

Cultivo del consorcio fotosintético dulceacuícola acumulador de lípidos RLD4, en aguas residuales

Bruno Pérez Aguilar (1), Jaquelina González Castañeda (2), Alma Teresa Corona Armenta (3)

1 [Bachillerato General, Escuela de Nivel Medio Superior de Irapuato] | Dirección de correo electrónico: [bperez.sci@gmail.com]

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

3 [Colegio de Nivel Medio Superior, Escuela de Nivel Medio Superior, Campus Irapuato, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [at.coronaarmenta@ugto.mx]

Resumen

El cultivo del consorcio fotosintético dulceacuícola RLD4, en aguas residuales de rastros, es de gran interés para mejorar la calidad de las aguas residuales y su potencial uso para la producción de alimento o sustancias de interés comercial. En éste trabajo se evaluó el crecimiento del consorcio en las aguas R1 y R2, con incubación a 25°C, fotoperiodos de 12:12 horas (luz/oscuridad), irradiancia de 38 $\mu\text{Mol}/\text{m}^2\text{s}$, con aireación de 1.2 L/min, durante dieciséis días con ajuste de pH cada 48h. Los experimentos se realizaron por triplicado. El crecimiento se evaluó mediante recuento celular, el contenido de clorofila mediante espectrofotometría y la caracterización fisicoquímica del agua residual, mediante las Normas Mexicanas. El pH varió entre 7.5 y 8.5. El contenido de fósforo disminuyó el 50% en R2. El consorcio RLD4, alcanzó su mayor población celular al día 16 en R1, con un valor de 125400 cel/mL. La mayor producción de clorofila fue de 3.2 $\mu\text{g}/\text{L}$ al día nueve en R1. El mayor valor de DBO5 fue de 6838 mgO_2/L , al día 16 en RLD4 R1. El agua residual de los rastros afecta el crecimiento de RLD4, los mejores resultados se obtienen en R1, manteniendo el pH de 8.0 cada 48 horas.

Abstract

The cultivation of photosynthetic freshwater consortium RLD4, in slaughterhouse wastewater, It is of great interest to improve the quality of wastewater and its potential use for the production of food or substances of commercial interest. In this work was evaluated the growth of the consortium in the R1 and R2 in two slaughterhouse wastewater, with incubation at 25 ° C, photoperiod of 12:12 hours (light/dark), irradiance of 38 $\mu\text{Mol}/\text{m}^2\text{s}$, with aeration of 1.2 L/min, for sixteen days and pH adjusted every 48h. Experiments were performed in triplicate. The growth evaluation was performed using cell count and chlorophyll content by spectrophotometry, in addition, the physicochemical characterization that was developed in accordance with the Mexican Standards. The pH varied between 7.5 and 8.5. The phosphorus content decreased to 50% in R2. The RLD4 consortium, reached its daily cell population at day 16 in R1, with a value of 125400 cells/mL. Most chlorophyll production was 3.2 mg/L at day nine in R1. The greatest value of BOD5 was 6838 mgO_2/L at day 16 in RLD4 R1. The slaughterhouse wastewater affects the growth of RLD4, best results are obtained in R1, maintaining pH of 8.0 every 48 hours.

Palabras Clave

Biorreactor; Microalgas-bacterias; Aguas residuales de rastros; Clorofila; Captura de CO₂.

INTRODUCCIÓN

Las aguas residuales, con diversos orígenes como son el doméstico, animal o industrial, constituyen un medio que puede proporcionar nutrientes como el nitrógeno y el fósforo [1]. La concentración de nutrientes en el medio de cultivo (carbono, nitrógeno, fósforo y hierro) son factores que pueden afectar el crecimiento de las microalgas, de igual manera la cantidad, calidad de lípidos producidos y el contenido de pigmentos [2,3]. Las microalgas utilizan y transforman los nutrientes en biomasa, siendo ésta una fuente de fertilizantes, alimentos para animales (avicultura, ganado porcino, ganado vacuno y acuicultura), energía, además de otras aplicaciones en la industria química, biomedicina y farmacología [4,5].

Justificación

Actualmente, el Laboratorio de Biotecnología Ambiental, de la División de Ciencias de la Vida, cuenta con una colección de consorcios fotosintéticos dulceacuícolas de microalgas-bacterias nativos del Estado de Guanajuato, con los cuales se han evaluado diferentes parámetros cinéticos y acumulación de lípidos en medio de cultivo de Dubos, sin embargo se requiere realizar mayor investigación sobre las condiciones de cultivo en aguas residuales, ya que contienen

materia orgánica y minerales, que pudieran favorecer el crecimiento del consorcio, con potencial para producir biomasa de valor agregado.

Hipótesis

El consorcio fotosintético RLD4 crece en aguas residuales de dos rastros, lo que favorece la producción de biomasa con valor agregado.

Objetivo:

El objetivo de ésta investigación fue evaluar el crecimiento y la producción de biomasa con valor agregado, del consorcio fotosintético dulceacuícola RLD4, cultivado en aguas residuales de dos rastros, a pH 8.0, con aireación y una intensidad lumínica de 38 $\mu\text{Mol/m}^2\text{s}$.

MATERIALES Y MÉTODOS

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

Determinación de pH, con un potenciómetro marca CONDUCTRONIC PC45 [6]. Para la demanda química de oxígeno (DQO), se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro marca Biospectrometer

Eppendorf Kinetic a 620 nm [7]. La demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), por titulación, con una disolución estándar de tiosulfato de sodio 0,025 M [8,9].

Determinación de fósforo total, por el método vanadomolibdofosfórico, se midió la absorbancia a 470 nm [10].

Condiciones del Cultivo

Se inocularon 500 mL del consorcio RLD4, en 2500 mL de agua residual proveniente de cada uno de los rastros, en cada biorreactor, se incubaron a 25°C, con fotoperiodos de 12:12 horas (luz/oscuridad), a una irradiancia de 38μMol/m²s, con una aireación de 1.2 L/min durante un periodo de dieciséis días con ajuste de pH cada 48h.

Conteo de células

Cada 48h, durante dieciséis días, con cámara de Neubauer marca Brand [11]. Los ensayos se realizaron por triplicado.

Determinación de Biomasa

Se realizaron muestreos los días cero, cuatro, nueve y dieciséis, de cada uno de los biorreactores. La determinación se hizo por diferencia de peso.

Determinación de Clorofila a

Se realizó mediante a los días cero, cuatro, nueve y dieciséis. El contenido se determinó con la siguiente ecuación:

$$\text{Clorofila a} = \frac{(11.6 (\text{Abs } 665\text{nm} - \text{Abs } 750) - 1.31 (\text{Abs } 645 - \text{Abs } 750 \text{ nm}) - 0.14 (\text{Abs } 630 - \text{Abs } 750 \text{ nm})) (\text{vol extracto})}{(\text{vol filtrado}) (\text{long cubeta})}$$

Donde:

Abs: Absorbancia

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las condiciones óptimas de crecimiento y productividad varían de acuerdo los parámetros como, la disponibilidad y concentración de nutrientes, irradiancia, pH entre 7.0 y 9.0, temperatura, densidad celular del cultivo, entre otros [12,13].

La IMAGEN 1, muestra la variación de pH en los biorreactores R1 y R2, como puede observarse varió entre 7.5 y 9.5. Los reactores sin inóculo y sin aire, mostraron los valores más bajos, en tanto que los inoculados con aireación, muestran un rango más bajo de pH, el cual oscila entre 8.5 y 9.5.

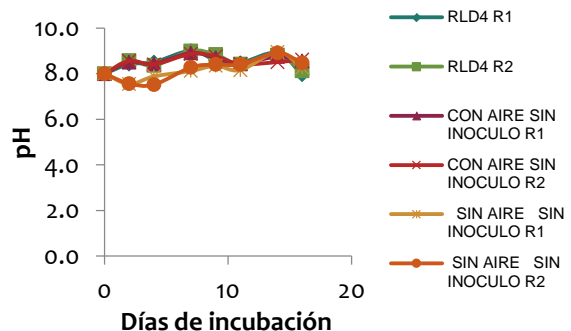


IMAGEN 1: Comportamiento del pH durante los dieciséis días de incubación del consorcio RLD4 en las dos aguas residuales R1 y R2.

En esta investigación se mantuvo el pH a 8.0, cada 48h, con el fin de mantener las mejores condiciones para el crecimiento de los consorcios.

El nitrógeno, fósforo y potasio (NPK), son algunos de los elementos que regulan el crecimiento de los microorganismos, por lo que resulta importante estudiar las concentraciones de fósforo en las aguas residuales. En la IMAGEN 2, se observa

que en R2 la disminución de fósforo es mayor que en el resto de los tratamientos. Lo cual indica que este es un proceso viable para la remoción de dicho elemento. Otros investigadores reportan el efecto de los nutrientes tanto en el crecimiento como en la morfología de las microalgas [11,14], dichas aportaciones concuerdan con lo que se observa en nuestros resultados.

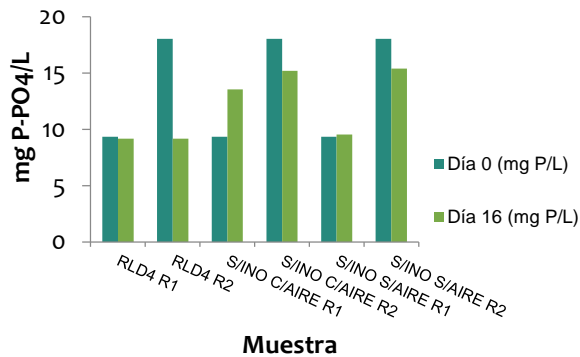


IMAGEN 2: Fosfatos durante los dieciséis días de incubación del consorcio RLD4 en las dos aguas residuales R1 y R2.

La IMAGEN 3, muestra la biomasa de los biorreactores en las aguas R1 y R2, en comparación con los testigos. Como puede observarse R2 presenta mayor producción de biomasa que R1. El testigo sin inóculo y sin aire desarrolla los mayores niveles de biomasa, cabe aclarar que los biorreactores con RLD4 permiten el crecimiento del consorcio en tanto que en los testigos está ausente y por ende la calidad de la biomasa es diferente.

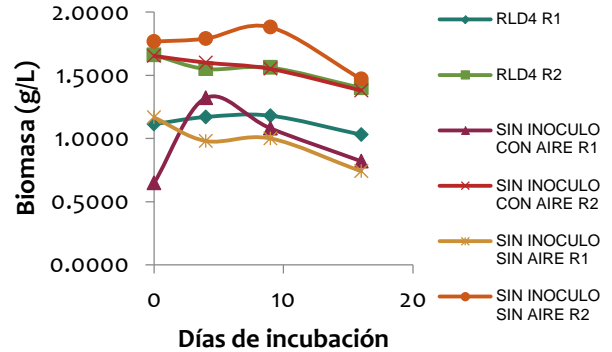


IMAGEN 3: Biomasa durante los dieciséis días de incubación del consorcio RLD4 en las dos aguas residuales R1 y R2.

La concentración de biomasa alcanzada es mayor a la reportada por Quevedo, 2008 [11], quien cultiva la microalga *Scenedesmus sp*, con 0.317g/L, pero valores similares a los reportados por Greque y Vieira, 2007 [15], con *Scenedesmus obliquus*, reportaron 1.8g/L.

La IMAGEN 4, muestra la abundancia de microorganismos en RLD4, en las aguas residuales de los rastros R1 y R2. Las dos gráficas muestran un crecimiento exponencial, sin embargo, al día catorce R2 presenta una rápida disminución en el número de células, mientras que R1 sigue aumentando. Como era de esperarse los testigos permanecen constantes durante los dieciséis días de incubación. La composición de R1 favorece el crecimiento de RLD4.

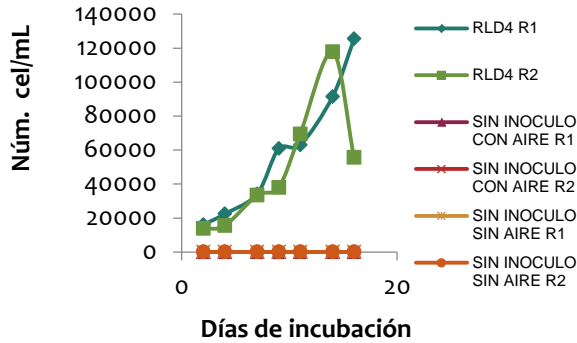


IMAGEN 4: Cinética de crecimiento por conteo de células durante los dieciséis días de incubación del consorcio RLD4 en las dos aguas residuales R1 y R2.

En términos generales, los resultados de este trabajo muestran cinéticas de cultivo cortas (14 días) y altas concentraciones de biomasa, de manera similar a las cinéticas reportadas que emplean como fuente de carbono el CO_2 [11,16].

El color de los biorreactores cambia entre los dos y diez días de incubación, de un verde pálido a una tonalidad más verde respectivamente. En la IMAGEN 5, usando la técnica de Gómez, 2009 [16], el contenido de clorofila de RLD4 en R1 y R2, es de 24 a 20 veces más con respecto a los testigos. Posteriormente entre el día 10 y 14 disminuyó la producción de clorofila, otros investigadores reportan tendencias similares [17, 18]. García Vicente 2010, [19] reporta valores máximos de producción de clorofila entre 1.06 y 1.93 $\mu\text{g/L}$, en esta investigación se reportan valores similares de producción entre 2.69 y 3.2 $\mu\text{g/L}$.

La DQO es la cantidad de oxígeno necesario para oxidar la materia orgánica por medios químicos y convertirla en dióxido de carbono y agua.

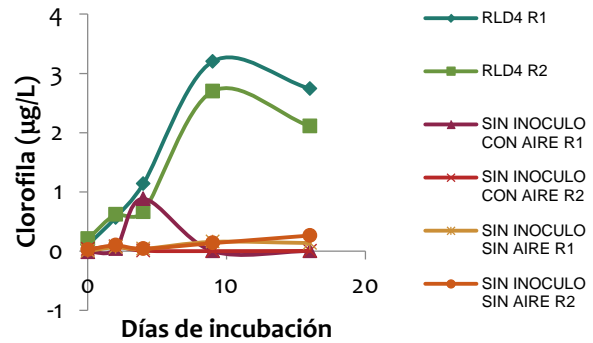


IMAGEN 5: Clorofila a durante los dieciséis días de incubación del consorcio RLD4 en las dos aguas residuales R1 y R2.

En la IMAGEN 6, se observa que todas las muestras tienen comportamientos similares, a partir del día 9 hay un incremento en el consumo de oxígeno, que puede relacionarse con el descenso de clorofila.

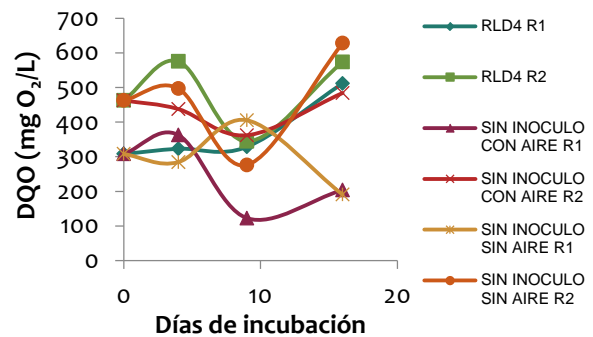


IMAGEN 6: DQO durante los dieciséis días de incubación del consorcio RLD4 en las dos aguas residuales R1 y R2.

La DQO y DBO_5 se utiliza para medir el grado de contaminación de las muestras, en la IMAGEN 7, podemos observar que a medida que los microorganismos aumentan, la DBO_5 sigue la misma tendencia, éste parámetro proporciona de manera aproximada la materia orgánica biodegradable presente en las aguas residuales.

Microorganismos como, bacterias, hongos, algas y plancton, consumen oxígeno durante la degradación de las sustancias orgánicas contenidas en la muestra. Las Normas Oficiales Mexicanas establecen Límites Máximos Permisibles entre 200 mgO₂/L, [20]. Como puede observarse en las gráficas se observan valores entre 2000 y 7000 mgO₂/L, lo que puede explicarse con el crecimiento del consorcio o la propia flora microbiana presente en las aguas residuales, recordando que la diferencia es, la calidad de la biomasa presente, como ya se mencionó.

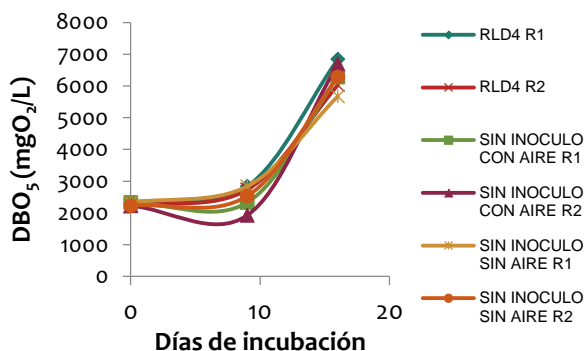


IMAGEN 7: DBO₅ durante los dieciséis días de incubación del consorcio RLD4 en las dos aguas residuales R1 y R2.

CONCLUSIONES

El agua residual de los rastros afecta el crecimiento de RLD4, la mayor producción de biomasa con valor agregado en términos de clorofila y el mayor número de células, se obtiene en R1.

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección de Apoyo a la Investigación y al Posgrado (DAIP) y a la División de Ciencias de la Vida (DICIVA), Campus Irapuato-Salamanca, por

darme la oportunidad de realizar el Verano de Investigación. También al Rastro 1 y Rastro 2. Asimismo, agradezco a todas las personas que me acompañaron y apoyaron en el trayecto: Dra. Jaquelina González C., Dra. Alma T. Corona A., mis compañeras de laboratorio, Maria M. Vargas Z., Martha V. Almanza E., Jazmín A. Sánchez R., Niza M. Sevilla V. Finalmente, doy las gracias a mi familia y mis amigos por haber hecho posible esto.

REFERENCIAS

- [1] Andrade, R. C. E., Vera, B. A. L., Cárdenas, L. C. H., Morales, A. E. D. (2009). Producción de biomasa de la microalga *Scenedesmus* sp. utilizando aguas residuales de pescadería. Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería, 32(2), pp. 126-134.
- [2] Rodríguez González, A. M., Serrano Luna, F. A. (2012). Efecto de la relación Carbono/Nitrógeno en la productividad de biomasa y lípidos en cultivos de *Chlorella vulgaris* UTEX 1803 en fotobiorreactores a escala de laboratorio. Tesis de Licenciatura. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. pp. 14.
- [3] Serrano Bermúdez, L. M. (2012). Estudio de cuatro cepas nativas de microalgas para evaluar su potencial uso en la producción de biodiesel. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. pp. 16-19.
- [4] Salazar González, M. (2006). Aplicación e importancia de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales. Contactos. 59, pp. 64-70.
- [5] Valencia Soto, D. A. (2012). Capacidad de remoción de amonio y ortofosfato, a gran escala, de dos especies de microalgas, en aguas residuales municipales. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana. Iztapalapa. pp. 1-5.
- [6] Norma Mexicana NMX-AA-008-SCFI-2011
- [7] Norma Mexicana NMX-AA-030/1-SCFI-2012
- [8] Norma Mexicana NMX-AA-012-SCFI-2001
- [9] Norma Mexicana NMX-AA-028-SCFI-2001
- [10] Norma Mexicana NMX-AA-029-SCFI-2001

- [11] Quevedo O, C., Morales V, S.P., Acosta C.A. (2008). Crecimiento de *Scenedesmus sp* en diferentes medios de cultivo para la producción de proteína microalgal. VITAE, revista de la Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquía, Medellín, Colombia, 15(1), pp. 25-31.
- [12] Salazar González, M. (2006). Aplicación e importancia de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales, Contactos. 59, pp. 64-70.
- [13] Maity, 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, 1 pp. 1-10.
- [14] Dai, G., Zhong, J., Song, L., Guo, C., Gan, N., Wu, Z. (2015). Harmful algal bloom removal and eutrophic water remediation by commercial nontoxic polyamine-co-polymeric ferric sulfate-modified soils. Environ Sci Pollut Res. 22, pp. 10636-10646. doi: 10.1007/s11356-015-4274-4.
- [15] Greque, M., Vieira, J.A. (2007). Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina sp.* and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. J Biotechnol, 129, pp. 439-445.
- [16] Gómez, N., Donajo, J., Giorgi, A., Guasch, H., Mateo, P., 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. pp. 219- 242.
- [17] Mora, R., Moronta, R., Ortega, J., Morales, E. (2005). Crecimiento y producción de pigmentos de la microalga nativa *Chlorella sp.* aislada de la Represa de Tulé, Municipio Mara, Estado Zulia, Venezuela. Ciencia completa, 12, pp.1-9.
- [18] Pérez-Urria Carril, E. (2009). Fotosíntesis: Aspectos Básicos. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal, 2 (3), pp. 1-47.
- [19] García Vicente, M.J. (2010). Captura de CO₂ mediante algas unicelulares. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Departamento de Producción Vegetal: Fitotecnia. Universidad Politécnica de Madrid.
- [20] Norma Mexicana NOM-ECOL-003-1997