

EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE *OSCILLATORIA* SP EN FOTOBIORREACTORES TUBULARES

Luis G. Ramirez-Mérida^{1,3}, Andressa Ribas Barreto², Maria Angélica Oliveira³

1 Centro de Biotecnología Aplicada, Departamento de Biología, Universidad de Carabobo, Av. Universidad, 2002, Valencia, Carabobo, Venezuela.

2 Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos, CEP 97105-900 – Santa Maria, RS, Brasil..

3 Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Av. Roraima 1000, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

RESUMEN

El uso de microalgas para solventar problemas ambientales, se presenta como una alternativa sustentable. El metabolismo autotrófico que presenta es de gran importancia para la disminución de CO₂ atmosférico, el cual es un gas involucrado en el efecto invernadero. El objetivo fue evaluar el crecimiento de *Oscillatoria* sp en cultivo autótrofo con diferentes intensidades de iluminación en un fotobiorreactor tubular. Se utilizó un fotobiorreactor de la columna de burbujas con aireación constante 1 VVM (volumen de aire por volumen de medio por minuto), concentración de 3% CO₂, concentración inicial de inóculo 100 mg/L, 25C°, e intensidad de iluminación en el rango 7,5-16 klux. Los resultados indican que la productividad máximo de biomasa fue de 20,84 mg/L.h, una tasa de fijación de carbono de 38,64 mg/L.h, en intensidad luminosa de 16 klux.

Palabras claves: Biotecnología, Fotobiorreactor, Microalgas.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe una gran preocupación mundial con el cambio climático debido principalmente al aumento de los niveles de dióxido de carbono (CO₂) en la atmósfera. CO₂ es considerado uno de los principales gases del efecto invernadero. Emisiones antropogénicas de CO₂ por la quema de combustible fósil, especialmente a partir de la combustión de carbón, son responsables del cambio climático. Las emisiones de CO₂ han sido estudiadas y monitoreadas en las últimas décadas, y los aumentos acelerados de sus niveles han llamado la atención de organizaciones internacionales (Song, 2006).

En función de la necesidad de reducir la pegada de carbono, se han investigado y desarrollado tecnologías alternativas que pueden mitigar este problema, además de acuerdos internacionales como el establecido en el año de 1997 en la Naciones Unidas donde se estableció el Protocolo de Kioto con la idea de reducir en 5,2% los gases de efecto invernadero con base en las emisiones de 1990 (United Nations, 1998).

Estos acuerdos, junto con el aumento de la demanda en el desarrollo de procesos sostenibles han impulsado el desarrollo de nuevas rutas tecnológicas para integrar la economía, el medio ambiente y la sociedad. Un proceso que ha experimentado un gran desarrollo, fue la biotransformación de contaminantes por microalgas, que puede producir productos de valor comercial como, por ejemplo, biomasa, aceite y proteína unicelular, carbohidratos, sales inorgánicas y compuestos orgánicos volátiles, que son importantes en alimentos, medio ambiente, productos farmacéuticos, industrias químicas, entre otros. En general, estos productos se obtienen a través del cultivo de microalgas en reactores específicos. El metabolismo fotosintético de estos microorganismos convierte los compuestos contaminantes en los productos de interés (Ramírez et al., 2013).

Por lo tanto, el uso de cultivos autotróficos en fotobiorreactores tubulares para la conversión fotosintética de gases residuales industriales, es una ventaja desde el punto de vista biológico. Por todo esto, el objetivo de la investigación fue utilizar cepas de *Oscillatoria* sp en un fotobiorreactor tubular con diferentes intensidades de luz para evaluar el consumo de CO₂.

MATERIALES E MÉTODOS

Se utilizó la cianobacteria *Oscillatoria* sp cedida por el Centro de Biotecnología Aplicada de la Universidad de Carabobo. El cultivo madre se mantuvo en medio de agar BG11, pH 7,6, 25 °C, intensidad de la luz 1 klux y fotoperiodo de 12:12 h.

El fotobiorreactor operó en sistema de alimentación por lotes usando 1L de medio BG11 como volumen de trabajo final, complementándose con concentraciones de 3% de CO₂ con aireación continua de 1 vvm (volumen de aire por volumen de medio de cultivo por minuto). Las condiciones de operación utilizadas fueron: concentración celular inicial de 100 mg/L, reactor isotérmico que operó en rango de 25±1 °C e intensidades luminosas en el rango de 8 a 16 klux. Se evaluó la dinámica de pH, concentración de células y la tasa de fijación de CO₂ en la biomasa, todo fue monitoreado cada 12 h durante 156 h de tiempo de residencia celular. Las pruebas se realizaron por duplicado y los datos cinéticos fueron basados en el promedio de cuatro repeticiones.

La concentración de la biomasa celular se determinó por gravimetría utilizando filtros con diámetro de 0,45µ (Millex FG, Billerica, MA, EE.UU.) se secó a 60 °C durante 24 h (± 10% de precisión). La intensidad de luz se midió con un medidor de lux digital (MLM Minipa

1010). La temperatura fue controlada mediante un termostato y medida con termómetro. La dinámica de pH fue controlada con un potenciómetro digital.

Los datos de la concentración celular obtenidos fueron usados para cuantificar la máxima velocidad específica de crecimiento celular [$\ln \frac{X}{X_0} = \mu_{max} \cdot t$, h^{-1}] y la productividad celular [$P_X = (X_i - X_{i-1})(t_i - t_{i-1})$, mg/L.h]. El balance parcial de carbono se llevó a cabo mediante la estimación de la masa de carbono en forma de biomasa biofijada [$mC_0 - mC - rC = \frac{dC}{dt}$, g].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se muestra la relación del crecimiento celular y dinámica de pH en base al tiempo, se puede notar un comportamiento típico de crecimiento celular. Se percibe una corta fase de adaptación de aproximadamente 12 h, esto es característico en medios de cultivo con concentraciones altas de carbono y nutrientes inorgánicos. Todos los cultivos alcanzan una fase estacionaria a partir de las 90-100 h. Resultados similares fueron mostrados por Hsueh et al., (2007) obteniendo tasas de crecimiento positivas en los tiempos de residencia inferiores a 120 h para *Nannochloopsis oculata*. Un comportamiento parecido se evidencia en la dinámica de pH, esta es una variación típica del pH cuando ocurre un crecimiento adecuado del pH en cultivos fotosintéticamente activos.

En la tabla 1 se muestra que a 16 klux se registra una máxima concentración y productividad celular, mostrando para el análisis de varianza (ANOVA) diferencia significativas ($p < 0,05$) con respecto a las demás intensidades luminosas. El máximo crecimiento celular, μ_{max} , fue parecido a los valores reportados por Hsueh et al., (2007) y Sakai et al., (1995) para cepas de algas nativas y *Chlorella* sp respectivamente, siendo estas cultivadas a temperaturas mayores. Esta velocidad de crecimiento muestra la capacidad de la cepa *Oscillatoria* sp de tolerar estas concentraciones de CO_2 .

En la figura 2, se evidencia que a medida que aumenta la intensidad luminosa, aumenta la concentración celular de biomasa y velocidad de consumo de CO_2 , estos datos concuerdan por lo reportado por Liu et al., (2014) ellos evaluaron la fijación de carbono inorgánico disuelto por cepas de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus obliquus* sp., con cinco diferentes intensidades de iluminación bajo ciclos de 12:12h luz-oscuridad, obteniendo porcentajes por encima del 60% en remoción de carbono con optimas intensidades de iluminación. Esto evidencia la necesidad de sistemas de iluminación adecuados que ayuden a generar un proceso fotosintético capaz de aumentar el volumen de células, que a su vez necesitan carbono como parte de su nutriente en el metabolismo autotrófico. La influencia de los ciclos e intensidad de iluminación, ha sido reportado como un factor determinante en la actividad fotosintética y en los valores concernientes al crecimiento celular en fotobiorreactores (Janssen et al., 2000; Janssen et al., 2001). De acuerdo con estos autores, la luz puede actuar como un sustrato limitante en el sistema, viéndose afectado por interferencia en la intensidad luminosa producto de la configuración, la agitación y la mezcla en el reactor. Además, la concentración de células es otro parámetro que determina la disponibilidad de la luz en fotobiorreactores. Como resultado del sombreado mutuo que producen altas densidades de células; la intensidad de la luz dentro del reactor llega a ser también una función de la concentración de biomasa.

Tabla 1. Parámetros cinéticos para *Oscillatoria* sp en función de la intensidad de iluminación

Intensidad de iluminación (klux)	Tiempo de residencia (h)	Concentración máxima (mg/L)	μ_{max} (h^{-1})	P_x max (mg/L.h)	r_c max (mg/L.h)
7,5	156	390 ^a	0,017	2,43	7,61
10,5	156	570 ^b	0,018	9,19	20,21
12	156	390 ^a	0,019	10,02	22,36
13	156	730 ^{cbd}	0,019	12,21	24,31
16	156	1070 ^d	0,020	20,84	38,64

Figura 1. Curva de comportamiento de concentración y pH de *Oscillatoria* sp en intensidades de iluminación variables.

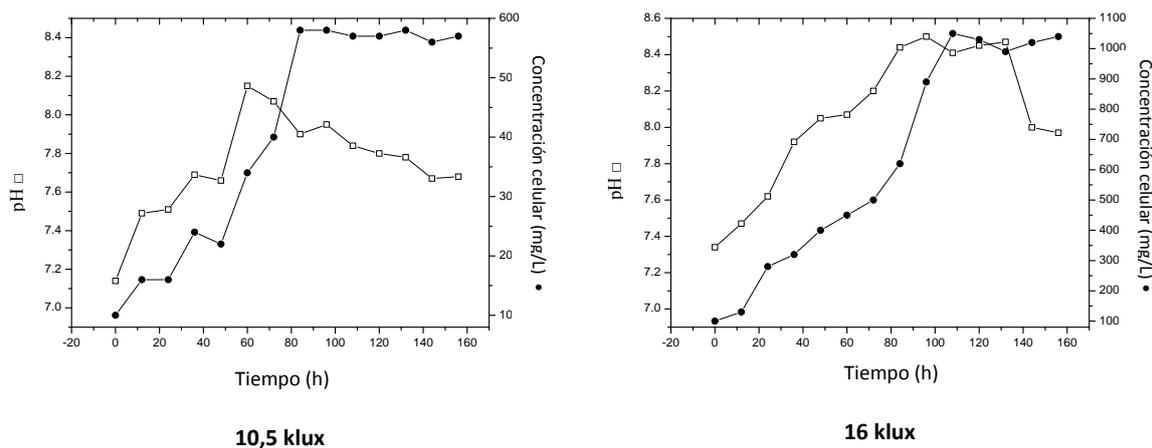
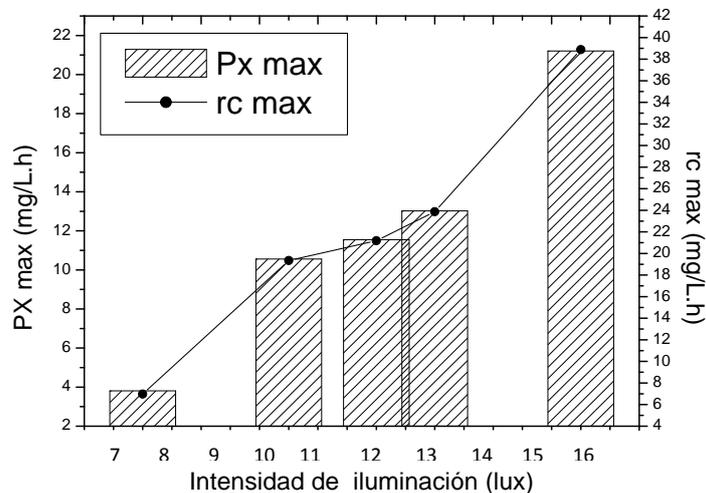


Figura 1. Productividad máxima de generación y velocidad de fijación de carbono en la biomasa en función de la intensidad de iluminación



CONCLUSIÓN

Las células expuestas a intensidades luminosas adecuadas, generaran mayores rendimientos en términos de productividad de biomasa y remoción de dióxido de carbono. Una apropiada condición de luz genera una mayor concentración de biomasa microalgal, lo que implica mayores tasas de fotosíntesis, aumentando la demanda de fuente de carbono y otros nutrientes. Esto permite la fijación de carbono de diversas fuentes de desbastes, así como sus beneficios para mitigar las emisiones de CO₂ y ofrecer bioproductos de cepas como *Oscillatoria sp*

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

Hsueh H.T., Chu H., Yu S.T. A batch study on the bio-fixation of carbon dioxide in the absorbed solution from a chemical wet scrubber by hot springs and marine algae, *Chemosphere* 66 (2007) 878–886.

Janssen M, Winter M, Tramper J, Mur L.R., Snel , Wijffels R.H. Efficiency of light utilization of *Chlamydomonas reinhardtii* under medium-duration light:dark cycles, *J. Biotechnol.* 78 (2000) 123–137.

Janssen M, Slenders P, Winter M, Tramper J, Mur L.R., Wijffels R.H. Photosynthetic efficiency of *Dunaliella tertiolecta* under short light/dark cycles, *Enzyme Microb. Technol.* 29 (2001) 298–305.

Ramírez-Mérida L., Zepka Q.L., Jacob-Lopes E. Fotobiorreactor: herramienta para cultivo de cianobacterias. *Ciencia y Tecnología* 2013; 6(2):9-19

Song C. Global challenges and strategies for control, conversion and utilization of CO₂ for sustainable development involving energy, catalysis, adsorption and chemical processing. *Catalysis Today*, Vol.115 (1–4), pp 2-32, June 2006.

United Nations, “Kyoto Protocol to the United Nations Framework Convention on Climate Change”, 1998. [Online] Available from: <http://unfccc.int/resource/docs/convkp/kpeng.pdf>. [Acesso: March. 28, 2014.

Sakai N, Sakamoto Y, Kishimoto N, Chihara M, Karube I. *Chlorella* strains from hot springs tolerant to high-temperature and high CO₂. *Energy Convers Manage* 1995;36:693–6.

Jacob-Lopes, E., Lacerda, L.M.C.F., Franco, T.T. Biomass production and carbon dioxide fixation by *Aphanothece microscopica Nägeli* in a bubble column photobioreactor. *Biochemical Engineering Journal* 2008; 40:27-34.

Liu G, Qiao L, Zhang H, Zhao D, Su X. The effects of illumination factors on the growth and HCO₃⁻ fixation of microalgae in an experiment culture system. *Energy*, In Press, Corrected Proof, Available online 11 June 2014.