

Producción de nanocelulosa mediante la utilización de biorreactores de bajo costo para *Chlorella sorokiniana*.

Mael Sebastian Cantu-Martinez^{a*}, Julio Cesar Beltran-Rocha^b, Julio Silva-Mendoza^a, Raul Reyna-Martinez^a

^a Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ciencias Química, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolas de los Garza, México.

^b Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas, Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León, Gral. Escobedo, México.

*maelscantu@gmail.com

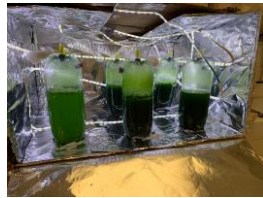
Palabras clave: microalgas, nanocelulosa, biorreactor, biomasa, bajo costo.

Introducción

Las microalgas son organismos microscópicos que en los últimos años han empezado a recibir cierta atención debido a sus múltiples usos en las áreas bioenergéticas, biotecnológicas, cosméticas y piscicultura. Debido a su naturaleza estas utilizan el CO₂ presente en el ambiente para producir carbohidratos, oxígeno y otros compuestos de alto valor [1]. Las *Chlorella* son uno de los géneros más estudiados debido a su versatilidad y su amplia cobertura en el medio ambiente. Debido a la conformación de su pared celular es posible extraer y convertir la celulosa a nanocelulosa [2]. Esta misma tiene distintos usos como la fabricación de piezas de computadoras, automotriz, papel y filtros. Su mayor ventaja es la rápida y económica propagación en medios líquidos, sin tener que competir por tierra con otras plantas y esta puede ser tanto a nivel matraz o en un reactor de bajo costo [3]. El siguiente trabajo tiene como objetivo producir, extraer y aislar nanocelulosa mediante el uso de reactivos y métodos de bajo costo, así como de bajo impacto ambiental.

Metodología

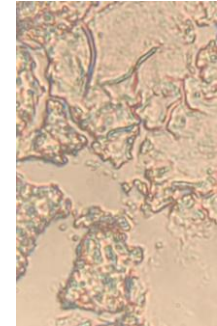
Se utilizó *Chlorella sorokiniana* previamente aislada de un cuerpo de agua en el estado de Nuevo León. En donde tomamos una colonia de una placa con medio LC-Y +1.5% de agar bacteriológico [4]. Este es transferido a un matraz con 100mL con el mismo medio donde las condiciones de crecimiento son 24h de luz blanca a 9500 lux, agitación a 150rpm y una temperatura de 30 grados Celsius [5]. Posterior a los 14 días se transfirió el cultivo a reactores de bajo costo de 1L para maximizar producción. Con condiciones de 0.1-0.5 vvm aire ambiental, 4500lux, ciclos de luz 16:8 y 27 grados Celsius. Se cosechó la biomasa al día 35 mediante centrifugación a 4,000rpm x 10 minutos. Se hizo un lavado y se repitió hasta obtener solamente un pellet. Después se llevó a congelación para su posterior liofilización. Para la extracción de celulosa se realizó una hidrólisis química utilizando H₂O₂ y HSO₄. De la biomasa liofilizada se tomaron 0.1g y se le agregaron 2mL de H₂O₂. Se calentó a 90 grados Celsius durante 1h y con agitación. Siguiendo a la adición de 1mL de H₂O₂ y 0.1mL HSO₄ bajo las mismas condiciones. Finalmente se tomó la mezcla y se microcentrifugó a 14,000rpm x 15min con lavados entre cada ciclo hasta alcanzar un pH de 5 [6]. Se observó la nanocelulosa mediante un microscopio óptico y SEM para la verificación del producto final.



Resultados y discusión

Se realizó una cinética de *C. sorokiniana* donde se observó que su fase exponencial se alcanzaba a los 14 días (1.48 x 10⁸) a nivel matraz. El cual se tomó como cultivo inicial para asegurar crecimiento y evitar contaminación por competencia. Se obtuvo en promedio 1.235g/L de peso seco de biomasa. Otros autores como Kumar y colaboradores obtuvieron 1.18g/L de peso seco del alga [7], así como Do y colaboradores reportaron 0.992 g/L para la misma especie. Mediante la extracción propuesta por Chavez-Guerrero y colaboradores, se

logró extraer y aislar nanocelulosa en forma de plaquetas. Estas están conformadas por conjuntos de nano-fibras que fueron apreciadas mediante SEM y llegan a medir entre 8 a 20nm. Al observar las plaquetas de nanocelulosa en microscopio óptico es posible apreciar algunos colores debido a la difracción de luz.



Conclusiones

Las microalgas como *C. sorokiniana* en este caso, son capaces de producir nanocelulosa debido a la composición de la pared celular. En esta se encuentra celulosa, la cual es posible convertir en nanocelulosa a través de una hidrólisis química. La morfología de las plaquetas de nanocelulosa consisten en bordes irregulares que aparecen en ocasiones con coloración debido a la difracción de luz dependiendo del grosor. Existe campo para la optimización de esta sin embargo parece ser una buena alternativa a la utilización de plantas leñosas debido al tiempo y espacio que requieren. Así como sustituto para plásticos y vidrio.

Agradecimientos

Se le agradece al CONACyT por el apoyo económico, así como a la Facultad de Ciencias Química por el uso de las instalaciones del CELAES.

Referencias

- [1] Beltran-Rocha, J. C., Guajardo-Barbosa, C., Rodríguez-Fuentes, H., Reyna-Martínez, G. R., Osorio-Berthet, L., García-Martínez, M., Dagmar-Barceló, I., López-Chuken, U. (2021). Some implications of natural increase of pH in microalgae cultivation and harvest by auto flocculation. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 49(5), 836–842. <https://doi.org/10.3856/vol49-issue5-fulltext-2691>
- [2] Zanchetta, E., Damergi, E., Patel, B., Borgmeyer, T., Pick, H., Pulgarin, A., & Ludwig, C. (2021). Algal cellulose, production and potential use in plastics: Challenges and opportunities. *Algal Research*, 56, 102288. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102288>
- [3] Coelho, D., Lopes, P. A., Cardoso, V., Ponte, P., Brás, J., Madeira, M. S., Alfaia, C. M., Bandarra, N. M., Gerken, H. G., Fontes, C. M., & Prates, J. A. (2019). Novel combination of feed enzymes to improve the degradation of chlorella vulgaris recalcitrant cell wall. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41775-0>
- [4] Reyna-Martínez, G. R. *Aislamiento De Microalgas Del Estado De Nuevo León Con Actividad Antitumoral Contra El Linfoma Murino L5178Y-R*. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Nuevo León, NL, marzo de 2017.
- [5] Johar Gunawan, T., Ikhwan, Y., Restuhadi, F., & Pato, U. (2018). Effect of light intensity and photoperiod on growth of *Chlorella pyrenoidosa* and CO₂ Biofixation. *E3S Web of Conferences*, 31, 03003. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/20183103003>
- [6] Chávez-Guerrero, L., Toxqui-Terán, A. & Pérez-Camacho, O. One-pot isolation of nanocellulose using pelagic *Sargassum* spp. from the Caribbean coastline. *J Appl Phycol* 34, 637–645 (2022). <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02643-5>
- [7] Kumar, K., Dasgupta, C. N., & Das, D. (2014). Cell growth kinetics of chlorella sorokiniana and nutritional values of its biomass. *Bioresource Technology*, 167, 358–366. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.118>
- [8] Do, T. C., Tran, D. T., Le, T. G., & Nguyen, Q. T. (2020). Characterization of endogenous auxins and gibberellins produced by *Chlorella sorokiniana* TH01 under Phototrophic and Mixotrophic cultivation modes toward applications in Microalgal Biorefinery and crop research. *Journal of Chemistry*, 2020, 1-11.