

Microalga *Spirulina sp.* cultivada en un fotobiorreactor

Rodríguez Núñez Edgar*, Laines Canepa José Ramón, Cruz Rosado Leonardo, Contreras Sánchez Wilfrido

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias Biológicas. Carretera Villahermosa-Cárdenas Km 0.5. S/N, Entronque a Bosques de Saloya. Villahermosa, Centro, Tabasco. C.P. 86150. México.

*Autor para correspondencia: ednunhes@outlook.com

Recibido:

15/julio/2021

Aceptado:

23/octubre/2021

Palabras clave:

Microalgas,
biodigestor,
fotobiorreactor

Keywords:

Microalgae,
bioreactor,
photobioreactor

RESUMEN

El CO₂ presente en el biogás reduce su potencial uso, por tanto, se implementan tratamientos biológicos como alternativa para depurarlo. En este trabajo se experimentó el crecimiento de la microalga *Spirulina sp.*, utilizando productos de un biodigestor anaerobio tipo laguna en el Estado de Tabasco. Se realizó cultivo de microalgas en dos fotobiorreactores tipo columna vertical (FBR's) con volumen de 3L. La configuración consiste en un tubo acrílico con conexiones neumáticas, para suministrar flujos de biogás. Para mantener las condiciones, se controla el pH ideal de la especie, mientras que la densidad celular (células/mL-1) se estimó usando la cámara Neubauer (0.100 mm) y por turbidimetría con longitud de onda (L.O) 550nm. El gas desulfurado obtuvo un mayor rendimiento en la biomasa algal con 286,666 Cel/mL en comparación con el sulfurado 194,500 Cel/mL. Las condiciones que establece la configuración del fotobiorreactor, así como el aporte de biogás (CO₂) como fuente de carbono inorgánico y los nutrientes presentes en BiOL CATRE® favorecen el cultivo de microalgas como alternativa para producir biomasa microalgal.

ABSTRACT

The CO₂ present in the biogas reduces its potential use, while biological treatments are implemented as an alternative to purify it. In this work, the growth of the microalgae *Spirulina sp.* Was experimented, using products of a bioreactor anaerobic type lagoon in the State of Tabasco. Microalgae culture was performed in two vertical column type photobioreactors (FBR's) with a volume of 3L. The configuration consists of an acrylic tube with pneumatic connections, to supply r flows of biogas. To maintain conditions, the ideal pH of the species is controlled, while cell density (cells/mL-1) was estimated using the Neubauer chamber (0.100 mm) and by turbidimetry with wavelength (L.O) 550nm. The desulfurized gas obtained a higher yield in the algal biomass with 286,666 cells/ml compared to the sulfide 194,500 cells/ml. The conditions established by the configuration of the photobioreactor, as well as the contribution of biogas (CO₂) as a source of inorganic carbon and the nutrients present in BiOL CATRE® favor the cultivation of microalgae as an alternative to produce microalgal biomass.

Introducción

La depuración de gases traza en la mezcla del biogás permite diversificar y potenciar su aplicación para la generación de energía. Según la Agencia Internacional de Energía en 2050, hasta el 27% del total mundial del combustible para transporte podría provenir de biocombustibles; de donde el 7.5% del total de la energía eléctrica generada tendría origen de la biomasa, así mismo la energía térmica producida mediante bioenergía podría suponer el 15 y el 24% del consumo energético final en los sectores industriales y la construcción respectivamente. (FAO, 2013). La Secretaría de Energía del gobierno mexicano prospecta que en 2018-2032 la bioenergía específicamente de biomasa residual y los residuos sólidos urbanos tendrá un importante potencial de generación de energía eléctrica y térmica. La participación de las tecnologías renovables en la matriz de generación incrementará sustancialmente, se prevé que estas participen para el 2032 hasta un 30%. (SENER, 2018). En 2010, en la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, se construyó un biodigestor anaerobio tipo cúpula del que se obtiene biogás con impurezas en sus elementos traza, por lo que debe ser depurado antes de ser dosificado a la red de gas natural o para ser utilizado en la generación eléctrica. Para ello se implementó un filtro de eliminación del ácido sulfhídrico (H_2S) y con respecto al dióxido de carbono (CO_2) aún se busca eliminarlo mediante métodos biotecnológicos. (Laines y Sosa, 2013). En el ámbito internacional se han desarrollado trabajos de investigación tendientes a mejorar la calidad del biogás y remover el CO_2 de manera biológica. En España se investigó el rendimiento a largo plazo de un fotobiorreactor tubular con cultivo de microalgas interconectado a una columna de absorción de gas para la reducción de CO_2 a partir de biogás y gas de combustión. (Toledo et al., 2018). En Taiwán, para la mejora del biogás han utilizado las microalgas con alta tolerancia al CO_2 como un agente de lavado biológico logrando la eliminación de CO_2 para acercarse a las condiciones del biometano. (Nagarajan et al., 2019). Contrariamente a los avances en la investigación, en el estado de Tabasco los reportes sobre el mejoramiento del biogás con biotecnologías de captura de CO_2 para obtener biometano son escasos. Los resultados de este proyecto constituirán una base de datos para que instancias gubernamentales realicen programas que promuevan la utilización biotecnológica para captura del CO_2 respaldadas por la actividad fotosintética microalgal en fotobiorreactores de una manera rentable y respetuosa con el medio ambiente, así como para empresas privadas que producen biogás.

Metodología

Diseño y condiciones del fotobiorreactor

El FBR vertical tipo columna tiene un volumen de 3L, su configuración consta de un tubo de acrílico de 65 cm de largo con un diámetro de 7.5cm. La base del tubo es una brida para inodoro Oatey® de PVC. Se realizó agitación utilizando una bomba de aireación marca WHISPER® 10 Air Pump con flujo de aire de 0.5 L/min (burbujeo constante regulado). Se utilizaron dos reservorios de 1m³ para biogás dulce y amargo, adicionando 2.118 ft³/h por carga, manteniendo el pH de crecimiento. La iluminación artificial fue proporcionada por 2 lámparas LED (light emitting diodes) Commercial Electric® luz blanca neutra de 17W generando 900 lúmenes cada una, en fotoperiodo de 12/12 H, luz: oscuridad, controladas por un temporizador Timer DEFIANT® 15 Amp 24 Horas.

Inoculación de la microalga

Para la inoculación de la microalga. Se introdujo a cada fotobiorreactor un volumen de 2.5L de agua destilada y 250 ml de inóculo de *Spirulina sp.* cepa adquirida en Algae Research and Supply, con una densidad celular inicial de 42500 células/ml para el FBR A y 48333 células/ml para el B. La salinidad se ajustó agregando sales de Algae Research and Supply por cada litro para emular condiciones ambientales de la especie. De lunes a sábado se añadieron durante 27 días para el crecimiento de microalgas 12 ml de digestato BiOL Catre®, subproducto de la digestión anaerobia obtenido de un biodigestor tipo laguna anaerobia ubicado en la DACBiol de la UJAT.

Crecimiento de la *Spirulina sp.*

El crecimiento celular se monitoreo durante 27 días con dos métodos. La densidad celular (células/mL-1) con el uso de la cámara Neubauer (profundidad 0.100 mm) estándar, por triplicado en un microscopio ZEISS PRIMO STAR®. El segundo método fue mediante turbidimetría, en un espectrofotómetro Thermo Scientific™ Modelo GENESYS™ 10S UV-VIS a 550 nm espectro de luz.

Biogás como fuente de carbono

Se utilizó el equipo optima 7 biogás MRU® Instruments Inc. Emission Monitoring Systems para valorar el biogás dulce y amargo almacenados en reservorios de geomembrana. El instrumentó se introdujo en la válvula del reservorio para tomar lectura de las concentraciones en la mezcla del biogás.

Cuantificación de biomasa

Se liofilizaron muestras de 30mL (por triplicado) de cada cultivo de microalgas. Las muestras se colocaron en tubos de centrifuga de 50ml con tapón de rosca y fondo cónico (Falcon). Posteriormente se congeló y se deshidrató en una Liofilizadora Labconco FreeZone® 2.5 L, operando a -50°C con una presión de 0.040 mbar.

Resultados y discusión

Diseño y condiciones del fotobiorreactor tipo columna

La configuración del fotobiorreactor tiene elementos de tipo neumático, óptico, dispositivo de captura y el sistema de temporizador de fusión/fotoperiodo eléctrico.

Verificación morfológica de la microalga

La dimensión de las colonias observadas fue de 7.59µm de ancho y la longitud de la colonia es de 269.40µm (Figura 1). Tal como lo describen Streble y Krauter (1987), la *Spirulina platensis*, tiene filamentos enrollados en espiral, ligeramente estrangulados en las paredes transversales, células más cortas que anchas y con dimensiones de 2-6 µm de largo y 6-8µm de ancho; giros de los filamentos de 25-40µm de ancho y la longitud de toda la colonia suele ser de 20-300µm. De acuerdo con la literatura citada se determinó taxonómicamente como *Spirulina platensis*.



Figura 1. Fotografía en la que se identifica como *Spirulina platensis* a la especie de microalga cultivada en los FBR's.

Crecimiento de la *Spirulina sp.*

El (FBR) A alimentado de biogás dulce, obtuvo la mayor cantidad de células por mililitro el día 24 del experimento con 286666.6 Cel/mL y el (FBR) B alimentado de biogás amargo la mayor cantidad fue 194500 Cel/mL en el día 26 del experimento (Figura 2). El crecimiento fue mayor en los FBR A y B en

comparación con lo reportado por Olivera *et al.* (2015), donde realizaron un cultivo de *Spirulina platensis* en un fotobiorreactor doblemente curvado en condiciones ambientales, donde el máximo crecimiento fue a los 14 días con 151667 Cel/mL de *Spirulina platensis*. Sin embargo, hasta los 24 y 26 días de cultivo se alcanzó el máximo crecimiento, puede atribuirse a la alimentación con biogás y condiciones del medio de cultivo, así como también el tipo de FBR.

En la espectrofotometría, las muestras fueron colectadas en condiciones estériles, calculadas en una densidad óptica ($\lambda=550$ nm); el FBR A inició con una absorbancia promedio de 0.25 nm hasta obtener 1.22 nm y el FBR B con 0.28 nm hasta obtener 0.91nm, la (Figura 3) muestra los valores en el incremento de absorbancia.

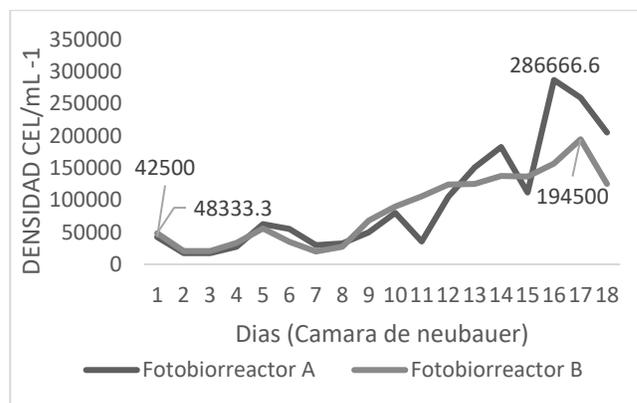


Figura 2. El comportamiento de la densidad celular en ambos fotobiorreactores identificados como A y B, muestra la curva de crecimiento típico para la especie cultivada. Dándose en el FBR A, el mayor incremento (Cel/mL-1).

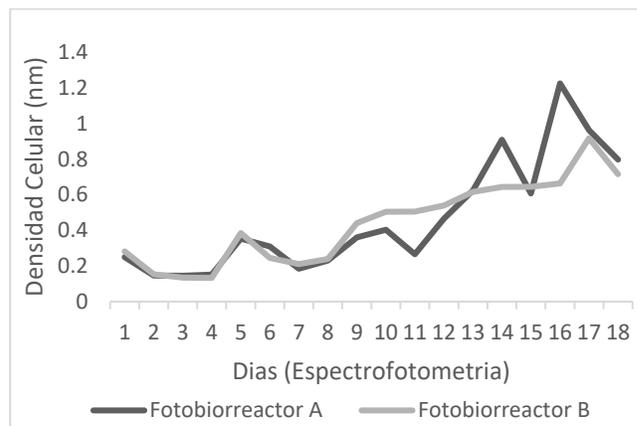


Figura 3. El crecimiento identificado en los FBR A y B, a partir de la (L=550nm) muestra un mayor incremento en el A, Siendo una concentración dentro de las fases de la típica curva de crecimiento.

Medición de parámetros

En cultivos de laboratorio de *Spirulina sp.* se ha informado que muestran un amplio rango de pH óptimo de 8-10. La *Spirulina platensis* es una cianobacteria alcalófila resistente a un pH superior a 9. (Kishi y Toda, 2018).

Las variaciones diarias de pH en el Fotobiorreactor (A) oscilaron en un rango de 8.51 a 10.6 y para el FBR B en rango de 8.12 a 10.56. Se estimó un típico incremento de pH durante el fotoperiodo alcalinizando el medio de cultivo en etapa de iniciación, que tiene origen en la aireación continua sin actividad fotosintética, favoreciendo la disminución con el enriquecimiento de CO₂. (Goldman et al., 1982). En la (Figura 4), se observa el comportamiento del pH durante el crecimiento celular, en el FBR A con promedio de pH 9.7 ± 1 y en FBR B un pH promedio de 9.78 ± 1, considerando 2 mediciones diarias. De acuerdo con la literatura citada, ambos cultivos tuvieron en promedio un pH óptimo, acorde con la especie de la microalga, favoreciendo el crecimiento.

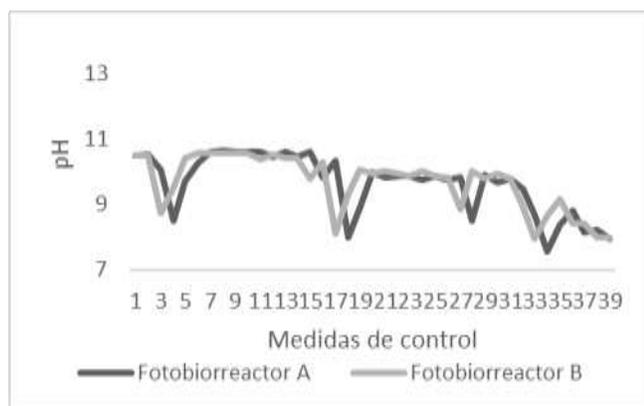


Figura 4. Se muestra el registro del pH para el rango de control del crecimiento de *Spirulina platensis* durante el procedimiento.

Concentraciones del biogás

El análisis al biogás dulce se muestra en la Tabla 1, así mismo para el biogás amargo se muestra en la Tabla 2. Bose et al. (2019), reporta que la concentración del CO₂ en el biogás está en rangos de 20 al 55%. Así mismo, Quan et al. (2017), refieren que el H₂S es característico por su olor a huevo podrido. Los moto-generadores mayormente son capaces de operar adecuadamente con hasta 200 ppm de H₂S. Este produce corrosión en equipos y tuberías donde circula, situación por lo que desulfurar el biogás es necesario. Los valores de CO₂ del biogás limpio y sucio cumplen con el rango mencionado en la literatura.

Tabla 1. Composición en la mezcla de Biogás.

CONTENIDO DEL BIOGÁS DULCE	
Metano (CH ₄)	56.66%
Hidrógeno de Sulfuro (H ₂ S)	5 ppm
Dióxido de Carbono (CO ₂)	39.76 %
Oxígeno (O ₂)	1.4 %

Tabla 2. Composición en la mezcla de Biogás.

CONTENIDO DEL BIOGÁS AMARGO	
Metano CH ₄	67.85%
Hidrógeno de Sulfuro (H ₂ S)	36 ppm
Dióxido de Carbono (CO ₂)	21 %
Oxígeno (O ₂)	8.7 %

Cuantificación de biomasa

En el FBR A se obtuvo biomasa de 21.25 g/L (Eq.1), mientras que en el FBR B 17.60g/L (Eq.2). Los resultados son superiores a lo reportado por Olivera et al. (2015), donde investigaron el crecimiento de *Spirulina platensis* en un fotobiorreactor tipo cónico en condiciones ambientales con concentración de biomasa de 1.5g/L en 18 días. El FBR A alimentado con biogás dulce, muestra una mayor concentración de biomasa en 27 días de experimentación.

Biomasa liofilizada del FBR A =

$$(0.6376gr / 30mL)(1000mL/1L) = 21.25 gr/L \text{ (Eq.1)}$$

Biomasa liofilizada del FBR B =

$$(0.5278gr / 30mL)(1000mL/ 1L) = 17.60gr/L \text{ (Eq.2)}$$

Conclusiones

Para los resultados obtenidos se demostró que el biogás como fuente de carbono inorgánico y los nutrientes esenciales presentes en el BiOL CATRE®, obtenidos de un biodigestor tipo laguna anaerobia pueden ser útiles en el cultivo de microalgas como alternativa para la producción de biomasa microalgal, por lo que se atribuye capacidad de depuración al sistema de FBR tipo columna, además se identificó de acuerdo con su morfología a la especie *Spirulina sp.*

Se recomienda un tratamiento axénico para un uso de calidad alimentaria estipulada en la reglamentación de la FAO.

Esta es la primera fase de un trabajo de investigación, por lo que su continuación recae en implementar el uso de otras especies de microalgas y encontrar las dosis indicadas de BiOL CATRE® para un crecimiento óptimo, así como identificar el volumen, (%) de remoción de CO₂ en la mezcla del biogás, de modo que también se considera la posibilidad de purificar el biogás con un consorcio microalgal para la presencia del H₂S.

Agradecimientos

Agradecimiento a todos colaboradores que ayudaron en el desarrollo de este trabajo.

Referencias

- Bose A., Lin R., Rajendran K., O'shea R., Xia Ao., Murphy J.D. (2019). How to optimize photosynthetic biogas enhancement: a perspective on system design and microalgae selection., *Biotechnology Advances*, 37(8):107444.
- Goldman J.C., Azov Y., Riley C.B., Dennett M.R. (1982). The effect of pH in intensive microalgal cultures., *Biol. Ecol*, 57, 113.
- Kishi M., Toda T. (2018). Propiedades de fijación de carbono de tres cepas de microalgas alcalino-halófilas bajo alta alcalinidad. *J. Appl. Phycol*, 30(1) 401-410.
- Laines J.R., Sosa J.A. (2013). Degradación anaerobia del contenido gástrico ruminal bovino para la obtención de biogás, en un biodigestor tipo cúpula. *Ingeniería 17* (1). 57-65.
- Nagarajan D., Lee D., Chang J. (2019). Integration of anaerobic digestion and microalgal cultivation for digestate bioremediation and biogas upgrading., *Bioresource Technology*, 290.
- Organización de las Naciones Unidas para la alimentación. (FAO) (2013). La Bioenergía y los biocombustibles. Recuperado de: <http://www.fao.org/bioenergy/28392-0a61de8f511d0a4d08b2137bc929214a7.pdf>
- Olivera R.H., Pari, U., Gonza A. D., Huamanga J. C., Salazar D.G, Flores J. (2015). Cultivo de *Arthrospira platensis* (Spirulina) en fotobiorreactor tubular doblemente curvado a condiciones ambientales en el sur del Perú. *Biotechnol.*,13(1), 142-149.
- Quan, W., Wang, X., and Song, C. (2017). Selective removal of H₂S from biogas using solid amine-based a molecular basket sorbent. *Energy & Fuels*, 31(9). Recuperado de: <https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1004/1929/1/MCTA18.pdf>
- Secretaria de Energía, SENER. (2018). Prospectiva de energías renovables 2018-2032. Recuperado de: <https://www.gob.mx/sener/documentos/prospectivas-del-sector-energetico>
- Streble H., Krauter D. (1987). *Atlas de los Microorganismos de Agua Dulce "La vida en una gota de agua"*. Barcelona, España. Omega.
- Toledo A., Morales, T., Gonzales, A., Muñoz, R. y Lebrero, R. (2018). Long-term photosynthetic CO₂ removal from biogas and flue-gas: Exploring the potential of closed photobioreactors for high-value biomass production., *Science of The Total Environment*, 640-641, 1272-1278.