

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

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

En el presente proyecto, se estudiaron los parámetros óptimos de crecimiento microalgal, midiendo el crecimiento por conteo celular, variando la concentración de nutrientes (P, N) en medio BBM estándar (A, B) y en medio BBM con doble concentración (2N, 2P, 2N2P). Además, se realizó la determinación de peso seco en estas pruebas, obteniendo una concentración máxima de 1.9 g/L en 2N2P. También, se estudió el crecimiento microalgal utilizando como inóculo lodo proveniente de la PTAR de San Jerónimo, Gto., mostrando un mayor crecimiento de 370 millones de células/ml, en comparación con medio BBM estándar (7 millones) y con medio BBM 2N2P (50 millones). La biomasa obtenida de los fotobiorreactores se introdujo a un digester anaerobio Armfield®, utilizando un consorcio bacteriano de un biodigestor de la misma PTAR como inóculo. Actualmente, se encuentra en estudio las pruebas de biodigestión para cuantificar la producción de biogás.

## Abstract

In the present project, optimal microalgal growth parameters were measuring cell growth modifying the nutrient concentration (P, N) in standard BBM medium (A, B) and BBM medium with double concentration (2N, 2P, 2N2P). Further, the dry weight determination was performed in these tests, obtaining a maximum concentration of 1.9 g / L in 2N2P. Also, microalgal growth was studied using as inoculum sludge from San Jerónimo PTAR, Gto., showing a higher growth of 370 million cells/ml, compared to standard BBM medium (7 million) and BBM 2N2P medium (50 million). The biomass obtained from the photobioreactors was introduced to an anaerobic digester Armfield®, using a bacterial consortium of a biodigester of the same PTAR as inoculum. Currently, biodigestion tests are being studied to quantify biogas production.

## Palabras Clave

Fotobiorreactor; biomasa; microalga.

## INTRODUCCIÓN

### Microalgas

Las microalgas son consideradas como los primeros microorganismos fotosintéticos [1], con una eficiencia cuatro veces superior a la de las plantas [2]. Contienen clorofila y otros pigmentos fotosintéticos, en este contexto se les conocen 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]. 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 como la luz (350-700 nm) [5], temperatura (18 y 22°C, aunque algunas pueden ser extremófilas) [6], pH (7- 9) [7], la salinidad, que afecta el intercambio de sustancias a través de las paredes celulares de los microorganismos, que se rigen por procesos de ósmosis [8]. La aireación, que permite mantener una distribución homogénea del medio líquido. Además, 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 [9].

### 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 [10] 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 farmacéutico [11]. Además, 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 [12].

### 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 [13]. En el experimento de González-Fernández *et al.* [14], 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. En otro estudio, se 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 [15].

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

Las microalgas fueron muestreadas en el lago del zoológico de Irapuato, Gto., en frascos herméticos de plástico de 500 ml, el lodo y el consorcio bacteriano se muestreó de la PTAR de San Jerónimo, Gto. Las muestras de microalgas fueron colocadas en fotobiorreactores de 1.5 L de capacidad, se identificaron 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.

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).

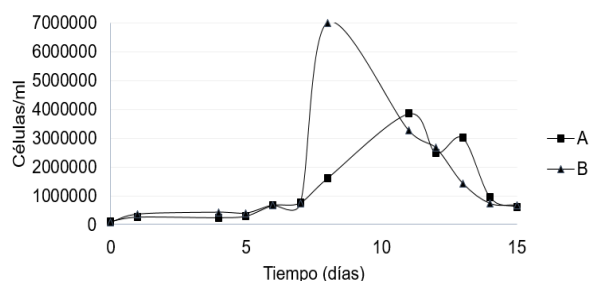


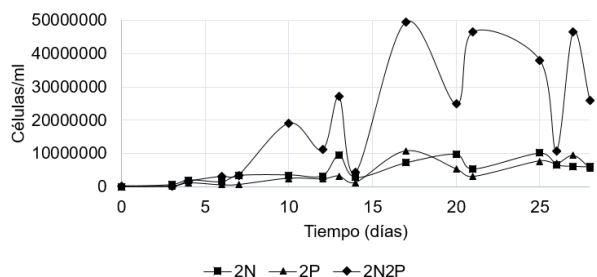
Figura 2. Cinética de crecimiento microalgal (primera prueba) por conteo celular, a condiciones de medio BBM estándar por duplicado (A y B).

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.

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.

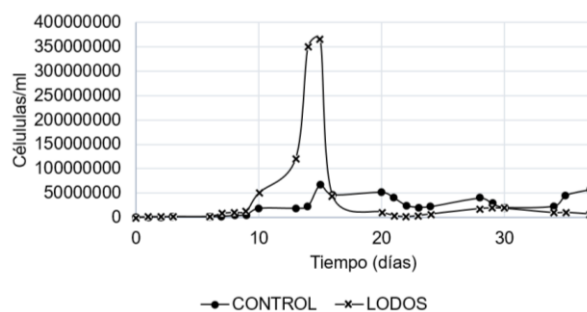


**Figura 3. Cinética de crecimiento microalgal (segunda prueba) por conteo celular, a condiciones con doble concentración de BBM de nitrógeno (2N), doble concentración de fósforo (2P) y doble concentración de fósforo y nitrógeno (2N2P).**

Finalmente, en la tercera prueba (Fig. 4), se usaron concentraciones dobles de BBM fósforo 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); 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.



**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).**

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

**Tabla 1. Determinación de peso seco (g/L) de microalgas.**

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 elementos, 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 fósforo al mismo

tiempo, fue la que tuvo un mayor crecimiento microalgal con respecto al medio BBM normal, 50 millones de 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 365.7 millones de células/ml (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. 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.
- [7] FAO. (2009). Departamento de Pesca. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. CULTIVO DE MICROALGAS. [Versión electrónica]
- [8] Tomaselli, L. (2004). The Microalgal Cell. En Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology (págs. 3-19). Blackwell Publishing.
- [9] AST Ingeniería S.L. (2013). Aplicaciones de las microalgas: estado de la técnica. Oportunidades empresariales alrededor de las microalgas en el litoral cantábrico.
- [10] Cohen, Z. (1986). Products of Microalgae, in Handbook of Microalgae Mass Culture. Richmond, A.C. R. C. Press. Florida, pp: 41-453
- [11] Gómez, L.; Liliana, M. (2007). MICROALGAS: ASPECTOS ECOLÓGICOS Y BIOTECNOLÓGICOS Revista Cubana de Química, vol. XIX, núm. 2, 2007, pp. 3-20
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] 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
- [15] Ramos Suárez, Luis (2010). Producción de biogás a partir de la biomasa de la microalga Scenedesmus sp. procediente de diferentes procesos.