

Optimización de la producción de fitoplancton a nivel piloto

Jhosse Paul Márquez Ruíz¹, Dr. Ernesto Mangas Ramírez¹

¹Escuela de Biología, Laboratorio de Ecología y Restauración de Sistemas Acuáticos, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Resumen

La primera investigación de interés integral del cultivo masivo de algas se realizó por primera vez en Republica Checa. Este cultivo primario de *Chlorella* en una planta piloto demostró que el cultivo a gran escala de microalgas es técnicamente factible. El uso de microorganismos para obtención de recursos es un tema ampliamente investigado en la actualidad, ya que a partir de ellos podemos obtener fuentes de experimentación, alimento e inclusive recursos energéticos. En este trabajo se construyó una planta piloto para el cultivo de microalgas que fue puesto a prueba en laboratorio y al cual se determinó su productividad a partir del crecimiento poblacional de los organismos. El estudio resultó ser positivo y se obtuvo un crecimiento exponencial que dio como resultado la obtención de una concentración mayor a 10 veces la concentración inicial.

Introducción

Los procesos microbiológicos han sido usados por el hombre durante siglos en la preparación de ciertos alimentos y bebidas; pero solamente desde mediados del siglo XIX ha adquirido gran importancia tecnológica. Los hombres hemos aprendido como utilizar los microorganismos para nuestro beneficio [1].

El interés de que las algas unicelulares sean una posible fuente alimentación, fue estimulada primeramente por estudios del departamento de biología vegetal del Carnegie Institution Of Washington, se creyó que era necesario la investigación acerca de los cultivos de alga a gran escala para el mejoramiento humano en todos los aspectos que fuera factible [1].

El primer intento de traducir los requerimientos del cultivo algal a nivel ingeniería en Estados Unidos fueron realizadas en el Stanford Research Institute durante 1948 – 1950. De la misma manera, este problema fue abordado al mismo tiempo en Alemania a finales de la segunda guerra mundial; Tokio, Israel, Republica Checa y Taiwán [2]. Posteriormente el avance fue realizado a través de la construcción y operación de una planta piloto de *Chlorella sp.* en el Carnegie Institution [1].

La primera investigación de interés integral del cultivo masivo de algas se realizó por primera vez en Republica Checa [3]. Este cultivo primario de *Chlorella* en una planta piloto demostró que el cultivo a gran escala de microalgas es técnicamente factible. Una extrapolación estos resultados sugieren que la producción anual es de 11 toneladas por acre [1], aunque estas producciones se han rebasado fácilmente con los estudios realizados en la actualidad.

Las microalgas tienen una gran importancia ecológica, ya que son organismos productores, y por lo tanto el punto de partida del flujo de energía de las cadenas tróficas en la mayoría de los ecosistemas acuáticos [4] y es de una importancia imperante en los procesos de la acuicultura [5]. *Spirulina sp.* también fue encontrada como fuente de alimentación en África y Perú; y *Nostoc*, en China y Mongolia [2]; y se ha comprobado el uso de *Chlorella ellipsoidea* en té en algunas zonas de Japón. También abarcan el campo de la industria, proporcionando materia

prima como proteínas, lípidos, carbohidratos, pigmentos, vitaminas e inclusive antibióticos [1, 6]. Sin embargo, en la actualidad también se han desarrollado una gran cantidad estudios para la extracción de combustibles orgánicos a partir de las microalgas [7, 8, 9, 10, 11, 12]. Por lo que podemos concluir que estos microorganismos han retomado una importancia enorme, no sólo para la experimentación, sino para el consumo humano y animal; sin embargo, su uso comercial es muy prometedor desde el punto de vista energético [5, 6].

Los fotobiorreactores son diseñados de una manera diferente a los reactores para otros microorganismos. Esto es debido a que las microalgas son organismos fotoautótrofos, y dependen de la luz como fuente de energía y esta juega un papel central en los cultivos de algas, aunque la combinación, las interacciones con otras especies, monitoreo del proceso y control del sistema, han sido variables que han sido extensamente estudiadas en años recientes, y es un tema de actualidad la creación de herramientas experimentales para microalgas y la creación de fotobiorreactores especializados [6].

Desarrollo del trabajo de investigación

Localización

Se ha elegido una localización dentro de las propias instalaciones del laboratorio de Ecología y Restauración de Ecosistemas Acuáticos, en un cuarto oscuro con el fin de poder manipular la cantidad de luz a la que se expone el cultivo. Se dispuso de una fuente de poder con una línea eléctrica de 110 volts, y considerando la localización, se instalaron las líneas de control de luz y entrada de aire.

Planta piloto

Se instaló el motor de entrada de aire con un filtro incluido con el fin de tener controlada la calidad de aire que se introdujo al cultivo, así como sus respectivas líneas de suministro al interior del reactor con sistemas de control, termómetro y rotámetro. En la parte baja del reactor se instalaron sistemas de drene para extraer el producto, su respectiva válvula de control de paso de y la instrumentación de medición requerida. También se instaló un sistema de suministro de agua que requirió de una bomba de agua de ¼ HP y tubería. Toda la tubería y fuentes de luz fueron ancladas al reactor (Figura 2).

Cultivo

Se realizó el cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* en 100 litros de agua purificada con medio de cultivo Bold basal (Figura 3), al cual se le suministró una cantidad de 500 mgr/l de NaCO cada tercer día. La fuente de luz fue programada con un control de paso de corriente automatizado de acuerdo con el fotoperiodo del medio externo (12 – 13 horas). La temperatura ambiental promedio a la que se expuso es de 26° C.

Análisis de eficiencia

La eficiencia del reactor fue medida conforme a la cantidad de alga producida. Se midió la concentración celular de 22 diluciones de un concentrado de algas en cámara de Neubauer y posteriormente se determinó su absorbancia en un espectrofotómetro Hash DR-280. Para la medición de la cantidad de alga se realizó una regresión lineal de correspondencia entre la

concentración celular y la absorbancia de la sustancia con el programa *Statistica 8.0* (Figura 4). Se determinó la tasa de crecimiento poblacional a partir de un muestreo diario durante 21 días, en el que se midió la absorbancia del cultivo a múltiples longitudes de onda y posteriormente se extrapoló la concentración celular según la regresión. La curva de crecimiento fue determinada con el programa *CurveExpert 1.4* (Figura 5).

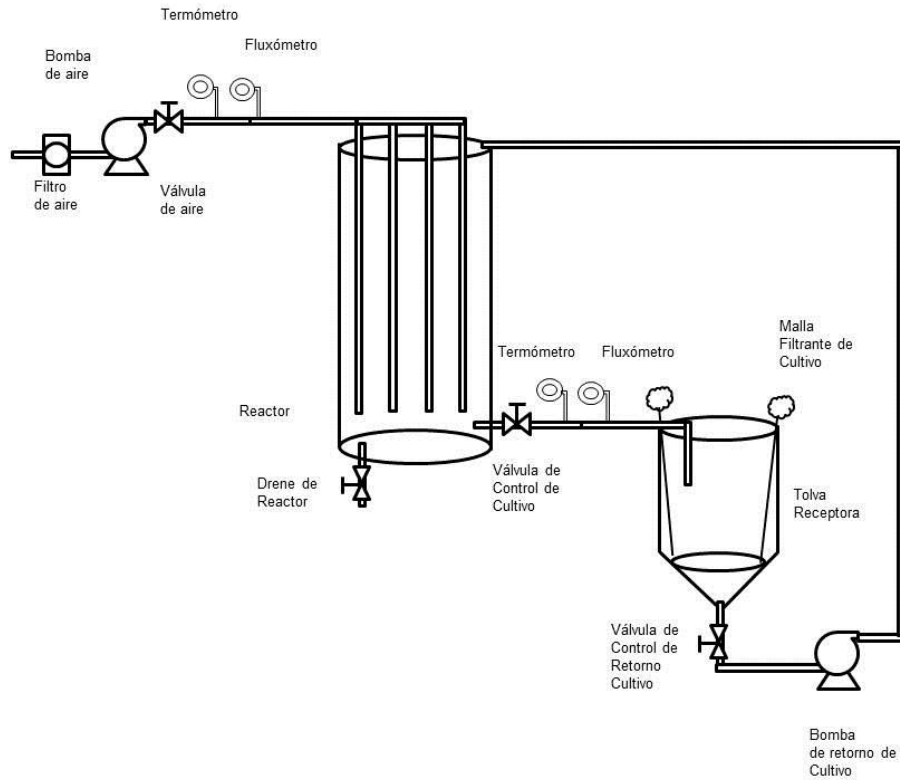


Figura 1. Layout original para la construcción de la plata piloto

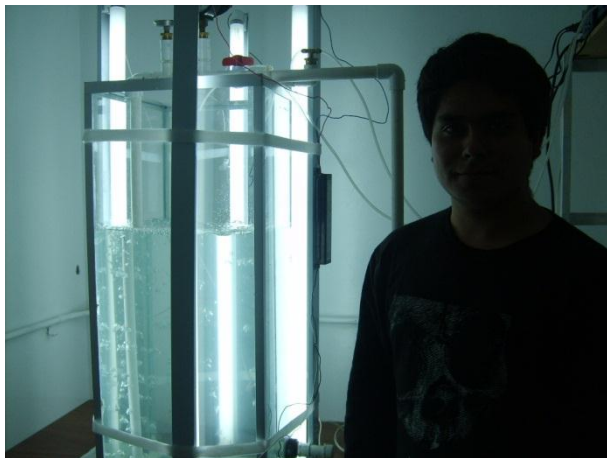


Figura 2. Planta piloto para la producción de fitoplancton



Figura 3. Sustancias requeridas para el cultivo. De izquierda a derecha: concentrado de alga , agua destilada y medio Bold basal

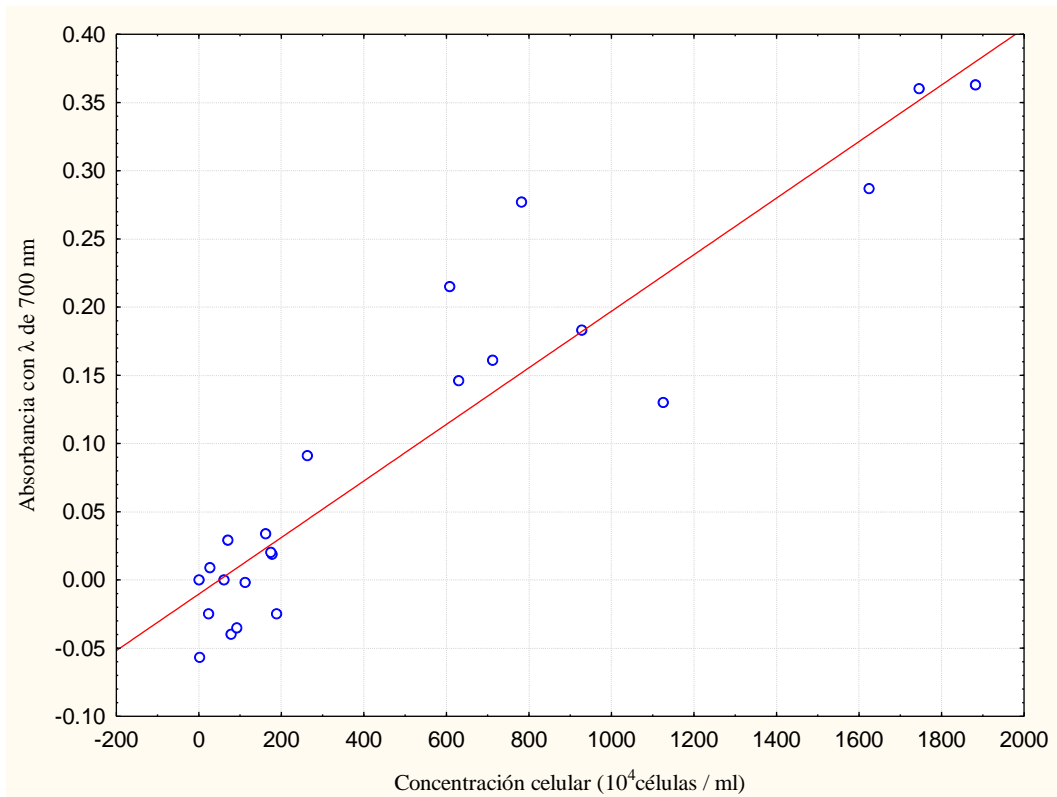


Figura 4. Correlación lineal entre la absorbancia y la concentración del cultivo ($r = 0.9320$, $p = 0.0000$)

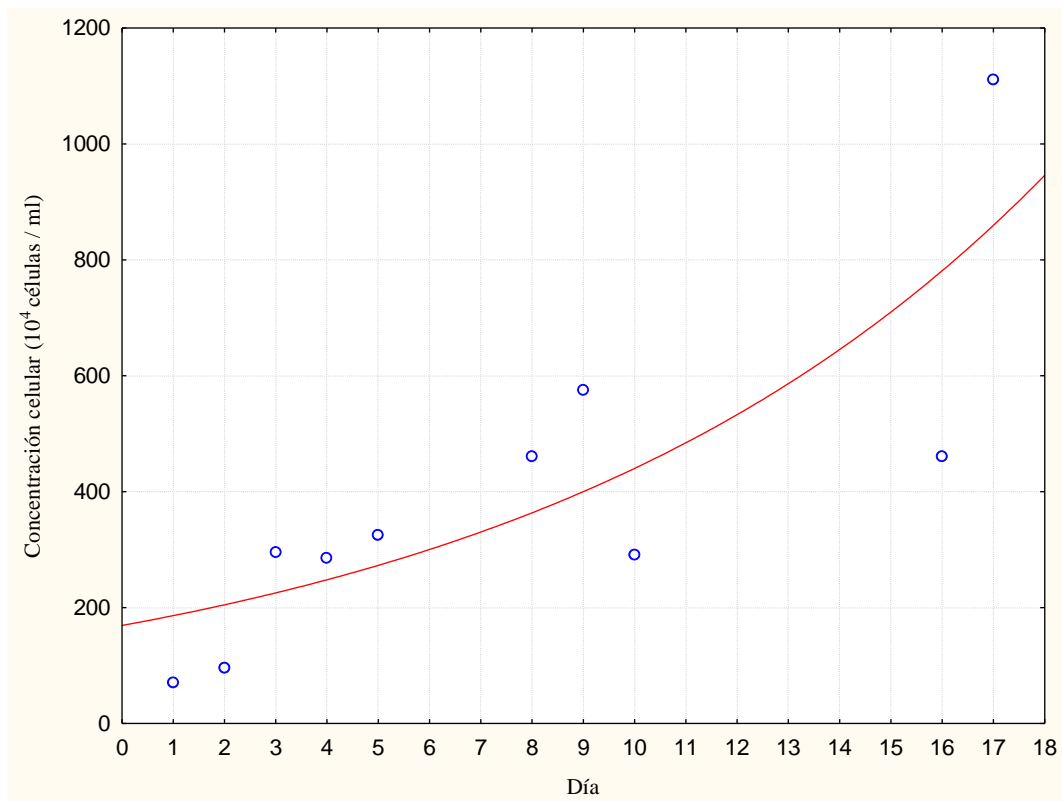


Figura 5. Crecimiento de la población en función del tiempo ($r = 0.8157$, $p = 0.0001$)



Figura 6. Inoculación del cultivo

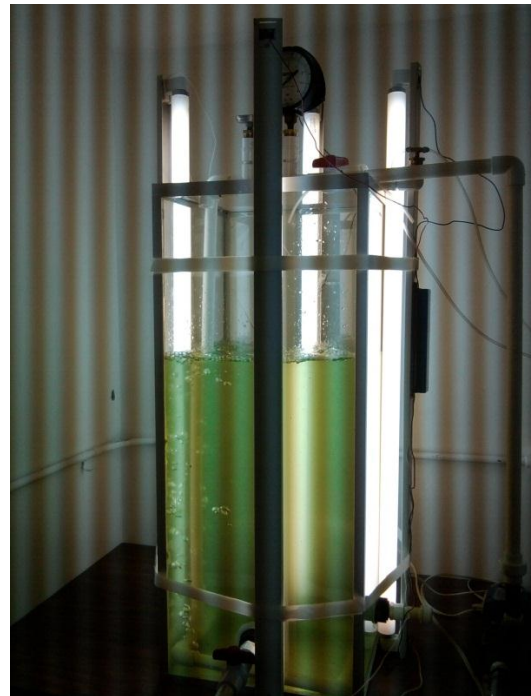


Figura 7. Fotobiorreactor en pleno funcionamiento

Resultados

La ecuación de correspondencia entre la concentración celular y la absorbancia de la sustancia es

$$y = 0.0002 x - 0.0104 \quad (1)$$

Dónde:

y = Absorbancia de la sustancia con una longitud de onda de 700 nm.

x = Concentración celular (10^4 células / ml)

De acuerdo con la ecuación (1), al añadir el concentrado de alga a los 100 litros de medio, obtuvimos una concentración inicial de $70.5 (10)^4$ células / ml y transcurridas las tres semanas, la población creció a $1110.5 (10)^4$ células / ml. A partir de estos datos podemos determinar la tasa de crecimiento poblacional:

$$TCP = \frac{p_f - p_0}{p_0} \quad (2)$$

Dónde:

TCP = Tasa de Crecimiento Poblacional

P_f = Población final

P_0 = Población inicial

Sustituyendo:

$$TCP = \frac{1110.5 (10)^4 \frac{\text{células}}{\text{ml}} - 70.5 (10)^4 \frac{\text{células}}{\text{ml}}}{70.5 (10)^4 \frac{\text{células}}{\text{ml}}}$$
$$TCP = 14.7517$$

Al realizar el ajuste de curvas, se eligió el modelo de crecimiento más apto para procesos biológicos y se encontró que existe un crecimiento exponencial con la ecuación:

$$y = 169.2097 e^{0.09561 x} \quad (3)$$

Dónde:

y = Concentración celular (10^4 células / ml)

x = Días después de iniciar el cultivo

Conclusiones

Se ha cumplido con el objetivo principal del proyecto, que era brindar al laboratorio de Ecología y Restauración de Ecosistemas Acuáticos de un mecanismo permanente, eficaz y eficiente para el cultivo de microorganismos, lo cual permitirá y fomentará la investigación sobre plantas unicelulares dentro de la Escuela de Biología

Se ha demostrado que el fotobiorreactor cumple con los requisitos necesarios para ser un método de cultivo competente y económico en comparación de otros métodos de cultivo. Para poder optimizar la producción de microorganismos, será necesario refinar algunos mecanismos mediante los cuales se pueda producir aún más alga, los cuales pueden ser desarrollados en cualquier momento dentro de las instalaciones.

Es de vital importancia continuar con las investigaciones acerca del cultivo masivo de alga, ya que encontramos un futuro muy prometedor para el uso de estos organismos, entre los cuales se incluye biorremediación, obtención de nutrientes primarios, extracción de aceites y su refinamiento para obtención de combustibles orgánicos entre muchos otros posibles usos dentro de la biotecnología.

Agradecimientos

Al Dr. Ernesto Mangas Ramírez por todo su apoyo incondicional y tutela a lo largo del proyecto, así mismo por brindar el espacio e infraestructura necesarios para su realización dentro del laboratorio de Ecología y Restauración de Sistemas Acuáticos.

A los ingenieros Laura Cecilia Ruíz Guevara y José Víctor Márquez Limón por la realización del modelo para el biorreactor y la supervisión para su correcta realización.

A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado por brindar el apoyo económico para llevar a cabo el proyecto en este programa “Jóvenes Investigadores VI”.

Finalmente a Alma Pérez López, Juan Carlos Denicia Tlahuiz, Roberto de Jesús León Rodríguez, Iván Ilich Morales Manzo y Juan Saúl Baez Torreblanca por todo su apoyo para la realización del proyecto y ser un brazo en quien confiar cuando uno lo necesita.

Referencias

- [1] Burlew, J. S. (1953). Algal culture: from laboratory to pilot plant. Carnegie Institution. Washington, D. C.
- [2] Soeder C. J. (1980) The scope of microalgae for food and feed. In: Shelef G, Soeder CJ (eds) Algae biomass. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp 9–20
- [3] Setlik I, Sust M, Malek I (1970) Dual purpose open circulation units for large scale culture of algae in temperate zones. 1. Basic design consideration and scheme of pilot plant. Algal Stud 1:111–164
- [4] Bardach, J. E., Ryther J. H. & McLarney W. O. (1972). Aquaculture. The farming and husbandry of freshwater and marine organisms. Wiley-Interscience, New York, 686 pp.
- [5] De Pauw N., Morales J. & Persoone G. (1984). Mass culture of microalgae in aquaculture systems: Progress and constraints. Hydrobiologia. 116/117: 121 – 134
- [6] Eriksen N. T. (2008). The technology of microalgal culturing. Biotechnol Lett. 30:1525–1536
- [7] Chisti, Yusuf (2007). Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances. 13 pp.
- [8] El-Moneim M. R Afify A., Shalaby E. A., Shanab S. M. M. (2010). Enhancement of biodiesel production from different species of algae. GRASAS Y ACEITES, 61 (4): 416-422
- [9] Gonzalez A. D., Kafarov V., Guzman-Monsalve A. (2009). Desarrollo de métodos de extracción de aceite en la cadena de producción de biodiesel a partir de microalgas. Prospect. Vol. 7, No. 2: 53-60
- [10] Ying Shen, Zhijian Pei, Wenqiao Yuan, Enrong Mao (2010). In Situ Biodiesel Production from Fast-Growing and High Oil Content *Chlorella pyrenoidosa* in Rice Straw Hydrolysate. Journal of Biomedicine and Biotechnology Volume 2011, Article ID 141207, 8 pages
- [11] Plata B. Kafarov V, Moreno N. (2009). Desarrollo de una metodología de transesterificación de aceite en la cadena de producción de biodiesel a partir de microalgas. Prospect. Vol. 7, No. 2: 35-41
- [12] Ying Shen, Zhijian Pei, Wenqiao Yuan, Enrong Mao (2009). Effect of nitrogen and extraction method on algae lipid yield. Int J Agric & Biol Eng. Vol. 2 No.1: 51 – 57