TALLER TEMÁTICO INTERACTIVO-TTI Macro y microalgas como fuente de bioproductos e ingredientes nutricionales en acuicultura







Producción en fotobiorreactores: tipología y características, parámetros de control, rendimiento, cosechado y procesado y caracterización nutricional del producto. Fases del

bioproceso experimental



NE SAP

María del Carmen Cerón García

mcceron@ual.es





Vigo, 26 de septiembre de 2019

Grupo de Biotecnología de Microalgas marinas BIO-173 Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Almería, 04120 Almería, Spain

ASPECTOS GENERALES DEL DISEÑO DE FOTOBIOREACTORES

La selección del fotobioreactor es función de la aplicación

Compuestos puros: EPA, AA, DHA Astaxantina Beta-caroteno Luteína Ficocianinas Ficoeritrinas

Biomasa Alimento animal Acuicultura Alimentos funcionales



Biocombustibles Biodiesel Bioetanol Biogás Biofertilizantes Bioestimulantes

Bioremediación Gases de combustión Agua residual Suelos

TECNOLOGÍA DE PRODUCCIÓN PROCESADO DE LA BIOMASA

ASPECTOS GENERALES DEL DISEÑO DE FOTOBIOREACTORES

Simple

Complejo





Entre dos opciones la más simple siempre es la más adecuada

ASPECTOS GENERALES DEL DISEÑO DE FOTOBIOREACTORES

Disponibilidad de radiación solar





La disponibilidad de radiación solar determina la productividad máxima de biomasa que puede alcanzarse.

La radiación solar en zonas templadas es de 250 W/m², equivalente a 21.6 MJ/m²·día o 2160 kWh/m²·año

Considerando un 5% de eficiencia fotosintética y un calor de combustión de la biomasa de 20 MJ/kg, hasta 190 t/ha·año de biomasa se puede producir en zonas templadas

Productividad de biomasa máxima



- La producción máxima de biomasa está limitada a 54 g/m²·día en zonas templadas, por lo que la productividad máxima por unidad de volumen está determinada por la relación V/S del reactor
- Si se opta por reactores con alta relación V/S la productividad volumétrica es baja (0.27 g/L·día para V/S=200 L/m²)
- Si se opta por reactores con baja relación V/S la productividad volumétrica es alta (1.69 g/L·día para V/S=25 L/m²)

Volumen de reactor y cosechado requeridos





La velocidad especifica de crecimiento de las microalgas es del orden de 1 día⁻¹, y como la máxima producción de cualquier microorganismos se obtiene para una velocidad de dilución igual al 50% de la velocidad especifica máxima, se puede aproximar que la dilución óptima en reactores de microalgas es de 0.4 día⁻¹

Teniendo en cuenta este valor de velocidad de dilución óptima, tanto el volumen de reactor como el de cosechado necesarios para producir una unidad de masa de microalgas quedan definidos por la relación V/S del reactor

Escala de reactores abiertos y cerrados

Agricultura	Gran escala	Convencional	Micro-escala		
Sistemas abiertos (Raceway)	> 100 ha	> 10 ha	> 1 ha		
Sistemas cerrados > 1.000 m ³ (Fotobioreactores)		> 100 m ³	> 10 m ³		
Biotecnología industrial	Fermentación a gran escala	Fermentación convencional	Laboratorio y escala piloto		
Sistemas cerrados (Fermentadores)	> 1.000 m ³	> 100 m ³	> 10 m ³		

Vítor Verdelho Vieira (2014) Microalgae for Fuels and Beyond: the leading trends in 2013; International Society for Applied Phycology Newsletter, pp 5-17.

Fotobioreactores abiertos y cerrados

Reactores abiertos (contacto directo entre el cultivo y el ambiente)

- Gran escala
- Baja concentración de biomasa
- Bajo coste de producción
- Baja capacidad de control
- Alto riesgo de contaminación
- Válido sólo para cepas tolerantes a condiciones extremas

Fotobiorreactores cerrados (cultivo separado del ambiente exterior)

- Pequeña escala
- Alta concentración de biomasa
- Alto coste de producción
- Alta capacidad de control
- Bajo riesgo de contaminación
- Válido para cualquier cepa





Reactores abiertos: Raceways





Productividad de biomasa 0.015 kg/m²·día (~45 ton/ha·año) <u>Concentración de biomasa</u> 0.5 kg/m³ (0.25 kg/m³) <u>Relacion volumen /superficie</u> 0.2-0.4 m³/m²

Fotobioreactores cerrados: Columnas de burbujeo







Fotobioreactores cerrados: Reactores tubulares







Productividad de biomasa 0.050 kg/m²·día (~100 ton/ha·año) Concentración de biomasa 3.0 kg/m³ (1.5 kg/m³) Relación volumen/superficie 0.04-0.08 m³/m²

Fotobioreactores cerrados: Reactores planos





Productividad de biomasa

0.035 kg/m²·día (~80 ton/ha·año) <u>Concentración biomasa</u> 2.0 kg/m³ (1.0 kg/m³)

Relación volumen/superfice



CONTROL DE FOTOBIOREACTORES

¿Porqué es necesario mover y controlar la temperatura de los cultivos de microalgas?



Copyright © Ron Leishman * http://ToonClips.com/9599

Para maximizar el rendimiento de los cultivos es necesario optimizar tanto la transferencia de materia, como la fluidodinámica y temperatura del cultivo



Relationship between major factors influencing the biomass productivity of microalgal mass cultures (from E. Molina Grima 1999, Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis and Bioseparations. 1753-1769)

NECESIDAD DEL SUMINISTRO DE ENERGÍA

Suministro de energía

Se debe suministrar energía para:

- 1. Aumentar la transferencia de masa y evitar niveles tóxicos de oxigeno
- 2. Reducir los gradientes de nutrientes en el cultivo
- 3. Evitar la sedimentación de las células en el reactor
- 4. Forzar las células a moverse entre las zonas iluminadas y oscuras del reactor

Se puede suministrar energía mediante:

- 1. Burbujeo de aire
- 2. Agitación mecánica
- 3. Impulsión del fluido

La energía suministrada puede dañar las células por:

- 1. Interacciones burbuja-célula
 - a. En los orificios de inyección de gas
 - b. Por choque o coalescencia de burbujas
 - c. Explosión de burbujas en la superficie
- 2. Interacciones de las células cono partes mecánicas
- 3. Interacciones célula-pared
- 4. Interacciones célula-liquido







NECESIDAD DEL CONTROL DE TEMPERATURA

Control de temperatura

Importancia del control de temperatura:

Para maximizar el rendimiento de los cultivos se debe mantener la temperatura óptima, pero sobre todo es necesario disponer de mecanismos de control de la temperatura para evitar el sobrecalentamiento de los mismos que puede conducir a la muerte del cultivo





Principales factores a tener en cuenta:

- 1. La temperatura óptima y el rango de temperaturas tolerables por la cepa
- 2. La fuente de frio/calor a utilizar
- 3. El equipo de transferencia de calor requerido

Diseño del reactor raceway



Ostwald, W.J. (1988) Microalgal Biotechnology, eds. Borowitzka and Borowitzka, pp 357-94, Cambridge University Press, Cambridge.

Circulación del cultivo en reactores raceway



Ostwald, W.J. (1988) Microalgal Biotechnology, eds. Borowitzka and Borowitzka, pp 357-94, Cambridge University Press, Cambridge.





Influencia de la velocidad del liquido en el consumo de energía



Consecuencias de inadecuada mezcla



Consecuencias de baja mezcla:

- Reducción de ciclos luz/oscuridad.
 - Optimo: 0.3-1.0 s⁻¹
 - Real: 0.01-0.03 s⁻¹



Baja productividad

SUMINISTRO DE ENERGÍA EN TUBULARES

Consumo de energía



El consumo de energía es función del diámetro del tubo y velocidad del liquido

$$\frac{P_2 - P_1}{\rho} + \left(\frac{v_2^2}{2\alpha_2} - \frac{v_1^2}{2\alpha_1}\right) + g(z_2 - z_1) + \Sigma F - W = 0$$
$$\left(\frac{v_2^2}{2\alpha_2}\right) + \Sigma F = W$$

La utilización de elevados diámetros de tubo y bajas velocidades de circulación favorecen la disminución del consumo de energía



SUMINISTRO DE ENERGÍA EN TUBULARES

Airlift versus bomba centrífuga



 Utilizando bomba centrifuga se puede alcanzar una velocidad de 0.9 m/s

•El tiempo de mezcla es menor de 24 h

Transferencia de materia Airlift mode 0,05 0.05 0 0.04 $^{\circ}$... Kal, 0,03 0.02 0,01 0 0,00 0 100 200 300 400 500 600 700 A Ir flow rate . L m h 0,12 **Centrifugal pump** Δ 0.10 0,08 â o Downcomer w, 0,06 Aal, Riser 88 ∆Downcomer+riser α 0,04 0,02 0,00 n 100 200 300 400 500 600 700 Air flow rate, L min

El coeficiente de transferencia de masa es mucho mayor cuando se utiliza bomba centrífuga
En todo caso, es siempre necesario aportar aire para al desorción de oxigeno en la columna de burbujeo

La circulación del cultivo se puede conseguir tanto neumáticamente como mediante bombas centrifugas

SUMINISTRO DE ENERGÍA EN TUBULARES

Influencia del suministro de energía en la productividad del reactor

Comparación: bomba centrifuga versus reactor airlift

MODO AIRLIFT :

Date	Dilution, 1/h	lo, µEm⁻²s⁻¹	lav, μEm ⁻² s ⁻¹	DO ₂ , %Sat.	рН	Temp., °C	Cb, gL ⁻¹	Pb, gL ⁻¹ day ⁻¹	Efficiency, % global radiation
14-April	0.03	581	114	272.0	8.25	24.3	0.99	0.26	1.3
25-April	0.03	836	105	244.4	8.03	24.0	1.44	0.38	1.7
2-May	0.03	582	117	251.9	8.24	20.8	0.88	0.18	1.7
11-May	0.04	650	203	194.0	7.84	22.6	0.63	0.23	1.0

MODO BOMBA CENTRIFUGA:

Date	Dilution, 1/h	lo, µEm⁻²s⁻¹	lav, μEm ⁻² s ⁻¹	DO2, %Sat.	рН	Temp., °C	Cb, g L ⁻¹	Pb, gL ⁻¹ day ⁻¹	Eficiency, % global
7-April	0.042	523	40	236	8.13	26.8	2.18	1.05	5.9%
16-April	0.042	631	44	258	8.05	28.4	2.41	1.16	5.2%
12-May	0.048	570	52	285	8.02	23.1	2.30	1.10	4.1%

Cuando se utiliza bomba centrífuga la velocidad del liquido es mayor y se obtienen mayores productividades así como eficiencia de utilización de la luz

ENSUCIAMIENTO EN TUBULARES



Figura. (A1 y B1) Fotografía de los dos PBR tubulares externos utilizados para el cultivo de la microalga marina *N. gaditana* pocos días después de la inoculación. Los segmentos de tubos y codos entre las juntas azules están hechos de vidrio (VIDRIO). El resto del circuito del fotobiorreactor está construido por polimetacrilato (PMMA). (La longitud del circuito del tubo es de 168 my el diámetro interior de los tubos de vidrio y PMMA es de 42 y 50,4 mm, respectivamente). (A2 y B2) Detalle del biofouling formado después de dos y tres meses ininterrumpidos de cultivo, respectivamente. En la figura A2, también se puede ver el biofouling en los codos de vidrio y PMMA colocado en el primer reactor.

BÚSQUEDA DE MATERIALES





Proyectos RTI2018-101891-B-100, CTQ2013-46552-R y CTQ2014-55888-C3-02 y el Programa del Fondo Europeo de Desarrollo Regional.

El Cosechado de microalgas es uno de las mas difíciles problemas, y menos satisfactoriamente resuelto, en el cultivo masivo de microalgas

El Cosechado de biomasa puede ser un *gran problema,* debido a: (i) el pequeño tamaño de las celulas $(2-15 \mu m \text{ diametro})$, (ii) su baja velocidad de sedimentación por gravedad(<10-5 ms-1), y (iii) la baja concentración de la biomasa en el medio de cultivo (<5 kg m-3 biomasa soco)

biomasa seca).



La mayoría de los sistemas comerciales existentes utilizan la centrifugación para la cosecha, pero esta es una operación costosa adecuada solo para productos de alto valor.

Para productos de mediano y bajo costo se requiere una etapa de preconcentración, por ejemplo, combinando la coagulación-floculación con flotación o sedimentación, además de una etapa final de deshidratación por filtración o centrifugación.



Para los "commodities", la elección de la tecnología de cosechado tiene que ser energéticamente eficiente y barata.. ¿Cual debe ser la elección?... Parece que hay consenso de que...

Coagulación-floculcación con sedimentación (o flotación) seguido de una concentración posterior de la suspensión por centrifugación o filtración

COAGULACIÓN-FLOCULACIÓN



Bioresource Technology Volume 118, August 2012, Pages 102-110



Evaluation of flocculants for the recovery of freshwater microalgae

M.R. Granados, F.G. Acién A B, C. Gómez, J.M. Fernández-Sevilla, E. Molina Grima El Show more https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.018 Get rights and content FLOCULACIÓN DECANTACIÓN DECANTACIÓN

- ✓ Coagulación: Adición de floculante para desestabilizar la doble capa eléctrica que rodea las células (~ segundos) y la formación de núcleos microscópicos, bajo INTENSA DE AGITACIÓN
- ✓ Floculación: Agregación de las células desestabilizadas en flóculos (~20-30 min), bajo SUAVE AGITACIÓN.

Tres pasos: (I) mezclar el coagulante; (II) Crecimiento de los floculos y (III) sedimentación

- Fácil con algas de agua de agua dulce
- Necesita coagulantes (sales metálicas, polielectroilitos, etc)

... sea cual sea el método, encontrar el pH adecuado, ayuda al proceso.

COAGULACIÓN-FLOCULACIÓN-SEDIMENTACIÓN

La dosis óptima de coagulante depende de la microalga en cuestión, del medio de cultivo, de la concentración celular, de densidad de carga de la superficie de la célula, del coagulante que se utilice y dosis del mismo, de la intensidad de la agitación, y DEBE determinarse caso por caso (método de Kinch-Robert)



COAGULACIÓN-FLOCULACIÓN-SEDIMENTACIÓN



El resultado final es un lodo con una conc celular de entre 20-40g/L

El área de la sección transversal de los decantadores es demasiado alta. Esa es la razón por la cual los decantadores lamelares se han desarrollado ya que estos, necesitan mucho menos espacio para la mismo caudal de cultivo de entrada, Lo, y concentración de biomasa <u>Co.</u>

FILTRACIÓN DE LODOS DE BIOMASA

- Los lodos obtenidos suelen ser bastante viscosos.
- Se requiere una presión relativamente alta para filtrar la suspensión de microalgas

$$\frac{1}{A}\frac{dV}{dt} = \frac{\Delta P}{\frac{\mu\alpha SV}{A} + \mu\beta}$$

 ΔP rara vez es mayor que 4-5 kg·cm⁻² debido al alto consumo de energía de presiones más altas y la sensibilidad de los biomateriales a una presión excesiva

- El volumen total del lodo de biomasa se reduce un 97%.
- La recuperación de la biomasa es superior al 98% y la concentración de la torta es muy alta.

La velocidad de filtración es ^{ca} mayor cuando se usa lodo de biomasa que cuando se usa el caldo de cultivo original. La tasa de filtración fue sobre 60 g m⁻² min⁻¹



CENTRIFUGACIÓN DE LODOS DE BIOMASA

La recuperación de biomasa en una centrífuga depende de: (i) la velocidad de sedimentación de biomasa, (ii) el tiempo de residencia de la biomasa dentro del campo centrífugo, y (iii) la distancia a recorrer por la biomasa dentro de ese campo centrifugo hasta sedimentarse

$$v_{g} = \frac{\left(\rho_{p} - \rho_{f}\right)d_{p}^{2}\omega^{2}r}{18\,\mu_{f}}$$

$$Z = \frac{\omega^{2}r}{g} \quad Q = \frac{v_{g}\cdot\Sigma}{\eta}$$

$$\frac{Q_{1}}{\Sigma_{1}} = \frac{Q_{2}}{\Sigma_{2}} \quad \text{La re}$$

$$\cdot \text{ La code 35}$$

Flottweg

donde $\omega = \pi N/30$

El consumo de energía de una centrifugación convencional está alrededor de 1-8 kWh·m⁻³ de suspensión de microalgas, similar a 1-6 kWh·m⁻³ para filtration a vacío

- La reducción en el volumen es un 97%.
- La concentración de la torta es de más de 350 g/L
- El rendimiento de recuperación de biomasa sobre 99%.

SECADO EN SPRAY Y LIOFILIZACIÓN





SECADO EN SPRAY

- Altas velocidades de evaporación
- Flujo de aire suele ser ciclónico
- Dimensiones de la cámara de secado para que las gotas no alcancen las paredes hasta que estén suficientemente secas

LIOFILIZACIÓN

- Lodo de la centrifugación/filtración se distribuye en bandejas con concentración de 150 g/L
- En el liofilizador, el lodo se congela y a vacio se produce la sublimación del agua
- El resultado es una torta seca con una granulometría muy heterogenea que se muele para reducir el tamaño

PRETRATAMIENTO DE LA BIOMASA

Homogeneización a alta presión



 $W_{\rm m}$ es la cantidad máxima de proteína disponible para la liberación, W es la cantidad de proteína liberada después $n_{\rm passes}$ a través del homogenizador, k es una constante de velocidad dependiente de la temperatura, y P es la presión de operación. El exponente γ es una medida de la resistencia de las células a su rotura y, para una microalga en particular, depende en cierta medida de las condiciones de crecimiento.

PROCESADO DE LA BIOMASA

Compuestos puros: EPA, AA, DHA Astaxantina Beta-caroteno Luteína Ficocianinas Ficoeritrinas Dino toxins C13 PUFAs Bioactives

Biomasa Alimento animal Acuacultura Alimentos funcionales Tailored lipids





Biocombustibles/ biofertilizantes Biodiesel Bioetanol Biogás Biofertilizantes Bioestimulantes Biopesticidas

Bioremediación Gases de combustión Agua residual Suelos

PROCESADO BIOMASA



MERCADO

PROCESADO DE LA BIOMASA

Productos de bajo valor

Cepa seleccionada por su alto contenido/ pureza / productividad en el producto deseado.

Extracción/ pasos de recuperación diseñados para un máximo rendimiento/ pureza del producto.

Subproductos y residuos descartados, pero hay que gestionarlos .

Se define el producto principal y una variedad de cepas. son consideras.

Los subproductos y el reciclaje de residuos se consideran para cada uno.

Extracción/ paso de recuperación esta n diseñado para preservar subproductos.

Tanto para productos de alto como de bajo valor, el procesamiento integrado (Biorrefineria) es una necesidad, no una opción.

EJEMPLO PROCESO DE PRODUCTOS DE ALTO VALOR



EJEMPLO PROCESO DE PRODUCTOS DE BAJO VALOR



PARTICIPACIÓN EN PROYECTOS

Proyecto: New approaches in developing antibiofouling materials for the manufacture of industrial microalgae photobioreactors (BIOFOULING-PBR) RTI2018-101891-B-I00

Investigador Principal: Emilio Molina Grima/María del Carmen Cerón García

Proyecto: Microbioma marino contra el cáncer (MARBIOM).

Investigador principal: Francisco García Camacho Tipo de proyecto: RTC-2017-6405-1 (Convocatoria Retos-Colaboración 2017). Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.

Duración: Del 01/01/2018 al 31/12/2021

Proyecto: Sustainable Algae Biorefinery for Agriculture aNd Aquaculture

Investigador Principal: D. Francisco Gabriel Acién Fernández Tipo de Proyecto: EU H2020 SABANA Fecha Inicio: Octubre 2016 Fecha Final: Septiembre 2020.



The facility includes nine 100 L bubble column reactors, three 3.0 m3 tubular photobioreactors, three 100 m2 raceway reactors, two 80 m2 and 160 m2 thin-layer reactors, and one large 650 m2 raceway reactor. All of them are installed at IFAPA center just attached to the University of Almeria. The plant is fully automated.









PROCESSING Nannochloropsis gaditana BIOMASS FOR THE PRODUCTION OF HIGH VALUE ADITIVES

- <u>Sales R</u>. ¹, Cerón-García, M.C.², Navarro- López, E.², Alarcón- López F.J.³, Acién-Fernández, F.G.², Molina-Grima, E.²
 - 1 Departamento de Aquicultura, UFSC Brasil
 - 2 Department of Chemical Engineering, University of Almería, Spain
 - 3 Department of Biology and Geology, University of Almería, Spain



Work context

- To obtain high-value additives from the biomass of the microalgae *Nannochloropsis gaditana*.
- To evaluate its potential use as additives in aquafeeds.



Scaling-up the extraction process

- Obtain 3 products:
 - I) whole lipid fraction (fatty acid and carotenoids)
 - II) concentrate of the unsaponifiable lipid fraction (carotenoids)
 - III) concentrate of the saponifiable lipid fraction (fatty acids)



Scaling-up the extraction process

- Modifications to the method \rightarrow Cerón et al. (2018)
 - substitute ethanol for propanol in the three-component solution
 - perform the extraction without drying the solvents.

- Drying the solvents takes time



- BIOMASS: Nannochloropsis gaditana cultivated in tubular photobioreactors at the microalgae pilot plant at UAL – Almeria, dilution rate 0,3 d⁻¹ cultured on spring and autumn.
- EXTRACTION METHOD \rightarrow CERÓN et al. (2018)
- ANALYTICAL PROCEDURES:
 - Fatty acid content: Gas Chromatography
 - Carotenoid content: HPLC-diode array



Agradecimientos



This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 Research and Innovation program under the Grant Agreement No. 727874



Proyectos RTI2018-101891-B-100, CTQ2013-46552-R y CTQ2014-55888-C3-02 y el Programa del Fondo Europeo de Desarrollo Regional.