



BIOGAS EN EL CULTIVO DE MICROALGAS: POTENCIAL COMO FUENTE DE DIÓXIDO DE CARBONO EN FOTOBIORREACTORES

Martín Caballero Espinosa¹, Eduardo Uribe², Tania Atencio³, Rubén D. Collantes G.⁴ y Javier Pittí Caballero⁵

¹Instituto de Innovación Agropecuaria de Panamá. Correo electrónico: maxel797@hotmail.com 

²Universidad Católica del Norte, Chile. Correo electrónico: euribe@ucn.cl 

³Ministerio de Educación, Panamá. Correo electrónico: tania_atencio@yahoo.com 

⁴Instituto de Innovación Agropecuaria de Panamá. Correo electrónico: rdcg31@hotmail.com 

⁵Instituto de Innovación Agropecuaria de Panamá. Correo electrónico: pittjavier28@hotmail.com 

RESUMEN

La masificación del cultivo microalgas en fotobiorreactores requiere de altos volúmenes de dióxido de carbono (CO₂), para ser capturado en biomasa de microalgas; y que, aportados por medio de sales químicas, encarecen la producción. Este alto suministro de CO₂ al cultivo de microalgas, puede ser aportado por el biogás, debido a su alto porcentaje de CO₂ y metano (CH₄); que liberados a la atmósfera son gases de efecto invernadero. En este estudio, el biogás se utilizó combustionado para el cultivo de la microalga *Nannochloropsis oculata*, como fuente alterna de CO₂. Esto, con la finalidad de controlar el pH en el cultivo de microalga y aportar carbono. Para ello, se almacenó biogás combustionado y se diluyó a concentraciones de 0,5% y 1,1% de CO₂, junto con un testigo de CO₂ atmosférico. Los datos se analizaron mediante una prueba T de Student, a un α de 0,05. Según los resultados, se encontró diferencias significativas en el pH, en donde el equilibrio óptimo en la interfaz gas-líquido para *N. oculata*, se obtuvo a una disolución de 0,5% de CO₂, manteniendo un pH de 7,79. En conclusión, el biogás brinda una alternativa económica y ambientalmente viable, para la producción masiva de microalgas en fotobiorreactores.

PALABRAS CLAVES

Dióxido de carbono, fotobiorreactor, metano, microalga, pH.

BIOGAS IN MICROALGAE CULTURE: POTENTIAL SOURCE OF CARBON DIOXIDE IN PHOTOBIOREACTORS

ABSTRACT

The massification of microalgae culture in photobioreactors requires high volumes of carbon dioxide (CO₂), to be captured in microalgae biomass; but the use of chemical salts makes production more expensive. This high supply of CO₂ to the microalgae culture can be provided by biogas, due to its high percentage of CO₂ and methane (CH₄); both of them, liberated to the atmosphere, are greenhouse gases. In this study, biogas was used in combustion for the cultivation of the microalgae *Nannochloropsis oculata*, as an alternative source of CO₂. This, in order to control the pH in the microalgae culture and to contribute carbon. For this, combusted biogas was stored and diluted to concentrations at 0.5% and 1.1% of CO₂; with atmospheric CO₂ as control. The data were analyzed using Student's t test, at an α of 0.05. According to the results, significant differences were found in pH, where the optimal balance in the gas-liquid interface for *N. oculata* was obtained at a solution of 0.5% of CO₂, maintaining a pH of 7.79. In conclusion, biogas provides an economically and environmentally viable alternative for the mass production of microalgae in photobioreactors.

KEYWORDS

Carbon dioxide, photobioreactor, methane, microalgae, pH.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de microalgas, es una actividad que ofrece beneficios, como la producción de biomasa en fotobiorreactores y la fitorremediación de aguas residuales. Según Hernández-Pérez y Labbé (2014), esto adquiere importancia, debido a los problemas ambientales existentes, como los gases de efecto invernadero, dióxido de carbono (CO₂) y metano (CH₄). Este último, de acuerdo con Hernández (2010), posee mayor potencial de calentamiento global, 21 veces mayor que el CO₂.

Por otro lado, la agroindustria genera gran cantidad de desechos orgánicos biodegradables; ante lo cual, una posible alternativa de solución integral para el tratamiento de los mismos, es el uso de biodigestores. Estos sistemas brindan beneficios, como: fertilizantes orgánicos sólidos y líquidos para uso agrícola; efluentes con nutrientes para el crecimiento de biomasa algal; condiciones sanitarias y ecológicas de mejor calidad; biogás como energía renovable; entre otros subproductos (Varnero, 2011).

Para aprovechar este biogás en el cultivo de microalgas, el CH₄ es sometido a combustión y todo el CO₂ generado en este procedimiento,

puede ser incorporado en la fotosíntesis de las microalgas en fotobiorreactores. Este modelo ha sido ampliamente abordado por investigadores como Doucha *et al.*, (2005); Papazi *et al.*, (2008) y Chiu *et al.*, (2009), validando el uso de diferentes fuentes y concentraciones de CO₂, para incorporar al sistema productivo de microalgas. Según Guillermo (2014), el costo de inyección de CO₂ químico representó el 75 % de los costos totales de nutrientes en un fotobiorreactor plano.

Esto adquiere vital importancia, dado que todos los sistemas con fotobiorreactores requieren control del pH, debido a una elevación de pH en rangos mayores de 10 y aporte de carbono, debido a una alta concentración celular, entre 25 x 10⁶ y 150 x 10⁶ células por ml; equivalente a 0,10 g hasta 0,60 g de materia seca por litro (Wu *et al.*, 2001; Guillermo, 2014).

Los cultivos en altas densidades provocan el decrecimiento del carbono inorgánico disuelto, generando una tasa de consumo que supera la tasa de disolución de CO₂ atmosférico; lo cual limita el crecimiento algal. Debido a ello, es necesario suministrar CO₂, inyectándolo directamente en el medio de cultivo (Yamasaki y Yamaoka, 2001).

Según Chiu *et al.*, (2009), después de utilizar diferentes porcentajes de CO₂ en *Nannochloropsis oculata*, recomendó el uso de 2 % CO₂, para el balance de gas óptimo en la interface gas-líquido; de acuerdo al crecimiento y componentes nutricionales en la microalga. Por otro lado, ingresar CO₂ gaseoso en el sistema, permite mantener niveles óptimos de pH, cercanos al del agua de mar (8,00 – 8,30); con lo cual, se mantiene activo el transporte de nutrientes, disminuyendo la sensibilidad de la Rubisco por el oxígeno generado en la fotosíntesis, derivando todo ello en una mayor eficiencia productiva (Birmingham *et al.*, 1982; Gladrow y Riebesell, 1997; Huertas *et al.*, 2000; Kromkamp y Peen, 2004; Kustka *et al.*, 2005; Milligan *et al.*, 2009).

El carbono es el nutriente más importante para las microalgas y el más costoso, en sistemas masivos utilizando sales químicas; el segundo de mayor importancia es el nitrógeno, incorporado como nitrato (NO₃⁻) o como amonio (NH₄⁺), según Hernández-Pérez y Labbé (2014). Por lo expuesto, el presente trabajo tuvo por objetivo evaluar la utilización de biogás combustionado, como fuente de CO₂ para el cultivo de la microalga *N. oculata* para un fotobiorreactor.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepa

Se utilizó la microalga *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd (Eustigmatales: Monodopsidaceae); cepa proveniente del Laboratorio de Fitoplancton de la Estación de Maricultura del Pacífico (EMP) (8°52'28.59"N, 79°40'15.62"W), ubicado en Vacamonte, Distrito de Arraiján, Provincia de Panamá Oeste – Panamá (Figura 1).

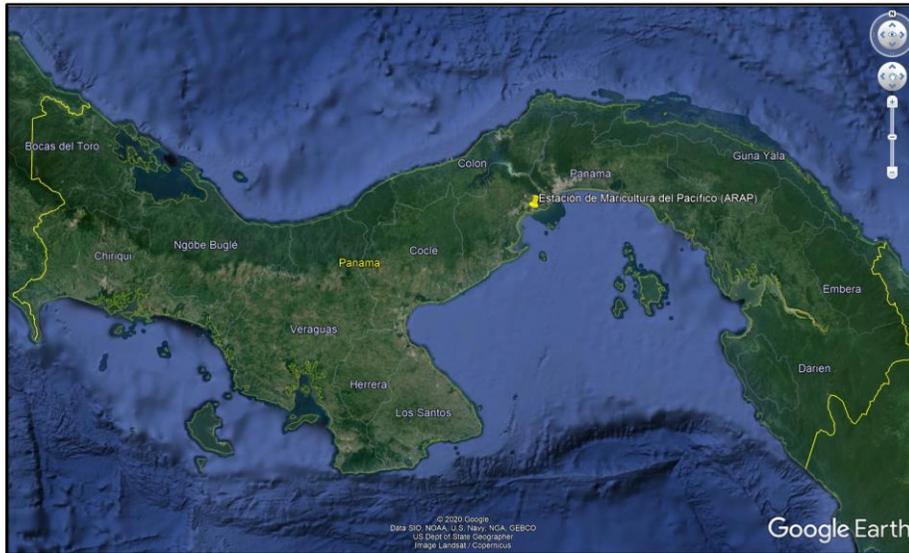


Figura 1. Localidad de estudio. Fuente: Google Earth (2021).

La fertilización empleada para las 12 réplicas de microalgas llevadas en 2,5 litros, es el F/2 de Guillard modificado, (Composición final por litro: 75 mg NaNO_3 , 5,00 mg $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 4,36 mg EDTA, 3,15 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,0098 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,0220 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,0100 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,1800 mg $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,0060 mg $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,0010 mg cianocobalamina cristalina (B12), 0,02 mg tiamina clorhídrica (B1), 0,001 mg biotina cristalina).

Condiciones de Cultivo

La condición base para las seis réplicas de los dos tratamientos y las seis réplicas control fue: todos con aireación, más la inyección a partir del segundo día de aire atmosférico no enriquecido y enriquecido con CO_2 del biogás combustionado, con un tamaño promedio de burbujas de 1 mm.

Se suministró una aireación constante de aire atmosférico con CO₂ a todas las réplicas y tratamientos del ensayo. Esto se realizó, para generar las corrientes ascendentes y descendentes dentro del cultivo y que todas las células de microalgas pudiesen estar expuestas a la zona fótica a lo largo del tiempo de cultivo. A estas 12 réplicas se les mantuvo una aireación de 4,7 l/minuto por réplica, en burbujas con un diámetro promedio de 1 cm.

Los cultivos se mantuvieron a una salinidad de 35 psu (ppt) y una temperatura de 22 ± 1 °C, por cuatro días; debido a la limitante capacidad de almacenaje del CO₂ capturado. Los parámetros, como oxígeno disuelto en mg/l y temperatura en grados centígrados, se midieron con un oxigenómetro YSI modelo 550 A, pH medido con el potenciómetro DENVER modelo UB 10, salinidad medida en psu a través de un refractómetro Marca VITAL SINE modelo SR-6. Estos parámetros se midieron diariamente para conocer la evolución en el cultivo.

La iluminación fue artificial, con una irradianza promedio de 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ suministrada por focos de luz día (6500 Kelvin) de 40 watts, y la medición se hizo a través de un cuantómetro Marca LICOR Modelo LI-250A y sensor en aire Marca LICOR modelo LI-190SA. El fotoperiodo del estudio fue de 24 horas de luz, el promedio de irradiancia lumínica en la superficie se midió una vez, considerando que es constante a través del tiempo.

Recolecta y Análisis del Biogás Combustionado

Obtención del Biogás

El biogás provino de un biodigestor de flujo continuo y se almacenó en una bolsa plástica de polietileno, con 137 cm de ancho, 191 cm de largo y 22 cm de profundidad. Esta bolsa contuvo 0,57 m³ de biogás, trasladado seguidamente al laboratorio de la EMP.

Análisis del Biogás

Con los analizadores de gases Marca BACHARACH modelo Fyrite Tech 60 y Marca ECOM modelo ECOM AC PLUS, serie No. 8834, se realizó el primer análisis del biogás, para determinar las concentraciones de dióxido de carbono producido naturalmente por la biodigestión anaeróbica; y la presencia menor de gases como oxígeno, ácido

sulfhídrico y monóxido de carbono. Los demás gases (trazas), presentes en el biogás, fueron estimados por el monitoreo del biodigestor de flujo continuo.

Combustión del Biogás

El biogás almacenado en la bolsa de polietileno, fue combustionado a través de un mechero de Bunsen modificado, para proporcionar una adecuada combustión. Los gases generados por la combustión se acumularon en una campana metálica a presión atmosférica, para luego ser succionados por un compresor Marca CAMPBELL HAUSFELD DK757501AV 2/08 y almacenados en un cilindro de hierro con capacidad de 13 galones, a una presión de 150 libras por pulgada cuadrada (psi) y una temperatura de 25 ± 1 °C.

Dilución y Análisis del Biogás Combustionado.

Una vez almacenado el biogás combustionado, se procedió a realizar la dilución del CO₂ con la inyección de aire atmosférico por el compresor Marca CAMPBELL HAUSFELD DK757501AV 2/08, hasta llegar a las concentraciones de 1,1 % y 0,5 % de CO₂; esta concentración de CO₂ se midió con el analizador de gases Marca BACHARACH modelo Fyrite Tech 60. Dicho proceso se repitió al término del primer tratamiento.

El analizador de gas Marca QUEST modelo AQ5000, serie No. 0212; proporcionó la concentración de monóxido de carbono y dióxido de carbono gaseoso presente en la muestra de gas. La concentración de óxido de azufre y óxido de nitrógeno se analizó mediante el equipo Marca ECOM modelo ECOM AC PLUS, serie No. 8834. Estos equipos fueron contratados a través de una empresa, para que realizara las calibraciones y análisis de los gases antes mencionados.

Determinación de las Concentraciones de Dióxido de Carbono en Biogás Combustionado y Monitoreo del pH

Se realizaron cultivos previos al 10 % de CO₂ químico, para determinar la evolución del pH y su tasa de crecimiento específica. Se mantuvo un flujo de 13,6 mililitros / minuto de aire enriquecido con CO₂ químico a sus tres réplicas. Esta calibración fue necesaria, para determinar la eficiencia en la transferencia de gases del sistema de cultivo, de acuerdo al tiempo de residencia de la burbuja de gas en el cultivo, temperatura, presión y tamaño de la burbuja.

El tratamiento de 1,1 % de CO₂, se mantuvo a un flujo de 13,6 mililitros / minuto de aire enriquecido con CO₂ del biogás combustionado a sus tres réplicas y su control de tres réplicas con CO₂ del aire atmosférico al mismo flujo.

El tratamiento de 0,5 % de CO₂, se mantuvo a un flujo de 20 mililitros / minuto de aire enriquecido con CO₂ del biogás combustionado a sus tres réplicas y su control de tres réplicas con CO₂ del aire atmosférico al mismo flujo.

La evolución del pH fue monitoreada una vez por día para ser graficada, y determinar cómo esta cambia de acuerdo con las fuentes de CO₂ utilizadas. El pH se midió con el potenciómetro Marca DENVER modelo UB 10. Estas lecturas se realizaron a las 10:00 a.m., durante todo el experimento.

Monitoreo de la Tasa de Crecimiento

Los conteos celulares se realizaron una vez por día, a las 10:00 a.m., para los tratamientos de 1,1% y 0,5 % de dióxido de carbono y su control. Los dos tratamientos y sus controles tuvieron tres replicas, cada uno, realizando un total de conteos de 12 réplicas.

La densidad celular (células/ml) se estimó, utilizando una cámara de Neubauer marca REICHERT, microscopio óptico marca LEICA modelo DME, contador manual y aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Número (No), de células por mililitro} = \frac{\text{No. células contadas} \times 10^4}{\text{No. de cuadros contados}}$$

La tasa de crecimiento específica se determinó, mediante la ecuación de Ono y Cuello (2003):

$$\mu = \frac{\ln (X_2 - X_1)}{\Delta t}$$

Donde X₂, corresponde al conteo final del cultivo; X₁, corresponde al conteo inicial del cultivo; Δt, corresponde a la diferencia de tiempo en días.

Ley de Henry y Graham Combinadas

El análisis en la interface líquido-gas, se realizó a través de la Ley de Henry y Graham combinadas. Se determinó la velocidad de difusión de CO₂ con respecto al oxígeno atmosférico, para demostrar teóricamente la posible acidez de la capa límite de las burbujas con dióxido de carbono enriquecido. Esto se realizó a través de la siguiente fórmula:

$$\text{CO}_2/\text{O}_2 = \frac{(\text{Coef. Solub. CO}_2) (\text{rc PMG O}_2)}{(\text{Coef. Solub. O}_2) (\text{rc PMG CO}_2)}$$

Donde Coef. Solub., es el coeficiente de solubilidad, medido en mg/L; rc PMG, es la raíz cuadrada del peso molecular en gramos.

Análisis Estadístico

Una vez obtenidas las curvas de pH en los controles con CO₂ atmosférico y tratamientos con gas combustionado al 1,1% y 0,5% de CO₂; se analizó las pendientes para determinar si existen diferencias significativas (α 0,05) a través de una prueba t de Student. Estas curvas de pH fueron analizadas con el programa Microsoft Excel.

La figura 2, ilustra la metodología desarrollada de manera resumida.

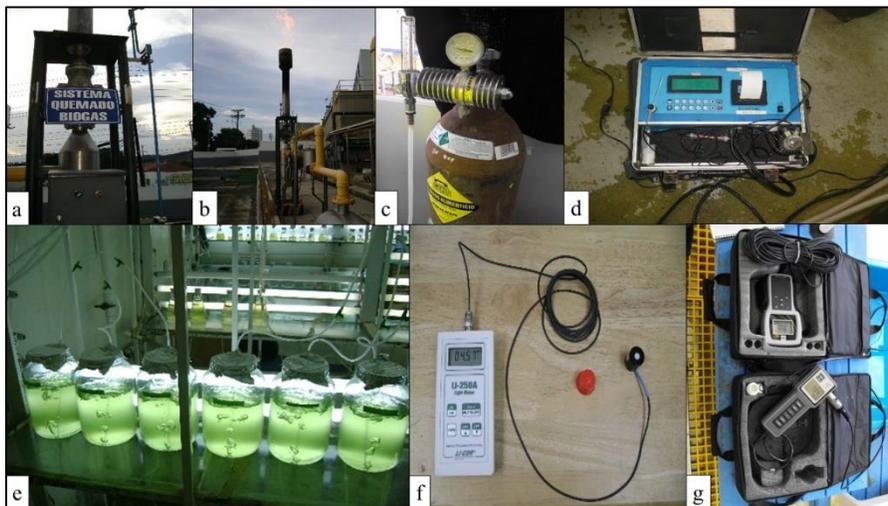


Figura 2. Metodología desarrollada: a) Sistema de quemado de biogás; b) Flama; c) Almacenaje de biogás; d) Medidor de gas combustionado; e) Cultivo de *N. oculata*; f) Cuantómetro; g) Medidor de pH.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación Cualitativa y Cuantitativa del Biogás Combustionado

En el Cuadro 1, se describen los componentes presentes en 1,2 m³ del biogás antes de combustionar. El metano fue el principal componente de esta mezcla de gases, encontrándose en una concentración de 68,53%, por lo cual, su combustión es de gran importancia al momento de ser utilizado como fuente de dióxido de carbono.

Cuadro 1. Composición del biogás sin combustionar.

Composición del biogás sin combustionar		
Metano (CH ₄)	68,53	%
Dióxido de carbono (CO ₂)	29,52	%
Propano (C ₃ H ₈)	0,95	%
Ácido Sulfhídrico (H ₂ S)	0,50	%

La composición de los gases en el biogás combustionado, se presenta en los cuadros 2 y 3. La composición del biogás combustionado va a depender de la eficiencia de la combustión, captura en el ambiente y los componentes presentes antes de combustionar.

Cuadro 2. Masa de dióxido de carbono en 1 Mol de biogás combustionado al 1,1 % de CO₂

Composición del Biogás Combustionado al 1,1 % de Dióxido de Carbono			Peso Molecular	1 Mol de Biogás Combustionado	
Nombre	Concentración		g	g	
CO ₂	1,10	%	44	0,48	
O ₂	19,70	%	32	6,30	
N ₂	79,13	%	28	22,16	
H ₂ S	-----	%	33	-----	
CO	606,00	ppm	38	0,0230	
NO	2,10	ppm	30	0,0001	
NO ₂	2,30	ppm	46	0,0001	
SO ₂	60,00	ppm	64	0,0038	
Totales			100	28,97	

*Dióxido de Carbono (CO₂), Oxígeno (O₂), Nitrógeno (N₂), Ácido Sulfhídrico (H₂S), Monóxido de Carbono (CO), Óxido Nitroso (NO), Dióxido de Nitrógeno (NO₂), Dióxido de Azufre (SO₂)

Cuadro 3. Masa de dióxido de carbono en 1 Mol de biogás combustionado al 0,5% de CO₂

* Dióxido de Carbono (CO₂), Oxígeno (O₂), Nitrógeno (N₂), Ácido Sulfhídrico (H₂S), Monóxido de Carbono (CO), Óxido Nitroso (NO), Dióxido de Nitrógeno (NO₂),

Composición del Biogás Combustionado al 0,5% de Dióxido de Carbono				Peso Molecular	1 Mol de Biogás Combustionado
Nombre	Concentración	%		g	G
CO ₂	0,50	%	0,50	44	0,22
O ₂	20,50	%	20,50	32	6,56
N ₂	78,97	%	78,97	28	22,11
H ₂ S	-----	%	-----	33	-----
CO	297,00	ppm	0,02970	38	0,0113
NO	1,00	ppm	0,00010	30	0,0000
NO ₂	1,00	ppm	0,00010	46	0,0000
SO ₂	35,00	ppm	0,00350	64	0,0022
Totales			100		28,90

Dióxido de Azufre (SO₂)

Cuadro 4. Masa de dióxido de carbono en 1 Mol de aire atmosférico

Composición del Aire Atmosférico al 0,038 % de Dióxido de Carbono				Peso Molecular	1 Mol de Aire Atmosférico
Nombre	Concentración	%		g	g
CO ₂	0,038	%	0,04	44	0,02
O ₂	21,40	%	21,40	32	6,85
N ₂	78,56	%	78,56	28	22,00
H ₂ S	-----	%	-----	33	-----
CO	0,00	ppm	0,00000	38	0,0000
NO	0,00	ppm	0,00000	30	0,0000
NO ₂	0,00	ppm	0,00000	46	0,0000
SO ₂	0,00	ppm	0,00000	64	0,0000
Totales			100		28,86

* Dióxido de Carbono (CO₂), Oxígeno (O₂), Nitrógeno (N₂), Ácido Sulfhídrico (H₂S), Monóxido de Carbono (CO), Óxido Nitroso (NO), Dióxido de Nitrógeno (NO₂), Dióxido de Azufre (SO₂)

En el cuadro 2, se puede observar que, en un mol de biogás combustionado al 1,1% de CO₂, contiene 0,48 gramos de dióxido de carbono. La masa total en gramos utilizada para mantener el pH óptimo en este ensayo fue de 1,56 gramos de dióxido de carbono, lo cual representa 0,422 gramos de carbono, el aporte de carbono proveniente del monóxido de carbono se considera trazas al disolverse en el agua.

En el cuadro 3 se observa que, en un mol de biogás combustionado al 0,5% de CO₂, se contienen 0,22 gramos de dióxido de carbono. La masa total en gramos utilizada para mantener el pH óptimo en este tratamiento

fue de 1,04 gramos de dióxido de carbono, lo cual representa un total de 0,280 gramos de carbono; y el aporte de carbono proveniente del monóxido de carbono es considerado trazas al disolverse en el agua.

En el cuadro 4, se observa que, en un mol de aire atmosférico, se contienen 0,02 gramos de dióxido de carbono. Para calcular la masa en gramos de dióxido de carbono es necesario conocer el volumen promedio total utilizado para cada réplica, siendo estos 78,64 litros de aire atmosférico para el ensayo de 1,1% de dióxido de carbono y 118,40 litros de aire atmosférico para el ensayo de 0,5% de dióxido de carbono. Se considera que un mol de este aire atmosférico a una temperatura promedio de 25 ± 1 °C y presión de 1 atmosfera ocupa 24,5 litros, por lo cual 78,64 y 118,40 litros equivalen a 3,20 y 4,83 moles, respectivamente. La masa total en gramos de CO₂ utilizada como control para mantener el pH óptimo en los tratamientos de 1,1% y 0,5% de dióxido de carbono fue de 0,064 y 0,096 gramos de dióxido de carbono, lo cual representa 0,017 y 0,027 gramos de carbono, respectivamente.

Determinación de las concentraciones adecuadas de dióxido de carbono en el biogás combustionado, para Mantener el pH óptimo en el cultivo de *Nannochloropsis oculata*

Las concentraciones adecuadas de dióxido de carbono se determinaron a través de dióxido de carbono químico al 10%, monitoreando las tasas de crecimiento y potencial de hidrógeno de este cultivo. En la figura 3, se puede observar una caída de las tasas de crecimiento al segundo día con valores de $0,10 \pm 0,145$ d⁻¹ y un pH mínimo de 5,5, el cual pudo originar la mortalidad de microalgas (Figura 4).

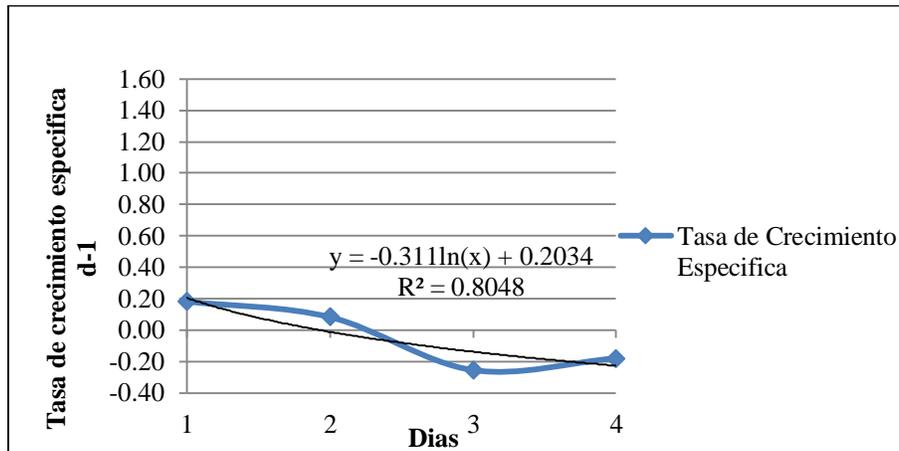


Figura 3. Tasa específica de crecimiento del cultivo de *Nannochloropsis oculata* al 10% de CO₂ químico

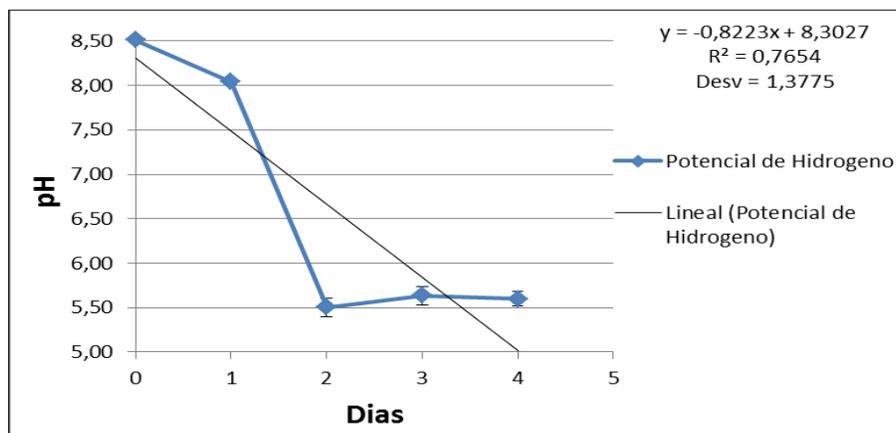


Figura 4. Control en el potencial de hidrógeno en el cultivo de *N. oculata* al 10% de CO₂ químico.

A continuación, se procedió a realizar las diluciones sucesivas de dióxido de carbono hasta llegar a las concentraciones de 1,1% y 0,5%, concentraciones adecuadas de dióxido de carbono para mantener el pH óptimo del cultivo de microalgas.

Tasas de crecimiento y pH, en los cultivos de *Nannochloropsis oculata*, utilizando CO₂ de biogás combustionado y atmosférico

En las figuras 5 y 6, se muestra la tasa específica de crecimiento y la evolución del pH, en el tratamiento correspondiente a 1,1% de dióxido

de carbono. Las tasas de crecimiento de estos ensayos fueron observadas hasta el cuarto día, lo cual corrobora, que se dieron las condiciones necesarias para la división celular.

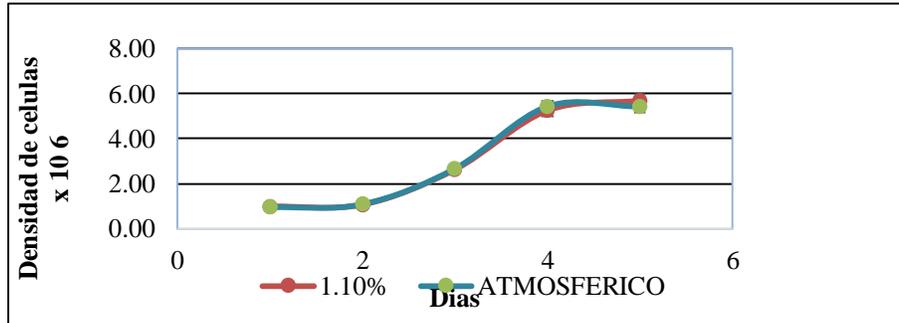


Figura 5. Tasa de crecimiento del cultivo de *Nannochloropsis oculata* al 1,1% de CO₂ proveniente del biogás combustionado y atmosférico

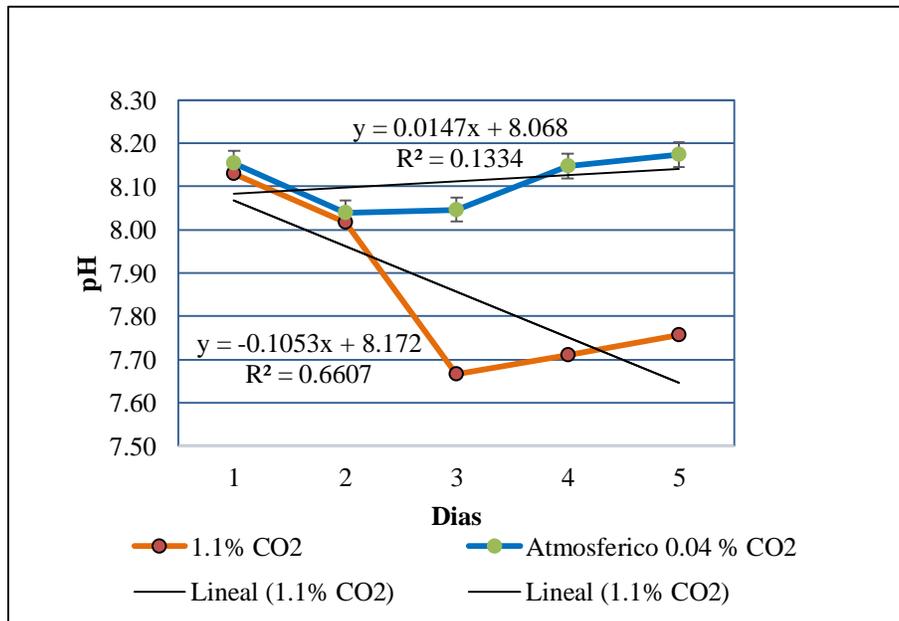


Figura 6. Control del pH en el cultivo de *N. oculata* al 1,1 % de CO₂ proveniente del biogás combustionado y atmosférico.

Cuadro 5. Análisis de Varianza Tratamiento al 1,1 % de CO₂

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Proba-bilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.59252	5	0.118504	4.6411	0.0041	2.6206
Dentro de los grupos	0.6128	24	0.02553333			
Total	1.20532	29				

En estos ensayos se puede observar, en el cuadro 5, que hubo diferencias significativas en el potencial de hidrogeno a α 0,05 entre tratamiento y control; con la inyección de dióxido de carbono extra al medio de cultivo. En la figura 6, se muestra el control del tratamiento correspondiente a 1,1 % de dióxido de carbono y atmosférico.

La inyección de dióxido de carbono atmosférico no controló el pH óptimo del cultivo, comparado con la inyección de biogás combustionado (figura 4).

El promedio de la tasa de crecimiento fue similar para el atmosférico y el tratamiento al 1,1% de CO₂. La evolución del potencial de hidrógeno en el tratamiento, al 1,1% de dióxido de carbono, muestra una gran fluctuación en los rangos de pH para un mismo día. Sin embargo, estas fluctuaciones no sobrepasaron los rangos óptimos de pH para el cultivo de la *Nannochloropsis oculata*. Los ensayos controles mostraron una mejor estabilidad en las fluctuaciones del pH para un mismo día, pero sin un control en los rangos de pH óptimos para el cultivo.

En la figura 7, se observa la tasa de crecimiento con un leve incremento en la productividad utilizando CO₂ de fuente combustionada al 0,5% de CO₂ proveniente del biogás combustionado, comparado con la inyección del dióxido de carbono atmosférico; sin embargo, esta no genera diferencias significativas a α 0,05 entre tratamiento y control.

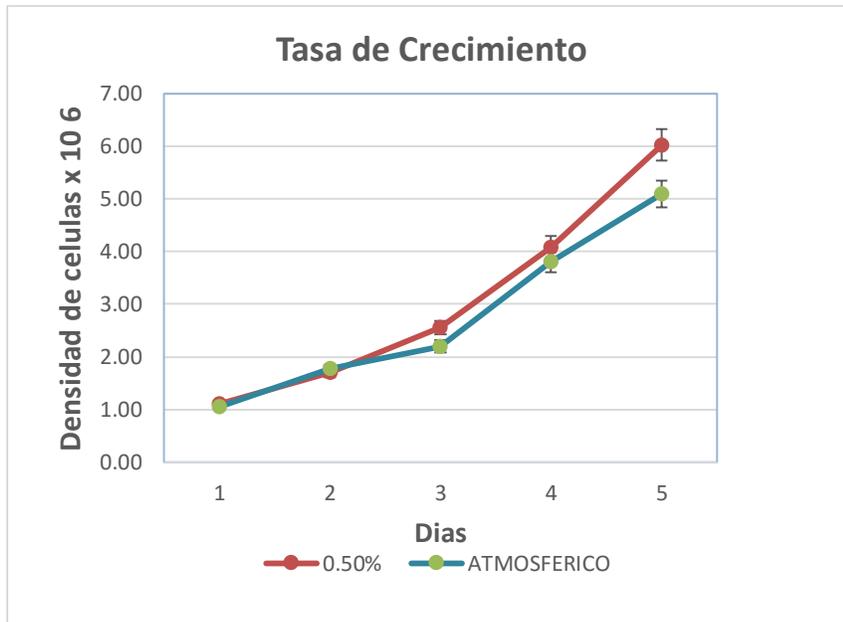


Figura 7. Tasa de crecimiento del cultivo de *Nannochloropsis oculata*

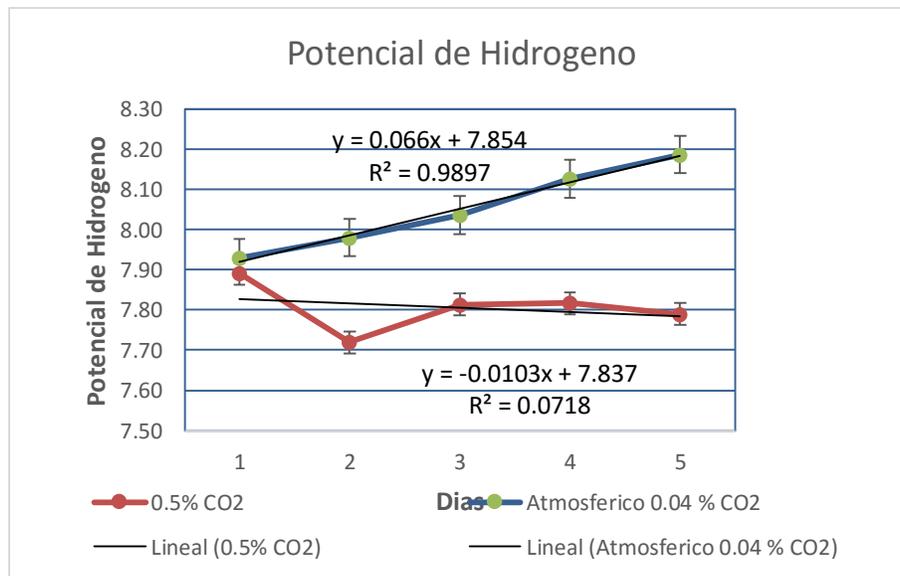


Figura 8. Control del pH en el cultivo de *N. oculata* al 0,5% de CO₂ proveniente del biogás combustionado y atmosférico.

Cuadro 6. Análisis de Varianza Tratamiento al 0,5 % de CO₂

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Proba- bilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.47135	5	0.0942	11.86	7.48E-06	2.6206
Dentro de los grupos	0.19072	24	0.0079			
Total	0.66207	29				

En estos ensayos se puede observar, en el cuadro 6, que hubo diferencias significativas en el potencial de hidrogeno a α 0,05 entre tratamiento y control; con la inyección de dióxido de carbono extra al medio de cultivo. En la figura 8, se muestra el control del tratamiento correspondiente a 0,5% de dióxido de carbono. La inyección de dióxido de carbono atmosférico no controló el pH óptimo del cultivo, comparado con la inyección de biogás combustionado.

La evolución del potencial de hidrógeno en el tratamiento a 0,5% de dióxido de carbono muestra una leve fluctuación en los rangos de pH para un mismo día. La inyección de dióxido de carbono atmosférico no mostró un control del potencial de hidrógeno. En este tratamiento se demuestra la insuficiencia de dióxido de carbono en la atmósfera, y es por ello, que se deben evaluar alternativas que incrementen la concentración de gas en sistemas más eficientes de actividad fotosintética, ya que en estos sistemas el incremento de pH es mucho mayor.

Cuadro 7. Comparación de solubilidad en medio líquido del CO₂ y O₂, de acuerdo al porcentaje presente en gas de inyección.

a. Máxima Solubilidad del CO₂ de disolverse el CO₂ inyectado

	Coefficiente de solubilidad mg/L. mmHg	Presión Parcial mmHg	Solubilidad mg/L
Control	1,89	0,28	0,53
Tratamiento 0,5 %	1,89	3,68	6,95
Tratamiento 1,1 %	1,89	8,10	15,31

b. Máxima Solubilidad del O₂ de disolverse el O₂ inyectado

	Coefficiente de solubilidad mg/L. mmHg	Presión Parcial mmHg	Solubilidad mg/L
Control	0,045	157,55	7,09
Tratamiento 0,5 %	0,045	150,93	6,79
Tratamiento 1,1 %	0,045	145,04	6,53

Se observa en el cuadro 7, que la solubilidad total del dióxido de carbono se incrementa a medida que se aumentan las concentraciones de dióxido de carbono en la mezcla de gases; encontrando un equilibrio aproximado en el tratamiento de 0,5% de CO₂ (6,95 mg CO₂ / 6,79 mg O₂) y una mayor solubilidad del dióxido de carbono en el tratamiento de 1,1 % de CO₂ (15,31 mg CO₂ / 6,53 mg O₂).

Velocidad de Difusión para el Dióxido de Carbono y Oxígeno en el Agua de Mar a 35 psu y 22 °C.

Ley de Henry y Graham Combinadas

Las velocidades de difusión del CO₂ y O₂ pueden compararse por las

fórmulas siguientes:

CO_2 = Coeficiente de solubilidad del CO_2 / rc PMG CO_2

O_2 = Coeficiente de solubilidad del O_2 / rc PMG O_2

Coeficientes del dióxido de carbono y oxígeno para las diferentes mezclas de gases; a una temperatura de 22°C y una salinidad de 35 ppt:

Coeficiente de solubilidad del dióxido de carbono: 1,89

Coeficiente de solubilidad del oxígeno: 0,045

$CO_2/O_2 = (\text{Coef.Solub.}CO_2) (\text{rcPMGO}_2) / (\text{Coef.solub. } O_2) (\text{rcPMGCO}_2)$

$CO_2/O_2 = 1,89 \times 5,66 / 0,045 \times 6,63$

$CO_2/O_2 = \frac{10,70}{0,298}$

$CO_2/O_2 = 35,90$

La velocidad de difusión del dióxido de carbono puro es 35,90 más rápido que el oxígeno, a 22°C y una salinidad de 35 ppt.

La velocidad de difusión del dióxido de carbono a una concentración de CO_2 1,1 % es 2.34 más rápido que el oxígeno, a 22°C y una salinidad de 35 ppt.

La velocidad de difusión del dióxido de carbono a una concentración de CO_2 0,5 % es 1,02 más rápido que el oxígeno, a 22°C y una salinidad de 35 ppt.

DISCUCION

La productividad y disolución del dióxido de carbono, puede variar dependiendo de los diseños de la geometría de los fotobiorreactores; los cuales aprovechan mejor la luz y la profundidad de inyección. Por ello, se genera mayor captura del dióxido de carbono inyectado. Papazi *et al.* (2008), realizaron ensayos con la inyección de aire atmosférico enriquecido, a concentraciones de dióxido de carbono del 2% en cepas de *Nannochloropsis sp.* Estos cultivos mostraron un incremento en la productividad de 150%.

Igualmente, los datos obtenidos por Chiu *et al.* (2009), reportan un incremento de 34 % de la productividad al 2 % CO₂, comparado con la inyección de dióxido de carbono atmosférico. A la vez, registraron una inhibición del crecimiento de microalgas en las concentraciones de dióxido de carbono de 5%, 10% y 15%; con registros de pH 7,7, 7,3 y 7,0 respectivamente.

Esta información se enfoca en un punto importante de este experimento, relacionado principalmente con la caída de pH en la interfase gas – líquido del cultivo, ya que los pH de 7,0 hasta 7,7 que se registran en el medio de cultivo se consideran neutros; sin embargo, debido a la alta velocidad de difusión del dióxido de carbono, este origina una dinámica diferente de pH en la interfase gas – líquido, afectando las reacciones químicas que ocurren en la superficie celular dependientes de las condiciones físico – químicas inmediatamente adyacente a la membrana celular, dentro de la capa límite de difusión definidas por la ley de fick (Milligan *et al.*, 2009).

A pesar de que no es posible medir el pH en la interfase en la burbuja, con los equipos convencionales, la aplicación de la fórmula de Henry y Graham combinadas, permite conocer las reacciones más rápidas que podrían ocurrir al difundirse el dióxido de carbono más rápido que el oxígeno; ya que estos dos gases son los que representan la fracción más soluble en el agua.

La rápida difusión del dióxido de carbono con respecto al oxígeno, determinada en esta investigación para 1,1 % de CO₂, fue de 2,34 y 1,02 para 0,5 % de CO₂. Valores más altos de CO₂ favorece una formación mayor de ácido carbónico, pudiendo llegar hasta un límite de pH 4,5; el cual, puede originar un pH ácido en la interfase de todas las burbujas que se encuentran en el cultivo. Esta inhibición por acidez, tiende a generar más daño en microalgas, debido a su tamaño microscópico de 3 a 5 micras, dando como resultado una afectación más directa al crecimiento. Este daño puede ser mayor, a medida que las burbujas sean más pequeñas, por incremento del área ácida.

La presencia de óxidos de azufre, monóxido de carbono y óxido de nitrógeno; demuestran no ser perjudiciales a estas bajas concentraciones para el cultivo de la microalga *Nannochloropsis oculata*. Autores como Li *et al.* (2006) y Nakamura *et al.* (2005), explicaron que estos

compuestos, presentes en los gases combustionados, pueden ser aprovechados en el cultivo de microalgas. Sin embargo, la utilización de estos gases en cultivo dependerá de la demanda de cada sistema y de la eficiencia de disolución en cada uno de ellos, para ser empleado en la duplicación celular.

En los cuadros 2 y 3, se puede observar valores mucho menores para el dióxido de carbono, óxidos de azufre y óxidos de nitrógeno a los reportados por Stepan *et al.* (2002), debido a la dilución que fue sometida el biogás combustionado.

El óxido de azufre no es necesario para la duplicación celular, por lo cual, su permanencia en el cultivo es perjudicial, si este se llega a acumular; ya que, a concentraciones de 400 ppm en gases combustionados, puede originar la caída del pH a unidades de 4,0 en 24 horas Stepan *et al.* (2002).

El monóxido de carbono al disolverse es descompuesto por la acción bacteriana formando dióxido de carbono lentamente, el cual, es un elemento de gran uso en la fotosíntesis activa. Otros compuestos como el ácido sulfhídrico deben eliminarse antes de la combustión, para que este no genere compuestos como el óxido de azufre y provoquen posteriormente una caída del pH.

La presencia del bicarbonato presente en el agua de mar, no influyó en el incremento del carbono fijado en la biomasa de microalgas; por lo cual, el incremento de biomasa celular presentados por autores como Wu *et al.*, (2001); corresponden principalmente a la entrega óptima de la irradianza promedio al cultivo, ocasionando una mejor utilización de las fuentes de carbono y nutrientes presentes.

Los porcentajes de CO₂ presente en la mezcla de gases, influirán sobre la tasa de difusión neta de cada compuesto en la interfase líquido – gas. El CO₂, al tener una alta difusión, genera diferentes capas de acidez, que pueden afectar a las microalgas. Estas son neutralizadas por el equilibrio dinámico del pH en la fotosíntesis, que tiende a elevarse por la acidez generada por ácido carbónico, debido a la reacción del CO₂. Por ello, cada fotobiorreactor tendrá diferentes concentraciones óptimas en la inyección de CO₂, ya que cada diseño ofrece una dinámica de entrega

de luz que afecta el pH del cultivo y tolerancia biológicas por especie.

CONCLUSIÓN

En este estudio se determinó la viabilidad del biogás combustionado como una fuente alterna de dióxido de carbono, debido a la combustión del metano a CO₂ y H₂O; más la presencia natural de CO₂ generado en la descomposición anaeróbica. De no ser combustionado este biogás, el metano entraría al sistema y el carbono presente en la molécula de metano no podría ser aprovechado por el cultivo de microalgas.

En este trabajo los valores de SO₂ obtenidos en los dos tratamientos de biogás combustionado fueron de 60 ppm y 35 ppm. Los demás gases presentes en el biogás combustionado, como el óxido de nitrógeno y monóxido de carbono, son una fuente de compuestos utilizados para la duplicación celular; altas concentraciones de nitrato en gases combustionados ayuda al suministro de este compuesto al cultivo de microalgas, ya que este compuesto es uno de los que representa el mayor de los costos, en el cultivo de microalgas.

La inyección de biogás combustionado mostró una gran eficiencia en el control del potencial de hidrógeno a concentraciones de 1,1 % y 0,5 % dióxido de carbono. Concentraciones de 10 % de CO₂, en la mezcla de gases inyectados en cultivos de prueba, generaron una caída de pH a 5,5 en el medio del cultivo, a la vez, de generar mayor acidez en la interfase gas – líquido.

No hubo diferencia significativa a α 0,05 en las tasas de crecimiento en los dos tratamientos contra sus respectivos controles. El promedio de pH fue de 7,79 para los tratamientos con biogás combustionado y 8,09 para los controles con CO₂ atmosférico. Este valor del pH obtenido con biogás combustionado se encuentra en los rangos óptimos para fotobiorreactores, ya que estas unidades requieren un fuerte controlador de pH para contrarrestar la elevación de pH producto de la fotosíntesis intensa llevada en estas unidades.

AGRADECIMIENTOS

Universidad Católica del Norte, Instituto de Innovación Agropecuaria, Universidad de Panamá, Cervecería Nacional, Autoridad de los Recursos Acuáticos de Panamá, HECAE S.A.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

Benson, B. y Krause, D. 1984. The concentration and isotopic fractionation of oxygen Dissolved in freshwater and seawater inequilibrium with the atmosphere. *Limnol. Oceanport.*, 29:3, 620-632

Birmingham, B.; Coleman, J. y Colman, B. 1982. Measurement of photorespiration in algae. *Plantae Physiology*. 69: 259 – 262.

Chiu S., Kao C., Tsai M., Ong S., Chen C., Lin C. 2009. Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration. *Bioresource Technology* 100: 833 – 838.

Copeland H., Pier P., Whitehead S., Enlow P., Strickland R., Behel D., (2003). Chemical fixation of CO₂ in coal combustion products and recycling through biosystems. Final Technical Report. Tennessee Valley Authority (TVA).70 pp.

Colt J., Bouck G., (1984). Diseño de columnas de relleno para desgasificar. *Acuícola Ingeniería*, Vol. 3, Issue 4, Pages 251-273.

Correa, G.; Cuervo, H.; Mejía, R. y Aguirre, N. 2012. Monitoreo del sistema de lagunas de estabilización del municipio de Santa Fé de Antioquia, Colombia. *Producción + Limpia* 7(2): 36-51.

Doucha J., Straka F., Livansky K., (2005). Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella* sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor. Institute of microbiology, Academy of science of the Czech Republic. *Journal of Applied Phycology*. 17: 403 - 412.

Duan Z., Sun R., Zhu C., Chou I., (2006). An improved model for the calculation of CO₂ solubility in aqueous solutions containing Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Cl⁻, and SO₄²⁻. *Marine Chemistry* 98: 131–139

Engel T., Reid P., (2007). Introducción a la fisicoquímica: Termodinámica. Pearson Educación, 584 pág.

Escobar J., (2002). La contaminación de los ríos y sus efectos en las

áreas costeras y el mar. División de recursos naturales e infraestructura CEPAL. Publicación de las Naciones Unidas LC/L. 1799-P. 68 pag.

Gladrow W., Riebesell U., (1997). Diffusion and reactions in the vicinity of plankton: A refined model for inorganic carbon transport. *Marine Chemistry*, Vol. 59, Issue: 1-2, 17-34.

Guillermo O., 2014. Efecto de la intensidad de la luz y de la tasa de inyección de aire en el crecimiento y la productividad de la microalga *Nannochloropsis sp.*, cultivada en un biorreactor plano. Centro de investigación científica y de educación superior de ensenada, baja california Tesis Master. 70 pág.

Hanumantha M. 2002. Application of algal culture technology for carbon dioxide and flue gas emission control. Thesis, Master of Science. Arizona State University 110 pp.

Hernández, M. 2010. Suelos de humedales como sumideros de carbono y fuentes de metano. *Terra Latinoamericana* 28(2): 139-147.

Hernández-Pérez, A. y Labbé, J. 2014. Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 49(2): 157-173.

Hu H., & Gao K., (2003). Optimization of growth and fatty acid composition of unicellular marine picoplankton, *Nannochloropsis sp.*, with enriched carbon sources. *Biotechnology Letters* 25: 421–425.

Huertas E., Montero O., Lubian L., (2000). Effects of dissolved inorganic carbon availability on growth, nutrient uptake and chlorophyll fluorescence of two species of marine microalgae. *Aquacultural Engineering* 22:181–197.

Kustka, A.B., Shaked, Y., Milligan, A.J., King, D.W., Morel, F.M.M., (2005). Extracellular production of superoxide by marine diatoms: contrasting effects on iron redox chemistry and bioavailability. *Limnology.Oceanographic*. 50, 1172–1180.

Kromkamp J., Peen J., (2004). Oxygen consumption in the light by unicellular algae. Netherlands Institute of Ecology, S29-003.6 pp.

Li Y., Markley B., Mohan A., Rodríguez V., Thompson D., Niekerk D., (2006). Utilization of Carbon Dioxide from Coal-Fired Power Plant for the Production of Value-Added.

Merrett M., Nimer, N., Dong L. (1996). The utilization of bicarbonate ions by the marine microalga *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd. *Plant, Cell and Environment* 19: 478-484.

Milligan A., Mioni C., Morel F., (2009). Response of cell surface pH to pCO₂ and iron limitation in the marine diatom *Thalassiosira weissflogii*. *Marine Chemistry*, Volume 114, Issues 1-2, 31-36

Millero, F.J. y Roy R.N. (1997). A chemical equilibrium model for the carbonate

System in natural waters, *Croatia Chemica Acta*, 70: 1-38.

Moheimani N., (2005). The culture of coccolithophorid algae for carbon dioxide bioremediation, Murdoch University Thesis, Division Science & Engineering, 252 pp.

Mook W., (2000). Environmental isotopes in the hydrological cycle: Principles and applications. Centre for isotope research Groningen. 271 pag.

Nagase H., Yoshihara K., Eguchi K., Okamoto Y., Murasaki S., Yamashita R., Hirata K., Miyamoto K., (2001). Uptake pathway and continuous removal of nitric oxide from flue gas using microalgae. Osaka University. *Biochemical Engineering Journal* 7: 241-246.

Nakamura T., Olaizola M., Bridges T., Flores S., Sombardier L., (2005). Recovery and Sequestration of CO₂ from Stationary Combustion systems by Photosynthesis of Microalgae. *Physical Sciences Inc.*, 220 pp.

Ono E., Cuello J., (2003). Selection of optimal microalgae species for CO₂ sequestration. Second Annual Conference on Carbon

Sequestration. University of Arizona. 7 pp.

Otsuki T., (2001). A study for the biological CO fixation and utilization 2 systems. *The Science of the Total Environment* 277: 21 – 25.

Papazi A., Makridis P., Divanach P., Kotzabasis K., (2008). Bioenergetics changes in the microalga photosynthetic apparatus by extremely high CO₂ concentrations induce an intense biomass production. *Physiologia Plantarum* 132: 338–349.

Sato T., Sato R., (2002). Numerical prediction of the dilution process and its biological impacts in CO₂ ocean sequestration. *Journal of Marine Science and Technology* 6: 169 – 180.

Sheehan J., Dunahay T., Benemann J., Roessler P., (1998). A look back at the U.S. department of energy's aquatic species program – biodiesel from algae. U.S. Department of energy's office of fuels development. 323 pag.

Spolaore P. Joannis C., Duran E. Isambert A., (2006). Optimization of *Nannochloropsis oculata* Growth Using the Response Surface Method. *Journal of Chemical Technology and Biothechnology*. 81:1049 – 1056.

Stepan D., Shockey R., Moe T., Dorn R., (2002). Carbon dioxide sequestering using microalga systems. National Energy Technology Laboratory. Energy & Environmental Research Center. 32 pp.

Sültemeyer F., Schmidt, C., Fock, H.P., (1993). Carbonic anhydrases in higher plants and aquatic microorganisms. *Physiology. Plantae* 88: 179 – 190.

Varnero, M. 2011. Manual de Biogas. Ministerio de Energía-CL, PNUD, FAO, GEF. 120 pp. [en línea]. [fecha de consulta: enero 2021]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/as400s/as400s.pdf>

Wu C., Zamora O., Kopel R., Richmond A., (2001). An industrial-size flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis sp.* Eustigmatophyceae. *Aquaculture* 195: 35 – 49.

Yamasaki S., Hirata H., (1995). CO₂, Concentration Change in *Tecnociencia, Vol. 23, N°2* 192

Nannochloropsis sp.

Culture Medium. Aquaculture Engineering, Vol. 14. No. 4. 357 – 365.

Yamasaki S., Yamaoka H., (2001). Effect of dissolved inorganic carbon concentration on oxygen production of a unicellular alga *Nannochloropsis oculata*. University, Kagoshima. Fisheries Science, 67: 533-534.

Zitelli G., Pastorelli R., Tedrici M., (2000). A Modular Flat Panel Photobioreactor (MFPP) for indoor mass cultivation of *Nannochloropsis* sp. under artificial illumination. Journal of Applied Phycology 12: 521–526.

Zou N., Wu C., Cohen Z., Richmond A., (2000). Production of cell mass and eicosapentaenoic acid (EPA) in ultrahigh cell density cultures of *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae). Ben-Gurion, University of the Negev. Journal of Phycology.35: 127 - 133.

Recibido el 25 diciembre 2020, y aceptado el 19 marzo 2021.

Editor Responsable: Dr. Alonso Santos Murgas