

CULTIVO DEL CONSORCIO FOTOSINTÉTICO LA11 EN AGUAS RESIDUALES DE RASTRO URBANO

Prado Martínez, Citlaly (1), González Castañeda Jaquelina (2)

1 [Ingeniería Ambiental, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [citlaly_prado@hotmail.com]

2 [Departamento de Ciencias Ambientales, División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato- Salamanca, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [jaquegc1@hotmail.com]

Resumen

Las aguas residuales del rastro urbano aumentan cada día más su producción, por lo que es un serio problema para el medio ambiente y la salud humana. Las microalgas tienen la capacidad de crecer en aguas residuales, eliminan contaminantes y producen biomasa. El objetivo fue evaluar el crecimiento y la producción de clorofila del consorcio LA11 cultivado en agua residual de rastro, con fotoperiodos de 12:12 horas (luz/oscuridad), durante quince días de incubación, a pH de 8.0. El experimento se realizó por triplicado. La cinética de crecimiento se hizo mediante el conteo de células, producción de clorofila por espectrofotometría y la caracterización fisicoquímica mediante las Normas Oficiales Mexicanas correspondientes. A los quince días de incubación, LA11 mostró una mayor producción de biomasa 1313 mgL^{-1} , clorofila a y b, 5.10 y 1.47 mgL^{-1} , respectivamente y número de células $17 \times 10^6 \text{ cel mL}^{-1}$. Por lo que se concluye que las aguas residuales de rastro urbano pueden ser inoculadas con el consorcio fotosintético LA11, para producir biomasa con valor energético y clorofila, además de mejorar la calidad del agua.

Abstract

In slaughterhouse wastewater increases every day such as the risk in health and the environment pollution. Some photosynthetic microorganisms growth in the wastewater in order to remove pollution and improve the quality water. The objective was to evaluate LA11 consortium in slaughter wastewater process within photoperiods of 12:12 hours (light :darkness), irradiance of $38 \text{ mWm}^{-2}\text{s}^{-1}$ within aeration of 1.2 Lmin^{-1} , adjusted pH each 48 h for fifteen days. The experiments were performed in triplicate. Furthermore, the kinetic growth was monitored with a cell count, chlorophyll content by spectrophotometry and the physicochemical characterization that was developed in accordance to Mexican Official Regulation. The results showed a bigger production of 1313 mgL^{-1} biomass, a and b chlorophyll 5.10 and 1.47 mgL^{-1} , respectively, 17×10^6 cells mL^{-1} , at fifteen days. The slaughterhouse wastewater which was inoculated with LA11 photosynthetic consortium, produce biomass with energetic value and chlorophyll. Thus, risk in health and environment are reduced as well as the improvement in quality water.

Palabras Clave

Agua Residual; Consorcio Fotosintético; Bacterias-Microalgas; Crecimiento; Biomasa

INTRODUCCIÓN

Cada año, la producción de aguas residuales aumenta, al igual que los riesgos a la salud y al ambiente, como una de las consecuencias de la industrialización global. Las aguas residuales tienen diversos orígenes como son el doméstico, ganadero o industrial y contienen muchos nutrientes [1, 2].

Algunas especies de microalgas de agua dulce tienen la capacidad de crecer en aguas residuales, producen biomasa y remueven nutrientes [3]. El uso de biomasa, permite disminuir el impacto ambiental, al reemplazar parcialmente el uso de combustibles fósiles [4, 5, 6], es una fuente de fertilizantes, alimentos para la avicultura, ganado porcino, vacuno y acuicultura, actualmente muestra un potencial en aplicaciones como la obtención de energía, obtención de productos para las industrias química, biomédica, farmacológica, entre otros [7, 8].

Justificación

Actualmente, en el Laboratorio de Biotecnología Ambiental se cuenta con una colección de consorcios fotosintéticos dulceacuícolas nativos, aislados del Estado de Guanajuato, con los cuales se han evaluado diferentes parámetros cinéticos como pH, irradiancia, clorofila, biomasa y acumulación de lípidos en Medio Mínimo de Dubos, sin embargo se requiere realizar mayor investigación sobre las condiciones de cultivo, producción de biomasa y en su caso, acumulación de lípidos, con potencial para la producción de biodiesel y las diferentes aplicaciones biotecnológicas, al hacerlos crecer en aguas residuales de diferente origen. En ésta investigación, se evaluará el crecimiento y la producción de clorofila del consorcio fotosintético dulceacuícola en agua residual de rastro urbano, ya que los microorganismos al crecer, pueden mejorar la calidad del agua, se obtiene biomasa y pueden acumular compuestos como los lípidos, con potencial para ser utilizados en la producción de biocombustibles, entre otros.

Hipótesis

El consorcio fotosintético LA11 crece en agua residual del rastro urbano, a un pH de 8.0, lo que favorece para la obtención de biomasa con valor energético.

Objetivo

El objetivo de ésta investigación fue, evaluar el crecimiento y la producción de clorofila, del consorcio fotosintético LA11, cultivado en aguas residuales de un rastro urbano, a pH 8.0, con aireación y a una intensidad lumínica de $38\mu\text{Molm}^{-2}\text{s}^{-1}$.

MATERIALES Y MÉTODOS

Caracterización del agua residual al día cero y a los diferentes periodos de incubación

Para la caracterización del agua residual se determinó pH y conductividad eléctrica (CE), con un potenciómetro marca CONDUCTRONIC PC45 [9]. Para la Demanda Química de Oxígeno (DQO), en un espectrofotómetro marca BioSpectrometer Eppendorf Kinetic mediante lecturas de absorbancia a 620 nm [10]. La Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5), con botellas de Winkler, por titulación, con una solución estándar de tiosulfato de sodio 0,025 M [11]. Medición de sólidos sedimentables mediante los Conos Imhoff [12].

Condiciones del cultivo

El cultivo se realizó en biorreactores con un volumen de trabajo de 3L. En 2500 mL de agua residual, proveniente de un rastro urbano del municipio de Irapuato, Gto., sin esterilizar, se inocularon 500 mL del consorcio fotosintético LA11 ajustado a una Absorbancia de 0.800, se incubaron a 25°C , con fotoperiodos de 12:12 horas (luz:oscuridad), irradiancia de $38\mu\text{Molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y aireación, durante quince días de incubación, con ajuste de pH cada 48 h.

Cinética de crecimiento

La cinética de crecimiento se siguió mediante la evolución del número de células con la Cámara de

Neubauer, con ayuda de un microscopio, con el objetivo de 40X.

Determinación de clorofila a y b

La determinación de clorofila a y b, del consorcio fotosintético, se realizó espectrofotométricamente [13], cada 48h. Las muestras se centrifugaron en una centrifuga marca Eppendorf Modelo Centrifuge 5804 R, la extracción se realizó con etanol al 90% y se leyó la Absorbancia a 649 y 665 nm, en un espectrofotómetro marca Biospectrometer Eppendorf Kinetic. El contenido de clorofila se determinó con las siguientes ecuaciones [14].

Clorofila a = $13.7 (\text{Abs } 665 \text{ nm}) - 5.76 (\text{Abs } 649 \text{ nm})$
Clorofila b = $-7.6 (\text{Abs } 665 \text{ nm}) - 25.8 (\text{Abs } 649 \text{ nm})$

Cuantificación de Biomasa

Para la determinación de Biomasa se realizaron muestreos cada cinco días, durante el periodo de incubación, se realizó por filtración con vacío, en un sistema MILLIPORE de 0.45 μm de porosidad. El cálculo se realizó por diferencia de peso.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La IMAGEN 1, muestra el comportamiento del pH durante los quince días de incubación del consorcio fotosintético LA11, como puede observarse, el pH alcanzó valores entre 8.0 y 8.5. De manera natural, los organismos durante el proceso fotosintético, al desarrollarse y crecer, pueden acumular o liberar al medio compuestos que modifican el pH, como lo reportan otros investigadores [15, 16]. Nuestros resultados son similares a los reportados por otros autores [3], en donde el pH varió entre 7.5 y 8.0.

La producción de biomasa del consorcio fotosintético LA11 se muestra en la IMAGEN 2, como puede observarse, el consorcio muestra la mayor producción de biomasa seca a los diez días de incubación. Otros investigadores reportan una producción de biomasa de 390mgL^{-1} , para la microalga *Scenedesmus* sp, en cultivo a cielo abierto [2],

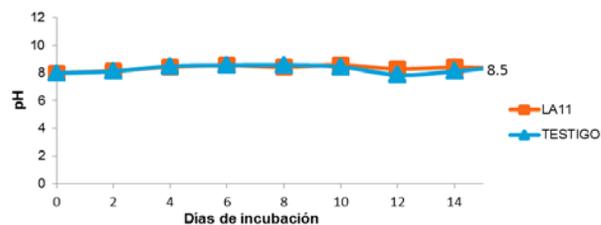


IMAGEN 1: Comportamiento del pH del consorcio fotosintético LA11 inoculado en agua residual del rastro urbano

Con el consorcio LA11, se obtuvieron 1313mgL^{-1} , lo que representa cuatro veces más que lo reportado para *Scenedesmus* sp. La biomasa como fuente renovable se puede convertir en sólidos, líquidos gaseosos y biocarburantes, para la generación de bioenergía, así como, obtención de proteínas, lípidos, carbohidratos, entre otros [17].

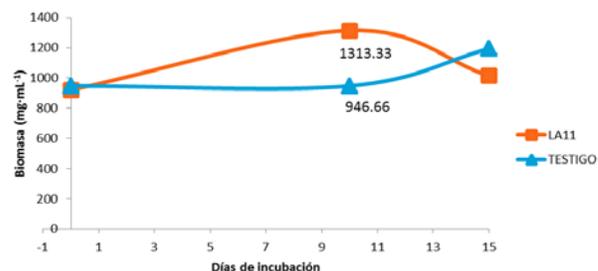


IMAGEN 2: Biomasa del consorcio fotosintético LA11 inoculado en agua residual del rastro urbano

La DQO es el oxígeno necesario para oxidar todos los compuestos por medios químicos, entre ellos la materia orgánica, convirtiéndola en CO_2 y H_2O . Los productos de degradación se pueden dividir en sólidos, biogás y solubles. La DQO es una herramienta para evaluar la oxidación de los compuestos presentes en las aguas residuales [18]. La IMAGEN 3, muestra una disminución de la DQO de 4270 a $1576 \text{mg O}_2\text{L}^{-1}$, con una remoción de materia orgánica de 63.1%, a los quince días de incubación, en comparación con el testigo cuya remoción fue de 3733 a $2322 \text{mg O}_2\text{L}^{-1}$, lo que corresponde a un 38% de remoción. Otros investigadores reportan el 75% de remoción con la microalga *Chlorella vulgaris*, en aguas residuales tratadas [19].

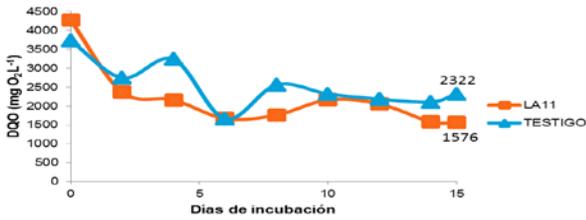


IMAGEN 3: DBO₅ del consorcio fotosintético LA11 inoculado en agua residual del rastro urbano

La DBO₅ es la cantidad de oxígeno que requieren los microorganismos para degradar la materia orgánica, especialmente las bacterias, hongos y plancton, presentes en aguas residuales para ser oxidadas e indica el grado de contaminación. La IMAGEN 4, muestra la DBO₅ del agua residual de rastro urbano inoculada con el consorcio fotosintético LA11. Como puede observarse, hubo una remoción del 34.15% DBO₅, a los quince días después de la inoculación, cuanto mayor es la cantidad de materia orgánica que contiene el agua residual más oxígeno necesitan los microorganismos para oxidarla, El testigo presentó mayor contaminación que el agua residual inoculada con LA11, lo que indica que la inoculación favorece la eliminación de contaminantes y producción de biomasa. Otros investigadores reportan una reducción del 60.4% en aguas residuales municipales e indican que la remoción depende de varios factores ambientales y de los microorganismos utilizados [20].

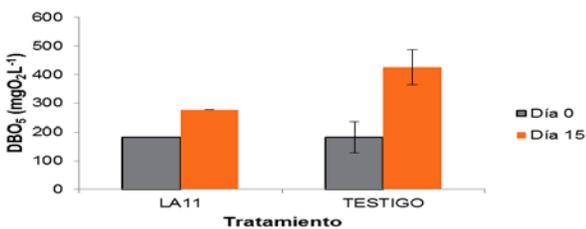


IMAGEN 4: DBO₅ del consorcio fotosintético LA11 inoculado en agua residual del rastro urbano

La IMAGEN 5, muestra la densidad celular del consorcio fotosintético LA11, inoculado en agua residual del rastro urbano, como puede observarse, el consorcio tiene un crecimiento exponencial a partir del día cuatro. LA11 mostró el mayor crecimiento de microorganismos a los quince días de incubación, con un valor de 17×10^6

celmL⁻¹. Otros investigadores reportan concentraciones máximas entre 19.8×10^6 y 14.4×10^6 celmL⁻¹, del cultivo de *Chlorella vulgaris*, en aguas residuales tratadas [19], lo que indica que LA11, tiene mayor capacidad para crecer en aguas residuales de rastro urbano.

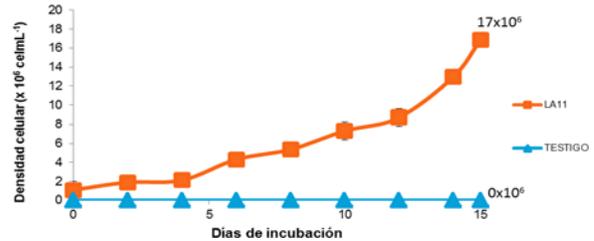


IMAGEN 5: Densidad celular del consorcio fotosintético LA11 inoculado en agua residual del rastro urbano

La IMAGEN 6, muestra el contenido de clorofila a, en el consorcio fotosintético LA11, como puede observarse, muestra la máxima producción al día quince de incubación, con una concentración de 5.10 mgL^{-1} , en comparación con el testigo, que no se detectó producción, para el mismo periodo de tiempo. El contenido de clorofila a de ésta investigación, es 1.7 veces más que lo que reportan otros investigadores (2.94 mgL^{-1}), en aguas residuales de la industria pesquera [2]. En la IMAGEN 7, se reporta el contenido de clorofila b, del consorcio fotosintético LA11, la mayor producción se observa a los quince días de incubación (1.47 mgL^{-1}), al igual que en el caso anterior en el testigo no se detectó producción. Otros investigadores reportan una producción de clorofila b, de 2.23 mgL^{-1} [2]. Con respecto a lo reportado por otros investigadores el contenido de clorofila b, fue menor en ésta investigación, lo que puede deberse a la composición de las aguas residuales.

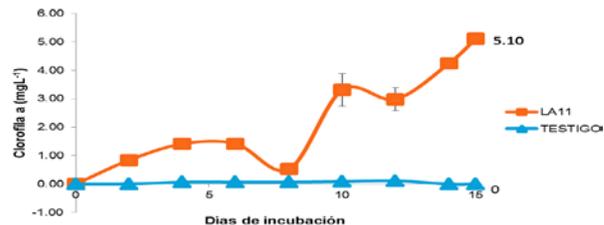


IMAGEN 6: Contenido de clorofila a, del consorcio fotosintético LA11 inoculado en agua residual del rastro urbano

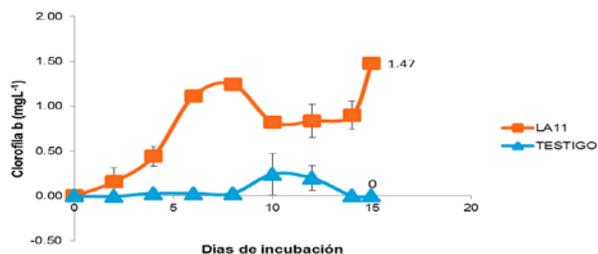


IMAGEN 7: Contenido de clorofila b, del consorcio fotosintético LA11 inoculado en agua residual del rastro urbano

CONCLUSIONES

El agua residual del rastro urbano permite el crecimiento del consorcio fotosintético microalga-bacterias LA11, a un pH de 8.0, con aireación y a una intensidad lumínica de $38\mu\text{Molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, con la obtención de biomasa con valor energético, clorofilas a y b, además de ser una alternativa para la reutilización de las aguas residuales.

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección de Apoyo a la Investigación y al posgrado (DAIP), a la Universidad de Guanajuato, División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, por darme la oportunidad de participar en el Verano de Investigación. Así mismo agradezco a todas las personas que me apoyaron en esta nueva experiencia, especialmente a la Dra. Jaquelina González Castañeda, a mis padres y novio por su apoyo incondicional.

REFERENCIAS

[1] Zeng, X., Guo, X., Su, G., Danquah, M.K., Zhang, S., Lu, Y., Sun, Y. & Lin, L. (2015). Bioprocess considerations for microalgal-based wastewater treatment and biomass production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 42, 1385-1392.

[2] Andrade, R.C.E., Vera, B.A.L., Cárdenas, L.C.H. & Morales, A.E.D. (2009). Biomass production of microalga *Scenedesmus* sp. with wastewater from fishery. *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia*, 32(2), 126-134.

[3] Caporgno, M.P., Taleb, A., Olkiewicz, M., Font, J., Pruvost, J., Legrand, J. & Bengoa, C. (2015). Microalgae cultivation in urban wastewater: Nutrient removal and biomass production for biodiesel and methane. *Algal Research*, 10, 232-239.

[4] González Merino, A. & Castañeda Zavala, Y. (2008). Biocombustibles, Biotecnología y Alimentos. Impactos sociales para México. *Nueva Época*, 21(57), 55-83.

[5] Wyman, C.E., Balan, V., Dale, B.E., Elander, R.T., Falls, M., Hames, B., Holtzapple, M.T., Ladisch, M.R., Lee, Y.Y., Mosier, N., Pallapolu, V.R., Steven, R. & Warner, R.E. (2011). Comparative data on effects of leading pretreatments and enzyme loadings and formulations on sugar yields from different switchgrass sources. *Bioresource Technology*, 102, 11052-11062.

[6] Maitly, J.P., Bundschuh, J., Chen, C.Y. & Bhattacharya, P. (2014). Microalgae for third generation biofuel production, mitigation of greenhouse gas emissions and wastewater treatment: Present and future perspectives - A mini review. *Energy*, 78, 104-113.

[7] Salazar, G.M. (2006). Aplicación e importancia de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales. *Contactos*, (59), 64-70.

[8] Wu, Y.H., Hu, H.Y., Yu, Y., Zhang, T.Y., Zhu, S.F., Zhuang, L.L., Zhang, X. & Lu Y. (2014). Microalgal species for sustainable biomass/lipid production using wastewater as resource: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 33, 675-688.

[9] Norma Mexicana NMX-AA-008-SCFI-2011.

[10] Norma Mexicana NMX-AA-030/1-SCFI-2012.

[11] Norma Mexicana NMX-AA-012-SCFI-2001.

[12] Norma Mexicana NMX-AA-004-SCFI-2013.

[13] Gómez N., Donajo J., Giorgi A., Guasch H., Mateo P. y Sabater S. (2009). La biota de los ríos: los microorganismos autótrofos. En: *Conceptos y Técnicas en Ecología Fluvial*. Elosegi A. y Sabater S. (Eds.). Fundación BBVA. Bilbao, 219-242.

[14] Rowan K.S. (1989). *Photosynthetic pigments of algae*. Cambridge University Press, Cambridge.

[15] Zhao, Z., Song, X., Wang, W., Xiao, Y., Gong, Z., Wang, Y., Zhao, Y., Chen, Y. & Mei, M. (2016). Influences of iron and calcium carbonate on wastewater treatment performances of algae based reactors. *Bioresource Technology*, 216, 1-11.

[16] Zhang, J. & Hu, B. (2012). A novel method to harvest microalgae via co-culture of filamentous fungi to form cell pellets. *Bioresource Technol*, 114, 529-35.

[17] Vassilev, S.V. & Vassileva, C.G. (2016). Composition, properties and challenges of algae biomass for biofuel application: An overview. *Fuel*, 181, 1-33.

[18] Ren, H.Y., Liu, B.F., Kong, F., Zhao, L. & Ren, N. (2015). Hydrogen and lipid production from starch wastewater by co-culture of anaerobic sludge and oleaginous microalgae with simultaneous COD, nitrogen and phosphorus removal. *Water Research*, 85, 404-412.

[19] Goncalves, A.L., Pires, J.C.M. & Simoes, M. (2016). Wastewater polishing by consortia of *Chlorella vulgaris* and activated sludge native bacteria. *Journal of Cleaner Production*, 133, 348-357.

[20] Hernández, A. & Labbe, J. (2014). Microalgae, culture and benefits. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, Vol. 49(2), 157-173.