



Bertha Olivia Arredondo Vega, Rosa Nallely Vazquez Perez
y Fredy Hernandez Uribe

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

kitty04@cibnor.mx, kittybcs2005@yahoo.com.mx



Resumen

Las microalgas y cianobacterias son organismos unicelulares fotosintéticos que se localizan en diferentes habitats. Son capaces de acumular metabolitos como los ácidos grasos esenciales $\omega 3$ y $\omega 6$, pigmentos entre otros, que tienen aplicación en diferentes campos de investigación y biotecnología. El objetivo del trabajo fue cultivar *Porphyridium cruentum* (ficoeritrina), *Neochloris oleoabundans* (ácidos grasos, biodiesel), *Haematococcus pluvialis* (astaxantina) y *Spirulina maxima* (ácidos grasos y ficocianina) en las siguientes condiciones: temperatura $23 \pm 1^\circ\text{C}$, ciclo luz-oscuridad 12:12, intensidad luminosa ($100 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$); pH 7.5-8 (microalgas) y 10.5-11.0 (*Spirulina maxima*); aireación continua con pulsos de CO_2 . Para la extracción y cuantificación de los metabolitos se aplicaron los protocolos previamente estandarizados en nuestro laboratorio. Se sugiere el escalamiento masivo en condiciones ambientales para obtener biomasa rica en estos componentes para darles un valor agregado en diferentes productos.

Palabras clave: microalgas, cianobacterias, metabolitos, valor agregado.

Abstract

Microalgae and cyanobacteria are unicellular photosynthetic organisms that are found in different habitats. They are capable of accumulating metabolites such as essential fatty acids $\omega 3$ and $\omega 6$, pigments and others, which have application in different fields of research and biotechnology. The objective was to cultivate *Porphyridium cruentum* (phycoerythrin), *Neochloris oleoabundans* (fatty acids, biodiesel), *Haematococcus pluvialis* (astaxanthin) and *Spirulina maxima* (fatty acids and phycocyanin) under the following conditions: temperature $23 \pm 1^\circ\text{C}$, light cycle-12:12 dark, light intensity ($100 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$) pH 7.5-8 (microalgae) and 10.5-11.0 (*Spirulina maxima*); continuous aeration with CO_2 pulses. For the extraction and quantification of metabolites, standardized protocols, in our laboratory, were applied. Scaling is suggested massive environmental conditions for biomass rich in these components to give them added value in different products.

Key words: microalgae, cyanobacteria, metabolites, value added.

Área temática: Área 6. Biotecnología y Ciencias Agropecuarias.

Problemática

A pesar de contar con especies de microorganismos con potencial aplicación para la obtención de biomasa y metabolitos de interés, se requiere establecer las condiciones de cultivo para su posterior escalamiento de producción. En el Programa de Acuacultura del CIBNOR, el Laboratorio de Biotecnología de Microalgas está enfocado hacia el estudio de cepas de microalgas nativas de la región y/o del país, por lo que desde el 2008 se retomó el aislamiento de éstos de diferentes cuerpos de agua. Tras su adaptación al laboratorio y a diferentes medios de cultivo y temperatura, se ha requerido atender la problemática del escalamiento de algunas de ellas en condiciones ambientales para su valoración y rendimiento anual en la calidad de la biomasa, así como en la producción de lípidos (con potencial para la obtención de biodiesel), ácidos grasos esenciales (ARA, EPA, DHA) y pigmentos (astaxantina, ficocianina y ficoeritrina).



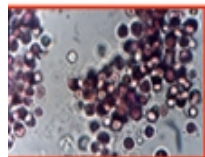
Figura 1. Sitios de muestreo de microalgas nativas de nuestra región. A) Salinera del Puerto de Pichilingue (*Dunaliella* sp.), B) Estanques CIBNOR (diatomeas).

Usuarios

Dependencias federales como SAGARPA, SENER, Secretaría de Economía, SEMARNAT, Instituciones de Educación Superior y Centros de Investigación.

Proyecto

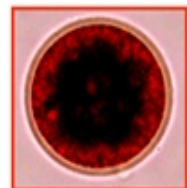
Desde la antigüedad, los microorganismos han desempeñado un papel importante en la alimentación del humano. Su consumo data desde hace miles de años, en China se remonta al año 2700 a.C., los griegos y los romanos los usaban como alimento, forraje, medicina y en cosmética. En México, los aztecas recolectaban del lago de Texcoco la *Spirulina* (que denominaban cocol, tecuitlalt o amomoxtle) misma que formó parte de su dieta (Arredondo-Vega y Vázquez-Duhalt, 1992; Arredondo-Vega, 2005). Las microalgas y cianobacterias son organismos unicelulares fotosintéticos que habitan diferentes ambientes acuáticos como el marino, salobre, dulceacuícola así como el terrestre. Juegan un papel importante en la cadena trófica ya que constituyen el alimento de especies larvianas de peces, crustáceos y moluscos. Se les considera responsable de la mitad de la productividad primaria global en los ecosistemas marinos. Actualmente se reconoce la importancia de distintas especies de microalgas como fuente natural de aceite para la conversión a biodiesel así como para la obtención de compuestos susceptibles de ser considerados como ingredientes funcionales, tales como: los ácidos grasos esenciales altamente insaturados (HUFA, por sus siglas en inglés) de la familia ω -3 y ω -6: ARA (C20:4 ácido araquidónico), EPA (C20:5 ácido eicosapentaenoico) y DHA (C22:6 ácido docosahexaenoico); antioxidantes (liposolubles como carotenoides y tocoferoles); antioxidantes (hidrosolubles como los polifenoles, el complejo de las ficobiliproteínas -ficocianina y ficoeritrina- y vitamina C). Las ficobiliproteínas tienen varios usos, como colorante natural para cosmética y en alimentos, como sonda fluorescente en técnicas fluorométricas. Por otro lado, estudios recientes han demostrado sus propiedades como hepatoprotectoras, antiinflamatorias y antioxidantes, así como en el uso en terapias para el tratamiento de algunos tumores cancerígenos y en el tratamiento de leucemia (Simo et al, 2005). Otros metabolitos de interés los constituyen los polisacáridos sulfatados que presentan propiedades antivirales, los esteroides como antimicrobianos, ácidos grasos con actividad antibiótica (Ozdeimer et al., 2004; Mendiola et al., 2005, 2007).



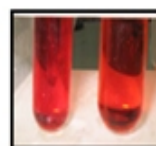
Porphyridium cruentum



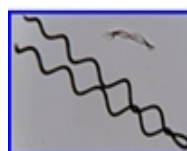
ficoeritrina



Haematococcus pluvialis



astaxantina



Spirulina maxima



ficocianina

Figura 2. Pigmentos extraídos de *P. cruentum*, *H. pluvialis* y *S. maxima*.

Basado en lo antes mencionado, el objetivo del trabajo se centró en cultivar en condiciones de laboratorio, tres microalgas de diferente hábitats (Fig.1) (*Porphyridium cruentum*, *Nannochloropsis oculata*, *Neochloris oleoabundans*, *Haematococcus pluvialis*) y la cianobacteria *Spirulina maxima*, para evaluar la producción de los pigmentos y así como el biodiesel. En el caso del biodiesel, la calidad se estima a partir del perfil cuantitativo de los ácidos grasos de las microalgas y se aplica la ecuación desarrollada por Bamgboye y Hansen (2008). Las condiciones metodológicas del estudio incluyeron:

Organismos y condiciones de cultivo. *Porphyridium cruentum* (UTEX 161), *Nannochloropsis oculata* (UTEX LB2164), *Neochloris oleoabundans* (UTEX 1185) y *Spirulina maxima* (UTEX LB 2342) fueron adquiridas de The Culture Collection of Algae y mantenidas en el cepario del CIBNOR. *Haematococcus pluvialis* fue donada por el Dr. Fábregas de la Universidad de Santiago de Compostela, España en 1995. Los medios de cultivo utilizados fueron f/2 (Guillard y Ryther, 1962) para *P. cruentum*, *N. oculata* y *N. oleoabundans*; Bold 3N (UTEX) para *H. pluvialis* y Jourdan (2006) para *S. maxima*. Las condiciones de cultivo aplicadas fueron a temperatura $23 \pm 1^\circ\text{C}$, ciclo luz-oscuridad 12:12, intensidad luminosa ($100 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$); pH 7.5-8 (microalgas) y 10.5-11.0 (*Spirulina maxima*); aireación continua con pulsos de CO_2 .

Análisis de la biomasa y metabolitos. Las biomásas de las microalgas y la cianobacteria se cosecharon por centrifugación (2500 rpm/10 min/ 10°C) y se lavaron con formato de amonio (*N. oculata* y *P. cruentum*) y con agua destilada (*N. oleoabundans*, *H. pluvialis* y *S. maxima*) para eliminar las sales y se liofilizaron para posteriormente analizar de acuerdo a los protocolos previamente estandarizados (Arredondo Vega y Voltolina, 2007). Para estimar el número de cetano en el biodiesel obtenido de las microalgas *N. oculata* y *N. oleoabundans* se aplicó la ecuación definida por Bamgboye y Hansen (2008).

Como parte de los resultados más relevantes, en la figura 2 se muestran los pigmentos extraídos de *P. cruentum* en donde la ficoeritrina estuvo entre 18 y 20% del peso seco; en *H. pluvialis* la astaxantina estuvo entre el 12-15% del peso seco y en *S. maxima* la ficocianina estuvo entre el 18-20% de su peso seco. El biodiesel obtenido a través de la reacción de esterificación de los ácidos grasos de *N. oculata* (A) y *N. oleoabundans* (B) se muestra en la figura 3.



A



B

Figura 3. Biodiesel obtenido de (A) *N. oculata* y (B) *N. oleoabundans*.

En cuanto a la estimación del CN (cetane number) se obtuvo que para el caso de *N. oculata* estuvo entre 52 ± 1 y para *N. oleoabundans* entre 54 ± 1 . De acuerdo a los estándares de nuestro país los valores de CN deben de estar entre 52 y 55, por lo que los resultados obtenidos con las microalgas cultivadas quedan dentro del rango aceptado.

Impacto socioeconómico

El estudio de microalgas y cianobacterias de diferentes hábitats resulta importante por las siguientes razones:

- 1). El cultivo masivo en un plano industrial puede ser un recurso atractivo para la valoración de zonas áridas y semiáridas como lo es el Estado de Baja California Sur.
- 2). Además, de la producción de aceite que podría utilizarse para la obtención de biodiesel y/o como grado alimenticio, se puede obtener cantidades considerables de proteína para ser utilizada como complemento alimenticio para el hombre.
- 3). Otros compuestos de alto valor agregado se pueden extraer de la biomasa de las microalgas, son los ácidos grasos esenciales como el ARA, EPA y DHA que pueden utilizarse como complemento alimenticio o incorporarlas en leche en polvo para niños.
- 4). La extracción de pigmentos como los carotenos, la ficocianina y ficoeritrina pueden utilizarse en la industria de los alimentos como colorantes naturales así como complemento alimenticio para el hombre, por su capacidad antioxidante.

El Programa de Acuacultura del CIBNOR, cuenta con el Laboratorio de Biotecnología de Microalgas altamente calificado para el escalamiento para la producción de lípidos (con potencial para la obtención de biodiesel), ácidos grasos esenciales (ARA, EPA, DHA) y pigmentos (astaxantina, ficocianina y ficoeritrina).

Agradecimientos: La autora agradece el financiamiento al proyecto fiscal AO.2 y al proyecto CONACYT-PROINNOVA clave 935.

Contacto: <http://pcti.mx>, hnolasco2008@hotmail.com