

**EFLUENTES COMO MEDIO DE CULTIVO PARA OBTENER BIOMASA MICROALGAL: UNA INNOVACIÓN POSIBLE POR LA INTERACCIÓN UNIVERSIDAD-EMPRESA-ESTADO****Gualini, F.G. <sup>a</sup>; Cáceres, D. <sup>a</sup>; Cuello, M.C. <sup>a</sup>; Pila, A.N. <sup>a</sup>; Chamorro, E.R. <sup>a</sup>**

<sup>a</sup> Centro de Investigación en Química Orgánica Biológica (QUIMOBIO), Facultad Regional Resistencia - Universidad Tecnológica Nacional

carolinacuello@ca.frre.utn.edu.ar

**Resumen**

Los efluentes cloacales pueden ser utilizados como medio de cultivo de microorganismos fotosintéticos llamados microalgas. De la biomasa microalgal es factible extraer bioproductos de valor comercial, constituyendo una posible biorrefinería de residuos en sintonía con una economía circular, que precisa ser estudiada.

El Centro de Investigación en Química Orgánica Biológica, de la Facultad Regional Resistencia - Universidad Tecnológica Nacional, con experiencia en la temática, junto con la Empresa encargada del servicio de agua de la Provincia del Chaco, vieron la oportunidad de interactuar en un Proyecto para desarrollar una Planta Piloto de cultivo de microalgas en efluentes de la localidad de General San Martín, ubicada en el noreste de la misma provincia. De esta manera, profesionales del Centro y estudiantes avanzados de ingeniería química participaron en el diseño experimental, toma de muestras y cultivo en varias escalas de microalgas en un efluente real local. Luego de la toma de muestras y caracterización del efluente, se seleccionó la cepa de microalga que mejor se adapta al mismo y se cultivó para, luego de la separación de la biomasa, evaluar su composición bioquímica y potencial comercial.

El Proyecto presentado fue avalado por el Municipio de la localidad de General San Martín y habiendo sido adjudicados fondos por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva, se constituye en un proyecto pionero en la región en comenzar a evaluar una forma novedosa para el tratamiento de efluentes y el primer paso para un futuro escalamiento con vistas a una biorrefinería de microalgas.

**Abstract**

Sewage effluents can be used as a culture medium for photosynthetic microorganisms called microalgae. The microalgal biomass is a source of bioproducts of commercial value; therefore, a waste-based biorefinery is possible. This idea is also in tune with a circular economy and needs to be studied.

The Research Center in Biological Organic Chemistry, located in Resistencia Regional Faculty of the National Technological University, has experience in microalgae cultivation and together with the Company in charge of the water service in Chaco Province, saw the opportunity to interact in a joint Project to develop a wastewater-based microalgal cultivation Pilot Plant, using effluents from the General San Martín small city, located northeast of the Chaco province. Consequently, professionals

from the Research Center and Chemical Engineering advanced students participated in the experimental design, sampling, cultivation and upscaling of microalgae cultures in a real local effluent. Sampling and characterization of the effluent was followed by microalgae strain selection. The best adapted microalga was cultivated and then, the biochemical composition of biomass obtained from culture was evaluated to determine its commercial potential.

The Project was endorsed by the General San Martín Municipality and funded by the Ministry of Science, Technology and Productive Innovation. It is a pioneering project for wastewater treatment in the region and the first step for future microalgae biomass biorefinery scaling ups.

**Palabras clave:** efluentes, microalgas, economía circular, interacción Universidad-Empresa-Estado

## INTRODUCCIÓN

El cultivo de biomasa microalgal en efluentes trae consigo una potencial sinergia de obtención de bioproductos y depuración simultánea de aguas residuales.

Las microalgas son organismos fotoautótrofos, es decir que realizan fotosíntesis y utilizan el dióxido de carbono como fuente del mismo para su metabolismo, produciendo intracelularmente metabolitos (pigmentos, carbohidratos, proteínas y lípidos) de valor comercial.

Estos organismos unicelulares son versátiles dado que se encuentran en cualquier ambiente que posea agua: lagos, lagunas, mares y ríos y tienen una gran capacidad de adaptación.

El tratamiento de efluentes cloacales inefectivo o inexistente es un problema que interesa en el ámbito social y afecta de manera directa a las personas por el efecto que tiene la descarga de los mismos en los cursos de agua dulce, deteriorando la calidad de los mismos y al ecosistema que conforman.

La carga de materia orgánica de los efluentes cloacales provoca una alteración en los niveles de contaminación en el mismo, esto se puede ver reflejado en altos valores de DBO, DQO y TOC.

Los efluentes cloacales presentan contaminación biológica, dada la presencia de microorganismos, como coliformes fecales, cuya presencia representa una amenaza para el ser humano que debe ser eliminada mediante tratamiento de efluentes. Algunos de estos microorganismos pueden ser patógenos, es decir, que pueden producir enfermedades.

El cultivo de microalgas utilizando como medio de cultivo efluente cloacal ofrece beneficios en varios aspectos [1]:

1. Reduce la carga orgánica del efluente por oxidación, debido a la alta generación de oxígeno por fotosíntesis, así como el contenido de fósforo y nitrógeno, que las microalgas utilizan como nutrientes.
2. Biorremedia el efluente, eliminando microorganismos patógenos y reduciendo los niveles de coliformes fecales y totales, debido a la elevación de pH del medio, también por acción de la fotosíntesis.
3. Se obtienen bioproductos de interés comercial e industrial a partir de la biomasa [3].
4. Se obtiene biomasa que puede ser utilizada para la generación

de energía (bioetanol, crudo verde).

La biorremediación con microalgas, ofrece atractivas ventajas, ya que si bien hay disponibles tecnologías físicas y químicas de remoción de nutrientes, éstas consumen cantidades significativas de energía y de compuestos químicos, haciéndolos procesos costosos. Por otro lado, el tratamiento químico a menudo conlleva a una contaminación secundaria por los barros producidos, creando problemas adicionales de disposición final segura y sustentable.

Dado que esta es una tecnología en desarrollo que debe ser probada en cada condición real local, es imprescindible la financiación por parte de los organismos que fomentan el desarrollo de ciencia y tecnología, ya que la mayoría de las empresas tienen una inversión baja en lo que respecta al tratamiento de efluentes y la investigación en la temática representa un gasto poco atractivo para las mismas.

El principal objetivo del proyecto mencionado en este trabajo es diseñar, planificar y construir una planta piloto de validación de la tecnología de tratamiento de efluentes cloacales en simultáneo con la obtención de biomasa microalgal de interés, en el Municipio de San Martín. Las actividades y metas de la primera etapa del proyecto, que son las que se describen en esta presentación, fueron: estudiar qué microalga se adapta mejor al efluente en cuestión, evaluar en escala laboratorio y semi-piloto el desempeño de las mismas para biorremediar el efluente, realizar análisis al efluente antes y después de ser tratado, y analizar la biomasa obtenida.

Todo ello fue posible dado el proyecto marco en el cual interactuaron Universidad, Empresa y Estado.

## DESARROLLO

La interacción entre el Centro de Investigación en Química Orgánica Biológica de la Universidad Tecnológica Nacional, la empresa de Aguas de la Provincia de Chaco y el municipio de la localidad de Gral. Libertador San Martín, permitió llevar a la práctica en un caso de efluentes cloacales reales el diseño y posterior experimentación de un cultivo de microalgas en aguas residuales, y fue posible gracias a la presencia del Estado, en esta oportunidad, representado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología, a través de una línea de financiamiento.

La empresa SAMEEP está encargada de proveer el servicio de agua y del tratamiento de efluentes en la provincia del Chaco, dentro de la cual se encuentra la localidad de San Martín. El Centro de investigación QUIMOBÍ, por su parte, tiene amplia experiencia en el cultivo de microalgas y el procesamiento de la biomasa algal con vistas a una biorrefinería.

El Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva de la Nación a través de una línea de financiamiento denominada Proyecto Federal de Innovación Productiva - Medio Ambiente y Energías Alternativas (PFIP- MAE 2016) permitió la presentación del proyecto "Biorremediación con microalgas de los efluentes del municipio de Gral. San Martín, Chaco". En esa convocatoria, la empresa SAMEEP presentó el proyecto mencionado, en carácter de beneficiario. Dicho proyecto fue evaluado por el comité correspondiente y adjudicado a la empresa.

La Universidad Tecnológica Nacional cumple el rol de brindar soporte técnico y académico durante todo el desarrollo del proyecto a través del Centro QUIMOBÍ.

Una vez adjudicado el proyecto, fue necesario esperar un año y medio para

la acreditación de los fondos, a partir de los cuales, la primera etapa experimental consistió en la caracterización del efluente y selección de cepa que mejor se adaptaba al mismo.

El cultivo de microalgas se realizó en primera instancia en una escala de laboratorio hasta fotobiorreactores cerrados de 5 litros (Fig. 1), en las instalaciones del Centro de Investigación QUIMOBÍ, en la Facultad Regional Resistencia. Esto permitió obtener una multiplicación de las células y por ende, de la biomasa microalgal que mejor se adaptaba al efluente. Esta etapa se realizó en pequeña escala, no obstante, durante la misma se observaron indicios de la biorremediación del efluente.



**Fig. 1: Primera etapa del proyecto: Cultivo en fotobiorreactores cerrados de 5 litros y determinación de la cepa que mejor se adapta al medio.**

La siguiente etapa consistió en el cultivo de microalgas en estanques abiertos agitados tipo raceway [2] ó "piletones" de 200 litros (Fig. 2). Para esta instancia se construyó un sistema de bombeo que alimenta a los piletones con efluente cloacal traído de San Martín, el cual se almacenó en un tambor de 200 litros.

Todos los cultivos fueron realizados en condiciones ambientales de temperatura, humedad, y no se realizaron correcciones de pH ni de nutrientes, porque se buscó estudiar la adaptación de las microalgas al ambiente para emular las condiciones

que tendrían en una planta de tratamiento en San Martín.



**Fig. 2: Estanques abiertos agitados de 200 litros con cultivo microalgal en efluentes del municipio de Gral. San Martín. Los mismos están instalados en el techo de la Facultad Regional Resistencia.**

En esta etapa la necesidad de efluente como sustrato para las microalgas se vió incrementada, por lo cual se realizaron viajes a la localidad de San Martín para llevar efluente desde allí al Centro de Investigación en Resistencia, cada 15 días. Se realizaron viajes con este fin, entre el personal de SAMEEP y encargados del Centro de investigación con el objetivo de recolectar y transportar efluente en bidones de 25 litros (Fig. 3). Para realizar el trabajo se utilizaba una bomba manual y el personal debía estar equipado con trajes de seguridad.



**Fig. 3: Estudiantes avanzados de Ingeniería Química de la Universidad Tecnológica Nacional, Centro QUIMOBÍ, cargando los recipientes con efluente cloacal en la localidad de Gral. San Martín.**

En todas las etapas se realizaron recuento de células microalgales, gráfico de las curvas de crecimiento, medición de pH, caracterizaciones del efluente previo al cultivo y seguimiento

de su composición a lo largo del cultivo así como caracterización de la biomasa obtenida.

Un problema de este tipo de efluentes son sus elevados niveles de carga orgánica, fósforo y nitrógeno, como así también la gran cantidad de microorganismos, muchos de los cuales pueden llegar a ser patógenos. Dichos microorganismos son bacterias pertenecientes a los géneros: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter* (coliformes totales) y hay un subgrupo denominado coliformes fecales al cual pertenecen principalmente la *E. coli* y algunas cepas de *Klebsiella* y *Enterobacter*. A modo de ejemplo de algunos de los parámetros que se seguían, carga microbiana, véase la Tabla 1.

*Tabla 1: Disminución de la carga microbiana en el efluente cloacal de la localidad de Gral. San Martín, Chaco, antes y después de ser tratado mediante el cultivo de microalgas realizado en el Centro de Investigación QUIMOBÍ (UTN).*

		Efluente	
		Sin tratar	Tratado
Coliformes totales	(NMP/100mL)	$1,1 \times 10^5$	480
Coliformes fecales		$1,1 \times 10^5$	23
Aeróbios mesófilos	(UFC/mL)	$3,9 \times 10^5$	$1,9 \times 10^2$
Mohos y levaduras		$4,7 \times 10^5$	$1,35 \times 10^2$

La elevación de pH propia del cultivo de microalgas así como la producción de oxígeno producto de la fotosíntesis, son los procesos naturales de los cultivos de microalgas que redundan en una depuración del efluente, por ejemplo, la disminución de la carga microbiana.

El cultivo sufrió diferentes inconvenientes que provocaron un retraso en los escalados. El mayor problema surgió con la proliferación de

otros microorganismos (protozoos) competidores que provocaron la senescencia del cultivo, lo que implicó comenzar el cultivo, nuevamente, desde la etapa de laboratorio.

Los emergentes que fueron surgiendo a lo largo de la primera etapa del proyecto permitieron al grupo de alumnos y profesionales involucrados conocer qué medidas tomadas no eran las adecuadas para este cultivo y de esta manera obtener un plan de acción mucho más acorde a los requerimientos de las microalgas en dicho efluente, como ser una mejor agitación diaria o la implementación de luz artificial para recuperar un cultivo que comienza la fase estacionaria para evitar la posterior muerte celular

Durante la ejecución de estas etapas se presentaron varios desafíos, entre ellos, comenzó la pandemia de Covid19, lo que provocó que cesaran las actividades de laboratorio, por lo que el cultivo de microalgas se vio interrumpido. Durante la etapa de aislamiento obligatorio, algunos estudiantes y otros miembros del centro de investigación llevaron a sus domicilios botellones que contenían 5 litros de cultivo y el desafío fue de mantener vivas esas microalgas durante el lapso de tiempo que durase el cese de actividades en el laboratorio, para que una vez que se retomen nuevamente no se tenga que comenzar el cultivo desde cero.

## CONCLUSIONES

En un momento histórico donde la filosofía de una economía circular comienza a ser indispensable en el mundo, el cultivo de microalgas en un efluente cloacal con el doble propósito de depurar el efluente y producir biomasa de valor comercial es la teoría llevada a la práctica: utilizar como materia prima un líquido que es propiamente un desecho, a partir del



cual se pueden obtener productos con valor agregado.

Esto representa un incentivo para que se lleven a cabo interacciones empresa-estado-universidad para que el tratamiento de efluentes comience a verse más como una inversión con beneficios tangibles que como un gasto del cual no se pueden obtener productos ni sacar ningún rédito.

Los resultados obtenidos en cuanto al tratamiento de efluente fueron satisfactorios porque se demostró que es posible biorremediar el mismo bajando en gran porcentaje la cantidad de coliformes, aerobios mesófilos, mohos y levaduras. También se obtuvo biomasa rica en proteínas y carbohidratos así como algunos lípidos (investigación en curso, datos no publicados).

Además este tipo de interacción permitió a los estudiantes de la universidad interiorizarse en una experiencia profesional, para muchos la primera, con la planificación de un proyecto y la ejecución del mismo. Los estudiantes tuvieron que realizar actividades dentro de la parte técnica: en el laboratorio realizando análisis, ensayos y trabajo de campo; y dentro de la gestión: realizando planificaciones, gestionando materiales y comunicándose con gente de la empresa.

La próxima etapa del proyecto consiste en la construcción y ejecución de un sistema de lagunas fotosintéticas (escala piloto para validación de la tecnología in situ) en el Municipio de Gral. San Martín y un sistema de recuperación de la biomasa para su análisis.

La compra de insumos para estas lagunas fotosintéticas ya fue efectuada y actualmente se encuentra en etapa de construcción. Se prevé que se ponga en funcionamiento a finales del 2021.

## REFERENCIAS

- [1] Zouhayr Arbiba, Jesús Ruiz (2013). Long term outdoor operation of a tubular airlift pilot photobioreactor and a high rate algal pond as tertiary treatment of urban wastewater. *ELSEVIER Ecological Engineering* 52. 143-153
- [2] Ignacio de Godos, Saúl Blanco (2009). Long-term operation of high rate algal ponds for the bioremediation of piggery wastewaters at high loading rates. *ELSEVIER Bioresource Technology* 100. 4332-4339.
- [3] Sofie Van Den Hende, Veerle Beelen (2016). Technical potential of microalgal bacterial floc raceway ponds treating food-industry effluents while producing microalgal bacterial biomass: An outdoor pilot-scale study. *ELSEVIER Bioresource Technology* 218. 969-979.