

CULTIVO DE MICROALGAS SOBRE EFLUENTES LIQUIDOS DE BIODIGESTION DE ESTIERCOL VACUNO

Mónica SALUSSO* Lucas SEGHEZZO† Diana C. SANCHEZ †
Carlos M. CUEVAS §

RESUMEN

El cultivo de microalgas ha demostrado ser eficiente en el tratamiento de efluentes orgánicos, como parte de un proceso natural de bajo costo y tecnología sencilla que puede dar lugar a la reutilización de los mismos en agricultura o acuicultura.

El presente trabajo se centra en el cultivo de 5 especies de CHLOROPHYTA sobre distintas diluciones del líquido sobrenadante de un digestor anaeróbico continuo alimentado con estiércol vacuno.

Las curvas de crecimiento preliminar en medio standard dan el rango máximo de incremento para Selenastrum capricornutum (155.04 mg/l), siendo seleccionada esta especie para los cultivos en medio orgánico.

El crecimiento de Selenastrum capricornutum en efluente (al 1, 3 y 5%) indica mayor producción de biomasa en el ensayo al 3% (8.44 mg/l), siendo similares los valores en las concentraciones restantes (5.7 mg/l y 5.02 mg/l al 1 y 5% respectivamente).

Estos primeros resultados serán útiles en el diseño y dimensionamiento de un sistema de depuración en escala piloto.

1 INTRODUCCION:

La biodigestión, o digestión anaeróbica es un proceso fermentativo realizado por bacterias que degradan la materia orgánica presente en un medio acuoso y producen un gas combustible denominado biogas, compuesto principalmente por metano. Este proceso se realiza en reactores diversos, y es muy utilizado para el tratamiento de desechos urbanos y zootécnicos [15] [16] [10].

Los efluentes sólidos y líquidos que se obtienen luego del tratamiento poseen aún una elevada carga orgánica y no pueden ser liberados en los cauces naturales de agua sin riesgos de contaminación.

*Universidad Nacional de Salta. Facultad de Ciencias Naturales. Cátedra de Plantas Celulares. Buenos Aires INT. 4400. SALTA

†Becario CONICET. INENCO (Instituto de Investigaciones en Energía No Convencional. UNSa-CONICET).

‡Universidad Nacional de Salta. Facultad de Ciencias Naturales

§Investigador SAPIU-CONICET. INIQUI (Instituto de Investigaciones para la Industria Química. UNSa-CONICET)

Los sólidos, previo secado, pueden ser utilizados como abono o enmienda de suelos pobres [13] [5]. Para los líquidos se está estudiando la aplicación de una fase de depuración mediante métodos acuaculturales, con el objeto de aprovechar al máximo su potencial productivo y mejorar sus condiciones sanitarias.

La algacultura o cultivo de microalgas es de creciente interés tanto en la industria alimentaria (por su alto contenido proteico y en pigmentos naturales), como por el rol que les cabe a estas algas en el proceso de control de la polución y en la recuperación de aguas salobres en tierras marginales [18] [8]. Si bien los trabajos pioneros en el tema datan de la década del cincuenta (Cook, 1950; Davis et al., 1953 y otros) [2] [4], es a partir de Oswald et al. (1975) que se establece el concepto del cultivo en gran escala para el tratamiento de aguas residuales [11].

Los géneros algales dominantes en piletas de tratamiento pertenecen a CHLOROPHYTA y EUGLENOPHYTA y, en menor proporción, a CHRYSOPHYTA, siendo habituales *Chlorella*, *Ankistrodesmus* y *Scenedesmus*, entre otros. Estas piletas de tratamiento pueden ser de diverso tamaño, y se disponen generalmente en serie, recibiendo diversos nombres según su posición en relación al líquido de alimentación (estanques anaeróbicos, estanques facultativos y estanques de maduración). Para evaluar el status de estos cultivos sobre desechos orgánicos al aire libre se tienen en cuenta tanto las especies presentes como su respectiva concentración en biomasa [9].

Como parte de un trabajo más extenso que apunta al desarrollo en escala piloto de un sistema de tratamiento integral de productos de biodigestión de desechos orgánicos, se evaluó el crecimiento de 5 especies algales de CHLOROPHYTA en condiciones controladas de cultivo en medio standard, para seleccionar la que presente mejor producción de biomasa, y se cultivó a escala de laboratorio el alga seleccionada sobre distintas concentraciones del efluente líquido biodigerido para determinar la concentración óptima que podrá ser usada en la escala piloto.

2 MATERIALES Y METODOS

Biodigestión: Se trabajó con los efluentes líquidos sobrenadantes de un biodigestor tipo hindú modificado de 3 m³ de capacidad cargado con estiércol vacuno diluido en agua (10% de peso seco en agua), con un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 30 días. Los efluentes descargan en dos piletas modulares de secado a través de 2 llaves esclusas. Las muestras para los ensayos de cría de algas se tomaron de la esclusa superior. La caracterización del efluente empleado comprendió el análisis de los siguientes parámetros: pH, sólidos totales (TS), sólidos volátiles (TSV), demanda química de oxígeno (DQO) y Nitrógeno total (N), según técnicas de la American Public Health Association [1] (Ver Tabla 1).

Cultivos de microalgas: Cultivos monoalgales de *Ankistrodesmus falcatus*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorococcum hypnosporum*, *Selenastrum capricornutum* y *Scenedesmus quadricauda* en fase de crecimiento exponencial se inocularon en Medio Básico de Bold (MBB) a volúmenes de 250 ml con tres réplicas, a 20 C +/- 2 C, 3000 lx y fotoperíodo de 8 a 12 horas. La concentración celular se midió por conteo de células individuales o colonias/ml en cámara de Neubauer, siendo determinada la biomasa según la transformación de unidades de volumen a unidades de peso [17] [6]. Se calcularon las tasas relativas de incremento específico diario μ definidas por Environmental Protection Agency Algal Assay (1971) como:

$$\mu = \log \frac{N_1}{N_2} \frac{1}{t_2 - t_1}$$

donde N1 y N2 son la densidad celular (mg/l) en los tiempos t1 y t2 respectivamente [12]. El alga seleccionada fue cultivada en diferentes diluciones de effluente en agua corriente (1, 3 y 5%), en volúmenes de 3000 ml. Se llevaron a cabo en bolsas plásticas, con tres réplicas por dilución, en idéntico régimen de luz y temperatura, y burbujeo continuo de aire. Se emplearon inóculos de $1 - 1.5 \times 10^6$ células (o colonias)/ml, tomadas en fase logarítmica, en cantidades de 20 ml cada una. Los resultados fueron sometidos a un test de análisis de la varianza (ANOVA) y al test de comparaciones múltiples de medias de Tukey [3] [19] [14].

3 RESULTADOS Y DISCUSION

Las curvas de crecimiento de las distintas especies algales en MBB (Figura 1) indican que la fase de maduración se logra entre la primera y segunda semana, con una tasa específica de crecimiento μ (para el período logarítmico) que es máxima para S.capricornutum (0.79) y mínima para C.hyposporum (0.19).

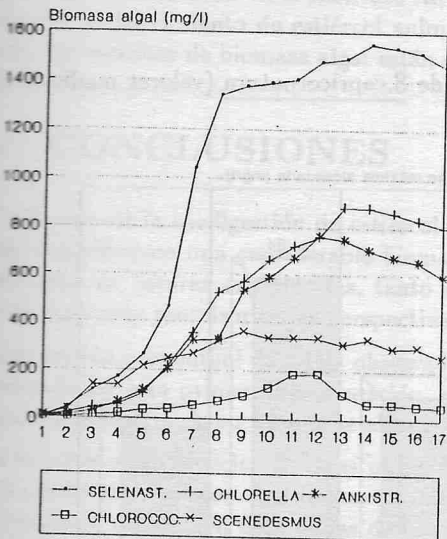


Figura 1

Curvas de crecimiento de las 5 especies algales utilizadas en el ensayo en Medio Standard de Bold (MBB). Temperatura de trabajo: 20 C +/- 2 C. 3000 lx de iluminación.

S.capricornutum evidenció mejor producción en medio sintético, con una biomasa de 155.04 mg/l de peso seco, en relación al resto de las algas ensayadas, por lo cual fue seleccionada para continuar con la experiencia. En la Figura 2 se observa la fase logarítmica de crecimiento para S.capricornutum indicada por la recta de regresión lineal, de donde se obtiene el valor de μ .

La Figura 3 incluye las curvas de crecimiento para los 3 tratamientos en medio orgánico. Los resultados obtenidos muestran que la biomasa lograda al 3% (8.44 mg/l) fue superior a la observada al 1%, aunque no significativamente mayor que la alcanzada al 5% (ANOVA, $\alpha = 0.05$). No se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos 1% y 5%. (Figura 4).

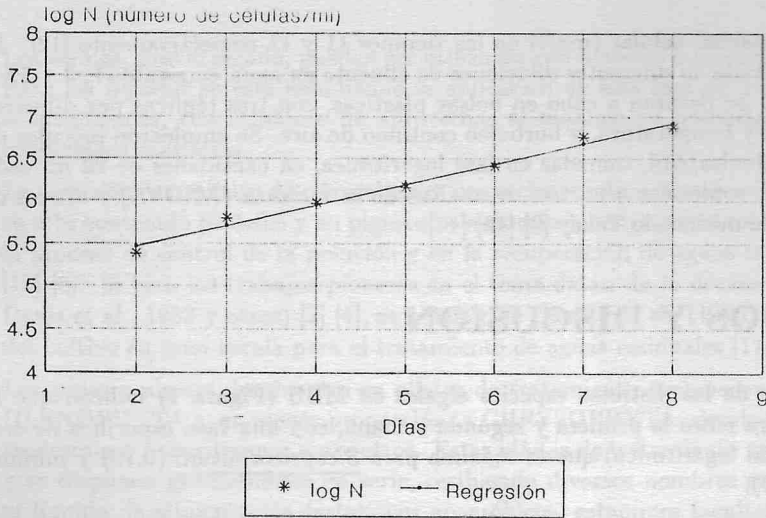


Figura 2: Fase de crecimiento exponencial del cultivo de *S. capricornutum* (valores medios). Se indica la recta de regresión lineal.

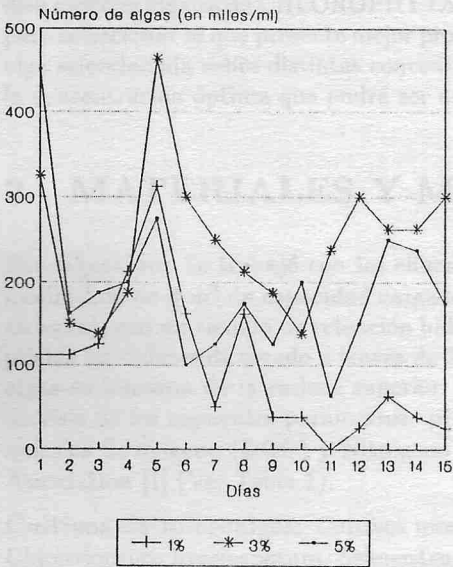


Figura 3

Densidad obtenida de células de *S. capricornutum* durante la prueba en medio orgánico (efluente de biodigestión) a 3 concentraciones diferentes.

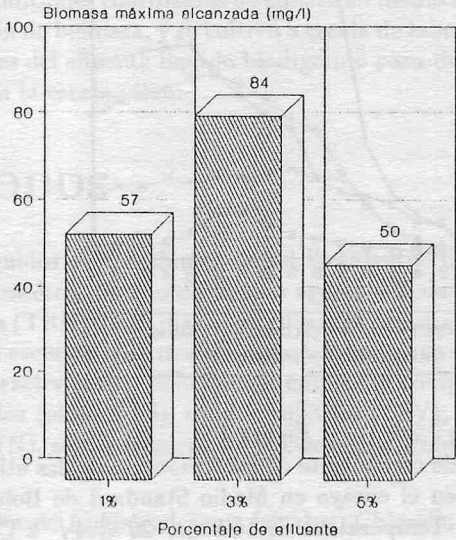


Figura 4

Biomasa máxima alcanzada por el cultivo de *S. capricornutum* en los tres tratamientos ensayados

La Tabla 1 contiene los resultados del análisis realizado al efluente utilizado para los cultivos de algas. La DQO del medio fue determinada en todas las réplicas después del período de ensayo,

pH	7.01
Sólidos totales (TS)	8.95 g/l
Sólidos volátiles (TSV)	5.35 g/l
Cenizas	3.60 g/l
Dem. Qca. de O ₂ (DQO)	4053 mg/l
Nitrógeno total	0.124%

Tabla 1: Características físico-químicas del efluente de partida (sobrenadante de biodigestión de estiércol vacuno)

obteniéndose un valor medio de 3008 mg/l, con lo que se tiene una remoción porcentual promedio del 26%, en relación al valor de partida (Tabla 1).

Se calculó para *S.capricornutum* una producción de 0.50 mg de peso seco/l/día. Resultados similares se observaron en el Institute Advanced Studies of Malaysia, donde se aplica un sistema integral de tratamiento de estiércol animal, con miras a su aplicación en acuicultura. En este caso, las cosechas de biomasa algal están entre 0.30 y 0.62 mg peso seco/l/día.

4 CONCLUSIONES

El efluente de la biodigestión de estiércol vacuno se mostró apto para la producción de microalgas, obteniéndose una considerable biomasa final para la especie utilizada. Estos resultados se evaluarán en futuras experiencias, tanto en escala laboratorio como en escalas mayores, considerándose muy promisorias las perspectivas del sistema en escala piloto.

La remoción porcentual de DQO observada en los líquidos de cultivo luego del ensayo se estima adecuada en esta primera aproximación, si se la compara con otros sistemas de tratamiento de residuos industriales, en los que se alcanzan remociones del orden del 50% [7].

En relación a las especies de algas utilizadas, y considerando la capacidad invasora de *Chlorella* y *Scenedesmus*, que son contaminantes naturales en piletas y estanques al aire libre, se considera necesaria la realización de pruebas de crecimiento de estas algas sobre efluentes de biodigestión, si bien en los ensayos previos en medio sintético (MBB) presentaron un crecimiento menor que el observado para *S.capricornutum*.

El presente trabajo se desarrolló en el marco del Proyecto NO 171 del Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Salta.

Referencias

- [1] American Public Health Association (APHA). *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 1981.
- [2] P.M. Cook. *Some problems in the large-scale culture of Chlorella in the culture of algae*. Brunel, J. et al. Eds. Charles F. Kettering Foundation. Ohio, 1950.
- [3] W.W. Daniel. *Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud*. Editorial Limusa. Mexico, 1985.

- [4] E.H. et al. Davis. *Laboratory experiments on Chlorella culture at the Carnegie Institution of Washington*. Department of Plant Biology in Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant, 1953.
- [5] E.C. Espinoza, J.A. Hilbert, y M.P. Bogliani. *Biogas. Energía y biofertilización. Manual de producción y utilización*. INTA Castelar. Buenos Aires, 1983.
- [6] R.P. Hall. Prentice Hall, Englewood Cliffs. New Jersey, 1953.
- [7] Chanel Ishizaki, Alicia Guitián, y Loreto Donoso. Análisis de costo de sistemas de tratamiento para aguas residuales industriales. *Científica Venezolana*, 37:445-455, 1986.
- [8] D.D. Mara, S.W. Mills, H.W. Pearson, y G.P. Alabaster. Waste stabilization ponds: A viable alternative for small community treatment systems. *J.IWEM*, (6):72-78, 1992.
- [9] Duncan D. Mara y Howard Pearson. *Artificial freshwater environment: Waste Stabilization Ponds*, chapter 4, pages 177-206. 1987.
- [10] P.L. McCarty. One hundred years of anaerobic digestion. In *Proceedings of the Second International Symposium on Anaerobic Digestion*, 1981.
- [11] W.J. Oswald. Experiences with new pond designs in California as a wastewater treatment alternative. In *Water Resources Symp. NO 9. University of Texas*, 1975.
- [12] Jesús Paniagua-Michel, B.C. Farfán, y Buckle-Ramírez. Culture of marine microalgae with natural biodegraded resources. 64:249-256, 1987.
- [13] William F. Ritter. Organic wastes as fertilizers. *Agricultural Engineering*, pages 17-20, 1992.
- [14] R. Sokal y F.J. Rohlf. *Biometría*. Ed. Blume. España, 1979.
- [15] E.P. Taiganides. Biogas. recuperación de energía de los excrementos animales. partes i y ii. *Revista Mundial de Zootecnia*, (35-36), 1980.
- [16] A. Tilche. *Processi anaerobici di trattamento*. ENEA/SIES. Ministero degli affari esteri. Bologna. Italia, 1988.
- [17] R.A. Vollenweider. *A manual of methods for measuring primary production in aquatic environments. Int. Biol. Program Handbook 12*. Blackwell Scientific Publications, 1969.
- [18] Avigad Vonshak. Recent advances in microalgal biotechnology. *Biotech. Adv.*, 8:709-727, 1990.
- [19] J.H. Zar. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall. Inc. New Jersey, 1984.