

Análisis bioenergético de la fracción líquida de la macroalga *Sargassum spp.* del Caribe Mexicano

Alexa Mariana Salgado-Arreguín ¹, Enrique Salgado-Hernández ², Alejandro Alvarado-Lassman ^{1,*}, Norma Alejandra Vallejo-Cantú ¹, Erik Samuel Rosas Mendoza ¹

¹ División de Estudios de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Orizaba, Oriente 9 852, col. Emiliano Zapata, C.P. 94320, Orizaba, Veracruz, México

² Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada, Universidad Veracruzana, Avenida de las culturas veracruzanas 101, col. Emiliano Zapata, C.P. 91090, Xalapa, Veracruz, México.

* Autor de correspondencia: lassman@prodigy.net.mx

Energías Renovables (Biocombustibles).

Resumen: En la última década cantidades masivas de macroalgas del género *Sargassum* han inundado las playas del Caribe, generando afectaciones, económicas, ecológicas y ambientales. Hasta el momento no se ha encontrado un método de aprovechamiento factible y la producción de biocombustibles parece presentar bajos rendimientos debido a su composición compleja. En este trabajo se realizó el procesamiento del sargazo para obtener la parte soluble y evaluar su potencial bioquímico de metano (PBM), además de estimar su potencial bioenergético. El objetivo de este trabajo consistió en analizar el potencial de la fracción líquida del *Sargassum* pelágico como fuente de bioenergía por medio de pruebas de potencial de biometano, debido al contenido orgánico disuelto (10.37 ± 0.53 g/L). Se llevó a cabo en dos etapas. En la primera se realizó la caracterización físico-química (pH, ST, SV, Cenizas, DQO_T, DQO_S). Posteriormente, en la segunda, se analizó el potencial energético mediante digestión anaerobia. Con esto se obtuvo un rendimiento de biogás en la FL de 191.81 L N /kg SV y con 80% de contenido de CH₄ correspondiente, mientras que, la FS generó 129.64 L N /kg SV y 115.80 L N /kg SV con un contenido de metano menor al 60%.

Palabras clave: Sargazo; Potencial bioenergético; inundaciones masivas; macroalgas

Bioenergetic analysis of the liquid fraction of the macroalgae *Sargassum spp.* from the Mexican Caribbean

Abstract: In the last decade, massive quantities of macroalgae of the *Sargassum* genus have flooded the beaches of the Caribbean, causing economic, ecological and environmental damage. So far, no feasible method of utilization has been found and the production of biofuels seems to have low yields due to its complex composition. In this work, sargassum was processed to obtain the soluble part and evaluate its PBM, in addition to estimating its bioenergy potential. The objective of this work consisted of analyzing the potential of the liquid fraction of pelagic *Sargassum* as a source of bioenergy by means of biomethane potential tests, due to the dissolved organic content (10.37 ± 0.53 g/L). It was carried out in two stages. First, it consisted of a physicochemical characterization (pH, ST, SV, Ash, TOD, COD, CODOS). Then, secondly, the energy potential was analyzed by anaerobic digestion. With this, a biogas yield was obtained in the LF of 191.81 L N /kg SV and with 80% CH₄ content, meanwhile, the FS generated 129.64 L N /kg SV and 115.80 L N /kg SV with a methane content of less than 60%.

Keywords: *Sargassum*; bioenergetic potential; massive flooding; macroalgae.

Introducción

Desde el año 2014, el *Sargassum* pelágico, conocido como sargazo, comenzó a llegar en cantidades inusuales a las costas del Mar Caribe mexicano. Esta macroalga está compuesta principalmente por las especies *S. fluitans* y *S. natans* (López-Sosa et al., 2020). La acumulación masiva de estas algas ha causado estragos importantes en los ecosistemas del Caribe. Los lixiviados y las masas de algas en descomposición provoca el agotamiento de oxígeno en aguas cercanas a la costa causando la mortalidad de pastos marinos y fauna (Rodríguez-Martínez et al., 2020). Debido al incremento, se han tenido diversos problemas sociales y económicos (Tussenbroek et al., 2017). En trabajos previos, el sargazo ha sido valorizado como fertilizante, papel artesanal, material de construcción y biocombustibles (Muñoz, 2019). Ésta última, es una opción sustentable para la producción de bioenergía, la cual consiste en la energía obtenida a partir de biomasa (Ayala y Sandoval, 2018), dando como una prioridad al mundo actual la generación de bioenergéticos sustentables y amigables con el medio ambiente. El proceso de producción de biogás a partir de macroalgas pardas puede ser una tecnología alternativa que tiene una producción de energía potencial más grande en comparación con la producción de biohidrógeno, bioetanol y biodiesel (Song et al., 2015). Sin embargo, los resultados publicados previamente reportaron un bajo potencial bioquímico de metano del *Sargassum spp.* El bajo contenido de

carbohidratos, el alto contenido de fibras insolubles (que son difíciles de degradar) y los altos niveles de polifenoles (que son potenciales inhibidores en la digestión anaeróbica) fueron citados como las principales razones del bajo rendimiento de metano de la biomasa de *Sargassum* (Soto et al., 2015). Es necesario encontrar un método que mejore la bioconversión de las macroalgas para que la digestión anaerobia sea una propuesta factible para el aprovechamiento del sargazo. Se ha demostrado que la extracción de los compuestos solubles de las macroalgas mejora el contenido de metano y los tiempos de digestión (Nkemka & Murto, 2010). Por lo tanto, los objetivos de este trabajo fueron: 1) obtener la fracción soluble del sargazo y evaluar su potencial de bioquímico de metano y 2) obtener el potencial bioenergético a partir del metano generado por la fracción líquida.

Materiales y Métodos

Obtención del sustrato y preparación del inóculo

Las muestras de Sargazo se recolectaron en Playa del Carmen, Solidaridad, Q.R. (latitud 20°37'25.1" N longitud 87°04'23.6" O). Donde se ha reportado la mayor acumulación de macroalgas (Rodríguez-Martínez et al., (2020). Se logró identificar de acuerdo a las características morfológicas descritas por Govindarajan *et al.*, (2019) las especies *Sargassum fluitans* y *S. natans* como se observa en la Figura 1 (a) y (b). Se colectaron aproximadamente 20 kg peso húmedo. Posteriormente se trasladaron en refrigeración hasta el Laboratorio de Ingeniería Ambiental I, del Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Orizaba, donde se lavó sumergiendo el alga en un recipiente con agua corriente por 2 minutos y se conservaron a -4 °C hasta su uso.

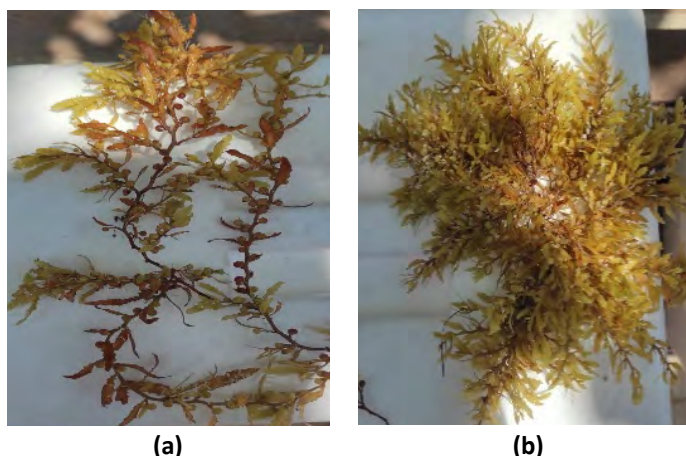


Figura 1. Identificación de las especies *Sargassum*; (a) *S. fluitans*; (b) *S. natans*

El inóculo se obtuvo de un reactor de lecho fijo a escala piloto que opera por lotes y a temperatura ambiente, el cual procesa residuos sólidos orgánicos municipales. El reactor está ubicado en la planta piloto de aprovechamiento de residuos sólido municipales del Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Orizaba. Posteriormente, el inóculo se incubó por dos semanas a 35 °C y se alimentó con fracción líquida de residuos sólidos orgánicos municipales (FLRSOM), para asegurar la producción de metano y aclimatar la población microbiana a las condiciones mesofílicas. En la Tabla 1, se muestran los resultados de la caracterización del inóculo.

Tabla 1. Resultados de la caracterización del inóculo

Parámetros	Unidades	Resultados
pH	-	7.66
ST	(%)	3.68 ±0.10
SV	(% ST)	63.86 ±0.73
CENIZAS	(% ST)	36.14 ±0.73
DQO _T	(g/L)	71.36 ±6.94
DQO _S	(g/L)	3.56 ±1.10

Proceso y obtención de la fracción líquida del sargazo

La biomasa de sargazo se lavó con la finalidad de eliminar arena y otros contaminantes naturales, se secó a 105 °C por 5 horas en una estufa y se trituró en un mortero con pistilo a un tamaño <1 mm para obtener el sargazo triturado (STr) como se observa en la Figura 2 (a) y (b), posteriormente se reservó en bolsas de plástico con sello hermético. Otra parte del sargazo se procesó para la obtención de la fracción líquida (FL). El sargazo se diluyó en agua corriente a una relación 1:1 y se molió por 30 s en un procesador de alimentos, con cuchilla de acero quirúrgico y vaso de tetrán. Una vez procesado, la mezcla se filtró manualmente para separar la fracción líquida de la fracción sólida (FS), usando un colador de plástico con malla de nailon con tamaño de poro de 150 μm , como se muestra en la Figura 3 (a), (b) y (c). Finalmente, la FL se conservó a 4 °C hasta su uso, mientras que la FS se secó a 105 °C por 5 horas y se reservó en bolsas de polietileno con sello hermético.

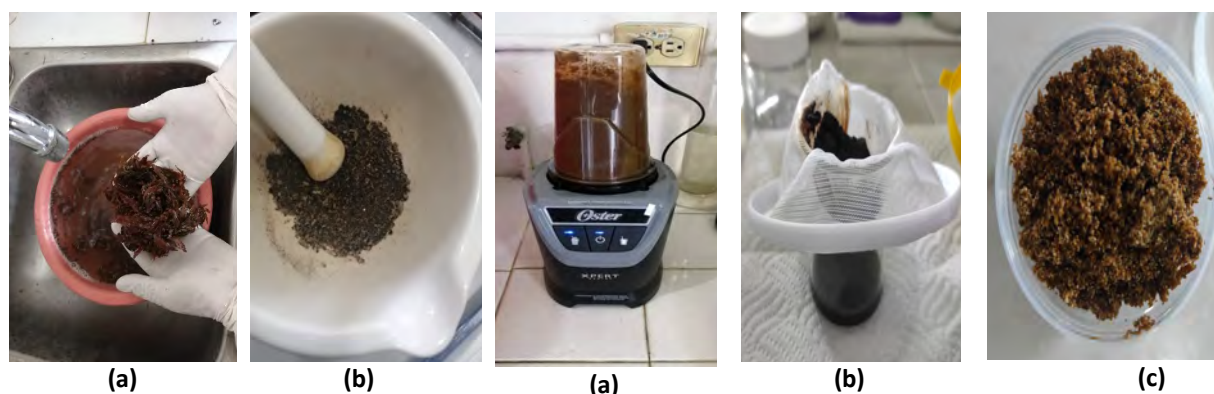


Figura 2. Caracterización: (a) lavado y (b) triturado del sargazo previamente lavado.

Figura 3. Obtención de la FL: (a) Procesamiento; (b) filtración de la FL y (c) separación de la FS.

Caracterización fisicoquímica de la macroalga y fracción líquida

Se realizó la caracterización fisicoquímica de STr, FS y FL, los parámetros y métodos analíticos que se utilizaron se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Caracterización de la biomasa de sargazo

Parámetro	Unidad	Método
Sólidos Totales (ST)	%	Método Gravimétrico 2540 G Standard Methods
Sólidos Totales Volátiles (SV)	%	
Cenizas	%	
DQO Total (DQO _T)	g/L	Método colorimétrico 5220 D Standard methods
DQO Soluble (DQO _S)	g/L	
Conductividad eléctrica (CE)	ms/cm	Método Conductividad eléctrica 2520 B Estándar Methods
pH	-	Método ponteciometrico 4500_H ⁺ B Standard Methods

Pruebas del potencial bioquímico de metano

Conforme a lo descrito por Holliger *et al.*, (2016), se montaron los biorreactores por triplicado donde se empleó como sustratos: la fracción líquida (FL), fracción sólida (FS) y sargazo triturado (ST_r). Los biorreactores consistían de botellas de suero con un volumen total de 473 mL y con un volumen útil de 300 mL para la FL, mientras que para los últimos dos, se utilizaron botellas con volumen total de 120 mL y volumen trabajo de 75 mL, como se muestran en la Figura 4. Se utilizó como blanco (control negativo) biorreactores solo con inóculo y sin sustrato. La relación inóculo a sustrato

fue de 2:1 en función a los SV y los valores de pH de los cultivos se ajustaron a 7.2 ± 0.1 al inicio de los experimentos por lotes. Todas las botellas de suero se cerraron herméticamente con tapones de caucho butílico y tapas de aluminio y el espacio de cabeza se purgó con gas nitrógeno (99.9 %) durante 3 y 5 minutos para alcanzar condiciones anaerobias. Los biorreactores fueron incubados a 35 °C hasta que la producción diaria de metano durante tres días consecutivos fuera <1 % del volumen acumulado (Holliger *et al.*, 2021) y durante este periodo los frascos fueron agitados diariamente durante 60 segundos para asegurar la correcta mezcla y digestión de los medios. El volumen de biogás se midió a intervalos regulares hasta que no se produjo más gas utilizando jeringas de vidrio de 5-60 mL con válvula de cierre y sistema Luer-lock. El biogás producido por los biorreactores que contenían sustrato se corrigió con el gas producido por las botellas del blanco y los resultados se presentaron como el volumen de gas en condiciones normales (0 °C y presión atmosférica) por kg de SV agregados. El experimento y las mediciones se realizaron por triplicado ($n=3$).



Figura 4. Pruebas para evaluar el Potencial Bioquímico de Metano (PBM): FS, STR y FL.

Cálculo del potencial eléctrico

Las siguientes formulas fueron empleados para calcular el potencial bioenergético de los rendimientos de metano obtenidos de las pruebas del PBM de la fracción líquida del *Sargassum* spp.

$$B_s = CH_4\% * \left(\frac{9.67}{97}\right) \quad (1)$$

En la Ecuación (1), B_s (kWh m^{-3}) es el contenido de energía del biogás producido por la fracción líquida del *Sargassum* spp, CH_4 % es el porcentaje promedio del contenido de metano del biogás producido, 9.67 kWh es el contenido energético de 1 m^3 de biogás al 97 % de metano (Montingelli *et al.*, 2017).

$$E_p = B_s * B_p \quad (2)$$

En la Ecuación (2), E_p (kWh kg^{-1} SV) es el potencial energético del biogás producido a partir de 1 kg de SV de fracción líquida de *Sargassum* spp. y B_p ($\text{m}^3 \text{kg}^{-1}$ SV) es la cantidad de biogás producido por cada gramo de SV.

$$E_e = P_b * \eta \quad (3)$$

Se calculó en la Ecuación (3) la cantidad de energía eléctrica, E_e (kWh kg^{-1} SV), usando una eficiencia de conversión, $\eta=30$ % (Montingelli *et al.*, 2016; Rosas-Mendoza *et al.*, 2021).

Análisis estadístico

El error experimental se determinó para ensayos repetidos y se expresó en desviación estándar. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía (un factor, los pretratamientos) para investigar el efecto de las características del sustrato (FL, FS y STR) sobre el PBM en un límite de intervalo de confianza del 95 %. Si los valores p eran inferiores a 0.05, los datos podían considerarse estadísticamente significativos y se podía realizar una prueba HSD de Tukey ($\alpha = 0.05$). Todos los análisis estadísticos se realizaron con RStudio (versión 1.3.1093) para el lenguaje de programación R.

Resultados y Discusión

Características fisicoquímicas de los sustratos

En la Tabla 3, se muestra la caracterización fisicoquímica del sargazo triturado y del sargazo procesado (fracción líquida y sólida). En los resultados obtenidos se encontró una composición semejante entre el sargazo triturado y la fracción sólida. La composición de la fracción líquida, varía con respecto al alga triturada y a la fracción sólida. Se observó una reducción en el contenido de SV de 67.16 ± 0.94 % a 59.46 ± 0.92 %, que representó una reducción del 11 %. Esto muestra un pequeño incremento en el contenido de materia inorgánica, probablemente por el arrastre de algunas sales en la fracción líquida. También, se encontró cambio considerable en el contenido de fenoles totales, ya que en general el sargazo procesado presentó un contenido de fenoles menor, sobre todo en la fracción líquida donde se observó una reducción del 96 %. Esto puede resultar ventajoso para la digestión anaerobia, ya que los bajos rendimientos a partir del *Sargassum* spp. se han atribuido también al alto contenido de fenoles.

Tabla 3. Composición fisicoquímica del sargazo triturado y procesado: fracción sólida y líquida.

Parámetro	Sargazo triturado	Sargazo procesado	
		Fracción líquida	Fracción sólida
ST (%)	19.65 ± 0.95	0.70 ± 0.08	16.06 ± 0.22
SV (% ST)	67.16 ± 0.94	59.46 ± 0.92	67.35 ± 0.54
Cenizas (% ST)	32.83 ± 0.94	40.53 ± 0.92	32.64 ± 0.54
DQO _T (g/L)		10.37 ± 0.53	
DQO _S (g/L)		6.26 ± 2.01	
CE* (ms/cm)		0.2	
STD* (mg/L)		128	
Fenoles (mg EAG/g)	14.36 ± 0.80	0.53 ± 0.04	4.05 ± 0.56
pH		7.10	

*CE= conductividad eléctrica, (CE (dS/m) x 640). STD = sólidos totales disueltos

Pruebas del potencial bioquímico de metano

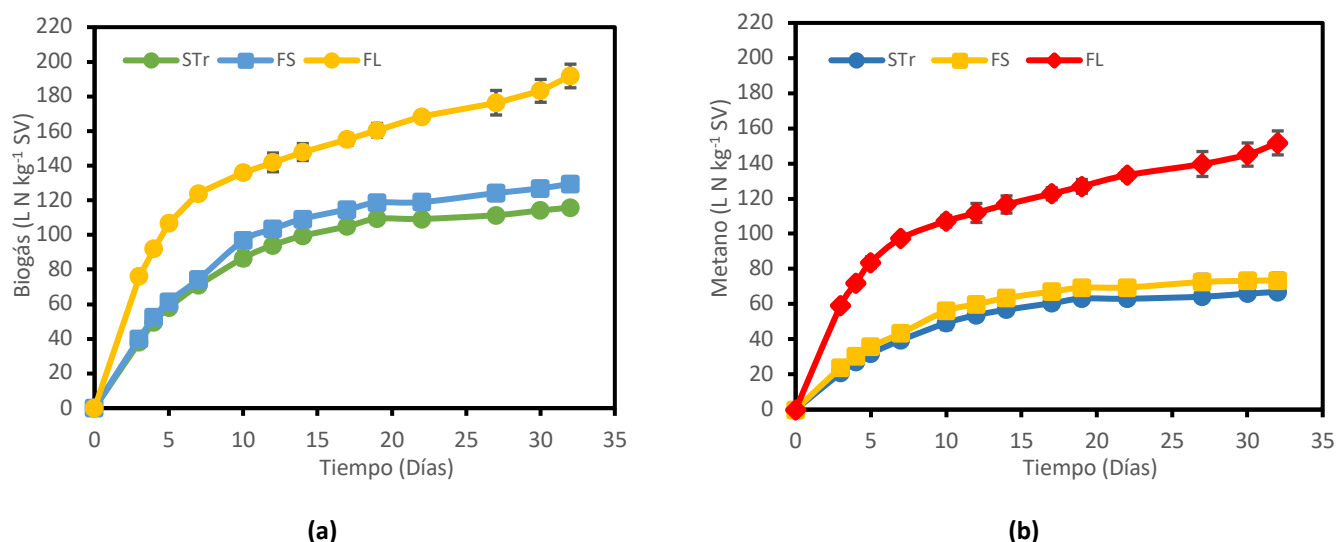


Figura 5. Producción específica de a) biogás y b) metano de la biomasa del *Sargassum* spp. después de 32 días de incubación. STr-Sargazo triturado, FS- Fracción sólida, FL- Fracción líquida. Las barras de error representan la desviación estándar de la media (n=3)

Los valores del acumulado de biogás y metano después de las pruebas de PBM se muestran en la Figura 5. La producción de biogás del *Sargassum* spp. empezó con diferentes composiciones y rendimientos de metano en cada pretratamiento. Como punto de referencia de control se utilizó el sargazo triturado para comparar con los potenciales

alcanzados por FL y FS. A partir de este gráfico se puede establecer que del día 1 al día 10 el sargazo triturado (STr) y la fracción sólida (FS) presentaron una producción lenta de metano, lo que indica que es difícil de biodegradar. Ambos sustratos muestran curvas con un comportamiento similar a lo largo del experimento, alcanzando su punto máximo a los 19 días, posteriormente se mantiene en una fase estacionaria hasta el día 32. El potencial de biometano de la FS fue de 73.32 ± 4.12 y de 65.99 ± 1.67 L N CH₄ kg⁻¹SV para STr. Por otro lado, la FL presentó una tasa de producción de metano más alta, que se observó en una curva con crecimiento exponencial, denotando una alta biodegradabilidad del sustrato, alcanzando un PBM de 151.74 ± 6.82 L N CH₄ kg⁻¹SV a los 32 días.

Al realizar el ANOVA para evaluar el efecto del tipo de sustrato sobre el PBM, se obtuvo, un valor de ($p=0.000000942$) esto indica que las medias son estadísticamente diferentes. Las pruebas de comparación de Tukey indicaron que las diferencias de FL con STr y FS son significativas. Mientras que las medias de FS y STr ($p=0.1569102$) no son significativos. Por lo tanto, se puede decir que la fracción sólida no tiene una diferencia significativa en la producción de metano con respecto al sargazo triturado, mientras que la fracción líquida si tuvo una diferencia significativa con respecto a ambos sustratos.

En términos de rendimiento de biogás se puede apreciar un mayor contenido en la FL con un rendimiento de 191.81 L/Kg SV, mientras que la FS obtuvo 129.64 L/kg SV indicando que el STr tuvo un menor rendimiento 115.80 L/kg SV. Es por esto que, la fracción líquida presenta ventajas como una fácil biodegradabilidad de los componentes solubles, de igual forma gracias al pH neutro (7.10) no es necesario ajustar este valor y se puede realizar la digestión anaerobia sin complicaciones. Además de que nos da la oportunidad de utilizar biorreactores con diferentes configuraciones como los utilizados en los tratamientos aguas residuales o efluentes industriales.

Potencial bioenergético del metano a partir del *Sargassum spp.*

La Tabla 4 muestra la estimación del potencial de energía eléctrica a partir de la FL, FS y SC. Se estimó un valor de 0.45 kWh/kg SV para la FL que representó el doble de la energía eléctrica calculada para la FS y del SC. Por lo que, la cantidad de energía generada es dependiente del volumen de biogás y de la concentración de metano.

Tabla 4 Cantidad de bioenergía generada a partir de FL, FS y STr del *Sargassum spp.*

Materia prima	B_s : Contenido energético del biogás (kWh/m ³ N)	P_b : Energía producida (kWh/kg SV)	E_e : Energía eléctrica producida con $\eta=30\%$ (kWh/kg SV)
Fracción Líquida (FL)	7.95	1.52	0.45
Fracción Sólida (FS)	5.86	0.75	0.22
Sargazo Triturado (STr)	5.95	0.68	0.20

Los resultados de este estudio indican que la fracción líquida del *Sargassum spp.* tiene un potencial más alto que el sargazo completo y su fracción sólida para ser valorizado como una fuente de energía eléctrica mediante digestión anaerobia. Por lo que con la extracción de la fracción líquida se puede mejorar la biodegradabilidad del sargazo y mejorar los rendimientos de metano.

Conclusiones

El objetivo de este estudio fue investigar el potencial de la FL como sustrato para la producción de metano mediante digestión anaerobia. Se demostró que la FL tuvo un mejor rendimiento de biogás y metano en comparación de la fracción sólida y el sargazo triturado. Además, presentó un porcentaje de metano mayor a 79 %. En el caso de la estimación de la generación de bioenergía y electricidad también se obtuvo el mejor resultado con la FL. Gracias a esto se convierte en un tratamiento atractivo para la mitigación de la acumulación masiva en las costas del Caribe mexicano. Sin embargo, aún se pueden explorar métodos para lograr incrementar el contenido de compuestos solubles en la fracción líquida para incrementar aún más los rendimientos de metano y energía.

Bibliografía

- Ayala-Mendivil, N., & Sandoval, G. (2018). Bioenergía a partir de residuos forestales y de madera. *Madera y bosques*, 24(SPE), 3.
- Govindarajan, A. F., Cooney, L., Whittaker, K., Bloch, D., Burdorf, R. M., Canning, S., ... & Siuda, A. N. (2019). The distribution and mitochondrial genotype of the hydroid *Aglaophenia latecarinata* is correlated with its pelagic *Sargassum* substrate type in the tropical and subtropical western Atlantic Ocean. *PeerJ*, 7(7), 8-14.
- Holliger, C., Alves, M., Andrade, D., Angelidaki, I., Astals, S., Baier, U., ... y Wierinck, I. (2016). Towards a standardization of biomethane potential tests". *Water Science and Technology*, 74 (11), 2515-2522.
- Holliger, C., Astals, S., de Laclós, H. F., Hafner, S. D., Koch, K., & Weinrich, S. (2021). Towards a standardization of biomethane potential tests: a commentary. *Water Science and Technology*, 83(1), 247-250.
- López-Sosa, L. B., Alvarado-Flores, J. J., Corral-Huacuz, J. C., Aguilera-Mandujano, A., Rodríguez-Martínez, R. E., Guevara-Martínez, S. J., ... Morales-Máximo, M. (2020). A Prospective Study of the Exploitation of Pelagic *Sargassum* spp. as a Solid Biofuel Energy Source. *Applied Sciences*, 10(23), 8706.
- Montingelli, M. E., Benyounis, K. Y., Stokes, J., & Olabi, A. G. (2016). Pretreatment of macroalgal biomass for biogas production. *Energy conversion and management*, 10(8), 202-209.
- Montingelli, ME, Benyounis, KY, Quilty, B., Stokes, J. y Olabi, AG (2017). Influence of mechanical pretreatment and organic concentration of Irish brown seaweed for methane production. *Energy*, 1(18), 1079-1089.
- Muñoz, A. A., (2019): Biodiversidad, I., y Ambiente, A. C. El Sargazo en el Caribe Mexicano: de la negación y el voluntarismo a la realidad.
- Nkemka, V. N., y M. Murto. (2010). Evaluation of biogas production from seaweed in batch tests and in UASB reactors combined with the removal of heavy metals. *Journal of Environmental Management*, 91(7), 1573–1579.
- Rodríguez-Martínez RE, Roy PD, Torrescano-Valle, N., CabanillasTerán, N, Carrillo-Domínguez, S., Collado-Vides, L., GarcíaSánchez, M. & van Tussenbroek, B.I. (2020). Element concentrations in pelagic *Sargassum* along the Mexican Caribbean coast in 2018- 2019. *PeerJ*, 8(8), 667.
- Rosas-Mendoza, ES, Alvarado-Vallejo, A., Vallejo-Cantú, NA, Snell-Castro, R., Martínez-Hernández, S., y Alvarado-Lassman, A. (2021) Batch and Semi-Continuous Anaerobic Digestion of Industrial Solid Citrus Waste for the Production of Bioenergy. *Processes*, 9(4), 648.
- RStudio Team. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA. URL <http://www.rstudio.com/> 2020.
- Song, M., Pham, H. D., Seon, J., y Woo, H. C. (2015). Overview of anaerobic digestion process for biofuels production from marine macroalgae: a developmental perspective on brown algae. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 32(4), 567-575.
- Soto, M., Vazquez, MA, de Vega, A., Vilarino, JM, Fernandez, G., & de Vicente, MES (2015). Methane potential and feasibility of anaerobic treatment of *Sargassum muticum*. *Biological Source Technology*, 18(9), 53-61.
- Van Tussenbroek, B. I., Arana, H. A. H., Rodríguez-Martínez, R. E., Espinoza-Avalos, J., Canizales-Flores, H. M., González-Godoy, C. E., y Collado-Vides, L. (2017). Severe impacts of brown tides caused by *Sargassum* spp. on near-shore Caribbean seagrass communities". *Marine pollution bulletin*, 122(12), 272-281.