

**Evaluación de la producción de *Porphyridium cruentum* en  
fotobiorreactor tipo columna de burbujeo**

Evaluation of production of *Porphyridium cruentum* in a bubble column  
photobioreactor

Yanet Cervantes-Blanco<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0002-0619-4489>

Esli Lobaina-Lobaina<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0001-8044-4901>

Siannah María Mas-Diego<sup>3</sup> <http://orcid.org/0000-0002-1464-3985>

George Fernández-Duharte<sup>4</sup> <https://orcid.org/0000-0002-1731-9697>

<sup>1</sup> Facultad de Ingeniería Química y Agronomía, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba

<sup>2</sup> Universidad Técnica Federico Santa María, Chile

<sup>3</sup> Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado, Universidad de Oriente, Cuba

<sup>4</sup> Laboratorio de Anticuerpos y Biomodelos Experimentales, Santiago de Cuba, Cuba

\*Autor para la correspondencia. Correo electrónico: [ycervantes@uo.edu.cu](mailto:ycervantes@uo.edu.cu)

## **RESUMEN**

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Anticuerpos y Biomodelos Experimentales (LABEX) teniendo como objetivo realizar una evaluación del sistema de cultivo de la microalga *Porphyridium cruentum*. Para la

producción de biomasa se empleó un fotobiorreactor tipo columna de burbujeo. El desarrollo de esta tecnología permitirá introducir un nuevo producto al mercado, con un impacto positivo en el Sistema Nacional de Salud. Se alcanzaron parámetros cinéticos de  $0,29 \text{ d}^{-1}$  y  $2,37 \text{ d}$  para la velocidad específica de crecimiento máxima y el tiempo de duplicación respectivamente. El sistema resulta de baja productividad volumétrica con valor de  $0,09 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  y densidad celular de  $5,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  de biomasa húmeda. Se evaluaron los modelos matemáticos Gompertz y Logístico para la descripción de la formación de biomasa. Como criterios de selección se emplearon la suma de cuadrados de los residuos (SCR), el criterio de información de Akaike (AIC) y el coeficiente  $R^2$ . El modelo Logístico es el que describe el crecimiento microalgal bajo las condiciones empleadas en esta investigación, con un coeficiente  $R^2$  de 0,983 6.

**Palabras clave:** *porphyridium cruentum*; fotobiorreactor tipo columna de burbujeo; modelación de crecimiento.

## ABSTRACT

The work was carried out in the Laboratory of Antibodies and Experimental Biomodels (LABEX) with the objective of evaluating the cultivation system of the microalgae *Porphyridium cruentum*. Bubble column photobioreactor was used in the experiments to obtain biomass. This allows introducing a new product to the market with a positive impact on the National Health System. Kinetic parameters of  $0,29 \text{ d}^{-1}$  and  $2,37 \text{ d}$ , were reached for the specific maximum growth rate and the doubling time respectively. The system is characterized as a low volumetric productivity with  $0,09 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  and cellular density of  $5,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  of wet biomass. Gompertz and Logistic models were evaluated for biomass description. Residual Sum of Squares (RSS), Akaike's Information Criterion Test (AIC) and coefficient R-Square were used as selection criteria. Logistic model described microalgal growth under the conditions used in this research with 0,983 6  $R^2$  coefficient.

**Keywords:** *porphyridium cruentum*; bubble column photobioreactor; growth modeling.

Recibido: 18/09/2020

Aceptado: 10/01/2021

## Introducción

En la actualidad la utilización de las microalgas dentro de la biotecnología ha sido muy variada, en dependencia del objetivo final del proceso. Sus aplicaciones comerciales son tan diversas en sectores como el alimentario, energético, farmacéutico, sanitario y medioambiental. La utilización de estas radica principalmente en la obtención de bioproductos para la nutrición humana y animal, y en la obtención de sustancias de interés químico-farmacéutico. La biotecnología de las microalgas consta de dos fases: producción controlada de la biomasa algal y aprovechamiento de dicha biomasa.<sup>(1)</sup>

El Laboratorio de Anticuerpos y Biomodelos Experimentales (LABEX) se encarga de producir y comercializar anticuerpos conjugados con una calidad y costo competitivos; factibles de ser exportados, que permitan financiar su propia introducción y uso en el Sistema Nacional de Salud. La institución es uno de los centros de la región oriental que desarrolla y trabaja la biotecnología algal.

Algunos materiales necesarios para la obtención de estos anticuerpos son importados, lo que encarece el proceso con la creciente demanda de estos. Se hace imprescindible la búsqueda de nuevas fuentes de recursos, que permitan disponer de materia prima para la obtención de estos reactivos con tecnología cubana y de forma rentable.

Por ello se implementa un sistema de cultivo similar a fotobiorreactores de columna de burbujeo para la obtención de biomasa microalgal, de la que luego se extraerá y purificará el fluorocromo empleado para conjugar los anticuerpos. Se evalúa el crecimiento de *Porphyridium cruentum* en este tipo de biorreactor, a través de sus parámetros cinéticos y de productividad; así como la modelación matemática de su crecimiento.

## Fundamentación teórica

La microalga marina *Porphyridium cruentum* es una *Rhodophyta* de interés creciente debido a, entre otras cosas, que es fuente valiosa de ficobiliproteínas (ficoeritrinas, ficocianinas y aloficocianinas); las que son utilizadas como marcadores en una gran variedad de diagnósticos e investigaciones que involucran marcadores celulares, análisis de células e inmunoensayos.<sup>(2)</sup>

La  $\beta$ -ficoeritrina ha mostrado ser particularmente útil y la más valiosa de las ficoeritrinas debido a su gran coeficiente de absorción y las excelentes propiedades de fluorescencia.<sup>(3)</sup> Su elevado coeficiente de extinción molar le confiere un intenso color rosa brillante, muy apropiado para su empleo como colorante natural; mientras, que su alto rendimiento cuántico de fluorescencia permite su detección con mayor sensibilidad que otros fluorocromos convencionales. Todo ello lo convierte en un valioso candidato como biosensor y marcador fluorescente.<sup>(2, 3)</sup>

La microalga *Porphyridium cruentum* ha demostrado ser eficiente en la producción de  $\beta$ -ficoeritrina, ya que se ha encontrado que esta especie produce grandes cantidades de esta proteína.<sup>(4)</sup>

El biorreactor puede considerarse como el corazón de todo proceso biotecnológico, ya que es donde se lleva a cabo la transformación de la materia prima (*P. cruentum*) al producto de interés ( $\beta$ -ficoeritrina). Su operación deberá garantizar la maximización de dicha transformación, por lo que su funcionamiento es de vital importancia en la rentabilidad del bioproceso.

Investigaciones a escala de laboratorio se han realizado en LABEX sobre el proceso de cultivo de esta microalga: Se ha estudiado el crecimiento de *P. cruentum* bajo determinadas condiciones con diferentes medios de cultivo, velocidades de agitación y empleando agentes aceleradores del crecimiento como la zeolita y el campo magnético.<sup>(5, 6)</sup> Otros autores trabajaron la cinética de crecimiento de la microalga a una mayor escala utilizando módulos de bolsas desechables de 10 L. Pero en estos módulos el proceso de cultivo presentó

algunos inconvenientes principalmente con la agitación, la alimentación al sistema del aire enriquecido con CO<sub>2</sub> y con la adherencia de las células a las paredes de las bolsas desechables, imposibilitando el apropiado crecimiento celular.<sup>(7)</sup>

Las columnas de burbujeo son reactores de contenedor cilíndrico vertical transparente cuya altura es más del doble de su diámetro. Normalmente se introduce aire burbujeándolo por la parte inferior que tiene como función el mezclado del líquido y la transferencia de masa de CO<sub>2</sub> y la remoción de O<sub>2</sub>. Sus principales ventajas son el bajo costo, área superficial mayor en relación al volumen, el mezclado relativamente homogéneo y eficiente liberación de O<sub>2</sub>.<sup>(8)</sup> Una de las limitaciones, en comparación con los sistemas abiertos, es la disminución del área de iluminación sobre la extensión del fotobiorreactor.<sup>(9)</sup>

La cinética de crecimiento se refiere a la velocidad con que ocurren las transformaciones como producto del proceso de cultivo y esta se obtiene determinando experimentalmente la concentración de cada componente deseado en diferentes tiempos. Se pueden representar esquemáticamente las fases de crecimiento celular, en un tipo de operación tipo discontinuo (batch), graficando la concentración o biomasa en función del tiempo de cultivo.<sup>(5)</sup>

El crecimiento de las células, además de ser un proceso exquisito y complejo, obedece a las leyes de conservación de la masa. Se emplean átomos de C, H, O, N y otros elementos en el proceso metabólico de la célula, pero las cantidades de cada uno de estos elementos incorporadas al material celular son iguales a las cantidades de los mismos transferidas del entorno. Para describir el crecimiento celular y la actividad metabólica se puede utilizar la vía clásica de una simple reacción química a partir de la fórmula elemental del material celular seco.<sup>(10)</sup>

La modelación matemática de procesos biológicos es un instrumento que permite describir y verificar los procesos cinéticos que intervienen en el cultivo intensivo de microalgas en fotobiorreactores; permite predecir el comportamiento de estos procesos. Es aplicable al diseño, evaluación y control de procesos.<sup>(11)</sup>

Un modelo apropiado de crecimiento debe suministrar información sobre parámetros que pueden ser interpretados biológicamente. Al aplicar varios modelos de ajuste a una misma base de datos, es necesario decidir cuál de todos

es el que mejor ajusta y pueda ser empleado para pronosticar resultados en los sistemas de producción. Siempre es preferible trabajar con modelos que tengan menos variables, porque además de ser más sencillos, son más estables y presentan menos sesgo.<sup>(12)</sup>

## Métodos utilizados y condiciones experimentales

**Microorganismo empleado:** Se utilizaron cepas de la microalga roja *Porphyridium cruentum* del Laboratorio de Anticuerpos y Biomodelos Experimentales (LABEX).

**Medio de cultivo:** se trabajó con el medio Walne que ha asegurado, en trabajos realizados, un buen crecimiento celular.<sup>(3, 7)</sup> Para su preparación, cada una de las siguientes soluciones se agrega en un litro de agua de mar previamente filtrada: se añade 1,0 mL de la solución de nutrientes, a la cual se le agrega 1,0 mL de solución de metales traza; 0,10 mL de la solución de vitaminas.<sup>(13)</sup>

**Cultivo celular en fotobiorreactor:** se llevaron a cabo en equipos tipo fotobiorreactor de columna de burbujeo, de 10 L de capacidad cada uno. Se utilizaron 3 biorreactores del mismo modelo con un banco de iluminación compuesto de lámparas de 40 W (GEDEME, Suecia) dispuesto de forma lateral al módulo de cultivo. Los cultivos fueron sometidos a temperatura de 20 a 24 °C, bajo luz artificial de 1 200 a 1 500 lux. Agitación por burbujeo con un flujo de aire de 0,23 g·s<sup>-1</sup>. Los valores de pH y salinidad se ajustaron a 7,5 y 35 % respectivamente. El cultivo se realizó durante 15 días.

### Concentración celular:

$$X = \frac{\sum_{i=1}^n C_i}{n} \cdot F_c \quad (1)$$

X: concentración celular, células·mL<sup>-1</sup>

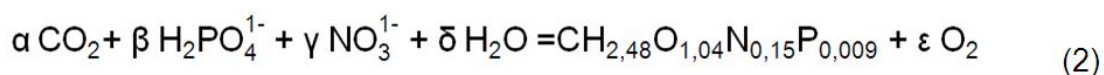
n: número de cuadrantes contados

C<sub>i</sub>: cantidad de células contadas en el cuadrante i

F<sub>c</sub>: factor constante de la cámara (10<sup>4</sup>)

**Determinación de biomasa:** la biomasa se calculó por el método gravimétrico en balanza analítica (Sartorius, BS 121S, Alemania).<sup>(14)</sup> Diariamente se centrifugaron 25 mL de muestra del cultivo celular a 3 500 rpm. La temperatura en la estufa (DHG-9146A, electrotérmica, China) fue de 105 °C hasta lograr un peso constante. Se determinó la biomasa en (g células·L<sup>-1</sup>) relacionando los gramos de células con el volumen del cultivo celular procesado.

**Estequiometría del crecimiento celular:** la metodología empleada para la estequiometría es la reportada para la reacción de crecimiento de las algas.<sup>(10)</sup>



$\alpha$ : coeficiente estequiométrico del CO<sub>2</sub>

$\beta$ : coeficiente estequiométrico del H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>1-</sup>

$\gamma$ : coeficiente estequiométrico del NO<sub>3</sub><sup>1-</sup>

$\delta$ : coeficiente estequiométrico del H<sub>2</sub>O

$\varepsilon$ : coeficiente estequiométrico del O<sub>2</sub>

Los coeficientes estequiométricos de la ecuación se calculan por un balance elemental.<sup>(15)</sup>

Parámetros derivados de la ecuación estequiométrica: teniendo en cuenta la estequiometría de la ecuación, se pueden definir factores asociados a la producción de la biomasa: factor de rendimiento o rendimiento celular, consumo específico de CO<sub>2</sub> y coeficiente fotosintético teóricos.

El factor de rendimiento del crecimiento celular (Y<sub>x/s</sub>) según la estequiometría se determina como:

$$Y_{x/s} = y_{x/s} \cdot \frac{\sigma_s}{\sigma_x} \quad (3)$$

$Y_{x/s}$ : factor de rendimiento del crecimiento celular, gramos de biomasa por gramos de sustrato

$y_{x/s}$ : C-moles de biomasa formados por C-mol de sustrato consumido

$\sigma_s$ : fracción en masa de carbono en el sustrato

$\sigma_x$ : fracción en masa de carbono en la biomasa

El consumo específico de  $\text{CO}_2$ :

$$\text{Consumo de } \text{CO}_2 = \frac{44 \text{ g CO}_2/\text{mol}}{12 \text{ g C/mol}} \cdot \sigma_x \quad (4)$$

$\sigma_x$ : fracción en masa de carbono en la biomasa

El coeficiente fotosintético (CF) se determina según los coeficientes de  $\text{O}_2$  y  $\text{CO}_2$  en la ecuación:

$$\text{CF} = \frac{\varepsilon}{\alpha} \quad (5)$$

CF: coeficiente fotosintético

$\varepsilon$ : coeficiente estequiométrico del  $\text{O}_2$

$\alpha$ : coeficiente estequiométrico del  $\text{CO}_2$

## **Determinación de parámetros cinéticos**

### Velocidad específica de crecimiento

$$\mu = \frac{\ln(X_{vf}) - \ln(X_{v0})}{t_f - t_0} \quad (6)$$



$\mu$ : velocidad específica de crecimiento del cultivo en la fase de crecimiento exponencial,  $d^{-1}$

$X_{vf}$ : concentración celular en el último punto de la curva en la fase de crecimiento exponencial,  $células \cdot mL^{-1}$

$X_{vo}$ : concentración celular en el primer punto de la curva en la fase de crecimiento exponencial,  $células \cdot mL^{-1}$

$t_f$ : tiempo transcurrido entre la concentración inicial y final, d

$t_o$ : tiempo transcurrido en el primer punto de fase de crecimiento exponencial, d.

### Tiempo de duplicación exponencial

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu} \quad (7)$$

$t_d$ : tiempo de duplicación, d

$\mu$ : velocidad específica de crecimiento del cultivo en la fase de crecimiento exponencial,  $d^{-1}$

### Número de generaciones

$$N_g = \frac{t_f}{t_d} \quad (8)$$

$N_g$ : número de generaciones

$t_f$ : tiempo de duración del cultivo, d

$t_d$ : tiempo de duplicación, d

**Productividad de biomasa:** Para evaluar el desempeño del proceso se determinó la productividad por:

$$P_x = \frac{X_m - X_0}{t_f} \quad (9)$$

$P_x$ : productividad en biomasa,  $g \cdot L^{-1} \cdot d^{-1}$

$X_m$ : concentración biomasa final,  $g \cdot L^{-1}$

$X_0$ : concentración biomasa inicial,  $g \cdot L^{-1}$

$t_f$ : tiempo transcurrido entre la concentración inicial y final, d

**Selección del modelo matemático:** Se empleó el software OriginPro 9.0 (OriginLab) Inc. (2014) para seleccionar el modelo matemático de mejor ajuste de los datos del crecimiento celular, se buscaron los modelos de mayor aplicación y de menor complejidad. Los modelos matemáticos aplicados para la estimación del crecimiento celular de *Porphyridium cruentum* son los de Gompertz (ecuación 10) y el modelo Logístico (ecuación 11). Una vez estimados los parámetros que aparecen en el modelo, se realizaron pruebas para determinar la bondad del ajuste realizado.

$$bh = a \cdot e^{(-e^{-(k(t-x_c))})} \quad (10)$$

$$bh = \frac{a}{1 + e^{-k(t-x_c)}} \quad (11)$$

donde:

bh: biomasa húmeda producida,  $g \cdot L^{-1}$

t: tiempo de cultivo, d

a: valor asintótico cuando el tiempo crece indefinidamente (aproximadamente equivalente a la concentración final de microorganismos)

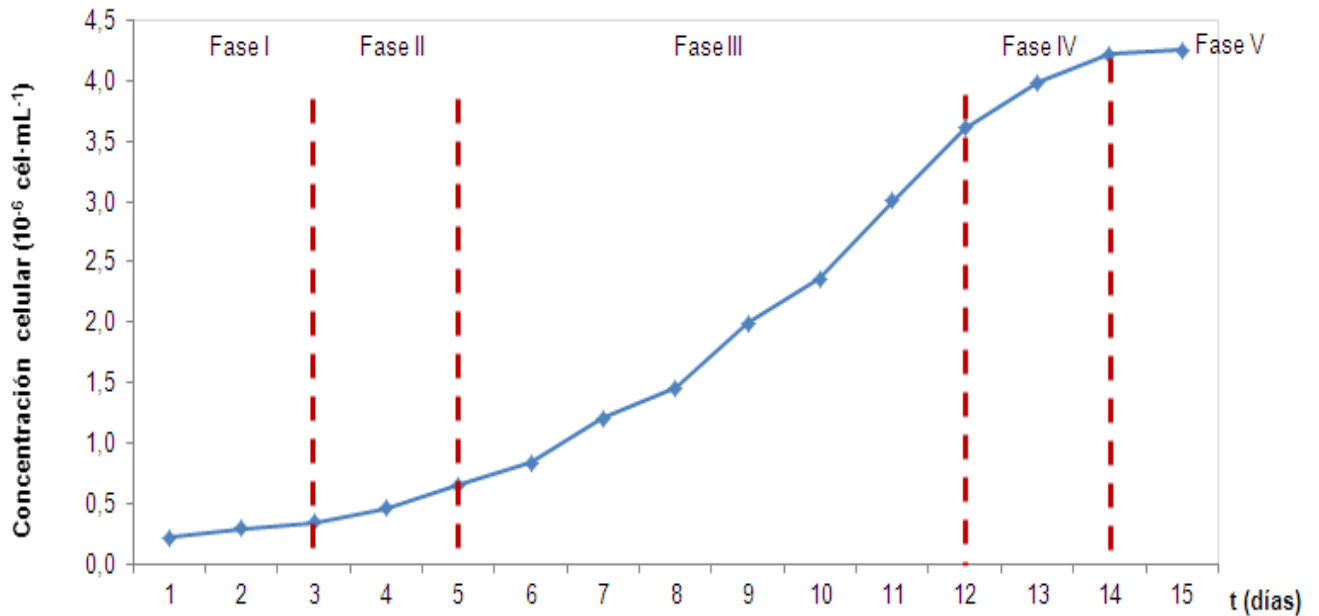
k: tangente en el punto de inflexión de la curva de crecimiento, equivalente a la velocidad específica de crecimiento máximo del microorganismo  $\mu_m$ ,  $d^{-1}$

$x_c$ : tiempo en que se alcanza el punto de inflexión o de máxima velocidad de crecimiento, d.

## Resultados y discusión

### Crecimiento de *Porphyridium cruentum* en fotobiorreactor tipo columna de burbujeo

En la curva de crecimiento del cultivo bajo las condiciones especificadas, figura 1, se identifican las diferentes fases del crecimiento. Se aprecia que la fase de latencia tiene poca duración, al igual que la fase de aceleración, solo dos días; al quinto día comienza la fase de crecimiento exponencial, que dura 7 días. Al día 12 ocurre la fase de desaceleración durante dos días, comenzando la fase estacionaria. Se alcanzó una concentración de  $4,25 \cdot 10^6$  cél·mL<sup>-1</sup> al final del cultivo.



**Fig. 1** - Curva de crecimiento para concentración celular. Fase I: Fase de latencia; Fase II: Fase aceleración; Fase III: Fase exponencial; Fase IV: Fase desaceleración; Fase V: Fase estacionaria

Resultados similares se lograron para *Porphyridium cruentum* en condiciones de radiación solar difusa con 20 L de medio de cultivo Vonshak durante 14 días, con fase de latencia de 3 días y fase exponencial entre el 4<sup>to</sup> y el 10<sup>mo</sup> día; este comportamiento se atribuye en gran medida a las variaciones de la intensidad

luminosa y temperatura a que están sometidos en condiciones de radiación solar difusa.<sup>(16)</sup>

Concentraciones menores para *P. cruentum* en 400 L de medio f/2 y fertilizantes agrícolas ( $39,5$  y  $35,6 \cdot 10^5$  cél·mL<sup>-1</sup>) se alcanzaron con fase exponencial de 3 días y velocidades de crecimiento tres veces mayores que las del presente trabajo.<sup>(17)</sup>

En la tabla 1 se presentan los parámetros cinéticos del presente estudio y los resultados obtenidos con módulos de bolsas, utilizando bolsas desechables de 10 L de medio de cultivo durante 12 días, sin agitación ni alimentación constante de aire <sup>(7)</sup>: velocidad específica de crecimiento máxima ( $\mu_m$ ); tiempo de duplicación ( $t_d$ ); número de generaciones (Ng) y la duración de las diferentes fases.

**Tabla 1** - Parámetros cinéticos del crecimiento de *P. cruentum* para el presente estudio celular y para los reportados en módulos de bolsas desechables <sup>(7)\*</sup>

Parámetros	Módulos de frascos	Módulos de bolsas <sup>*</sup>
$\mu_m$ (d <sup>-1</sup> )	0,244	0,632
$t_d$ (d)	2,85	1,10
Ng	5,27	10,95
Duración de fase de latencia (d)	2	5
Duración de fase exponencial (d)	7	3
Duración de fase estacionaria (d)	2	4

En el cultivo en bolsas desechables, la fase exponencial duró menos días con una mayor velocidad específica máxima; sin embargo, en el presente estudio (columna de burbujeo) se obtuvo mayor biomasa húmeda con un incremento del 27 %.

Para *P. cruentum* se alcanzan valores de 0,77 y 0,74 d<sup>-1</sup> y, tiempos de duplicación de 0,9 y 0,94 d en medio f/2 y fertilizantes agrícolas respectivamente utilizando columnas de fibra de vidrio a  $1000 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .<sup>(17)</sup>

Los resultados alcanzados en la presente investigación (0,29 divisiones por día con irradiancia entre  $16,2$  y  $20,25 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) se corresponden con los reportados para especies del género *Porphyridium* según la irradiancia incidente.<sup>(17)</sup> El crecimiento es proporcional a la intensidad luminosa que se alcanza la zona de saturación, donde el crecimiento celular disminuye.<sup>(18)</sup>

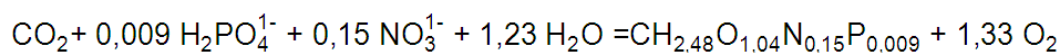
Se ha obtenido en fotobiorreactor airlift con 7 L de medio de cultivo, una velocidad de crecimiento máxima de  $0,298 \text{ d}^{-1}$  para cultivo de *Spirulina Plantensis* <sup>(19)</sup>; valor muy similar al de la presente investigación.

Para maximizar la producción de biomasa se deben seleccionar cepas de rápido crecimiento, con velocidades específicas máximas no inferiores a  $0,8 \text{ d}^{-1}$ .<sup>(20)</sup> Aunque se plantea que la velocidad a la que crecen las microalgas depende, principalmente, de su capacidad de utilizar la luz incidente y de la disponibilidad de nutrientes.<sup>(21)</sup>

### **Desarrollo de estequiometría del crecimiento de *Porphyridium cruentum***

La fórmula química general del alga utilizada en el presente estudio ( $\text{C}_{106}\text{H}_{263}\text{O}_{110}\text{N}_{16}\text{P}$ ) es reportada y utilizada por diferentes autores.<sup>(1, 10)</sup> La fórmula química expresada en función de un átomo-gramo de carbono es  $\text{CH}_{2,48}\text{O}_{1,04}\text{N}_{0,15}\text{P}_{0,009}$ .

Al resolver el sistema de ecuaciones que conforman los coeficientes estequiométricos y sustituir, la ecuación queda de la siguiente manera:



De esa forma resulta la estequiometría del crecimiento de biomasa de *P. cruentum* en medio de cultivo Walne, considerando solo la generación de biomasa y la obtención de oxígeno gaseoso, producto de la fotosíntesis.

### **Parámetros derivados de la ecuación estequiométrica**

Para determinar el factor teórico de rendimiento del crecimiento celular ( $Y_{x/s}$ ), utilizando la ecuación 3, se considera como sustrato la fuente de carbono, el  $\text{CO}_2$ :

$$Y_{x/s} = y_{x/s} \cdot \frac{\sigma_s}{\sigma_x} = 1 \cdot \frac{0,273}{0,336} = 0,814 \text{ g biomasa} \cdot (\text{g CO}_2)^{-1}$$

El consumo específico de CO<sub>2</sub> queda determinado por:

$$\frac{44 \text{ g CO}_2/\text{mol}}{12 \text{ g C/mol}} \cdot \frac{0,336 \text{ g C}}{\text{g biomasa}} = 1,23 \text{ g CO}_2 \cdot \text{g biomasa}^{-1}$$

La microalga, durante el crecimiento, puede fijar 1,23 g CO<sub>2</sub>·g biomasa<sup>-1</sup>. Este resultado es menor que el reportado por la literatura (1,83 g CO<sub>2</sub>·g biomasa<sup>-1</sup>)<sup>(10, 22)</sup> al considerarse que la biomasa microalgal, en general, contiene 50 % de carbono por peso seco. Según la fórmula química empleada en este trabajo, la fracción en masa de carbono en biomasa es 0,336, o sea, 33,6 % en vez de 50 %. Aunque los resultados fueran más precisos si se utilizara una fórmula química más ajustada de biomasa de *P. cruentum* bajo las condiciones de cultivo utilizadas. El consumo de CO<sub>2</sub> no sólo está determinado por la especie de microalga, sino también, por la concentración de CO<sub>2</sub> disponible, temperatura, configuración del reactor, medio de cultivo e intensidad de luz.<sup>(22)</sup>

Coefficiente fotosintético (CF):

$$CF = \frac{\varepsilon}{\alpha} = \frac{1,33}{1} = 1,33 \text{ mol O}_2 \cdot (\text{mol CO}_2)^{-1}$$

Este valor de coeficiente fotosintético es similar a los obtenidos de la ecuación estequiométrica para otras microalgas: de 1,30 a 1,39 mol O<sub>2</sub> · (mol CO<sub>2</sub>)<sup>-1</sup>.<sup>(23, 24)</sup>

Durante la fotosíntesis se libera 1 mol de O<sub>2</sub> por mol de CO<sub>2</sub> consumido, este valor varía de acuerdo con la intensidad de la luz. También hay que tener en cuenta que la estequiometría cambia según la fórmula química utilizada para la microalga, lo que está en dependencia de la especie cultivada y de las condiciones de cultivo<sup>(25)</sup>, y según la fuente de carbono, nitrógeno y fósforo empleada.<sup>(24)</sup>

**Productividad de *Porphyridium cruentum*:** En las condiciones explicadas anteriormente, se obtuvo una productividad de 0,32 g·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> de biomasa húmeda, con un máximo de productividad al día 12.

La productividad de biomasa en base seca obtenida es de 0,092 g·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, lo que clasifica al sistema de baja productividad volumétrica. El sistema es de baja densidad celular al obtenerse una densidad de 1,47 g·L<sup>-1</sup> en base seca.

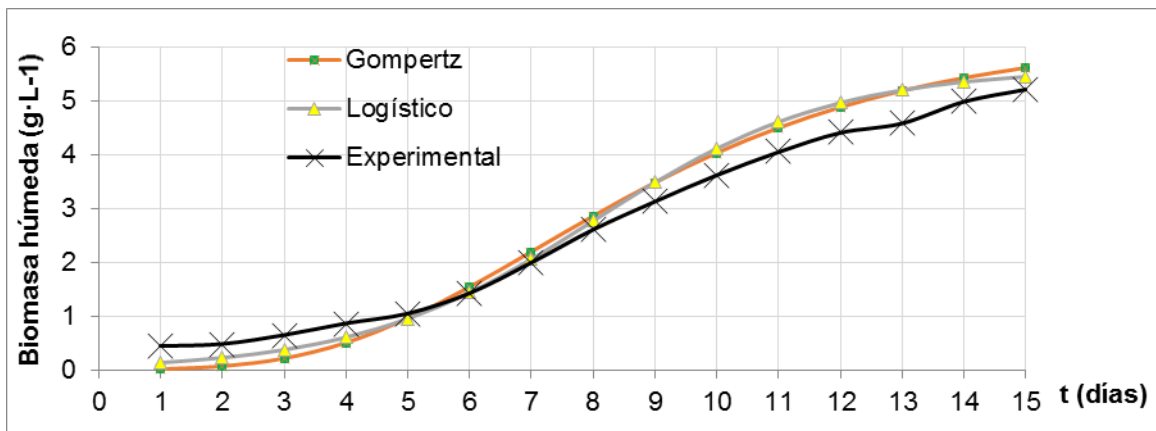
Se pueden obtener productividades para *Porphyridium cruentum* entre 0,36 y 1,5 g·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> <sup>(26)</sup> y, para esta especie, una productividad de 1,5 g·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> y concentraciones máximas de 3 g·L<sup>-1</sup> en fotobiorreactor tubular de 200 L. <sup>(22)</sup> Siendo mucho menor la productividad alcanzada en esta investigación.

La productividad obtenida es menor respecto a las reportadas para fotobiorreactores de columna de burbujeo: productividad de 0,46 ± 0,01 g·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> para *Synechocystis* sp. en escala piloto, bajo condiciones de cultivo semicontinuo con 11 L de medio de cultivo Mann and Myers y 1807 μE·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> de intensidad exterior. <sup>(27)</sup> Este autor también menciona, que en el cultivo de *Isochrysis galbana* en una columna de burbujeo de 5 L se alcanza una productividad de 0,36 g·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>. Aunque cada especie y subespecie de microalga presenta sus características propias respecto a condiciones óptimas de crecimiento, así como productividades máximas alcanzadas en diferentes configuraciones de sistema de cultivo.<sup>(22)</sup>

**Modelación matemática del crecimiento celular de *Porphyridium cruentum*:** De los dos modelos evaluados para describir el crecimiento de *Porphyridium cruentum* en fotobiorreactor tipo columna de burbujeo, el modelo Logístico resultó ser el más adecuado para la descripción de los datos, lo que se muestra en la figura 2 con el ajuste de los modelos; además el Logístico es el de menor valor de la suma de cuadrados de los residuos (SCR) y del criterio de información de Akaike (AIC) y el mayor valor del coeficiente R<sup>2</sup>, tabla 2.

**Tabla 2** - Criterios empleados para la selección de modelos.

Modelos	R <sup>2</sup>	SCR	AIC
Gompertz	0,9749	1,2284	-20,57
Logístico	0,9836	0,8126	-29,06



**Fig. 2** - Curvas de crecimiento ajustadas con los modelos matemáticos de Gompertz y Logístico

De los parámetros biológicos que se muestran en la tabla 3 se obtiene la ecuación ajustada del modelo Logístico (ecuación 12). En la tabla 3 también se muestran los valores de biomasa final y tiempo en que se alcanza la velocidad específica de crecimiento máxima según la curva de crecimiento para biomasa húmeda obtenida experimentalmente por método gráfico. No existen diferencias estadísticamente significativas para los valores de la biomasa final y el tiempo en que se alcanza la máxima velocidad específica de crecimiento obtenidos por el modelo Logístico y los experimentales.

$$bh = \frac{5,61}{1 + e^{-0,52(t-8,0)}} \quad (12)$$

**Tabla 3** - Parámetros biológicos del modelo Logístico

Parámetros	a	k	x <sub>c</sub>
Significado biológico	biomasa final (g·L <sup>-1</sup> )	μ <sub>m</sub> (d <sup>-1</sup> )	tiempo en que se alcanza μ <sub>m</sub> (d)
Valor del modelo	5,61	0,52	8,0
Valor experimental	5,23	0,26	8,0

Como puede observarse, existen diferencias entre los valores de velocidad específica máxima de crecimiento obtenida por los dos métodos. Algunos autores reportan valores mayores de velocidad específica máxima del crecimiento de



*Listeria monocytogenes* CECT 4031 cuando se emplean los modelos Logístico ( $0,22 \text{ h}^{-1}$ ) y Richards ( $0,32 \text{ h}^{-1}$ ) comparados con los determinados por el método gráfico ( $0,15 \text{ h}^{-1}$ ).<sup>(28)</sup> Este efecto se explica en función de la naturaleza sigmoideal del modelo. Existe una correlación entre la duración de la fase de latencia dada por el modelo y los valores específicos de la velocidad máxima de crecimiento. Como se observa en la figura 2, los modelos Logístico y de Gompertz reducen su fase de latencia con respecto a los datos experimentales, por lo que pueden esperarse valores superiores de la velocidad máxima de crecimiento.

La función de Gompertz ha sido la curva sigmoideal más ampliamente utilizada en microbiología predictiva debido a su simplicidad y efectividad.<sup>(29)</sup> Aunque en un cultivo en discontinuo, la curva de crecimiento de microorganismos más frecuente es de tipo logístico.<sup>(30)</sup>

Tanto el modelo Logístico como el Gompertz tienen puntos de inflexión que están siempre en una proporción fija de su población asintótica. Pero en el modelo Logístico la curva de crecimiento es simétrica alrededor del punto de máxima tasa de crecimiento.<sup>(31, 32)</sup>

Estas características del modelo Logístico hacen que sea el que mejor ajusta el crecimiento de *Porphyridium cruentum* bajo las condiciones empleadas en esta investigación, además de su simplicidad y sus posibilidades de interpretación biológica.

## Conclusiones

1. Se obtienen parámetros cinéticos con velocidad específica de crecimiento máxima de  $0,29 \text{ d}^{-1}$  y tiempo de duplicación de 2,37 d. Los parámetros derivados de la estequiometría resultaron similares al reportado por la literatura excepto el consumo específico de  $\text{CO}_2$  que fue menor que el consumo normal. El sistema evaluado es de baja productividad volumétrica con un valor de  $0,092 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  y baja densidad celular de  $1,47 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ .
2. El modelo matemático Logístico describe mejor el crecimiento de *Porphyridium cruentum* bajo las condiciones empleadas en la investigación.

## Referencias bibliográficas

1. HALFHIDE, T. C. "Algae: Opportunities for biomass feedstock production, wastewater treatment and educational outreach". Ph.D Thesis, College of Engineering, University of South Florida. EE. UU, 2014.
2. BERMEJO ROMÁN, R., *et al.* *Proceso para la obtencion y purificacion de  $\beta$ -Ficoeritrina*. Patente número ES 2 197 820 B1: España, 2016.
3. FERNÁNDEZ-DUARTE, G.; GUTIÉRREZ-CALZADO, E. ; GARCÍA-REYES, M. L. Obtención de  $\beta$ -Ficoeritrina y su uso en la conjugación de anticuerpos murinos. *Revista Cubana de Química*. **29** (2), 212-228. ISSN: 2224-5421.2017
4. HERNÁNDEZ-MIRELES, T. D. "Proceso prototipo para la recuperación y purificación de  $\beta$ -ficoeritrina producida por *Porphyridium cruentum*". Tesis de Maestría, División de Ingeniería y Arquitectura. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. Monterrey N. L. México, 2006.
5. FERRER, D. "Estudio del proceso de crecimiento de *Porphyridium cruentum* para la obtención de  $\beta$ -ficoeritrina bajo determinadas condiciones de cultivo". Trabajo de Diploma, Facultad de Ingeniería Química, Universidad de Oriente. Santiago de Cuba. Cuba, 2012.
6. FERRER, J. "Aceleración del crecimiento de *Porphyridium cruentum* con campos magnéticos". Trabajo de Diploma, Facultad de Ingeniería Química, Universidad de Oriente. Santiago de Cuba. Cuba, 2012.
7. CERVANTES-BLANCO, Y.; FERNÁNDEZ-DUHARTE, G.; FERRER-ROMERO, J. C. ; VENDRELL-CALZADILLA, F. Propuesta de ampliación de la capacidad productiva del proceso de obtención de la proteína  $\beta$ -ficoeritrina. *Tecnología Química*. **37** (2), 372-390. ISSN: 2224-6185. 2017

8. KUMAR, K., *et al.* Development of suitable photobioreactors for CO<sub>2</sub> sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. *Bioresour Technol.* **102** (8), 4945-4953. ISSN: 0960-8524. 2011
9. RODRÍGUEZ-RAMOS, P. A., *et al.* Obtención de biomasa de microalga *Chlorella vulgaris* en un banco de prueba de fotobiorreactores de columna de burbujeo. *Afinidad.* 2016, **73** (574). ISSN: 2339-9686.
10. BOFFILL-RODRÍGUEZ, Y.; GARCÍA-RODRÍGUEZ, A. ; CASTELLANOS-ESTUPIÑÁN, J. Estimación cuantitativa preliminar de índices de producción de biomasa microalgal a partir de la reacción de fotosíntesis. *Tecnología Química.* 2012, **32** (1), 31-41. ISSN: 2224-6185.
11. O'FARRILL-PIE, M. E.; PÉREZ-BOFFIL, Y. ; HERNÁNDEZ-TOUSET, J. P. Enfoques para el cultivo intensivo de microalgas, como fuente de materia prima para la obtención de productos de alto valor agregado y secuestrador de CO<sub>2</sub>. *Revista Centro Azúcar.* 2013, **40** (4). ISSN: 2223-4861.
12. AGUDELO-GÓMEZ, D. A.; CERÓN-MUÑOZ, M. F. ; RESTREPO, L. F. Modelación de funciones de crecimiento aplicadas a la producción animal. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias.* 2007, **20** (2), 157-173. ISSN: 2256-2958
13. ÁLVAREZ, H. *Cultivo de microalgas: Manual de uso para Acuicultura Tropical.* Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador, 2003. p.37
14. NIIZAWA, I. "Diseño, modelado y optimización de foto-bioreactores destinados al cultivo de microalgas para diferentes aplicaciones tecnológicas". Tesis Doctoral, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Argentina, 2015.

15. PINEDA, J. "Desarrollo de una tecnología para la producción a pequeña escala de la biomasa del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*)". Tesis Doctoral, Facultad de Química, Universidad de Camagüey "Ignacio Agramonte Loynaz". Cuba, 2014.
16. MORRIS, H., *et al.* Cinética de crecimiento y producción de polisacáridos por la microalga *Porphyridium cruentum* (*Rhodophyta, Porphyridiaceae*) en condiciones de radiación solar difusa. *Tecnología Química*. 2004, **24** (1), 73-78. ISSN: 2224-6185.
17. GONZÁLEZ-MUÑOZ, J. A. "Evaluación del crecimiento, consumo de nutrientes y composición proximal de *Porphyridium cruentum* (*Rhodophyceae*), cultivada con medio F/2 y fertilizantes agrícolas". Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Ensenada, Baja California, México, 2006.
18. CÁRDENAS-ORREGO, A. Y. "Evaluación del crecimiento celular de cuatro especies de microalgas en fotobiorreactores de 20 L bajo diferentes velocidades de aire y concentraciones de CO<sub>2</sub>". Tesis de Maestría, Escuela de Ingeniería, Universidad EAFIT. Medellín, Colombia, 2014.
19. MOSQUERA AYORA, F. "Procesos de upstream y downstream en la producción de biomasa de microalgas". Trabajo de Diploma, Colegio de Ciencias e Ingeniería. Universidad San Francisco de Quito. Ecuador, 2015.
20. MÁS-DIEGO, S. M. "Propuesta tecnológica para la producción de un biocontrolador de plagas a partir de *Trichoderma harzianum* Rifai (A-34) con aplicación del campo magnético". Tesis Doctoral, Fac. Ingeniería Química, Universidad de Oriente. Santiago de Cuba, 2018.
21. VÉLEZ TAMAYO, M. J. "Estudio sobre el modelado y control de las condiciones óptimas de cultivo de microalgas en fotobiorreactores para producción

de biodiésel". Tesis de Maestría, Departamento de Informática, Escuela Superior de Ingeniería. Universidad de Almería. España, 2014.

22. RUIZ MARTÍNEZ, A. "Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente". Tesis de Maestría, Universidad Politécnica de Valencia. Ecuador, 2011.

23. SEGURA PULIDO, Y. "Evaluación de un sistema experimental piloto para el cultivo intensivo de la macroalga marina *Ulva lactuca*". Trabajo de Diploma, Facultad de Química y Farmacia, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Cuba, 2013.

24. MEJÍA GALARZA, W. A. "Desarrollo de un modelo matemático de un fotobioreactor solar de placa plana para la producción de *Spirulina platensis*". Tesis de Maestría en Energías Renovables, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Sangolquí. Ecuador, 2017.

25. ULLOA MERCADO, R. G. "Inducción de productos bioactivos en la microalga marina *Tetraselmis suecica*". Tesis Doctoral, Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Santiago de Compostela. España, 2011.

26. MATA, T. M.; MARTINS, A. A. ; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renewable sustainable energy reviews*. 2010, **14** (1), 217-232. ISSN: 1364-0321

27. GARCÍA, L. M. "Eliminación de CO<sub>2</sub> con microalgas autóctonas". Tesis Doctoral, Instituto de Recursos Naturales, Área de Ingeniería Química, Universidad de León. España, 2009.

28. PLA, M. L., *et al.* Comparison of primary models to predict microbial growth by the plate count and absorbance methods. *BioMed Research International*. 2015, , 365025. ISSN: 2314-6133
29. GIANNUZZI, L.; PINOTTI, A. ; ZARITZKY, N. Mathematical modelling of microbial growth in packaged refrigerated beef stored at different temperatures. *International Journal of Food Microbiology*. 1998, **39** (1-2), 101-110. ISSN: 0168-1605
30. GARCÍA-GOZALBES, C. C.; ARBIB, Z. ; PERALES-VARGAS-MACHUCA, J. A. Cinéticas de crecimiento y consumo de nutrientes de microalgas en aguas residuales urbanas con diferentes niveles de tratamiento. *Tecnología y ciencias del agua*. 2015, **6** (1), 49-68. ISSN: 2007-2422
31. CASTRO, G., *et al.* Comparación de modelos sigmoidales aplicados al crecimiento de *Lactococcus lactis* subsp. Lactis. *Revista Científica*. 2008, **18** (5), 582-588. ISSN: 0798-2259
32. VÁSQUEZ-VILLALOBOS, V.; ARTEGA GUTIÉRREZ, P.; CHANAMÉ ACEVEDO, K. ; ESQUIVEL TORRES, A. Modelamiento matemático y por redes neuronales artificiales del crecimiento de *Spirulina* sp. en fotobiorreactor con fuente de luz fluorescente e iluminación en estado sólido. *Scientia Agropecuaria*. 2013, **4**, 199. ISSN: 2306-6741

### **Conflictos de interés**

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

## **Contribución de autores**

Yanet Cervantes Blanco: toma de muestras, análisis de resultados y procesamiento de los datos experimentales, preparación del artículo.

Esli Lobaina Lobaina: análisis de resultados y procesamiento de los datos experimentales, revisión del artículo.

Siannah María Mas Diego: análisis de resultados y procesamiento de los datos experimentales, revisión del artículo.

Jeorge Fernández Duharte: análisis de resultados, revisión del artículo.