



Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), marzo-abril 2026,
Volumen 10, Número 2.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v10i2

**EL NITRÓGENO COMO INDUCTOR METABÓLICO
EN PORPHYRIDIUM CRUENTUM: PRODUCCIÓN
SELECTIVA DE FICOBILIPROTEÍNAS, CARBOHIDRATOS
Y BIOMOLÉCULAS CON POTENCIAL PARA
SUPLEMENTOS ALIMENTICIOS**

**NITROGEN AS A METABOLIC INDUCER IN PORPHYRIDIUM CRUENTUM :
SELECTIVE PRODUCTION OF PHYCOBILIPROTEINS, CARBOHYDRATES AND
BIOMOLECULES WITH POTENTIAL FOR DIETARY SUPPLEMENTS**

Alejandra Sarahí Ramírez Segovia
Instituto Tecnológico de Querétaro, México

Laura Valdés Santiago
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato Guanajuato, México

Beatriz Cordero Esquivel
Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, México

Abelardo Campos Espinoza
Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, México

Karla Sofía Patlan Rivera
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, México

Dulce Carolina Terrazas Montoya
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, México

DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rem.v10i2.23522

El Nitrógeno como Inductor Metabólico en *Porphyridium Cruentum*: Producción Selectiva de Ficobiliproteínas, Carbohidratos y Biomoléculas con Potencial para Suplementos Alimenticios

Alejandra Sarahí Ramírez Segovia¹
alejandra.rsl@queretaro.tecnm.mx
<https://orcid.org/0000-0002-7017-6197>
Tecnológico Nacional de México
Instituto Tecnológico de Querétaro
Querétaro, México

Beatriz Cordero Esquivel
bcordero@cicese.mx
<https://orcid.org/0000-0002-1295-0703>
Centro de Investigación Científica y de
Educación Superior de Ensenada
Baja California, México

Karla Sofía Patlan Rivera
patlan.karla12@gmail.com
Tecnológico Nacional de México
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Guanajuato, México

Laura Valdés Santiago
laura.valdes@secihti.mx
<https://orcid.org/0000-0002-2943-7754>
SECIHTI- Tecnológico Nacional de México
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Guanajuato, México

Abelardo Campos Espinoza
acampos@cicese.mx
<https://orcid.org/0000-0002-7347-5643>
Centro de Investigación Científica y de
Educación Superior de Ensenada
Baja California, México

Dulce Carolina Terrazas Montoya
dulcecaro1501@gmail.com
Tecnológico Nacional de México
Instituto Tecnológico Superior de Irapuato
Guanajuato, México

RESUMEN

Porphyridium cruentum, microalga roja perteneciente al filo Rhodophyta, cuyo perfil bioquímico considera proteínas (~34%), carbohidratos (~32%), lípidos (~7%) y ficobiliproteínas con actividades antioxidantes, antiinflamatorias y antitumorales; la posiciona como candidata de alto valor para el desarrollo de suplementos alimenticios naturales. El presente trabajo evalúa el efecto del exceso de nitrógeno (NaNO_3 : 25 g L⁻¹ como control vs. 75 g L⁻¹ como tratamiento 3N) sobre la acumulación de biomoléculas y pigmentos en dos puntos críticos del ciclo de vida de la microalga: el final de la fase exponencial (Día 7) y el final de la fase estacionaria (Día 14). Los resultados demostraron que el exceso de nitrógeno no generó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) en la concentración de proteínas, lípidos, ficocianina ni aloficocianina en ninguno de los dos momentos de cosecha evaluados. Sin embargo, se registró un incremento significativo del 52.60 % en la concentración de carbohidratos totales durante la fase exponencial, y un aumento del 46.43 % en la concentración de ficoeritrina al término de la fase estacionaria. Estos hallazgos establecen estrategias de cosecha diferenciadas según el compuesto de interés y contribuyen al diseño racional de bioprocesos con microalgas rojas para la obtención de ingredientes bioactivos con aplicación en la industria alimentaria y farmacéutica.

Palabras clave: microalga roja; *porphyridium*; ficobiliproteínas; nitrógeno; suplementos alimenticios; bioprocesos; ficoeritrina; ficocianina.

¹ Autor principal
Correspondencia: alejandra.rsl@queretaro.tecnm.mx

Nitrogen as a Metabolic Inducer in *Porphyridium Cruentum* : Selective Production of Phycobiliproteins, Carbohydrates and Biomolecules with Potential For Dietary Supplements

ABSTRACT

Porphyridium a unicellular red microalga of the genus (Rhodophyta) whose biochemical profile proteins (~34%), carbohydrates (~32%), lipids (~7%) and phycobiliproteins with documented antioxidant, anti-inflammatory and antitumor activities, positions it as a high-value candidate for the development of natural dietary supplements. This study evaluated the effect of nitrogen excess (NaNO_3 : 25 g L^{-1} as control vs. 75 g L^{-1} as treatment 3N) on the accumulation of biomolecules and pigments at two critical points of the microalgal life cycle: the end of the exponential phase (Day 7) and the end of the stationary phase (Day 14). Results showed that nitrogen excess did not generate statistically significant differences ($p > 0.05$) in protein, lipid, phycocyanin, or allophycocyanin concentrations at either harvest point. However, a significant increase of 52.60% in total carbohydrate concentration was recorded during the exponential phase, and a 46.43% increase in phycoerythrin concentration was observed at the end of the stationary phase. These findings establish differentiated harvesting strategies according to the target compound and contribute to the rational design of bioprocesses with red microalgae for obtaining bioactive ingredients applicable in the food and pharmaceutical industries.

Keywords: red microalga; genus *Porphyridium*; phycobiliproteins; nitrogen; dietary supplements; bioprocesses; phycoerythrin; phycocyanin.

Artículo recibido 28 febrero 2026
Aceptado para publicación: 28 marzo 2026



INTRODUCCIÓN

La malnutrición representa uno de los desafíos de salud pública más persistentes y subestimados del siglo XXI. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2021), la malnutrición en todas sus formas, desde la desnutrición calórico-proteica hasta la deficiencia de micronutrientes, afecta a más de 2,000 millones de personas en el mundo. Este problema no distingue contextos: se manifiesta en poblaciones vulnerables de países en desarrollo, pero también en adultos mayores, pacientes oncológicos (donde uno de cada dos experimenta pérdida de peso superior al 10 % durante el tratamiento de acuerdo con datos de Bosaeus et al., 2001) y en personas con enfermedades crónicas que comprimen la ingesta alimentaria. Frente a esta realidad, los suplementos alimenticios representan una herramienta de intervención nutricional de primer orden, siempre que provengan de fuentes con alto valor biológico, bajo impacto ambiental y producción escalable.

En ese contexto, las microalgas han emergido como una de las materias primas más prometedoras para la formulación de suplementos nutricionales de nueva generación. Organismos fotosintéticos que han habitado el planeta durante más de 3,000 millones de años, las microalgas sintetizan una diversidad extraordinaria de compuestos bioactivos: proteínas de alta calidad aminoacídica, ácidos grasos poliinsaturados omega-3, polisacáridos funcionales, vitaminas y pigmentos con actividad farmacológica documentada (Koyande et al., 2019; Matos et al., 2017). A diferencia de las fuentes proteicas convencionales, las microalgas presentan tasas de crecimiento exponencial, no compiten con los cultivos agrícolas por tierra arable y pueden cultivarse en agua de mar o aguas residuales tratadas, lo que les confiere una huella ambiental considerablemente menor (Draaisma et al., 2013).

Dentro de la diversidad de microalgas con potencial biotecnológico, una especie unicelular del género *Porphyridium* ocupa un lugar destacado. Este organismo, alga roja perteneciente al filo Rhodophyta, mide entre 6 y 10 μm de diámetro y es la única microalga unicelular conocida capaz de producir simultáneamente tres clases de ficobiliproteínas: ficoeritrina (FE), ficocianina (FC) y aloficocianina (ALO) (Gantt, 1969). Estas proteínas fluorescentes, responsables del característico color rojo-púrpura de la célula, no son meros pigmentos fotosintéticos: la ficoeritrina exhibe actividad antitumoral e inmunomoduladora (Kaledona et al., 2011; Qi et al., 2019); la ficocianina es reconocida por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, hepatoprotectoras y neuroprotectoras (de Morais et al.,



2018); y la aloficocianina ha mostrado actividad antivírica e inhibición del deterioro cognitivo asociado al envejecimiento (Chaubey et al., 2020). Adicionalmente, la microalga de este estudio sintetiza exopolisacáridos extracelulares con potencial como agentes gelificantes y antirretrovirales, así como ácidos grasos de cadena larga como el ácido araquidónico (AA, 20:4 n-6) y el ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3), de reconocido valor en nutrición y farmacología (Nichols y Appleby, 1969).

Para que la microalga de interés pueda explotarse de forma eficiente como fuente de ingredientes bioactivos, resulta imprescindible comprender cómo las condiciones del medio de cultivo modulan su composición bioquímica. El nitrógeno es el elemento regulador central de este proceso: como componente estructural indispensable de aminoácidos, bases nitrogenadas, clorofilas y ficobiliproteínas, cualquier variación en su disponibilidad repercute directamente sobre el metabolismo celular (Peccia et al., 2013). Estudios previos han reportado respuestas divergentes según la especie y las condiciones evaluadas: mientras que en algunas microalgas el exceso de nitrógeno incrementa la biomasa y el contenido proteico (Hu et al., 2018), en otras induce la acumulación preferencial de lípidos o carbohidratos (Liu et al., 2022; Razaghi et al., 2014).

La pregunta que orienta este trabajo es: ¿Los niveles de NaNO_3 en el medio de cultivo inducen la producción de biomoléculas de interés nutricional y pigmentos de valor comercial en la microalga roja evaluada, y en qué fase de su ciclo de vida ocurre ese efecto con mayor eficacia? Responder esta pregunta no solo tiene implicaciones académicas, sino también prácticas: permite diseñar estrategias de cosecha diferenciadas que maximicen el rendimiento del compuesto deseado sin necesidad de procesos de extracción costosos, contribuyendo a la viabilidad económica y ambiental del bioproceso.

La microalga roja de estudio: biología y composición bioquímica

La microalga roja de estudio pertenece al filo Rhodophyta, clase Bangioideae, orden Bangiales y familia Porphyridiaceae. Es un organismo unicelular, no flagelado, que habita ambientes de agua marina, salobre y dulce, así como suelos húmedos (Li et al., 2019). Su capacidad para capturar luz, menor al 1% de la irradiancia superficial, mediante su eficiente sistema de ficobilisomas, complejos supramoleculares altamente organizados anclados a las membranas tilacoides, la hace destacable entre los organismos fotosintéticos (Adir et al., 2020).



Esta eficiencia se traduce en una tasa de transferencia de energía superior al 95%, lo que convierte a esta microalga en un sistema modelo para el estudio de la fotosíntesis en condiciones de profundidad (Glazer, 1989).

Desde el punto de vista composicional, la especie estudiada presenta una distribución de macromoléculas especialmente equilibrada: aproximadamente 34.1 % de proteínas, 32.1 % de carbohidratos, 7 % de lípidos y 20 % de cenizas en peso seco (Chronakis y Madsen, 2011). Esta proporción la distingue favorablemente de otras microalgas empleadas en suplementación como *Chlorella* spp. o *Spirulina* spp., pues combina un contenido proteico alto con una fracción de pigmentos bioactivos que estas no poseen en la misma magnitud. Adicionalmente, los polisacáridos que conforman su pared celular son secretados al medio como exopolisacáridos (EPS) con actividades biológicas de interés industrial (Geresh y Arad, 1991; Bernaerts et al., 2018).

Las ficobiliproteínas: estructura, función y valor de mercado

Las ficobiliproteínas (FBP) son proteínas hidrosolubles que actúan como sistemas de captación de luz y cuya función fisiológica primaria es transferir energía luminosa desde el ficobilisoma hacia los fotosistemas I y II (Gantt, 1980).

Estructuralmente, se ensamblan a partir de monómeros $\alpha\beta$ que forman trímeros y hexámeros organizados en el ficobilisoma, donde el 85% de la masa corresponde a FBP y el 15% restante a proteínas enlazadoras (Ulagesan et al., 2021). Los cromóforos que les confieren su coloración son las ficobilinas, derivados del grupo hemo unidas covalentemente a residuos de cisteína conservados en cada subunidad (Sidler, 1994).

En la microalga de estudio coexisten tres clases de ficobiliproteínas: la ficoeritrina (FE, $\lambda_{\text{máx}}$ 540-570 nm), la ficocianina (FC, $\lambda_{\text{máx}}$ 610-620 nm) y la aloficocianina (ALO, $\lambda_{\text{máx}}$ 650-655 nm). La FE es la más abundante y la que confiere el color rojo característico a la célula; cuantitativamente, la FE-B supera en unas diez veces a la FE-R en esta especie (Reboloso et al., 1999). Desde el punto de vista del valor comercial, la ficocianina purificada alcanza precios de mercado de hasta 200 USD/mg en grado analítico (Lauceri et al., 2019), mientras que la ficoeritrina tiene un mercado en expansión en la industria de diagnóstico clínico.



La síntesis de ficobiliproteínas en la microalga de interés es un proceso metabólicamente costoso que involucra dos etapas independientes: la síntesis de los cromóforos ficobilínicos a partir del grupo hemo mediante la enzima hemo oxigenasa (HO_1) y, posteriormente, su unión al esqueleto polipeptídico a través de enzimas liasas altamente específicas (Frankenberg-Dinkel y Terry, 2009; Blot et al., 2009). Este costo metabólico explica por qué la regulación de la síntesis de FBP responde de forma sensible a la disponibilidad de nitrógeno en el medio: las ficobiliproteínas actúan también como reservorios de nitrógeno intracelular que pueden degradarse y reutilizarse cuando el nutriente escasea (Allen y Hutchison, 1980).

El nitrógeno como regulador del metabolismo en microalgas

El nitrógeno es un macroelemento esencial en el cultivo de microalgas: participa en la síntesis de aminoácidos, ácidos nucleicos, clorofilas y cofactores enzimáticos. Las microalgas pueden asimilarlo en distintas formas, como: nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amonio (NH_4^+) y urea; siendo el nitrato la fuente más empleada en los medios sintéticos debido a su estabilidad y menor impacto sobre el pH del medio de cultivo (Xu et al., 2001). La fuente de nitrógeno utilizada en este estudio fue $NaNO_3$, que aporta iones NO_3^- asimilables directamente por la maquinaria enzimática de reducción nítrica presente en la microalga evaluada.

El impacto de la concentración de nitrógeno sobre la composición bioquímica de las microalgas es complejo y dependiente de la especie, la fase de crecimiento y las condiciones ambientales del cultivo. La limitación de nitrógeno es quizás la estrategia más estudiada para incrementar la acumulación de lípidos y carbohidratos, ya que, ante la escasez del nutriente, las microalgas redirigen el carbono fijado fotosintéticamente hacia rutas de almacenamiento energético en lugar de hacia la síntesis de proteínas (Yang et al., 2018). Por el contrario, el exceso de nitrógeno tiende a favorecer la síntesis de proteínas y pigmentos nitrogenados, aunque los resultados no son uniformes entre especies.

El ciclo de vida de la microalga evaluada y su relevancia para la cosecha

Como toda microalga en cultivo por lotes (batch), la especie evaluada transita por fases sucesivas de crecimiento: latencia o adaptación (fase lag), aceleración, fase logarítmica o exponencial, desaceleración, fase estacionaria y fase de muerte (Vonshak, 1985).



Cada fase se caracteriza por un perfil bioquímico distinto: durante la fase exponencial predomina la síntesis activa de proteínas estructurales, pigmentos fotosintéticos y material genético necesario para la división celular; durante la fase estacionaria, el agotamiento de nutrientes detiene la proliferación celular pero activa rutas metabólicas secundarias que pueden conducir a la acumulación de compuestos de reserva o a respuestas adaptativas específicas (Ramírez, 2016). Esta dinámica implica que el momento de cosecha es una variable decisiva en la composición final de la biomasa, a menudo tan determinante como la manipulación del medio de cultivo.

METODOLOGÍA

Organismo de estudio y escalamiento de biomasa

La cepa de la microalga roja evaluada, *Porphyridium cruentum*, fue proporcionada por el Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), México. El escalamiento se realizó en medio Bold's Basal Medium (BBM) preparado según el protocolo de Fraunhofer (Andersen, 2005; Bischoff y Bold, 1963), con modificaciones. El escalamiento progresó desde matraces Erlenmeyer de 250 mL hasta garrafrones de 20 L, con inoculaciones sucesivas al alcanzar una concentración de 1×10^6 cel mL⁻¹.

Diseño experimental y condiciones de cultivo

Se establecieron dos condiciones de cultivo: control (N: 25 g L⁻¹ de NaNO₃) y exceso de nitrógeno (3N: 75 g L⁻¹ de NaNO₃). Ambos tratamientos se realizaron por duplicado biológico y triplicado técnico en matraces Erlenmeyer de 500 mL, con volúmenes finales de 200 mL (100 mL de inóculo + 100 mL de medio). Los frascos se mantuvieron en condiciones de temperatura y luz ambiental natural a lo largo del experimento. La concentración inicial del inóculo fue de 1.23×10^6 cel mL⁻¹ y 1.15×10^6 cel mL⁻¹ para las repeticiones biológicas 1 y 2, respectivamente.

El seguimiento del crecimiento celular se realizó mediante recuento en cámara de Neubauer cada 24 horas durante 19 días. La velocidad específica de crecimiento (μ , d⁻¹) se calculó a partir de la pendiente de la regresión lineal del logaritmo natural de la concentración celular durante la fase exponencial. Las colectas de biomasa para análisis bioquímicos se realizaron en el Día 0 (inicio), Día 7 (final de la fase exponencial) y Día 14 (final de la fase estacionaria). La biomasa se obtuvo por centrifugación (9,000 rpm, 13 min, 4 ciclos), se congeló a -20 °C y se liofilizó para los análisis posteriores.



Cuantificación de biomoléculas y pigmentos

Las proteínas totales se extrajeron mediante hidrólisis alcalina (NaOH 0.5 N, 80 °C, 20 min) según Andreeva et al. (2021) y se cuantificaron por el método colorimétrico de Bradford (1976), utilizando ovoalbúmina como estándar (curva $R^2 = 0.9961$, 0-1 mg mL⁻¹). Los lípidos totales se cuantificaron por la reacción de sulfo-fosfo-vainillina (Mishra et al., 2014), con aceite de canola como estándar (curva $R^2 = 0.9839$, 0-0.84 mg mL⁻¹). Los carbohidratos totales se extrajeron por hidrólisis ácida (H₂SO₄ 2N, 120 °C, 1.2 bar, 30 min) y se cuantificaron por el método fenol-ácido sulfúrico de DuBois et al. (1956), con glucosa anhidra como estándar (curva $R^2 = 0.9802$, 0-84 µg mL⁻¹). Las ficobiliproteínas (FE, FC, ALO) se extrajeron mediante ciclos de sonicación (2 min) y congelación-descongelación en agua destilada, y se cuantificaron espectrofotométricamente a 565, 620 y 650 nm mediante las ecuaciones de Bennett y Bogorad (1973).

Análisis estadístico

Los datos se expresan como media ± desviación estándar de dos réplicas biológicas independientes y tres réplicas técnicas. El análisis de varianza (ANOVA de una vía) y la prueba de comparación múltiple de Tukey se realizaron con Minitab 2019 (nivel de significancia $\alpha = 0.05$). Los resultados se presentan con notación de letras (a, b) para indicar diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos dentro de cada fase de crecimiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del exceso de nitrógeno sobre el crecimiento celular

Las curvas de crecimiento obtenidas para las dos condiciones de cultivo se muestran en la Tabla 1. Bajo condiciones normales (N), la fase exponencial se extendió del Día 3 al Día 7, con una velocidad específica de crecimiento de 0.036 d⁻¹ (Tabla 1). Bajo exceso de nitrógeno (3N), la fase de latencia fue prácticamente nula y la fase exponencial finalizó hacia el Día 6, con una velocidad de 0.100 d⁻¹, lo que representa casi tres veces superior al control. Sin embargo, la concentración máxima celular alcanzada al término de la fase estacionaria (Día 14) fue estadísticamente equivalente entre ambos tratamientos ($p > 0.05$), confirmando que el exceso de nitrógeno acelera la cinética de crecimiento en las fases tempranas, pero no incrementa la capacidad de carga final del cultivo.



Tabla 1. Parámetros de crecimiento de la microalga roja de estudio bajo cultivo normal (N) y con exceso de nitrógeno (3N). Letras iguales indican ausencia de diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos dentro del mismo parámetro.

Parámetro	Control (N)	Exceso de N (3N)	p-valor
Velocidad específica de crecimiento (μ , d^{-1})	0.036	0.100	> 0.05 (excepto Día 19)
Concentración máxima celular ($\times 10^6$ cel/mL)	3.1 ± 0.4	3.3 ± 0.5	> 0.05
Día de término fase exponencial	7	6	—
Día de término fase estacionaria	14	14	—

Este comportamiento es coherente con el rol del nitrógeno como catalizador de la síntesis de materiales celulares necesarios para la división: en condiciones de abundancia, la maquinaria biosintética opera a mayor velocidad durante la fase activa de crecimiento, pero el cultivo converge hacia el mismo estado estacionario una vez que otros factores como: espacio físico, irradiancia o acumulación de metabolitos se vuelven dominantes. Resultados similares han sido reportados en otras microalgas marinas como *Phaeodactylum tricornutum* (Yodsuwan et al., 2017) y en especies afines del mismo género estudiado (Li et al., 2019), donde la concentración de nitrógeno modifica la cinética, pero no la biomasa máxima alcanzada bajo condiciones ambientales similares.

Proteínas y lípidos: regulación estable ante el exceso de nitrógeno

La concentración de proteínas totales no presentó diferencias significativas entre los tratamientos N y 3N en ninguna de las dos fases evaluadas ($p > 0.05$), con valores en un rango de 0.048-0.051 mg de proteínas/mg de biomasa·mL (Tabla 2). Este resultado, aparentemente contraintuitivo dado el papel estructural del nitrógeno en la síntesis de aminoácidos y proteínas, propone que la microalga evaluada opera con mecanismos de homeostasis proteica incluso ante variaciones amplias en la disponibilidad del nutriente.

La regulación puede involucrar la modulación de la actividad de enzimas de asimilación de nitrógeno, como la glutamina sintetasa y el glutamato sintetasa que ajustan el flujo metabólico hacia la síntesis de nitrógeno orgánico en función de la demanda celular más que de la oferta externa.



Tabla 2.

Compuesto	Control Día 7	3N Día 7	Control Día 14	3N Día 14
Proteínas (mg/mgBiomasa·ml)	0.051 ± 0.008a	0.049 ± 0.010a	0.048 ± 0.007a	0.050 ± 0.009a
Lípidos (mg/mgBiomasa·ml)	1.320 ± 0.120a	1.298 ± 0.098a	1.310 ± 0.115a	1.287 ± 0.102a
Carbohidratos (mg/mgBiomasa·ml)	0.013 ± 0.002a	0.020 ± 0.003b*	0.018 ± 0.002a	0.019 ± 0.003a
Ficoeritrina (µg/mgBiomasa·ml)	0.95 ± 0.1a	0.98 ± 0.1a	0.91 ± 0.1a	1.33 ± 0.2b*
Ficocianina (µg/mgBiomasa·ml)	0.48 ± 0.1a	0.46 ± 0.1a	0.45 ± 0.1a	0.47 ± 0.1a
Aloficocianina (µg/mgBiomasa·ml)	0.62 ± 0.1a	0.61 ± 0.1a	0.60 ± 0.1a	0.63 ± 0.1a

Concentración de biomoléculas y ficobiliproteínas en la microalga roja de estudio bajo cultivo normal (Control) y exceso de nitrógeno (3N) al final de la fase exponencial (Día 7) y estacionaria (Día 14). Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$, Tukey). (*) Diferencia significativa respecto al control.

En cuanto a los lípidos totales, se observaron diferencias no significativas entre tratamientos ($p > 0.05$), con concentraciones promedio en el rango de 1.29-1.32 mg de lípidos/mg de biomasa·mL. Este comportamiento es consistente con el rol modulador del nitrógeno sobre las rutas lipídicas: si bien la deficiencia de nitrógeno es reconocida como inductora de acumulación de triacilgliceroles mediante la activación de la enzima acil-hidrolasa y la desviación de acil-CoA hacia el almacenamiento energético (Chu et al., 2013; Yang et al., 2018), el exceso de nitrógeno no ejerce un efecto equivalente en sentido contrario sobre los lípidos totales en esta especie. La fracción lipídica parece mantenerse en niveles basales determinados por las necesidades estructurales de la membrana tilacoidal y plasmática, independientemente de la concentración de nitrógeno en el rango evaluado.

El hallazgo más relevante en cuanto al perfil de biomoléculas fue el incremento significativo del 52.60 % en la concentración de carbohidratos totales durante la fase exponencial (Día 7) bajo el tratamiento 3N respecto al control ($p < 0.05$). En la fase estacionaria (Día 14), en cambio, los valores convergieron y no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. Este efecto del nitrógeno circunscrito a la fase de crecimiento activo, sugiere una vinculación entre la disponibilidad de nitrógeno y la activación de las rutas de síntesis de carbohidratos durante la fase en que el metabolismo primario es primordial.



Desde el punto de vista bioquímico, este fenómeno es congruente con la observación de Razaghi et al. (2014) en la especie de este mismo género, quienes encontraron que altas concentraciones de NaNO_3 promueven la síntesis de polisacáridos menos solubles en la pared celular tales como xilosa-glucosa-galactosa, llegando incluso a aumentar el tamaño celular observable. Este complejo de polisacáridos en la pared celular, puede representar más del 50% de la biomasa total en condiciones específicas (Tannin-Spitz et al., 2005), cumple funciones de protección osmótica y adhesión al sustrato: en presencia de exceso de nitrógeno, la célula podría incrementar la síntesis de dicho complejo como mecanismo para gestionar el exceso de nitrógeno orgánico derivado de rutas de asimilación activas. Adicionalmente, la mayor velocidad de crecimiento observada bajo 3N durante la fase exponencial requiere mayor síntesis de carbohidratos estructurales para la formación de nuevas paredes celulares en cada ciclo de división. Esta regulación diferencial respecto al metabolismo de carbohidratos, frente a la estabilidad de proteínas y lípidos, tiene implicaciones directas para el diseño de bioprocesos: si el objetivo productivo es la obtención de polisacáridos funcionales o polisacáridos de la microalga de estudio el empleo de un medio con 75 g L^{-1} de NaNO_3 y la cosecha al final de la fase exponencial maximizará el rendimiento de estos compuestos respecto al cultivo estándar.

Por otro lado, el análisis de las ficobiliproteínas reveló un comportamiento altamente selectivo frente al exceso de nitrógeno. Ficocianina y aloficocianina no presentaron diferencias significativas entre tratamientos en ninguna fase de crecimiento ($p > 0.05$), manteniéndose en concentraciones basales de $0.46\text{-}0.48 \text{ } \mu\text{g PC/mg Biomasa}\cdot\text{mL}$ y $0.60\text{-}0.63 \text{ } \mu\text{g ALO/mg Biomasa}\cdot\text{mL}$, respectivamente. En contraste, la ficoeritrina mostró un incremento significativo del 46.43 % bajo el tratamiento 3N al término de la fase estacionaria (Día 14) respecto al control, sin evidencia de cambios significativos durante la fase exponencial.

La especificidad de este efecto sobre la FE es bioquímicamente dado que en el ensamblaje del ficobilisoma de las algas rojas, la FE se ubica en la periferia del complejo, captando luz en las longitudes de onda que los demás pigmentos no absorben eficientemente, mientras que FC y ALO constituyen el núcleo y actúan como intermediarios en la transferencia de energía hacia los fotosistemas (Dagnino-Leone et al., 2022). La síntesis de FE requiere la incorporación de cromóforos ficoeritrobilina (PEB), cuya biosíntesis a partir de biliverdina IX involucra la acción secuencial de las enzimas PebA y PebB



(Frankenberg-Dinkel y Terry, 2009). Es posible que el exceso de nitrógeno estimule esta ruta biosintética durante la fase estacionaria, cuando la célula canaliza el nitrógeno disponible hacia la síntesis de proteínas de reserva (Wang et al., 2023).

Este hallazgo coincide con lo reportado por Sánchez-Saavedra et al. (2018) para esta microalga del género *Porphyridium*, quienes encontraron que el incremento de la concentración de nitrógeno favorece selectivamente la FE respecto a FC y ALO, y con las observaciones de Mizuta (2002) en algas rojas macroscópicas, donde la relación entre ficoeritrina y contenido de nitrógeno tisular fue directamente proporcional. Desde una perspectiva evolutiva, esta respuesta tiene sentido: la FE es el pigmento antena más eficiente para capturar longitudes de onda verdes (540-570 nm), predominantes en ambientes acuáticos profundos donde la especie evaluada puede habitar; en condiciones de nutrición nitrogenada abundante, invertir en una antena captadora más eficiente maximiza el rendimiento fotosintético.

CONCLUSIONES

El exceso de nitrógeno en el medio de cultivo de la microalga roja del género *Porphyridium cruentum* evaluada en dos concentraciones de nitrógeno (Control y 3N) no modifica de manera estadísticamente significativa la acumulación de proteínas totales, lípidos, ficocianina ni aloficocianina en ninguna de las fases de crecimiento evaluadas. Este resultado pone de manifiesto que el microorganismo de estudio opera con mecanismos de homeostasis metabólica robustos que mantienen estables las concentraciones de estos compuestos ante cambios importantes en la disponibilidad de nitrógeno, lo cual es, en sí mismo, un dato relevante para el diseño de procesos que buscan estandarizar la composición de la biomasa producida.

Sin embargo, el estudio identifica dos respuestas metabólicas selectivas y aprovechables desde el punto de vista biotecnológico: (1) un incremento significativo del 52.60 % en la concentración de carbohidratos totales bajo condiciones 3N al final de la fase exponencial (Día 7), atribuible a la mayor síntesis de polisacáridos extracelulares durante la fase activa de división; y (2) un aumento significativo del 46.43 % en la concentración de ficoeritrina bajo condiciones 3N al término de la fase estacionaria (Día 14), consistente con el rol de las ficobiliproteínas como reservorios nitrogenados de la célula en condiciones de abundancia.



Estas observaciones establecen estrategias de cosecha diferenciadas que permiten orientar la producción de la microalga de interés hacia el compuesto de mayor interés sin necesidad de modificar la composición central del sistema de cultivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Adir, N., Bar-Zvi, S., y Harris, D. (2020). The amazing phycobilisome. *Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics*, 1861(4), 148047. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2019.07.002>
- Allen, M. M., y Hutchison, F. (1980). Nitrogen limitation and recovery in the cyanobacterium *Aphanocapsa* 6308. *Archives of Microbiology*, 128(1), 1-7. <https://doi.org/10.1007/bf00422297>
- Andersen, R. A. (2005). *Algal culturing techniques*. Elsevier Academic Press.
- Andreeva, A., Budenkova, E., Babich, O., Sukhikh, S., Ulrikh, E., Ivanova, S., Prosekov, A., y Dolganyuk, V. (2021). Production, purification, and study of the amino acid composition of microalgae proteins. *Molecules*, 26(9), 2767. <https://doi.org/10.3390/molecules26092767>
- Bennett, A., y Bogorad, L. (1973). Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *The Journal of Cell Biology*, 58(2), 419-435. <https://doi.org/10.1083/jcb.58.2.419>
- Bernaerts, T. M. M., Kyomugasho, C., Van Looveren, N., Gheysen, L., Foubert, I., Hendrickx, M. E., y Van Loey, A. M. (2018). Molecular and rheological characterization of different cell wall fractions of *Porphyridium cruentum*. *Carbohydrate Polymers*, 195, 542-550. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.05.001>
- Bischoff, H. W., y Bold, H. C. (1963). *Phycological studies IV*. University of Texas Publications, 6318, 1-95.
- Blot, N., Wu, X.-J., Thomas, J.-C., Zhang, J., Garczarek, L., Böhm, S., y Zhao, K.-H. (2009). Phycourobilin in trichromatic phycocyanin from oceanic cyanobacteria is formed post-translationally by a phycoerythrobilin lyase-isomerase. *The Journal of Biological Chemistry*, 284(14), 9290-9298. <https://doi.org/10.1074/jbc.m809784200>
- Bosaesus, I., Daneryd, P., Svanberg, E., y Lundholm, K. (2001). Dietary intake and resting energy expenditure in relation to weight loss in unselected cancer patients. *International Journal of Cancer*, 93(3), 380-383. <https://doi.org/10.1002/ijc.1332>



- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Chaubey, M. G., Patel, S. N., Rastogi, R. P., Madamwar, D., y Singh, N. K. (2020). Cyanobacterial pigment protein allophycocyanin exhibits longevity and reduces A β -mediated paralysis in *C. elegans*. *3 Biotech*, 10(8). <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02314-1>
- Chaubey, M. G., Patel, S. N., Rastogi, R. P., Srivastava, P. L., Singh, A. K., Madamwar, D., y Singh, N. K. (2019). Therapeutic potential of cyanobacterial pigment protein phycoerythrin: in silico and in vitro study of BACE1 interaction and in vivo A β reduction. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 368-378. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.006>
- Chronakis, I. S., y Madsen, M. (2011). Algal proteins. En *Handbook of Food Proteins* (pp. 353-394). Elsevier.
- Chu, F.-F., Chu, P.-N., Cai, P.-J., Li, W.-W., Lam, P. K. S., y Zeng, R. J. (2013). Phosphorus plays an important role in enhancing biodiesel productivity of *Chlorella vulgaris* under nitrogen deficiency. *Bioresource Technology*, 134, 341-346.
- Dagnino-Leone, J., Figueroa, C. P., Castañeda, M. L., Youlton, A. D., Vallejos-Almirall, A., Agurto-Muñoz, A., y Agurto-Muñoz, C. (2022). Phycobiliproteins: Structural aspects, functional characteristics, and biotechnological perspectives. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 20, 1506-1527.
- de Morais, M. G., da Fontoura Prates, D., Moreira, J. B., Duarte, J. H., y Costa, J. A. V. (2018). Phycocyanin from microalgae: Properties, extraction and purification, with some recent applications. *Industrial Biotechnology*, 14(1), 30-37. <https://doi.org/10.1089/ind.2017.0009>
- Draaisma, R. B., Wijffels, R. H., Slegers, P. M. E., Brentner, L. B., Roy, A., y Barbosa, M. J. (2013). Food commodities from microalgae. *Current Opinion in Biotechnology*, 24(2), 169-177.
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., y Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356.
- Frankenberg-Dinkel, N., y Terry, M. J. (2009). Synthesis and role of bilins in photosynthetic organisms. En *Tetrapyrroles* (pp. 208-220). Springer New York.



- Gantt, E. (1969). Properties and ultrastructure of phycoerythrin from *Porphyridium cruentum*. *Plant Physiology*, 44(11), 1629-1638.
- Gantt, E. (1980). Structure and function of phycobilisomes: Light harvesting pigment complexes in red and blue-green algae. En *International Review of Cytology* (pp. 45-80). Elsevier.
- Geresh, S., y Arad, S. (1991). The extracellular polysaccharides of the red microalgae: Chemistry and rheology. *Bioresource Technology*, 38(2-3), 195-201.
- Glazer, A. N. (1989). Light guides: Directional energy transfer in a photosynthetic antenna. *The Journal of Biological Chemistry*, 264(1), 1-4.
- Hu, H., Wang, H.-F., Ma, L.-L., Shen, X.-F., y Zeng, R. J. (2018). Effects of nitrogen and phosphorous stress on the formation of high value LC-PUFAs in *Porphyridium cruentum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(13), 5763-5773.
- Kaledona, M., R. A., Gardeva, E., Tchorbadjieva, M., Ivanova, N., Yossifova, L., y Gigova, L. (2011). Antitumor activity of B-phycoerythrin from *Porphyridium cruentum*. *Journal of Pharmacy Research*, 4(5), 1480-1482.
- Koyande, A. K., Chew, K. W., Rambabu, K., Tao, Y., Chu, D.-T., y Show, P.-L. (2019). Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans. *Food Science and Human Wellness*, 8(1), 16-24.
- Lauceri, R., Chini Zittelli, G., y Torzillo, G. (2019). A simple method for rapid purification of phycobiliproteins from *Arthrospira platensis* and *Porphyridium cruentum* biomass. *Algal Research*, 44, 101685.
- Li, S., Ji, L., Shi, Q., Wu, H., y Fan, J. (2019). Advances in the production of bioactive substances from marine unicellular microalgae *Porphyridium* spp. *Bioresource Technology*, 292, 122048.
- Li, T., Xu, J., Wu, H., Jiang, P., Chen, Z., y Xiang, W. (2019). Growth and biochemical composition of *Porphyridium purpureum* SCS-02 under different nitrogen concentrations. *Marine Drugs*, 17(2), 124.
- Liu, T., Chen, Z., Xiao, Y., Yuan, M., Zhou, C., Liu, G., Fang, J., y Yang, B. (2022). Biochemical and morphological changes triggered by nitrogen stress in the oleaginous microalga *Chlorella vulgaris*. *Microorganisms*, 10(3), 566.



- Matos, J., Cardoso, C., Bandarra, N. M., y Afonso, C. (2017). Microalgae as healthy ingredients for functional food: a review. *Food & Function*, 8(8), 2672-2685.
- Mishra, S. K., Suh, W. I., Farooq, W., Moon, M., Shrivastav, A., Park, M. S., y Yang, J.-W. (2014). Rapid quantification of microalgal lipids in aqueous medium by a simple colorimetric method. *Bioresource Technology*, 155, 330-333.
- Mizuta, H. (2002). Relationship between phycoerythrin and nitrogen content in *Gloiopeltis furcata* and *Porphyra yezoensis*. *Algae*, 17(2), 89-93.
- Nichols, B. W., y Appleby, R. S. (1969). The distribution and biosynthesis of arachidonic acid in algae. *Phytochemistry*, 8(10), 1907-1915.
- OMS. (2021). Malnutrition factsheet. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malnutrition>
- Peccia, J., Haznedaroglu, B., Gutierrez, J., y Zimmerman, J. B. (2013). Nitrogen supply is an important driver of sustainable microalgae biofuel production. *Trends in Biotechnology*, 31(3), 134-138.
- Qi, H., Liu, Y., Qi, X., Liang, H., Chen, H., Jiang, P., y Wang, D. (2019). Dietary recombinant phycoerythrin modulates the gut microbiota of H22 tumor-bearing mice. *Marine Drugs*, 17(12), 665.
- Ramírez, M. (2016). Extracción y caracterización de metabolitos secundarios a partir de *Bacillus thuringiensis*. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Razaghi, A., Godhe, A., y Albers, E. (2014). Effects of nitrogen on growth and carbohydrate formation in *Porphyridium cruentum*. *Open Life Sciences*, 9(2), 156-162.
- Reboloso, M. M., García, J. L., Fernández, J. M., Acién, F. G., Sánchez, J. A., y Molina, E. (1999). Outdoor continuous culture of *Porphyridium cruentum* in a tubular photobioreactor: quantitative analysis of the daily cyclic variation of culture parameters. *Journal of Biotechnology*, 70(1-3), 271-288.
- Sánchez-Saavedra, M. del P., Castro-Ochoa, F. Y., Nava-Ruiz, V. M., Ruiz-Güereca, D. A., Villagómez-Aranda, A. L., Siqueiros-Vargas, F., y Molina-Cárdenas, C. A. (2018). Effects of nitrogen source and irradiance on *Porphyridium cruentum*. *Journal of Applied Phycology*, 30(2), 783-792.



- Sidler, W. A. (1994). Phycobilisome and phycobiliprotein structures. En *The Molecular Biology of Cyanobacteria* (pp. 139-216). Springer Netherlands.
- Tam, N. F. Y., y Wong, Y. S. (1996). Effect of ammonia concentrations on growth of *Chlorella vulgaris* and nitrogen removal from media. *Bioresource Technology*, 57(1), 45-50.
- Tannin-Spitz, T., Bergman, M., van-Moppes, D., Grossman, S., y Arad, S. (2005). Antioxidant activity of the polysaccharide of the red microalga *Porphyridium* sp. *Journal of Applied Phycology*, 17(3), 215-222.
- Talyshinsky, M. M., Souprun, Y. Y., y Huleihel, M. M. (2002). Anti-viral activity of red microalgal polysaccharides against retroviruses. *Cancer Cell International*, 2(1), 8.
- Ulagesan, S., Nam, T.-J., y Choi, Y.-H. (2021). Extraction and purification of R-phycoerythrin alpha subunit from the marine red algae *Pyropia yezoensis* and its biological activities. *Molecules*, 26(21), 6479.
- Vonshak, A. (1985). Micro-algae: Laboratory growth techniques and outdoor biomass production. En *Techniques in Bioproduktivty and Photosynthesis* (pp. 188-200). Elsevier.
- Wang, Q., Lan, L., Li, H., Gong, Q., y Gao, X. (2023). Effects of nitrogen source and concentration on the growth and biochemical composition of the red seaweed *Grateloupia turuturu*. *Sustainability*, 15(5), 4210.
- Xu, N., Zhang, X., Fan, X., Han, L., y Zeng, C. K. (2001). Effects of nitrogen source and concentration on growth rate and fatty acid composition of *Ellipsoidion* sp. *Journal of Applied Phycology*, 13(6), 463-469.
- Yang, L., Chen, J., Qin, S., Zeng, M., Jiang, Y., Hu, L., y Wang, J. (2018). Growth and lipid accumulation by different nutrients in the microalga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biotechnology for Biofuels*, 11(1).
- Ying, J., Tang, Z., Zhao, G., Li, X., Pan, R., Lin, S., y Yan, C. (2021). Transcriptomic study on apoptosis of SKOV-3 cells induced by phycoerythrin from *Gracilaria lemaneiformis*. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 21(10), 1240-1249.



- Yodsuwan, N., Sawayama, S., y Sirisansaneeyakul, S. (2017). Effect of nitrogen concentration on growth, lipid production and fatty acid profiles of the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Agriculture and Natural Resources*, 51(3), 190-197.
- Zarrinmehr, M. J., Farhadian, O., Heyrati, F. P., Keramat, J., Koutra, E., Kornaros, M., y Daneshvar, E. (2020). Effect of nitrogen concentration on the growth rate and biochemical composition of the microalga *Isochrysis galbana*. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46(2), 153-158.

