

Evaluación de sistema experimental para el cultivo intensivo de macroalgas marinas.

Experimental system assessment for intensive seaweeds culture.

Autores: Agustín García Rodríguez¹; Juan Pedro Hernández Touset¹; Yadriel Fernández Avilés¹; Angel Moreira González²

¹Dpto. de Ingeniería Química, Facultad de Química y Farmacia, UCLV, Cuba

²Centro de Estudios Ambientales de Cienfuegos (CEAC), Cuba

Resumen

En el presente trabajo se muestra la concepción de un sistema experimental de laboratorio para el cultivo de macroalgas de la especie *Ulva lactuca* Linnaeus.

El estudio experimental constituye la etapa inicial de un proyecto para la reducción de las emisiones industriales de Dióxido de Carbono mediante su captura en sistemas de cultivo intensivo de macroalgas marinas. El sistema de biorreacción consiste en un recipiente de cultivo de algas con alimentación continua de agua de mar y nutrientes. Se realiza la evaluación del sistema a través de la determinación del rendimiento de biomasa algal y el comportamiento del sistema de biorreacción, basado en los consumos de nutrientes. Se determinan las principales variables de diseño del biorreactor, tales como la constante de reacción y el tiempo espacial. A partir de los resultados obtenidos se realiza el escalado para un sistema piloto de cultivo de macroalgas.

Palabras claves: macroalgas marinas, cultivo, biorreactor, *Ulva*

Abstract

This paper shows the design of an experimental laboratory for the cultivation of macroalgae *Ulva lactuca* Linnaeus.

The experimental study is the initial stage of a project for reducing industrial emissions of Carbon Dioxide by capturing in seaweeds intensive culture systems. The bioreaction system comprises a culture tank with continuous feeding of sea water, air and nutrients. System assessment is performed by determining the algal biomass yield and bioreactor system behavior, based on the consumption of nutrients. From the results a scale up for a pilot scale culture of seaweeds is performed.

Keywords: seaweeds, macroalgae, culture, bioreactor, *Ulva*

Introducción

Una de las opciones que permiten aprovechar de forma más beneficiosa el Dióxido de Carbono (CO₂) emitido como desecho de las industrias es su utilización como materia prima de otros productos que impidan su expulsión a la atmósfera. Las algas son grandes consumidoras de CO₂ en el proceso metabólico característico de las plantas y que son como ellas reguladores naturales de este gas es nuestro sistema ecológico. Por tanto, un ecosistema favorable con alto contenido de este gas disponible, constituye una zona que estudiada y controlada se puede transformar en un área para la instalación de sistemas de biorreactores en ambiente natural para el cultivo controlado de especies de macroalgas, compatibles con las características marinas de la zona. Por tanto, el desarrollo de un proceso intensivo de cultivo de las mismas para obtener de forma económicamente viable las cantidades necesarias para su industrialización posterior, requiere de zonas marinas y métodos de cultivo de algas efectivos que permitan producir a bajo costo las grandes cantidades que el desarrollo de la industria a partir de esta materia prima requiere.

Las investigaciones para la obtención de biocombustibles desde las algas no son nuevas. Según Gao y McKinley (3) las macroalgas tienen una mayor productividad que las plantas terrestres, y no compiten con ellas por el terreno; además debemos considerar que las algas se pueden cultivar en zonas marinas o en tierra obteniéndose varias cosechas al año, por tanto se puede afirmar que prometen ser la alternativa ambiental y económicamente más factibles que las otras para la sustitución de los combustibles fósiles (7).

Por otro lado, las algas tienen un bajo contenido de celulosa, lo que los convierte en un material adecuado para la degradación biológica (4). Asimismo, las algas producen naturalmente aceite; alternativamente otras especies de algas que producen más carbohidratos y menos aceite, pueden ser procesados y fermentados para producir etanol. El cultivo de algas marinas se realiza mediante métodos extensivos (mar abierto) y métodos intensivos que constituyen sistemas bajo condiciones más controlables ubicados en tierra. En estos últimos, el objetivo es mantener un flujo igual o mayor de 25 l/m²h, garantizar exposición periódica a la luz,

prevenir la estratificación térmica, minimizar la capa difusiva para la transferencia de nutrientes y transferir gases (2).

El cultivo en tanque es el sistema más comúnmente utilizado para la producción de macroalgas en tierra. Demostrada la posibilidad de crecer macroalgas flotando libremente en tanques, según Bidwell et al. (1), citado por Robledo (8), una de las consideraciones prácticas básicas es la de utilizar algas que puedan crecer vegetativamente de pequeños fragmentos, apunta Norton & Mathieson (6), citado por Robledo (8). Al cultivar las algas flotando, además de eliminar el uso de sustratos de fijación, se evita depender de la reproducción sexual y/o asexual para obtener el inóculo, y tanto la siembra como la cosecha son más fáciles y susceptibles de mecanizar.

Kaladharan (5) reporta un crecimiento de un 18 % sobre el sistema de control en un cultivo de macroalga *Ulva* spp. en un medio artificial de agua de mar, compuesto por sal de mar, cloruro de calcio y bicarbonato de sodio. El pH se ajusta al agua de mar natural con Hidróxido de Sodio (NaOH).

Las mayores producciones en sistemas intensivos, se han obtenidos en tanque con agitación vigorosa. Con agitación se pretende conseguir un efecto hidrodinámico que evite fenómenos de auto sombreado, aumentando el tiempo de exposición a la luz/oscuridad; elimine la capa limitante de difusión para favorecer el intercambio de gases y nutrientes y homogenice el medio, eliminando gradientes de pH, temperatura y concentración de nutrientes.

El sistema experimental a escala de laboratorio constituye la fase inicial de un proyecto de investigación para reducción de las emisiones industriales de CO₂ mediante el cultivo intensivo de algas como fuente de biomasa; cuyo objetivo es utilizar el CO₂ residual de una fábrica de Urea en una región cercana a la costa de la bahía de Cienfuegos para el cultivo intensivo del alga *Ulva lactuca* Linnaeus, abundante en el litoral costero al sur del macizo montañoso Guamuaya, la cual constituye una fuente potencial de biomasa para la obtención de productos químicos, bioquímicos y naturales de alto valor agregado.

1. Materiales y métodos

El cultivo del alga *U. lactuca*, más conocida como Lechuga de Mar, se extrae de su ambiente natural (Bahía de Cienfuegos) para realizar los estudios de

laboratorios; estos se realizan en un bioreactor de tipo Reactor Continuo con Agitación (RCCA), el cual se mantiene con un flujo de aire y agua de mar constante con un ciclo de renovación; donde al agua de mar procedente de la bahía se le añade un medio de cultivo (nutrientes), con el objetivo de lograr un mayor rendimiento de las algas en un menor período de tiempo. El alga se cultiva flotando en el agua de mar, recibiendo la iluminación proveniente de la luz solar.

El objetivo principal es evaluar las condiciones de cultivo del alga para realizar un escalado inicial del sistema. El estudio incluye la determinación del rendimiento de biomasa, los consumos de nutrientes, la producción de Oxígeno Disuelto (OD) en un período determinado y la regulación y control del flujo de agua y aire.

En la preparación de la muestra, se realiza una inspección directa visual, donde se le retiran algunas plantas y sólidos adheridos. Luego se lava con agua de mar quedando lo

más limpia posible y lista para su cultivo.

El medio de cultivo para macroalgas marinas (Von Stoch) contiene en cada litro de agua 42,50 mg de $\text{NO}_3 \text{Na}$; 10,75 mg de $\text{PO}_4 \text{HNa}_2$; 12 H_2O ; 278,00 μg de $\text{Fe} (\text{SO}_4)_2 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$; 19,80 μg de $\text{Cl}_2 \text{Mn} 4\text{H}_2\text{O}$; 3,72mg de EDTA - NO_2 ;

2 H_2O , 0,2 mg de Tiamina HCL; 1,00

μg de Biotina y 1,00 μg de B_{12} (Cianocalamina)

2.Resultados y discusión

Diseño, montaje y operación del sistema experimental a escala de laboratorio.

El bioreactor de forma rectangular tiene un volumen total de 6 litros, al cual se le conectan tres tuberías: una para la corriente de alimentación de aire, otra para el agua y la tercera para la extracción. La extracción esta ubicada al lado contrario del flujo de alimentación para que el agua recorra todo el sistema antes de salir. El agua de mar es renovada en cada 12 horas, similar al ciclo natural de llenado

de la bahía. Se utilizan dos tanques (A y B), en el tanque A se establece el llenado cada 30 h como máximo, teniendo una capacidad de 20 litros que alimenta al tanque B.

El tanque B se cierra herméticamente con el objetivo de mantener el volumen constante, logrando la succión mediante el vacío, alimentando al birreactor mediante una tubería de goma donde se controla el flujo a través de una válvula de presión. Se utiliza un minicompresor que inyecta aire con un flujo constante y constituye el medio de agitación al sistema.

Todo el sistema funciona a gravedad, es por ello que en la extracción se necesita poner otra válvula de presión para controlar el flujo de salida, colocándose un recolector de muestra al final de la tubería. El sistema experimental se muestra en la figura 1.

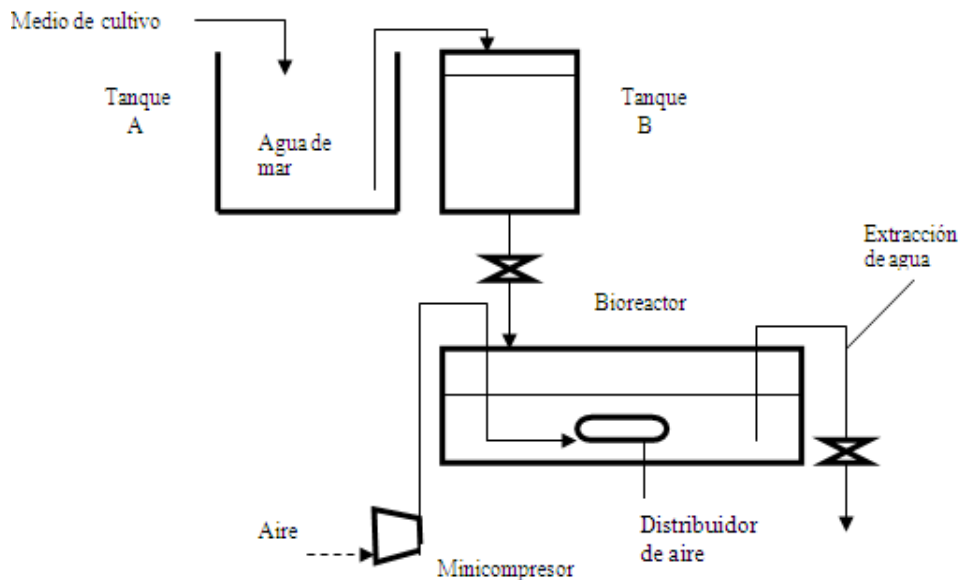


Figura 1. Sistema experimental para el cultivo intensivo de algas.

Utilizando el método de tanteo y error se determina el flujo mediante una probeta y un medidor de tiempo. Es necesario mantener un flujo de 0,5 L/h ó 8,333 mL/min para la renovación de 6 litros en un período de tiempo de 12 horas. Para esto se utiliza la expresión del tiempo espacial (τ), que relaciona el volumen (V) y el flujo volumétrico (v_0) mediante el cociente (V/v_0).

Para la determinación del rendimiento húmedo (R)

de la *U. lactuca* en el período de 5 días se determinó el peso inicial (48,31g) y final (76,33g) de la muestra; su diferencia es un rendimiento de 28,02g ó

5,6 g/d.

El peso de la biomasa algal secada al sol es de 19,519 g y por tanto se obtiene un contenido de 56,811 g de H₂O, representando un contenido de 74,4 % de agua.

Se determina el peso seco de la biomasa húmeda secada al sol, mediante el secado de una muestra a temperatura constante de 60 °C, la diferencia entre el peso húmedo y seco es de 0,839 g de H₂O, representando un 43,74 % de humedad y por tanto 56,26% de biomasa seca; por consiguiente, del peso húmedo de la biomasa secada al sol (19,519 g), se obtienen 10,98 g de materia seca, que representa el 14,38 % de materia seca. De un rendimiento húmedo de 5,6 g/d se obtiene un rendimiento seco de 0,81 g/ d que significa una velocidad de crecimiento de 0,034 g/h.

2. Determinación de la cinética de reacción para una reacción de primer orden

La conversión de la biomasa (X_{nf}) se determina mediante la expresión 1.

$$X_{nf} = \frac{(CR_0 - CR_f)}{CR_0} \quad (1)$$

Por tanto:

$$= \frac{(-48,31 \cdot 0,1438 + 76,33 \cdot 0,1438)}{48,31 \cdot 0,1438} =$$

0,59

..... τ) de agua de mar de 60 litros utilizados en el experimento y un flujo de 0,499 l/h se obtiene un tiempo espacial (τ) de 120 min. Aplicando la ecuación de diseño de un reactor mezcla perfecta, considerando una reacción de primer orden, según la expresión 2, se

..... k) tiene

$$\tau = \frac{CR_0(X_{n_f} - X_{n_0})}{kCR_0(1 - X_{n_f})} \quad (2)$$

La evaluación del comportamiento del sistema de biorreacción, se realizó mediante los ensayos químico - físicos, en los cuales se ha determinado la concentración de nitratos, nitritos fosfato inorgánico disuelto y del Oxígeno disuelto, en el tanque de

alimentación, en el interior del birreactor y en la corriente de salida. Se determinó Fosfato inorgánico disuelto (P-PO₄⁻³) por Espectrofotometría por formación del complejo fosfomolibdato, en Espectrofotómetro SELECTA UV-2005; Nitritos (N-NO₂) por Espectrofotometría por formación del complejo diazo de color rojo; Nitratos (N-NO₃) por Espectrofotometría por reducción con hidracina y posterior formación del complejo diazo de color rojo, todos en un Espectrofotómetro SELECTA UV-2005. Se determinó además el Oxígeno disuelto por el método Winkler (por volumetría).

En la tabla 1 se muestran los resultados experimentales de la evaluación del sistema de biorreacción.

Tabla 1. Resultados experimentales del sistema de biorreacción.

Parámetros	Muestras/d	1	2	3	4	5
Conc. tanque alim. (mg/L)	N-NO ₃ ⁻	0,584	0,483	0,473	0,486	0,466
Conc. salida Biorreactor (mg/L)		0,426	0,443	0,42	0,4	0,38
Conc. biorreactor (mg/L)		0,426				
Conversión (%)		27,05	8,28	11,20	17,69	18,45
k (h ⁻¹)		0,03	0,008	0,01	0,01	0,018
Conc. tanque alim. (mg/L)	N-NO ₂ ⁻	0,106	0,08	0,062	0,0623	0,071
Conc. salida Biorreactor (mg/L)		0,005	0,0052	0,00502	0,0046	0,00361
Conc. biorreactor (mg/L)		0,005				
Conversión (%)		95,28	93,5	92,41	92,61	94,91
k (h ⁻¹)		1,68	1,198	1,01	1,04	1,55
Conc. tanque alim. (mg/L)	PO ₄ ⁻³	14,54	12,36	12,56	11,3	9,9
Conc. salida Biorreactor (mg/L)		11,4	9,37	8	6,46	5,1
Conc. biorreactor (mg/L)		11,4				
Conversión (%)		21,59	24,19	36,30	42,83	48,48
k (h ⁻¹)		0,02	0,02	0,0475	0,06	0,07
Conc. tanque alim. (mg/L)	OD	6,3	6,2	6,2	6,23	6,2
Conc. salida Biorreactor (mg/L)		6,2	6,35	6,47	6,8	7
Conc. biorreactor (mg/L)		6,2				
% generación		-1,61	2,36	4,17	8,38	11,42

Las tablas 2 y 3 muestran el comportamiento de la concentración de oxígeno disuelto (OD) y de los nitratos, respectivamente; en el tanque de agua de mar y en la corriente de salida del biorreactor.

Tabla 2. Concentración de Oxígeno disuelto.

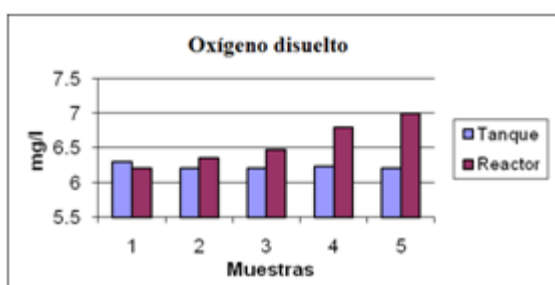
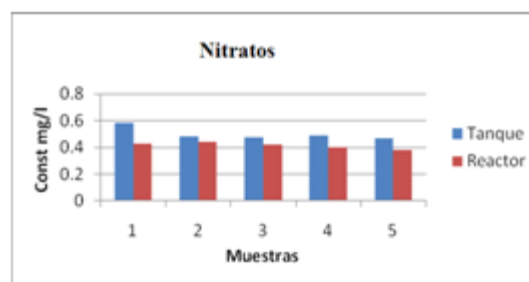


Tabla 3. Concentración de nitratos.



Como se observa en la tabla 1, los valores de concentración de los iones de las sustancias en el biorreactor y en la salida del biorreactor son iguales, esto demuestra que el biorreactor trabaja a condiciones finales, por ello se toma como medida de ahorro de reactivos, solo realizar muestras a la salida de biorreactor.

La variación de los iones nitrato ($N-NO_3^-$) demuestra el comportamiento adecuado del biorreactor, obsérvese como la conversión de este fluctúa en un rango entre (8 -18 %}. Este comportamiento es similar en los nitritos ($N-NO_2^-$) donde mantiene en un rango de (92 - 95%) y en el fosfato (PO_4^{-3}) se observa un consumo más intenso debido al crecimiento.

Como era de esperar existe un incremento neto en el biorreactor, producto evidentemente a la reacción de fotosíntesis que ocurre en el reactor. Obsérvese que en este caso el % de generación de Oxígeno se incrementa en correspondencia al crecimiento de la biomasa.

Se observa un incremento de la constante cinética en cada una de las muestras obteniéndose un comportamiento similar al de crecimiento de la biomasa.

3. Diseño de un biorreactor para el cultivo de macroalgas marinas a escala piloto.

Para el escalado del sistema de biorreacción se define una capacidad de producción de 1 kg/d de biomasa seca a escala piloto. A escala de laboratorio se determinó un 14,38 % de biomasa seca; por tanto, para producir 1000 g/d de materia seca, se necesita 6954,1 g de materia húmeda. En 5 días se obtienen 34770 g de biomasa húmeda.

La biomasa húmeda inicial según expresión 1 es 21 868g.

Manteniendo el tiempo espacial (τ), la constante reacción (k) y la altura del biorreactor iguales a los de escala de laboratorio, se definen los parámetros de diseño y operación de sistema de biorreacción a escala piloto, el cual se muestra en la tabla 4.

Conclusiones

1. Es factible la selección de la especie de macroalga marina *Ulva lactuca Linnaeus* para el cultivo intensivo, atendiendo a sus altos rendimientos y abundancia en el litoral sur del macizo montañoso Guamuaya.
2. Se demuestra que el biorreactor opera en correspondencia con un modelo de mezcla perfecta atendiendo a que opera a condiciones finales.
3. El comportamiento del sistema de biorreacción es adecuado, ya que los consumos de nutrientes están en correspondencia con el crecimiento de la biomasa.
4. La estrategia experimental aporta información para evaluar las condiciones de operación y para definir los principales parámetros de diseño del biorreactor tales como la constante cinética y el tiempo espacial.
5. El sistema experimental piloto para el cultivo intensivo de macroalgas requiere de un área de 13,21 m², un flujo de aire de 5, 4 m³/h y un flujo de 5 m³/h de agua de mar.

Parámetros	Sistema experimental de laboratorio	Sistema experimental piloto
Volumen total (m ³)	0,0158	1,53
Volumen efectivo (m ³)	0,006	1
Altura (m)	0,20	0,20
Ancho (m)	0,2	2,57
Largo (m)	0,40	5,15
Nivel de liquido (m)	0,0758	0,0758
Altura de sobrediseño (m)	0.04	0.04
Flujo de aire (m ³ /h)	0,0216	5,4
Flujo de agua de mar (m ³ /h)	0,0005	5
Constante cinética (h ⁻¹)	0,0119	0,0119
Tiempo espacial (h)	2	2

Tabla 4. Parámetros de diseño y operación.

Bibliografía

- 1) Bidwell, R.G.S; J. McLachlan; N.D.H.,Lloyd: "Tank cultivation of Irish moss, *Chondrus crispus* Stackh", Bot. Mar 28, pp. 87-97, 1985
- 2) Doug, E.: "Marine Macroalgae Aquaculture", Soliv International, 2009
<http://www.pacaqua.org/Documents/MarineMacroalgaeCulture.pdf>
- 3) Gao, K. & K. McKinley: "Use of macroalgae for marine biomass production and CO2 remediation: a review", Journal of Applied Phycology 6(1): 45-60, 1993
- 4) Horn, S., I. Aasen; K. Østgaard: "Ethanol production from seaweed extract", Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology 25(5), pp. 249-254, 2000
- 5) Kaladharan, P.: "Artificial Seawater for Seaweed Culture", Indian J. Fish, 47(3), pp. 257- 259, Jul - Aug, 2000. http://eprints.cmfri.org.in/143/1/Article_17.pdf
- 6) Norton J. A; A.L. Mathieson (1983): "The biology of unattached seaweeds", Progress in Phyco-logical research. Vol. 2, Elsevier, Amsterdam, pp. 333-387, 1983
- 7) Reith, J.; E. Deurwaarder; K. Hermes; P. Kamermans; W. Brandenburg & G. Zeeman: "Bio-Offshore. Grootschalige teelt van zeevieren in combinatie met offshore windparken in de Noordzee", ECN Biomassa, A.P.W.M. Curvers, ECN Windenergie, WUR - Nederlands Instituut voor Visserijonderzoek / RIVO, Plant Research International, Lettinga Associates Foundation, Holanda, 137 p. <http://www.ecn.nl/docs/library/report/2005/c05008.pdf>
- 8) Robledo, R.; D.: "Cultivo, adaptación morfológica y Fisiopatología de macroalgas marinas de interés industrial", Tesis de Doctorado, 1993. <http://www.tesisde.com/t/cultivo-adaptacion-morfologica-y-fisiopa/1666/>