

EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE CO₂ DISUELTO EN UN CULTIVO MIXOTRÓFICO DE *Scenedesmus obliquus*

Evidio Armas Perez Borroto*, Orlando Ginçes Alfaro Vives**

*Empresa Genix, **Centro de Investigaciones de Energía Solar

*Una mezcla de microorganismos autotróficos (*Scenedesmus obliquus*) y heterotróficos (consorcio bacteriano) fue cultivado en fotobioreactores a cielo abierto de película descendente tipo Setlik con 5 cm de profundidad y 1,6 m² de área (Setlik et al 1970). Se evaluó el comportamiento de la mezcla de microorganismos con 0,3 y 1 % de CO₂ disuelto, proveniente de la oxidación heterotrófica de la glucosa dosificada a la suspensión de cultivo. Se presentan los resultados de productividad y eficiencia obtenidos con ambas concentraciones de CO₂, si se mantiene en 1% la concentración de CO₂ en la suspensión de cultivo se produce un ligero aumento de la productividad por unidad de área y una disminución considerable de eficiencia en el uso de la glucosa, provocado por el aumento de la biomasa heterótrofa, lo contrario sucedió al utilizar 0,3% de CO₂ disuelto. Se demostró además que es factible controlar la adición de glucosa al medio midiendo el CO₂ disuelto en la suspensión con gran efectividad.*

Palabras clave: cultivo mixto algas-bacterias, control de la materia orgánica añadida.

*A mixture of autotrophic (*Scenedesmus obliquus*) and heterotrophic (bacterial consortium) microorganisms was cultivated in a fotobioreactor in an open outdoor solar cultivation of falling field of type Setlik with 5 cm of depth and 1,6 area m² (Setlik et al 1970). The behavior of the mixture of microorganisms was evaluated with 0,3 and 1% of dissolved CO₂, coming from the heterotrophic oxidation of the glucose dosed to the cultivation suspension. The results of productivity and efficiency obtained are presented with both concentrations of CO₂. If it is maintained in 1% the concentration of CO₂ in the cultivation suspension there is a slight increase of the productivity per unit area and a considerable decrease of efficiency in the use of the glucose, caused by the increase of the heterotrophic biomass. The opposite happened when using 0,3 % of dissolved CO₂. It was also demonstrated that it is feasible to control the addition of glucose to the means measuring the CO₂ dissolved in the suspension with great effectiveness.*

Key words: Mixed culture algae.bacterial, added organic matter control.

Introducción

El CO₂ es la fuente de carbono principal para el crecimiento autotrófico de las microalgas. Durante el crecimiento autotrófico la luz es convertida dentro de la célula en energía química de ATP y del NADPH₂, las que son utilizadas para efectuar la reducción del CO₂ a hexosa y otros productos.

En los cultivos de microalgas a cielo abierto en sustratos orgánicos, es necesario controlar la biomasa heterotrófica, capaz de proporcionar durante el crecimiento a expensas de un sustrato orgánico soluble, dióxido de carbono en cantidades suficientes, para satisfacer las necesidades de la población autotrófica que a su vez proporciona el oxígeno requerido para la oxidación de dicho sustrato orgánico. Una de las formas de controlar

el crecimiento de la población heterotrófica es mediante la dosificación regulada del sustrato orgánico, que debe realizarse de acuerdo a las necesidades de O₂ y CO₂ de las poblaciones de microorganismos durante el proceso de cultivo. Si bien es cierto que los sistemas comercializados para la medición de oxígeno disuelto son o pudieran ser más sensibles que los producidos o aplicables a la medición de dióxido de carbono disuelto es precisamente este compuesto el que debe monitorear la dinámica del crecimiento de un cultivo mixto de autótrofos y heterótrofos, ya que momentáneamente puede surgir la sobresaturación con oxígeno del sistema, mientras que la demanda de CO₂ no sea satisfecha. Con el objetivo de completar trabajos experimentales realizados previamente sobre el comportamiento de poblaciones mixtas de microalgas y la flora heterotrófica

que normalmente se halla presente en las condiciones de cultivo a cielo abierto, se evaluó el comportamiento de un cultivo de *Scenedesmus obliquus* a cielo abierto bajo diferentes concentraciones de CO₂ disuelto.

Materiales y métodos

Una mezcla de microorganismos autotróficos (*Scenedesmus obliquus*) y heterótrofos (consorcio bacteriano) fue cultivado simultáneamente en dos fotobioreactores de 1,6 m² a cielo abierto de película descendente con 5 cm de profundidad en la suspensión de cultivo (Tipo Setlik *et al* 1970).

Cada cultivador contó con un sistema independiente de medición continua de la concentración de CO₂ disuelto en la suspensión de microorganismos, integrado por un electrodo selectivo de pCO₂, acoplado a un medidor de pH, previamente calibrados a diferentes concentraciones de CO₂ disuelto. La señal amplificada del electrodo de pCO₂ fue usada para activar una bomba peristáltica, la cual permitía la dosificación de la solución de glucosa al cultivo. La unidad de control de la bomba se fijó a dos valores de concentración de CO₂ disuelto (0,3 + -0,2 % CO₂) para el cultivador 1 y (1,0 + -0,3 % CO₂) para el cultivador 2. Cuando la concentración de CO₂ en la suspensión del cultivo disminuía hasta los valores mínimos fijados de (0,1 % CO₂) y (0,7 % CO₂) para el cultivador 1 y 2 respectivamente la bomba era activada y comenzaba a suministrar la solución de glucosa a los cultivadores, hasta que la concentración de CO₂ disuelto alcanzaba los valores máximos fijados de (0,5 % de CO₂) y (1,3 % CO₂) para el cultivador 1 y 2, respectivamente.

Las concentraciones iniciales de microorganismos oscilaron entre 1 y 2 g/L y el medio de cultivo estuvo compuesto por Urea - 1,2 g/L, KH₂PO₄ - 0,68 g/L, MgSO₄·7H₂O - 1 g/L y una solución de oligoelementos.

El pH de la suspensión se mantuvo entre 6,5 y 7,5 y se ajustó con H₃PO₄ o NH₄OH según correspondía, la temperatura de la suspensión se midió cada una hora y osciló entre 20 y 32 °C. La radiación solar incidente se midió a través de un piranómetro situado al lado de las unidades de cultivo y conectados a un

integrador donde se obtuvieron los valores integrados de radiación por día.

Para evaluar el comportamiento de las poblaciones de microorganismos en ambos fotobioreactores se midió al inicio y al final de cada día, la concentración de biomasa por gravimetría, la densidad óptica a 750 nm y el contenido de clorofila a y b de la biomasa midiendo la densidad óptica en extracto de metanol a 645 y 665 nm y se calculó la productividad neta total (Pnt), el rendimiento de glucosa en biomasa (Y) y la eficiencia fotosintética aparente (Efa).

$$Pnt = \frac{\Delta X \cdot V}{A \cdot t} \quad (1)$$

donde: Pnt es la productividad neta total en (g/m².d), ΔX es la variación de concentración en la suspensión del cultivo (X₂-X₁) en g/L, X₂ es la concentración de biomasa al finalizar el día en (g/L) y X₁ la concentración de biomasa al iniciar el día en (g/L), V es el volumen de la suspensión de cultivo en (l), A es el la superficie de cultivo en (m²) y t es el tiempo de residencia en día.

$$Y = \frac{\Delta X \cdot V}{St} \cdot 100 \quad (2)$$

donde: Y es la eficiencia de uso de la glucosa en (%) y St es cantidad de glucosa añadida por día en (g).

$$Efa = \frac{h \cdot Pnt}{I_o} \cdot 100 \quad (3)$$

donde: Efa es la eficiencia fotosintética aparente en (%), h calor de combustión de la biomasa (0,023 MJ/g) y I_o la radiación total incidente en (MJ/m² · d) (Oswald, W. 1988).

Las condiciones experimentales descritas en el trabajo se mantuvieron constantes en ambos cultivadores durante todo el periodo de experimentación.

Resultados y discusión

Las tablas 1 y 2 sirven de referencia para un análisis comparativo de los resultados obtenidos en los experimentos realizados con 0,3 y 1 % de CO₂ disuelto en la suspensión de cultivo. Los mejores resultados de productividad se obtuvie-

ron cuando se mantuvo una concentración de CO₂ en la suspensión de 1%. Las mayores demandas de glucosa se reportaron también para esta concentración de CO₂ disuelto, es lógico pues para mantener 1 % de CO₂ disuelto en la suspensión del cultivo, los microorganismos heterótrofos necesitan oxidar mayor cantidad de glucosa que para (0,3 % CO₂). A pesar

de que la cantidad de glucosa dosificada al cultivador 2 fue prácticamente el doble que para el cultivador 1 las productividades medias obtenidas en ambas instalaciones no difieren en más que de 10 g/m²·d. Sin embargo, los resultados más favorables de rendimiento de la glucosa se obtuvieron con 0,3 % de CO₂ disuelto.

Tabla 1
Incremento de la biomasa, productividad, eficiencia en el uso de la glucosa y glucosa total añadida y eficiencia fotosintética aparente en el cultivador 1 (0,3 + -0,2 % CO₂)

Exp No.	ΔX (g/l)	Pnt (g/m ² .d)	St (g)	Y (%)	Io (MJ/m ² .d)	Efa (%)
1	1,14	57	155	58	20,9	6,27
2	1,31	65,6	160	65	21,8	6,92
3	1,27	63,5	150	67	19,6	7,45
4	1,25	62,5	160	63	20,1	7,15
5	1,22	61	140	69	21,3	6,58
6	1,32	66	150	70	21,2	7,16
7	1,40	70	160	70	21,4	7,52
8	1,35	67,5	165	65	19,9	7,80
Promedio	1,28	64,14	155	65	20,8	7,09

Tabla 2
Incremento de la biomasa, productividad, eficiencia en el uso de la glucosa y glucosa total añadida y eficiencia fotosintética aparente en el cultivador 1 (1,0 + -0,3 % CO₂)

Exp No.	ΔX (g/l)	Pnt (g/m ² .d)	St (g)	Y (%)	Io (MJ/m ² .d)	Efa (%)
1	1,62	81	270	48	20,9	8,91
2	1,61	80	300	42	21,8	8,44
3	1,70	85	320	42	19,6	9,97
4	1,65	82	300	44	20,1	9,38
5	1,55	77,5	290	42	21,3	8,37
6	1,40	70	290	38	21,2	7,59
7	1,45	72,5	280	41	21,4	7,79
8	1,50	75	320	37	19,9	8,66
Promedio	1,56	78	296,2	41,7	20,8	8,62

Los contenidos de clorofila a y b de la biomasa inicial y final de ambos cultivadores se reflejan en la tabla 3 y 4. Se observa que en la biomasa del cultivador 2 (1,0 % CO₂) ocurrió una disminución considerable en los contenidos de clorofila a y b lo que demuestra que en estas condiciones los microorganismos heterótrofos

se desarrollaron más de lo deseado, resultados similares se pueden observar en el trabajo desarrollado por (Zayas, R. y colaboradores 1991) en el Centro de Investigaciones de Energía Solar en Santiago de Cuba donde se utilizó como fuente de materia orgánica el residual líquido porcino.

Tabla 3
Contenido de clorofila a y b en la biomasa del cultivador 1 al inicio y al final de cada día

Exp. No.	Clorofila a		Clorofila b	
	Inicio	Final	Inicio	Final
1	2,0	1,65	0,82	0,58
2	1,85	1,57	0,73	0,55
3	1,85	1,63	0,69	0,58
4	2,08	1,55	0,42	0,46
5	2,5	2,23	0,66	0,68
6	2,4	2,15	0,62	0,54
7	1,95	1,72	0,55	0,60
8	1,9	1,82	0,57	0,48
Promedio		1,79		0,56

Tabla 4
Contenido de clorofila a y b en la biomasa del cultivador 1 al inicio y al final de cada día

Exp. No.	Clorofila a (%)		Clorofila b (%)	
	Inicio	Final	Inicio	Final
1	2,02	1,55	0,77	0,55
2	1,87	1,57	0,64	0,52
3	1,64	1,45	0,64	0,47
4	1,43	1,22	0,55	0,38
5	2,40	2,00	0,78	0,68
6	2,00	1,52	0,70	0,39
7	1,56	1,28	0,38	0,27
8	1,25	1,05	0,25	0,15
Promedio		1,45		0,42

Los resultados presentados bajo este acápite permiten inferir que para altas concentraciones de CO₂ disuelto, aumentan las pérdidas de este por su difusión a la atmósfera y disminuye el contenido de algas en la biomasa final.

El sistema estudiado en este trabajo, permite controlar la concentración de CO₂ en la suspensión de cultivos mixtos de algas – bacterias, a través de la dosificación de la materia orgánica, contribuye a incrementar la eficiencia del sistema, controla el crecimiento de los microorganismos heterótrofos que a pesar de alcanzar concentraciones superiores al 30 % en (m/m) son regulados por la deficiencia de materia orgánica en algunos momentos, pero no es capaz de resolver las inevitables pérdidas de dióxido de carbono por su difusión a la atmósfera

El sistema puede ser aplicado con éxito en cultivos mixtos en residuales de alta carga orgánica, empleados no solo para el tratamiento de dichos residuales, sino que la biomasa obtenida rica en vitaminas y proteínas puede sustituir hasta el 10 % de la base proteica en piensos de cerdos en ceba y sustituir la base vitamínica de los piensos para animales de corral con gran efectividad (Abalde J. y colaboradores 1995). En la actualidad se emplean con éxito estos sistemas de cultivo con el propósito de obtener una biomasa rica en lípidos que pueden ser convertidos en biodiesel (Chisti Y. 2007).

Conclusiones

1. Si se controla la concentración de CO₂ disuelto entre valores (1+-0,2 %) en la suspensión de cultivo mixto del *Scenedesmus obliquus* y un consorcio de bacterias regulando la adición de materia orgánica (glucosa) se alcanzan productividades de 78 g/m².d como promedio y la eficiencia de uso de la glucosa se reduce a 41,7 % como promedio.

2. Si se controla la concentración de CO₂ disuelto entre valores (0,3+-0,2 %) en la suspensión de cultivo mixto del *Scenedesmus obliquus* y un consorcio de bacterias regulando la adición de materia orgánica (glucosa) se alcanzan productividades de 64,14 g/m².d como promedio y el la eficiencia de uso de la glucosa aumenta a 65 % como promedio.
3. Si se emplean las concentraciones de CO₂ más altas en el medio de cultivo el contenido de Clorofila a y b en la biomasa disminuye con respecto aquella que se obtiene a concentraciones más bajas de CO₂, lo que indica que la relación autótrofos heterótrofos disminuye en el primer caso y el incremento de productividad se debe al aumento indebido de los microorganismos heterótrofos que afectan la calida de la biomasa final.
4. Se ha desarrollado un sistema de suministro de materia orgánica que permite elevar la eficiencia de utilización de la materia orgánica en cultivos mixtos y permite el control automático de la dosificación de materia orgánica.

Bibliografía

1. Abalde J., Cid A., Fidalg P., Torrez E.y Herrero C. (1995): Microalgas. Cultivo y Aplicaciones. Laboratorio de microbiología. Departamento de Biología Celular y Molecular. Facultad de Ciencias. Universidad de la Coruña.
2. Chisti Y.: (2007): Research review paper Biodiesel from microalgae. Available online at www.sciencedirect.com.
3. Oswald W. (1988): Micro-algae and waste-water treatment. *Microalgal Biotechnology, borowitzka and borowitzka* (eds). Cambridge University Press, UK, pp. 305-328.
4. Setlík I., Sust V., Málek I. (1970) : Dual Purpose pen Circulation Units for Large scale Culture of algae in temperate Zones. *Algol. Studies /Trebou/ 1* : 111-164.
5. Zayas R., Bermúdez R. y Armas E. (1991): Caracterización química y como medio de cultivo de microalgas del residual porcino del brujo. Informe final de Resultado. Centro de investigaciones de Energía Solar. Santiago de Cuba.