

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/262560081>

Tecnología de Cultivo de Microalgas en Fotobiorreactores

Article · January 2012

CITATIONS

18

READS

22,435

5 authors, including:



Roberto Benavente-Valdés

Autonomous University of Coahuila

20 PUBLICATIONS 298 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Julio C. Montanez

Autonomous University of Coahuila

92 PUBLICATIONS 3,489 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Cristobal N Aguilar

Autonomous University of Coahuila

858 PUBLICATIONS 23,498 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Alejandro Méndez Zavala

Autonomous University of Coahuila

38 PUBLICATIONS 1,214 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

TECNOLOGÍA DE CULTIVO DE MICROALGAS EN FOTOBIORREACTORES

J. R. Benavente-Valdés^{1*}, J. C. Montañez², C. N. Aguilar¹, A. Méndez-Zavala³, B. Valdivia¹

¹*Departamento de Investigación en Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila. Boulevard Venustiano Carranza, 25280. Saltillo, Coahuila, México.*

²*Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila. Boulevard Venustiano Carranza, 25280. Saltillo, Coahuila, México.*

³*Centro Kappa de Conocimiento, S.C. Querétaro No. 434, Col. República Ote., Saltillo, Coahuila, 25280, México.*

**Correo electrónico: roberto.benavente@uadec.edu.mx*

RESUMEN

El cultivo de microorganismos fotoautotróficos como las microalgas, se ha llevado a cabo en fotobiorreactores (FBR), los cuales tienen múltiples diseños. Los avances tecnológicos en el diseño de estos sistemas han permitido mejorar notablemente la densidad celular, la productividad y por ende la economía de los cultivos para distintos fines. En este trabajo se revisan los diferentes factores de cultivo que influyen en el crecimiento de las microalgas y en la producción de metabolitos (luz, temperatura, pH, nutrientes, transferencia gaseosa, turbulencia y mezclado), así como también los principales aspectos para el diseño de fotobiorreactores. De la misma manera se presentan las principales aplicaciones de los diferentes diseños de fotobiorreactores en la producción de compuestos de alto valor agregado y su uso potencial en la biotecnología ambiental.

1. INTRODUCCIÓN

Las algas son de gran importancia ambiental ya que fijan más del 40% del carbón de la tierra, además de ofrecer a la biósfera una considerable proporción de oxígeno. Su importancia ecológica radica en su abundancia, su extrema biodiversidad y la habilidad de sobrevivir en una variedad de ambientes, desde los muy extremos, como los suelos desérticos hasta ambientes moderados, como lagos de agua dulce y océanos (Norton y col., 1996). Las algas son muy atractivas para el propósito de producir varios compuestos de interés comercial ya que no tienen que competir con tierras de cultivo y pueden hacer uso de residuos como fuente de nutrientes. Las macroalgas o algas marinas son utilizadas para consumo humano y para la producción de alginatos, agar y carragenina (Gunstheimer y Jahreis, 1998), mientras que las microalgas son de gran interés para la producción de compuestos de alto valor agregado y de interés comercial como la astaxantina y el β -caroteno, luteína, cantaxantina y clorofila (Quin y col., 2008). Éstas últimas son actualmente una fuente de pigmentos, biodiesel y productos de gran interés comercial (Bitog y col., 2009).

Las microalgas son un grupo diverso de microorganismos fotosintéticos con una estructura simple lo que permite el rápido crecimiento celular y por lo tanto una mayor producción de biomasa (Li y Huang, 2009). Por esta razón, las microalgas son llamados microorganismos fotoautótrofos, siendo la luz su principal fuente de energía y el dióxido de carbono (CO_2) su principal fuente de carbono (Martin, 2010). La composición de la biomasa es determinante para la clasificación de las especies de acuerdo a su función y sus productos, la cual está constituida por tres principales compuestos: carbohidratos, proteínas y lípidos. Además, estos microorganismos son capaces de producir antibióticos, pigmentos, esteroides y otros compuestos haciendo solo uso de la luz solar, el dióxido de carbono y el agua de mar. Por ello, la biotecnología de microalgas ha ganado relevancia y un progreso considerable en las últimas décadas.

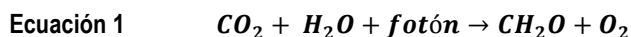
Una vez que el interés biotecnológico de muchos de estos microorganismos autótrofos ha sido reconocido, el siguiente paso es el desarrollo de bioprocesos que vinculen los descubrimientos científicos a las necesidades comerciales. El diseño y la optimización de biorreactores adecuados para cultivar estos microorganismos es una parte esencial de esta estrategia. Existen dos sistemas básicos para el cultivo de microorganismos fotoautotróficos (Grobelaar, 2000): a) Los sistemas abiertos en los que el cultivo está expuesto a la atmósfera y b) Los sistemas

cerrados, comúnmente denominados fotobiorreactores (FBR) en los que el cultivo tiene poco o ningún contacto con la atmósfera. Sin embargo, el perfeccionamiento de la tecnología de los sistemas abiertos hace tiempo llegó a su límite, restringiendo así el desarrollo de la biotecnología de microalgas (Barbosa y col., 2003; Contreras-Flores y col., 2003).

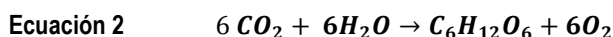
El éxito de la producción de biomasa y compuestos químicos por las microalgas dependen de gran forma del diseño de los fotobiorreactores. Un fotobiorreactor es un dispositivo técnico cerrado diseñado para producir microorganismos fotosintéticos en colaboración con los requerimientos óptimos de luz, mezclado, transferencia de momento, masa y calor (Pulz, 2001). Se refiere a un sistema cerrado, ya que este se encuentra asilado del medio ambiente sin intercambio de gases y fuentes de contaminación externas. Los FBR presentan mayores ventajas que los sistemas cerrados siendo el control de las condiciones de cultivo la de mayor importancia. Considerando también los factores económicos, los FBR son hoy en día reconocidos por su alta producción de biomasa y bajo costo comparados a los sistemas abiertos (Chisti, 2007). El crecimiento de las algas en un fotobiorreactor reduce el riesgo de contaminación, mejora la reproducibilidad de las condiciones de cultivo, brinda un mayor control de las condiciones hidrodinámicas y temperatura, además de permitir un diseño técnico apropiado (Singh y Sharma, 2012). Este diseño puede ser plano o tubular y adoptar una gran variedad de configuraciones y modos de operación, además de ofrecer una mayor productividad y calidad de la biomasa generada. Sin embargo, a pesar de la viabilidad de los FBR, los cuales han estado bajo condiciones de desarrollo durante la década pasada, solo algunos pueden ser utilizados para la producción de biomasa y metabolitos de interés. Por ello, el objetivo de este artículo de revisión es presentar de manera crítica información acerca de los distintos diseños de fotobiorreactores, así como de los factores de cultivo que afectan a las microalgas.

2. FOTOSÍNTESIS EN ALGAS

Primeramente es necesario comprender cómo se lleva a cabo el proceso fotosintético. La fotosíntesis es el proceso más importante en el metabolismo de las microalgas. Estas utilizan la energía solar para metabolizar el dióxido de carbono (CO_2) a metanal (CH_2O) liberando oxígeno molecular (O_2). Las moléculas de CH_2O constituyen los bloques responsables de la formación de moléculas de glucosa en las microalgas. La Ecuación 1 describe el proceso universal de la fotosíntesis.



En este proceso de fotosíntesis el CO_2 se metaboliza a compuestos orgánicos como azúcares utilizando la energía solar. La Ecuación 2 representa este proceso de manera general.



La luz es primeramente absorbida por la antena de pigmentos del fotosistema (PS) I y II. La energía absorbida es transferida al centro de reacción de clorofilas: P_{680} en el fotosistema II y P_{700} en el fotosistema I. La absorción de un fotón de luz por el fotosistema II remueve un electrón del P_{680} . Con la carga positiva resultante, el P_{680} es lo suficientemente electronegativo para remover un electrón de una molécula de agua. Cuando estos pasos ocurren cuatro veces, requieren de dos moléculas de agua, una molécula de oxígeno y cuatro protones (H^+) los cuales son liberados. Los electrones son transferidos a través de la plastoquinona al complejo citocromo b_6/f (Pq y Cit b/f en la Figura 1) donde se proporciona la energía para la quimiosíntesis. La activación del P_{700} en el fotosistema I permite recoger los electrones del complejo citocromo b_6/f (PC en la Figura 1) elevándolo a un alto potencial redox que, después de pasar por la ferredoxina (fd en la Figura 1), es capaz de reducir el NADP^+ a NADPH produciendo energía (Martin, 2010).

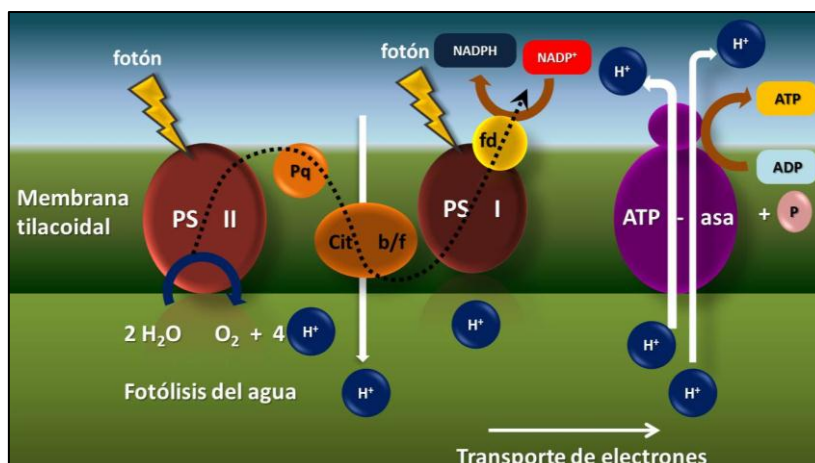


Figura 1. Diagrama esquemático de la fotosíntesis (Martin, 2010)

3. FACTORES DE CULTIVO QUE AFECTAN EL CRECIMIENTO Y LA ACUMULACIÓN DE METABOLITOS EN MICROALGAS

Existen diversas variables que afectan el crecimiento y la acumulación de metabolitos en las microalgas. Es importante determinar las condiciones óptimas de crecimiento, debido a que se conoce que la tasa de rendimiento (biomasa) para un mismo género de microalga puede ser diferente de acuerdo a su lugar de origen (Andersen, 2005). A continuación se presentan los distintos factores que afectan mayormente los cultivos de microalgas y sus efectos e interacciones en estos microorganismos en general.

3.1 Luz

La intensidad de la luz es uno de los factores más importantes para el crecimiento fotosintético de las microalgas. Los sistemas de cultivos de microalgas pueden ser iluminados por luz artificial, luz solar o ambas. Entre los sistemas de cultivo de algas con iluminación natural con grandes áreas de iluminación se encuentran los estanques abiertos, los llamados platos planos o flat plates, los airlift tubulares o de tipo serpentín y los de tipo inclinado, entre otros (Chisti, 2007). Los sistemas de biorreactores empleados a nivel laboratorio son iluminados interna o externamente por luz artificial con lámparas fluorescentes y diodos emisores de luz (light emitting diodes, LED) entre otros (Figura 2).

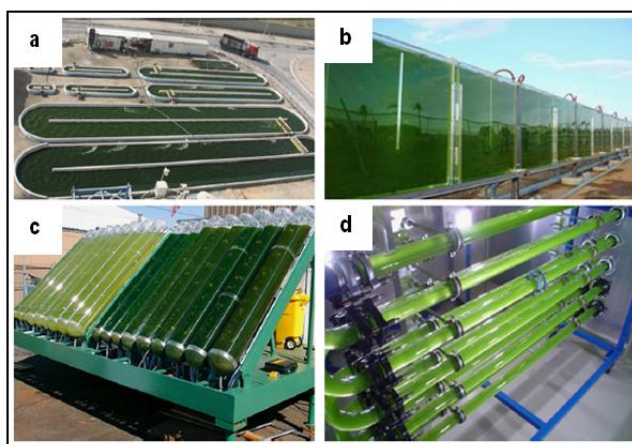


Figura 2. Fotobiorreactores utilizados en el cultivo de microalgas: (a) estanque abierto, (b) placa delgada, (c) tubular inclinado y (d) continuo horizontal (Bitog y col., 2009).

Para que la luz artificial sea de utilidad en el proceso fotosintético de las microalgas, los fotones generados deben encontrarse a una longitud de onda de entre los 600 y 700 nm. Al comparar distintas fuentes de luz artificial, incluyendo luz fría fluorescente, lámparas incandescentes, halógenas, AllnGap II (fosforo de indio, galio y aluminio, con una longitud de onda de 643 nm) y diodos emisores de luz (light emitting diodes, LED), se encontró que el LED del tipo AllnGap II son la fuente de luz más eficiente y económica para el crecimiento de microalgas (Kommareddy y Anderson, 2003). La tasa específica de crecimiento de las microalgas depende de la intensidad de la luz. El crecimiento de las microalgas se incrementa conforme la intensidad de luz aumenta. Cuando la tasa de crecimiento llega a su punto máximo, ésta disminuye con el incremento de la intensidad de la luz debido a la fotoinhibición (Bohne y Linden, 2002). Este patrón de crecimiento en relación con la intensidad de la luz se observa en la mayoría las especies de microalgas (Fábregas y col., 1998). Se ha reportado que la producción y acumulación de metabolitos de interés comercial se ve afectada por la radiación de luz blanca en algas, hongos y bacterias (Martin, 2010). Sin embargo, la intensidad y el régimen de la iluminación varían con el género de microalga.

Fábregas y col. (1998) estudiaron el efecto de la intensidad de la luz en la microalga *Haematococcus pluvialis*, observando que a una intensidad de 230 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ la acumulación de astaxantina fue mayor en comparación a la observada con una intensidad de 40 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$. De igual manera, Barbosa y col. (2004) mostraron un remarcado incremento en la concentración de astaxantina en *Haematococcus pluvialis* cuando se incrementó la intensidad de luz de 50 a 400 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La fotoinhibición es un proceso dependiente del tiempo, en el cual ocurre un daño irreversible pocos minutos después de iniciado el estrés por luz, con un daño que excede el 50 % después de 10 o 20 minutos (Pulz, 2001). Sin embargo, se han encontrado pocas referencias disponibles acerca de la fotoadaptación, la inhibición por luz o efectos de saturación en fotobiorreactores.

3.2 Nutrientes

El CO_2 es la fuente de carbono más utilizada en cultivos de microalgas. Al consumirse el carbono, el oxígeno es producido por fotólisis del agua y este es diluido en el medio de cultivo (Molina y col., 1999). Puesto que las microalgas pueden vivir bajo altas concentraciones de dióxido de carbono, los gases de invernadero, el dióxido de nitrógeno y contaminantes en la atmósfera (a partir de diversas fuentes) pueden ser nutrientes suficientes para las microalgas (Van Beilen, 2010). En el Cuadro 1, se muestra la tolerancia al CO_2 por diferentes especies de microalgas, en donde se observa que algunas especies como *Tetraselmis sp.*, *Chlamydomonas sp.*, y *Nannochloris sp.* necesitan una cantidad menor al 15 % de CO_2 para su crecimiento, mientras que especies como *Scenedesmus sp.* y *Cyanidium caldarium* toleran concentraciones desde un 80 hasta un 100% respectivamente (Ono y Cuello, 2003).

Cuadro 1. Concentración de CO_2 tolerable para diversas especies de microalgas (Ono y Cuello, 2003).

Especie	Tolerancia máxima de concentración de CO_2
<i>Cyanidium caldarium</i>	100%
<i>Scenedesmus sp.</i>	80%
<i>Chlorococcum littorale</i>	60%
<i>Synechococcus elongatus</i>	60%
<i>Euglena gracilis</i>	45%
<i>Chlorella sp.</i>	40%
<i>Eudorina sp.</i>	20%
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	15%
<i>Nannochloris sp.</i>	15%
<i>Chlamydomonas sp.</i>	15%
<i>Tetraselmis sp.</i>	14%

Las algas requieren nutrientes en disolución. Los nitratos y los fosfatos son dos nutrientes de importancia, al igual que el sodio y los silicatos (Dan-Telah y col., 2004). Existen varios medios de cultivo formulados disponibles pero los requerimientos son distintos para cada variedad de microalga. Por otra parte, se debe tomar en cuenta el

objetivo del experimento para definir la composición del medio de cultivo. Por ejemplo, si la finalidad es una alta productividad de biomasa (g L^{-1}), altas concentraciones de nitratos y fosfatos son esenciales para el crecimiento (García-Malea y col., 2006).

Para inducir la producción de metabolitos y compuestos de interés comercial, la manipulación en la concentración de nitratos es una técnica común para simular un ambiente de estrés en la microalga. Esto sugiere que una alta relación de carbono nitrógeno (C/N) resulta ser eficiente para inducir la biosíntesis de astaxantina, un carotenoide de interés comercial (Chen y John, 1991; Chen y Chen, 2006). La limitación de nitrógeno en presencia de un exceso de fuentes orgánicas de carbono, como acetato y glucosa, ha sido efectiva en la producción de carotenoides en cultivos mixotróficos (Ip y Chen, 2005).

Por otra parte, la presencia de iones de hierro (Fe) y magnesio (Mg) en cultivos de microalgas también ha sido estudiada, un exceso de Fe estimula la acumulación de astaxantina en *Haematococcus pluvialis* (Harker y col, 1996). Fábregas y col. (1998), estudiaron la deficiencia de Mg y N en la acumulación de astaxantina en *Haematococcus pluvialis*, observando que con una deficiencia de Mg la densidad celular incrementa, mientras que con una deficiencia de N la acumulación de astaxantina se ve favorecida.

3.3 Temperatura

La temperatura es uno de los factores ambientales más importantes que afectan el crecimiento y desarrollo de los organismos vivos. El crecimiento de algas depende también de la temperatura, por lo que se requiere conocer un valor óptimo para una tasa máxima de crecimiento. Los sistemas fotosintéticos siempre generan calor a causa de la ineficiencia de la fotosíntesis de convertir la energía luminosa a energía química (Bholase, 2004). La conversión teórica de la luz roja en energía química es de un 31 % y el 69 % restante se pierde como calor. Por ello, la cantidad de enfriamiento en un sistema de cultivo dependerá de la intensidad de la luz y de la concentración celular, sin embargo, el enfriamiento del reactor es sólo utilizado en sistemas cerrados (Andersen, 2005).

La temperatura también es importante para la disociación de las moléculas de carbono, haciéndolo disponible para la fotosíntesis (Kommareddy y Anderson, 2003). La temperatura influye en la respiración y fotorespiración de manera más marcada que en la fotosíntesis. Sin embargo, si el CO_2 o la luz es un factor limitante para la fotosíntesis, la influencia de la temperatura resulta insignificante (Pulz, 2001). La temperatura óptima para el cultivo de microalgas se encuentra generalmente entre los 20 y 24 °C, no obstante, estas pueden variar dependiendo del medio de cultivo, la especie y la cepa utilizada. Comúnmente, los cultivos de microalgas toleran temperaturas de entre 16 y 27 °C, en donde a temperaturas menores a 16 °C disminuyen el crecimiento, mientras que una temperatura mayor a los 35 °C resulta ser letal para un gran número de especies (Mehlitz, 2009).

Los cambios en la temperatura también pueden causar alteraciones en muchas de las rutas metabólicas, incluyendo la biosíntesis de los carotenoides. Se han observado cambios en las características de *Chlorella zofingiensis* cuando se incrementó la temperatura, dando lugar a cambios en la eficiencia de absorción asociada a una variación en el tamaño celular y los niveles de pigmento (Martin, 2010). De acuerdo a Del Campo y col. (2004), la acumulación celular de luteína y astaxantina en *Muriellopsis* sp. aumenta cuando es crecida a una temperatura mayor a 33 °C, sin embargo el nivel volumétrico se incrementa hasta seis veces más cuando la temperatura fue de 28 °C. A mayores temperaturas de crecimiento, la división celular se altera pero no la síntesis de proteínas. También se ha demostrado que algunas algas aumentan la acumulación de carotenoides a una temperatura de 40 °C en comparación con la tasa obtenida a la temperatura óptima de crecimiento de 28 °C (Mosqueda-Cano y Gutiérrez-Corona, 1995).

3.4 pH

Las microalgas tienen diversos requerimientos de pH para su crecimiento. A niveles de pH alcalinos, la disponibilidad de CO_2 puede ser limitante para el crecimiento y la fotosíntesis de microalgas. El rango de pH para la mayoría de los cultivos de microalgas está entre 7 y 9, con un rango óptimo de 8.2 a 8.7. Un pH óptimo en el cultivo generalmente es mantenido gracias a la aeración con aire enriquecido con CO_2 . En el caso de los cultivos de alta densidad celular, la adición de dióxido de carbono corrige un incremento del pH, el cual puede llegar a un valor límite de 9 para el crecimiento de la microalga.

Algunos autores coinciden que el crecimiento de las microalgas es óptimo a un pH neutro de 7.5 (Linden y Hartmut, 2001; Del Río y col., 2007; Martin, 2010). Por lo general, soluciones amortiguadoras son añadidas a los medios de cultivo con la finalidad de ajustar y mantener el pH del medio (Andersen, 2005). El pH se incrementa conforme la edad del cultivo es mayor, esto es debido a la acumulación de minerales y a la oxidación de nutrientes. Por lo tanto, es recomendado que el pH inicial del medio de cultivo se ajuste a 6.5 antes de ser inoculado (Martin, 2010). Estudios con *Chlorella vulgaris* han demostrado que pH extremos (alcalinización o acidificación del medio de cultivo) incrementan la producción de calor y las tasas de respiración, comportamiento contrario al observado con *Dunaliella maritima* (Alyabyev y col., 2011).

3.5 Turbulencia y mezclado

Para cualquier tipo de reactor usado en el cultivo de algas un mezclado eficiente debe ser proporcionado con el fin de producir una dispersión uniforme de las microalgas en el medio de cultivo, eliminando así los gradientes de concentración de luz, nutrientes (entre ellos CO_2) y temperatura. Contreras-Flores y col. (2003) informaron que el principal problema en el cultivo de algas es el daño celular causado por el esfuerzo de corte. Se conoce que el exceso de la agitación mecánica es causa de turbulencia, lo que puede originar daños permanentes en la estructura celular afectando el crecimiento y la producción de metabolitos. Por lo contrario, una agitación insuficiente provocará sedimentación y muerte celular.

Se han realizado pocos estudios cuantitativos relacionados con el estrés hidrodinámico en cultivos de microalgas en fotobiorreactores del tipo airlift los cuales son sistemas basados en la agitación del cultivo con aire o una mezcla de gases comprimidos (Chisti, 1989; Carvalho y col., 2006). El aumento de la tasa de crecimiento de algunas especies de microalgas cuando se incrementa la turbulencia, es debida a la mejora del suministro de luz y CO_2 . Sin embargo, a niveles mayores de turbulencia, el crecimiento se ve disminuido drásticamente, aumentando simultáneamente la velocidad superficial del gas causando un posible daño celular (Contreras-Flores y col., 2003). Los sistemas de mezclas de gases o los sistemas de columnas de burbujeo causan menor daño celular que los sistemas de agitación mecánica. Esto únicamente para el caso de unidades de bombeo de aire, en donde la mezcla se logra por el flujo de líquido que se obtiene por la aspersión del aire al centro del tubo interno, disminuyendo la densidad celular del líquido provocando que este suba. El líquido fluye hacia abajo a través del tubo exterior, creando así una circulación natural. Aunque estos sistemas parecen causar un menor daño celular, no están exentos de un esfuerzo cortante causando daño celular en menor medida (Gudin y Chaumont, 1991). Barbosa y col. (2004), reportaron la formación de burbujas en el difusor como el factor principal que conduce a la muerte celular. Por último, se ha reportado el efecto de sombreado mutuo, el cual implica el movimiento celular continuo desde y hacia las zonas de luz y oscuridad. Este efecto se considera esencial para garantizar la alta productividad de biomasa (Degen y col., 2001; Contreras-Flores y col., 2003; Martin, 2010).

3.6 Transferencia gaseosa

Debido a que casi el 50 % de la biomasa de microalgas se compone de carbono (Becker, 1994), este elemento es un componente importante para el crecimiento celular. Cuando se cultivan fotoautotróficamente, todas las microalgas utilizan las fuentes inorgánicas de carbono para sintetizar compuestos. A pesar de que las microalgas son capaces de utilizar el carbono inorgánico en diversas formas (CO_2 , H_2CO_3 , HCO_3^- Y CO_3^{2-}), estudios detallados acerca de la influencia de la fuente de carbono en la productividad (biomasa) de las microalgas indican que, a pesar de que el HCO_3^- es fácilmente absorbido por las células, ésta es una fuente de carbono pobre en comparación con el CO_2 (Martin, 2010). De hecho, es posible obtener una respuesta lineal en el carbono de la biomasa con el aporte de masa de carbono (que corresponde a una eficacia de prácticamente del 100 %) esto sólo sucede con entradas limitadas de carbono inorgánico y rangos estrechos de pH. Para los cultivos en microalgas se emplea aire enriquecido con CO_2 como aporte nutricional.

4. DISEÑO DE UN FOTOBIORREACTOR

4.1 Diseños actuales de fotobiorreactores

Como se mencionó anteriormente, existen diversos factores que influyen ampliamente en el cultivo de microalgas y determinan el diseño del reactor a emplear. La baja densidad celular origina varios inconvenientes, incluyendo baja productividad, fácil contaminación, costosa recuperación del producto de medios diluidos y dificultad para el control de la temperatura en los sistemas de cultivo cerrados. Estos inconvenientes estimularon el desarrollo de fotobiorreactores contruidos con materiales transparentes como vidrio y policarbonato, entre otros materiales. Los primeros FBR fueron propuestos por Gudin y Chaumont (1983), Pirt y col., (1983), y Torzillo y col., (1986). En la última década los fotobiorreactores tubulares y de placas planas han recibido mucha atención ya que permiten establecer cultivos de alta densidad celular, tres o más veces en comparación con los sistemas convencionales. Enseguida se enlistan las principales ventajas que ofrecen este tipo de cultivo de microalgas:

1. Facilidad para cosechar la biomasa.
2. Mantenimiento del cultivo sin contaminación.
3. Mejor control de las condiciones de cultivo.
4. Menor inversión de capital en el fotobiorreactor.

Este último factor es un elemento importante en el costo de producción de productos derivados de microalgas. Actualmente existen diversos tipos de fotobiorreactores disponibles, entre los cuales se encuentran las columnas de burbujeo, los reactores airlift y los tanques agitados, así como los de tipo tubular y cónico. Los FBR son generalmente categorizados de acuerdo a su estructura y su producción de biomasa, de los cuales los tubulares, los de superficie plana (flat panel) y las columnas verticales son los más comunes.

Los fotobiorreactores de tipo tubular son el diseño más sustentable para cultivos en sistemas cerrados tienen un gran área de iluminación con una buena tasa de producción de biomasa y son relativamente económicos puesto que son contruidos en vidrio o plástico (Pulz, 2001; Ugwu y col., 2008). El diseño de tipo flat-plate son generalmente contruidos con materiales transparentes con la finalidad de maximizar el empleo de la luz solar. Este tipo de reactores permite una buena inmovilización de las microalgas y una sustentable utilización de la energía, además de un fácil mantenimiento y limpieza (Reyna-Velarde y col., 2010). Los diseños de tipo columna vertical son compactos, económicos y fáciles de operar, lo que los hace factibles al escalamiento (Ugwu y col., 2008). Otro diseño de fotobiorreactores que cuenta con una amplia superficie de iluminación es el denominado flat-panel o fotobiorreactor de superficie plana, este tipo de diseño permite una mejor trayectoria incidente de la luz en el cultivo facilitando los ciclos de luz-oscuridad, aumentando la producción de biomasa y otros compuestos en las microalgas (Degen y col., 2001).

4.2 Aspecto claves en el diseño de un FBR

4.2.1 Distribución de la luz

En cultivos de microorganismos fotoautótrofos la disponibilidad de luz determina la velocidad específica a la que se realiza la fotosíntesis y, como consecuencia, determina también la tasa específica de crecimiento. Sin embargo, en todos los sistemas de cultivo, las células más cercanas a la superficie iluminada impiden la penetración de la luz hacia el seno del medio de cultivo y producen un efecto de sombreado sobre las células más alejadas de la superficie. En algunos cultivos se ha estimado que la luz penetra solo de 1 a 2 cm más allá de la superficie, de manera que la zona fótica representa solo una pequeña fracción (10 – 30 %) del volumen total del cultivo. Debido a que el medio de cultivo está en constante movimiento, las células solo son expuestas por breves instantes a la luz en ciclos que pueden durar desde milisegundos a unas cuantas décimas de segundo. En condiciones reales el factor que determina la actividad fotosintética es la cantidad de energía disponible para cada célula individual, más que la cantidad de energía luminosa incidente (Lu y Vonshak, 1999; Fernandes y col., 2010). Los parámetros que pueden considerarse básicos para describir la disponibilidad de energía bajo una iluminación intermitente son dos, la relación de los periodos luz/oscuridad (L/O) y la frecuencia de los ciclos L/O. Estos establecen en gran medida el régimen de iluminación, el cual es un indicador de la disponibilidad de luz para una célula individual (Fernández y col., 2002).

La trayectoria de la luz es la distancia transversal que debe recorrer un fotón para pasar a través de un fotobiorreactor (Richmond, 1996), concepto que se ilustra en la Figura 3. Su magnitud es determinada por diferentes medidas en los diferentes tipos de reactores. Así, la trayectoria de la luz es determinada por la profundidad de líquido en un reactor de tipo carrusel, por la separación entre las placas en un reactor de placas (horizontal o vertical) o por el diámetro del tubo en un reactor tubular. Las rutas luminosas que mejores resultados han dado en diferentes fotobiorreactores están entre 2.6 y 3.0 cm, sin embargo, en cultivos de alta densidad celular, una trayectoria de la luz de 1 cm aumenta la probabilidad de que las células en promedio estén expuestas a un régimen de iluminación óptimo (Javanmardian y Palsson, 1991). En virtud de lo anterior, actualmente no es recomendable utilizar rutas luminosas de más de 10 cm en ningún tipo de fotobiorreactor (Oncel y Sukan, 2008).

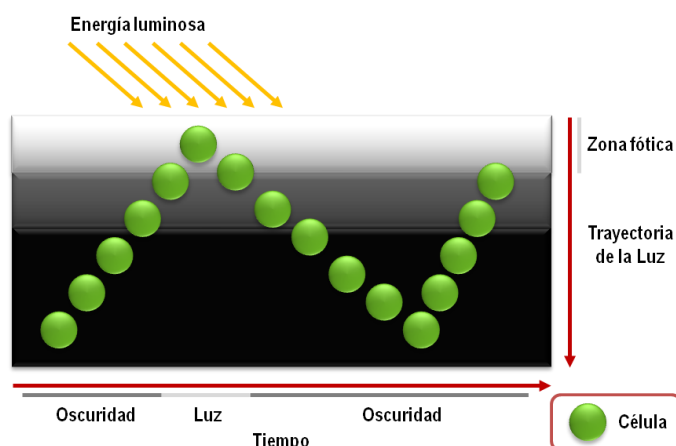


Figura 3. Ilustración de la trayectoria de la luz y de los ciclos luz oscuridad (Contreras-Flores y col., 2003)

4.2.2 Mezclado

El mezclado en fotobiorreactores es conocido como un factor de mejoramiento de la producción de biomasa (Lou y Al-Dahhan, 2004). El mezclado juega un rol importante en el aseguramiento de la distribución de la intensidad de luz, en una suficiente transferencia gaseosa de CO_2 y en el mantenimiento uniforme de pH (Kommareddy y Anderson, 2005).

Un correcto mezclado favorece el intercambio gaseoso, evita la sedimentación celular, la formación de gradientes de las condiciones ambientales y de la concentración de nutrientes; pero su función principal es permitir que todas las células puedan acceder a las zonas iluminadas en un fotobiorreactor (Ogbonna y Tanaka, 2000; Ugwu y col., 2002). El mezclado puede inducirse de muy diversas formas; sin embargo, los FBR del tipo airlift se usan comúnmente por su sencillez y porque pueden diseñarse para inducir un esfuerzo de corte pequeño que no cause daño mecánico a las células (Richmond y col., 1993; Sánchez y col., 2000; Chisti y col., 2007). La fragilidad celular es con frecuencia un factor que limita la intensidad de mezclado que puede aplicarse a un cultivo. En virtud de que la fragilidad celular y las características fotosintéticas, entre otros factores, pueden variar de cepa a cepa, los niveles óptimos de mezclado dependerán de cada cepa cultivada (Contreras-Flores y col., 2003).

4.2.3 Inyección del gas

La introducción de CO_2 por medio del burbujeo dentro del FBR deber ser considerada dentro del diseño. La inyección de dióxido de carbono refiere al proceso mediante el cual este gas es suministrado artificialmente al FBR. Varios estudios han demostrado que una aireación rica en CO_2 provee este gas en mayor cantidad a las microalgas, lo que desoxigena el medio y evita la fotooxidación. Sin embargo, desde un punto de vista económico, una velocidad de aireación mayor conlleva mayores costos de producción, por lo cual hace costoso el escalamiento (Zhang y col., 2002). Por otra parte, se ha estudiado la concentración óptima de CO_2 para la producción de microalgas en fotobiorreactores, mostrando que el uso de aire enriquecido con 5 o 10 % (v/v) de CO_2 a una velocidad de 0.025 vvm (volumen de aire por volumen de trabajo por tiempo) es efectivo para el cultivo de biomasa. En reactores de superficie plana (flat panel), una velocidad de aireación de 0.05 vvm ha resultado suficiente para el mejoramiento del mezclado y la transferencia gaseosa (Sierra y col., 2008).

4.2.4 Recomendaciones para el diseño de un FBR

Para el diseño de un fotobiorreactor en el que se desee una óptima producción de biomasa es necesario tomar en cuenta los siguientes aspectos Tsoglin y col., (1996):

1. La trayectoria de la luz debe ser pequeña (no mayor a 2.5 cm).
2. Mantener una alta densidad celular (> 8 a 15 gramos de biomasa por litro de cultivo).
3. Un mezclado vigoroso para asegurar ciclos L/O de alta frecuencia.
4. Evitar inhibición del crecimiento por acumulación de O_2 .
5. Mantener temperatura y pH óptimos.

La luz es uno de los factores más importantes que limitan la productividad de los cultivos de microalgas. Sin embargo, algunas microalgas son capaces de crecer tanto en condiciones de fototrofia como en mixotrofia y heterotrofia. En el Cuadro 2 se describen las características de cada tipo de cultivo.

Cuadro 2. Características de las diferentes condiciones de cultivo (Chen y Chen, 2006).

Condición del cultivo	Fuente de energía	Fuente de carbono
Fototrofia	Luz	Carbono inorgánico
Heterotrofia	Carbono orgánico	Carbono orgánico
Fotoheterotrofia	Luz	Carbono orgánico
Mixotrofia	Luz y carbono orgánico	Carbono inorgánico y orgánico

Las fuentes de carbono orgánico más comúnmente citadas son el etanol, el acetato y la glucosa. Se ha reportado que *Haematococcus pluvialis* puede sintetizar astaxantina en heterotrofia y mixotrofia utilizando acetato de sodio como fuente de carbono, en ambos casos la concentración del pigmento es mayor a la obtenida en condiciones de fotoautotrofia, debido en parte a que el acetato promueve la obtención de mayores concentraciones celulares (Ip y Chen, 2005). También se ha estudiado la producción de α -tocoferol con *Euglena gracilis* usando etanol como sustrato, en donde la producción del antioxidante aumentó hasta 2,9 veces con relación a lo obtenido en fotoautotrofia (Ogbonna y Tanaka, 2000). La investigación acerca de la capacidad de las microalgas para utilizar diferentes fuentes de carbono orgánico es importante, debido a que permitiría el cultivo de microalgas en biorreactores más convencionales (airlift o de columna aireada por ejemplo), en los que el aprovechamiento óptimo de la energía luminosa no es factible ya sea técnica o económicamente; sin embargo éste es un campo de la biotecnología de microalgas que se encuentra en su desarrollo inicial.

5. APLICACIONES DE LOS FBR EN FICOLOGÍA

5.1 Producción de compuestos de alto valor agregado

Las microalgas han sido reconocidas como fuentes de compuestos químicos de alto valor agregado como vitaminas, ficobiliproteínas, pigmentos, ácidos grasos esenciales, etc. Varios de estos productos son todavía producidos comercialmente en sistemas en carrusel o en lagunas abiertas. Ejemplos de éstos son la producción de ficobiliproteínas y biomasa por *Spirulina spp.* en países como los Estados Unidos, India, China y Cuba, la producción de β -caroteno utilizando *Dunaliella spp.* en Israel y Australia (Lorenz y Cysewski, 2000) o la producción de α -tocoferol por *Euglena gracilis*. La producción comercial de astaxantina utilizando *Haematococcus pluvialis* se lleva a cabo en dos fases, una de crecimiento y otra de producción del pigmento. Una empresa en Hawaii (Aquaserch, Inc) ocupa lagunas abiertas para la producción de la biomasa, y reactores tubulares para la inducción de la síntesis del pigmento, mientras que en Suecia otra empresa utiliza fotobiorreactores iluminados artificialmente en ambas fases (Olaizola, 2000). Por otra parte, el uso potencial de las microalgas en la producción de biodiesel a partir de los lípidos derivados del cultivo de microalgas ha sido ampliamente estudiado, sin embargo el proceso de producción es costoso (Chisti, 2008). Se ha logrado disminuir los costos de producción con el empleo de cultivos mixotróficos obteniendo altas concentraciones de ácidos grasos en *Chlorella vulgaris* y *Tetraselmis* (Day y Tsavalos, 1996; Liang y col., 2009). La producción de estas sustancias a partir de microalgas es costosa, pero se justifica debido a la mayor aceptación del consumidor por productos naturales en lugar de productos obtenidos por síntesis química. El nicho comercial de productos derivados de microalgas y cianobacterias es altamente cambiante y depende de las regulaciones aplicadas por las agencias de protección al consumidor a los productos sintetizados convencionalmente y al uso final de estos productos, que en varios casos no está aún muy extendido y continúa siendo diversificado (ficobiliproteínas) o bien tienen usos regionales, como por ejemplo en la acuicultura del salmón (astaxantina) (Cysewski, 2004). No obstante, el empleo de fotobiorreactores modernos sin duda será una contribución importante para reducir el costo de producción de estos compuestos y hacer más competitiva su obtención mediante la utilización de microalgas.

5.2 Descontaminación ambiental

Las microalgas han sido propuestas para el tratamiento de aire (fijación de CO_2 y NO_x) y de aguas como lo es la remoción de metales pesados (González y col., 1997; Prakash y col., 1999). La mayoría de los reactores utilizados

para estos fines son de tipo carrusel a bajas densidades celulares (Sylvestre y col., 1996; Prosperi, 2000). Solo en el cultivo de ultra alta densidad celular de *Chlorococcum littorale* se han utilizado los avances tecnológicos aquí revisados para remover CO₂ (Hu y col., 1996). El principal impulsor de los avances en el diseño de fotobiorreactores ha sido la producción de compuestos químicos de interés y no la ya comprobada capacidad de las microalgas para convertir desechos orgánicos (agroindustriales, porcícolas, aguas municipales, etc.) en insumos de alto valor agregado. El uso sistemático de esta capacidad en sistemas intensivos consistiría en un hito ecológico, pues las microalgas, al ser la base de la cadena trófica acuática, son los microorganismos apropiados para cerrar el ciclo ecológico con el aprovechamiento de compuestos inorgánicos que las normatividades actuales consideran como peligrosos cuando están libres en el ambiente.

6. CONCLUSIONES

En los últimos años las microalgas se han convertido en una fuente prometedora y sustentable para la producción de compuestos de interés comercial, ya que al ser microorganismos autótrofos solo requieren de agua, luz (como fuente de energía) y CO₂ (como fuente de carbono). Los resultados de las investigaciones analizadas en el presente artículo, permiten considerar los siguientes aspectos involucrados en el cultivo de las microalgas: a) el uso de FBR (sistema cerrado) en el cultivo de microalgas presenta mayores ventajas que los sistemas abiertos, entre las cuales destacan la fácil cosecha de la biomasa, menor contaminación del cultivo, mayor control de las condiciones de operación y menor inversión en la construcción; b) el diseño de un FBR debe tomar en cuenta la finalidad para la que se va a emplear y conocer las condiciones en las que será operado y c) las principales variables que afectan el cultivo de microalgas son luz, temperatura, pH, nutrimentos, transferencia gaseosa, turbulencia y mezclado.

REFERENCIAS

- Alyabyev A, Andreyeva I and Rachimova G. 2011. Influence of pH shift and salting on the energetics of microalgae *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella maritima*. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 104: 201–207.
- Andersen R. 2005. Algal Culturing Techniques. USA: Elsevier. Cap 1:1-12
- Barbosa MJ, Hadiyanto H and Wijffels RH. 2004. Overcoming shear stress of microalgae cultures in sparged photobioreactors. Biotechnology and Bioengineering 85: 78-85.
- Barbosa MJ, Janssen M, Ham N, Tramper J and Wijffels RH. 2003. Microalgae cultivation in air-lift reactors: modeling biomass yield and growth rate as a function of mixing frequency. Biotechnology and Bioengineering 82: 170–179.
- Becker EW. 1994. Large-scale cultivation. New York: Cambridge University Press. In Microalgae: Biotechnology and Microbiology Book Review: 63-171.
- Bhosale P. 2004. Environmental and cultural stimulants in the production of carotenoids from microorganisms. Applied Microbiology and Biotechnology 63: 351–361.
- Bitog JP, Lee IB, Yoo JI, Hwang SB, Hong SW and Seo IH. 2009. Development of a large-sized photobioreactor for microalgae production. In Proceedings of the 2009 CIGR International Symposium of the Australian Society for Engineering in Agriculture, Brisbane, Queensland, Australia, September 13–16.
- Bohne F and Linden H. 2002. Regulation of carotenoid biosynthesis genes in response to light in *Chlamydomonas reinhardtii*. Biochimica et Biophysica Acta 1579: 26–34.
- Carvalho, P., Meireles, A. and Xavier, F. 2006. Microalgal reactors: a review of enclosed system designs and performances. Biotechnology Programs 22: 1490-1506.
- Chen F and John MR. 1991. Effect of C/N ratio and aeration on the fatty acid composition of heterotrophic *Chlorella sorokiniana*. Journal of Applied Phycology 3: 203–209.
- Chen GQ and Chen F. 2006. Growing phototrophic cells without light. Biotechnology Letters 28: 607–616.
- Chisti Y. 2007. Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances 25: 94–306.
- Chisti Y. 2008. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. Trends in Biotechnology 26: 126–131.
- Chisti, Y. 1989. Airlift Bioreactors. Elsevier, London, UK.
- Contreras-Flores C, Peña-Castro JM and Flores-Cotera LB. 2003. Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. Interciencia 8: 450-456.
- Cysewski, GR, y Todd-Lorenz R. 2004. Industrial production of microalgal cell-mass and secondary products—species of high potential *Haematococcus*. Biotechnology and applied phycology: 281-288.

- Dan Telah D, Sintov A and Cohen E. 2004. The effect of salt stress on the production of canthaxanthin and astaxanthin by *Chlorella zofingiensis* grown under limited light intensity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 20: 483-486.
- Day J and Tsavalos A. 1996. An investigation of the heterotrophic culture of the green alga *Tetraselmis*. *Journal of Applied Phycology* 8: 73-77.
- Degen J, Uebele A, Retze A, Schmid-Staiger U and Trosch W. 2001. A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the flashing light effect. *Journal of Biotechnology* 92: 89-94.
- Del Campo JA, Rodríguez H, Moreno J, Vargas MA and Guerrero R. 2004. Accumulation of astaxanthin and lutein in *Chlorella zofingiensis* (Chlorophyta). *Applied Microbiology and Biotechnology* 64: 848-854.
- Del Río E, Acien G, García-Malea G, Rivas J, Molina-Grima E and Guerrero MG. 2007. Efficiency assessment of the one-step production of astaxanthin by the microalga *Haematococcus pluvialis*. *Biotechnology and Bioengineering* 74: 397-402.
- Fábregas J, Domínguez A, García-Álvarez D, Lamela T and Otero A. 1998. Induction of astaxanthin accumulation by nitrogen and magnesium deficiencies in *Haematococcus pluvialis*. *Biotechnology Letters*. 20: 623-626.
- Fernandes BD, Dragoner GM, Teixeira JA and Vicente AA. 2010. Light regime characterization in an airlift. Photobioreactor for production of microalgae with high starch content. *Applied Biochemical and Biotechnology* 61: 218-226.
- Fernández JM, García JL, García F, Molina E, Al-Dahhan MH, Huping L and Kemoun A. 2002. Integration of fluid dynamics, light regime and photosynthetic response in photobioreactors. 1st Congress of International Society for Applied Phycology. Roquetas de Mar, Almería, España.
- García-Malea MC, Acien FG, Fernández JM, Cerón MC and Molina E. 2006. Continuous production of green cells of *Haematococcus pluvialis*: Modeling of the irradiance effect. *Enzyme and Microbial Technology* 38: 981-989.
- González LE, Cañizares RO and Baena S. 1997. Efficiency of ammonia and phosphorus removal from a colombian agroindustrial wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus*. *Bioresource Technology* 60: 259-262.
- Grobbelaar JU. 2000. Physiological and technological considerations for optimizing mass algal cultures. *Journal of Applied Phycology* 2: 201-206.
- Gudin C and Chaumont D. 1983. Solar biotechnology study and development of tubular solar receptors for controlled production of photosynthetic cellular biomass. En Palz W, Pirwitz D (Eds.) *Proceedings of the Workshop and EC Contractor's Meeting in Capri*. Reidel. Dordrecht, Holanda 184-193.
- Gudin C and Chaumont D. 1991. Cell fragility-key problem of microalgae mass production on closed photobioreactors. *Bioresource Technology* 38, 145-151.
- Gunstheimer S and Jahreis G. 1998. Marine macroalgae. *Ernährungs-umschau*. 45: 424-428
- Harker M, Tsavalos AJ, and Young AJ. 1996. Factors responsible for astaxanthin formation in the chlorophyte *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource Technology* 68: 197-199.
- Hu Q, Kurano N, Kawachi M, Iwasaki I and Miyachi S. 1998. Ultrahigh-cell-density culture of a marine green alga *Chlorococcum littorale* in a flat-plate photobioreactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 49: 655-662.
- Ip P and Chen F. 2005. Production of astaxanthin by the green microalga *Chlorella zofingiensis* in the dark. *Process Biochemistry* 40: 733-738
- Javanmardian M and Palsson BO. 1991. High-density photoautotrophic algal cultures: design, construction, and operation of a novel photobioreactor system. *Biotechnology and Bioengineering*. 38: 1182-1189.
- Kommareddy AR and Anderson GA. 2003. Study of light as a parameter in the growth of algae in a photo-bio reactor (PBR). ASAE Paper No. 034057. ASAE, St. Joseph, Michigan.
- Li Y and Huang J. 2009. High-light and sodium chloride stress differentially regulate the biosynthesis of astaxanthin in *Chlorella zofingiensis*. *Journal of Phycology* 45: 635-641.
- Liang Y, Sarkany N and Cui Y. 2009. Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions. *Biotechnology Letters* 31: 1043-1049.
- Linden JS and Hartmut. 2001. Regulation of two carotenoid biosynthesis genes coding for phytoene synthase and carotenoid hydroxylase during stress-induced astaxanthin formation in the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Plant Physiology* 125: 810-817.
- Lorenz RT and Cysewski GR. 2000. Commercial potential of *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. *Trends in Biotechnology* 18: 160-167.
- Lou HP and Al-Dahhan MH. 2004. Analyzing and modeling of photobioreactors by combining first principles of physiology and hydrodynamics. *Biotechnology and Bioengineering* 85. 382-393.

- Lu C and Vonshak A. 1999. Photoinhibition in outdoor *Spirulina platensis* cultures assessed by polyphasic chlorophyll fluorescence transients. *Journal of Applied Phycology*. 11: 355-359.
- Martin FPH. 2010. Optimization of photobioreactor for astaxanthin production in *Chlorella zofingiensis*. Tesis de Maestría en Ingeniería. National University of Singapore.
- Mehlitz TH. 2009. Temperature influence and heat management requirements of microalgae cultivation in photobioreactors. Tesis de Maestría. California Polytechnic State University, USA.
- Molina GE, Acien FG, Fernandez J, Camacho F and Chisti Y. 1999. Photobioreactors: light regime, mass transfer and scale up. *Journal of Biotechnology* 70: 231-247.
- Mosqueda-Cano G and Gutierrez-Corona JF. 1995. Environmental and developmental regulation of carotenogenesis in the dimorphic fungus *Mucor rouxii*. *Current Microbiology*. 31: 141-145.
- Norton TA, Melkonian N and Andersen R. 1996. Algal biodiversity. *Phycologia*. 35: 308-326
- Ogbonna JC and Tanaka H. 2000. Light requirement and photosynthetic cell cultivation –development of processes for efficient light utilization in photobioreactors. *Journal of Applied Phycology*. 12: 207-218.
- Olaizola M. 2000. Commercial production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using 25,000 liter outdoor photobioreactors. *Journal of Applied Phycology*. 12: 499-506.
- Oncel S and Sukan VF. 2008. Comparison of two different pneumatically mixed column photobioreactors for the cultivation of *Artrospira platensis* (*Spirulina platensis*). *Bioresource Technology*. 99: 4755-4760.
- Ono E and Cuello JL. 2003. Selection of optimal species for CO₂ sequestration. In: Second Annual Conference on Carbon Sequestration, Alexandria, Virginia, USA, May 5-8.
- Pirt SL, Lee YK, Walach MR, Pirt MW, Balyuzi HH and Bazin MJ. 1983. A tubular bioreactor for photosynthetic production of biomass from carbon dioxide: Design and performance. *Journal of Chemical and Technological Biotechnology* 33: 35-38.
- Prakash A, Margaritis A, Saunders RC and Vijayan S. 1999. High concentrations ammonia removal by the cyanobacterium *Plectonema boryanum* in a photobioreactor system. *The Canadian Journal of Chemical Engineering* 77: 99-106.
- Prosperi CH. 2000. Cyanobacteria in human affairs. *Interciencia* 25: 303-306.
- Pulz O. 2001. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 57: 287-293.
- Qin S, Liu G and Hua Z. 2008. The accumulation and metabolism of astaxanthin in *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyceae). *Process Biochemistry* 43: 795-802.
- Reyna-Velarde R, Cristiani-Urbina E, Hernández-Melchor DJ, Thalasso F and Cañizares-Villanueva RO. 2010. Hydrodynamic and mass transfer characterization of a flat-panel airlift photobioreactor with high light path. *Chemical Engineering and Processing* 49: 97-103.
- Richmond A, Boussiba S, Vonshak A and Kopel R. 1993. A new tubular reactor for mass production of microalgae outdoors. *Journal of Applied Phycology* 5: 327-332.
- Richmond A. 1996. Efficient utilization of high irradiance for production of photoautotrophic cell mass: a survey. *Journal of Applied Phycology* 8: 381-387.
- Sánchez A, García F, Contreras A, Molina E and Chisti Y. 2000. Bubble column and airlift photobioreactors for algal culture. *AIChE Journal* 46: 1872-1877.
- Sierra E, Acien FG, Fernandez JM, Garcia JL, Gonzales C and Molina E. 2008. Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. *Chemical Engineering Journal* 138: 136-147.
- Singh RN and Sharma S. 2012. Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16: 2347- 2353.
- Sylvestre S, Lessard P and De la Noüe J. 1996. Performance d'un photobioreacteur utilisant la cyanobactérie *Phormidium bohneri* pour l'enlèvement de l'azote et du phosphore. *Environmental Technology*. 17: 697-706.
- Torzillo G, Pushparaj B, Bocci F, Balloni W, Materassi R and Florenzano G. 1986. Production of *Spirulina* biomass in closed photobioreactors. *Biomass* 11: 61-64.
- Tsoglin LN, Gabel BV, Falkovich TN and Semenenko VE. 1996. Closed photobioreactors for microalgal production. *Russian Journal of Plant Physiology* 43: 131-136.
- Ugwu CU, Aoyagi H and Uchiyama H. 2008. Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource Technology* 99: 4021-4028.
- Van Beilen JB. 2010. Why microalgal biofuels won't save the internal combustion machine. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 4: 41-52.
- Zhang K, Kurano N and Miyachi S. 2002. Optimized aeration by carbon dioxide gas for microalgal production and mass transfer characterization in a vertical flat-plate photobioreactor. *Bioprocess Biosystems Bioengineering* 25, 97-101.