

Sistema de traslación angular con agitación integrada para la medición de propiedades ópticas de suspensiones de microalgas

G. G. Siano¹, A. Tacca², A.E. Ermilio³, M.V. Ibañez⁴, R.J. Leonardi³

¹*sinc(i)-CONICET/UNL, Santa Fe, Argentina (gsiano@sinc.unl.edu.ar)*

²*Instituto Nacional de Limnología, Universidad Nacional del Litoral – CONICET, Santa Fe, Argentina.*

³*Grupo de Ingeniería de Bioprocesos (GiiB), Laboratorio de Operaciones y Procesos Biotecnológicos (OPB), Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (FBCB), Universidad Nacional del Litoral (UNL), Santa Fe, Argentina.*

⁴*Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (FBCB), Universidad Nacional del Litoral (UNL), Santa Fe, Argentina.*

Las propiedades ópticas de microalgas son claves para optimizar bioprocesos, requiriendo sistemas específicos para su determinación. En este trabajo se desarrolló un dispositivo de traslación angular (goniométrico) de bajo costo, impreso en 3D y parcialmente automatizado, con agitación magnética integrada para evitar la sedimentación. Se demostró la aplicabilidad del sistema al monitorear los cambios espectrales de *Haematococcus pluvialis* durante transiciones celulares.

Palabras-clave: traslación angular; agitación; impresión 3D, microalgas, propiedades ópticas

INTRODUCCIÓN

Microalgas como *Haematococcus pluvialis*, *Chlorella zofingiensis* y cianobacterias como *Limnospira platensis* representan plataformas biotecnológicas de interés para la producción de metabolitos de alto valor agregado, entre ellos pigmentos como astaxantina y ficocianina. La obtención de estos compuestos suele estar asociada a cambios fisiológicos y morfológicos relevantes, ciclos celulares complejos y profundas modificaciones en la composición pigmentaria de la biomasa. En este contexto, la interacción entre la luz y las suspensiones celulares no solo condiciona el crecimiento y la productividad del cultivo, sino que también refleja el estado fisiológico de las células y sus mecanismos de adaptación frente al ambiente lumínico.

Por este motivo, las propiedades ópticas de suspensiones de microalgas, tales como los coeficientes espectrales de absorción y *scattering*, junto con la función de fase de *scattering*, constituyen herramientas relevantes para el análisis, diseño y seguimiento de bioprocesos fotosintéticos. Estas propiedades permiten: i) describir la distribución de la luz dentro de las suspensiones celulares y estimar variables del campo radiante, como la densidad de energía local y la velocidad volumétrica local o promedio de absorción de fotones (Heinrich et al., 2012); ii) asociar características locales o globales del campo de radiación con respuestas biológicas, incluyendo cambios en la

composición bioquímica de la biomasa, en el contenido de pigmentos fotosintéticos primarios y secundarios, y en los mecanismos de adaptación o disipación de energía radiante (Samhat et al., 2023); iii) caracterizar, diseñar y optimizar sistemas de cultivo, como fotobiorreactores basados en luz natural o artificial (Leonardi et al., 2021); iv) desarrollar modelos cinéticos dinámicos que expliquen el comportamiento de las microalgas bajo diferentes condiciones operativas, entre ellas la cantidad y calidad de luz, pH, temperatura y concentraciones de O₂ y CO₂; v) validar herramientas de escala de laboratorio orientadas a reproducir condiciones de iluminación, temperatura y mezclado de reactores de mayor escala (*down scaling*); y vi) cuando pueden estimarse en tiempo real, aportar variables útiles para la toma de decisiones durante el bioproceso, como la modificación de la iluminación, la composición del medio, el momento de inducción de estrés o la cosecha de biomasa.

Las propiedades ópticas de microalgas pueden cuantificarse utilizando técnicas experimentales directas basadas en la medición de luz como transmitancia y reflectancia, utilizando accesorios como una esfera integradora (Merzlyak et al., 2008), a partir de metodologías híbridas basadas en la medición de luz, y la simulación del campo de radiación de los sistemas de medición utilizados (Ibañez et al., 2020), bajo diferentes enfoques, hipótesis y métodos de cálculo, y también a través de un abordaje teórico que contempla asumir para las

microalgas una forma geométrica espacial y sus dimensiones (Lee; Heng; Pilon, 2013).

En la actualidad, pese al conocimiento y la tecnología disponibles, aún existen limitaciones para el desarrollo de sistemas parcial o completamente automatizados destinados a la cuantificación de propiedades ópticas, ya sea en tiempo real o en modalidad post-cultivo. Entre los factores que dificultan esta implementación se encuentran el costo de los equipos y accesorios requeridos, como esferas integradoras; la dependencia de software licenciado asociado al equipamiento; las limitadas posibilidades de modificar la geometría de medición, especialmente la posición relativa entre la fuente de radiación y el detector de luz; y las restricciones vinculadas con las características espectrales y geométricas de la fuente de luz. La aparición de fuentes de luz y espectrofotómetros portátiles, conectados mediante fibras ópticas, permitió avanzar al desarrollo de dispositivos para cuantificaciones ópticas salvando algunas de las limitaciones

previamente comentadas. Nuestro equipo de trabajo anteriormente implementó una metodología híbrida experimental-modelística para cuantificar las propiedades ópticas de microalgas. La Figura 1 muestra el sistema, compuesto por una fuente de radiación comercial con emisión en el rango VIS del espectro electromagnético, un sistema que permite traslaciones angulares, y un detector comercial. Se utilizaron fibras ópticas tanto para conducir la radiación emitida por la fuente como para coleccionar la señal recibida por el detector-espectrofotómetro. A partir de la medición de la cantidad y la calidad de la luz en diferentes ángulos respecto a la fuente de luz, se calculan las propiedades ópticas utilizando simulación Monte Carlo. El sistema y la metodología fueron implementadas para el seguimiento en el tiempo de las propiedades ópticas de *C. zoofingensis* SAG 221-2 y *L. platensis* PCC7345 (Ibañez et al., 2020, 2022).

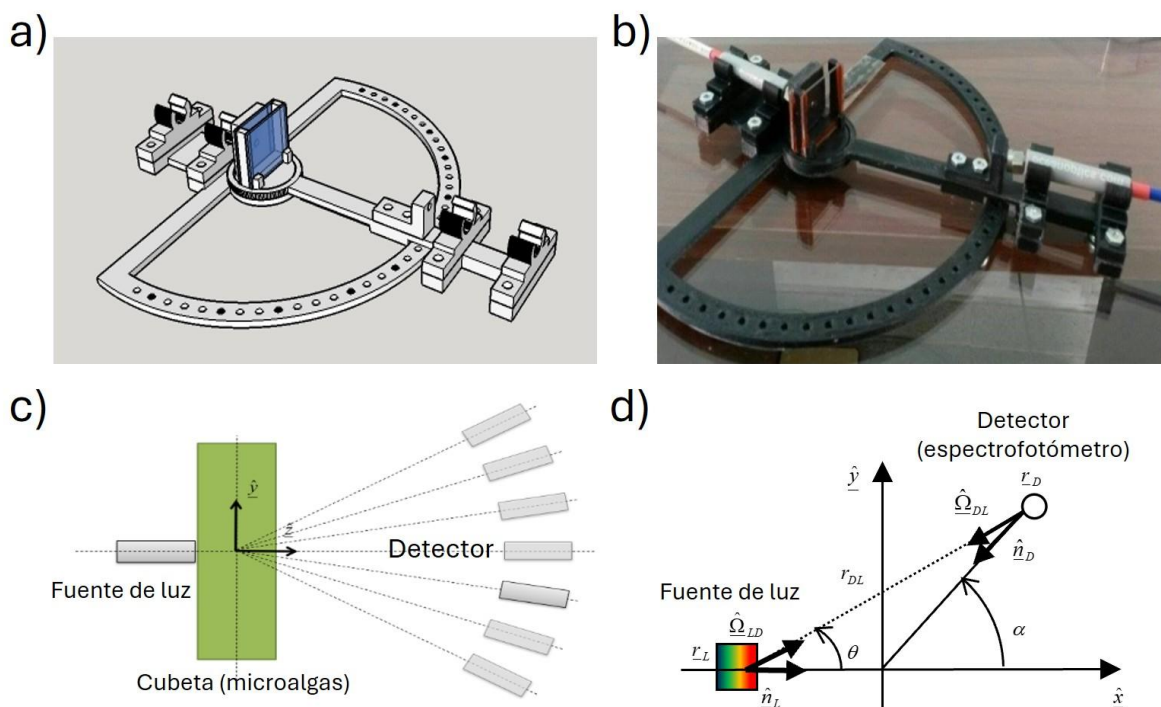


Figura 1. Sistema de cuantificación de propiedades ópticas previamente diseñado, caracterizado y aplicado para el seguimiento en el tiempo de las propiedades ópticas de varias microalgas de interés biotecnológico. a) Modelo renderizado. b) Fotografía real del sistema. c) Esquema que describe el fundamento de la metodología. d) Esquema de modelado matemático.

Para realizar experiencias con incidencia de luz sobre cubetas y traslación angular del detector, la operación manual puede introducir mucho error por parte del operario. Poder reconfigurar el ángulo entre mediciones resulta ventajoso, y más aún de forma automatizada (sin depender de piezas o moldes fijos diseñados para ángulos específicos). A su vez, dado que en la cubeta de lectura es posible que algunas células sedimenten durante el tiempo necesario para adquirir señales, es necesario contemplar un sistema de agitación regulable.

En el presente trabajo se describe un nuevo sistema desarrollado para la medición de propiedades ópticas de suspensiones de microalgas, que incorpora automatización de la traslación angular del detector y mezclado de la muestra mediante agitación magnética. Estas modificaciones buscan reducir la variabilidad asociada a la operación manual, ampliar la flexibilidad en la selección de ángulos de medición y minimizar efectos asociados a la sedimentación celular durante la adquisición de señales. El sistema fue aplicado a la cuantificación de las propiedades ópticas de la cepa nativa *H. pluvialis* mex durante su transición de células vegetativas a aplanosporas bajo condiciones carotenogénicas, así como durante el proceso inverso de germinación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepa e inóculo

La cepa local de *H. pluvialis* mex se almacenó en tubos de 20 mL con 10 mL de medio mBBM (*Modified Bold Basal Medium*, 2.94 mM NaNO₃) (Niizawa et al., 2018), a temperatura ambiente. El inóculo se preparó según una metodología adaptada de Aflalo et al. (Aflalo et al., 2007), que consistió en obtener células vegetativas desde aplanosporas en medio BG-11 y bajo condiciones controladas (T= 25 °C, pH = 7.5, intensidad lumínica de 78 [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]), con luz LED neutra en una cámara de cultivo Demetra 470 L (J3 Desarrollos, Mar del Plata, Argentina).

Diseño experimental para la medición de propiedades ópticas de *H. pluvialis*

Se realizaron dos experiencias de cultivo orientadas al seguimiento de cambios fisiológicos contrastantes de *H. pluvialis*, durante las cuales se recolectaron muestras de la suspensión celular para la cuantificación de sus propiedades ópticas. La primera experiencia comprendió la transición desde células vegetativas hasta aplanosporas, asociada al proceso de carotenogénesis. La segunda experiencia evaluó el proceso inverso, desde aplanosporas hasta células reproductivas, correspondiente a la germinación.

En la experiencia 1, se utilizó una concentración inicial de células vegetativas de $1.2 \times 10^4 \text{ cel mL}^{-1}$ ($\approx 150 \text{ mg L}^{-1}$) en un fotobiorreactor tipo frasco Schott de 1.8 L. El cultivo se mantuvo durante 15 días bajo condiciones controladas de temperatura, pH, iluminación y aireación. Las condiciones operativas fueron: T = 25 °C, pH = 7.5, intensidad lumínica de 140 [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$], iluminación mediante LEDs blanco neutro y aireación continua a 0.33 vvm con aire filtrado enriquecido con 1.5 % de CO₂.

En la experiencia 2, el estudio comenzó con la reactivación de un cultivo que contenía aplanosporas en una concentración de $7.8 \times 10^3 \text{ cel mL}^{-1}$ ($\approx 98 \text{ mg L}^{-1}$). Se realizó un seguimiento de la evolución de la población celular hasta que la composición del cultivo estuvo representada predominantemente por células en etapa reproductiva, lo que ocurrió 3 días después de la reactivación. Las condiciones de cultivo fueron las mismas que las descritas para la experiencia 1.

Las propiedades ópticas fueron determinadas inmediatamente después de la colección de la muestra.

Determinaciones experimentales correspondientes a la suspensión de microalgas

Para cada muestra de suspensión celular (10 mL), se determinó la concentración de biomasa mediante un método gravimétrico. Además, se identificaron y cuantificaron los diferentes morfotipos celulares de *H. pluvialis* mex utilizando una cámara de recuento Neubauer BOECO bajo microscopio óptico (Boeco BM-117). En paralelo, se determinaron las concentraciones de pigmentos fotosintéticos, incluyendo clorofilas y carotenoides totales, y se cuantificaron las propiedades ópticas de la suspensión. Para la extracción de pigmentos se empleó un método destructivo utilizando etanol al 98 %. Las concentraciones de pigmentos se estimaron a partir de mediciones de absorbancia a $\lambda = 470, 649 \text{ y } 665 \text{ nm}$ en un espectrofotómetro VIS S-20 (BOECO, Alemania), de acuerdo con Ritchie et al. (Ritchie, 2008).

Instrumental óptico

Como fuente de radiación se utilizó un láser verde, originalmente de emisión monocromática ($\lambda = 532$). Para ampliar el rango espectral de la radiación incidente, el haz fue conducido a través de un recipiente porta cubeta de color blanco, configuración que permitió obtener una señal policromática detectable en el rango visible. La señal resultante fue caracterizada espectralmente antes de su utilización en los ensayos de medición de propiedades ópticas.

El registro de señales ópticas se realizó con un espectrofotómetro portátil SMA (Thunder Optics, Francia), operado mediante el software SpectraGryp (Dr. Friedrich Menges). Adicionalmente, se utilizaron dos fibras ópticas con conectores SMA905.

Dispositivo goniométrico para medición de propiedades ópticas

Para la construcción del dispositivo de medición de propiedades ópticas con traslación angular de detección, se fabricaron piezas estructurales mediante modelado por deposición fundida (FDM) utilizando ácido poliláctico (PLA). El mecanismo de variación angular se basó en un motor paso a paso NEMA 17 (eje de 5 mm con acople) gestionado por un controlador A4988. El sistema de agitación magnética regulada se estructuró a partir de un ventilador de 40 x 40 x 10 mm (12 V) alimentado por una fuente externa, en cuyo rotor se fijaron dos imanes de neodimio (3 mm de diámetro y 2.5 mm de longitud) encargados de acoplar el movimiento a un buzo magnético dentro de la cubeta.

La automatización y lógica del sistema se centralizaron en una placa Arduino UNO mediante un firmware desarrollado en el laboratorio, implementando la regulación de velocidad del ventilador a través de un transistor BD139. El conexionado electrónico temporal se realizó en una placa de pruebas con cables Dupont (para lograr incluso mayor robustez, se está desarrollando un PCB dedicado). La interfaz óptica incorporó dos soportes pasamuros con brida para conectores SMA905, garantizando el correcto acoplamiento roscado de las fibras ópticas (una fija y una móvil). El ensamblaje mecánico general se unificó mediante tornillería, tuercas y arandelas M3 de longitudes variables. Finalmente, la celda de muestreo se construyó integrando un cuerpo plástico impreso con dos ventanas ópticas transparentes (25.4 x 38.1 mm), obtenidas mediante el corte transversal de un portaobjetos estándar de microscopio (25.4 x 76.2 mm, 1 mm de espesor) fijado con adhesivo. El camino óptico entre ventanas fue de 5 mm.

La placa Arduino UNO fue conectada con una PC. Se utilizó el Monitor Serial del IDE de Arduino para enviar comandos, tanto para regular la velocidad de agitación, como para realizar cambios angulares.

Si bien tanto la fibra óptica de emisión como la fibra conectada al detector pueden instalarse alternativamente en el conector fijo o en el conjunto móvil, se seleccionó una configuración con fuente de radiación fija y detector móvil. Esta disposición permite mantener constante la condición de incidencia de la radiación sobre la cubeta durante todo el barrido angular. En particular, al trabajar con

incidencia normal sobre la interfaz de la celda, se minimizan las variaciones asociadas a fenómenos de reflexión y refracción en las paredes de la cubeta, así como posibles cambios en el volumen efectivamente iluminado de la suspensión.

Desde la perspectiva del modelado del campo radiativo, esta configuración resulta ventajosa porque asegura una condición de entrada constante para la simulación y para los balances de energía utilizados en el cálculo de las propiedades ópticas. De este modo, las variaciones de intensidad registradas a diferentes ángulos pueden atribuirse principalmente a la redistribución angular de la radiación emergente de la suspensión, reduciendo errores sistemáticos asociados a cambios en la geometría de iluminación o en la reflectancia angular de la celda.

Operación del dispositivo de traslación angular

El espectrofotómetro portátil debe estar preparado, tanto instrumentalmente como a nivel de software. Debe utilizarse una fibra óptica apropiada, con conectores roscados SMA905. Dicha fibra deberá ser conectada en el adaptador móvil del dispositivo (visible a la izquierda de la Figura 2a). Esta fibra óptica será posicionada en distintos ángulos durante las experiencias.

Adicionalmente, debe utilizarse una fuente luminica de amplio espectro. En esta fuente deberá conectarse otra fibra óptica, y el extremo restante deberá ser conectado al adaptador fijo del dispositivo (visible de frente en la Figura 2b). Esta fibra óptica permanecerá inmóvil durante las experiencias.

Se comienza alineando la luz emitida con el detector del espectrofotómetro con la cubeta vacía, maximizando la señal obtenida. Este se considera el ángulo 0. Luego se introducen 6 mL de muestra y un buzo magnético en la cubeta. Después se configura una velocidad de agitación que favorezca la homogeneización durante las lecturas y evite la sedimentación de las células en suspensión.

La velocidad de rotación para agitación se configura a través del Monitor Serial del IDE de Arduino. Éste también se utiliza para solicitar avances o retrocesos con el ángulo establecido (este salto puede ser reconfigurado). Para cada ángulo y antes de pasar al siguiente, el operador debe solicitar una adquisición de datos en el software del espectrofotómetro. Estos datos deben ser guardados para su posterior procesamiento en la etapa de cálculos.

Modelado y simulación del campo de energía radiante para el cálculo de propiedades ópticas

La simulación del campo de energía radiante en el medio de cultivo se realizó mediante un algoritmo

estocástico basado en el método de Monte Carlo (Heinrich et al., 2012). En este enfoque, la trayectoria de cada fotón se describe probabilísticamente desde su ingreso al sistema hasta su absorción o salida del dominio de cálculo.

El algoritmo permitió estimar la distribución espacial del campo de energía radiante considerando la geometría del sistema y las propiedades ópticas del cultivo. Las simulaciones fueron implementadas en MATLAB, empleando un algoritmo desarrollado *ad hoc*. La estimación de parámetros se realizó mediante minimización no lineal de cuadrados, ajustando las predicciones del modelo a los valores experimentales. Se calcularon 31 valores de coeficientes de absorción y dispersión para cada muestra, así como la función de fase de *scattering*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Dispositivo para medición de propiedades ópticas

A partir de sus partes constituyentes, se ensambló un dispositivo modular, parcialmente automatizado y de bajo costo. El sistema resultó funcional para la determinación de propiedades ópticas de suspensiones celulares mediante espectrofotometría con fibras ópticas y traslaciones angulares. Las Figuras 2 y 3 muestran el modelo en 3D y el ensamble resultante, respectivamente.

La consolidación del chasis y las piezas de soporte mediante manufactura aditiva (FDM en PLA) demostraron una rigidez estructural adecuada para soportar los componentes electromecánicos sin deformaciones (Figura 3). Asimismo, la integración de los soportes pasamuros con brida para conectores SMA905 resolvió eficazmente el acoplamiento óptico. La fibra de emisión se mantuvo en una posición fija de frente al sistema, garantizando un flujo radiante constante hacia el interior de la cubeta. Por su parte, la fibra óptica conectada al detector (espectrofotómetro) se acopló al brazo móvil goniométrico, permitiendo realizar barridos angulares con repetibilidad en las posiciones requeridas durante las experiencias (así como en otras aquí no reportadas por falta de espacio). El mecanismo de posicionamiento angular (con un ángulo de 15° ejemplificado en la Figura 2c), basado en el motor paso a paso NEMA 17 y el controlador A4988, pudo ser reconfigurado para diferentes resoluciones angulares, a través del Monitor Serial del IDE de Arduino, mediante la configuración de micropasos gestionada por el firmware en la placa Arduino UNO.

La cubeta de muestreo garantizó una excelente calidad óptica, asegurando además estanqueidad para un volumen de operación de 6 mL de muestra. Debe notarse que en su base tiene un ensanchamiento (Figura 2f-g, Figura 2b-c), mayor a los 5 mm de

camino óptico interior. Esto permite que el buzo magnético tenga suficiente espacio para girar.

En este sentido, el sistema de agitación magnética cumplió satisfactoriamente con los requerimientos operativos. El acople magnético entre los imanes de neodimio montados en el rotor del ventilador (Figura 2d, 2h) y el buzo interno de la cubeta demostró la fuerza necesaria para mantener la muestra en constante movimiento. La etapa de potencia, regulada por el transistor BD139, permitió ajustar la velocidad de rotación desde el Monitor Serial. Se logró una homogeneización eficiente de las suspensiones celulares, lo que evitó por completo la sedimentación durante los tiempos de adquisición de datos en el espectrofotómetro, avalando al dispositivo como una plataforma útil para este tipo de ensayos espectroscópicos.

Si bien la operación del Monitor Serial de Arduino y del software del espectrofotómetro estuvieron a cargo del operador, estos procedimientos pueden automatizarse mediante software apropiado (Siano et al., 2017), agentes de IA o herramientas de RPA (Robotic Process Automation).

Propiedades ópticas de *H. pluvialis*

La caracterización de las propiedades ópticas de la microalga *H. pluvialis* ha sido escasamente abordada en la literatura, a pesar de su relevancia biotecnológica e industrial. En este contexto, la sección másica de absorción espectral, (A_s), calculada a partir del coeficiente de absorción espectral y la concentración de biomasa de la suspensión de *H. pluvialis*, fue determinada durante la transición de células vegetativas a palmellas y aplanosporas, y se muestra en la Figura 4.

Durante las primeras 72 h de cultivo, la población estuvo constituida predominantemente por células vegetativas. A partir de 96 h se observó la aparición de palmellas, cuya proporción aumentó progresivamente hasta representar la fracción dominante entre 120 y 168 h. En los tiempos posteriores, particularmente a partir de 168 h, se evidenció la formación de aplanosporas, las cuales se volvieron predominantes hacia 336 h.

Los espectros de A_s reflejaron esta transición morfológica y pigmentaria. En las células vegetativas, representadas por el tiempo inicial, se observaron bandas de absorción en la región azul del espectro, con máximos relativos en torno a 430–450 nm y 470–490 nm. Luego de una marcada disminución hacia la región verde, con valores mínimos aproximadamente entre 540 y 570 nm, la absorción aumentó nuevamente hacia la región roja, donde se distinguió una contribución alrededor de 660–680 nm.

A medida que avanzó la transición hacia palmellas y aplanosporas, los valores de A_d aumentaron en gran parte del rango espectral evaluado. Este incremento

fue particularmente evidente en la región de 430–520 nm, donde los espectros correspondientes a 168, 216

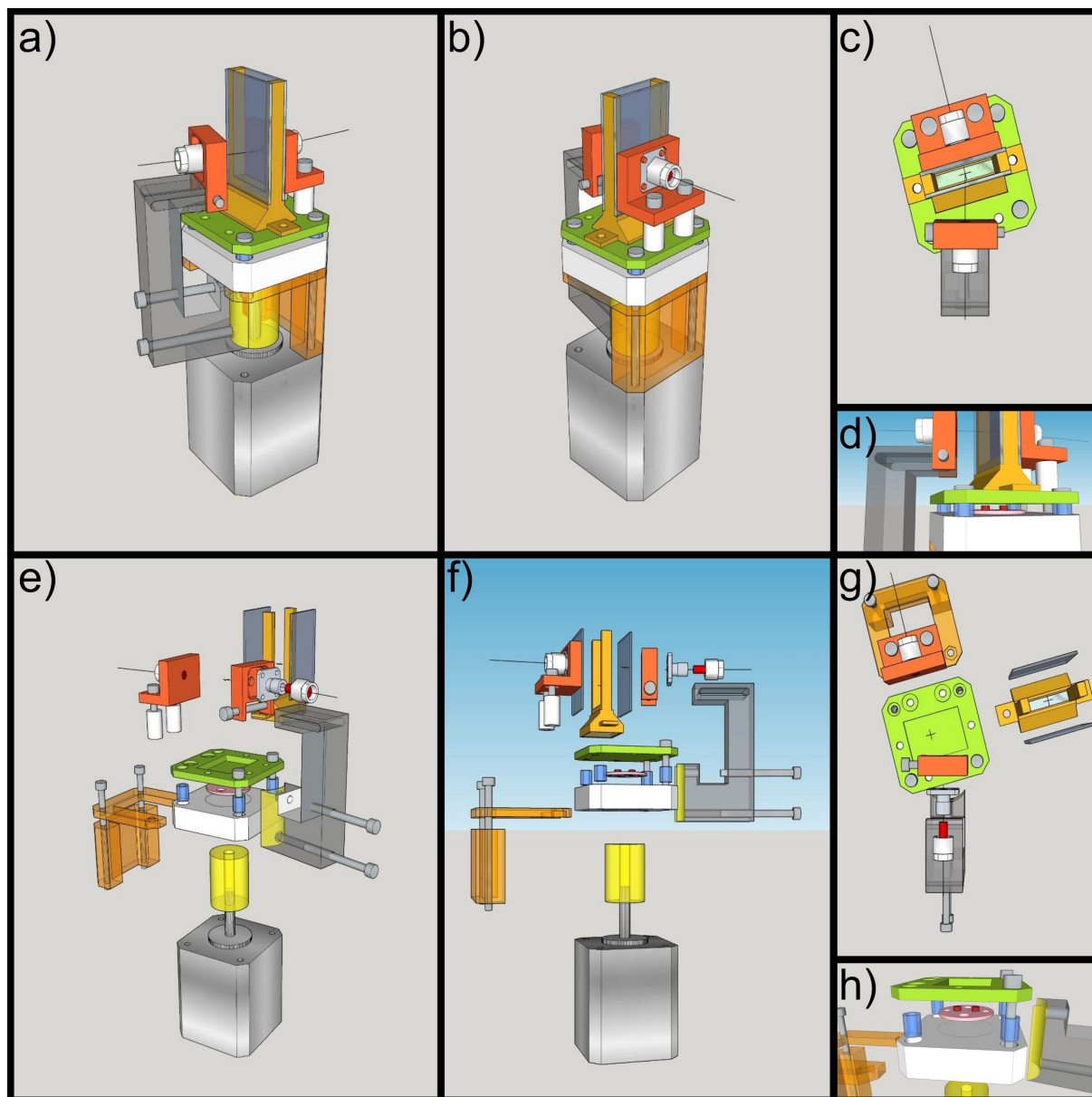


Figura 2. Modelo 3D del dispositivo de traslación angular para medición de propiedades ópticas. a) Vista isométrica frontal del dispositivo completamente ensamblado. b) Vista isométrica posterior. c) Vista superior con una traslación angular de 15° en la alineación del eje óptico transversal a través de la celda de muestreo. d) Detalle del clearance entre la placa de soporte verde y los imanes de agitación. e) Vista explotada isométrica. f) Vista explotada lateral. g) Vista explotada superior. h) Detalle en primer plano del disco porta-ímanes impreso, con imanes de neodimio (rojos) montados sobre el rotor de un cooler de 40x40x10 mm.

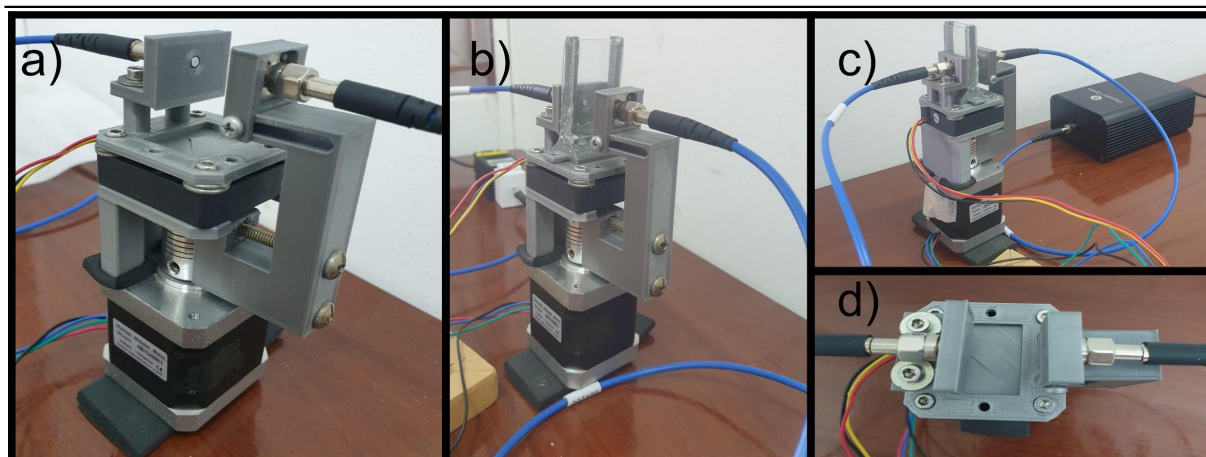


Figura 3. Ensamble de dispositivo goniométrico para medición de propiedades ópticas. a) Vista del dispositivo con fibras ópticas conectadas. b) Vista del dispositivo con cubeta y con la fuente óptica en el fondo. c) Vista del dispositivo con cubeta y con el Espectrofotómetro a la derecha. d) Vista superior del dispositivo.

y 336 h presentaron valores superiores al espectro de células vegetativas. En los tiempos más avanzados, especialmente a 336 h, se observó el mayor nivel de absorción en la región azul-verde, con una banda amplia entre aproximadamente 450 y 520 nm. Este comportamiento resulta consistente con la acumulación progresiva de carotenoides durante la diferenciación celular.

Las bandas de absorción ubicadas alrededor de 430–450 nm y 660–680 nm pueden asociarse principalmente a las clorofilas (a) y (b), mientras que la absorción en la región de 470–520 nm puede atribuirse mayormente a carotenoides. En particular, el incremento relativo de A_{λ} en esta última región durante la transición hacia palmellas y aplanosporas sugiere una mayor contribución de carotenoides, compatible con el proceso de encistamiento y acumulación de pigmentos secundarios característico de *H. pluvialis*.

La forma espectral de A_{λ} obtenida para las células vegetativas fue similar a la informada por Samhat et al. (Samhat et al., 2023, 2024). Sin embargo, durante la transición hacia formas no móviles se observó un cambio progresivo en la magnitud relativa de las bandas de absorción, con un aumento más marcado en la región azul-verde que en la región roja. Esta modificación espectral sugiere que los cambios

morfológicos observados en la población estuvieron acompañados por una reorganización del perfil pigmentario, con una mayor contribución relativa de carotenoides respecto de las clorofilas.

Los espectros de A_{λ} durante el pasaje de células con alto contenido de carotenoides secundarios hacia células vegetativas, proceso conocido como germinación, evidenciaron una marcada reversión pigmentaria y morfológica. Al inicio del ensayo, la población estuvo constituida casi exclusivamente por aplanosporas, coherente con el elevado contenido de pigmentos carotenoides secundarios. Durante las primeras 24 h comenzó a observarse la aparición de palmellas, indicando el inicio del proceso de germinación. Entre 24 y 72 h, la proporción de aplanosporas disminuyó progresivamente, mientras que aumentó la fracción de palmellas y, posteriormente, de células vegetativas. A partir de 72 h, la germinación se encontraba avanzada, con una proporción creciente de células vegetativas. Hacia los tiempos finales del ensayo, la población estuvo constituida mayoritariamente por células vegetativas, lo que refleja una reversión del fenotipo rojo, rico en carotenoides, hacia un estado verde con alto contenido de clorofilas ($\approx 4\%$ p/p), asociado a una mayor actividad fotosintética y reproductiva.

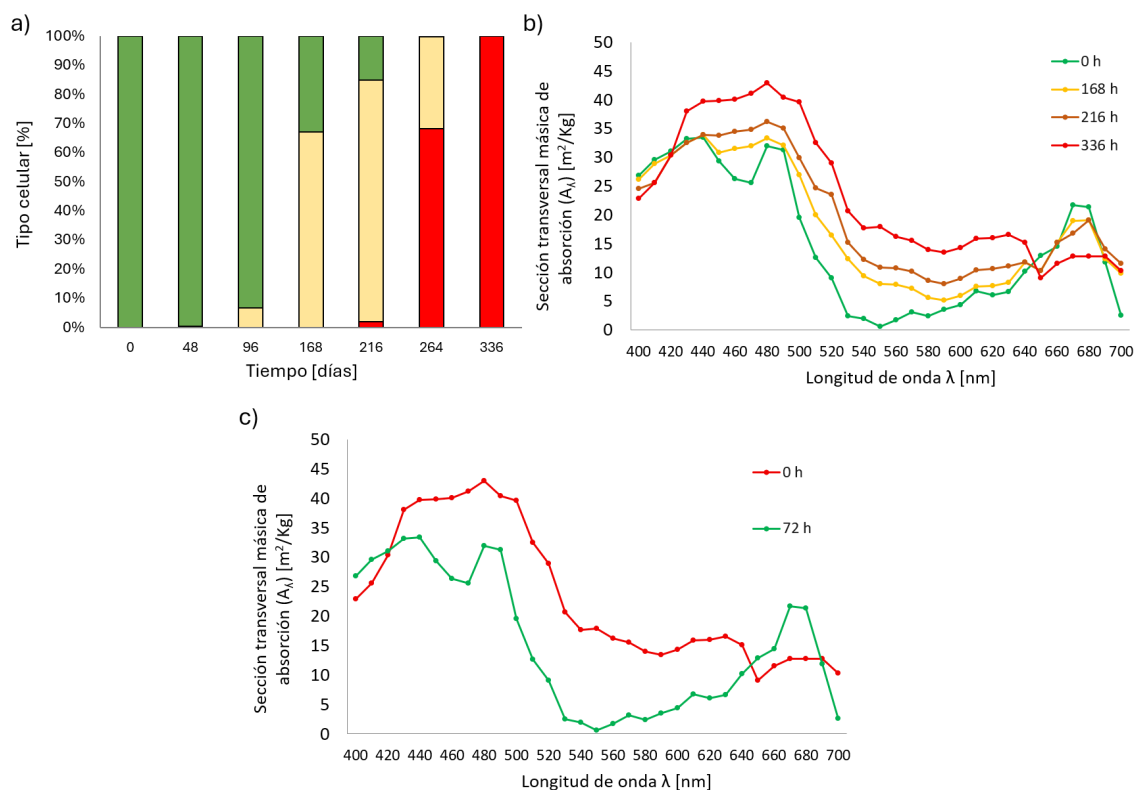


Figura 4. Propiedades ópticas y distribución de tipos celulares durante el ciclo de cultivo. a) Distribución de tipos celulares durante el tiempo de cultivo. b) Evolución en el tiempo del espectro de la sección másica de absorción espectral (A_{λ}) durante la transición de células vegetativas a aplanosporas (carotenogénesis). c) Evolución en el tiempo de A_{λ} durante la transición de aplanosporas a células vegetativas (germinación). Referencias: células vegetativas (verde), palmellas (amarillo) y aplanosporas (rojo).

CONCLUSIONES

Se demostró la viabilidad de la instrumentación *low-cost* mediante la combinación de manufactura aditiva (FDM en PLA) y electrónica de código abierto (Arduino UNO), lo cual permite consolidar un prototipo experimental funcional, con ajustes posicionales adecuados y de muy bajo costo.

En cuanto a la optimización del diseño óptico, la configuración de mantener la fuente de excitación fija con incidencia normal y desplazar angularmente el detector demostró ser un acierto crítico. Esto estabilizó los fenómenos de reflexión y refracción en las ventanas de la cubeta, garantizando un flujo radiante constante y minimizando los errores sistemáticos en el cálculo del balance de energía.

Por su parte, el sistema de agitación magnética integrado y la celda de muestreo con base ensanchada cumplieron exitosamente su función analítica y lograron eficientemente el control de la sedimentación. Esto permitió mantener la homogeneidad de las suspensiones celulares durante todo el tiempo de adquisición, evitando la

sedimentación sin introducir turbulencias o ruido en las lecturas espectrofotométricas.

Asimismo, el control angular preciso posiciona al firmware desarrollado como una sólida plataforma base para una automatización total, dejando el camino preparado para una integración digital completa en el futuro mediante software de control unificado, agentes de IA o herramientas de RPA.

Finalmente, el dispositivo demostró un gran potencial de aplicación en procesos biotecnológicos basados en microalgas, al ser utilizado para monitorear la evolución temporal de las propiedades ópticas de una cepa de microalga de elevado interés biotecnológico y amplia aplicación industrial, como *Haematococcus pluvialis*. Las transiciones celulares entre formas vegetativas, palmellas y aplanosporas, junto con los cambios pigmentarios asociados, se reflejaron claramente en las propiedades ópticas determinadas. Estos resultados demuestran el potencial del sistema como herramienta de seguimiento en cultivos de *H. pluvialis*, con posible aplicación en el control del proceso, la identificación de estados fisiológicos y la

toma de decisiones operativas en futuros desarrollos biotecnológicos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el soporte del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y de la Universidad Nacional del Litoral (UNL). Este trabajo fue parcialmente financiado con recursos del proyecto Capital Semilla 2020 UNL “Metodología para la detección rápida de las propiedades ópticas del cultivo de microalgas”.

REFERENCIAS

AFLALO, Claude; MESHULAM, Yuval; ZARKA, Aliza; BOUSSIBA, Sammy. On the relative efficiency of two- vs. one-stage production of astaxanthin by the green alga *Haematococcus pluvialis*. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 98, n. 1, p. 300–305, 2007.

HEINRICH, Josué Miguel; NIIZAWA, Ignacio; BOTTA, Fausto Adrián; TROMBERT, Alejandro Raúl; IRAZOQUI, Horacio Antonio. Analysis and Design of Photobioreactors for Microalgae Production I: Method and Parameters for Radiation Field Simulation. **Photochemistry and Photobiology**, v. 88, n. 4, p. 938–951, 2012.

IBAÑEZ, Manuel Vicente; LEONARDI, Rodrigo Jorge; HEINRICH, Josué Miguel; STEINGROEWER, Juliane; WALTHER, Thomas; FELIX, Krujatz. A rapid assessment of the radiative properties from a suspension of *Chromochloris zofingiensis*. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 3–4, p. 100007, 1 set. 2020.

IBAÑEZ, Manuel Vicente; LEONARDI, Rodrigo Jorge; KRUIJATZ, Felix; HEINRICH, Josué Miguel. The Assessment of the Real-Time Radiative Properties and Productivity of *Limnospira platensis* in Tubular Photobioreactors. **Life**, v. 12, n. 7, p. 1014, jul. 2022.

LEE, Euntaek; HENG, Ri-Liang; PILON, Laurent. Spectral optical properties of selected photosynthetic microalgae producing biofuels. **Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer**, v. 114, p. 122–135, 1 jan. 2013.

LEONARDI, Rodrigo Jorge; IBAÑEZ, Manuel Vicente; OSELLA, Esteban Nahuel; HEINRICH, Josué Miguel. Laboratory-scale reproduction of lighting conditions for an outdoor vertical column photobioreactor: Theoretical fundamentals and operation of a programmable LED module. **Algal Research**, v. 55, p. 102227, 1 maio 2021.

MERZLYAK, M. N.; CHIVKUNOVA, O. B.; MASLOVA, I. P.; NAQVI, K. R.; SOLOVCHENKO, A. E.; KLYACHKO-GURVICH, G. L. Light absorption and scattering by cell suspensions of some cyanobacteria and microalgae. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 55, n. 3, p. 420–425, 1 maio 2008.

NIIZAWA, Ignacio; ESPINACO, Brenda Yanina; LEONARDI, Jorge Rodrigo; HEINRICH, Josué Miguel;

SIHUE, Guillermo Adrián. Enhancement of astaxanthin production from *Haematococcus pluvialis* under autotrophic growth conditions by a sequential stress strategy. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, v. 48, n. 6, p. 528–534, 3 jul. 2018.

RITCHIE, R. J. Universal chlorophyll equations for estimating chlorophylls a, b, c, and d and total chlorophylls in natural assemblages of photosynthetic organisms using acetone, methanol, or ethanol solvents. **Photosynthetica**, v. 46, n. 1, p. 115–126, 1 mar. 2008.

SAMHAT, Khadija; KAZBAR, Antoinette; TAKACHE, Hosni; GONÇALVES, Olivier; DROUIN, Delphine; ISMAIL, Ali; PRUVOST, Jeremy. Optimization of continuous astaxanthin production by *Haematococcus pluvialis* in nitrogen-limited photobioreactor. **Algal Research**, v. 80, p. 103529, 1 jun. 2024.

SAMHAT, Khadija; KAZBAR, Antoinette; TAKACHE, Hosni; ISMAIL, Ali; PRUVOST, Jeremy. Influence of light absorption rate on the astaxanthin production by the microalga *Haematococcus pluvialis* during nitrogen starvation. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 10, n. 1, p. 78, 9 nov. 2023.

SIANO, Gabriel G.; MONTEMURRO, Milagros; ALCARÁZ, Mirta R.; GOICOECHEA, Héctor C. Open-Source Assisted Laboratory Automation through Graphical User Interfaces and 3D Printers: Application to Equipment Hyphenation for Higher-Order Data Generation. **Analytical Chemistry**, v. 89, n. 20, p. 10667–10672, 17 out. 2017.