

Sistema automatizado de control para el crecimiento de microalgas.

Jose Carlos Bello Santos,

Jesús González Doldan,

Jesús Manuel Torres Palenzuela.

Departamento de Física Aplicada. Universidad de Vigo

Keywords: Fotosíntesis, Clorofila, CDOM, microalga, Fotobiorreactor, Raceway, monitorización, PAR, Row

1. Introducción

El auge de los cultivos de microalgas tanto para aplicaciones de bioenergía como alimentación o biorremediación, requiere de sistemas de control de los parámetros que nos den información del estado del cultivo en cada momento.

Dentro de la red de investigación BIOAUGA constituida por trece grupos de las tres universidades gallegas, se está realizando el proceso de control automatizado para la optimización del cultivo de microalgas en fotobiorreactores y sistemas de crecimiento *raceway*. La monitorización de los parámetros que influyen en dicho cultivo son: temperatura, pH, clorofila a, CDOM (*Colored Dissolved Organic Matter*), irradiancia, radiancia y PAR (*Photosynthetically Active Radiation*).

2. Equipos para la medida y control en cultivos de Microalgas.

2.1. Temperatura y pH

El efecto de la temperatura en la actividad bioquímica de cualquier especie de microalga se refleja principalmente por medio de dos mecanismos distintos:

-Reacciones químicas y bioquímicas.

-Asimilación de nitrógeno y división de la fijación de carbono a través de la fotosíntesis en varios tipos de macromoléculas (proteínas, carbohidratos y lípidos).

Un hecho bien conocido y documentado por diferentes investigaciones es el efecto de la temperatura en la composición y contenido de lípidos de la membrana de las células de microalgas [1]. Generalmente, una disminución por debajo de la temperatura óptima del cultivo disminuye el porcentaje de lípidos existentes en cada célula pero incrementa el grado de lípidos insaturados en la

membrana. El contenido máximo de lípidos ocurrirá en la temperatura óptima para cada especie.

Otro efecto que ocurre en las células de microalgas cuando están expuestas a temperaturas por debajo de la temperatura óptima es el desarrollo de un mecanismo biomolecular para la conservación de la maquinaria fotosintética frente a la fotoinhibición o fotooxidación de las células [2].

Por otra parte, la producción de pigmentos fotosintéticos y orgánicos como son la clorofila a y B, carotenoides, ficocianina tienen una relación directa con los rangos de temperatura en los que se encuentran las microalgas [3]. La tendencia general, según el rango de temperatura por encima de la óptima hasta alcanzar valores de no estrés térmico, se refleja en un incremento de la producción de clorofila a.

El pH indica la concentración de iones hidronio $[H_3O]^+$ presentes en determinadas disoluciones. Este parámetro determina muchas características notables de la estructura y de la actividad de las biomacromoléculas y, por tanto, del comportamiento de células y organismos. El pH afecta notablemente en el metabolismo y asimilación de los iones presentes en el medio, por lo tanto es un factor vital para el crecimiento de las microalgas. El valor de pH en la que una determinada especie de microalga prolifera, es característico de cada alga, es decir, existen diversos tipos de microalgas en las que su medio natural puede variar desde estados con un pH ácido ($3.5 < pH < 7$) hasta medios en los que el pH es fuertemente alcalino y presenta valores en torno 11.

Como se puede observar, estos parámetros influyen directamente sobre el estado de cualquier especie de microalga. Desde la red de investigación BIOAUGA se ha implementado en los cultivos en ambiente controlado (fotobiorreactores) y en ambiente exterior (*raceway*) un sistema de control y monitorización a través de un multímetro conectado

a un ordenador que nos da la posibilidad de ver en tiempo real y por escritorio remoto la temperatura del cultivo. Mediante el software diseñado se hacen lecturas de temperatura y pH cada diez segundos y se programan valores específicos para la notificación de alertas. El control de pH se realiza a través de una electroválvula neumática conectada con el equipo, descargando CO₂ hasta un valor programado de Ph. A continuación se muestran los equipos y una captura del software que registra los valores cada 10 segundos (Figura 1).



Figura 1. Multímetro y software para compilación y ejecución de tareas.

2.2. Clorofila a y CDOM

La fotosíntesis es el único proceso de conversión de la energía lumínica en el cual los componentes inorgánicos y la luz son transformados en materia orgánica por los organismos fotoautótrofos. La clorofila es una familia de pigmentos de color verde que se encuentran en las cianobacterias y en todos aquellos organismos que contienen cloroplastos en sus células, crítica en la fotosíntesis, proceso que permite a estos organismos absorber energía a partir de la luz solar. Todas las clorofilas tienen principalmente dos bandas de absorción:

- Azul o verde azulado (450-475 nm)
- Rojo (630-675 nm)

La Chl-a está presente en todos los organismos fotoautótrofos como corazón de la reacción pigmento-proteínas complejas. Como “antena” fotorreceptora, se asocian la Clorofila b y Clorofila c, pigmentos existentes en este tipo de organismos capaces de captar en otras longitudes de onda del espectro visible (ver Figura 2).

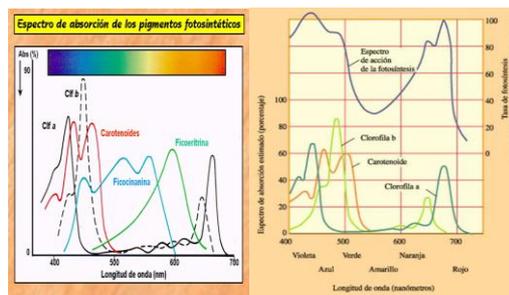


Figura 2. A la izquierda, espectro de absorción de los pigmentos fotosintéticos. A la derecha, espectro de absorción resultado de la contribución de los distintos pigmentos de forma conjunta.

La materia orgánica coloreada disuelta (CDOM) es el componente medible ópticamente de la materia orgánica disuelta en el agua. También denominada como sustancia amarilla, el CDOM aparece de forma natural principalmente en entornos acuáticos como resultado de la descomposición de materia orgánica denominada detritos. El CDOM absorbe principalmente longitudes de onda corta en el rango del azul (440-470nm) hasta el ultravioleta (380-420nm), mientras que el agua pura absorbe longitudes de onda mayor, roja (620-680nm). Por otro lado, el agua con grado de turbidez 1NTU y un color azul debido a la baja concentración de CDOM. El color del agua variará desde el verde, amarillo-verde y marrón a medida que aumente la cantidad de CDOM y con ello el grado de turbidez.

Desde la red de investigación BIOAUGA se ha implementado un dispositivo de control y medida para determinar la concentración de clorofila en cultivos de microalga. Este equipo denominado ROW (Remote Optical Watcher) es un sistema provisto de leds de alta potencia con la capacidad de emitir luz en longitudes de onda corta (excitación 447 nm) en el cultivo de microalgas y recibir la fluorescencia emitida durante la absorción de luz (emisión 669-691nm). Mediante este dispositivo se detecta con una alta precisión la concentración de este pigmento sin estar en contacto con el medio. El sistema consiste en un LED UV de pulso, de telescopio que recibe el espectro de la muestra, una foto-detector, una placa de control y procesamiento de datos y una fuente de alimentación. A continuación, se muestra en el esquema el principio de funcionamiento de la técnica de fluorescencia.

Un rayo LED de pulso excita las moléculas de clorofila que aparece e induce su fluorescencia. El telescopio registra la señal de retorno resultante para su posterior análisis. La señal de emisión de fluorescencia se registra por foto-detector e inmediatamente se procesa por el software integrado de control analítico (Figura 3).

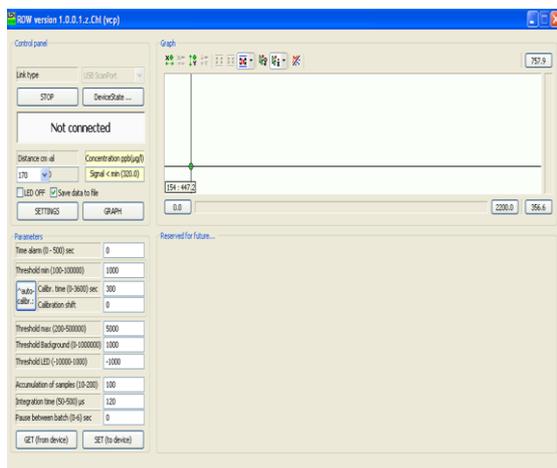


Figura 3. Software del sistema ROW para detección de Chl-a.

Los valores de CDOM se obtienen mediante un sensor Turner, si bien este dispositivo primeramente fue destinado para el seguimiento y control de aguas marinas, no es conveniente utilizar este equipo para medir CDOM en cultivos de microalgas debido al rango de concentraciones existentes muy por encima de la tolerancia del dispositivo. Desde la red de biorremediación BIOAUGA se está desarrollando un sensor de CDOM que se adecue a las características presentes en los cultivos de microalgas.

2.3. Irradiancia, Radiancia y Reflectancia

La radiación lumínica produce dos tipos de procesos principales en los organismos fotoautótrofos: procesos energéticos (fotosíntesis) y los procesos morfogénicos [4], por lo tanto, es un factor que afecta especialmente en el crecimiento de los cultivos microalgales. La curva de respuesta de luz en microalgas ha sido utilizada como herramienta para analizar la respuesta de crecimiento celular fotosintético ante radiación lumínica y al mismo tiempo, analizar la respuesta de los “aparatos fotosintéticos” en condiciones ambientales. Esta curva denominada P/I se puede dividir en tres regiones: Lineal, saturación luminosa, y fotoinhibición [5]. El rango de saturación por luz es denominado Pm. A baja irradiancia, el porcentaje

de producción fotosintético es aproximadamente función lineal a la irradiancia y el ratio se denomina mediante el símbolo α . La irradiancia de saturación, I_k , se acota entre α y P_m . La fase oscura esta denominada por R_d . La irradiancia de compensación I_c , representa el valor de irradiancia donde no se observa consumo de oxígeno.

A través de dos espectroradiómetros (Figura 4), se puede medir por un lado la irradiancia (magnitud para describir la potencia que incide por unidad de superficie de cualquier fuente luminosa) y la radiancia (energía asociada a cualquier radiación electromagnética). Con estas magnitudes y a través de la implementación por software de un algoritmo, se obtiene la reflectancia del cultivo.



Figura 4. De izquierda a derecha espectroradiómetro de irradiancia y espectroradiómetro de radiancia.

2.4. PAR (Radiación Activa Fotosintética)

De la radiación global incidente sobre la superficie vegetal sólo una proporción es aprovechable para la realización de la fotosíntesis: PAR (radiación fotosintética activa). La respuesta de las microalgas es diferente en función de las diferentes longitudes de onda. La clorofila es el principal pigmento que absorbe la luz, otros pigmentos accesorios son el b-caroteno, carotenoide, ficocianina. Esencialmente toda la luz es capaz de promover la fotosíntesis, pero en las regiones de 400-500 nm y de 600-700nm son las más eficaces. Así la clorofila tiene una absorción muy débil entre 500-600 nm, los pigmentos accesorios complementan la absorción en esta región suplementando a las clorofilas.

- 620-700 nm: una de las bandas de mayor absorción de la clorofila.
- 510-620 nm: débil actividad fotosintética.
- 380-510 nm: banda más energética, de intensos efectos formativos. Fuerte absorción por la clorofila.
- $\lambda < 380$ nm: Efectos germicidas e incluso letales < 260 nm.

El radiación activa fotosintética interceptada (PAR_{int}) se puede estimar a partir de la radiación activa fotosintética incidente (PAR_{inc}) por medio de la expresión:

$$\text{PAR}_{\text{int}} = e * \text{PAR}_{\text{inc}}.$$

Donde “e” es la eficiencia de la interceptación. La eficiencia será 1 cuando el cultivo no permita transmitir nada de radiación al suelo y toda la radiación incidente es interceptada, y 0 cuando no existe prácticamente cultivo. Así, la eficiencia depende del grado de densidad del cultivo de forma que se puede expresar en función de la concentración del inóculo / volumen del cultivo,

$$e = e_{\text{max}} * (1 - e^{-k * \text{densidad/volumen}})$$

donde k es un factor adimensional en función al área del cultivo. El sensor PAR utilizado en los cultivos en fotobiorreactores y *raceways* permite una rápida puesta en marcha y obtención de datos en tiempo real. Al mismo tiempo se compilan los datos obtenidos a través de un *Data Logger*.

5. Conclusión

El sistema de monitorización diseñado para el cultivo de microalgas junto con las técnicas de control y medida empleadas pretende optimizar la producción de cultivos con el fin de crear valor añadido a los subproductos que se obtienen en estos cultivos (biodiesel, fertilizantes, cosméticos, aportes alimenticios). Los equipos seleccionados presentan ventajas como la versatilidad según la instalación, rápida puesta en marcha y calibración y mantenimiento sencillo. Desde BIOAUGA se está trabajando en la implementación y elaboración de sensores programados en código abierto que sustituirán en un futuro cercano los dispositivos comerciales utilizados en los actuales proyectos.

Agradecimientos

La red BIOAUGA agradece la colaboración de ENCE (Energía & Celulosa), Consorcio do Louro y Centro Alfarero de Candelaria (Tenerife) “Casa las Miquelas”. Este trabajo ha sido parcialmente subvencionado por la Xunta de Galicia (R2014/030), fondos Feder.

Referencias

- [1] Nishida, I. and Murata, N. (1996) Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: the crucial contribution of membrane lipids. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 541–568.
- [2] Thompson, P.A., Guo, M.-X. and Harrison, P.J., 1992. Effects of variation in temperature. I. On the biochemical composition of eight species of marine phytoplankton. *J. Phycol.*, 28: 481-488.
- [3] Liu, B. -H. & Lee, Y. -K. 2000. Secondary carotenoids formation by the green alga *Chlorococcum* sp. *J. Appl. Phycol.* 12:301-307.
- [4] Villalobos, FJ; Mateos, L; Orgaz, F & Fereres E. (2002). *Fitotecnia: Bases y tecnologías de la producción agrícola*. Mundi-Prensa; editor. 496 p.
- [5] Prioul JL, Chartier P (1977) Partitioning of transfer and carboxylation components of intracellular resistance to photosynthetic CO₂ fixation: a critical analysis of the methods used. *Ann Bot* 41:789-800.