. Palz, W., Pirwitz, D. (Eds). D. Reidel Publishing Co., Dordrecht, pp.184-193.
- Hamed I (2016) The evolution and versatility of microalgal biotechnology: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 15: 1104-1123. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12227>
- Harmelen TV, Oonk H (2006) Microalgae biofixation processes: applications and potential contributions to greenhouse gas mitigation options. In: *International network on biofixation of CO₂ and greenhouse gas abatement with microalgae operated under the international energy agency greenhouse gas R&D programme*. Apeldoorn, The Netherlands.
- Holdmann C, Schmid-Staiger U, Hirth T (2019) Outdoor microalgae cultivation at different biomass concentrations — Assessment of different daily and seasonal light scenarios by modeling. *Algal Research* 38: 101405-102413. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.101405>
- Huang JJ, Lin S, Xu W, Cheung PCK (2017) Occurrence and biosynthesis of carotenoids in phytoplankton. *Biotechnology advances* 35: 597-618. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.05.001>
- Inostroza C, Solimeno A, García J, Fernández-Sevilla JM, Acién FG (2021) Improvement of real-scale raceway bioreactors for microalgae production using Computational Fluid Dynamics (CFD). *Algal Research* 54: 102207. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102207>
- Jareonsin S, Pumas C (2021) Advantages of Heterotrophic Microalgae as a Host for Phytochemicals Production. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 9: 628597. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.628597>
- Jesus SS, Neto JM, Filho RM (2017) Hydrodynamics and mass transfer in bubble column, conventional airlift, stirred airlift and stirred tank bioreactors, using viscous fluid: a comparative study. *Biochemical engineering journal* 118: 70-81.
- Jossen V, Eibl R, Pörtner R, Kraume M, Eibl D (2017) Stirred Bioreactors. In: *Current State and Developments, With Special Emphasis on Biopharmaceutical Production Processes*. Larroche C, Sanromán MA, Du G, Pandey A (Eds). Elsevier, New York, NY. pp. 179-215.
- Katiyar R, Gurjar BR, Bharti RK, Kumar A, Biswas S, Pruthi V (2017) Heterotrophic cultivation of microalgae in photobioreactor using low cost crude glycerol for enhanced biodiesel production. *Renewable Energy* 113: 1359-1365. <http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2017.06.100>
- Kazbar A, Cogne G, Urbain B, Marec H, Le-Gouic B, Tallec J, Pruvost J (2019) Effect of dissolved oxygen concentration on microalgal culture in photobioreactors. *Algal Research* 39: 101432. [doi:10.1016/j.algal.2019.101432](https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101432)
- Khan, MI, Shin JH, Kim JD (2018) The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microbial cell factories* 17: 1-21. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0879-x>
- Kirnev PCS, Carvalh JC, Vandenberghe LPS, Karp SG, Soccol CR (2020) Technological mapping and trends in photobioreactors for the production of microalgae. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 36: 1-9. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02819-0>

- Kitaya Y, Xiao L, Masuda A, Ozawa T, Tsuda M, Omasa K (2008) Effects of temperature, photosynthetic photon flux density, photoperiod and O₂ and CO₂ concentrations on growth rates of the symbiotic dinoflagellate, *Amphidinium* sp.. In: Nineteenth International Seaweed Symposium. Developments in Applied Phycology, vol 2. Borowitzka MA, Critchley AT, Kraan S, Peters A, Sjøtun K, Notoya M (Eds). Springer, Dordrecht, pp.287-292.
- Koller M (2015) Design of Closed Photobioreactors for Algal Cultivation. In: Algal biorefineries volume 2: Products and refinery design. Prokop A, Bajpai RK, Zappi ME (Eds.). Springer International Publishing, Switzerland, pp.139-186.
- Kotzen B., Emerenciano MGC, Moheimani N, Burnell GM (2019) Aquaponics: Alternative Types and Approaches. In: Aquaponics Food Production Systems. Goddek S, Joyce A, Kotzen B, Burnell G. (Eds). Springer International Publishing, Switzerland, pp.301–330.
- Kumar K, Dasgupta CN, Nayak BK, Lindblad P, Das D (2011) Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. *Bioresource Technology* 102: 4945-53. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.054>
- Kumar K, Mishra SK, Shrivastav A, Park MS, Yang JW (2015) Recent trends in the mass cultivation of algae in raceway ponds. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 51: 875-885. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.06.033>
- Kwan PP, Banerjee S, Shariff M, Yusoff F (2020) Influence of light on biomass and lipid production in microalgae cultivation. *Aquaculture Research* 52: 1337–1347. <https://doi.org/10.1111/are.15023>
- Leone G, De la Cruz Valbuena G, Cicco SR, et al. (2021) Incorporating a molecular antenna in diatom microalgae cells enhances photosynthesis. *Scientific Reports* 11: 5209. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84690-z>
- Maroneze MM, Barin JS, Menezes CR, Queiroz MI, Zepka LQ, Jacob-Lopes E (2014) Treatment of cattle-slaughterhouse wastewater and the reuse of sludge for biodiesel production by microalgal heterotrophic bioreactors. *Scientia Agricola* 71: 521-524. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2014-0092>
- Maroneze MM, Deprá MC, Zepka LQ, Jacob-Lopes, E (2019) Artificial lighting strategies in photobioreactors for bioenergy production by *Scenedesmus obliquus* CPCC05. *SN Applied Sciences* 1: 1-12. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1761-0>
- Maroneze MM, Dias RR, Severo IA, Queiroz MI (2020) Microalgae-Based Processes for Pigments Production. In *Pigments from Microalgae Handbook*. Jacob-Lopes E, Zepka LQ, Queiroz MI (Eds). Springer International Publishing, Switzerland, pp. 241-264.
- Maroneze MM, Queiroz MI (2018) Microalgal Production Systems with Highlights of Bioenergy Production. In: *Energy from Microalgae*. Jacob-Lopes E, Zepka LQ, Queiroz MI (Eds). Springer International Publishing, Switzerland, pp. 5-34.
- Maroneze MM, Siqueira SF, Vendruscolo RG, Wagner R, Menezes CR, Zepka LQ, Jacob-Lopes E (2016) The role of photoperiods on photobioreactors – A potential strategy to reduce costs. *Bioresource Technology* 219: 493-499. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.003>
- Martín-Girela I, Curt MD, Fernández J (2017) Flashing light effects on CO₂ absorption by microalgae grown on a biofilm photobioreactor. *Algal research* 25: 421-430. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.06.008>
- Mendoza JK, Granados MR, Godos I, Ación FG, Molina E, Heaven S, Banks CJ (2013) Oxygen transfer and evolution in microalgal culture in open raceways *Bioresource Technology* 137: 188-195. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.127>

- Mirón AS, Gómez AC, Camacho FG, Grima EM, Chisti Y (1999) Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae. *Journal of Biotechnology* 70: 249-270. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(99\)00079-6](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(99)00079-6)
- Moheimani NR, Borowitzka MA (2006) The long-term culture of the coccolithophore *Pleurochrysis carterae* (Haptophyta) in outdoor raceway ponds. *Journal of Applied Phycology* 18: 703-712. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9075-1>
- Molina Grima E (2009) Algae biomass in Spain: a case study. First European Algae Biomass Association conference & general assembly, Florence, Italy.
- Neves C, Maroneze MM, Santos AMD, Francisco EC, Wagner R, Zepka LQ, Jacob-Lopes E (2016) Cassava processing wastewater as a platform for third generation biodiesel production. *Scientia Agricola* 73: 412-416. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0302>
- Norsker NH, Barbosa MJ, Vermuë MH, Wijffels RH (2011) Microalgal production-A close look at the economics. *Biotechnology Advances* 29: 24-27. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.08.005>
- Olaizola M (2000) Commercial production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using 25,000 liter outdoor photobioreactors. *Journal of Applied Phycology* 12: 499-506. <https://doi.org/10.1023/A:1008159127672>
- Olguín EJ, Galicia S, Mercado G, Pérez T (2003) Annual productivity of *Spirulina* (Arthrospira) and nutrient removal in a pig wastewater recycling process under tropical conditions. *Journal of Applied Phycology* 15: 249-257. <https://doi.org/10.1023/A:1023856702544>
- Patel AK, Choi YY, Sim SJ (2020) Emerging prospects of mixotrophic microalgae: Way forward to sustainable bioprocess for environmental remediation and cost-effective biofuels. *Bioresource technology*, 300: 122741. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122741>
- Perez-Garcia O, Escalante FME, de-Bashan LE, Bashan Y (2011) Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. *Water Research*.45: 11-36. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.08.037>
- Pirt SJ, Lee YK, Walach MR, Pirt MW, Balyuzi HHM, Bazin MJ (1983) A tubular bioreactor for photosynthetic production of biomass from carbon dioxide: design and performance. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 33: 35-58.
- Pleissner D, Smetana S (2020) Estimation of the economy of heterotrophic microalgae-and insect-based food waste utilization processes. *Waste Management* 102: 198-203. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.10.031>
- Pleissner, D., Lam, W. C., Sun, Z., & Lin, C. S. K. (2013). Food waste as nutrient source in heterotrophic microalgae cultivation. *Bioresource technology*, 137, 139-146.
- Queiroz MI, Maroneze MM, Manetti AGDS, Vieira JG, Zepka LQ, Jacob-Lopes E (2018) Enhanced single-cell oil production by cold shock in cyanobacterial cultures. *Ciência Rural* 48: 1-8. [10.1590/0103-8478cr20180366](https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180366)
- Ramírez-Mérida LGR, Zepka LQ, Jacob-Lopes E (2017) Current Production of Microalgae at Industrial Scale. In: *Recent Advances in Renewable Energy*. Pires JCM (Ed.). Bentham Science Publishers, Sharjah, pp. 242-260.
- Ras M, Steyer JP and Bernard O (2013) Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 12: 153-164. <https://doi.org/10.1007/s11157-013-9310-6>
- Raso S, Genugten BV, Vermuë M, Wijffels RH (2012) Effect of oxygen concentration on the growth of *Nannochloropsis* sp. at low light intensity. *Journal of Applied Phycology* 24: 863-871. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9706-z>

- Rastogi RP, Madamwar D, Nakamoto H, Incharoensakdi A (2019) Resilience and self-regulation processes of microalgae under UV radiation stress. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* 43: 100322. doi:10.1016/j.jphotochemrev.2019.100322
- Reyna-Velarde R, Cristiani-Urbina E, Hernández-Melchor DJ, Thalasso F, Cañizares-Villanueva RO (2010) Hydrodynamic and mass transfer characterization of a flat-panel airlift photobioreactor with high light path. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 49: 97-103. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2009.11.014>
- Richmond A (1990) Large scale microalgal culture and applications. In: *Progress in Phycological Research*. Round FE, Chapman DJ (Eds). Biopress Ltd, Britol, pp.269-330.
- Richmond A, Boussiba A, Vonshak A, Kopel R (1993) A new tubular reactor for mass production of microalgae outdoors. *Journal of Applied Phycology* 5: 327-332. <https://doi.org/10.1007/BF02186235>
- Ryu KH, Lee JY, Heo S, Lee J (2019) Improved microalgae production by using a heat supplied open raceway pond. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 21: 9099-9108. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b00986>
- Schipper K, Das P, Al Muraikhi M, AbdulQuadir M, Thaher MI, Al Jabri HMS, Wiffels RH Barbosa MJ (2021) Outdoor scale-up of *Leptolyngbya* sp.: Effect of light intensity and inoculum volume on photoinhibition and-oxidation. *Biotechnology and Bioengineering*. 118: 2368-2379. <https://doi.org/10.1002/bit.27750>
- Singh RN, Sharma S (2012) Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16: 2347-2353. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.01.026>
- Siqueira SF, Maroneze MM, Dias RR, Vendruscolo RG, Wagner R, de Menezes CR, Zepka LQ, Jacob-Lopes E (2020) Mapping the performance of photobioreactors for microalgae cultivation: geographic position and local climate. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 95: 2411-2420. <https://doi.org/10.1002/jctb.6423>
- Sirikulrat K, Jeeraporn P, Pumas C (2021) Illumination system for growth and net energy ratio enhancement of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* outdoor cultivation in deep raceway pond. *Bioresource Technology Reports* 14: 100661. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100661>
- Slade R, Bauen A (2013) Micro-algae cultivation for biofuels: cost, energy balance, environmental impacts and future prospects. *Biomass and bioenergy*, 53, 29-38. Micro-algae cultivation for biofuels: cost, energy balance, environmental impacts and future prospects
- Soman A, Shastri Y (2015) Optimization of novel photobioreactor design using computational fluid dynamics. *Applied Energy* 140: 246-255. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.11.072>
- Soni RA, Sudhakar K, Rana RS (2017) *Spirulina* – from growth to nutritional product: a review. *Trends in Food Science & Technology* 69: 157-171. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.010>
- Sousa, C., Compadre, A., Vermuë, M. H., & Wijffels, R. H. (2013). Effect of oxygen at low and high light intensities on the growth of *Neochloris oleoabundans*. *Algal Research*, 2(2), 122-126. doi:10.1016/j.algal.2013.01.007
- Speranza LG, Ingram A and Leeke GA, Assessment of algae biodiesel viability based on the area requirement in the European Union, United States and Brazil. *Renew Energy* 78:406-417 (2015).

- Tamiya H, Hase E, Shibata K, Mituya A, Iwamura T, Nihei T, Sasa T (1953) Kinetics of growth of *Chlorella*, with special reference to its dependence on quantity of available light and on temperature. In: *Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant*. Burlew JS (Ed).. Carnegie Institution of Washington, Washington DC, pp. 204-232.
- Tang DYY, Khoo KS, Chew KW, Tao Y, Ho SH, Show PL (2020) Potential utilization of bioproducts from microalgae for the quality enhancement of natural products. *Bioresource technology* 304: 122997. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122997>
- Torzillo G, Chini Zittelli G (2015) Tubular Photobioreactors. In: *Algal biorefineries volume 2: Products and refinery design*. Prokop A, Bajpai RK, Zappi ME (Eds.). Springer International Publishing, Switzerland, pp.187-212.
- Transparency Market Research. (2018). *Algae Market (Cultivation Technology: Open Ponds Cultivation Technology, Raceway Ponds Cultivation Technology, Closed Photo bioreactor Cultivation Technology, and Closed Fermenter Systems Cultivation Technology; Application: Marine Sector, Aviation Sector, Road Transport, DHA Production (Protein Sales), DHA Production (Pharmaceutical Applications), Bioplastics, and Others) - Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends, and Forecast, 2019 – 2027*.
- Trediti MR (2004) Mass Production of Microalgae: Photobioreactors. In: *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Richmond A. (Ed). Wiley, Hoboken, NJ. pp.178-214.
- Ugwu CU, Aoyagi H, Uchiyama H (2008) Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource Technology*, 99: 4021-4028. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.046>
- Uyar B, Kapucu N (2015) Passive temperature control of an outdoor photobioreactor by phase change materials. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 90: 915-920. <https://doi.org/10.1002/jctb.4398>
- Waltz E (2009) Biotech's green gold? *Nature Biotechnology* 27: 15-18. <https://doi.org/10.1038/nbt0109-15>
- Wibisono Y, Agung Nugroho W, Akbar Devianto L, Adi Sulianto A, Roil Bilad M (2019) Microalgae in food-energy-water nexus: A review on progress of forward osmosis applications. *Membranes* 9: 166. <https://doi.org/10.3390/membranes9120166>
- Xiong W, Li X, Xiang J, Wu Q (2008) High-density fermentation of microalga *Chlorella protothecoides* in bioreactor for microbial-diesel production. *Applied Microbiology and Biotechnology* 78: 29-36. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1285-1>
- Xu J, Cheng J, Xin K, Xu J, Yang W (2020) Strengthening flash light effect with a pond-tubular hybrid photobioreactor to improve microalgal biomass yield. *Bioresource Technology* 318: 124079. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124079>
- Yen, H.-W., Hu, I.-C., Chen, C.-Y., Nagarajan, D., & Chang, J.-S. (2019). Design of photobioreactors for algal cultivation. In: Pandey, A. (Ed). *Biofuels from Algae*, pp. 225–256.
- Yin Z, Zhu L, Li S, Hu T, Chu R, Mo F, Li B (2020) A comprehensive review on cultivation and harvesting of microalgae for biodiesel production: Environmental pollution control and future directions. *Bioresource technology* 301: 122804. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122804>
- Zhan J, Rong J, Wan Q (2017) Mixotrophic cultivation, a preferable microalgae cultivation mode for biomass/bioenergy production, and bioremediation, advances and prospect. *International Journal of Hydrogen Energy* 42: 8505–8517. doi:10.1016/j.ijhydene.2016.12.021
- Zitelli GC, Rodolfi L, Bassi N, Biondi N, Tredici MR (2013) Photobioreactors for biofuel production. In: *Algae for biofuels and energy*. Borowitzka MA, Moheimani NR (Eds.). Springer International Publishing, Switzerland, pp.115-131.