

# ANÁLISIS DE PARÁMETROS DE OPERACIÓN PARA EL DESARROLLO DE UNA FICOCELDA PARA FINES ENERGÉTICOS

Fátima Sanjuana Aguilar Centeno (1), Judith Taideé Urrutia Negrete (2), Alberto Ayala islas (3)

1 [Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato] | [fatima30\_12\_94@hotmail.com]

2 [Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato] | [judithtaidee-15@hotmail.com]

3 [Ingeniería Bioquímica, Irapuato, Instituto Tecnológico Superior] | [alayala@itesi.edu.mx]

## Resumen

Se determinaron las mejores condiciones de crecimiento para un consorcio de microalgas provenientes del Zoológico de Irapuato variando las concentraciones de nitrógeno y fósforo en medio Bold Basal Medium (BBM) y lodos residuales de la PTAR de San Jerónimo, Gto., en las cuales se realizaron tres pruebas. En la primera se evaluó el crecimiento microalgal utilizando fotobiorreactores de 1.5 L y medio BBM estándar (A y B), en la segunda se empleó medio BBM a doble concentración de fósforo y nitrógeno (2N2P, 2N y 2P), midiendo la concentración celular mediante conteo celular, peso seco y absorbancia. En la última prueba se determinó el crecimiento utilizando lodos residuales como fuente de nutrientes, tomando como control medio BBM a 2N2P y se observó un mayor crecimiento celular (350 millones de células/mL) en comparación con BBM (67 millones de células/mL).

## Abstract

The best growth conditions were determined for a consortium of microalgae from the Irapuato Zoo, varying the concentrations of nitrogen and phosphorus in medium Bold Basal Medium (BBM) and residual sludge from the Wastewater Treatment Plant of San Jerónimo, Gto., in which three tests were carried out. In the first, microalgal growth was evaluated using photobiorreactores of 1.5 L and BBM standard (A and B), in the second BBM was used at double concentration of phosphorus and nitrogen (2N2P, 2N and 2P), measuring the cell concentration by cell count, dry weight and absorbance. In the last test the growth was determined using residual sludge as a source of nutrients, taking as a control BBM medium to 2N2P and higher cell growth was observed (350 million cells / mL) compared to BBM (67 million cells / mL).

## Palabras Clave

Fotobiorreactor; biomasa; microalga, lodos residuales.

## INTRODUCCIÓN

### Microalgas

Las microalgas, consideradas como los primeros microorganismos fotosintéticos [1], son organismos unicelulares capaces de transformar la energía luminosa en energía química con una eficiencia cuatro veces superior a la de las plantas [2]. Contienen clorofila y otros pigmentos fotosintéticos, en este contexto se les conoce como cianobacterias o algas verde-azules [3]. Su importancia radica en su papel como productores primarios de la cadena trófica, que las constituyen en las primeras formadoras de materia orgánica y miden de 5–50  $\mu\text{m}$  en promedio [2]. Esto es, son capaces de generar biomasa orgánica a partir de  $\text{CO}_2$  y luz, usando al agua como dador de electrones y oxidándola a  $\text{O}_2$ . Esta biomasa es mucho mayor que las plantas superiores, ya que no necesitan generar estructuras reproductoras o estructurales, lo que les permite duplicarse en cuestión de horas [4]. Esto depende de los factores que determinan su crecimiento.

#### *Factores de crecimiento*

##### *Luz*

La luz es la fuente de energía que lidera las reacciones fotosintéticas, por lo que la luz utilizada para la fotosíntesis es la que se corresponde con el espectro solar, es decir entre 350 nm y 700 nm, y aproximadamente, un 40% de la radiación total emitida por el sol, que a diferencia del resto de los organismos terrestres fotosintéticos que presentan una eficiencia de conversión luz-biomasa de un 1%, las microalgas consiguen llegar a un 4% [5].

##### *Temperatura*

La temperatura también regula el metabolismo de las microalgas, así como también la composición de la biomasa y la velocidad de crecimiento, siendo el rango óptimo para la mayoría de microalgas, entre 18 y 22° C [6].

##### *pH*

Las microalgas tienen su rango óptimo de desarrollo entre valores de pH de 7 y 9 [7], siendo soportables valores mayores a éstos, ya que valores ácidos generalmente causan muerte de las microalgas [8].

##### *Salinidad*

La salinidad del medio afecta esencialmente a la capacidad de intercambio de sustancias a través de las paredes celulares de los microorganismos, que se rigen por procesos de ósmosis [9].

##### *Agitación*

El sistema convencional de aplicar la agitación es mediante el burbujeo de aire y  $\text{CO}_2$ , para mantener una distribución homogénea del medio líquido [10].

##### *Nutrientes*

Como la gran mayoría de organismos los nutrientes mayoritarios que necesitarán serán nitrógeno y fósforo, independientemente de otros macronutrientes como azufre, calcio, magnesio y potasio o micronutrientes como hierro, níquel, cobre, zinc o manganeso [10].

##### *Biotecnología de microalgas*

Cuando se controlan bien los parámetros de crecimiento, se asegura la producción de biomasa y ésta puede ser utilizada para diversas aplicaciones. Cohen (1986) [11] menciona que, bajo ciertas condiciones, muchas especies de microalgas pueden acumular en altas concentraciones compuestos de interés comercial, tales como proteínas, lípidos, almidón, glicerol, pigmentos naturales o biopolímeros. Algunas de sus aplicaciones recientes son la utilización de microalgas en el tratamiento de aguas residuales, detoxificación biológica y control de metales pesados en aguas naturales o en aguas industrialmente contaminadas. También, en el uso de biofertilizantes, producción de antifúngicos e hidrolizados proteicos para productos farmacéuticos [12]. Además, sus aplicaciones más importantes residen en el aprovechamiento de la biomasa para la producción de biocombustibles como biodiesel, bioetanol, y biogás, que es un gas combustible

natural generado a partir de la digestión anaerobia de la materia orgánica en presencia de microorganismos metanogénicos, que se encuentran en el estiércol, líquido ruminal y materia orgánica en descomposición [13].

### Biodigestión microalgal

La digestión anaerobia es un proceso biológico llevado a cabo por bacterias y arqueas, a partir de la degradación anaerobia. El gas producido tiene aplicación energética ya que dispone de entre un 40% y un 60% de metano, siendo el resto dióxido de carbono, nitrógeno, hidrógeno y trazas de otros compuestos. El proceso en sí consta de 3 etapas clave: la hidrólisis que asimila la materia orgánica compleja en compuestos más sencillos de cadenas más cortas y fácilmente degradables; fermentación, donde los nuevos compuestos sencillos presentes en el medio son transformados en alcohol, ácido acético y otros ácidos grasos volátiles (AGV), hidrógeno y dióxido de carbono; metanogénesis, donde los AGV acaban siendo transformados en metano [14]. En el experimento de González-Fernández *et al.* (2011) [15], se ha comparado la digestión en diferentes muestras, obteniendo una producción de metano de 0,1-0,5 L/gSV, con un contenido de metano en el biogás del 60-80%, dependiendo de la temperatura del proceso, entre 15 y 52°C y el tiempo de retención hidráulico, entre 3 y 64 días. [16] estudiaron la producción de biogás utilizando algas macrófitas y observaron una alta producción en un sistema anaeróbico teniendo una alta producción de biomas desde los primeros 10 días de estudio. [17] demostró que la producción de biogás a partir de la biomasa de la microalga *Scenedesmus sp.* procedente de diferentes procesos presenta una alta productividad de biogás y metano utilizando una codigestión de *Scenedesmus* con cladodios en chumbera en una proporción 1:3.

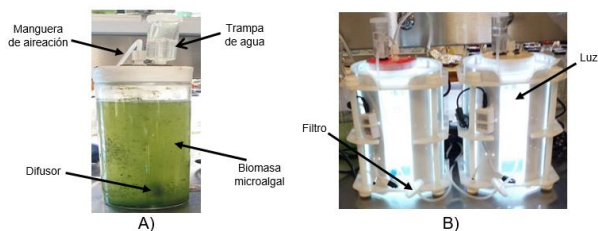
Actualmente, se presenta una grave situación ante la contaminación ambiental, por lo que la sociedad se ve en la necesidad de buscar alternativas que sustituyan a las energías no renovables para

ayudar a mitigar el deterioro ambiental, por ello el objetivo de este proyecto es producir biogás a partir de microalgas, utilizando medio Bold Basal Medium (BBM) y lodo residual como fuente de nutrientes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Fotobiorreactores

Los fotobiorreactores son dispositivos donde se lleva a cabo el intercambio de nutrientes entre los microorganismos fotótrofos y el medio donde se encuentran, el cual permite la generación de biomasa. Para este proyecto, se utilizaron recipientes de vidrio herméticos de 1.5L de capacidad (Fig. 1), la tapa hermética tiene una entrada que permite el flujo de aire proporcionado por una bomba de aire que se dispersa por medio del difusor conectado a una manguera y un filtro de 0.01 mm de diámetro que ayudan a mantener estéril el medio. También, la tapa tiene dos salidas, una para la toma de muestra y otra para la trampa de agua, que permite mantener estéril el medio además de disminuir la evaporación de agua en el medio. Además, para que se genere un mayor crecimiento microalgal, se le administra luz blanca de LED a los fotobiorreactores para que puedan captar la luz y llevar a cabo la fotosíntesis.



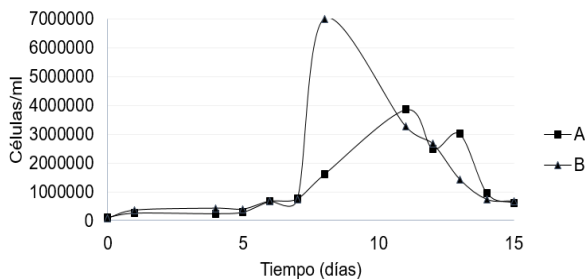
**Figura 1. Representación de fotobiorreactores utilizados para la investigación: A) Fotobiorreactor de vidrio de 1.5 L; B) Fotobiorreactores iluminadas con luz led.**

Las microalgas fueron muestreadas en el lago del zoológico de Irapuato, Gto., en frascos herméticos de plástico de 500 mL, y el lodo y el consorcio bacteriano se muestreó de la PTAR de San Jerónimo, Gto. Las muestras de microalgas fueron identificadas en un microscopio óptico y se midió la concentración celular con una cámara de Neubauer. Posteriormente, se inocularon 100, 000 células en cada fotobiorreactor con medio BBM

(Bolds Basal Medium) para alcanzar un volumen total de 1.5 L. Se realizó conteo celular durante 15 días de la primera prueba con medio estándar, 28 días para los fotobiorreactores en medio con doble concentración de: fósforo (2P), nitrógeno (2N) y doble concentración de fósforo y nitrógeno (2P2N); y 37 días en el fotobiorreactor utilizando lodo como inóculo. Además, se realizó peso seco para comparar la tendencia del crecimiento microalgal por el método de conteo celular. La biomasa generada se introdujo a un digestor anaerobio marca Armfield®, utilizando como inóculo bacterias metanogénicas provenientes del biodigestor de la PTAR ya mencionada.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

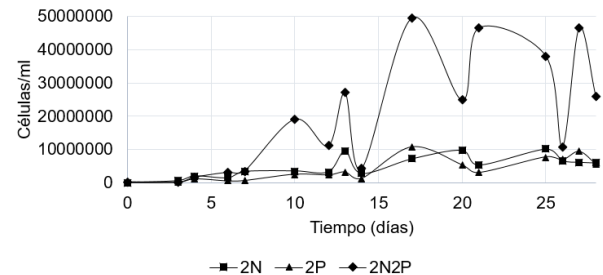
La concentración celular se midió por conteo celular en las tres pruebas y los resultados se presentan a continuación.



**Figura 2. Cinética de crecimiento microalgal (primera prueba) por conteo celular, a condiciones de medio BBM estándar por duplicado (A y B).**

En la primera prueba se estudió el crecimiento del consorcio microalgal proveniente del zoológico de Irapuato, Gto., dicho experimento se realizó por duplicado (A y B) y como se observa en la Fig. 2, el fotobiorreactor B obtuvo un mayor crecimiento (7 millones de células/mL) en comparación con A (4 millones de células/mL). Esto, se manejó a las mismas condiciones de medio BBM, sin embargo, el crecimiento difirió mucho y esto pudo deberse a que las microalgas al captar los nutrientes se desarrollaron mejor en el B que en el A. Además, la aglomeración de A se presentó como un problema al tomar la muestra, ya que es importante mantener el medio homogéneo para medir el crecimiento microalgal de manera correcta y esto pudo originar

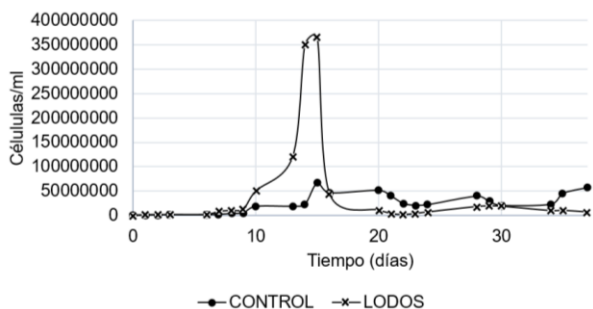
la diferencia en los dos crecimientos. Así mismo, se determinó que el tiempo de residencia para este consorcio microalgal es aproximadamente de 15-20 días.



**Figura 3. Cinética de crecimiento microalgal (segunda prueba) por conteo celular, a condiciones con doble concentración de BBM de nitrógeno (2N), doble concentración de fósforo (2P) y doble concentración de fósforo y nitrógeno (2N2P).**

En la segunda prueba se variaron las concentraciones de medio BBM, como se observa en la Fig. 3, un fotobiorreactor presentaba doble concentración de BBM de nitrógeno (2N), otro con doble concentración de fósforo (2P) y otro con doble concentración de fósforo y nitrógeno (2N2P). El fotobiorreactor 2N2P presentó mayor crecimiento que 2N y 2P, con una producción máxima de 50 millones de células/mL, mientras que los otros, su crecimiento fue muy similar y constante, presentando como máximo 10 millones de células/mL. También, se observa que 2N2P presentó muchas fluctuaciones a lo largo de los días de estudio, en especial en el día 14 que cayó repentinamente, y esto pudo deberse a la aglomeración presente en el medio. Sin embargo, se comprueba que la variación de nutrientes en fósforo y nitrógeno benefició el crecimiento de las microalgas, en comparación con la primera prueba donde el crecimiento máximo fue de 7 millones de células/mL.

Finalmente, en la tercera prueba como se puede apreciar en la Fig. 4, se usaron concentraciones dobles de BBM fosforo y nitrógeno, además de utilizar la adición de lodos residuales como fuente de carbono, donde se puede observar un crecimiento máximo de células en el intervalo de tiempo entre 10-20 días (35 millones de células/mL);



**Figura 4. Cinética de crecimiento microalgal (tercera prueba) por conteo celular, a condiciones con doble concentración de BBM de fósforo y nitrógeno (Control) y utilizando lodos residuales como nutrientes (lodos).**

Lo cual nos indica que a este tiempo se llevó una mejor asimilación de nutrientes en el medio, beneficiando el crecimiento de las microalgas en relación con el medio de control (medio sin nutrientes) en el cual se observa una variación mínima de células a lo largo del tiempo (5 millones de células/mL) lo que garantiza que efectivamente la adición de nutrientes al medio propicia una mejor y más alta proliferación de células en el medio. No obstante, una vez que alcanzan el crecimiento máximo, caen precipitadamente sin tener una fase estacionaria, esto puede recompensarse alimentando continuamente el fotobiorreactor a los 15 días posteriores a la inoculación y así, obtener una gran producción de biomasa microalgal. La biomasa generada, se introdujo en el digestor anaerobio inoculado con bacterias metanogénicas provenientes del biodigestor de la PTAR de San Jerónimo, Gto. Actualmente se llevan a cabo pruebas de biodigestión para cuantificar la producción de biogás, sin embargo, se ha demostrado la presencia de biogás.

Con respecto al peso seco, como se puede observar en la tabla 1, el mayor crecimiento se llevó a cabo en doble concentración en BBM de nitrógeno y fosforo, por lo cual para posteriores pruebas se tuvo como base esta concentración.

**Tabla 1. Peso seco g/L**

DÍAS	A	B	2N	2P	2NP
0	0.08	0.04	0.04	0.04	0.04
4	0.16	0.12	0.16	0.04	0.02

8	0.2	0.2	0.16	0.12	0.28
12	0.16	0.56	0.28	0.2	0.52
16	-	-	0.36	0.48	0.93
20	-	-	0.46	0.33	0.73
25	-	-	0.5	1	1.9

## CONCLUSIONES

Las microalgas, estando en presencia en un medio rico en nutrientes de fósforo, nitrógeno y otros micro y macronutrientes, pueden crecer exponencialmente, sin embargo, se debe cuidar la intensidad de luz y aireación, ya que esto afecta al crecimiento de las células. El medio BBM que se utilizó en doble concentración de nitrógeno y fosforo al mismo tiempo, fue la que tuvo un mayor crecimiento microalgal con respecto al medio BBM normal, 50000000 células/mL y 1.9 g/L, tal como lo representa la figura 3 y la tabla 1 respectivamente. Sin embargo, el crecimiento de microalgas con lodos residuales fue de 365700000 células/mL como se muestra en la gráfica 4. Así mismo, se comprobó la existencia de biogás utilizando la biomasa microalgal y lodo como inóculo, en una prueba realizada con un encendedor y una jeringa, pero se sugiere que es necesario realizar más pruebas para determinar el potencial energético del biogás, así como su productividad.

## REFERENCIAS

- [1] Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J. and Roessler, P.G. (1998) US Department of Energy's Office of Fuels Development, July 1998. A Look Back at the US Department of Energy's Aquatic Species Program – Biodiesel from Algae, Close Out Report TP-580-24190. Golden, CO: National Renewable Energy Laboratory.
- [2] Abalde, J. y Herrero C. (2004). Microalgas en acuicultura: calidad nutricional. ALGAS 32 diciembre 2004. 40:16-18.
- [3] Borowitzka, M.A. (1988). Vitamins and fine Chemicals from MicroAlgae, in Micro-Algal Biotechnology, Borowitzka, M.A. & Borowitzka, L.J. (eds.). Cambridge Univ. Press. Cambridge, pp: 153-196.

- [4] Becker, E.W. (2004). Microalgae in human and animal nutrition. Richmond A, editor. Handbook of microalgal culture. Oxford: Blackwell Publishing. pags. 312-351.
- [5] Carvalho, A., Silva, S., J., B., & Malcata, F. (2011). Light requirements in microalgal photobioreactors: an overview of biophotonic aspects. Applied Microbiology and Biotechnology, 89, 1275-1288.
- [6] FAO. (2008). Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. Tercera parte – Funcionamiento del criadero: cultivo de algas. [Versión electrónica]
- [7] FAO. (2009). Departamento de Pesca. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. CULTIVO DE MICROALGAS. [Versión electrónica]
- [8] Richmond A., (2004). Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Primera edición. USA: Blackwell Publishing
- [9] Tomaselli, L. (2004). The Microalgal Cell. En Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology (págs. 3-19). Blackwell Publishing.
- [10] AST Ingeniería S.L. (2013). Aplicaciones de las microalgas: estado de la técnica. Oportunidades empresariales alrededor de las microalgas en el litoral cantábrico.
- [11] Cohen, Z. (1986). Products of Microalgae, in Handbook of Microalgae Mass Culture. Richmond, A. (ed.). C. R. C. Press. Florida, pp: 41-453
- [12] Gómez, L.; Liliana, M. (2007). MICROALGAS: ASPECTOS ECOLÓGICOS Y BIOTECNOLÓGICOS Revista Cubana de Química, vol. XIX, núm. 2, 2007, pp. 3-20
- [13] Gutiérrez García, G de J., I. Moncada Fernández, M.M. Meza Montenegro, A. Félix Fuentes, J. de J. Balderas Cortés y P. Gortáres Monroyoqui (2012). Biogás: una alternativa ecológica para la producción de energía. Ideas CONCYTEG. 7(85), pp. 881-894.
- [14] Ferrer I, Vázquez F, Font X. (2011). Comparison of the mesophilic and thermophilic anaerobic sludge digestion from an energy perspective. J Residuals Sci Technol; 8:81-7.
- [15] González-Fernández C, Sialve B, Bernet N, Steyer JP. (2011). Impact of microalgae characteristics on their conversion to biofuel. Part II: Focus on biomethane production. Biofuels, Bioprod Biorefin. pags. 205-18
- [16] Pugliese, A., Bindini, G., & Fantozzi, F. (2015). Anaerobic digestion of macrophytes algae for eutrophication mitigation and biogas production. *ELSEVIER*, 366-373.
- [17] Ramos Suárez, Luis (2010). Producción de biogás a partir de la biomasa de la microalga *Scenedesmus* sp. procediente de diferentes procesos.