

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA



**IMPLEMENTACIÓN Y AUTOMATIZACIÓN DE UN
FOTOBIORREACTOR CONTINUO PARA LA
PRODUCCIÓN DE *RHODOMONAS SALINA***

TESIS

QUÉ PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS PARA
OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS EN
OCEANOGRAFÍA COSTERA

PRESENTA

ODALYS NATALI BARRAGÁN VERDUGO

Ensenada, Baja California, México
Diciembre, 2025

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS
POSGRADO EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

IMPLEMENTACIÓN Y AUTOMATIZACIÓN DE UN FOTOBIOREACTOR
CONTINUO PARA LA PRODUCCIÓN DE *RHODOMONAS SALINA*

TESIS

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA
OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

Presenta

Odalys Natali Barragán Verdugo

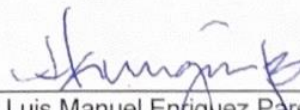
Aprobada por:



Dr. Juan Gabriel Correa Reyes
Director de tesis



Dr. Fernando Barreto Curiel
Sinodal



Dr. Luis Manuel Enriquez Paredes
Sinodal

Resumen de la tesis que presenta Odalys Natali Barragan Verdugo como requisito parcial para la obtención del grado de Maestra en Ciencias en Oceanografía Costera

Implementación y automatización de un fotobiorreactor continuo para la producción de *Rhodomonas salina*

Resumen aprobado por:

Dr. Juan Gabriel Correa Reyes

Director de tesis

Este proyecto aborda el diseño, implementación y evaluación de un fotobiorreactor para la producción de biomasa de microalgas planctónicas de interés acuícola, utilizando garrafones plásticos de 20 L como base estructural. El propósito central fue comparar la estabilidad y productividad de dos modalidades de operación, así como la calidad nutricional de la microalga producida. El sistema se configuró en dos modalidades: (i) un fotobiorreactor continuo (FBC) con control automatizado de pH mediante inyección de CO₂, y (ii) un fotobiorreactor semicontinuo (FBSC) operado manualmente. Esta configuración permitió evaluar el desempeño funcional entre ambos tratamientos bajo condiciones controladas. La automatización se desarrolló con una plataforma Arduino, que integró sensores de pH, temperatura e intensidad lumínica, además de módulos para el registro de datos y la inyección controlada de CO₂. Se realizaron tres corridas experimentales de 16

días cada una bajo condiciones controladas, y los datos fueron analizados estadísticamente para validar diferencias significativas entre tratamientos y bloques temporales. La eficiencia de los sistemas se evaluó a través de parámetros de biomasa (conteo celular, peso seco, peso orgánico y ceniza) y análisis bioquímicos (proteínas, lípidos totales y perfil de ácidos grasos). De manera general los cultivos alcanzaron densidades celulares de $1.81-1.95 \times 10^6 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$, con valores de peso seco de $0.38 \pm 0.01 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ y peso orgánico de $0.30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; sin mostrar diferencias significativas entre los 2 tratamientos. En cuanto a la composición proximal total, el FBSC presentó $41.11 \pm 1.28 \%$ de proteínas y $9.97 \pm 0.62 \%$ de lípidos, mientras que el FBC alcanzó valores superiores, con $47.71 \pm 1.79 \%$ de proteínas y $13.55 \pm 0.86 \%$ de lípidos, diferencias que resultaron significativas ($p = 0.001$). En el perfil de ácidos grasos, el FBSC mostró un mayor porcentaje de SDA ($28.32 \pm 5.37 \%$), mientras que el FBC registró proporciones más altas de LA ($11.70 \pm 7.32 \%$), EPA ($6.72 \pm 4.24 \%$) y DHA ($5.97 \pm 0.82 \%$). En conjunto, los resultados mostraron que ambos sistemas evaluados, el semicontinuo y el continuo, fueron capaces de sostener un cultivo y de producir biomasa con una composición nutricional acorde a lo reportado para *R. salina*. Sin embargo, el sistema continuo con control automatizado de pH mostró fracciones más altas de proteínas y lípidos, lo que indica un funcionamiento más estable bajo condiciones reguladas de CO_2 . Por el contrario, el sistema semicontinuo presentó una mayor variación en su composición debido a las fluctuaciones de pH generadas por el ajuste manual de CO_2 . Estos hallazgos confirmaron que el fotobiorreactor continuo demostró un desempeño superior al

semicontinuo, particularmente en la calidad nutricional de la biomasa producida. Por lo tanto, el fotobiorreactor continuo se posicionó como la opción más adecuada para aplicaciones en laboratorios y unidades de producción acuícola. Así mismo, el diseño evaluado demostró ser funcional, replicable y con potencial para escalarse sin comprometer la calidad final del cultivo.

Palabras clave: Biorreactor fed-batch, sistematización, alimento vivo, acuicultura.

Abstract of the thesis presented by **Odalys Natali Barragan Verdugo** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Costal Oceanography

Implementation and automation of a fed-batch photobioreactor for the production of *Rhodomonas salina*

Abstract approved by:

Dr. Juan Gabriel Correa Reyes

Thesis Director

This project presents the design, implementation, and evaluation of a photobioreactor for the production of planktonic microalgal biomass of relevance to aquaculture, using 20-L plastic containers as the structural base. The central purpose was to compare the stability and productivity of two operational modes, as well as the nutritional quality of the microalgae produced. The system was configured in two modes: (i) a continuous photobioreactor (FBC) with automated pH control through CO₂ injection, and (ii) a semicontinuous photobioreactor (FBSC) operated manually. This configuration enabled the functional performance of both treatments to be evaluated under controlled conditions. The automation was developed using an Arduino platform that integrated pH, temperature, and light sensors, along with modules for data logging and controlled CO₂ injection. Three experimental runs of 16 days each were carried out under controlled conditions, and the

data were statistically analyzed to validate significant differences between treatments and temporal blocks. System efficiency was evaluated through biomass parameters (cell counts, dry weight, organic weight, and ash) and biochemical analyses (proteins, total lipids, and fatty acid profile). Overall, the cultures reached cell densities of $1.81\text{--}1.95 \times 10^6 \text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$, with dry weight values of approximately $0.3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ and organic weight around $0.3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, showing no significant differences between the two treatments. Regarding biochemical composition, the FBSC exhibited $41.11 \pm 1.28\%$ proteins and $9.97 \pm 0.62\%$ total lipids, while the FBC reached higher values— $47.71 \pm 1.79\%$ proteins and $13.55 \pm 0.86\%$ lipids—differences that were statistically significant ($p = 0.001$). With respect to the fatty acid profile, the FBSC showed a higher proportion of SDA ($28.32 \pm 5.37\%$), whereas the FBC displayed higher percentages of LA ($11.70 \pm 7.32\%$), EPA ($6.72 \pm 4.24\%$), and DHA ($5.97 \pm 0.82\%$). The results showed that both evaluated systems, the semicontinuous and the continuous, were capable of sustaining a culture and producing biomass with a nutritional composition consistent with what has been reported for *Rhodomonas salina*. However, the continuous system with automated pH control yielded higher fractions of proteins and lipids, indicating more stable performance under regulated CO₂ conditions. In contrast, the semicontinuous system presented greater variation in its composition due to pH fluctuations associated with manual CO₂ adjustment. These findings confirmed that the continuous photobioreactor demonstrated superior performance compared with the semicontinuous system, particularly in the nutritional quality of the biomass produced. Therefore, the continuous photobioreactor was positioned

as the most suitable option for applications in aquaculture laboratories and production units. Likewise, the evaluated design proved to be functional, replicable, and with potential for scaling up without compromising the final quality of the culture.

Key words: Fed-batch bioreactor, systematization, live feed, aquaculture.

DEDICATORIA

A mi hijo, por ser la inspiración que me motivó a culminar este proyecto y por recordarme siempre la importancia de avanzar con amor, paciencia y dedicación. Tu presencia en mi vida da sentido a cada logro y me impulsa a ser mejor cada día.

A mi familia, por su apoyo incondicional y por animarme siempre a seguir mis sueños. Gracias por acompañarme en cada meta y por creer en mí.

A ustedes, con todo mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

Quiero iniciar expresando mi más profundo agradecimiento al Dr. Juan Gabriel Correa Reyes, mi director, por todo el apoyo y acompañamiento brindado a lo largo de este programa. Su guía, paciencia y compromiso fueron esenciales en cada etapa de este proceso. Gracias por su disposición constante para resolver mis dudas y por no dejarme caer cuando las cosas se volvieron difíciles. Su confianza y respaldo fueron fundamentales para la realización de este trabajo.

También deseo extender mi agradecimiento al Dr. Fernando Barreto Curiel y al Dr. Luis Enríquez Paredes por sus valiosas aportaciones en cada revisión. Sus comentarios, observaciones y el tiempo dedicado a orientar este trabajo fueron fundamentales para enriquecerlo y fortalecerlo en cada etapa. Aprecio profundamente su disposición para guiarme, así como la claridad y rigor académico que aportaron al desarrollo de este trabajo.

A Ramiro Hernández, por todo el apoyo brindado en el laboratorio. Cada ayuda que me ofreciste la valoré profundamente, así como tus palabras de ánimo que hicieron más llevadera mi estancia en el laboratorio. Tu disposición y compañerismo significaron mucho para mí durante este proceso.

A Enrique Valenzuela, por el apoyo brindado con el equipo y el material siempre que lo necesite. Agradezco también las pláticas, el compañerismo y los consejos que me ofreciste, los cuales fueron de gran ayuda.

Al personal del Laboratorio de Nutrición Acuícola, en especial a Samantha y Aldo, muchas gracias por su apoyo y por la orientación brindada durante la realización de mis análisis bioquímicos. Su disposición y ayuda fueron fundamentales para avanzar en esta etapa del trabajo.

Agradezco al Laboratorio de Invertebrados Marinos y a su equipo técnico y académico por brindarme el espacio y las condiciones necesarias para el mantenimiento de mis cultivos durante el desarrollo de este proyecto. Su disposición fue esencial para la realización de este estudio.

A mis compañeros de posgrado, por escucharme, apoyarme y brindarme siempre palabras de aliento. Haber construido una amistad con ustedes fue profundamente reconfortante y significó un gran apoyo durante este camino.

Y finalmente, agradezco a la secretaria de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el apoyo financiero otorgado durante mi formación como estudiante de posgrado, bajo el número de becario 1313121. Su respaldo fue fundamental para la realización de este proyecto.

CONTENIDO

DEDICATORIA	ix
AGRADECIMIENTOS	x
LISTA DE TABLAS	xv
1. Introducción y antecedentes	1
1.1 Microalgas	3
1.1.1 Relevancia nutricional en la acuicultura	4
1.1.2 Aplicación de microalgas como alimento en acuicultura ...	5
1.1.3 <i>Rhodomonas salina</i> como especie de interés acuícola	7
1.1.4 Otros géneros relevantes	9
1.2 Parámetros de cuantificación y métodos clásicos de análisis bioquímico	9
1.3 Fotobiorreactores.....	14
1.3.1 Criterios en el diseño de un fotobiorreactor.....	15
1.3.2 Operación de fotobiorreactores	16
3 Justificación científica	18
4 Objetivos	20
4.1 Objetivo general.....	20
4.2 Objetivos específicos	20
5 Metodología	21

5.1 Descripción general del experimento.....	21
5.2 Diseño experimental	21
5.3 Configuración y operación de los fotobiorreactores	23
5.4 Automatización del sistema para el fotobiorreactor de flujo continuo.....	26
5.5 Producción y mantenimiento de <i>Rhodomonas salina</i>	27
5.6 Análisis bioquímicos	30
5.6.1 Determinación de proteínas	31
5.6.2 Determinación de lípidos.....	33
5.6.3 Determinación de ácidos grasos.....	34
5.7 Análisis estadístico.....	36
6 Resultados	38
6.1 Crecimiento celular	38
6.2 Cambios de pH	39
6.3 Valores de temperatura	40
6.4 Parámetros de Crecimiento	41
6.5 Producción de Biomasa	43
6.7 Composición bioquímica	44
6.8 Análisis de ácidos grasos.....	46
7 Discusión	51

7.1 Desempeño y estabilidad operativa del Fotobiorreactor	
continuo.....	51
7.2 Productividad en Fotobiorreactores de cultivos de <i>Rhodomonas salina</i>.....	52
7.3 Proteínas y lípidos totales	55
7.4 Ácidos grasos.....	57
8 Conclusiones.....	62
9 Recomendaciones	62
10 Referencias bibliográficas.....	65

LISTA DE TABLAS

- Tabla I.** Relación de especies de microalgas comúnmente utilizadas para la alimentación en la acuicultura, así como su forma y tasas de alimentación reportadas para diversos grupos de organismos 8
- Tabla II.** Composición nutricional proximal y perfil de ácidos grasos de microalgas de interés acuícola (*Rhodomonas*, *Isochrysis*, *Nannochloropsis*, *Tetraselmis* y *Chaetoceros*) reportados en la literatura 11
- Tabla III.** Métodos tradicionales utilizados para el análisis bioquímico de microalgas (proteínas, carbohidratos y lípidos), así como los reactivos utilizados, el rendimiento y sus referencias bibliográficas 13
- Tabla IV.** Valores promedio y desviación estándar del número de células ($\text{cel}\cdot\text{ml}^{-1}$), peso seco ($\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), peso orgánico seco ($\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), peso de ceniza ($\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) y la tasa de crecimiento específica (μ); con la microalga *Rhodomonas salina* cultivada en 2 fotobiorreactores: FBSC y FBC durante la fase estacionaria de cultivo 43
- Tabla V.** Valores promedio y desviación estándar del porcentaje (%) de proteína total, lípidos, cenizas, materia orgánica y ELN en *Rhodomonas salina* cultivada en dos tipos de fotobiorreactores: FBSC y FBC durante la fase estacionario de cultivo 46
- Tabla VI.** Valores promedio y desviación estándar del porcentaje de ácidos grasos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) y polinsaturados (PUFA), en *Rhodomonas salina* cultivada en dos tipos de fotobiorreactores: FBSC y FBC y durante la fase estacionario de su

cultivo..... 47

Tabla VII. Valores promedio y desviación estándar de la sumatoria del porcentaje de ácidos grasos saturados (Σ SFA), monoinsaturados (Σ MUFA), Polinsaturados (Σ PUFA) y para el caso de los diferentes ácidos grasos poliinsaturados su concentración en $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ en *Rhodomonas salina* cultivada en dos tipos de fotobiorreactores: FBSC y FBC y durante la fase estacionario de su cultivo 48

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Esquema general de los sistemas fotobiorreactores a escala laboratorio. (a) Fotobiorreactor FBSC que contaba con aireación e iluminación continua y la adición de CO₂, nutrientes y cosecha parcial de microalgas se realizaba una vez al día y de forma manual. (b) Sistema FBC automatizado que consistía en tres contenedores, que contaban con inyección de CO₂, nutrientes, agua y aire; iluminación continua; controlador de pH central; válvulas solenoides; sensor de temperatura y bomba peristáltica..... 22
- Figura 2.** Imagen que muestra la secuencia de escalamiento, los volúmenes y tipo de recipientes utilizados en el cultivo de *R. salina* hasta llegar a escala de fotobiorreactor..... 25
- Figura 3.** Esquema que muestra el diseño experimental que se realizó para evaluar la eficiencia de producción de los fotobiorreactores: semicontinuo (FBSC) y de flujo continuo (FBC)..... 30
- Figura 4.** Valores promedio y desviación estándar de la densidad celular (cel·mL⁻¹) de *Rhodomonas salina* cultivada en ambos fotobiorreactores: semicontinuo (FBSC) y continuo (FBC) durante un tiempo experimental de 16 días..... 39
- Figura 5.** Valores promedio y desviación estándar del pH en los cultivos de la microalga *Rhodomonas salina* cultivada en ambos fotobiorreactores: FBSC y FBC, durante la fase estacionaria del cultivo (días 8 a 16)..... 40
- Figura 6.** Valores promedio y desviación estándar de la temperatura

registrada en el laboratorio y en los cultivos de <i>Rhodomonas salina</i> cultivada en los fotobiorreactores: FBSC y FBC durante la fase experimental	41
Figura 7. Valores de producción de biomasa promedio y desviación estándar ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) obtenida en los cultivos de <i>Rhodomonas salina</i> cultivada en los 2 tipos de fotobiorreactores ensayados: FBSC y FBC y durante las 3 fechas de cultivo (bloques)	44
Figura 8. Diagramas de pastel en donde se muestra el valor porcentual total de los ácidos grasos saturados (ΣSFA), monoinsaturados (ΣMUFA) y poliinsaturados (ΣPUFA) en <i>Rhodomonas salina</i> cultivada en dos tipos de fotobiorreactores: FBSC y FBC y durante la fase estacionario de su cultivo	49
Figura 9. Valores promedio y desviación estándar de la concentración ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) de los diferentes ácidos grasos “PUFA”: LA (Linoleico), ALA (α -linolénico), EPA (eicosapentaenoico) y DHA (docosahexaenoico), encontrados en <i>Rhodomonas salina</i> cultivada en dos tipos de fotobiorreactores: FBSC y FBC y durante la fase estacionario de su cultivo	50

1. Introducción y antecedentes

Las microalgas desempeñan un papel esencial en la acuicultura al constituir la base trófica de numerosos organismos, entre ellos moluscos, crustáceos y peces. Su alta tasa de crecimiento, la capacidad de acumular biomoléculas de interés y su versatilidad metabólica las convierten en una fuente estratégica de nutrientes y compuestos funcionales para etapas tempranas de cultivo acuícola y para aplicaciones biotecnológicas (Esakkimuthu *et al.*, 2024; Guldhe *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2019).

Entre los géneros de mayor relevancia en acuicultura se encuentran, *Isochrysis*, *Chaetoceros*, *Nannochloropsis* y *Rhodomonas*, siendo esta última seleccionada en el presente estudio por su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados, particularmente ácido eicosapentaenoico (EPA, 7–13 %) y ácido docosahexaenoico (DHA, 4–7 %), ambos esenciales en la nutrición acuícola de organismos marinos en fases larvarias (Becker, 2013; Martino *et al.*, 2023; Remize *et al.*, 2021).

Rhodomonas salina fue elegida para este estudio como organismo modelo en este estudio, a diferencia de otras microalgas ampliamente utilizadas en acuicultura, como *Isochrysis galbana* (rica en DHA) o *Nannochloropsis* (alto contenido de EPA); *R. salina* presenta un balance de ácidos grasos específicos y un contenido proteico significativo (Aritaki *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2023; Martino *et al.*, 2023; Teja *et al.*, 2023). Además, es una especie cosmopolita de ecosistemas marinos templados, capaz de crecer en rangos de temperaturas entre 15-25 °C y salinidades entre 20-35 UPS, similares a las condiciones naturales de la Bahía de Todos Santos, Baja

California (Guevara *et al.*, 2016; Ladygina *et al.*, 2022; Oostlander *et al.*, 2020; Yamamoto *et al.*, 2018). Estas características permiten no solo su cultivo eficiente, sino también han facilitado su adaptación a sistemas de cultivo en laboratorios de producción acuícola de la región.

No obstante, *Rhodomonas salina* ha presentado limitaciones importantes en sistemas abiertos, debido a su sensibilidad a variaciones extremas de temperatura y pH, además del riesgo constante de contaminación microbiana, lo que compromete tanto el rendimiento como la calidad del cultivo (Guevara *et al.*, 2016; Hernández-Pérez y Labbé, 2014).

En este contexto, los fotobiorreactores se han consolidado como una alternativa eficiente frente a los cultivos abiertos, ya que permiten un control riguroso de variables críticas como temperatura, pH, iluminación y concentración de CO₂, disminuyendo el riesgo de contaminación y aumentando la productividad (Sathinathan *et al.*, 2023; Shitanaka *et al.*, 2024). Estos sistemas, además de mejorar la estabilidad del cultivo, permiten una producción más homogénea y predecible, favoreciendo la obtención de biomasa y compuestos de interés biotecnológico, como proteínas, lípidos y ácidos grasos.

El presente proyecto propone el diseño y evaluación de un fotobiorreactor de costo accesible, habilitado con un sistema automatizado de control basado en sensores interconectados a una plataforma Arduino™. Este sistema permitirá el monitoreo de temperatura e intensidad lumínica, además del ajuste y visualización en tiempo real de pH, garantizando condiciones estables para el cultivo de *Rhodomonas salina*. A su vez, se busca generar

una alternativa replicable y escalable para laboratorios y unidades de producción acuícola, orientada a fortalecer la disponibilidad de alimento nutritivo y sostenible para la industria.

1.1 Microalgas

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos, en su mayoría eucariotas, que desempeñan un papel clave en el equilibrio biogeoquímico global al fijar CO₂ y liberar O₂, además de sintetizar biomoléculas de alto valor como proteínas, lípidos, carbohidratos y pigmentos (Ferreira *et al.*, 2013; Umdu y Univ, 2020). Gracias a su plasticidad fisiológica, es posible ajustar la composición bioquímica en respuesta a variables de cultivo tales como intensidad e irradiancia lumínica, temperatura, pH y disponibilidad de nutrientes, una característica que ha sido sumamente aprovechada para modular su valor nutricional y/o comercial (Barsanti y Gualtieri, 2014).

Desde el punto de vista taxonómico, las microalgas abarcan grupos diversos (p. ej., *Chlorophyceae*, *Bacillariophyceae*, *Rhodophyceae*, *Dinophyceae*, *Chrysophyceae*, *Haptophyta* y *Eustigmatophyceae*) y se distribuyen tanto en sistemas marinos como de agua dulce. Se estima que existen entre 200,000 a 800,000 especies, aunque solo una fracción ha sido descrita formalmente (Siddik *et al.*, 2024). Ecológicamente, pueden adoptar estilos de vida planctónicos (suspendidas en la columna de agua) o bentónicos (adheridas a sustratos como sedimentos y macrófitas) (Hernández-Pérez y Labbé, 2014; Tibbetts *et al.*, 2015).

En biotecnología y acuicultura, su interés se debe en gran medida a la tasa intrínseca de crecimiento y a la capacidad de acumular compuestos funcionales, como ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). Estas propiedades, sumadas a la posibilidad de cultivarlas en sistemas controlados, sustentan su uso como insumos estratégicos en cadenas productivas y en el desarrollo de productos de valor agregado (Esakkimuthu *et al.*, 2024; Guldhe *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2019).

1.1.1 Relevancia nutricional en la acuicultura

En acuicultura, las microalgas constituyen el alimento primario para larvas de moluscos, crustáceos y peces, aportando macronutrientes (proteínas y lípidos) y ácidos grasos esenciales que sostienen el crecimiento, la supervivencia y la funcionalidad de membranas durante fases ontogénicas críticas (Mehariya *et al.*, 2021). A nivel proximal, diversos géneros presentan contenidos típicos expresados en base a peso seco (p.s.), con valores aproximados de proteínas ($\approx 40\text{--}60\%$), lípidos ($\approx 20\text{--}30\%$) y carbohidratos ($\approx 5\%$), los cuales presentan variaciones según la especie y las condiciones de cultivo (Becker, 2013; Ren *et al.*, 2022; Tonon *et al.*, 2002).

La relevancia biológica y tecnológica recae, de forma particular, en los PUFAs n-3 (EPA (20:5n-3) y DHA (22:6n-3)) debido a su papel en la neurogénesis, fototransducción y respuesta inmune de organismos acuáticos. Géneros como *Isochrysis*, *Rhodomonas*, *Chaetoceros* y *Nannochloropsis* destacan por su eficiencia biosintética y su desempeño como alimento vivo, lo que se traduce en mejoras de supervivencia y tasas

de crecimiento en laboratorios de producción cuando se formulan dietas monoespecíficas o multiespecíficas con densidades celulares y fotoperiodos apropiados (Li *et al.*, 2023; Martino *et al.*, 2023; Teja *et al.*, 2023; Tibbetts *et al.*, 2015).

1.1.2 Aplicación de microalgas como alimento en acuicultura

Las microalgas han sido empleadas históricamente como fuente principal de alimento en laboratorios de producción, particularmente para moluscos filtradores y crustáceos peneidos, que las consumen de manera directa como base de su nutrición. En el caso de los peces marinos, aunque sus larvas no ingieren microalgas directamente, estas desempeñan un papel fundamental al ser utilizadas para enriquecer presas vivas como rotíferos y *Artemia*, mejorando así su valor nutricional y favoreciendo la supervivencia y el crecimiento larval (Muller-Feuga *et al.*, 2003).

En el caso de los moluscos bivalvos (ostiones, almejas y mejillones), especies como *Isochrysis galbana*, *Skeletonema costatum*, *Pavlova lutheri* y *Chaetoceros calcitrans* son ampliamente utilizadas, ya que proporcionan nutrientes esenciales durante las primeras etapas larvianas hasta la metamorfosis (Mahalakshmi *et al.*, 2022). En el caso del abulón, aunque sus larvas planctónicas no dependen de microalgas, tras el asentamiento estas comienzan a alimentarse de diatomeas bentónicas como *Navicula sp.* y *Nitzschia sp.* (Mahalakshmi *et al.*, 2022). En este grupo, Villa-Franco *et al.* (2022) reportaron tasas de consumo entre 1.1 y 1.6×10^5 células·mL⁻¹ de *Cocconeis sp.* y *Navicula ramosissima*. Además, en *Crassostrea gigas* se ha

observado que la filtración y captación de alimento aumentan con dietas mixtas de *Isochrysis sp.*, y *Chaetoceros sp.* (50:50), en comparación con dietas monoespecíficas (Ramos *et al.*, 2022; Rodríguez-Pesantes *et al.*, 2020).

En crustáceos, particularmente en camarones peneidos, las microalgas forman parte indispensable de la dieta larval. Entre las más utilizadas destacan *Nannochloropsis oculata*, *Chlorella sp.*, *Chlamydomonas sp.* y *Tetraselmis chuii* (Brown y Robert, 2002). Estas especies son eficientes filtradoras, capaces de procesar densidades de 20,000 a 75,000 células·mL⁻¹ en fases tempranas de desarrollo larvario (Mahalakshmi *et al.*, 2022). En condiciones de cultivo controladas, se emplean comúnmente densidades de 30,000 células·mL⁻¹ de *Tetraselmis suecica* y 100,000 células·mL⁻¹ de *Chaetoceros muelleri* o *Isochrysis aff. galbana* (Muller-Feuga *et al.*, 2003).

En peces, especies como *Nannochloropsis*, *Isochrysis* y *Tetraselmis* se han utilizado bajo técnicas llamadas “green water”. En larvas de *Sander lucioperca*, por ejemplo, se alcanzó una supervivencia del 94 % y un crecimiento específico de hasta 4.1 % en longitud diaria, al emplear densidades de $\approx 6 \times 10^5$ células·mL⁻¹ en suspensión (Bischoff *et al.*, 2022). Una síntesis de las especies comúnmente empleadas y sus tasas de alimentación reportadas en diferentes organismos acuáticos se presenta en la tabla I.

En este marco, *Rhodomonas salina* sobresale por su perfil nutricional balanceado de proteínas, EPA y DHA, lo que justifica su selección como

especie modelo en este estudio.

1.1.3 *Rhodomonas salina* como especie de interés acuícola

Rhodomonas salina es una microalga criptofita, perteneciente al género *Rhodomonas* y ampliamente utilizada en laboratorios de producción por su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3, en particular EPA (7–13 % p.s) y DHA (4–7 % p.s.), esenciales para la formación de membranas y el desarrollo larval en moluscos y crustáceos (Aritaki *et al.*, 2019; Derbel *et al.*, 2023; Dunstan *et al.*, 2005). En términos proximales, esta especie puede alcanzar entre 20–50 % de proteína y 13–28 % de lípidos, esto dependiendo de las condiciones de cultivo (Martino *et al.*, 2023; Ponnumsamay *et al.*, 2024).

Su composición bioquímica es altamente sensible a factores ambientales: el fotoperiodo, irradiancia y temperatura modulan significativamente la acumulación de biomoléculas. Por ejemplo, bajo condiciones de 20 °C y 100–200 $\mu\text{mol fotones}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, se han registrado contenidos de proteína en el rango 20–50 %, mientras que con fotoperiodos de 12L:12D se reporta un incremento en EPA y DHA (Derbel *et al.*, 2023; Yamamoto *et al.*, 2018).

Tabla I. Relación de especies de microalgas comúnmente utilizadas para la alimentación en la acuicultura, así como su forma y tasas de alimentación reportadas para diversos grupos de organismos.

Grupo de organismos	Microalgas utilizadas	Tasa de alimentación	Referencia
Moluscos bivalvos	<i>Isochrysis sp.</i> , <i>Pavlova lutheri</i> , <i>Chaetoceros calcitrans</i> , <i>C. muelleri</i> o <i>C. gracilis</i> , <i>Thalassiosira pseudonana</i> , <i>Skeletonema sp.</i> , <i>Tetraselmis suecica</i> , <i>Rhodomonas sp.</i> , <i>Navicula sp.</i> , <i>Pyramimonas sp.</i>	Monoespecífica: 100,000 cél·mL ⁻¹ ; Mixtas 1:1: 50,000 cél·mL ⁻¹ de cada especie	Brown, 2002; Muller-Feuga <i>et al.</i> , 2003; Pesantes <i>et al.</i> , 2020; Ramos <i>et al.</i> , 2022.
Abulones juveniles	<i>Navicula sp.</i> , <i>Nitzschia sp.</i> , <i>Cocconeis sp.</i> , <i>Amphora sp.</i>	1.1-1.6 × 10 ⁵ cél·mL ⁻¹	Brown, 2002; Villa-Franco <i>et al.</i> , 2022.
Crustáceos (larvas)	<i>Isochrysis sp.</i> , <i>Pavlova lutheri</i> , <i>Chaetoceros calcitrans</i> , <i>C. muelleri</i> o <i>C. gracilis</i> , <i>Thalassiosira pseudonana</i> , <i>Skeletonema sp.</i> , <i>Tetraselmis suecica</i> , <i>Navicula sp.</i> , <i>Nitzschia sp.</i> , <i>Nannochloropsis sp.</i>	20,000-75,000 cél·mL ⁻¹ de <i>Tetraselmis</i> ; 30,000 células ml ⁻¹ de <i>T. suecica</i> ; 100,000 cél·mL ⁻¹ de <i>C. muelleri</i> o <i>I. aff. galbana</i> (T-iso).	Brown, 2002; Mahalakshmi <i>et al.</i> , 2022; Muller-Feuga <i>et al.</i> , 2003;
Peces (larvas)	<i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Isochrysis galbana</i> ; <i>Tetraselmis</i> .	≈5 × 10 ⁶ células ml ⁻¹	Bischoff <i>et al.</i> , 2022; Brown, 2002.

1.1.4 Otros géneros relevantes

En acuicultura, géneros como *Isochrysis*, *Nannochloropsis*, *Tetraselmis* y *Chaetoceros* se han consolidado como recursos nutricionales por su capacidad de aportar proteínas y ácidos grasos esenciales. *Isochrysis* es reconocida por su elevado contenido de DHA ($\approx 5\text{--}8\%$), mientras que *Nannochloropsis* se caracteriza por un alto porcentaje de EPA (hasta 26%). Por su parte, *Tetraselmis* ofrece un perfil proximal equilibrado y alta digestibilidad, y *Chaetoceros* destaca por su aporte de EPA ($13\text{--}30\%$) junto con pigmentos y carbohidratos que favorecen el desarrollo larval en moluscos y peces (Bhattacharjya *et al.*, 2020; Martino *et al.*, 2023; Tibbetts *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2020).

A diferencia de estos géneros, que tienden a destacarse por un solo ácido graso poliinsaturado predominante, *Rhodomonas salina* combina simultáneamente altos niveles de proteína con un perfil balanceado de EPA y DHA. Esta dualidad nutricional, sumada a su reconocida sensibilidad ambiental, justifica su selección como especie modelo en el presente trabajo. La Tabla II resume la composición nutricional reportada para estos géneros de importancia acuícola, destacando sus diferencias en proteína, lípidos y perfil de ácidos grasos bajo condiciones de cultivo.

1.2 Parámetros de cuantificación y métodos clásicos de análisis

bioquímico

La producción de microalgas se evalúa comúnmente a partir de dos dimensiones: la cantidad de biomasa generada y su calidad bioquímica.

Estas métricas no solo permiten establecer la eficiencia de un sistema de cultivo, sino también su potencial aplicación en nutrición acuícola y en biotecnología (Heydari *et al.*, 2024; Zhou *et al.*, 2022).

Los parámetros más empleados para estimar biomasa incluyen el conteo celular ($\text{células}\cdot\text{mL}^{-1}$), el peso seco ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) y la productividad, que puede expresarse como productividad volumétrica ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) o productividad por área ($\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$). Estos indicadores son fundamentales para comparar la eficiencia entre especies, condiciones experimentales y escalas de cultivo (Escobedo *et al.*, 2021).

En cuanto a la composición bioquímica, las proteínas, los carbohidratos, los lípidos y los ácidos grasos son los principales componentes de interés. El método micro Kjeldahl (Kjeldahl, 1883) ha sido tradicionalmente empleado para determinar nitrógeno total como estimador del contenido proteico, aunque a lo largo del tiempo se han introducido variantes más

Tabla II. Composición nutricional proximal y perfil de ácidos grasos de microalgas de interés acuícola (*Rhodomonas*, *Isochrysis*, *Nannochloropsis*, *Tetraselmis* y *Chaetoceros*) reportados en la literatura.

Género de microalga	Proteína (% p.s.)	Lípidos (% p.s.)	Carbohidratos (p.s. %)	Ácidos grasos principales	Condiciones de cultivo	Aplicaciones	Referencia
<i>Rhodomonas</i>	20-50	13-28	9-20	4-8 % DHA, 7-13 % EPA	20 - 24 °C; 100 a 200 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	Acuicultura, pigmentos, metabolismo y fotosíntesis	Aritaki, 2019; Derbel et al., 2023; Dunstan et al., 2005; Martino et al., 2023; Ponnumsam, et al., 2024.
<i>Isochrysis</i>	22-23	18	29	5-8 % DHA, 2 % EPA	24 \pm 1°C; 80 a 100 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	Acuicultura, nutrición (n-3), biocombustibles, antioxidantes	Li et al., 2023; Martino et al., 2023; Teja et al., 2023; Yang et al., 2020.
<i>Nannochloropsis</i>	20-30	30-36	23-29	1-12 % DHA, 26.21 % EPA	24 \pm 1°C; 80 a 100 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	Biocombustible cosmética	Li et al., 2023; Teja et al., 2023; Tibbetts et al., 2015; Yang et al., 2020.
<i>Tetraselmis</i>	12-46	12-25	25-31	0.1 % DHA, 0.6-2.2 % EPA	24 \pm 1°C; 80 a 100 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	Acuicultura, nutrición, biorremediación	Martino et al., 2023; Tibbetts et al., 2015; Teja et al., 2023.
<i>Chaetoceros</i>	12-30	3-11	2-23	13-30 EPA	15-25°C; 100-200 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 7.5-8.5 pH	Acuicultura, biorremediación, biofertilizantes, biotecnología	Bhattacharjya et al., 2020; Hernández-Acevedo et al., 2024.

Nota: p.s. = peso seco; EPA = ácido eicosapentaenoico; DHA = ácido docosaheptaenoico.

sensibles, como los métodos colorimétricos de Lowry (Becker, 2007; Safi *et al.*, 2014), Bradford (Bradford, 1976) y Biuret (Markou *et al.*, 2012).

La determinación de carbohidratos suele realizarse con técnicas colorimétricas, entre las que sobresale el método descrito por Dubois *et al.* (1956) y la modificación posterior de Whyte (1987), aplicada en especies como *Cymbella sp.* (Valera, 2016).

En el caso de los lípidos, los procedimientos más citados en la literatura siguen siendo los de Folch (1957), Soxhlet (1879) y Bligh y Dyer (1959), que difieren en la composición de solventes y en los rendimientos obtenidos (Griffiths *et al.*, 2010; Munir, 2023; Zhou *et al.*, 2022). La tabla III resume estos y otros métodos clásicos de cuantificación, junto con sus principios reactivos y aplicaciones en microalgas de importancia comercial.

Finalmente, el perfil de ácidos grasos se obtiene mediante transmetilación ácida y análisis cromatográfico. La cromatografía de gases con detector de ionización de flama (GC-FID), en combinación con patrones como el 37 Component FAME Mix, sigue siendo la herramienta más empleada para identificar y cuantificar compuestos de interés como el EPA y el DHA (Parrish *et al.*, 2015).

Tabla III. Métodos tradicionales utilizados para el análisis bioquímico de microalgas (Proteínas, Carbohidratos y lípidos), así como los reactivos utilizados, el rendimiento y sus referencias bibliográficas.

Componente Bioquímico	Método de extracción	Solvente o reactivo	Rendimientos	Especie/ aplicación	Referencia
Proteínas	Kjeldahl	Ácido sulfúrico H ₂ SO ₄ , sulfato de potasio K ₂ SO ₄ , sulfato de cobre CuSO ₄ , hidróxido de sodio NaOH	30-60 %	<i>Chlorella vulgaris</i> y <i>Spirulina platensis</i>	Ramírez-Rodrigues <i>et al.</i> , 2021; Safi <i>et al.</i> , 2013.
	Lowry	Folin-Ciocalteu, NaOH	40-60 %	<i>Chlorella vulgaris</i> y <i>Spirulina</i>	Becker, 2007; Safi <i>et al.</i> , 2014.
	Bradford	Coomassie Brilliant Blue, ácido fosfórico y alcohol (etanol o metanol)	30-50 %	<i>Scenedesmus obliquus</i>	Lee <i>et al.</i> , 2020; Lowry <i>et al.</i> , 1951.
	Biuret	Sulfato de cobre (CuSO ₄), tartrato de sodio y potasio (KNaC ₄ H ₄ O ₆) y NaOH	50-55 %	<i>Spirulina</i>	Markou <i>et al.</i> , 2012.
Carbohidratos	Whyte	Método colorimétrico con ácido sulfúrico	47.5 %	<i>Cymbella sp</i>	Dubois <i>et al.</i> , 1956; Valera, 2016; Whyte, 1987.
Lípidos	Folch	Cloroformo:metanol (2:1 v/v)	15-30 %	<i>Nannochloropsis</i> ; <i>Chlorella</i>	Folch <i>et al.</i> , 1957; Griffiths <i>et al.</i> , 2010; Munir <i>et al.</i> , 2023.
	Soxhlet	Extracción con etanol, cloroformo y hexano	≈10-12 %	Varias especies	Aravind <i>et al.</i> , 2021; Dejoye <i>et al.</i> , 2013; Ramluckan <i>et al.</i> , 2014.
	Bligh-Dyer	Cloroformo:metanol:agua (1:2:0.8 v/v/v)	23.78 %	<i>Nannochloropsis</i>	Bligh & Dyer, 1959; Sündermann <i>et al.</i> , 2016.

Nota. Los rendimientos reportados dependen de la especie, el estado fisiológico del cultivo y las condiciones experimentales de extracción.

Los parámetros de cuantificación y los métodos bioquímicos permiten establecer la productividad y la composición de las microalgas. No obstante, su interpretación depende de las condiciones en que se desarrollan los cultivos. Por ello, es necesario considerar el sistema de producción empleado, ya que su diseño y operación influyen directamente en la estabilidad y el rendimiento de la biomasa obtenida.

1.3 Fotobiorreactores

En este contexto, los fotobiorreactores se han consolidado como una de las tecnologías más eficientes para la producción de microalgas en condiciones controladas. A diferencia de los cultivos abiertos, en los que las fluctuaciones ambientales y la exposición a contaminantes limitan la estabilidad del sistema, los fotobiorreactores reducen de manera significativa la interacción con el medio externo, lo que favorece la obtención de biomasa homogénea y predecible (Benner *et al.*, 2022; Borowitzka, 1999; Hernández-Pérez y Labbé, 2014). Estos dispositivos integran sistemas de aireación, agitación, control de pH y temperatura, así como la adición regulada de medio y CO₂, elementos que permiten un control fino sobre las condiciones de crecimiento (Alvarado y Díaz de los Santos, 2017; Talaei y Prieto, 2024).

De acuerdo con su diseño estructural, los fotobiorreactores se han desarrollado en diversas configuraciones, entre las que destacan los modelos tubulares, de columna y de panel plano (Sathinathan *et al.*, 2023; Uyar *et al.*, 2024). También se han implementado variantes como los

reactores cónicos, de tanque agitado y de transporte aéreo (Huang *et al.*, 2017; Uyar *et al.*, 2024). Cada tipología presenta ventajas y limitaciones en aspectos como transferencia de masa, coeficientes de mezcla, consumo energético y productividad volumétrica (Uyar *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2012).

1.3.1 Criterios en el diseño de un fotobiorreactor

El diseño de un fotobiorreactor debe responder a los requerimientos fisiológicos de la especie cultivada, ya que las microalgas difieren ampliamente en características morfofisiológicas, necesidades nutricionales y tolerancia al estrés ambiental (Tredici, 2003; Zittelli *et al.*, 2013). Un fotobiorreactor con fines comerciales debe garantizar alta productividad y, al mismo tiempo, estabilidad, fiabilidad y costos operativos competitivos (Escobedo *et al.*, 2021).

Entre los criterios más relevantes en el diseño estructural se incluyen: la geometría del reactor, el material de construcción, la relación superficie iluminada/volumen, la orientación e inclinación del sistema, la eficiencia de mezcla y desgasificación, y la incorporación de mecanismos de limpieza y regulación térmica (AST Ingeniería S. L., 2013; Talaei y Prieto, 2024). La selección de materiales de construcción también es determinante: el vidrio destaca por su alta transparencia y resistencia química, además de facilitar la limpieza (Kerner *et al.*, 2019; Negev *et al.*, 2019). Los plásticos como el acrílico o el policarbonato se valoran por su bajo costo y resistencia a impactos, siendo adecuados para aplicaciones exteriores (Talaei y Prieto,

2024). El acero inoxidable se emplea en estructuras de soporte por su durabilidad y resistencia a la corrosión (Kim, 2014), mientras que la fibra de vidrio sobresale por su baja densidad, resistencia mecánica y facilidad de moldeo, lo que permite diseños personalizados con integración de canales internos (Durmaz y Erbil, 2020; Mansa *et al.*, 2012).

1.3.2 Operación de fotobiorreactores

Además del diseño estructural, la forma de operación constituye un factor determinante en la productividad de los fotobiorreactores. En este contexto, se distinguen tres modalidades principales: batch, continuo y semicontinuo (Abalde-Alonso *et al.*, 1995; Chang y Gupta, 2023). El modo batch consiste en la adición única de nutrientes al inicio del proceso, aunque su eficiencia se ve limitada por el agotamiento del medio (Minihane y Brown, 1986). El modo continuo, en cambio, mantiene un suministro constante de nutrientes y un volumen estable dentro del reactor, lo que favorece la estabilidad y la productividad, pero exige un control riguroso para prevenir alteraciones metabólicas (Abalde-Alonso *et al.*, 1995; Minihane y Brown, 1986). Finalmente, el modo semicontinuo combina características de ambos, al permitir la adición controlada de nutrientes durante la operación sin retirar el medio hasta el final del ciclo, lo que ofrece flexibilidad para regular parámetros críticos como oxígeno disuelto, pH y coeficiente respiratorio (Figuroa-Torres *et al.*, 2022; Gómez-Cardozo *et al.*, 2020).

En síntesis, los fotobiorreactores representan una herramienta

estratégica para la producción eficiente y escalable de microalgas con aplicaciones directas en nutrición acuícola. Su optimización, tanto en diseño estructural como en operación, es esencial para obtener biomasa de alta calidad y avanzar hacia procesos productivos más sostenibles y competitivos.

2 Hipótesis

La automatización y operación optimizada de un fotobiorreactor continuo para el cultivo de *Rhodomonas salina* incrementará la eficiencia productiva y la calidad bioquímica de la biomasa producida (proteínas, lípidos y ácidos grasos esenciales), favoreciendo una producción microalgal más sostenible y competitiva para la acuicultura.

3 Justificación científica

La acuicultura constituye el sector de producción primaria de mayor crecimiento en México, especialmente en estados costeros como Baja California, donde los moluscos bivalvos, crustáceos y peces dependen del aporte de microalgas en sus primeras etapas de vida. En este contexto, el desarrollo de sistemas de cultivo eficientes y de bajo costo resulta esencial para garantizar la disponibilidad de alimento de alta calidad nutricional.

Por ello, el presente proyecto de investigación tiene como objetivo desarrollar un prototipo de fotobiorreactor tipo continuo construido con materiales asequibles e integrado a un sistema de control automatizado basado en Arduino. Este diseño busca combinar eficiencia productiva y viabilidad económica, atendiendo así dos de las principales limitantes en la producción microalgal: la vulnerabilidad de los cultivos abiertos frente a variaciones ambientales y los altos costos asociados a sistemas comerciales cerrados.

Para evaluar la eficiencia del sistema, se empleará *Rhodomonas salina*, una microalga reconocida por su contenido en proteínas y ácidos grasos

poliinsaturados (EPA y DHA), compuestos esenciales para el desarrollo larval de organismos acuáticos. Su utilización permitirá validar el desempeño del fotobiorreactor en términos de productividad y, al mismo tiempo, garantizar la calidad nutricional del cultivo resultante. De esta manera, el proyecto busca ofrecer una alternativa técnica y económicamente viable para fortalecer la industria acuícola, contribuyendo al suministro sostenible de alimento de alto valor nutricional.

4 Objetivos

4.1 Objetivo general

1. Implementar y automatizar un fotobiorreactor de flujo continuo para el cultivo de *Rhodomonas salina*, con el fin de optimizar la producción de biomasa y evaluar su calidad nutricional como insumo de interés acuícola.

4.2 Objetivos específicos

1. Implementar un fotobiorreactor de flujo continuo empleando materiales y tecnologías accesibles, con un enfoque orientado a la sostenibilidad y la escalabilidad.
2. Integrar un sistema de control automatizado, basado en sensores y plataforma Arduino™, para la regulación de parámetros críticos (pH, nutrientes e irradiancia), asegurando la estabilidad del cultivo y maximizando la productividad.
3. Evaluar el desempeño del fotobiorreactor en la producción de *R. salina*, mediante la cuantificación del crecimiento celular, la determinación del peso seco y el análisis de su composición nutricional (proteínas, lípidos totales y perfil de ácidos grasos).

5 Metodología

5.1 Descripción general del experimento

El presente trabajo comparó la productividad y composición bioquímica de la microalga *Rhodomonas salina*, la cual fue cultivada en dos sistemas de fotobiorreactores, uno semicontinuo (FBSC) donde el ajuste de pH se realizó manualmente cada 24 horas; Y un sistema continuo (FBC), en el cual se implementó un control automatizado de pH mediante la inyección de CO₂. Durante las tres corridas experimentales se obtuvieron datos que permitieron contrastar la estabilidad, eficiencia y calidad nutricional para ambos sistemas.

Estos parámetros jugaron un papel importante como indicadores clave de la eficiencia productiva en los cultivos microalgales, ya que nos permitieron establecer la estabilidad del sistema y su potencial aplicación en la acuicultura.

5.2 Diseño experimental

El diseño experimental se basó en un método de bloques aleatorizados con tres bloques temporales (Figura 1). Cada bloque correspondió a una réplica experimental independiente, desarrollada en diferentes momentos, bajo las mismas condiciones de cultivo. Dentro de cada bloque se incluyó la operación simultánea de dos tratamientos: (i) un fotobiorreactor experimental, equipado con control automatizado de pH mediante inyección de CO₂, y (ii) un fotobiorreactor control, mantenido bajo condiciones equivalentes sin automatización.

Para garantizar la validez de la comparación entre los tratamientos, se

empleó un diseño en de bloques temporales como estrategia para controlar y minimizar el impacto de variaciones externas no deseadas asociadas al paso del tiempo. Esta estrategia es particularmente útil cuando los experimentos se desarrollan en días distintos y se desea aislar el efecto de la variable independiente principal del estudio, reduciendo la variabilidad experimental y fortaleciendo la robustez del análisis estadístico (Mongomery, 2017).

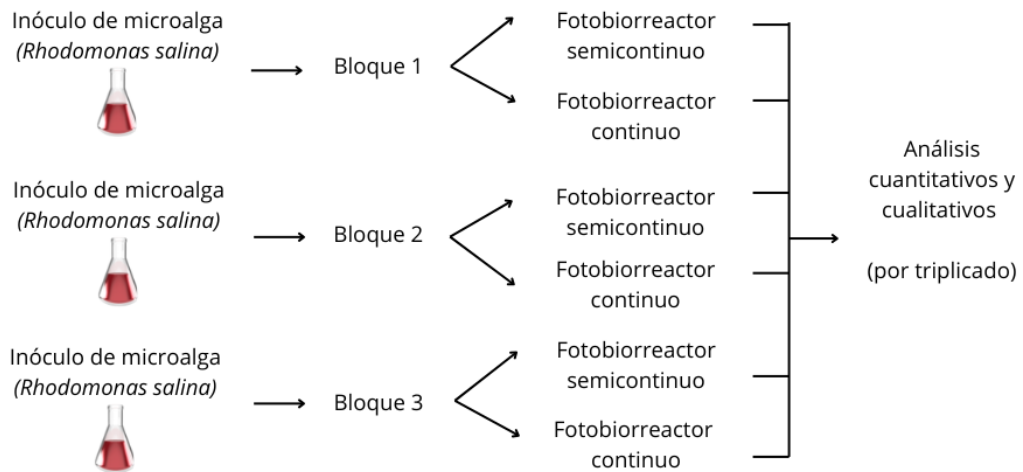


Figura 1. Esquema que muestra el diseño experimental que se realizó para evaluar la eficiencia de producción de los fotobiorreactores: semicontinuo (FBSC) y de flujo continuo (FBC)

5.3 Configuración y operación de los fotobiorreactores

Los fotobiorreactores utilizados se construyeron a partir de contenedores cilíndricos de plástico traslúcido con una capacidad máxima de 20 litros (Figura 2). Cada unidad fue modificada estructuralmente para integrar líneas de entrada y salida destinadas al suministro de aire, CO₂, medio de cultivo, agua y al manejo de cultivo, lo que permitió tanto el suministro controlado de agua y nutrientes como la evacuación parcial o total del cultivo. El volumen operativo del sistema de cultivo se estableció en 16 litros y con ello se garantizó un espacio residual de aire destinado a favorecer los procesos de mezcla y homogenización interna, además de prevenir derrames durante la aireación.

La iluminación se proporcionó mediante un sistema de iluminación externa (24 h luz) conformado por diodos emisores de luz (LED) en espectro de luz de día, capaces de suministrar intensidades de 150 $\mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, con el propósito de mantener una exposición homogénea en todo el cultivo. Cada fotobiorreactor contó con un sistema de aireación independiente que aseguró la dispersión de gases y la homogenización de nutrientes, garantizando condiciones uniformes para el cultivo microalgal.

El trabajo contempló dos esquemas operativos. En el sistema semicontinuo (FBSC) en donde se empleó un único fotobiorreactor en el que se realizaron cosechas parciales periódicas del cultivo, sustituyendo de inmediato el volumen extraído con medio fresco; este procedimiento permitió conservar condiciones relativamente estables de crecimiento (Figura 2a). En contraste, el sistema continuo (FBC) se conformó por tres

tanques interconectados en serie: el primero funcionó como reservorio de agua y nutrientes, el cual por medio de una bomba peristáltica garantizaba el suministro constante de medio ($2.78 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) al contenedor de cultivo; el segundo contenedor correspondió al fotobiorreactor central, donde se mantuvo el cultivo microalgal bajo condiciones controladas. Las cuales se mantuvieron mediante sensores de pH, temperatura y luz, controlados por un sistema de control Arduino™. El tercer contenedor se destinó a la recolección continua de la biomasa producida, funcionando como unidad de cosecha (Figura 2b).

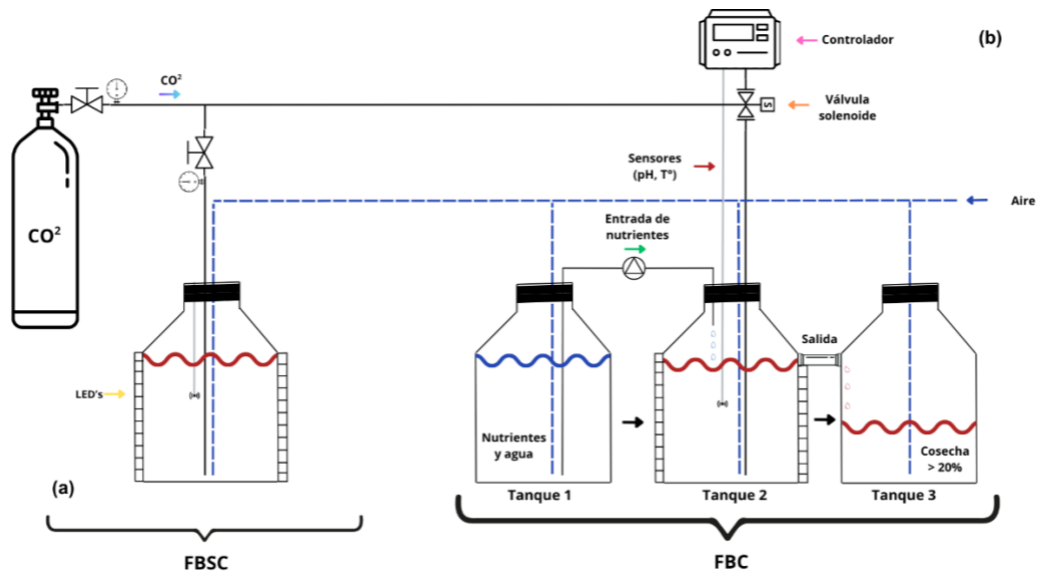


Figura 2. Esquema general de los sistemas fotobiorreactores a escala laboratorio. (a) Fotobiorreactor FBSC que contaba con aireación e iluminación continua y la adición de CO_2 , nutrientes y cosecha parcial de microalgas se realizaba una vez al día y de forma manual. (b) Sistema FBC automatizado que consistía en tres contenedores, que contaban con inyección de CO_2 , nutrientes, agua y aire; iluminación continua; controlador de pH central; válvulas solenoides; sensor de temperatura y bomba peristáltica.

Un aspecto adicional para tener en cuenta en la implementación del fotobiorreactor fue la integración de sensores especializados, utilizados para el seguimiento en tiempo real de variables críticas del entorno como pH, intensidad lumínica y temperatura. Estos dispositivos fueron conformados y programados por los Bioingenieros Alan Díaz y Odalys Barragán, quienes colaboraron previamente en el laboratorio en el desarrollo de sistemas de control para cultivo de microalgas. Dichos

dispositivos fueron adaptados para el fotobiorreactor del presente trabajo y, posteriormente se integraron al sistema, permitiendo un control más preciso y riguroso de las condiciones internas del cultivo, sin comprometer la esterilización del medio.

Finalmente, se procedió a adaptar al sistema una serie de líneas de entrada y salida con el objetivo de facilitar y optimizar los flujos de inyección de agua, aire, nutrientes y CO₂, así como para permitir la recolección eficiente de la biomasa de microalgas y la eliminación segura de subproductos residuales.

5.4 Automatización del sistema para el fotobiorreactor de flujo continuo

Se desarrolló un programa utilizando la plataforma Arduino™ para poder controlar los flujos de entrada y salida de los flujos de agua y gases al sistema de fotobiorreactor semicontinuo. Los sistemas Arduino utilizan una plataforma de desarrollo “*open-source*”, caracterizado por su arquitectura modular e interfaz programable basada en C++, compatibilidad con sistemas embebidos y bibliotecas preconfiguradas (Ismailov y Jo'rayev, 2022; Suparyanto dan Rosad, 2020; Vital Carrillo, 2021). Su diseño accesible facilita la implementación rápida de prototipos en electrónica, y se encuentra respaldado por una amplia comunidad global de soporte técnico y desarrollo colaborativo (Vital Carrillo, 2021).

La selección de esta plataforma de programación se basó en su alta adaptabilidad a entornos multifuncionales, interfaz de desarrollo intuitiva y

rentabilidad en implementación. El código completo utilizado para la automatización del sistema se presenta en el Anexo 1.

5.5 Producción y mantenimiento de *Rhodomonas salina*

En este estudio, se seleccionó *Rhodomonas salina* como la cepa de microalga planctónica de interés, debido a su alto potencial para la producción de biomasa y su valioso perfil nutricional, especialmente en términos de contenido de proteínas, lípidos y ácidos grasos esenciales (Aritaki *et al.*, 2019; Derbel *et al.*, 2023; Yamamoto *et al.*, 2018).

La cepa específica de *Rhodomonas salina* se obtuvo de la colección de cepas del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC). La cepa se cultivó en medio f/2 de Guillard y Rhyter (1962) (ver Anexo 2), el cual es ampliamente utilizado en la investigación y producción de microalgas en la acuicultura. Este medio de cultivo proporciona los nutrientes necesarios para el crecimiento de las microalgas (Keller *et al.*, 1987; Monkonsit *et al.*, 2011).

Para la etapa de mantenimiento y pre-cultivo la microalga se mantuvo en un volumen de 150 mL en matraces Erlenmeyer de vidrio (borosilicato) de 250 mL de capacidad. Durante esta fase, las condiciones óptimas de cultivo fueron constantes, incluyendo una iluminación continua (24 h) proporcionada por lámparas fluorescentes de 8' y de 36 watts, que emitían un espectro de luz de día; los cultivos se mantuvieron a una temperatura constante de $18 \pm 1^\circ\text{C}$ en el laboratorio de Bioensayos 2 del IIO-UABC.

Todos los matraces destinados al cultivo de la microalga *Rhodomonas*

salina fueron sometido previamente a un lavado con jabón y a un pretratamiento con una solución de ácido muriático al 10% durante un periodo de 24 horas. Posteriormente, los matraces fueron enjuagados abundantemente con agua corriente y un lavado de agua destilada. Una vez pre-tratados los matraces, se preparó el volumen necesario de medio de cultivo ("f") para los matraces y se ajustó el pH (5.5) mediante la adición de ácido clorhídrico (1%) en una proporción de $250 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$, utilizando un potenciómetro marca Apera modelo PC60 para su medición y control. Los matraces con el medio de cultivo fueron esterilizados en una autoclave marca Market Forge Industries Inc., modelo Sterilmatic a $121 \text{ }^\circ\text{C}$ y 15 lb de presión durante un tiempo de 30 minutos. Una vez esterilizados los matraces se dejaron enfriar por un periodo de 24 h y se procedió a agregar las vitaminas y el inóculo de la cepa, utilizando como inóculo un volumen equivalente al 10% del volumen total del cultivo (p. ej., para 150 mL se agregaban de 10 a 15 mL de inóculo).

Una vez alcanzada la densidad óptima ($0.5\text{-}1\times 10^6 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$) y/o los 6 días de cultivo, el cultivo se escaló progresivamente a matraces Erlenmeyer de 500 mL, 1 L y garrafones de 20 L.

El proceso de escalamiento se realizó mediante la adición de medio fresco progresivo hasta alcanzar la capacidad máxima de los fotobiorreactores. Inicialmente, se utilizó un ferbach de 2 L como inóculo, del cual se destinó 1 L a cada sistema (FBSC y FBC). Cada fotobiorreactor se inoculó en un volumen inicial de 4 L (que representó el 25% de inóculo y 75 % de agua con nutrientes). Posteriormente, el volumen se escaló

diariamente con la adición de 2 L de medio fresco, hasta alcanzar el volumen operativo máximo de 16 L. Paralelamente, se mantuvieron condiciones controladas de operación: una irradiancia de $150 \pm 50 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$, un pH 7.5 ± 0.5 y una temperatura de $18 \pm 1^\circ\text{C}$. Se estimó que el cultivo completará su volumen total en el fotobiorreactor en un plazo de 7 días (Figura 3).

Como parte integral del protocolo de calidad, el agua utilizada en todas las etapas del cultivo y escalado fue previamente filtrada mediante un gradiente de filtros de cartucho de 10, 5 y 1 micras (μm), respectivamente. Además, de irradiar el agua de mar con un filtro UV marca Coraline Modelo Turbo twist de 36 watts a un flujo de agua de $10 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. Este proceso garantizó la eliminación de partículas suspendidas, microorganismos no deseados y materia orgánica particulada. Complementariamente, el agua se esterilizó químicamente con Hipoclorito de sodio (Cloro comercial 5 al 6%), utilizando una relación de 3 mL de cloro comercial por litro de agua a tratar, considerando un tiempo de tratamiento de 24 horas. Posteriormente, el cloro residual fue neutralizado con tiosulfato de sodio en una proporción de $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, seguido de una aireación vigorosa durante un periodo mínimo de 1 hora.

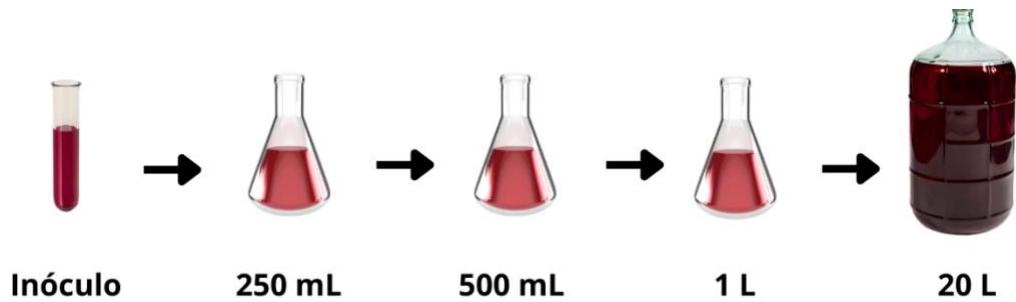


Figura 3. Imagen que muestra la secuencia de escalamiento, los volúmenes y tipo de recipientes utilizados en el cultivo de *R. salina* hasta llegar a escala de fotobiorreactor.

5.6 Análisis bioquímicos

El enfoque experimental empleado para la determinación de los contenidos de proteínas, lípidos totales y el perfil de ácidos grasos obtenidos de la biomasa de las microalgas en este estudio se llevó a cabo mediante el uso de protocolos estandarizados (Folch *et al.*, 1957; Kjeldahl, 1883; Parrish *et al.*, 2015). Inicialmente, las microalgas fueron cultivadas en el fotobiorreactor bajo condiciones controladas de iluminación, temperatura, pH y suministro de nutrientes, y una vez alcanzada la etapa estacionaria del cultivo, se tomaron muestras de un volumen conocido de cultivo, las cuales fueron concentradas mediante una descremadora centrífuga (sin marca ni número de serie visible), construida a partir de acero inoxidable y diseñada principalmente para uso en leche, la cual fue adaptada para separar la biomasa producida del medio de cultivo de *R. salina*. La biomasa que se recolectó se concentró en tubos Falcon™ de 50 mL de capacidad; los cuales fueron etiquetados y guardados en un crio congelador marca Termo Scientific

Revco a una temperatura de -80 °C y por un tiempo de 24 h, necesario para su posterior liofilización. El proceso de liofilización de las muestras se llevó a cabo en una liofilizadora marca Labconco modelo 7750020 por un periodo de 72 horas a -51 °C. Una vez liofilizadas, las muestras se almacenaron en tubos Falcon™ resguardados dentro de bolsas tipo Ziploc, hasta su posterior proceso de análisis.

5.6.1 Determinación de proteínas

La cuantificación de proteínas se realizó mediante el método micro Kjeldahl, el cual comprende tres etapas sucesivas: digestión, destilación y titulación, derivado del procedimiento descrito originalmente por Kjeldahl (1883). Durante la digestión, se pesaron 50 mg de biomasa seca en papel libre de nitrógeno y se transfirieron a un matraz micro Kjeldahl de 30 mL. Como catalizadores se añadieron 1.5 g de sulfato de potasio y 0.05 g de sulfato cúprico, junto con 3 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 , 95–97 %). Los matraces se colocaron en un bloque digestor marca Labconco y modelo 6030000; en donde se incrementó gradualmente la temperatura hasta lograr la mineralización completa de la materia orgánica, evidenciada por la desaparición de humos y la obtención de un digerido verde-azul claro. Una vez finalizada la digestión, los matraces se enfriaron a temperatura ambiente y se diluyeron con 10 mL de agua destilada. El contenido se agitó para disolver posibles cristales y se aforó a 25 mL, asegurando la transferencia cuantitativa mediante enjuagues sucesivos con pequeñas fracciones de agua destilada. Las soluciones se homogenizaron y se conservaron en frascos de vidrio o

Nalgene™ hasta su análisis posterior.

La etapa de destilación se llevó a cabo en un destilador Kjeldahl marca Novatech modelo KJR con un vaso colector que contenía 15 mL de ácido bórico al 3 % y tres gotas del indicador Shiro-Tashiro. Se adicionaron 5 mL del digerido al destilador, seguidos de 10 mL de hidróxido de sodio al 40 %, enjuagando la copa con 5 mL adicionales de agua destilada. Tras verificar el flujo constante de agua en el condensador, se procedió a la destilación hasta recolectar al menos 40 mL de destilado. En esta fase, la solución adquirió un tono verdoso característico, señal de la presencia de amoníaco capturado en el ácido bórico.

La titulación se realizó con una solución estándar de HCl a una concentración de 0.109 N, dispensada desde una bureta graduada bajo agitación constante. El punto final se identificó por el viraje de color desde verde hasta púrpura, el cual se contrastó visualmente con la tinción del blanco utilizado como referencia. El volumen de ácido clorhídrico consumido se registró de inmediato para el cálculo de nitrógeno total y, posteriormente, del contenido de proteína. Todas las determinaciones incluyeron un blanco de reactivos, sometido al mismo procedimiento, que se utilizó como corrección de referencia.

El cálculo del porcentaje de nitrógeno total (%N) se realizó de acuerdo con la Formula (1):

$$\%N = \frac{(HCl_m - HCl_b) \cdot N_{HCl} \cdot 0.014 \cdot 100}{\text{Peso de la muestra (g)}} \quad (1)$$

donde HCl_m corresponde al volumen de ácido clorhídrico consumido en la titulación de la muestra (mL), HCl_b al volumen consumido en el blanco (mL), N_{HCl} a la normalidad de la solución de HCl y 0.014 al factor de conversión en gramos de nitrógeno por mL de HCl 1N.

El contenido de proteína cruda (% P) se obtuvo multiplicando el porcentaje de nitrógeno por el factor 6.25 (Formula 2), que corresponde al valor de referencia ampliamente aceptado bajo el supuesto de que las proteínas contienen en promedio un 16 % de nitrógeno (Jones, 1932):

$$\%P = \%N \cdot 6.25 \quad (2)$$

Los resultados se expresaron en porcentaje de biomasa seca.

5.6.2 Determinación de lípidos

La cuantificación de lípidos totales se llevó a cabo siguiendo el método de extracción con solventes descrito por Folch *et al.*, (1957) con modificaciones adaptadas para biomasa microalgal. Para cada análisis se pesaron 100 mg de muestra en tubos de ensayo previamente etiquetados. De manera paralela, se incluyó un estándar de Tripalmitina, preparado por triplicado, con el fin de validar la recuperación del procedimiento. A cada muestra se le adicionaron 200 μ L de agua destilada y se homogenizó en un vortex durante 30 segundos.

La extracción se realizó mediante la adición de 6 mL de una mezcla de diclorometano:metanol en proporción 2:1 (v/v), seguida de agitación en vortex

por 3 minutos y posterior reposo durante 6 a 12 horas para favorecer la partición de fases. El contenido fue filtrado a través de papel Whatman No. 4 y se adicionaron 1.5 mL de KCl al 1.76 % para promover la separación de las fases acuosa y orgánica.

La fase orgánica se recuperó cuidadosamente con pipeta Pasteur y se transfirió a viales de vidrio de 4 mL de capacidad, previamente pesados. Posteriormente, se tomaron 2 mL de la fase orgánica con pipeta aforada, que fueron colocados en su respectivo vial y sometidos a evaporación en un Thermoblock marca Cole-Parmer a 60 °C hasta alcanzar la completa evaporación del solvente. Una vez evaporados, los viales se retiraron de la termo placa y se colocaron en un desecador y, tras estabilizarse a temperatura ambiente, se pesaron nuevamente.

El contenido de lípidos se calculó con base en el incremento de peso en el vial tras la evaporación, utilizando la siguiente Formula (3):

$$\%L = \frac{(PVF-PVI)}{PM} \cdot 100 \cdot \text{mL evaporados} \quad (3)$$

donde PVI corresponde al peso inicial del vial, PVF al peso final del vial tras la evaporación y PM al peso de la muestra utilizada.

5.6.3 Determinación de ácidos grasos

La caracterización de ácidos grasos se llevó a cabo mediante un procedimiento de transmetilación ácida basado en la metodología descrita por Parrish *et al.* (2015). Se trabajó con alícuotas de biomasa seca de 70 mg,

colocadas en viales de vidrio de 10 mL. A cada vial se añadieron 3 mL de una solución extractora integrada por metanol, diclorometano y ácido clorhídrico concentrado (37 %), en una proporción 10:1:1 (v/v/v). Los viales se sellaron inmediatamente, se agitaron en un vortex y se incubaron en baño María a 83 °C durante 2 horas. Una vez transcurrido el tiempo de reacción, las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente.

Para recuperar los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES), se adicionaron 1.5 mL de agua Milli-Q, 1.5 mL de hexano y 0.3 mL de diclorometano. Después de una nueva agitación en vortex, las mezclas fueron centrifugadas a 3800 rpm durante 10 minutos, lo que permitió separar las fases. La fracción superior, correspondiente a hexano y en la cual se concentraron los ácidos grasos metilados, se extrajo cuidadosamente y se transfirió a viales previamente calcinados, donde permaneció almacenada hasta su análisis cromatográfico.

El análisis de los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES) se realizó mediante cromatografía de gases con detector de ionización de flama (GC-FID), utilizando un cromatógrafo Agilent® GS 7820A acoplado a una columna capilar polar de 60 m de longitud y 0.25 mm de diámetro interno. La adquisición, integración y procesamiento de los cromatogramas se efectuaron con el software GC ChemStation Data Analysis (Agilent Technologies®).

La identificación de los ácidos grasos se realizó por comparación de los tiempos de retención de las muestras con estándares comerciales, empleando como referencia el 37 Component FAME Mix (Supelco/Sigma-Aldrich®) y las mezclas PUFA No. 1 y PUFA No. 3, que contienen ácidos grasos

poliinsaturados de interés biológico. La composición de cada ácido graso se expresó en términos relativos (%) y, adicionalmente, se calcularon las concentraciones absolutas ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ p.s.) a partir de curvas de calibración construidas con el estándar FAME Mix 37.

5.7 Análisis estadístico

El tratamiento estadístico de los datos consistió en la verificación inicial de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, empleando las pruebas de Shapiro-Wilk y de Levene, respectivamente ($\alpha = 0.05$). Una vez confirmados dichos supuestos, la comparación entre tratamientos para parámetros de biomasa y crecimiento se realizó mediante la prueba “t” de Student para muestras independientes, considerando un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. En aquellos casos en que los datos no cumplieron con la normalidad y/o homocedasticidad, como en el caso de la temperatura y pH, se aplicó la prueba U de Mann–Whitney como alternativa no paramétrica.

De manera particular, en los análisis de proteínas, lípidos totales y en el perfil de ácidos grasos, se aplicaron pruebas “t” de Student con el fin de corroborar la existencia de diferencias significativas entre los sistemas de cultivo evaluados. Sin embargo, debido al tamaño de muestra limitado ($n = 3$ por tratamiento) y con el propósito de obtener una evaluación más robusta e independiente de supuestos paramétricos, las comparaciones entre tratamientos fueron realizadas mediante pruebas de permutación con 10,000 iteraciones. Este enfoque no paramétrico permitió contrastar la

magnitud de las diferencias observadas frente a una distribución nula generada aleatoriamente, proporcionando estimaciones más confiables de significancia estadística bajo condiciones de bajo número de réplicas biológicas.

Todos los análisis estadísticos paramétricos y no paramétricos se llevaron a cabo en el software SigmaPlot® versión 11 (Systat Software Inc.), mientras que las pruebas de permutación fueron implementadas en R (R Core).

6 Resultados

6.1 Crecimiento celular

La Figura 4 muestra los promedio y desviación estándar de la densidad celular de *Rhodomonas salina* registradas durante 16 días de cultivo en los sistemas semicontinuo (FBSC) y continuo (FBC). Ambos tratamientos presentaron una fase exponencial entre los días 0 y 7, con incrementos progresivos en la densidad celular. A partir del día 8 se alcanzó la fase estacionaria, con valores cercanos a $2.0\text{--}2.1 \times 10^6 \text{ cél}\cdot\text{mL}^{-1}$. Durante los días 14–16 se mostró una diferencia significativa en la densidad celular entre ambos sistemas: mientras que el FBC mantuvo densidades un poco más estables vs el FBSC que mostró una tendencia descendente hacia el final de la experimentación (Figura 4).

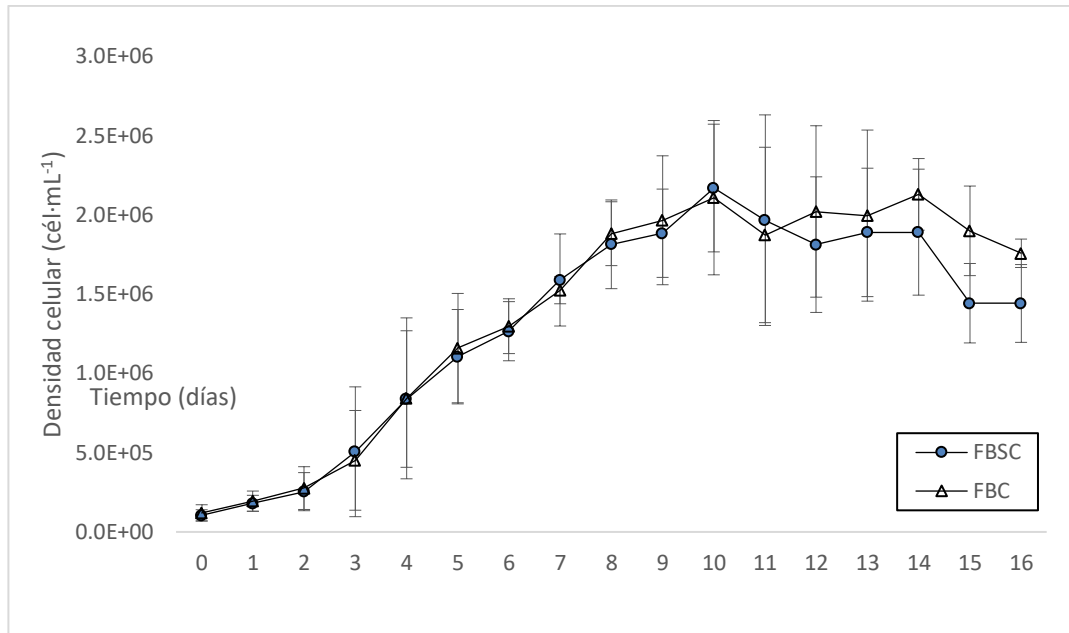


Figura 4. Valores promedio y desviación estándar de la densidad celular ($\text{cel}\cdot\text{mL}^{-1}$) de *Rhodomonas salina* cultivada en ambos fotobiorreactores: semicontinuo (FBSC) y continuo (FBC) durante un tiempo experimental de 16 días.

6.2 Cambios de pH

En la Figura 5 se muestran los valores promedio de pH correspondiente a los sistemas FBC, los cuales fueron controlados de forma automatizada y por medio de inyección continua de CO_2 , y en donde podemos apreciar valores mucho más estables con un promedio a lo largo del tiempo de experimentación de 7.77 ± 0.30). Mientras que para el caso de FBSC los valores de pH obtenidos y que eran ajustados manualmente cada 24 h, muestran valores promedio máximos de pH de 10.14 ± 0.14 y valores promedio mínimos (posterior al ajuste) de 7.58 ± 0.14 . El análisis estadístico mediante la prueba U de Mann-Whitney mostró diferencias significativas entre

los valores promedio máximos del FBSC y los registrados en el FBC ($P = <0.001$). En contraste, al comparar los valores mínimos posteriores al ajuste, no se observaron diferencias significativas entre ambos sistemas.

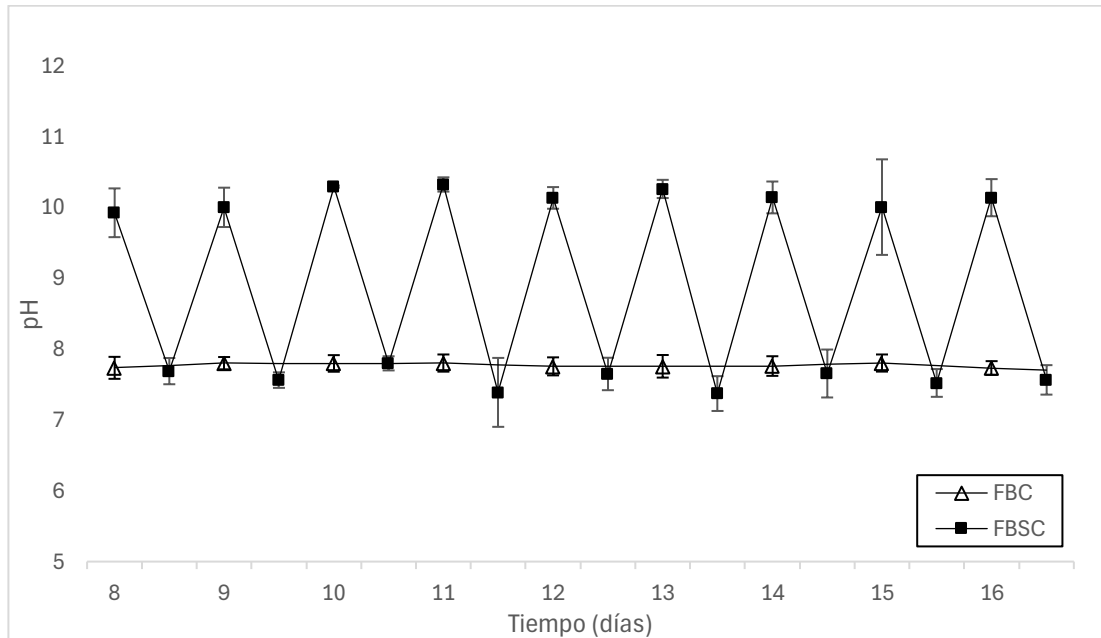


Figura 5. Valores promedio y desviación estándar del pH en los cultivos de la microalga *Rhodomonas salina* cultivada en ambos fotobiorreactores: FBSC y FBC, durante la fase estacionaria del cultivo (días 8 a 16).

6.3 Valores de temperatura

La Figura 6 muestra las variaciones temperatura a lo largo del tiempo en el laboratorio y en ambos fotobiorreactores durante la fase experimental. La temperatura promedio en el laboratorio fue de 17.08 ± 0.32 °C, mientras que en los sistemas FBC y FBSC se registraron valores ligeramente superiores, con medias de 18.66 ± 0.28 °C y 18.08 ± 0.82 °C, respectivamente. El ANOVA indicó diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.001$); sin embargo, el análisis de comparaciones múltiples de Tukey mostró que la

temperatura del laboratorio difirió significativamente de la registrada en ambos fotobiorreactores, aunque no hubo diferencias entre la temperatura de los sistemas del FBSC y FBC.

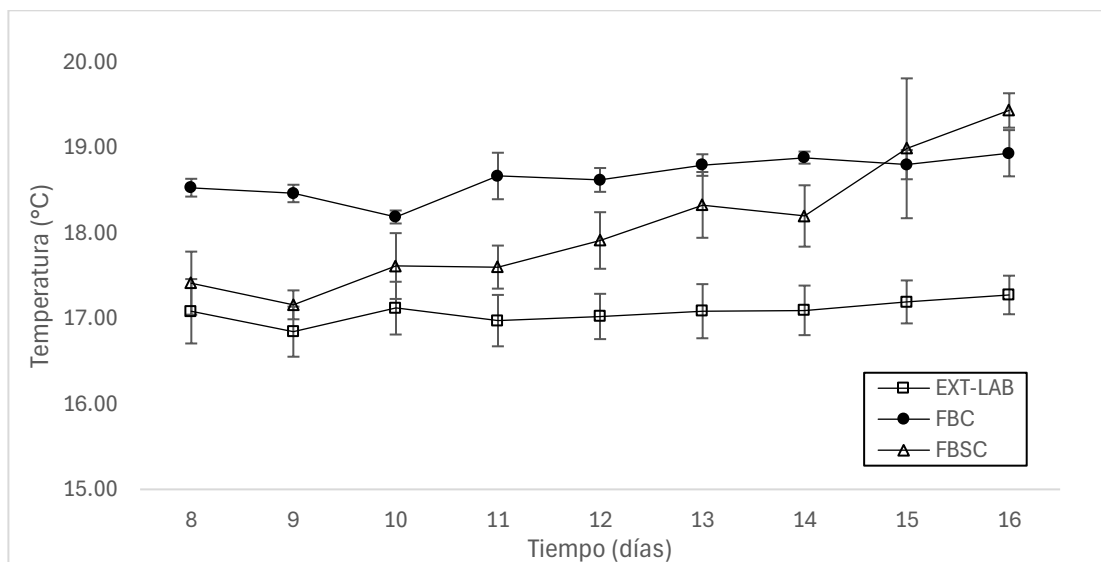


Figura 6. Valores promedio y desviación estándar de la temperatura registrada en el laboratorio y en los cultivos de *Rhodomonas salina* cultivada en los fotobiorreactores: FBSC y FBC durante la fase experimental.

6.4 Parámetros de Crecimiento

En la Tabla IV podemos observar los valores promedio y desviación estándar del conteo celular, en donde el FBC alcanzó el mayor número de células por mililitro, registrando $1.95 \pm 0.19 \times 10^6$ cél·mL⁻¹; mientras que el FBSC registro solo $1.81 \pm 0.23 \times 10^6$ cél·mL⁻¹. Al realizar el análisis estadístico “t” Student no se observaron diferencias significativas (P = 0.115).

En lo que respecta a los valores de peso seco, peso orgánico seco y peso de cenizas no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ninguno de los dos fotobiorreactores ensayados; siendo los valores entre los diferentes pesos muy similares en ambos tratamientos (biorreactores); registrándose valores promedio de peso seco de $0.39 \pm 0.05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en el FBSC y $0.37 \pm 0.04 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en el FBC. Mientras que, para el peso orgánico, se registraron valores de $0.29 \pm 0.03 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ y $0.30 \pm 0.02 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en FBSC y FBC, respectivamente. En cuanto al peso de ceniza este se observó de $0.08 \pm 0.01 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en el FBSC y de $0.07 \pm 0.01 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en el FBC, respectivamente.

En lo que respecta a la tasa de crecimiento específica (μ) tampoco fue posible observar diferencias significativas ($p > 0.05$), entre ninguno de los dos sistemas de cultivo ensayados reportándose valores de crecimiento específico (μ) de 0.47 ± 0.02 en el FBSC y 0.46 ± 0.04 en el FBC, respectivamente (Tabla IV).

La consistencia de estos resultados fue corroborada mediante pruebas de permutación, obteniéndose valores de p consistentes con el análisis paramétrico ($p > 0.05$ en todos los casos), por lo que las conclusiones se mantienen sin cambios.

Tabla IV. Valores promedio y desviación estándar del número de células ($\text{cel}\cdot\text{mL}^{-1}$), peso seco ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), peso orgánico seco ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), peso de ceniza ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) y la tasa de crecimiento específica (μ); con la microalga *Rhodomonas salina* cultivada en 2 fotobiorreactores: FBSC y FBC durante la fase estacionaria de cultivo.

Parámetro	FBSC	FBC	P
Conteo celular ($\times 10^6 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$)	1.81 ± 0.23	1.95 ± 0.19	0.115
Peso seco ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	0.39 ± 0.05	0.37 ± 0.04	0.567
Peso orgánico ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	0.29 ± 0.03	0.3 ± 0.02	0.201
Peso ceniza ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	0.08 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.820
Tasa de crecimiento (μ)	0.47 ± 0.02	0.46 ± 0.04	0.620

6.5 Producción de Biomasa

La Figura 7 muestra la producción de biomasa promedio y su desviación estándar obtenida en los sistemas FBSC y FBC durante los tres bloques experimentales ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$). En ambos sistemas los valores se mantuvieron en un intervalo similar, con valores promedio de $0.228 \pm 0.005 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ en el FBSC y de $0.216 \pm 0.008 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ en el FBC. Si bien el sistema FBSC presentó un valor ligeramente superior, la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p = 0.487$).

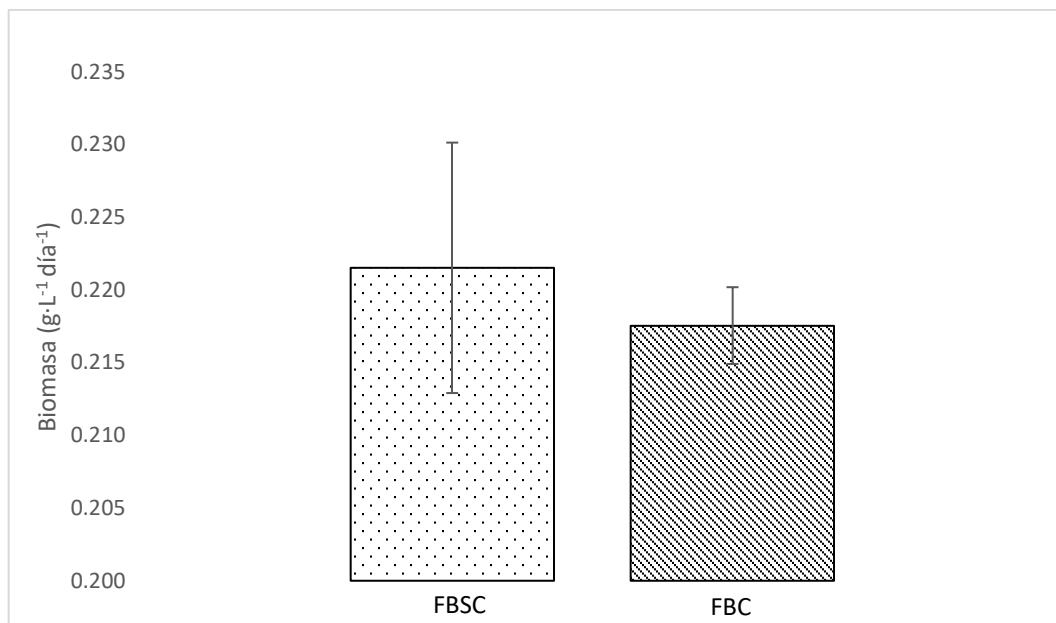


Figura 7. Valores de producción de biomasa promedio y desviación estándar ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) obtenida en los cultivos de *Rhodomonas salina* cultivada en los 2 tipos de fotobiorreactores ensayados: FBSC y FBC y durante las 3 fechas de cultivo (bloques).

6.7 Composición bioquímica

La Tabla V presenta los valores y componentes de la composición proximal evaluada en *Rhodomonas salina* cultivada en los sistemas FBSC y FBC. Se observó que para el caso del porcentaje de proteína total este fue de $47.71 \pm 1.79 \%$ para el FBC en comparación con el FBSC en donde solo se obtuvieron porcentajes de $41.11 \pm 1.28 \%$. En este caso si se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.001$), en el porcentaje de proteína total obtenidos entre ambos tipos de biorreactores. De manera similar, el porcentaje de lípidos fue superior en el FBC ($13.55 \pm 0.86 \%$) con respecto a lo obtenido en el FBSC ($9.97 \pm 0.62 \%$) en donde también se

observaron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.001$).

En contraste, el porcentaje de cenizas fue ligeramente mayor en el FBSC (20.5 %) comparativamente con lo obtenido en el FBC (18.92 %), aunque sin diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$). En cuanto al porcentaje de materia orgánica estos estuvieron entre el 81.08 % para el FBC y de 79.5 % para el FBSC, no encontrando tampoco diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$). En cuanto al extracto libre de nitrógeno (ELN), el cual se calcula por diferencia, tampoco se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$) registrándose valores más altos en el FBSC (28.41 %) en comparación con el FBC (19.82 %) (Tabla V).

Tabla V. Valores promedio y desviación estándar del porcentaje (%) de proteína total, lípidos, cenizas, materia orgánica y ELN en *Rhodomonas salina* cultivada en dos tipos de fotobiorreactores: FBSC y FBC durante la fase estacionario de cultivo. Los valores de $p < 0.05$ representan diferencias significativas.

Parámetro (%)	FBSC	FBC	P
Proteína total	41.11 ± 1.28 ^b	47.71 ± 1.79 ^a	0.001
Lípido total	9.97 ± 0.62 ^b	13.55 ± 0.86 ^a	0.001
Cenizas	20.5	18.92	> 0.05
Materia orgánica	79.5	81.08	> 0.05
ELN	28.41	19.82	> 0.05

Nota: Materia orgánica y Extracto Libre de Nitrógeno (ELN) son calculados por diferencia por lo que no se cita su desviación estándar.

6.8 Análisis de ácidos grasos

En la Tabla VI podemos observar los porcentajes individuales y en grupo de los ácidos grasos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA), así como las concentraciones absolutas de los principales ácidos grasos del tipo PUFAs ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$). Se observa que en ambos fotobiorreactores se mantiene un perfil muy parecido de ácidos grasos en *Rhodomonas salina*, dominado en porcentaje por los PUFAs de la serie n-3 (EPA y DHA). Las únicas diferencias significativas que se pudieron observar fueron en los ácidos grasos: estearidónico (SDA, C18:4n3) y en el ácido linoleico (LA C18:2n6), sin embargo, no marcan una tendencia hacia algún tipo de biorreactor que nos indique una mejor calidad de la biomasa producida.

Tabla VI. Valores promedio y desviación estándar del porcentaje de ácidos grasos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA), en *Rhodomonas salina* cultivada en dos tipos de fotobiorreactores: FBSC y FBC y durante la fase estacionario de su cultivo. Los valores de $p < 0.05$ representan diferencias significativas.

Ácidos grasos saturados (%)	FBSC	FBC	P
C10:0	0.99 ± 0.29	1.35 ± 0.00	
C11:0	1.05 ± 0.56	0.73 ± 0.27	0.323
C12:0	0.99 ± 0.63	0.97 ± 0.68	0.885
C13:0	1.50 ± 0.34	1.26 ± 0.54	0.281
C14:0	6.28 ± 3.33	8.63 ± 1.72	0.158
C15:0	0.67 ± 0.28	1.09 ± 0.51	0.130
C16:0	8.64 ± 3.31	12.08 ± 4.21	0.072
C18:0	1.08 ± 1.06	0.68 ± 0.15	0.505
C23:0	0.54 ± 0.15	0.60 ± 0.10	0.375
Ácidos grasos monosaturados (%)			
C14:1	4.01 ± 4.20	0.51 ± 0.03	0.190
C15:1	2.33 ± 3.96	0.57 ± 0.14	0.571
C16:1	3.08 ± 0.42	3.38 ± 0.50	0.207
C18:1n9T	0.88 ± 0.48 ^b	2.15 ± 0.56 ^a	0.006
C18:1n9C	4.52 ± 0.87 ^a	3.58 ± 0.87 ^b	0.043
Ácidos grasos poliinsaturados (%)			
C16:2n4	0.54 ± 0.05	0.50 ± 0.00	
C16:3n4	0.46 ± 0.04	0.52 ± 0.02	0.230
C18:4n3 (SDA)	28.32 ± 5.37 ^a	20.59 ± 6.62 ^b	0.015
C18:2n6 (LA)	4.69 ± 4.56 ^b	11.70 ± 7.32 ^a	0.027
C18:3n6	0.75 ± 0.00		
C18:3n3 (ALA)	19.62 ± 3.09	19.80 ± 2.49	0.894
C20:3n3		0.46 ± 0.00	
C20:5n3 (EPA)	8.51 ± 3.28	6.72 ± 4.24	0.333
C22:6n3 (DHA)	5.57 ± 0.42	5.97 ± 0.82	0.214

Tabla VII. Valores promedio y desviación estándar de la sumatoria del porcentaje de ácidos grasos saturados (Σ SFA), monoinsaturados (Σ MUFA), Polinsaturados (Σ PUFA) y para el caso de los diferentes ácidos grasos poliinsaturados su concentración en $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ en *Rhodomonas salina* cultivada en dos tipos de fotobiorreactores: FBSC y FBC y durante la fase estacionario de su cultivo.

Sumatoria de Ácidos Grasos		
Σ SFA	21.73 \pm 9.95	27.39 \pm 8.18
Σ MUFAS	14.82 \pm 9.94	10.20 \pm 2.11
Σ PUFAS	68.46 \pm 16.82	66.28 \pm 21.51
Ácidos grasos PUFAs ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		
C18:2n6 (LA)	2.38 \pm 1.39	9.37 \pm 0.34
C18:3n3 (ALA)	11.75 \pm 4.52	16.00 \pm 4.87
C20:5n3 (EPA)	3.96 \pm 1.47	4.15 \pm 2.49
C22:6n3 (DHA)	2.25 \pm 0.86	3.75 \pm 1.04

En el FBSC, los PUFA constituyeron la fracción mayoritaria de ácidos grasos presentes en la biomasa producida siendo estos del 65.46%, seguidos de los SFA (21.73 %) y MUFA (14.82 %) (Figura 8a). Para el caso del FBC, se observó una distribución similar, con un mayor porcentaje de los ácidos grasos PUFA (62.70 %), seguidos de SFA (27.39 %) y MUFA (10.20 %) (Figura 8b). En ambos casos, el perfil lipídico estuvo dominado por los ácidos grasos poliinsaturados, aunque se detectaron ligeras variaciones en las proporciones de SFA y MUFA entre los sistemas evaluados. No se pudo apreciar diferencias significativas entre los diferentes grupos de ácidos grasos.

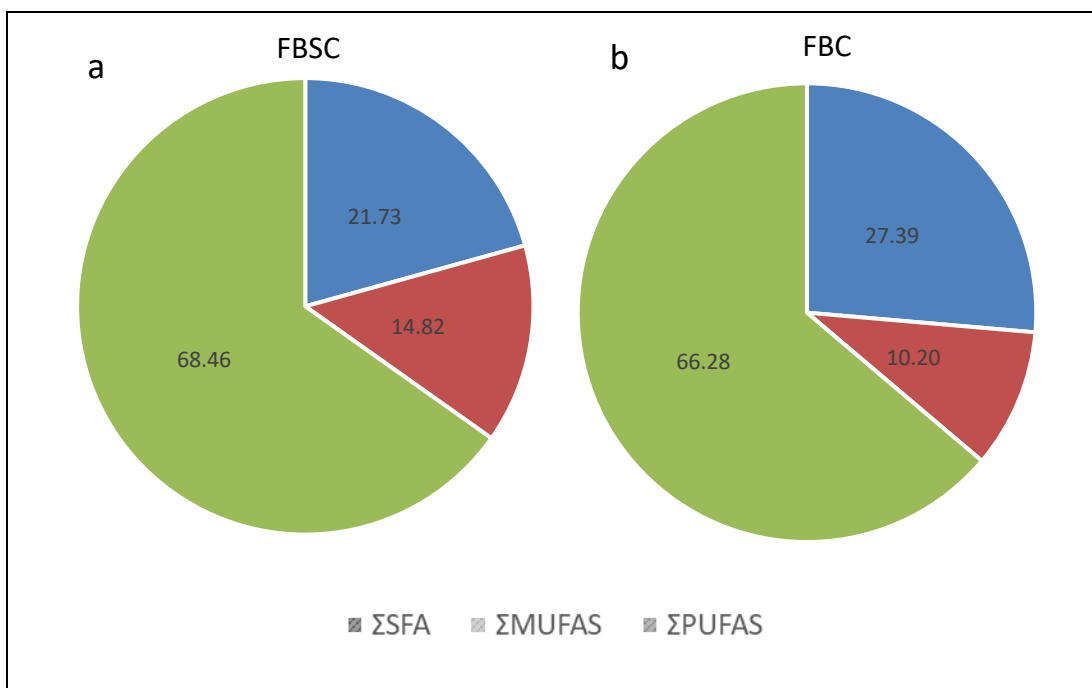


Figura 8. Diagramas de pastel en donde se muestra el valor porcentual total de los ácidos grasos saturados (Σ SFA), monoinsaturados (Σ MUFA) y poliinsaturados (Σ PUFA) en *Rhodomonas salina* cultivada en dos tipos de fotobiorreactores: FBSC y FBC y durante la fase estacionario de su cultivo.

En la Figura 9 podemos observar la concentración ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) de ácidos grasos esenciales en *Rhodomonas salina* cultivada en los sistemas FBSC y FBC. En ambos tratamientos, el ácido α -linolénico (C18:3n3, ALA) fue el compuesto más abundante, con valores de $11.75 \pm 4.52 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ en FBSC y $16.00 \pm 4.87 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ en FBC, respectivamente. Le siguieron el ácido linoleico (C18:2n6), con 2.38 ± 1.39 y $9.37 \pm 0.34 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente, y el eicosapentaenoico (C20:5n3, EPA), con 3.96 ± 1.47 y $4.15 \pm 2.49 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. El ácido docosahexaenoico (C22:6n3, DHA) se mantuvo en proporciones menores, con $2.25 \pm 0.86 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ en FBSC y $3.75 \pm 1.04 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ en FBC. En

la mayoría de los ácidos grasos no se observaron diferencias estadísticas significativas a excepción del ácido graso linoleico (C18:2n6) en donde se observaron diferencias entre los dos sistemas de cultivo; reportándose la mayor concentración en el FBC con un valor de $9.37 \pm 0.34 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$.

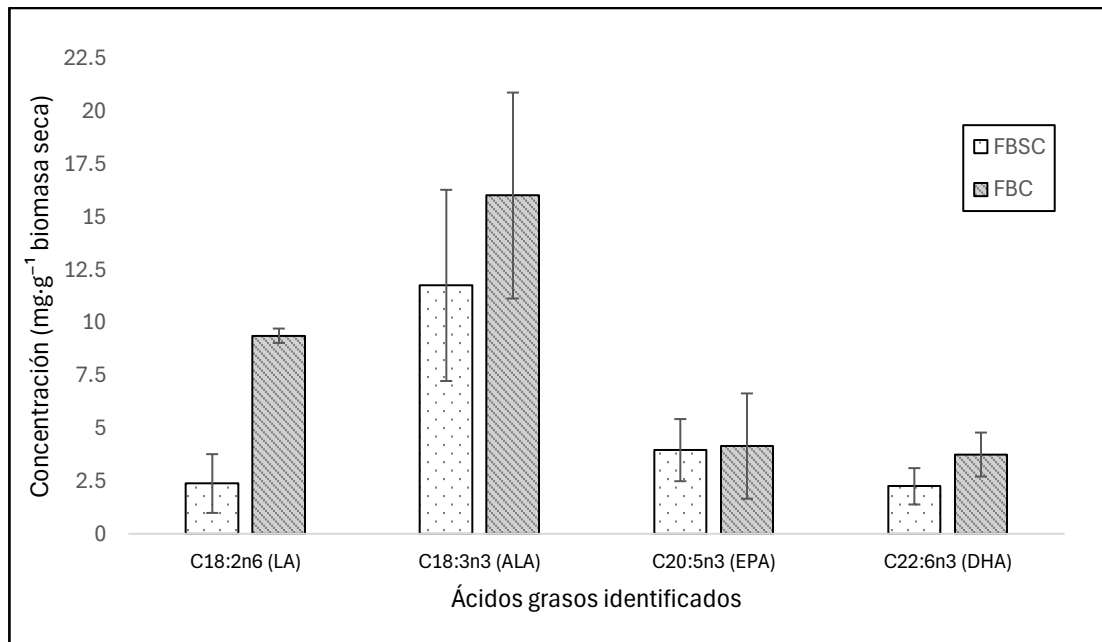


Figura 9. Valores promedio y desviación estándar de la concentración ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) de los diferentes ácidos grasos “PUFA”: LA (Linoleico), ALA (α -linolénico), EPA (eicosapentaenoico) y DHA (docosahexaenoico), encontrados en *Rhodomonas salina* cultivada en dos tipos de fotobiorreactores: FBSC y FBC y durante la fase estacionario de su cultivo.

7 Discusión

7.1 Desempeño y estabilidad operativa del Fotobiorreactor continuo

El comportamiento operativo del fotobiorreactor continuo a lo largo de las corridas experimentales mantuvo condiciones notablemente constantes, particularmente en la regulación del pH y en la uniformidad del cultivo, lo que aseguro que las células permanecieran expuestas de forma continua a condiciones químicas estables. La automatización del cultivo mediante el controlador Arduino nos permitió sostener un intervalo estrecho de variación del pH, lo que favoreció a un crecimiento adecuado y esperado en el sistema. En contraste con el FBSC, donde los ajustes manuales se realizaron cada 24 horas, se observaron oscilaciones de pH. Estas fluctuaciones implican lapsos donde la microalga debe readaptar su capacidad de asimilación de CO₂ y reestablecer su equilibrio ácido-base antes de poder retomar una actividad metabólica estable, proceso que no ocurre en el sistema continuo.

En cuanto al diseño, los contenedores en serie operaron sin falla estructural alguna, manteniendo un flujo continuo y estable durante todo el experimento. A pesar de ser un sistema construido con materiales accesibles, su desempeño no se vio comprometido y los resultados obtenidos pudieron ser comparados con lo reportado para otros fotobiorreactores empleados en estudios previos, donde la estabilidad del control químico se asocia con mejoras en productividad y composición lipídica (Oostlander *et al.*, 2020; Latsos *et al.*, 2022). Este comportamiento sugiere que la disposición modular y el flujo continuo del FBC favorecieron el mantenimiento de cultivos durante periodos prolongados, conservando un desempeño operativo óptimo y una

calidad de biomasa producida adecuada.

En contraste, se pudo observar basado en ajustes manuales diarios y cosechas periódicas, que el FBSC mantuvo un funcionamiento eficiente, pero con una mayor sensibilidad a variaciones ambientales. Aunque esto no afectó de forma crítica su desempeño, sí generó variaciones en pH y en la disponibilidad inmediata de nutrientes tras cada reposición de medio, condiciones que influyeron directamente en la regulación metabólica de *R. salina*. Se ha reportado que estos cambios modifican la actividad de rutas asociadas a la asimilación de nitrógeno, la síntesis de proteínas y la acumulación de lípidos (Fichtbauer *et al.*, 2023; Takagi *et al.*, 2023), lo que explica parte de la variabilidad observada en los componentes proximales entre sistemas. El FBC, en cambio, ofreció un control más preciso y replicable, lo que se reflejó en valores de productividad más uniformes y en una mayor estabilidad bioquímica con menor variación entre corridas experimentales.

7.2 Productividad en Fotobiorreactores de cultivos de *Rhodomonas salina*

La productividad observada en ambos sistemas se mostró un comportamiento estable y mantuvo valores comparables entre sí; el FBSC presentó productividades cercanas a $0.228 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, mientras que el FBC alcanzó alrededor de $0.216 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$. Lo que indica que tanto el sistema continuo como el semicontinuo fueron adecuados para mantener el crecimiento de *Rhodomonas salina* bajo las condiciones establecidas. Estos valores se ubicaron por encima del intervalo de $0.034\text{-}0.137 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ reportado

para cultivos con baja irradiancia y a pH fijo, como los descritos por Latsos *et al.* (2022) y a las productividades de $0.200 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, alcanzadas en fotobiorreactores tubulares operados a $50 \text{ }\mu\text{mol fotones}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (Latsos *et al.*, 2021). Asimismo, estos resultados se aproximaron a productividades máximas reportadas por Oostlander *et al.* (2020), quienes alcanzaron valores de $0.68 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ alcanzados en condiciones de $20 \text{ }^\circ\text{C}$ y pH 7.5.

En contraste, estudios en sistemas altamente optimizados y con medios enriquecidos, como los realizados por Latsos *et al.* (2020) con *Rhodomonas sp.*, han reportado productividades de hasta $1.5 \pm 0.1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, con concentraciones de biomasa cercanas a $1.2 \pm 0.1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (equivalentes a $9.2 \pm 1.2 \times 10^6 \text{ cél}\cdot\text{mL}^{-1}$), valores considerablemente superiores a los obtenidos en este trabajo. Estas diferencias podrían relacionarse al diseño de cultivo empleado por dichos autores, particularmente atribuido a una mayor disponibilidad de nutrientes, la irradiancia de $300 \text{ }\mu\text{mol fotones}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y la operación en modo batch con medio f/2 concentrado. Asimismo, estas diferencias observadas sugieren la necesidad de explorar otras cepas potencialmente más productivas dentro del mismo género, así como evaluar diferentes niveles de irradiancia y medios de cultivos enriquecidos, con el fin de determinar que combinaciones podrían maximizar la productividad en sistemas similares al evaluado en este estudio.

En estudios previos, como el desarrollado por Ladygina (2022) reportó concentraciones de biomasa de hasta $1.73 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en cultivos de 14 días bajo $20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ y $100\text{--}200 \text{ }\mu\text{mol fotones}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, mientras que Guevara *et al.* (2016) registraron valores que oscilaron entre 0.25 a $1.05 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en dos cepas de *R.*

salina cultivadas en condiciones similares. En conjunto, estos estudios muestran que la especie puede presentar un rango amplio de acumulación de biomasa influenciado por factores como la disponibilidad de nutrientes, la estabilidad de pH, la intensidad lumínica y las condiciones de cultivo, parámetros que diversos autores han señalado como determinantes en sistemas de cultivo controlados (Guevara et al., 2016; Yamamoto, 2018).

En este contexto, el comportamiento observado en este estudio coincide con lo descrito para *Rhodomonas salina* en fotobiorreactores. Aunque tanto el FBSC como el FBC fueron capaces de sostener concentraciones de biomasa representativas de la especie, el sistema continuo mostró una mayor estabilidad operativa, atribuida a la regulación automatizada del pH y al suministro continuo de nutrientes, reforzando la competitividad del FBC como una alternativa más estable para el cultivo controlado de *R. salina*.

Considerando las tasas específicas de crecimiento, los valores obtenidos en los fotobiorreactores de este estudio se ubicaron alrededor de 0.47 día^{-1} , lo que indicó un crecimiento sostenido de *R. salina* bajo las condiciones operativas evaluadas. Esta tasa fue ligeramente superior a la reportada por Valenzuela-Espinoza *et al.* (2005), quienes alcanzaron aproximadamente 0.38 día^{-1} , pero menor que los valores descritos por Concepción y Vilchis (2022), quienes registraron rangos de $0.48\text{-}0.88 \text{ día}^{-1}$ bajo condiciones de iluminación continua y medios de cultivo altamente enriquecidos. No obstante, los valores obtenidos en este trabajo se mantuvieron cercanos a los descritos por Ladygina (2022), quien reportó tasas de crecimiento de $\approx 0.69 \text{ día}^{-1}$ en fotobiorreactores operados con irradiancias

de 100–200 $\mu\text{mol fotones}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y a 20 °C, condiciones similares a las empleadas en este estudio. Esta coincidencia sugiere que, más que una limitación del sistema, las diferencias responden a las condiciones de iluminación continua y a la disponibilidad de nutrientes empleadas en cada estudio.

En cuanto a densidad celular, ambos sistemas mantuvieron valores estables cercanos a $1.8 \times 10^6 \text{ cél}\cdot\text{mL}^{-1}$, consistentes con los rangos reportados por Guevara *et al.* (2016) para *Rhodomonas salina* en condiciones de laboratorio, quienes describen concentraciones de 1×10^6 a $4.7 \times 10^6 \text{ cél}\cdot\text{mL}^{-1}$. Asimismo, los resultados coinciden con los valores alcanzados por Yamamoto (2018), con densidades aproximadas de $3.6 \times 10^6 \text{ cél}\cdot\text{mL}^{-1}$ para *Rhodomonas sp.*, a irradiancias de $80 \mu\text{mol fotones}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

7.3 Proteínas y lípidos totales

La composición proximal obtenida para *Rhodomonas salina* en este estudio mostró contenidos de proteínas y lípidos que se ubican dentro de los rangos ampliamente reportados para la especie. Diversos estudios han señalado que el contenido proteico de *R. salina* suele oscilar entre 31 y 53 %, mientras que la fracción lipídica varía entre 8 y 28%, dependiendo de la cepa, el régimen nutricional y las condiciones de cultivo (Derbel *et al.*, 2023; Dunstan *et al.*, 2005; Guevara, 2011; Iatsos *et al.*, 2022). Otros trabajos reportan rangos más amplios, con contenidos proteicos que puede alcanzar hasta 60 % y lípidos cercanos a 25 % bajo determinados regímenes de nutrientes o variaciones de cepas (Dunstan *et al.*, 2005; Guevara, 2016). Los valores

proteicos obtenidos en este estudio (47.71 % en el sistema continuo, y 41.11 % en el sistema semicontinuo) coinciden con los intervalos usualmente reportados para *R. salina*, al igual que el contenido lipídico (13.55 % en FBC). Esta consistencia con la literatura indicó que, independientemente del modo de operación del fotobiorreactor, *Rhodomonas salina* mantuvo un desempeño fisiológico típico de la especie.

En comparación con otras microalgas de interés acuícola, *R. salina* presentó un contenido de proteínas similar al reportado para géneros como *Tetradasmus* y *Scenedesmus obliquus* ($\approx 30\text{--}40\%$) y ligeramente por debajo de especies de alto contenido proteico como *Euglena gracilis* ($\approx 42\%$) y *Chlorella vulgaris* (50–65 %) (Becker, 2007; Lee *et al.*, 2020; Lowry *et al.*, 1951; Markou *et al.*, 2012; Safi *et al.*, 2014). En cuanto a los lípidos, los valores coinciden con los registrados para especies ampliamente utilizadas como *Isochrysis galbana* o *Nannochloropsis* ($\approx 10\text{--}20\%$) y se mantienen por debajo de *Thalassiosira* o *Skeletonema* ($\approx 40\text{--}50\%$) (Aravind *et al.*, 2021; Folch *et al.*, 1957; Griffiths *et al.*, 2010; Munir *et al.*, 2023).

Respecto a la comparación entre sistemas, el fotobiorreactor continuo presentó una mayor estabilidad en los procesos asociados a la síntesis de proteínas y a la acumulación de lípidos, lo cual se reflejó en diferencias significativas entre ambos sistemas ($p = 0.01$). Estas diferencias pueden atribuirse principalmente a que el FBC operó con un suministro continuo y homogéneo de nutrientes y carbono, lo que generó un entorno adecuado para el crecimiento de *R. salina*. Hallazgos previos respaldan este patrón, ya que distintos autores han mostrado que la disponibilidad continua de carbono y la

uniformidad en las condiciones de cultivo favorecen la síntesis de proteínas y lípidos en microalgas. En *Rhodomonas salina*, Latsos *et al.*, (2022) reportaron un aumento en el contenido proteico y en los ácidos grasos totales bajo condiciones que mantenían un aporte constante de carbono. De manera similar, estudios en *Chlorella sorokiniana* han observado incrementos en la fracción proteica cuando el suministro de nutrientes y carbono se mantiene más estable (Qiu *et al.*, 2017; Xin *et al.*, 2024).

7.4 Ácidos grasos

El análisis del perfil de ácidos grasos mostró que *Rhodomonas salina* estuvo claramente dominado por los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). Este comportamiento coincide con lo reportado para distintas cepas del género *Rhodomonas*, tanto en sistemas continuos como semicontinuos. Por ejemplo, las cepas de *R. salina* CS-24 (Wislouch) Hiller & Wetherbee, *Rhodomonas maculata* CS-85 (Butcher ex Hiller & Wetherbee) y *Chroomonas placoidea* CS-200 (Butcher) han mostrado fracciones de PUFA que suelen ubicarse entre 60-70 % bajo condiciones semicontinuas o de cultivo estable (Dunstan *et al.*, 2005), así como valores cercanos al 50 % en otros estudios (Ljubic *et al.*, 2021).

Al compararlo con otras microalgas de interés acuícola, como *Eugena gracilis*, *Pavlova lutheri* o *Chlorella vulgaris*, cuyos porcentajes de PUFA son considerablemente menores (Sayar *et al.*, 2024), resulta evidente que *R. salina* mantiene una ventaja cualitativa como fuente de lípidos altamente insaturados. Esta característica es particularmente relevante en acuicultura,

ya que los PUFAS de cadena larga (especialmente EPA y DHA) están asociados con mejoras en la supervivencia, crecimiento y desarrollo larval en bivalvos, crustáceos y peces (Guevara *et al.*, 2012; Mahalakshmi *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2023). Diversos estudios han demostrado que dietas ricas en PUFA favorecen la formación de membranas celulares más funcionales, incrementan la eficiencia metabólica y mejoran la resistencia al estrés en etapas tempranas (Innes & Calder, 2018; Wiktorowska *et al.*, 2015). En este sentido, el contenido de PUFA en *Rhodomonas salina* en este estudio refuerza su valor nutricional como ingrediente clave en la alimentación de cultivos acuícolas, indicando que los sistemas evaluados, en especial el FBC, son capaces de generar una biomasa con características funcionales que se alinean a los requerimientos nutricionales de organismos marinos.

Así mismo, se apreció una tendencia hacia un mayor contenido de SFA y una menor proporción de MUFA en ambos sistemas (FBSC y FBC), sin embargo, los dos sistemas mantuvieron un atributo lipídico valioso en *Rhodomonas salina*, que, desde la perspectiva de la nutrición acuícola, el predominio de PUFA constituye un aspecto clave, dado que estos compuestos, particularmente EPA y DHA, son esenciales para el desarrollo larval de moluscos, crustáceos y peces. Así pese a las variaciones observadas en SFA y MUFA, ambos sistemas confirmaron su eficacia como insumo en la formulación de alimento vivo de alta calidad nutricional.

No obstante, el análisis de los ácidos grasos específicos mostró que *Rhodomonas salina* mantuvo en ambos sistemas proporciones notables de SDA, LA, ALA, EPA y DHA, acorde con lo reportado para la especie en

estudios previos (Aritaki *et al.*, 2019; Dunstan *et al.*, 2005; Oostlander *et al.*, 2020). Las variaciones observadas entre sistemas, particularmente en SDA y LA, reflejan la sensibilidad de estas rutas metabólicas a las condiciones de operación del cultivo, tal como ha sido documentado en investigaciones donde el pH y la disponibilidad de carbono modulan la acumulación de precursores y derivados n-3 y n-6 (Latsos *et al.*, 2022; Qiu *et al.*, 2017; Takagi *et al.*, 2023). Asimismo, la abundancia relativa de estos ácidos grasos encontrados concuerda con otros perfiles obtenidos bajo condiciones de irradiancia y salinidad variables (Ljubic *et al.*, 2021; Xie *et al.*, 2021), lo cual valida la capacidad que tiene *Rhodomonas salina* para adaptar y ajustar su composición lipídica en respuesta al ambiente donde crece.

En comparación con otras microalgas de interés acuícola, los resultados obtenidos pueden confirmar el valor particular de la especie en estudio. Mientras que especies como *Nannochloropsis oculata* concentra EPA en porcentajes cercanos al 26 % e *Isochrysis galbana* se distingue por su elevado contenido de DHA (≈ 9 %) (Yang *et al.*, 2020), *Rhodomonas* combina simultáneamente ambos compuestos de forma proporcional, junto con valores destacados de SDA y ALA que no suelen encontrarse con abundancia en otros géneros.

En términos cuantitativos ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), se observó que el sistema continuo favoreció a una mayor acumulación de los ácidos grasos representativos; LA, ALA, EPA y DHA. Investigaciones como las de Oostlander *et al.* (2020) y Aussant *et al.*, (2018) han reportado variaciones amplias en EPA ($9\text{-}20 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) y DHA ($5\text{-}15 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) según las condiciones de cultivo, lo que sugiere que la

respuesta observada en este trabajo se ajusta al comportamiento esperado para la especie. De este modo, *R. salina* mantiene un perfil de n-3 balanceado que en este estudio se reforzó bajo la operación del FBC, donde la regulación automática del pH y la inyección de CO₂ contribuyó a estabilizar las rutas de síntesis de ácidos grasos de interés acuícola.

No obstante, aunque el interés en la nutrición acuícola suele centrarse en EPA y DHA por su papel directo en el desarrollo larval y la regulación fisiológica de organismos marinos, la presencia de precursores como el ácido esteárico (SDA) y ácido linoleico (LA) en *Rhodomonas salina* resulta igualmente relevante (Soto-Sanchez *et al.*, 2023). En acuicultura, estos precursores son valiosos porque muchos peces, crustáceos y moluscos poseen una capacidad limitada para sintetizar PUFAs, por lo que dependen directamente de su disponibilidad en las dietas.

Asimismo, la presencia de SDA y LA puede favorecer la producción de EPA y de derivados n-6 como el ARA, que se encuentran vinculados a procesos fisiológicos como la señalización, tolerancia al estrés y respuesta inmune (Innes & Calder, 2018; Wiktorowska *et al.*, 2015). De manera consistente, Belmonte (2025) señala que la disponibilidad de ARA contribuye a funciones reguladoras en tejidos como hígado y cerebro en peces marinos por lo que contar con precursores como SDA y LA en los cultivos de microalgas resulta fundamental en la producción de este ácido graso.

Asimismo, contar con microalgas capaces de aportar cantidades considerables de PUFA con sus precursores son especialmente valiosas en acuicultura, pues mejoran el perfil lipídico del alimento vivo y fortalecen la

salud y el desempeño de los organismos cultivados. Bajo esta perspectiva, la composición observada en *R. salina* sugiere que esta especie puede contribuir de manera significativa al suministro de ácidos grasos esenciales y metabolitos intermedios que participan en rutas metabólicas clave durante etapas tempranas de cultivo. Además, su capacidad para producir simultáneamente SDA, LA, ALA, EPA y DHA, es un rasgo poco común entre otras microalgas utilizadas en acuicultura, y representa una ventaja competitiva relevante que refuerza su potencial como ingrediente estratégico para la nutrición acuícola.

En conjunto, los resultados obtenidos permiten apreciar que, si bien las productividades alcanzadas en el FBC se ubicaron dentro de los rangos reportados para sistemas más complejos, la estabilidad operativa, el control automático de pH y la reducción de ajustes manuales favorecieron el mantenimiento de una biomasa con composición nutricional consistente mediante un sistema construido con materiales asequibles. Bajo esta perspectiva, alcanzar un rendimiento comparable en un sistema más económico y con menor demanda operativa introduce una reflexión relevante en términos de costo-beneficio, pues sugiere que configuraciones de este tipo pueden presentar alternativas prometedoras para el cultivo controlado de *Rhodomonas salina* en contextos donde la disponibilidad de recursos es limitada.

8 Conclusiones

Se implementó exitosamente un fotobiorreactor continuo de 16 L, construido con materiales de bajo costo, el cual operó de manera estable y permitió un control automático y preciso del pH (7.7 ± 0.3) mediante inyección de CO₂, mostrando una mayor estabilidad operativa en comparación con el sistema semicontinuo con ajuste manual.

El fotobiorreactor continuo mantuvo densidades celulares estables cercanas a 1.8×10^6 cél·mL⁻¹ y alcanzó una productividad de 0.218 ± 0.003 g·L⁻¹·día⁻¹, demostrando su viabilidad para el cultivo de *Rhodomonas salina* bajo las condiciones evaluadas.

La biomasa producida en el sistema continuo presentó un mayor contenido de proteínas (47.71 %) y lípidos (13.55 %) en comparación con el sistema semicontinuo, indicando un mejor desempeño en términos de calidad nutricional.

El perfil lipídico de la biomasa estuvo dominado por ácidos grasos poliinsaturados, representando más del 65 % del total de los ácidos grasos, con presencia constante de EPA, DHA y sus precursores, lo que confirma su alto valor nutricional.

En conjunto, los resultados demuestran que *Rhodomonas salina* puede cultivarse de manera eficiente en un sistema automatizado de flujo continuo de bajo costo, obteniendo una biomasa con productividad y calidad nutricional adecuadas para su aplicación en la acuicultura.⁹ Recomendaciones

Con base en los resultados obtenidos y en las observaciones realizadas durante la operación de ambos sistemas, se logró identificar áreas de

fortalecimiento para futuras investigaciones. Las siguientes recomendaciones que se harán apuntan a mejorar la eficiencia del cultivo, optimizar la calidad nutricional de la biomasa y avanzar hacia aplicaciones directas en la acuicultura

Evaluar diferentes configuraciones de iluminación

Se sugiere experimentar con distintas combinaciones de espectro y distribuciones de luz LED (blanca, azul, roja o mixtas) para determinar su efecto sobre la tasa de crecimiento, la eficiencia fotosintética y la acumulación de compuestos bioactivos.

Analizar el impacto del tipo y calidad de nutrientes

Comparar medios de grado reactivo y de grado industrial permitirá determinar si es viable reducir costos sin comprometer la composición bioquímica de los cultivos, especialmente en sistemas de producción a mayor escala.

Selección de materiales estructurales

Evaluar otros materiales como alternativa en la construcción de fotobiorreactores, como acrílico, PVC transparente o policarbonato, fibra de vidrio e incluso vidrio, para mejorar durabilidad, transmisión térmica y lumínica y facilidad de limpieza.

Explorar el escalamiento del sistema

Realizar pruebas en volúmenes mayores ayudara a validar la estabilidad del control de las condiciones fisicoquímicas dentro del sistema.

Incrementar el número de réplicas experimentales

Se recomienda incrementar el número de réplicas biológicas en futuros experimentos, con el fin de fortalecer la robustez estadística y reducir la variabilidad asociada a los cultivos microalgales.

Incorporar la cuantificación de pigmentos

La medición de clorofilas y carotenoides aportaría información relevante sobre el estado fisiológico de los cultivos y permitiría relacionar condiciones ambientales con la calidad de biomasa.

Evaluar la aplicación directa en organismos acuícolas

Se recomienda realizar bioensayos con larvas de moluscos, crustáceos o peces para validar la eficiencia alimenticia de la biomasa producida en los sistemas y su efecto en supervivencia y crecimiento.

10 Referencias bibliográficas

- Abalde Alonso, J. E., Cid Blanco, A., Fidalgo Paredes, J. P., Torres Vaamonde, J. E., & Herrero López, C. (1995). *Microalgas: cultivo y aplicaciones*. Universidade da Coruña. Servizo de Publicacións.
<https://doi.org/10.17979/spudc.9788497497695>.
- Alvarado, C., & Favio, A. (2017). Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. Departamento de Eléctrica y Electrónica Ingeniería Electrónica. Diseño y construcción de un fotobiorreactor para producir biocombustible a partir de microalgas.
- Aravind, S., Barik, D., Ragupathi, P., & Vignesh, G. (2020). Investigation on algae oil extraction from algae *Spirogyra* by soxhlet extraction method. *Materials Today: Proceedings*, 43.
<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.11.668>
- Aritaki, Y., Yamamoto, S., Mishima, T., Tsutsui, N., & Yoshimatsu, T. (2019). Effect of different salinities on the nutritional value of *Rhodomonas sp.* (Hf-1 strain). *Aquaculture science*, 67(3).
<https://doi.org/10.11233/aquaculturesci.67.271>.
- AST ingeniería S. L. (2013). Aplicaciones de las microalgas: estado de la técnica. *Journal of chemical information and modeling*.
- Aussant, J., Guihéneuf, F., & Stengel, D. B. (2018). Impact of temperature on fatty acid composition and nutritional value in eight species of microalgae. *Applied microbiology and biotechnology*, 102(12).
<https://doi.org/10.1007/s00253-018-9001-x>.
- Barsanti, L., & Gualtieri, P. (2014). *Algae: anatomy, biochemistry, and*

biotechnology: second edition. <https://doi.org/10.1201/b16544>.

Bhattacharjya, R., Kiran Marella, T., Tiwari, A., Saxena, A., Kumar Singh, P., & Mishra, B. (2020). Bioprospecting of marine diatoms *Thalassiosira*, *Skeletonema* and *Chaetoceros* for lipids and other value-added products. *Bioresource Technology*, 318. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124073>.

Bradford, R. (1976). Determinación de proteínas: método de Bradford.

Becker, E. W. (2013). Microalgae for human and animal nutrition. In handbook of microalgal culture: Applied phycology and biotechnology: Second edition. <https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch25>

Becker, E. W. (2007). Micro-algae as a source of protein. In *biotechnology advances* (Vol. 25, Issue 2). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.11.002>

Benner, P., Meier, L., Pfeffer, A., Krüger, K., Oropeza Vargas, J. E., & Weuster-Botz, D. (2022). Lab-scale photobioreactor systems: principles, applications, and scalability. In *bioprocess and biosystems engineering* (Vol. 45, Issue 5). <https://doi.org/10.1007/s00449-022-02711-1>

Belmonte Romo, A. E. (2025). Evaluación de respuestas fisiológicas en *Totoaba macdonaldi* alimentada con dietas bajas en ácido araquidónico. CICESE Repositorio Institucional. <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/handle/1007/4254>

Bischoff, A. A., Kubitz, M., Wranik, C. M., Ballesteros-redondo, L., Fink, P., & Palm, H. W. (2022). The effect of *Brachionus calyciflorus* (rotifera) on

- larviculture and fatty acid composition of pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) cultured under pseudo-green water conditions. Sustainability (Switzerland), 14(11). <https://doi.org/10.3390/su14116607>
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). Issued by the national research council of canada a rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian journal of biochemistry and physiology, 37(8).
- Borowitzka, M. A. (1999). Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. Journal of biotechnology, 70(1–3). [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(99\)00083-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(99)00083-8)
- Brown, M., & Robert, R. (2002). Preparation and assessment of microalgal concentrates as feeds for larval and juvenile pacific oyster (*crassostrea gigas*). Aquaculture, 207(3–4). [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00742-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00742-6)
- Chang, C., & Gupta, P. (2023). Valorization of lignin to obtain platform chemicals via bio-electrochemical systems: batch and fed-batch mode analysis. Journal of chemical technology and biotechnology, 98(5). <https://doi.org/10.1002/jctb.7349>.
- Figuerola-Torres, G. M., Pittman, J. K., & Theodoropoulos, C. (2022). A highly productive mixotrophic fed-batch strategy for enhanced microalgal cultivation. Sustainable energy and fuels, 6(11). <https://doi.org/10.1039/d2se00124a>.
- Derbel, H., Elleuch, J., Mahfoudh, W., Michaud, P., Fendri, I., & Abdelkafi, S. (2023). In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of bioactive proteins and peptides from *Rhodomonas sp.* Applied sciences

- (Switzerland), 13(5). <https://doi.org/10.3390/app13053202>.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3). <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>.
- Dunstan, G. A., Brown, M. R., & Volkman, J. K. (2005). Cryptophyceae and rhodophyceae; chemotaxonomy, phylogeny, and application. *Phytochemistry*, 66(21). <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.08.015>.
- Durmaz, Y., & Erbil, G. Ç. (2020). Comparison of industrial-scale tubular photobioreactor to FRP (fiberglass reinforced plastic) panel photobioreactor on outdoor culture of *Nannochloropsis oculata* in the marine hatchery. *Ege journal of fisheries and aquatic sciences*, 37(3). <https://doi.org/10.12714/egejfas.37.3.13>.
- Esakkimuthu, S., Siddiqui, S. A., Cherif, M., & Saadaoui, I. (2024). Exploring strategies to enhance microalgae nutritional quality for functional poultry-sourced food products. In *bioresource technology reports* (Vol. 25). <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101746>
- Escobedo, J., Calderón, C., Jimenez Escobedo, M., & Castillo Calderón, A. (2021). Biomasa microalgal con alto potencial para la producción de biocombustibles. *Scientia agropecuaria*, 12(2).
- Ferreira, S. P., Soares, L. de S., & Costa, J. A. Vieira. (2013). Revisão: microalgas: uma fonte alternativa na obtenção de ácidos gordos essenciais review: microalgae: an alternative source to obtain essential

fatty acids. *Revista de Ciências Agrárias*, 36(3).

- Fichtbauer, A., Temmink, R. J. M., & la Russa, M. (2023). Controlling the nitrogen environment for optimal *Rhodomonas salina* production. *Journal of applied phycology*, 35(4). <https://doi.org/10.1007/s10811-023-03020-0>
- Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of biological chemistry*, 226(1), 497–509. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5)
- Griffiths, M. J., van Hille, R. P., & Harrison, S. T. L. (2010). Selection of direct transesterification as the preferred method for assay of fatty acid content of microalgae. *Lipids*, 45(11). <https://doi.org/10.1007/s11745-010-3468-2>.
- Gómez-Cardozo, J. R., Velasco-Bucheli, R., Marín-Pareja, N., Ruíz-Villadiego, O. S., Correa-Londoño, G. A., & Mora-Martínez, A. L. (2020). Fed-batch production and characterization of polyhydroxybutyrate by *bacillus megaterium* lvn01 from residual glycerol. *DYNA (Colombia)*, 87(214). <https://doi.org/10.15446/DYNA.V87N214.83523>.
- Guevara, M., Arredondo-Vega, B. O., Palacios, Y., Saéz, K., & Gómez, P. I. (2016). Comparison of growth and biochemical parameters of two strains of *Rhodomonas salina* (Cryptophyceae) cultivated under different combinations of irradiance, temperature, and nutrients. *Journal of applied phycology*, 28(5). <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0835-2>.

- Guevara, M., Bastardo, L., Cortez, R., Arredondo-Vega, B., Romero, L., & Gómez, P. (2011). Pastas de *Rhodomonas salina* (Cryptophyta) como alimento para *Brachionus plicatilis* (Rotifera). In Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN (Vol. 59, Issue 4).
- Guillard, R. R., & Ryther, J. H. (1962). Studies of marine planktonic diatoms. *I. Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Grun. Canadian journal of microbiology, 8. <https://doi.org/10.1139/m62-029>
- Guldhe, A., Ansari, F. A., Singh, P., & Bux, F. (2017). Heterotrophic cultivation of microalgae using aquaculture wastewater: a biorefinery concept for biomass production and nutrient remediation. Ecological engineering, 99. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.013>
- Hernández-Pérez, A., & Labbé, J. I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. Revista de biología marina y oceanografía (Vol. 49, Issue 2). <https://doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>
- Heydari, S. J., Jafari, A., Mousavi, S. M., & Abdi Khanghah, M. (2024). Numerical study of microalgae cultivation process in a batch liquid foam-bed photobioreactor using CFD approach. Renewable energy, 223. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2024.120054>.
- Huang, Q., Jiang, F., Wang, L., & Yang, C. (2017). Design of photobioreactors for mass cultivation of photosynthetic organisms. Engineering, 3(3). <https://doi.org/10.1016/J.ENG.2017.03.020>.
- Innes, J. K., & Calder, P. C. (2018). Omega-6 fatty acids and inflammation. In prostaglandins leukotrienes and essential fatty acids (Vol. 132). <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2018.03.004>.

- Ismailov, A. S., & Jo'rayev, Z. B. (2022). Study of arduino microcontroller board. "Science and education" scientific journal, 3(3).
- Jones, D. B. (1932). Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of protein. In british food journal (Vol. 34, Issue 1). <https://doi.org/10.1108/eb011242>.
- Kerner, M., Gebken, T., Sundarrao, I., Hindersin, S., & Sauss, D. (2019). Development of a control system to cover the demand for heat in a building with algae production in a bioenergy façade. Energy and buildings, 184. <https://doi.org/10.1016/j.enbuild.2018.11.030>.
- Kim, K.-H. (2014). International conference on sustainable building Asia a feasibility study of an algae façade system. International conference on sustainable building Asia, Doe 2010.
- Kjeldahl, J. (1883). Neue methode zur bestimmung des stickstoffs in organischen körpern. Zeitschrift für analytische chemie, 22(1). <https://doi.org/10.1007/BF01338151>.
- Mansa, R. F., Tahir, A., Hua, L. M., Dayou, J., & Sipaut, C. S. (2012). Design of a pilot scale outdoor photobioreactor for mass cultivation of local microalga. International journal of engineering and physical sciences 6, 6, 348–352.
- Mahalakshmi, S., Ruby, P., & Antony, C. (2022). Role of microalgae and microalgae paste in larval nutrition 38 |P a g e role of microalgae and microalgae paste in larval nutrition. Dr. J. Jayalalithaa Fisheries University, 3. www.vigyanvarta.com
- Markou, G., Angelidaki, I., & Georgakakis, D. (2012). Microalgal

carbohydrates: an overview of the factors influencing carbohydrates production, and of main bioconversion technologies for production of biofuels. In *applied microbiology and biotechnology* (Vol. 96, Issue 3). <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4398-0>.

Martino, A., Montero, D., Roo, J., Holt, W. V., Lavorano, S., Narizzano, R., & Otero Ferrer, F. (2023). Live microalgae-based diets as enrichment to improve the nutritional profile of the calanoid copepod *Acartia tonsa* (Dana, 1849) nauplii. *Aquaculture research*, 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/6622009>

Mehariya, S., Goswami, R. K., Karthikeysan, O. P., & Verma, P. (2021). Microalgae for high-value products: a way towards green nutraceutical and pharmaceutical compounds. *Chemosphere*, 280. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130553>.

Minihane, B. J., & Brown, D. E. (1986). Fed-batch culture technology. In *biotechnology advances* (Vol. 4, Issue 2). [https://doi.org/10.1016/0734-9750\(86\)90309-5](https://doi.org/10.1016/0734-9750(86)90309-5).

Mongomery, D. C. (2017). *Montgomery: Design and analysis of experiments*. In John Willy & Sons.

Monkonsit, S., Powtongsook, S., & Pavasant, P. (2011). Comparison between airlift photobioreactor and bubble column for *Skeletonema costatum* cultivation. *Engineering journal*, 15(4). <https://doi.org/10.4186/ej.2011.15.4.53>

Muller-Feuga, A., Robert, R., Cahu, C., Robin, J., & Divanach, P. (2003). Uses of microalgae in aquaculture. In *live feeds in marine aquaculture*.

<https://doi.org/10.1002/9780470995143.ch7>.

- Munir. (2023). Screening of lipid contents of microalgae by optimization of oil extraction processes. *Pakistan journal of science*, 68(1). <https://doi.org/10.57041/pjs.v68i1.163>.
- Negev, E., Yezioro, A., Polikovsky, M., Kribus, A., Cory, J., Shashua-Bar, L., & Golberg, A. (2019). Algae window for reducing energy consumption of building structures in the mediterranean city of Tel-Aviv, Israel. In *energy and buildings* (Vol. 204). <https://doi.org/10.1016/j.enbuild.2019.109460>.
- Ladygina, L. v., & Pirkova, A. v. (2022). Growth of cryptophyte *Rhodomonas salina* and its accumulation of phycoerythrin, as a function of the nitrogen concentration in the culture medium. *International journal on algae*, 24(3). <https://doi.org/10.1615/interjalgae.v24.i3.50>.
- Latsos, C., van Houcke, J., Blommaert, L., Verbeeke, G. P., Kromkamp, J., & Timmermans, K. R. (2021). Effect of light quality and quantity on productivity and phycoerythrin concentration in the cryptophyte *Rhodomonas sp.* *Journal of applied phycology*, 33(2). <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02338-3>.
- Latsos, C., van Houcke, J., & Timmermans, K. R. (2020). The effect of nitrogen starvation on biomass yield and biochemical constituents of *Rhodomonas sp.* *Frontiers in marine science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.563333>.
- Latsos, C., Wassenaar, E., Moerdijk, T., Coleman, B., Robbens, J., van Roy, S., Bastiaens, L., van Houcke, J., & Timmermans, K. R. (2022). Effect

of pH on *Rhodomonas salina* growth, biochemical composition, and taste, produced in semi-large scale under sunlight conditions. Journal of applied phycology, 34(3). <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02730-1>

Li, D., Chen, N., Zhou, Z., Zhong, C., Fang, J., Huang, L., Sun, H., Chi, C., Zhou, Y., & He, Y. (2023). *Isochrysis sp.* cultivation in pilot-scale to concurrently produce sustainable triacylglycerols for human milk fat substitutes and fucoxanthin. Algal research, 69. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102937>

Li, M., Callier, M. D., Blancheton, J. P., Galès, A., Nahon, S., Triplet, S., Geoffroy, T., Menniti, C., Fouilland, E., & Roque d'orbcastel, E. (2019). Bioremediation of fishpond effluent and production of microalgae for an oyster farm in an innovative recirculating integrated multi-trophic aquaculture system. Aquaculture, 504. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.013>.

Ljubic, A., Holdt, S. L., Jakobsen, J., Bysted, A., & Jacobsen, C. (2021). Fatty acids, carotenoids, and tocopherols from microalgae: targeting the accumulation by manipulating the light during growth. Journal of applied phycology, 33(5). <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02503-2>.

Oostlander, P. C., van Houcke, J., Wijffels, R. H., & Barbosa, M. J. (2020). Growth and fatty acid content of *Rhodomonas sp.* under day:night cycles of light and temperature. Algal research, 51. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102034>.

Parrish, C. C., Nichols, P. D., Pethybridge, H., & Young, J. W. (2015). Direct

determination of fatty acids in fish tissues: quantifying top predator trophic connections. *Oecologia*, 177(1). <https://doi.org/10.1007/s00442-014-3131-3>

Ponnumsamay, V. K., Al-Hazmi, H. E., Shobana, S., Dharmaraja, J., Jadhav, D. A., J. R. B., Piechota, G., Iglński, B., Kumar, V., Bhatnagar, A., Chae, K. J., & Kumar, G. (2024). A review on homogeneous and heterogeneous catalytic microalgal lipid extraction and transesterification for biofuel production. *Chinese journal of catalysis*, 59, 97–117. [https://doi.org/10.1016/S1872-2067\(23\)64626-1](https://doi.org/10.1016/S1872-2067(23)64626-1).

Qiu, R., Gao, S., Lopez, P. A., & Ogden, K. L. (2017). Effects of pH on cell growth, lipid production and CO₂ addition of microalgae *Chlorella sorokiniana*. *Algal research*, 28. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.004>.

Ramos, C. de O., da Silva, F. C., Gray, M., Gomes, C. H. A. de M., & de Melo, C. M. R. (2022). Effect of water recirculation rate and initial stocking densities on competent larvae and survival of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in a recirculation aquaculture system. *Aquaculture international*, 30(4). <https://doi.org/10.1007/s10499-022-00896-6>.

Remize, M., Brunel, Y., Silva, J. L., Berthon, J. Y., & Filaire, E. (2021). Microalgae n-3 PUFAs production and use in food and feed industries. In *marine drugs* (Vol. 19, Issue 2). <https://doi.org/10.3390/MD19020113>

Ren, X., Liu, Y., Fan, C., Hong, H., Wu, W., Zhang, W., & Wang, Y. (2022). Production, processing, and protection of microalgal n-3 PUFA-Rich Oil. In *foods* (Vol. 11, Issue 9). <https://doi.org/10.3390/foods11091215>.


- Rodríguez Pesantes, D., Lodeiros, C., Revilla, J., Márquez, A., & Sonnenholzner, S. (2020). Tratamiento físico-químico del agua para el cultivo larvario y el asentamiento de la ostra del pacífico *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1975). *AquaTechnica: revista Iberoamericana de acuicultura.*, 2(1). <https://doi.org/10.33936/at.v2i1.2414>
- Sathinathan, P., Parab, H. M., Yusoff, R., Ibrahim, S., Vello, V., & Ngoh, G. C. (2023). Photobioreactor design and parameters essential for algal cultivation using industrial wastewater: A review. In *renewable and sustainable energy reviews* (Vol. 173). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.113096>.
- Sayar, M., & Eryalçın, K. M. (2024). Investigation of growth performance, proximate and fatty acid composition of freshwater (*Euglena gracilis*, *Chlorella vulgaris*) and Marine (*Pavlova lutheri*, *Diacronema vikanium*) microalgae. *Aquatic sciences and engineering*, 39(1), 8–16. <https://doi.org/10.26650/ASE20241303511>.
- Shitanaka, T., Fujioka, H., Khan, M., Kaur, M., Du, Z. Y., & Khanal, S. K. (2024). Recent advances in microalgal production, harvesting, prediction, optimization, and control strategies. In *bioresource technology* (Vol. 391). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129924>.
- Siddik, M. A. B., Sørensen, M., Islam, S. M. M., Saha, N., Rahman, M. A., & Francis, D. S. (2024). Expanded utilisation of microalgae in global aquafeeds. In *reviews in aquaculture* (Vol. 16, Issue 1). <https://doi.org/10.1111/raq.12818>

- Soto-Sánchez, O., Hidalgo, P., González, A., Oliveira, P. E., Hernández Arias, A. J., & Dantagnan, P. (2023). Microalgae as raw materials for aquafeeds: growth kinetics and improvement strategies of polyunsaturated fatty acids production. In aquaculture nutrition (Vol. 2023). <https://doi.org/10.1155/2023/5110281>.
- Sündermann, A., Eggers, L. F., & Schwudke, D. (2016). Liquid extraction: Bligh and Dyer. Encyclopedia of lipidomics, 1–4. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7864-1_88-1.
- Suparyanto dan Rosad. (2020). Arduino IDE. *Electrices*, 5(3).
- Takagi, A., Nagao, M., Uejima, Y., Sasaki, D., & Asayama, M. (2023). Efficient pH and dissolved CO₂ conditions for indoor and outdoor cultures of green alga *Parachlorella*. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1233944>.
- Talaei, M., & Prieto, A. (2024). A review on performance of sustainable microalgae photobioreactor façades technology: exploring challenges and advantages. In architectural science review. Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/00038628.2024.2305889>.
- Teja, G., Rao, P. Y., & Sirisha, I. R. (2023). Biochemical profile of five species of cultured marine microalgae. *Journal of biological sciences*, 16(3). <https://doi.org/10.54319/jjbs/160312>
- Tibbetts, S. M., Milley, J. E., & Lall, S. P. (2015). Chemical composition and nutritional properties of freshwater and marine microalgal biomass cultured in photobioreactors. *Journal of applied phycology*, 27(3). <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0428-x>

- Tonon, T., Harvey, D., Larson, T. R., & Graham, I. A. (2002). Long chain polyunsaturated fatty acid production and partitioning to triacylglycerols in four microalgae. *Phytochemistry*, 61(1). [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00201-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00201-7).
- Tredici, M. R. (2003). Mass production of microalgae: photobioreactors. In handbook of microalgal culture. <https://doi.org/10.1002/9780470995280.ch9>.
- Umdu, E. S., & Univ, Y. (2020). Building integrated photobioreactor. In bio-based materials and biotechnologies for eco-efficient construction. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819481-2.00012-X>
- Uyar, B., Ali, M. D., & Uyar, G. E. O. (2024). Design parameters comparison of bubble column, airlift and stirred tank photobioreactors for microalgae production. *Bioprocess and biosystems engineering*, 47(2). <https://doi.org/10.1007/s00449-023-02952-8>.
- Villa-Franco, A. U., dela Peña, M. R., & Nievaes, M. F. J. (2022). Grazing periodicity, grazing rate, feeding preference, and gut examination of early juveniles of abalone *Haliotis asinina*–fed five benthic diatom species. *Aquaculture international*, 30(5). <https://doi.org/10.1007/s10499-022-00906-7>
- Concepción, M., & Vilchis, L. (200 C.E.). Cryptophyte: biology, culture, and biotechnological applications. www.intechopen.com.
- Valenzuela-Espinoza, E., Lafarga-De la Cruz, F., Millán-Núñez, R., & Núñez-Cebrero, F. (2005). Crecimiento, consumo de nutrientes y composición proximal de *Rhodomonas sp.* cultivada con medio f/2 y fertilizantes

agrícolas. Ciencias marinas, 31(1A), 79-89.

- Valera, S. J. (2016). Aislamiento y caracterización bioquímica de microalgas de Baja California como alternativas para la producción de lípidos (Doctoral dissertation, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada).
- Vital Carrillo, M. (2021). Arduino Introduction. Publicación semestral, 9(17).
- Wang, B., Lan, C. Q., & Horsman, M. (2012). Closed photobioreactors for production of microalgal biomasses. In *biotechnology advances* (Vol. 30, Issue 4). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.01.019>.
- Whyte, J. N. C. (1987). Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves. *Aquaculture*, 60(3–4). [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(87\)90290-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(87)90290-0).
- Wiktorowska-Owczarek, A., Berezińska, M., & Nowak, J. Z. (2015). PUFAs: Structures, metabolism and functions. In *advances in clinical and experimental medicine* (Vol. 24, Issue 6). <https://doi.org/10.17219/acem/31243>.
- Xin, Y., Wu, S., Miao, C., Xu, T., & Lu, Y. (2024). Towards lipid from microalgae: products, biosynthesis, and genetic engineering. In *life* (Vol. 14, Issue 4). Multidisciplinary digital publishing institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/life14040447>.
- Yamamoto, S., Yamato, R., & Yoshimatsu, T. (2018). Optimum culture conditions of *Rhodomonas* sp. Hf-1 strain as a live food for aquatic animals. *Fisheries science*, 84(4). <https://doi.org/10.1007/s12562-018-1201-x>

- Yang, Y., Du, L., Hosokawa, M., & Miyashita, K. (2020). Total lipids content, lipid class and fatty acid composition of ten species of microalgae. *Journal of Oleo Science*, 69(10). <https://doi.org/10.5650/jos.ess20140>.
- Zhang, J. X., Ran, Z. S., Xie, H. X., Kong, F., Zhang, M. Q., Zhou, Y., Li, Y. R., Liao, K., Yan, X. J., & Xu, J. L. (2023). A systematic analysis and evaluation of nutritional composition of 23 strains of marine microalgae commonly used in aquaculture. *Algal research*, 72, 103122. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2023.103122>.
- Zhou, J., Wang, M., Saraiva, J. A., Martins, A. P., Pinto, C. A., Prieto, M. A., Simal-Gandara, J., Cao, H., Xiao, J., & Barba, F. J. (2022). Extraction of lipids from microalgae using classical and innovative approaches. *Food chemistry*, 384. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132236>.
- Zittelli, G. C., Biondi, N., Rodolfi, L., & Tredici, M. R. (2013). Photobioreactors for mass production of microalgae. In *handbook of microalgal culture: applied phycology and biotechnology: second edition*. <https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch13.10.->
- 

4. ANEXOS

Anexo 1. Medio de cultivo f/2 Guillard

Tabla A1. Composición molar del medio de cultivo f/2 Guillard.

Solución A: Solución de nitrato y fosfato (1 L)		
Nutrientes	Concentración final (M)	Cantidad (g/L)
NaNO ₃	0.99	84.15
Na ₂ HPO ₄ ·H ₂ O	0.042	6.00
FeCl ₃ ·6H ₂ O	0.011	2.90
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	0.027	10.00
Solución B: Solución de silicato (1 L)		
Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	0.116 M	33.00
Solución C: Solución de oligoelementos (1 L)		
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.0078 M	1.96
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.015 M	4.40
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.0052 M	1.26
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.182 M	36.00
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.0084 M	2.00
Solución D: Solución de vitaminas (1 L)		
Vitamina B1	0.0012 M	0.40
Vitamina B12	0.00000148 M	0.002 mg
Biotina	0.00041 M	0.10 mg

Anexo 2. Código del controlador Arduino para el fotobiorreactor:

El primer paso en la programación fue la inclusión de librerías, las cuales son paquetes de acciones predefinidas que facilitan la comunicación con distintos componentes del sistema. Las librerías utilizadas fueron **SD.h**, **LiquidCrystal_I2C.h**, **Wire.h**, **OneWire.h** y **DallasTemperature.h**, que permiten gestionar la tarjeta SD, la pantalla LCD con interfaz I²C y los sensores de temperatura digitales DS18B20, respectivamente.

```
#include <SD.h>
#include <LiquidCrystal_I2C.h>
#include <Wire.h>
#include <OneWire.h>
#include <DallasTemperature.h>
```

Posteriormente se definieron las constantes asociadas a los pines de entrada/salida y las variables globales del programa.

El pin analógico A0 se destinó al sensor de pH, el pin analógico A1 al sensor de luz (LDR), el pin digital 3 a la comunicación con los sensores de temperatura DS18B20 mediante el protocolo **OneWire**, y el pin digital 2 al control del relevador que acciona la válvula.

Se declararon también variables para manejar el tiempo interno (en milisegundos y en formato día-hora-minutos-segundos), así como variables para almacenar las lecturas de pH, temperatura y luz. Estas variables globales se utilizan en varias funciones a lo largo del programa.

```
// Pines y constantes
#define SensorPin A0
#define LDR_pin A1
const int pinDatosDQ = 3;
const int relay = 2;
```

```

// Variables globales
File ArchivoCSV;
unsigned long tiempo;
unsigned long tiempo2 = 0;
unsigned long tiempoEscritura = 0;
unsigned long tiempoLectura = 0;

int segundos = 0;
int minutos = 0;
int horas = 0;
int dia = 0;

int buff[10], temp;
unsigned long int avgValue;
float ph_act;
double LDR_var = 0;
float temp1 = 0;
float temp2 = 0;

LiquidCrystal_I2C lcd(0x27, 20, 4);
OneWire oneWireObjeto(pinDatosDQ);
DallasTemperature sensorDS18B20(&oneWireObjeto);

```

En la función **void setup()** se realizó la configuración inicial del sistema. Se inicializó la pantalla LCD (encendido y borrado), se configuró el pin del relevador como salida, se estableció la comunicación serie a 9600 baudios para monitoreo, y se activó la comunicación con los sensores DS18B20.

Adicionalmente, se verificó el acceso a la tarjeta SD con la instrucción **Serial.begin(10)**. En caso de fallo, el sistema envía un mensaje de error por el monitor serie y detiene el flujo normal del registro de datos.

```

void setup() {
  lcd.init();
  lcd.backlight();
  lcd.clear();
  pinMode(relay, OUTPUT);
  Serial.begin(9600);
  sensorDS18B20.begin();
}

```

```

Serial.println("Accediendo a tarjeta SD...");
if (!SD.begin(10)) {
  Serial.println("Error al acceder a tarjeta SD.");
  return;
}
Serial.println("Acceso correcto a tarjeta SD.");
}

```

El bucle principal, definido en la función **void loop()**, se ejecuta de manera continua durante todo el experimento.

En cada iteración se actualiza el tiempo interno mediante **millis()** y se llama a la función **TIEMPO()** para mantener un reloj en formato día-hora-minuto-segundo.

Además, se programaron dos intervalos de trabajo:

- Cada 2 segundos se realizan las lecturas de pH, temperatura y luz, y se actualizan la pantalla LCD y el monitor serie.
- Cada 10 minutos se ejecuta la función **ESCRITURA()**, que almacena los datos en la tarjeta SD.

```

void loop() {
  tiempo = millis();
  TIEMPO();

  if (tiempo - tiempoLectura >= 2000) {
    tiempoLectura = tiempo;
    PH();
    TEMPERATURA();
    LUZ();
    MOSTRAR_LCD();
    MOSTRAR_SERIAL();
  }

  if (tiempo - tiempoEscritura >= 600000) { // Cada 10 minutos
    tiempoEscritura = tiempo;
    ESCRITURA();
  }
}

```

La función **TIEMPO()** implementa un reloj interno basado en el tiempo transcurrido desde que se enciende el sistema. Cada 2 segundos incrementa el contador de segundos y, cuando corresponde, ajusta minutos, horas y días. Esta información se muestra en la primera línea de la pantalla LCD, permitiendo conocer el tiempo relativo del cultivo.

```
void TIEMPO() {
  if (tiempo - tiempo2 >= 2000) {
    tiempo2 = tiempo;
    segundos += 2;
    if (segundos >= 60) {
      segundos -= 60;
      minutos++;
      if (minutos >= 60) {
        minutos -= 60;
        horas++;
        if (horas >= 24) {
          dia++;
          horas = 0;
        }
      }
    }
  }
  lcd.setCursor(0, 0);
  lcd.print("Dia "); lcd.print(dia);
  lcd.print(", ");
  if (horas < 10) lcd.print("0"); lcd.print(horas); lcd.print(":");
  if (minutos < 10) lcd.print("0"); lcd.print(minutos); lcd.print(":");
  if (segundos < 10) lcd.print("0"); lcd.print(segundos);
}
}
```

La función **PH()** se encarga de leer el sensor de pH, filtrar el ruido de la señal, convertir el voltaje a unidades de pH mediante una calibración lineal y accionar la válvula controlada por el relevador.

Primero se toman 10 lecturas consecutivas del canal analógico, se ordenan y se promedian las lecturas centrales para obtener un valor de voltaje más estable. Posteriormente se aplica una calibración basada en dos puntos

(pH 7 y pH 10) para calcular el pH actual. Finalmente, si el pH es mayor o igual a 8.5, se activa el relevador (HIGH); en caso contrario, se desactiva, permitiendo mantener el pH dentro del rango deseado.

```
void PH() {
  for (int i = 0; i < 10; i++) buf[i] = analogRead(SensorPin);

  for (int i = 0; i < 9; i++) {
    for (int j = i + 1; j < 10; j++) {
      if (buf[i] > buf[j]) {
        temp = buf[i]; buf[i] = buf[j]; buf[j] = temp;
      }
    }
  }

  avgValue = 0;
  for (int i = 2; i < 8; i++) avgValue += buf[i];
  float volt = (float)avgValue * 5.0 / 1024 / 6;

  // Calibración - Cambia estos valores si tus buffers cambian
  float V7 = 3.180; // Voltaje medido con buffer pH 7
  float V10 = 2.670; // Voltaje medido con buffer pH 10
  float m = (10.0 - 7.0) / (V10 - V7); // pendiente
  float b = 7.0 - m * V7; // intersección

  // Calibración lineal con datos de pH 7 y pH 10
  ph_act = m * volt + b;

  // Control de la válvula
  digitalWrite(relay, ph_act >= 8.5? HIGH : LOW);
}
```

La función **TEMPERATURA()** utiliza la librería **DallasTemperature** para obtener la temperatura desde dos sensores DS18B20 conectados al mismo bus **OneWire**. Primero se solicita la actualización de las mediciones y luego se recuperan las temperaturas en °C para cada sensor, identificados como índice 0 y 1.

```
void TEMPERATURA() {  
  sensorDS18B20.requestTemperatures();  
  temp1 = sensorDS18B20.getTempCByIndex(0);  
  temp2 = sensorDS18B20.getTempCByIndex(1);  
}
```

La función **LUZ()** lee el valor analógico del sensor de luz (LDR) y aplica una ecuación de calibración lineal para expresar la señal en unidades aproximadas de iluminancia (lux). Este valor se utiliza tanto para visualización como para registro de datos.

```
void LUZ() {  
  LDR_var = analogRead(LDR_pin);  
  LDR_var = -0.7348 * LDR_var + 430.6;  
}
```

La función **MOSTRAR_LCD()** actualiza la pantalla LCD con las variables más importantes del sistema. En la segunda línea se muestra el pH, en la tercera las temperaturas de los dos sensores DS18B20 (T1 y T2), y en la cuarta línea la intensidad luminosa en lux.

Se incluye una condición para detectar lecturas de error de los sensores de temperatura (por ejemplo, -127 °C) y sustituirlas por un valor

marcador (-999) en la visualización.

```
void MOSTRAR_LCD() {  
  lcd.setCursor(0, 1);  
  lcd.print("pH: "); lcd.print(ph_act); lcd.print("    ");  
  
  lcd.setCursor(0, 2);  
  lcd.print("T1: "); lcd.print(temp1 != -127.00 ? temp1 : -999); lcd.print("C ");  
  lcd.setCursor(10, 2);  
  lcd.print("T2: "); lcd.print(temp2 != -127.00 ? temp2 : -999); lcd.print("C");  
  
  lcd.setCursor(0, 3);  
  lcd.print("Lux: "); lcd.print(LDR_var); lcd.print("    ");  
}
```